الجمهورية العربية السورية
كلية الصيدلة
الجامعة السورية الخاصة





من التشخيص إلى الأمل:

دور MSI في توجيه القرارات العلاجية المبتكرة لسرطان القولون

The role of MSI in guiding innovative treatment decisions for colon cancer

مشروع أعد لنيل درجة الإجازة في الصيدلة والكيمياء الصيدلية

إعداد الطالبات

سدرة محمد اياد غازي **صفا منهل العلاو**

لجين محمد شفيق الشاعر

إشراف الدكتور

حسام الدين شحرور

2024-2025 م

فهرس المواضيع:

العنوان	رقم الصفحة
1.المقدمة	7
2. عوامل خطر تطور سرطان القولون والمستقيم:	9
3. مراحل تطور سرطان القولون والمستقيم (CRC):	11
1.3. تصنيف مراحل سرطان القولون والمستقيم:	13
4. استراتيجيات تشخيص سرطان القولون والمستقيم (CRC):	14
1.4. أعراض سرطان القولون والمستقيم:	15
2.4. المؤشرات الحيوية الكيميائية والجزيئية:	15
3.4. تشخيص سرطان القولون والمستقيم عبر الطرق النانوية الجزيئية:	17
4.4. المؤشرات الحيوية الكروموسومية لسرطان القولون والمستقيم:	19
5.4. الميتاجينوميات البرازية:	20
6.4. مؤشرات حيوية أخرى:	21
7.4. دراسات التصوير:	22
8.4. تنظير القولون:	25
5. دور الجينات الصغيرة (MS) في سرطان القولون:	26
5.1. عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) كآلية فريدة في تطور الأورام:	28
2.5. نظام إصلاح عدم التطابق (MMR) في الحمض النووي:	31
3.5. آليات عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI):	33
4.5. طرق الكشف عن عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) والتقدّم المحرز فيها:	35
6. علاجات سرطان القولون والمستقيم:	40
1.6. جراحة القولون:	41
2.6. العلاج الكيميائي:	41
3.6. العلاجات المُستهدَفة لسرطان القولون والمستقيم:	42
1.3.6. الجسيمات النانوية القائمة على الدهون:	44
2.3.6. الجسيمات النانوية البوليمرية (Polymeric Nanoparticles)	46

فهرس المواضيع:

العنوان	رقم الصفحة
3.3.6. الجسيمات النانوية غير العضوية:	48
4.3.6. تطبيق الجسيمات النانوية القائمة على العلاج الضوئي	51
4.6. الهرمونات الأنثوية: آفاق واعدة لعلاج سرطان القولون والمستقيم	51
5.6. العلاج المساعد والعلاج قبل الجراحي في السرطان:	53
6.6. دور MSI في علاج سرطان القولون والمستقيم غير النقيلي:	53
1.6.6. القيمة التنبؤية لحالة عدم استقرار الجينات الصغيرة في سرطان القولون والمستقيم غير النقيلي:	53
2.6.6. القيمة التنبؤية لحالة عدم استقرار الجينات الصغيرة فيما يتعلق بفعالية العلاج الكيميائي المساعد بالفلوروبيريميدين	54
3.6.6. القيمة التنبؤية لحالة عدم استقرار الجينات الصغيرة فيما يتعلق بفعالية العلاج الكيميائي المساعد القائم على الأوكساليبلاتين:	55
4.6.6. الإرشادات العلاجية في سرطانات القولون والمستقيم ذات خاصية MSI	56
5.6.6. العلاجات الحديثة في سرطانات القولون والمستقيم ذات خاصية MSI	58
7.6. عدم الاستقرار الجيني في سرطان القولون والمستقيم النقيلي:	60
1.7.6. حالة MSI في مرحلة الانتشار:	60
2.7.6. خاصية MSI في مرحلة المنتشرة كعامل تنبؤيً لفعالية العلاج المناعي:	61
3.7.6. فعالية العلاج المناعي لسرطان القولون والمستقيم النقيلي ذي خاصية MSI	61
4.7.6. فعالية العلاج المناعي لسرطان القولون والمستقيم النقيلي ذي خاصية عدم الاستقرار الجيني والطفرات في جين BRAFV600E:	63
الحالات السريرية	64
المراجع	74

جدول الاختصارات والمصطلحات:

باللغة العربية	الاختصار	باللغة الانكليزية
5-فلوروبوراسيل	FU-5	5-Fluorouracil
المستضد السرطاني الجنيني	CEA	Carcinoembryonic Antigen
الخلايا الجذعية السرطانية	CSC	Cancer Stem Cells
الحمض النووي الخالي من الخلايا	cfDNA	Cell-free DNA
عدم الاستقرار الكروموسومي	CIN	Chromosomal Instability
السرطان المرتبط بالتهاب القولون	CAC	Colitis-Associated Cancer
الرحلان الكهربائي الشعري	CE	Capillary Electrophoresis
تغير عدد النسخ	CNV	Copy Number Variation
سرطان الغدة القولونية	COAD	Colon Adenocarcinoma
سرطان القولون والمستقيم	CRC	Colorectal Cancer
التصوير المقطعي المحوسب	CT	Computed Tomography
الحمض النووي الورمي المنتشر	CTCs	Circulating Tumor DNA
نقص إصلاح عدم التطابق	dMMR	Mismatch Repair Deficient
مطيافية تشتت الطاقة للأشعة السينية	EDX	Energy Dispersive X-ray Spectroscopy
الألياف النانوية المغزولة كهربائياً	EFM	Electrospun Fiber Mat
مستقبل عامل نمو البشرة	EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
الانتقال الظهاري-اللحيمي	EMT	Epithelial-Mesenchymal Transition
مستقبل الإستروجين بيتا	ERβ	Estrogen Receptor Beta
الجمعية الأوروبية للأورام	ESMO	European Society for Medical Oncology
حمض الفوليك	FA	Folic Acid
إدارة الغذاء والدواء الأمريكية	FDA	Food and Drug Administration
المجهر الإلكتروني الماسح بانبعاث الحقل	FESEM	Field Emission Scanning Electron Microscopy
الفحص المناعي البرازي	FIT	Fecal Immunochemical Test
حمض الفولينيك، فلوروبوراسيل، إيرينوتيكان	FOLFIRI	Folinic acid, Fluorouracil, Irinotecan
حمض الفولينيك، فلوروبوراسيل، أوكساليبلاتين	FOLFOX	Folinic acid, Fluorouracil, Oxaliplatin
اختبار الدم الخفي في البراز	Gfobt	Guaiac-based Fecal Occult Blood Test
الهيماتوكسيلين واليوزين	H&E	Hematoxylin and Eosin

جدول الاختصارات والمصطلحات:

باللغة العربية	الاختصار	باللغة الانكليزية
العلاج التعويضي بالهرمونات	HRT	Hormone Replacement Therapy
الوكالة الدولية لأبحاث السرطان	IARC	International Agency for Research on Cancer
الكيمياء النسيجية المناعية	IHC	Immunohistochemistry
الجسيمات النانوية الدهنية	LNPs	Lipid Nanoparticles
فقدان التغاير الجيني	LOH	Loss of Heterozygosity
الحمض النووي الريبوزي الطويل غير المشفر	lncRNA	Long non-coding RNA
إصلاح عدم التطابق	MMR	Mismatch Repair
التصوير بالرنين المغناطيسي	MRI	Magnetic Resonance Imaging
عدم استقرار الجينات الصغيرة	MSI	Microsatellite Instability
عدم الاستقرار العالي للجينات الصغيرة	MSI–H	Microsatellite Instability-High
عدم الاستقرار المنخفض للجينات الصغيرة	MSI–L	Microsatellite Instability-Low
استقرار الجينات الصغيرة	MSS	Microsatellite Stable
تسلسل الجيل التالي	NGS	Next-Generation Sequencing
الأشعة تحت الحمراء في المجال القريب	NIR	Near-Infrared
تفاعل البوليميراز المتسلسل	PCR	Polymerase Chain Reaction
بروتين الموت المبرمج للخلايا 1	PD–1	Programmed Cell Death Protein 1
البولي إيتيلين غليكول	PEG	Polyethylene Glycol
التصوير المقطعي بالإصدار البوزيتروني	PET	Positron Emission Tomography
كفاءة إصلاح عدم التطابق	pMMR	Proficient Mismatch Repair
العلاج الحراري الضوئي	PTT	Photothermal Therapy
التكرارات الترادفية القصيرة	STRs	Short Tandem Repeats
التكرارات التسلسلية البسيطة	SSRs	Simple Sequence Repeats
عامل النمو المحول بيتا	TGFβ	Transforming Growth Factor Beta
العبء الطفري الورمي	TMB	Tumor Mutational Burden
التصوير بالموجات فوق الصوتية عبر المستقيم	TRU	Transrectal Ultrasound
سرطان بطانة الرحم	UCEC	Uterine Corpus Endometrial Carcinoma
عامل نمو بطانة الأوعية الدموية	VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
مطيافية الأشعة الضوئية السينية	XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy

فهرس الأشكال والجداول:

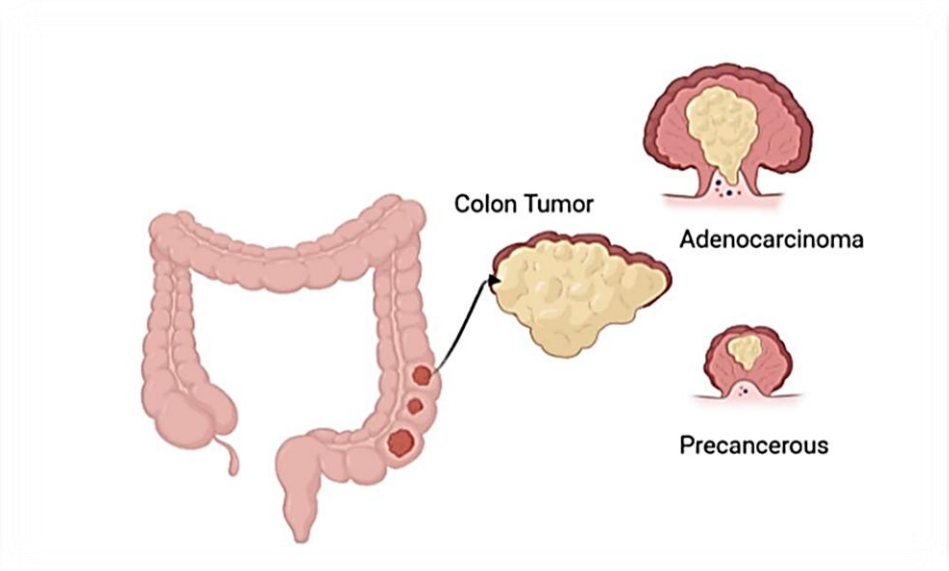
الشكل	رقم الصفحة
الشكل (1): رسم توضيحي لتطور سرطان القولون.	8
الشكل (2): الانتشار العالمي لأنواع السرطان المختلفة بين البشر	9
الشكل (3): المعدلات العالمية المُقدَّرة للإصابة بسرطان القولون لعام 2020.	11
الشكل (4): رسم توضيحي لنمو الورم عبر الطبقة المخاطية للقولون، والمراحل المختلفة لسرطان القولون والمستقيم	12
الشكل (5): رسم توضيحي لوجود خلايا ورم سرطاني في القولون، حيث يمكنها الانتقال إلى مناطق مختلفة من جسم الإنسان	14
الشكل (6): الطرق الجراحية (الباضعة) والطرق غير الباضعة، في تشخيص سرطان القولون	15
الشكل (7): رسم توضيحي لتصوير الخلايا السرطانية باستخدام طرق الاستهداف النشط	23
الشكل (8): الجينات الصغيرة (MS)، والتي تُسمى أيضًا التكرارات الترادفية القصيرة.	27
الشكل (9): أبحاث MSI المرتبطة بسرطان القولون والمستقيم.	30
الشكل (10): عدم استقرار الجينات في سرطان القولون والمستقيم	31
الشكل (11): نظام إصلاح عدم التطابق في الحمض النووي.	32
الشكل (12): تقنية التسلسل التالي.	36
الشكل (13): تفاعل لبوليميراز المتسلسل متعدد البادئات.	37
الشكل (14): استخدام الكيمياء النسيجية في الكشف عن جينات إصلاح عدم التطابق.	38
الشكل (15): الطرق المختلفة في علاج سرطان القولون	40
الشكل (16): ربط دواء مضاد للسرطان بتركيبة نانوية لتوصيله بشكل مستهدف.	50
الشكل (17): ربط دواء مضاد للسرطان بالناقلات النانوية عبر الروابط الفيزيائية والكيميائية.	50
الجدول (1): الطرق التشخيصية الجزيئية.	16
الجدول (2): الجينات الأكثر أهمية المطلوبة لتطور السرطان ومواقعها	18
الجدول (3): الجسيمات النانوية المُستخدمة لتحسين التصوير الطبي.	24

1. المقدمة Introduction:

يُصنَّف سرطان القولون والمستقيم (CRC: Colorectal Cancer) كثالث أكثر أنواع السرطان تشخيصاً بعد سرطان الثدي والرئة، ويحتل المرتبة الثانية كأكثر سبب للوفيات المرتبطة بالسرطان [1]. يتم تشخيص هذا النوع من السرطان لدى الذكور أكثر من الإناث [2]. قد يظهر في القولون أو الشرج أو المستقيم، ويُشار إلى جميع هذه الأنواع بمصطلح "سرطان القولون" أو "سرطان القولون والمستقيم". وفقاً للوكالة الدولية لأبحاث السرطان ، من المتوقع أن يرتفع العبء العالمي لسرطان القولون والمستقيم بنسبة 56% بين عامي 2020و2040، بما يعادل أكثر من 3 ملايين حالة سنوياً، مع توقُّع زيادة الوفيات بنسبة 69% لتصل إلى نحو 1,6 مليون حالة وفاة بحلول 2040، وستكون هذه الزيادة أكثر وضوحاً في المجتمعات ذات مؤشر التنمية البشرية المرتفع [3].

بشكل عام، يتطور سرطان القولون عندما تتعرض المادة الوراثية (DNA) في الخلايا السليمة لطفرات جينية. يحمل DNA التعليمات التي تتحكم في وظائف الخلية. يمر المرض بأربع مراحل: في المرحلتين الأولى والثانية، تنقسم الخلايا السليمة بشكل طبيعي للحفاظ على وظائف جدار القولون. أما في المرحلة الثالثة، تستمر الخلايا السرطانية في التكاثر رغم عدم الحاجة إلى المزيد من الخلايا بسبب تلف DNA، مما يؤدي إلى تكوُّن ورم يغزو الأنسجة المجاورة ويصل إلى العقد اللمفاوية القريبة (كما هو موضح في الشكل 1). وفي المرحلتين الثالثة والرابعة، تنتشر الخلايا السرطانية إلى أجزاء أخرى من الجسم من خلال النقائل السرطانية (Metastasis) [4].

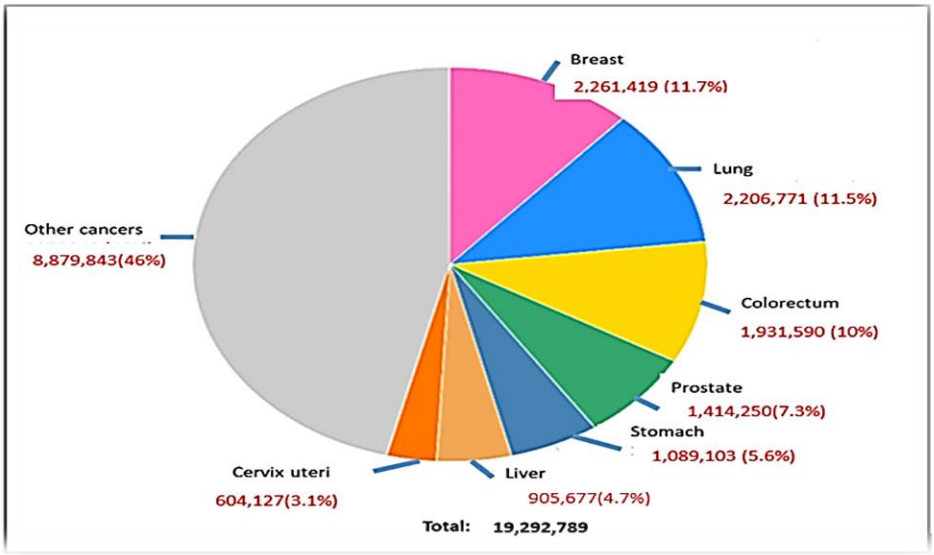
تتزايد معدلات الإصابة بهذا السرطان عالمياً كل عام، خاصة في الدول الغربية، بسبب تداخل عوامل متعددة مثل العوامل الجينية/الوراثية، والبيئية، وأنماط الحياة. على سبيل المثال، تشير جمعية السرطان الأمريكية إلى أن التاريخ العائلي والجينات المرتبطة بأمراض مثل السكري والسمنة تزيد من خطر الإصابة، ويزداد خطر الإصابة أيضاً لدى الأشخاص الذين لا يمارسون النشاط البدني ويتناولون اللحوم الحمراء بانتظام. كما قد تزيد عوامل مثل العمل ليلاً، والتدخين، والإفراط في شرب الكحول من احتمالية الوفاة بهذا النوع من السرطان [5].



الشكل (1): رسم توضيحي لتطور سرطان القولون.

يمكن علاج سرطان القولون والمستقيم (CRC) بسهولة إذا تم اكتشافه في مراحله المبكرة؛ ومع ذلك، قد تحتاج بعض الحالات إلى 15 عاماً للتطور، بينما تتطور حالات أخرى بسرعة أكبر [1]. يزيد التشخيص المبكر في المراحل 0 أو I أو II من فرصة البقاء على قيد الحياة إلى أكثر من80%، بينما تنخفض هذه الفرصة إلى أقل من 10% في الحالات المتأخرة (المرحلتين III أو IV) عند انتشار النقائل السرطانية (Metastasis) [6].

تشمل طرق التشخيص المستخدمة: تنظير القولون، وفحوص البراز، واختبار الدم الخفي، والفحوص المناعية البرازية. تعمل العديد من الدراسات على تقليل الاعتماد على تنظير القولون بسبب تكلفته العالية ومخاطره المحتملة مثل ثقب القولون، أو النزيف داخل البطن، أو بسبب حدوث الالتهابات [1]. يوجد أنواع عديدة من سرطانات القولون، أشهرها الأدينوكارسينوما (Adenocarcinoma) التي تُنتج المخاط في القولون أو المستقيم). أما الأنواع الأقل شيوعاً فتشمل: الأورام اللمفاوية (Lymphomas) في العقد اللمفاوية، والأورام السرطانية (Carcinoids) التي تنشأ من الخلايا المنتجة للهرمونات، والساركومة (Sarcomas) في الأنسجة الرخوة، وأورام أنسجة وعضلات المعدة والأمعاء (Gastrointestinal stromal tumors) [7].



الشكل (2): الانتشار العالمي لأنواع السرطان المختلفة بين البشر

2. عوامل خطر تطور سرطان القولون والمستقيم (CRC):

يُعتبر سرطان القولون والمستقيم ثاني أكثر أنواع السرطان شيوعاً لدى الذكور والإناث، مع وجود دراسات تُشير إلى تأثر الذكور بشكل أكبر من الإناث. يزداد خطر الإصابة بهذا السرطان بشكل ملحوظ بعد سن 50 عاماً، بينما تبدأ النسبة في الارتفاع من سن 40 عاماً [8]. هناك العديد من عوامل الخطر التي تساهم في تطور المرض، وأهمها التاريخ العائلي والتاريخ الطبي للمريض . يُزيد العامل الجيني من احتمالية الإصابة، ويعتمد ذلك على عدد الأقارب المصابين ودرجة قرابتهم [9].

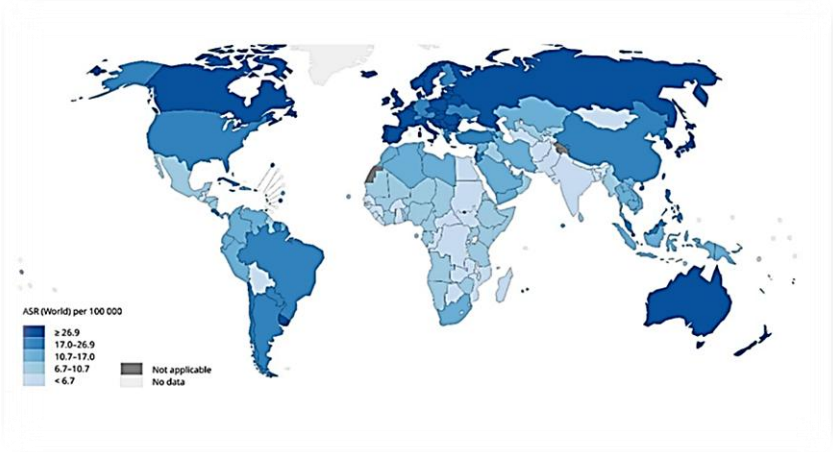
كما يلعب التاريخ الطبي للإصابة بأمراض الأمعاء الالتهابية (مثل التهاب القولون التقرحي أو داء كرون) دوراً في زيادة الخطر. بالإضافة إلى ذلك، فإن المرضى الذين خضعوا لعلاجات سرطانية سابقة أو يعانون من السكري أكثر عُرضة للإصابة، ويحتاجون إلى فحوص دورية [5]. وجدت دراسات يابانية وكورية أن الطول يُعد أحد عوامل الخطر لدى الجنسين [10]، بينما ربطت دراسات أخرى بين السمنة وزيادة الوزن وارتفاع احتمالية الإصابة.

هناك أيضاً ارتباط بين النظام الغذائي ونمط الحياة مع سرطان القولون والمستقيم؛ فاستهلاك كميات كبيرة من اللحوم الحمراء يرفع الخطر، بينما قد تؤدي التمارين المنتظمة إلى تأخير الإصابة [11]. بالإضافة لذلك، يزيد شرب الكحول والتدخين من حدة المضاعفات ومعدل الوفيات المرتبطة بالسرطان.

وفقاً للوكالة الدولية لأبحاث السرطان (International Agency for Research on Cancer :IARC) التابعة لمنظمة الصحة العالمية (WHO)، يُظهر الشكل 3 زيادة كبيرة في حالات سرطان القولون والمستقيم في المناطق الشمالية والجنوبية البعيدة من العالم مقارنة بالمناطق الوسطى، بينما سجلت مناطق أفريقيا والهند أقل النسب [12]. تزداد معدلات الإصابة مع التقدم في العمر، لكن حوالي 40٪ من الحالات تُشخص بعد سن 75 عاماً [14,13]. يتم تشخيص حوالي 40٪ من المرضى في المرحلتين الأولى والثانية، و 40٪ في المرحلة الثالثة، و 20٪ في المرحلة الرابعة [15,16].

يزداد الخطر لدى المرضى الذين لديهم زوائد لحمية قولونية Colonic Polyps (هي نتوءات أو زوائد غير طبيعية تنمو على البطانة الداخلية للقولون أو المستقيم.) أو إصابة أحد الأقارب المقربين بالسرطان أو الزوائد اللحمية القولونية [17,18]. كما ترفع الأمراض الالتهابية المزمنة للأمعاء (مثل التهاب القولون التقرحي وداء كرون) من احتمالية الإصابة، حيث يُقدَّر خطر الإصابة بالسرطان لدى هؤلاء المرضى بنحو 15–20٪ بعد 30 عاماً، خاصة عند وجود التهاب القولون التقرحي [19].

يُظهر التدخين تأثيره السلبي عبر زيادة خطر الإصابة بسرطاني القولون والمستقيم ومعدل الوفيات الناجمة عنهما [20]. في المقابل، قد يكون للنشاط البدني [21]، وتناول الأسبرين يومياً [22]، ومكملات فيتامين د مع الكالسيوم تأثير وقائي [23]. كما تشير بعض الدراسات إلى أن زيادة استهلاك الخضار والفواكه مع تقليل اللحوم قد يخفض خطر الإصابة، خاصة في الجانب الأيسر من القولون [13].



الشكل (3): المعدلات العالمية المُقدَّرة للإصابة بسرطان القولون لعام 2020.

3.مراحل تطور سرطان القولون والمستقيم (CRC):

يتم تصنيف مراحل تطور سرطان القولون إلى ثلاث مراحل رئيسية (من 0 إلى IV) تُعرف مجتمعةً بنظامTNM، وهو نظام أعدَّه الاتحاد الدولي لمكافحة السرطان (Union for International Cancer Control) واعتمدته لاحقاً لجنة السرطان المشتركة الأمريكية [12].

يعتمد هذا النظام على ثلاث معايير:

- الورم الأولي (Tumor – T): حجم الورم ومدى اختراقه لجدار القولون.

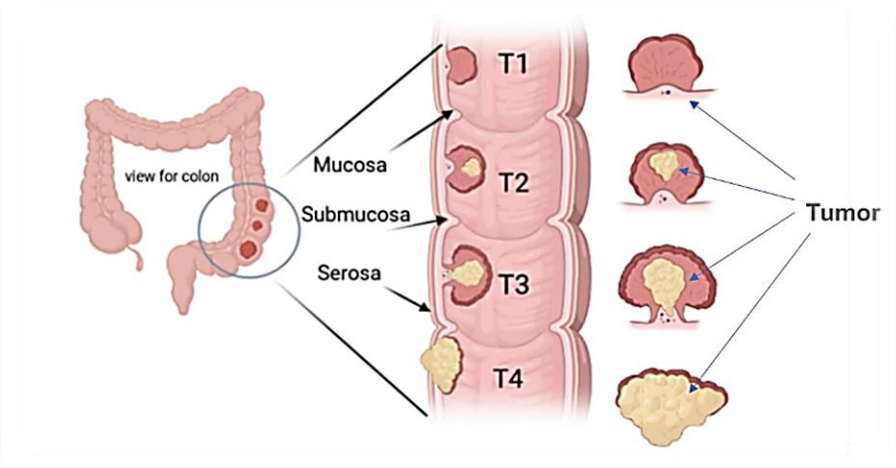
لا يوجد ورم أولي.	**T0**
الورم محدود في الطبقة المخاطية (الطبقة الداخلية).	**Tis**
اختراق الورم للطبقة تحت المخاطية.	**T1**
اختراق الورم للطبقة العضلية.	**T2**
اختراق الورم للطبقة المصلية (الخارجية).	**T3**
غزو الأعضاء المجاورة (مثل المثانة) أو الغشاء البريتوني الحشوي.	**T4**

❖ انتشاره إلى العقد اللمفاوية (Node – N): عدد العقد المصابة.

N0	لا يوجد انتشار إلى العقد اللمفاوية.
N1	انتشار إلى 1–3 عقد لمفاوية قريبة.
N2	انتشار إلى 4 عقد لمفاوية أو أكثر.

❖ وجود نقائل (Metastasis – M): انتشار السرطان إلى أعضاء بعيدة (مثل الكبد أو الرئتين).

M0	لا يوجد نقائل بعيدة.
M1	انتشار إلى عضو بعيد واحد (مثل الكبد أو الرئتين).
M2	انتشار إلى عضوين بعيدين أو أكثر.
M3	انتشار واسع عبر الغشاء البريتواني.



الشكل (4): رسم توضيحي لنمو الورم عبر الطبقة المخاطية للقولون، والمراحل المختلفة لسرطان القولون والمستقيم(T1 ، T2، T3،T4 وفقاً لنظام TNM)

1.3. تصنيف مراحل سرطان القولون والمستقيم:

- **المرحلة0 (Tis, N0, M0):**

المرحلة الأولية المبكرة جداً، حيث يقتصر الورم على الطبقة المخاطية (الداخلية) للقولون دون نمو خارجها.

- **المرحلة 1 (T1–T2, N0, M0):**

يخترق الورم الطبقة تحت المخاطية (Submucosa) أو العضلية دون انتشاره إلى العقد اللمفاوية.

- **المرحلة 2:**

يتطور الورم دون انتشاره إلى العقد اللمفاوية، وتنقسم إلى:

- **A2** (T3, N0, M0): يصل إلى الطبقات الخارجية للقولون دون اختراقها بالكامل.
- **B2** (T4a, N0, M0) : يصل إلى الغشاء البريتوني الحشوي
- **C2** (T4b, N0, M0): يغزو الأعضاء أو الأنسجة المجاورة .

- **المرحلة 3:**

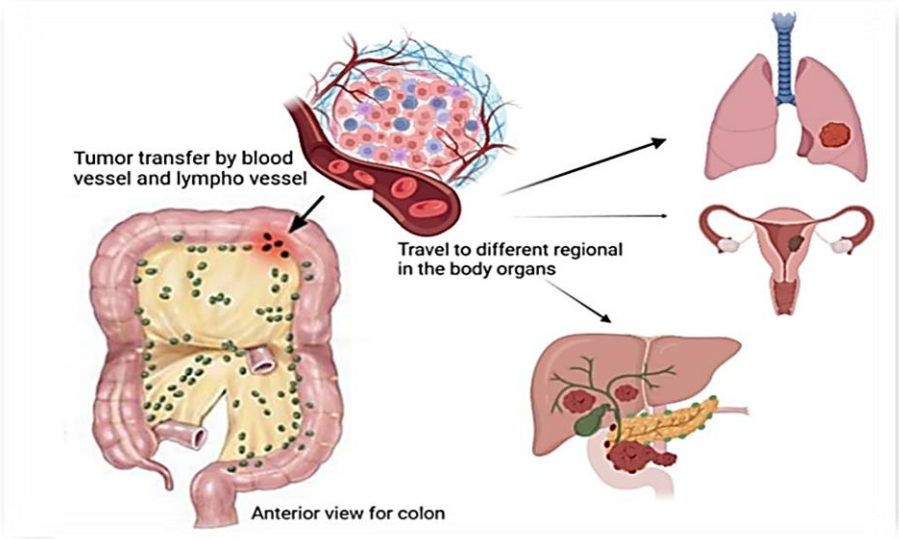
- **A3** (T1-T2, N1, M0): ينتشر الورم إلى العقد اللمفاوية القريبة.
- **B3** (T3-T4, N1, M0): يصيب الورم 3–4 عقد لمفاوية أو أكثر.
- **C3** (any T, N2, M0): يخترق الورم الطبقات العضلية ويصيب 4 عقد لمفاوية أو أكثر في المنطقة المصابة.

- **المرحلة 4:**

- **A4** (any T, any N, M1): ينتشر الورم إلى عضو بعيد واحد كالكبد أو الرئتين.
- **B4** (Any T, Any N, M2): يصل إلى الورم عضوين بعيدين أو أكثر.
- **C4** (Any T, Any N, M3): ينتشر الورم عبر الغشاء البريتواني بأكمله.

أما بالنسبة للتصنيف النسيجي، يُحدَّد مدى تشابه الخلايا السرطانية مع الخلايا الطبيعية تحت المجهر، ويُصنَّف الورم من الدرجة 1 الأقل عدوانية، تشبه الخلايا الطبيعية إلى الدرجة الرابعة الأكثر عدوانية، وتتميز بنموها السريع. تُشير الدرجات العالية إلى نمو أسرع وتطور أشرس للمرض [24].

- ❖ الدرجة 1 (منخفضة): الخلايا تشبه الخلايا الطبيعية، نمو بطيء.
- ❖ الدرجة 2 (متوسطة): اختلاف معتدل في الشكل.
- ❖ الدرجة 3 (عالية): خلايا شديدة الاختلاف، نمو سريع.
- ❖ الدرجة 4 (غير متمايزة): خلايا شاذة تمامًا، عدوانية جدًا.



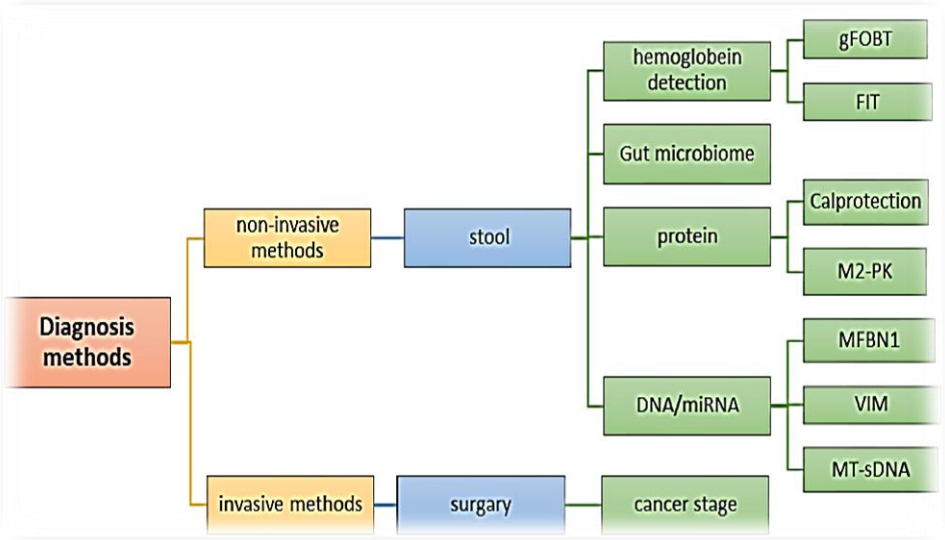
الشكل(5) : رسم توضيحي لوجود خلايا ورم سرطاني في القولون، حيث يمكنها الانتقال إلى مناطق مختلفة من جسم الإنسان مثل الرئتين، الكبد، والمبيضين.

4.استراتيجيات تشخيص سرطان القولون والمستقيم(CRC) :

تُستخدم عدة طرق لاكتشاف الورم في مراحله المبكرة (كما هو موضح في **الشكل** 6) .رغم صعوبة الاعتماد على عينات الدم وحدها لتشخيصCRC ، إلا أن هناك أساليب تشخيصية متعددة تشمل طرقاً غير جراحية مثل الفحوص المخبرية بالإضافة إلى الطرق التصويرية والجراحية مثل التنظير. تُساعد الطرق المتقدمة مثل التوصيف الجيني والجزيئي للورم في التشخيص، لكنها ما تزال مرتبطة بتحديات مثل ضعف دقة التشخيص في بعض الحالات، في الممارسة السريرية، تُستخدم المؤشرات الحيوية (مثل تحاليل الحمض النووي) والتشخيص الجزيئي (مثل تحليل miRNA لاكتشاف المرض بدقة عالية).

1.4.أعراض سرطان القولون والمستقيم:

تشمل الأعراض العامة لدى المرضى: تغيرات في عادات التبرز، ونزيف شرجي، ودم في البراز، وآلام بطنية، وتشنجات، وفقدان وزن غير مبرر، أو إرهاق. يُعد الكشف المبكر عن سرطان القولون عاملاً شديد الأهمية لزيادة فرص النجاح في العلاج، غالباً لا تظهر أعراض شديدة في المراحل الأولى. أكثر الأعراض شيوعاً تشمل النزيف الشرجي، أو براز داكن اللون، أو دم في البراز، وتغيرات مفاجئة في نمط التبرز مثل الإمساك [4].



الشكل (6): الطرق الجراحية (الباضعة) والطرق غير الباضعة، في تشخيص سرطان القولون

2.4. المؤشرات الحيوية الكيميائية والجزيئية:

تُستخدم عدة أنواع من المؤشرات الحيوية والجزيئات الكيميائية في تشخيص سرطان القولون والمستقيم، مثل البروتينات، والحمض النووي الخاص بالورم، والخلايا المشتقة من الورم، وmiRNA، وCEA، وM2-PK. يمكن اكتشاف هذه المركبات الجزيئية في سوائل الجسم مثل البول، والسائل النخاعي، وسوائل الاستسقاء في البطن، والانصباب الجنبي، والدم، والبراز، وبعض الخزعات السائلة التي تحتوي على خلايا خبيثة.

تُعد هذه الطريقة التشخيصية أفضل من فحص الدم الخفي في البراز أو الفحص المناعي البرازي؛ نظراً لسرعة نتائجها، وكونها غير باضعة، وبسبب تكلفتها المنخفضة نسبياً، مع تمتعها بحساسية ونوعية أعلى في الكشف عن المؤشرات الحيوية الجزيئية [26] بالإضافة لذلك يتم التشخيص من خلال الكشف عن الخلايا الورمية المنتشرة Circulating Tumor Cells – CTCs وهي خلايا سرطانية توجد في مجرى الدم أو حول الورم. تُعد هذه الخلايا أحد المؤشرات الحيوية المُستخدمة للكشف عن السرطان أو تقييم فعالية العلاجات [26].

الجدول (1): الطرق التشخيصية الجزيئية.

المؤشرات الجزيئية	الوصف	طرق التشخيص	المرجع
CEA المستضد السرطاني الجنيني	بروتين في الدم	يتم قياسه باستخدام فحص دم. يشير ارتفاع مستوى CEA إلى وجود سرطان القولون.	[27]
الكالبروتكتين	**بروتين في البراز**	طريقة فحص غير باضعة. قد يشير ارتفاع مستوى البروتين في البراز عن المعدل الطبيعي إلى وجود سرطان القولون والمستقيم.	[27]
M2–PK	وهو إنزيم يرتفع مستواه عادة في دم المرضى المصابين بسرطان القولون.	يتم قياسه باستخدام فحص الدم. يشير ارتفاع مستوى M2–PK إلى وجود سرطان القولون.	[27]
S100A12	بروتين موجود في الدم	يتم قياسه باستخدام فحص دم. قد يشير ارتفاع مستوى S100A12 إلى وجود سرطان القولون.	[27]

[27]	وهو فحص جيني لأنسجة الورم. وجود MSI قد يشير إلى ارتفاع احتمالية الإصابة بسرطان القولون.	وهو عبارة عن تغيير جيني.	Microsatellite instability (MSI)
[27]	يتم تشخيصه من خلال الفحص الجيني لأنسجة الورم. وجود طفرة في جين KRAS قد يشير إلى ارتفاع احتمالية الإصابة بسرطان القولون.	هذا هو التغيير الجيني الموجود في حوالي 40٪ من حالات سرطان القولون.	KRAS طفرات

3.4. تشخيص سرطان القولون والمستقيم عبر الطرق النانوية الجزيئية:

ثبت وجود اختلال في تنظيم بعض الـ miRNAs مثل miR-18a ، miR-21، miR-155، miR-221 , miR-375 في عدة أنواع من السرطانات، بما في ذلك سرطانات الثدي، الرئة، القولون، البنكرياس، البروستاتا، المعدة، المبيض، المريء، والكبد [28]. تعتمد بعض المؤشرات الحيوية للكشف عن السرطان على مؤشرات الحمض النووي (DNA) الموجودة في عينات الدم أو البراز، مثل اختبار الحمض النووي المناعي البرازي .كما تتوفر فحوص تعتمد على عينات الدم للكشف عن البروتينات والبروتينات السكرية تتوفر العديد من اختبارات المؤشرات الحيوية في الدم التي تستهدف البروتينات والبروتينات السكرية مثل الميوسينات (Mucins) وهي بروتينات سكرية تُفرزها الخلايا الظهارية (Epithelial Cells) لتشكيل طبقة واقية.

ترتبط مستوياتها غير الطبيعية بسرطانات مثل سرطان القولون والبنكرياس، بالإضافة إلى اختبارات الحمض النووي الخالي من الخلايا (cfDNA) وهي عبارة عن شذف من ال DNA تتحرر من الخلايا الميتة أو السرطانية إلى مجرى الدم. يُستخدم الاختبار لاكتشاف الطفرات الجينية أو التغيرات الورمية (مثل طفرات KRAS في سرطان القولون) [29].

قد تُستخدم جينات محددة ضرورية لعملية التحول السرطاني كإشارات للكشف عن هذه الأورام إذا وُجدت في البراز أو الأنسجة [30].

الجدول (2): الجينات الأكثر أهمية المطلوبة لتطور السرطان ومواقعها [30].

العينة	الموقع الكروموسومي
البراز	5q21, 17p13, and 12p
الأنسجة	17p13, 3p22, 2q31–33, 2p21, 18q21, 20q11, 18q21, 2p21, 7p22, and 3p21
المفرزات القولونية والحمض النووي القولوني	12p

الحمض النووي الورمي (ctDNA: Circulating Tumor DNA): يُعد أحد الطرق التشخيصية للكشف عن السرطان، حيث تُشير المستويات المرتفعة من **الحمض النووي الخالي من الخلايا (cfDNA) (بين 180 و200) إلى وجود ورم. يُعزى وجود هذا الحمض النووي أو النيوكليوسومات في الدم إلى اختلال تنظيم إنزيمات الكاسباز (Caspases) [26]. رغم أن تركيزه قد يرتفع في حالات مثل السكتات الدماغية، إلا أنه مؤشر موثوق لتشخيص سرطان القولون والمستقيم وتقييم فعالية العلاج [26,31].

الـ miRNA في الدوران (c–miRNA): يُستخدم حديثاً كطريقة تشخيصية غير باضعة لسرطان القولون والمستقيم [32]. يلعب دوراً في تنظيم دورة الخلية، واختلال وظائفه يرتبط بأمراض مثل السرطان. توجد تراكيز أعلى من الـ miRNA في البلازما مقارنة بالمصل. تُستخدم الأنواع التي تزيد أو تقل بشكل ملحوظ (مثل miRNA 230 مرتبطة بتحول الغشاء المخاطي المعوي من الحالة الحميدة إلى السرطانية) كمؤشرات سريرية [26,33].

متيلة جين SEPT9: من أهم المؤشرات الحيوية الدموية للكشف عن سرطان القولون، وتُستخدم لتحديد مرحلة المرض. تتراوح دقتها بين 57% إلى 64% في المراحل المبكرة (0–I)، بينما تزداد في الحالات المتقدمة [26,34].

الـ RNA الطويل غير المشفر (lncRNA: Long non-coding RNA): يوجد في جميع سوائل الجسم (مثل الدم، البلازما، البول)، وينقسم إلى نوعين:

- ❖ الـ RNA الصغير غير المشفر (حوالي 200 نوكليوتيد)، مثل الـ miRNA وـsiRNA.
- ❖ الـ RNA الطويل غير المشفر (أكثر من 200 نوكليوتيد)، والذي يؤثر على الخلايا السرطانية عبر آليات متعددة. ترتبط بعض أنواعه بمراحل تطور السرطان، لكن هذه الطريقة مكلفة وتستغرق وقتاً طويلاً ودقة نتائجها محدودة [26].

4.4. المؤشرات الحيوية الكروموسومية لسرطان القولون والمستقيم:

يُعد فقدان التغاير الجيني (Loss of Heterozygosity – LOH) في منطقة كروموسوم 18 qأمراً شائعًا في المراحل المتأخرة من تطور سرطان القولون، وهو يرتبط عكسيًا مع عدم استقرار MSI.

أظهرت الدراسات أن فقدان التغاير الجيني في كروموسوم q18 يتنبأ بفترات بقاء أقصر لمرضى سرطان القولون والمستقيم، في حين يرتبط الوضع MSI-high بإنذار أفضل [35].

فقدان التغاير الجيني (LOH) في كروموسوم q18:

- ❖ يُستخدم كعلامة حيوية لاتخاذ القرارات العلاجية، حيث أظهرت دراسات أن العلاج الكيميائي لا يؤدي إلى الشفاء التام في الحالات ذات LOH.
- ❖ يُعتبر مؤشرًا لضرورة استخدام علاجات مُستهدفة أو مُكثفة.

طفرة P53 (في المنطقة p1317 من الكروموسوم):

- ❖ المرضى الحاملون لهذه الطفرة غالبًا ما يستجيبون بشكل أفضل للعلاج الكيميائي مقارنة بالجراحة وحدها [36].
- ❖ تُسهم الطفرة في زيادة عدوانية الورم ومقاومته للعلاجات التقليدية.

العلاقة بين LOH و MSI:

العلامة	التأثير على الإنذار	الاستجابة للعلاج
LOHفي q18	إنذار أسوأ (بقاء أقصر)	مقاومة نسبية للعلاج الكيميائي
MSI–high	إنذار أفضل	استجابة جيدة للعلاج المناعي

5.4. الميتاجينوميات البرازية:

التحاليل الميتاجينومية هي تقنيات تُستخدم لدراسة المادة الجينية (DNA/RNA) المُستخلصة مباشرةً من عينات بيئية أو سريرية (مثل البراز،أو أنسجة الجسم) دون الحاجة إلى زراعة الميكروبات في المختبر. تهدف لفهم التنوع الوظيفي والتركيبي للميكروبات في بيئاتها الطبيعية.عادةً ما يكون الفحص البرازي أول اختبار يطلبه الأطباء للكشف عن الدم في العينة. هناك نوعان من الفحوص: اختبار الدم الخفي (Gfobt) الذي يكشف عن وجود الدم في البراز، والفحص المناعي البرازي (FIT) الأكثر دقةً لكونه يكتشف الهيموجلوبين في العينة [7].

حديثاً، اختُبرت دراسات الميتاجينوميات البرازية باستخدام بيانات لتأكيد فعالية مؤشرات الميكروبيوم التشخيصية عبر مجموعات سكانية مختلفة، حيث تم تحديد 29 نوعاً بكتيرياً رئيسياً مرتبطاً بزيادة خطر سرطان القولون والمستقيم. أثبتت العلامات الميكروبية فعاليتها كطريقة تشخيصية مبكرة للسرطان، وقد تساهم في تقليل الوفيات المرتبطة به [1].

أظهرت دراسات أخرى زيادة في نسب بكتيريا مثل Parvimonas micraSolobacterium moorei و Peptostreptococcus stomatitis في ميكروبيوم براز المرضى. تم تأكيد هذا الأمر عبر تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR: Polymerase Chain Reaction) وتم اكتشاف زيادة ملحوظة في بكتيريا Fusobacterium nucleatum في عينات براز وأنسجة المرضى، بالإضافة إلى ذلك تم إجراء تحاليل ميتاجينومية أظهرت تركيزاً عالياً للجينات البكتيرية المرتبطة بزيادة شدة الورم.

كشفت دراسات مقارنة بين عينات مرضى سرطان القولون وعينات شاهدة عن انتشار جينات الذيفانات (مثل enterotoxigenic B وETBF) بشكل أعلى، حيث رُصد جين bft (المُشفّر لذيفان B. fragilis) في الغشاء المخاطي والبراز، خاصة في المراحل المتأخرة من السرطان [14].

أما من ناحية المستقلبات فقد أظهرت دراسات حديثة أن اختلال توازن ميكروبيوم الأمعاء يؤدي إلى انخفاض تركيز الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة (SCFAs: Short-Chain Fatty Acids) التي تُنتج عادةً عن تخمير الكربوهيدرات في القولون وتلعب دوراً حيوياً في الحفاظ على توازن الأمعاء. يمكن أن يكون قياس هذه الأحماض في البراز مؤشراً حيوياً غير باضع لتشخيص أمراض الأمعاء، بما في ذلك السرطان [1].

6.4. مؤشرات حيوية أخرى:

كشفت أبحاث حديثة عن مؤشرات حيوية جديدة في القناة الهضمية قد تكون مفيدة في تشخيص وتوقع تطور سرطان القولون والمستقيم (CRC). ومع ذلك، هناك عدة تحديات في وجه استخدام المؤشرات الحيوية في التطبيقات السريرية. أولاً، في معظم الأحيان تكون حساسيتها في المراحل المبكرة لسرطان القولون ضعيفة جدًا. بالإضافة لذلك، يجب أن تكون العينات عالية الجودة، كما أن التكلفة مرتفعة للغاية [29]. إلا أن الطرق التشخيصية الجراحية باهظة الثمن وتنطوي على مخاطر صحية عديدة، مثل النزيف داخل البطن، وثقب القولون، والنزيف بعد استئصال السلائل، واحتمال الإصابة بالعدوى.

ومع ذلك، وقبل إجراء تشخيص جراحي، ينصح الأطباء عادةً باستخدام تنظير القولون والتصوير المقطعي المحوسب (CT) لتقييم القولون بأكمله بدقة. وبمجرد اكتشاف مشكلة، يُجرى التدخل الجراحي لتقييم مرحلة السرطان بشكل كامل ووضع خطة علاجية أفضل. إضافة إلى ذلك، هناك دراسات عديدة تتعلق ببعض المؤشرات الحيوية التنبؤية لدى مرضى سرطان القولون والمستقيم، مثل العلاج بمضادات مستقبل عامل النمو البشري (EGFR).

يؤثر هذا التحور الجيني على 37% من المرضى، وهو الأكثر شيوعًا في الأمراض الورمية، ويُعتبر ذا أهمية كبيرة في سرطان القولون والمستقيم، حيث يُستخدم كعامل تنبؤي للاستجابة للأجسام المضادة لل EGFR، فضلاً عن كونه عاملًا تنبؤيًا للعلاج. أما المؤشر الحيوي الآخر فيتعلق بالسمية المحتملة لعقار إيرينوتيكان (irinotecan).

يُثبط هذا العامل تكاثر خلايا الموت المبرمج (الاستماتة)، ويُعتبر إنزيم UGT1A1 مؤشرًا حيويًا بالغ الأهمية للسمية المحتملة للإيرينوتيكان، إلا أنه لا يُظهر استجابةً كافيةً للعلاجات. أما فيما يخص المؤشرات الحيوية للعلاج الموجه لعامل نمو البطانة الوعائية (VEGF)، فقد تم طرح أدوية مضادة لتكوين الأوعية الدموية، مثل بيفاسيزوماب (bevacizumab) وريجورافينيب (regorafenib) وأفلبرسيبت (aflibercept). ومع ذلك، لا توجد دراسات تثبت فاعليتها كعوامل تنبؤية.

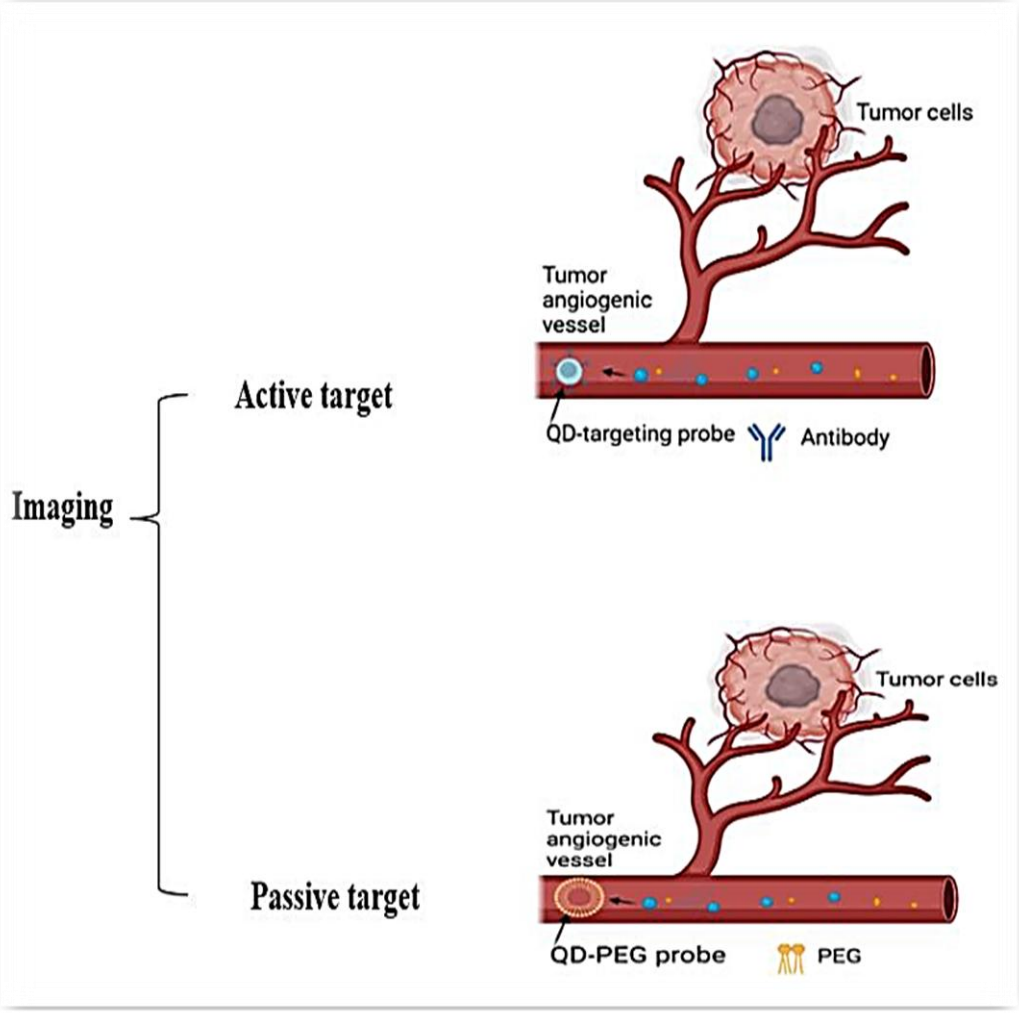
7.4. دراسات التصوير:

يتم تشخيص سرطان القولون والمستقيم (CRC) باستخدام مجموعة من أساليب التصوير، بما في ذلك التصوير بالموجات فوق الصوتية عبر المستقيم (TRU: Transrectal Ultrasound)، والتصوير بالرنين المغناطيسي (MRI: Magnetic Resonance Imaging)، والتصوير المقطعي للقولون (CTC). تساعد أدوات التصوير مثل التصوير المقطعي المحوسب (CT: Computed Tomography)، والتصوير بالرنين المغناطيسي (MRI)، والتصوير المقطعي بالإصدار البوزيتروني (PET: Positron Emission Tomography) في تحديد مرحلة المرض من خلال تقييم حجم السرطان، ومدى غزوه للأنسجة المجاورة، وانتشاره إلى العقد اللمفاوية، وإمكانية انتقاله إلى مواقع بعيدة.

تُساهم هذه المعلومات في اتخاذ قرارات العلاج. يمكن الاستفادة من التقنيات في التقييم الجراحي للكشف المبكر ومقارنة النتائج قبل العلاج أو بعده. كما يمكّن التصوير الدقيق أطباء الأورام والجراحين من التخطيط للعلاج الإشعاعي أو الكيميائي قبل الجراحة بدقة أكبر، مثل اختيار مجال الجرعة الإشعاعية المناسبة، أو تحديد الجدول الزمني الأمثل للعلاج الكيميائي.

ومع ذلك، تظل هذه التقنيات أقل دقة في اكتشاف السلائل الصغيرة، وقد تعطي نتائج إيجابية خاطئة في تحديد المرحلة السريرية لدى مرضى سرطان القولون والمستقيم [2]. في بعض التطبيقات الطبية، تُستخدم جسيمات نانوية مثل Fe_3O_4، و$\alpha-Fe_2O_3$، و$\gamma-Fe_2O_3$، وPNA، وAuNPs، حيث تم تحديد جسيمات مختلفة في الجدول 3 يمكن اعتبارها مرشحة مناسبة.

على سبيل المثال، تُعد جسيمات Fe3O4 (الماغنتيت)، وα-Fe2O3 (الهيماتيت)، وγ-Fe2O3 (الماغيميت) النانوية خيارات قابلة للتطبيق في تقنيات مثل الفحص المجهري الإلكتروني الماسح بانبعاث الحقل (FESEM)، ومطيافية الأشعة الضوئية السينية (XPS: X-ray Photoelectron Spectroscopy)، ومطيافية تشتت الطاقة للأشعة السينية (EDX)، ومطيافية حيود الأشعة السينية (XRD: X-ray Diffraction)، ومطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فوريه للكشف عن السرطان [37]. تم توضيح هذه التقنيات وفوائد استخدام بعض الجسيمات النانوية في التصوير.



الشكل (7): رسم توضيحي لتصوير الخلايا السرطانية باستخدام طرق الاستهداف النشط (الأجسام المضادة – Antibodies) والاستهداف السلبي (PEG).

الجدول (3): الجسيمات النانوية المُستخدمة لتحسين التصوير الطبي.

الجزيئات النانوية	طريقة التصوير	الفوائد	النتائج	المرجع
Peanut agglutinin (PNA)	الفلورة	اكتشاف أنسجة سرطان القولون والمستقيم صغيرة الحجم في المرحلة المبكرة	تصوير أفضل للأغشية المخاطية ولخلايا سرطان القولون والمستقيم	
maghemite Fe_2O_3 and γ-Fe_2O_3	مطيافية رامان	إمكانية كبيرة لتشخيص سرطان القولون والمستقيم		
AuNPs	مطيافية رامان (SERS)	يتم التفريق بين الخلايا الطبيعية والمصل السرطاني	تحسين الرؤية والكشف عن المصل السرطاني	[2]
Quantum dots (QDs)	الفلورة	تصدر من الأطوال الموجية المرئية إلى الأشعة تحت الحمراء عند الإثارة	تصوير أفضل للخلايا السرطانية	
Raman scattering (RS) and fiber optic probes		القدرة على العمل في الأعضاء المجوفة وتشخيص سرطان القولون والمستقيم	تقنية تعتمد على خلية واحدة مع تصوير أفضل للسرطان	
H2O2	الفلورة	الكشف عن الخلايا السرطانية في الدوران	استهداف الورم والتصوير بشكل أفضل	[38]
Element barium	X–ray	المساعدة في تحسين جودة صور الأشعة السينية	محلول الباريوم يغطي بطانة القولون	[7]

يُستخدم التصوير المقطعي للقولون للكشف عن السرطانات والحالات الأخرى التي تؤثر على القولون. كما يتم البحث عن زوائد كبيرة، مثل الزوائد اللحمية، داخل المستقيم والقولون لدى المرضى. تُعد الزوائد اللحمية نمواً على بطانة القولون قد تتحول أحيانًا إلى سرطانات [41].

8.4. تنظير القولون:

يُعتبر تنظير القولون الطريقة التشخيصية الرئيسية لاكتشاف سرطان القولون. فهو يسمح للطبيب برؤية داخل القولون باستخدام كاميرا أو أخذ عينة نسيجية لإرسالها إلى المختبر لتحليلها وتحديد ما إذا كانت سرطانية أو ما قبل سرطانية أو غير سرطانية. وهو مفيد جداً لتحديد مرحلة السرطان ونوعه والمنطقة المصابة. في بعض الحالات، يمكن إزالة الورم عبر المنظار.

توجد أيضاً أنواع مختلفة من تنظير القولون، بما في ذلك تنظير السيني، الذي يفحص الجزء الأخير من القولون فقط باستخدام أنبوب مرن مزود بإضاءة [7]. مع ذلك، هناك مخاطر صحية مرتبطة بتنظير القولون، ويُصنف كطريقة جراحية باضعة. تشمل هذه المخاطر نزيفاً من موقع أخذ الخزعة أو إزالة النسيج، أو أحياناً تمزقاً أو ثقباً في جدار القولون أو المستقيم أثناء الإجراء [39].

كفحص وقائي، يوصي الأطباء بإجراء تنظير القولون كل خمس سنوات، خاصة للأفراد فوق 45 عاماً ولذوي التاريخ العائلي لسرطان القولون. كما قد يتم استخدام تنظير الكبسولة للقولون (Colon Capsule Endoscopy) وهو إجراء تشخيصي غير جراحي يُستخدم لفحص القولون والأمعاء الغليظة باستخدام كبسولة صغيرة بحجم حبة الدواء تحتوي على كاميرا مدمجة. تُعتبر بديلًا لتنظير القولون التقليدي في بعض الحالات، خاصةً للمرضى الذين لا يستطيعون تحمل التنظير التقليدي بسبب الألم أو المخاطر الصحية.

تحتوي الكبسولة على كاميرا دقيقة، مصدر ضوء، وبطارية وتلتقط آلاف الصور أثناء مرورها عبر الجهاز الهضمي ثم تُرسل الصور لاسلكيًا إلى جهاز تسجيل يرتديه المريض على خصره. تخرج الكبسولة مع البراز خلال 8–12 ساعة ثم تُحلل الصور بواسطة برامج حاسوبية متخصصة. لكن عند إجراء هذه الطريقة لا يمكن أخذ خزعات أو استئصال الزوائد اللحمية وقد لا يتم الانتباه لبعض الآفات الصغيرة مقارنة بالتنظير التقليدي. بالإضافة لتكلفتها العالية [40–43].

5. دور الجينات الصغيرة (MS) في سرطان القولون:

الجينات الصغيرة (MS: Microsatellites)، والتي تُسمى أيضًا التكرارات الترادفية القصيرة (STRs: Short Tandem Repeats) أو التكرارات التسلسلية البسيطة (SSRs: Simple Sequence Repeats)، تتكون من سلاسل متكررة من 1 إلى 6 نيوكليوتيدات [44]. تختلف خصائص توزيعها عن توزيع الحمض النووي الصغير (satellite DNA) الذي يتكون من تكرارات ترادفية طولها من 15 إلى 65 نيوكليوتيد، والذي يقع بشكل رئيسي بالقرب من نهايات الكروموسومات. بينما تنتشر الجينات الصغيرة على نطاق واسع في الجينوم، وغالبًا ما توجد بالقرب من المناطق المُشَفِّرة، كما قد تتواجد في مناطق أخرى مثل الإنترونات أو المناطق غير المُشَفِّرة.

يتكون كل موقع محدد للجينات الصغيرة من جزأين: القلب المركزي (الذي يحتوي على الوحدات المتكررة) والأطراف المحيطة به. وتكمن الخاصية الرئيسية للجينات الصغيرة في التغير الذي يحدث في عدد وحدات التكرار الأساسية.

يعتقد أن الجينات الصغيرة يُعتقد عمومًا أنها ناتجة عن انزياح خيط DNA أثناء عملية النسخ. يحدث هذا الأمر عندما يحدث عدم تطابق بين القواعد النيتروجينية للخيط المنزلق والخيط المكمل أثناء عملية نسخ أو إصلاح DNA، مما يؤدي إلى حذف أو إدخال وحدة تكرار واحدة أو أكثر.

يمكن لنظام إصلاح DNA في الأنسجة السليمة، المُسَمَّى إصلاح عدم التطابق (MMR: Mismatch Repair)، تصحيح هذه الأخطاء أثناء نسخ DNA. ومع ذلك، بسبب نقص جينات MMR في الخلايا السرطانية أو وجود خلل في عملية الإصلاح، تزداد احتمالية حدوث الطفرات الجينية [45]. ومن ثم، يُعد عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) عاملاً مهماً في حدوث الأورام الخبيثة وتطورها.

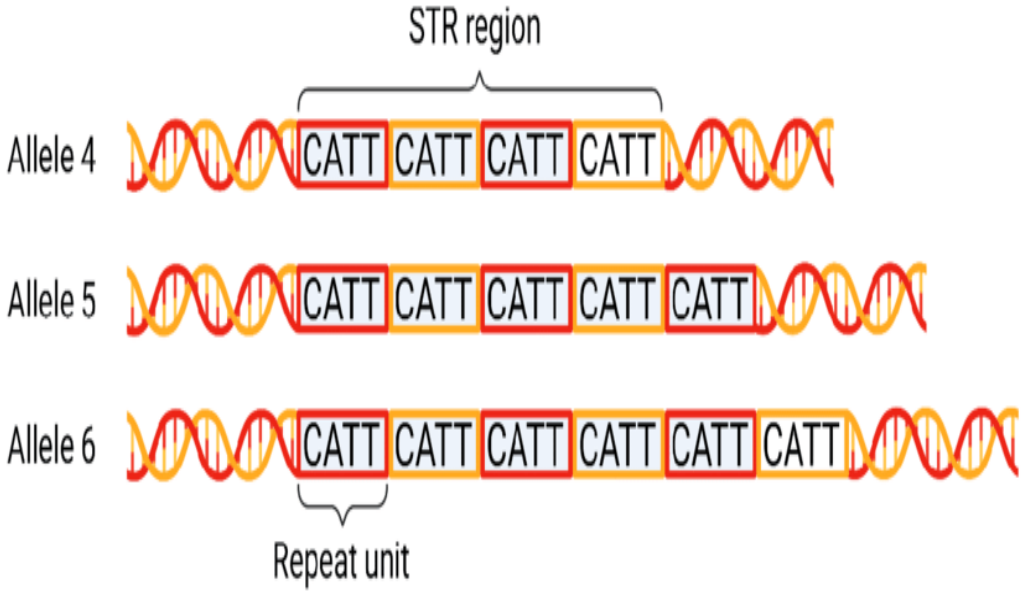
بناءً على تواتر عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI: Microsatellite Instability)، يمكن التمييز بين ثلاثة أنواع: عدم الاستقرار العالي للجينات الصغيرة (MSI–H)، وعدم الاستقرار المنخفض للجينات الصغيرة (MSI–L)، واستقرار الجينات الصغيرة (MSS: Microsatellite Stable) [46]. وفي الوقت الحالي، تميل الأبحاث السريرية إلى تصنيف MSI–L وMSS كنوع واحد. ووفقًا للآليات الجزيئية المختلفة لعدم الاستقرار MSI في سرطان القولون والمستقيم، يمكن تقسيمه إلى سرطان قولوني مستقيمي (CRC) لا يظهر فيه تاريخ وراثي عائلي واضح، ومتلازمة لينش (السرطان القولوني المستقيمي الوراثي) المرتبط بتاريخ وراثي عائلي.

أظهرت النتائج المبكرة للباحثين أن معظم حالات MSI هي سرطانات قولونية مستقيمية متقطعة، تنتج عن تعطيل وظيفة الجين فوق الجيني بسبب متيلة المُنشط الخاص بالجين hMLH1 دون حدوث طفرة جينية مباشرة.

أما متلازمة لينش فهي متلازمة ورمية ذات تنتقل بشكل جسدي سائد تسببها طفرات في جينات نظام إصلاح عدم التطابق (MMR)، وهي لا تسبب أورامًا في أجزاء أخرى من القولون والمستقيم فحسب، بل يمكن أن تؤدي أيضًا إلى أورام في أعضاء أخرى [47].

بسبب القيود التي كانت تعيق عن الكشف المبكر عن عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) والغموض الذي أحاط بآليته في البداية، كان لا يمكن سوى استخدام أدوية كيميائية محددة لعلاج المرضى المصابين به، ولم تكن النتائج مُرضية. ولكن مع التطور الحديث في تقنيات كشف عدم الاستقرار الجيني MSI واستخدام الأدوية المثبطة للمناعة في علاج الأورام، وجد الباحثون أن الأورام ذات النوع MSI–H تستجيب بشكل جيد للعلاج المناعي.

وقد وافقت إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) على عقار Keytruda (كيتوردا)، وهو دواء يعمل على حجب بروتين PD–L1، لعلاج المرضى المصابين بـ MSI–H أو خلل نظام إصلاح عدم التطابق (MMR). ومن ثم، بدأ العلماء في إجراء أبحاث أكثر عمقًا حول طرق كشف MSI وآليته والعلاقة بينه وبين الأورام.



الشكل (8): الجينات الصغيرة (MS)، والتي تُسمى أيضًا التكرارات الترادفية القصيرة.

5.1. عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) كآلية فريدة في تطور الأورام:

بعد نشر النموذج الجيني للتسرطن القولوني المستقيمي، شرع العديد من الباحثين في دراسة الجينوم من أجل البحث عن جينات جديدة مثبطة للأورام باستخدام تقنيات حديثة نسبياً. في عام 1992، استخدم مانويل بيروتشو تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) ببادئات عشوائية، حيث استخلص الحمض النووي من أنسجة القولون وضخم آلاف التسلسلات باستخدام عدد قليل من بادئات PCR المختارة عشوائياً. أسفرت هذه التقنية عن بصمات كهربائية هلامية فريدة ولكن قابلة للتكرار من كل عينة [48].

استخدم فريق بيروتشو تقنية PCR وبادئات عشوائية لتضخيم عينات متطابقة من الحمض النووي مأخوذة من أورام القولون والمستقيم والأنسجة القولونية الطبيعية المجاورة لها، ثم فصل نواتج تفاعل PCR كهربائياً، وقارنوا النتائج لتحديد الاختلافات بين الأنسجة الطبيعية والورمية حيث أن الحمض النووي المفقود من الورم من المفترض أن يمثل حذفاً في الخلايا الجسدية وكانت تلك المناطق مرشحة لأن تكون جينات جديدة مثبطة للأورام.

تم العثور على نطاقات DNA محذوفة في معظم عينات أورام القولون والمستقيم [49]. ومع ذلك، لاحظ العلماء أن 12% من حوالي 130 ورمًا تحتوي على نطاقات لم تُمحَ فعليًا، ولكنها كانت أقصر في الطول وهاجرت لمسافة أبعد قليلاً على الهلام. قاموا بتحليل تسلسلات هذه النطاقات واكتشفوا أنها تحتوي على تسلسلات متكررة بسيطة (أي، جينات صغيرة / ميكروساتلايت).

الحمض النووي المستخلص من هذه المجموعة من الأورام قد خضع لحذف جسدي لواحد أو أكثر من بقايا الأدينين. مما سمح بتقدير أن كل ورم يحتوي على حوالي 100,000 من هذه الطفرات. كانت الأورام التي تملك هذه "الطفرات الجسدية المنتشرة في التسلسلات المتكررة البسيطة" تتميز بخصائص سريرية ومرضية فريدة.

أولاً، كانت الأورام ذات طفرات الحذف أكثر احتمالية بشكل ملحوظ أن تنشأ في القولون القريب، وكانت أقل احتمالية لأن تكون غازية، كانت أقل احتمالية لأن تحتوي على طفرات في KRAS أو p53، وكانت أكثر احتمالية أن تظهر بشكل غير متمايز، وكانت تأتي من مرضى أصغر سنًا. بناءً على هذه النتائج، استنتج المؤلفون أن هذه الحذوفات تمثل مسارًا فريدًا لتطور الورم وتوقعوا أن "الفقدان الكبير لدقة آلية النسخ في الخلايا الطبيعية" الذي تسبب فيها قد يكون وراثيًا، على الرغم من عدم وجود دليل لديهم على ذلك في ذلك الوقت [49].

بالتزامن مع ذلك، كان مختبر ستيفن ثيبودو يدرس تسلسلات التكرار الثنائي النوكليوتيد (وهي نوع من الجينات الصغيرة) التي كانت مفيدة كأدوات للرسم الجيني وتحليل فقدان الغلبة (LOH)، وباحثًا عن جينات مثبطة جديدة للأورام على الكروموسومات q5 وq15 وp17 وq18 في أورام القولون والمستقيم.

لوحظ طفرات الحذف في تسلسلات n[CA] (المسماة "تكرارات C A") في هذه المناطق واصطلحوا على مصطلح عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) والذي أسموه آنذاك MIN. اكتشفوا عدم الاستقرار MSI في 25 من أصل 90 حالة سرطان قولوني مستقيمي (28%)، وأشاروا إلى أن هذه الشذوذات كانت غير متجانسة في الأورام المختلفة.

أطلقوا على الحذف الكبير أو التوسع الكبير داخل سلسلة n[CA] اسم "الطفرة من النوع الأول"، بينما سموا التغير الصغير في تكرار زوج قاعدي واحد "الطفرة من النوع الثاني". لم يتم أبداً توضيح الآثار المترتبة على الطفرات من النوع الأول بالمقارنة مع النوع الثاني، ولكنها قد تعكس الطبيعة التراكمية للطفرات في تسلسلات التكرار الثنائي النوكليوتيد مع مرور الزمن [50]. يُعد هذا العمل المبكر، إلى جانب بحث بيروتشو، حجر الأساس في تعريف عدم استقرار الجينات الصغيرة كآلية مميزة ومهمة في تكون الأورام، مما فتح المجال لأبحاث مكثفة حول آليته وتشخيصه وأهميته السريرية.

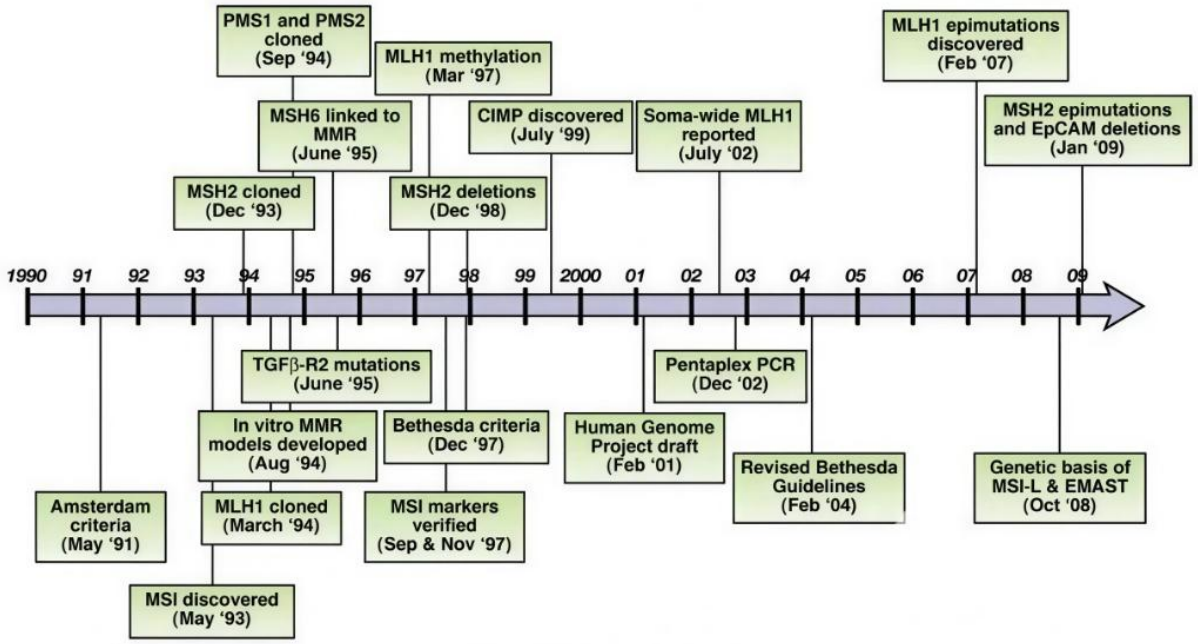
بشكل ملفت للنظر، لوحظ أن 89% من الأورام ذات عدم الاستقرار الجيني MSI كانت في القولون القريب، وأن المرضى المصابين بسرطان القولون والمستقيم ذو MSI كان لديهم إنذار أفضل. ومثل بيروتشو، أدرك ثيبودو وزملاؤه أن هذا الأمر يمثل مسارًا فريدًا لتطور الورم "لا يتضمن فقدان الغلبة (فقدان تباين الأليلات)" [51].

ساعدت دراسات من اتحاد دولي بقيادة بيرت فوجيلشتاين في الولايات المتحدة وألبرت دي لا شابيل في فنلندا في توضيح الآثار السريرية لـ MSI، باستخدام الجينات الصغيرة كأدوات لتحليل الربط على مستوى الجينوم لسرطان القولون والمستقيم الوراثي. وجد ألتونين وزملاؤه ارتباطاً كبيرًا (Genetic Linkage) على الكروموسوم p2 في عائلتين كبيرتين مصابتين بمتلازمة لينش (التي كانت تسمى آنذاك سرطان القولون والمستقيم الوراثي غير السلائي HNPCC) [52].

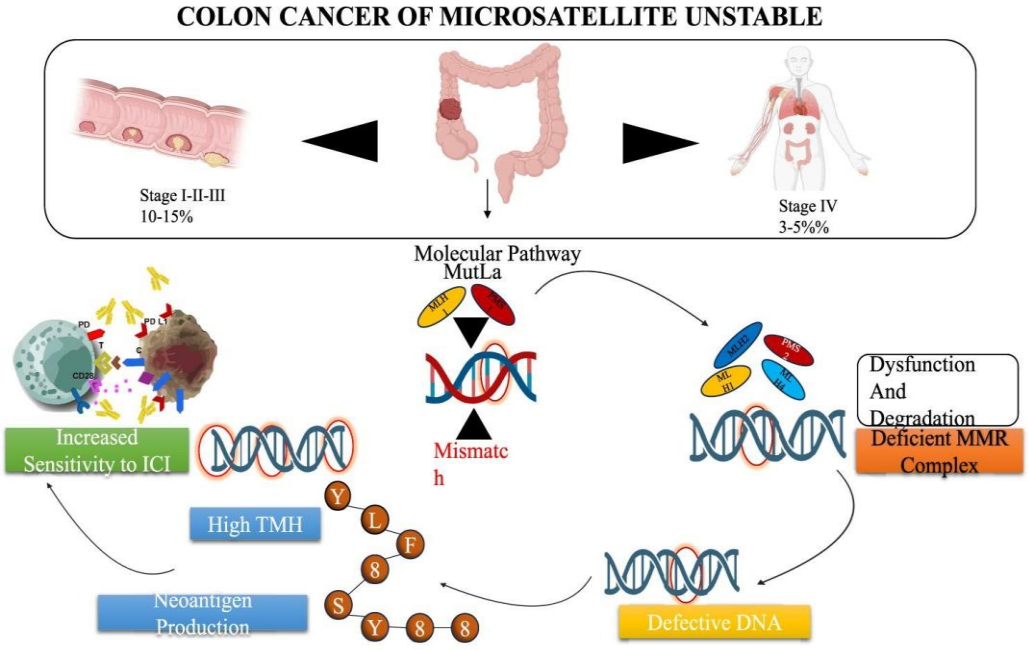
استخدم المؤلفون العلامة الجينية D2S123 للبحث عن فقدان التغاير الجيني (LOH: Loss of Heterozygosity) في ذلك الموضع في الحمض النووي المستخرج من أورام القولون والمستقيم، وذلك لاختبار الفرضية القائلة بأن هذا الموقع يحتوي على الجين الكابح للورم المسبب لسرطان القولون والمستقيم الوراثي.

بدلاً من ذلك، لاحظوا وجود عدم استقرار في الجينات الصغيرة (MSI) باستخدام هذه العلامة، ثم أدركوا أن طفرات الحذف في تسلسلات الجينات الصغيرة كانت واسعة الانتشار في سرطانات القولون والمستقيم الوراثية. وأطلقوا على هذه الظاهرة اسم "النمط الظاهري لخطأ النسخ" (replicative error phenotype or RER). والأهم من ذلك، وجدوا عدم الاستقرار MSI في 13% من حالات سرطان القولون والمستقيم المتقطع (السرطان المتقطع: هو السرطان الذي يظهر بشكل عشوائي أو فردي في شخص ما، دون وجود تاريخ عائلي واضح)، واستنتجوا أن الأورام الوراثية ومجموعة فرعية من الأورام المتقطعة تشترك في مسار فريد ولكن مشترك لتطور الأورام [53].

أصبح من الواضح أن مجموعة فرعية من أورام القولون والمستقيم (ما لا يقل عن 12% وربما تصل إلى 28%) كانت تتميز بعدد كبير من الطفرات في تسلسلات الجينات الصغيرة (microsatellites)، تتشكل في القولون القريب، ولها خصائص سريرية فريدة (مثل إنذار أفضل من الأنواع الأخرى من سرطان القولون والمستقيم)، وكانت وراثية. شكل عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) أول علامة DNA متاحة لتحديد سرطان القولون والمستقيم الوراثي، على الرغم من أن لا أحد من الباحثين الذين اكتشفوا MSI في سرطان القولون والمستقيم فهموا الآليات التي تطور بها.



الشكل (9): أبحاث MSI المرتبطة بسرطان القولون والمستقيم.



الشكل (10): عدم استقرار الجينات في سرطان القولون والمستقيم

2.5. نظام إصلاح عدم التطابق (MMR) في الحمض النووي:

تم اكتشاف "النمط الظاهري المُطَفِّر" (mutator phenotype) في البكتيريا خلال سبعينيات وثمانينيات القرن العشرين، وأصبحت خصائصه معروفة جيداً مع بداية تسعينيات القرن نفسه [54]. يحدث هذا النمط نتيجة تعطيل وظيفة الجينات المشاركة في إصلاح الحمض النووي عن طريق الطفرات.

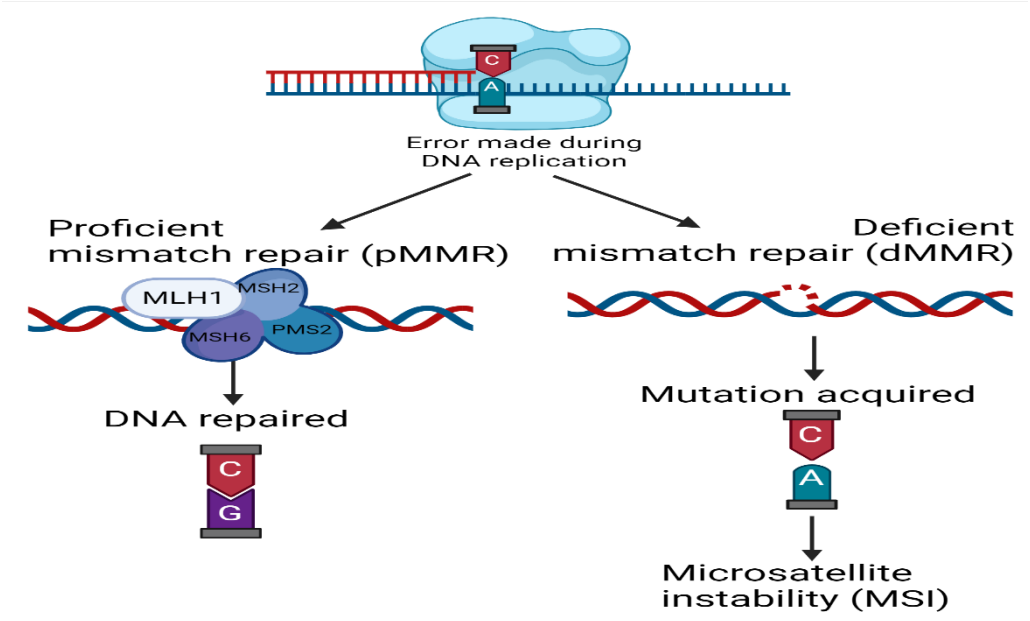
كان مرض المهق الجلدي (xeroderma pigmentosa) أول مرض بشري يتم الربط بوضوح بينه وبين عيوب في إصلاح الحمض النووي. وهو مرض وراثي نادر ينتقل بصفة متنحية، ينتج عن حدوث طفرات معطلة في كلا النسختين من الجين (طفرة مزدوجة الأليل) في الجينات المسؤولة عن نظام إصلاح القطع النيوكليوتيدية (nucleotide excision repair).

وبحلول ذلك الوقت، كانت قد تمت دراسة عدة أنظمة أخرى لإصلاح الحمض النووي وتوصيفها، والتي شملت نظام إصلاح عدم التطابق (MMR)، ونظام إصلاح القواعد التالفة (base excision repair)، ومجموعة متنوعة من نوكليازات وإنزيمات إصلاح الحمض النووي الأخرى. ومع ذلك، لم يتم ربط أي من الأمراض البشرية بعيوب في هذه الأنظمة في ذلك الوقت.

في الكائنات بدائية النوى، يتكون نظام إصلاح عدم التطابق (MMR) من عائلة من الإنزيمات تكتشف الأخطاء التي تحدث أثناء نسخ الحمض النووي في طور الاستنساخ (S–phase)، مثل تلك التي تؤدي إلى عدم تطابق بين الشريطين المكونين للحمض النووي عندما يتم إدخال نيوكليوتيداً خاطئاً إلى الشريط.

قد يرتكب إنزيم البوليميراز (DNA polymerase) أخطاء أحياناً في دمج العدد الصحيح من القواعد أثناء نسخ تسلسلات الحمض النووي الطويلة والمتكررة، مثل الجينات الصغيرة (microsatellites). يؤدي الانزياح أثناء نسخ التسلسل المتكرر إلى تكوين حلقة إدخال وحذف مؤقتة (insertion–deletion loop أو IDL)، والتي يمكن لنظام MMR التعرف عليها وإصلاحها، بالإضافة إلى عدم تطابق القواعد المفردة.

إذا لم يتم إصلاح هذه الأخطاء، وخلال جولة النسخ الثانية، يتم نسخ الشريط الأصلي الأصل (parental strand) بشكل صحيح، لكن الشريط البنت الذي تم تصنيعه بشكل خاطئ (والذي يحوي عدم التطابق أو حلقة الإدخال والحذف) يصبح يحمل طفرة. تؤدي عدم تطابقات القاعدة المفردة إلى طفرات نقطية (point mutations)، بينما تؤدي حلقات الإدخال والحذف إلى طفرات (frame–shift mutations) التي تؤدي عادة إلى طفرة لا معنى لها (nonsense mutation) في موقع لاحق من الجين؛ مما ينتج عنه إنتاج بروتين مبتور وغير وظيفي. هذه الآلية هي الأساس الجزيئي لظاهرة عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI). ففشل نظام MMR في إصلاح هذه الأخطاء، خاصة في التسلسلات المتكررة، يؤدي إلى تراكم الطفرات التي تظهر على شكل تغيرات في طول هذه الجينات الصغيرة [55].



الشكل (11): نظام إصلاح عدم التطابق في الحمض النووي.

3.5. آليات عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI):

1.3.5. الانزياح وعدم التطابق بين الشريطين:

بالإضافة إلى الطفرات النقطية، يمكن أن ينتج عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) عن ظاهرة "الانزياح وعدم التطابق بين الشريطين" (Slipped strand mispairing أو SSM) [56]. تحدث هذه الظاهرة أثناء عملية نسخ وتخليق الحمض النووي، حيث قد يحدث عدم تطابق في المنطقة الأليلية ذات التسلسل المتكرر بين الشريط الجديد المُصنَّع والشريط القالب. هذا يؤدي إلى انفصال لحظي بين الشريط الجديد والقالب، أو تكوين هيكل مستقر أحادي الشريط يشمل عدة وحدات متكررة.

وجد لاي وزملاؤه [57] أن معدل الطفرات الناتجة عن الانزياح يزداد بشكل أُسّي مع زيادة عدد وحدات التكرار. عند حدوث طفرة الانزياح، تميل الجينات الصغيرة ذات عدد الوحدات المتكررة القليل إلى التوسع بشكل أكثر تكرراً، بينما تميل تلك ذات عدد الوحدات الكبير إلى الانكماش بشكل أكثر تكرراً. باختصار، كلما زاد طول التكرار، أصبح الانزياح أكثر احتمالاً أثناء النسخ، مما يفسر سبب كون المناطق الغنية بالتكرارات أكثر عرضة للطفرات في الجينوم.

2.3.5. نقص نظام إصلاح عدم التطابق (dMMR):

يقوم نظام إصلاح عدم التطابق (MMR) بتصحيح الأخطاء التي تحدث أثناء نسخ الحمض النووي. على سبيل المثال، في آلية الانزياح المذكورة سابقاً، عندما يقترن الشريط الحامل للجين الصغير المتحور مع شريط آخر، يمكن للهيكل الزائد الذي قد يتشكل بعد الانزياح أن يعود إلى وضعه الطبيعي قبل النسخ إذا تم قصّه بواسطة النيوكلياز وإصلاحه. أما إذا لم يتم إصلاحه، فإن هذا الهيكل يبقى في الشريط الجديد.

يؤدي نقص نظام إصلاح عدم التطابق (dMMR) إلى استحالة إصلاح الأخطاء الناتجة أثناء نسخ الحمض النووي، مما يتسبب في حصول طفرات نيوكليوتيدية وتغيرات في طول تسلسل الجينات الصغيرة المتكررة [59 ,58].

3.3.5. خصائص الطفرة الجينية لدى مرضى MSI–H:

وجد الباحثون أن الطفرات لدى مرضى عدم الاستقرار العالي للجينات الصغيرة (MSI–H) تشترك في خصائص معينة. على سبيل المثال، تكون الطفرات الوراثية في جينات إصلاح عدم التطابق (MMR) وجينات البوليميراز POLE/POLD1 أكثر شيوعًا لدى مرضى MSI–H مقارنة بمرضى الاستقرار التام للجينات الصغيرة (MSS).

كما لوحظ أن الأورام ذات النمط MSI–H الشديد يمكنها تعزيز مستوى التعبير عن الجينات المسرطنة عن طريق تقصير المنطقة غير المترجمة في الطرف 3' من الجين (3' UTR)، مما قد يتسبب في حدوث عدم الاستقرار الجيني MSI بشكل متكرر، لكنه قد يؤدي في نفس الوقت إلى فقدان التنظيم الذي تقوم به جزيئات الرنا الميكروي (miRNA) [60].

يمكن استخدام هذه النتائج لتفسير منتائج الدراسات التي أظهرت أن نوعًا من جزيئات الرنا غير المشفرة (noncoding RNA) – المشابهة لتلك الموجودة في الخلايا السرطانية – يمكنها تحفيز الاستجابة المناعية البشرية وتسريع تطور السرطان. كما وجدت تلك الدراسات أن هذه الجزيئات غير المشفرة تُنسخ من نوع من الحمض النووي (satellite DNA)، ورغم أنها لا تنتج بروتينات، إلا أن دورها التنظيمي يرتبط ارتباطًا وثيقًا بنمو الأورام [61, 62].

4.3.5. خصائص الطفرات في سرطانات مختلفة:

يكشف تحليل مستند إلى بيانات مشروع أطلس الجينوم السرطاني (TCGA) أن حالات MSI–H لا تحتوي فقط على مواقع متكررة متماثلة، ولكن أيضًا على مواقع خاصة بأنواع محددة من الأورام. على سبيل المثال، تتركز الوظائف الجزيئية المتعلقة بمسار TGFβ/الإشارات عبر الغشاء، واستجابة الإجهاد الخلوي/تلف الحمض النووي، والكروموسومات/طور الانقسام الخلوي M، بشكل غزير في الجينات التي تتكرر فيها طفرات عدم الاستقرار الجيني MSI. كما أن حدوث طفرات (frameshift) في الجين TGFBR2 أكثر شيوعًا في سرطاني الغدة القولونية والمعدة مقارنة بسرطان بطانة الرحم (UCEC)، مما يشير إلى أن البيئة الورمية الخاصة بكل نوع من السرطانات تساهم في حدوث طفرات MSI [63].

من ناحية أخرى، وجد باتيل وزملاؤه [64] أن الكواشف التحليلية الخاصة بقياس MSI يمكنها التعرف بدقة على حالات MSI–H في سرطان القولون والمستقيم دون الحاجة إلى مقارنة مع عينة DNA طبيعية.

بينما أشار هاوز وزملاؤه [65] إلى أن طفرات MSI تتركز في مناطق وظيفية محددة داخل الأورام؛ ففي سرطانات المعدة، على سبيل المثال، تحدث هذه الطفرات غالبًا في الجينات المرتبطة بربط الأيونات. وأظهرت الدراسة أيضًا أن الجينين الكابتين للورم ACVR2A وRNF43 يمثلان أكثر الأهداف الطفرية شيوعًا وفعالية في الأورام ذات النمط MSI-H.

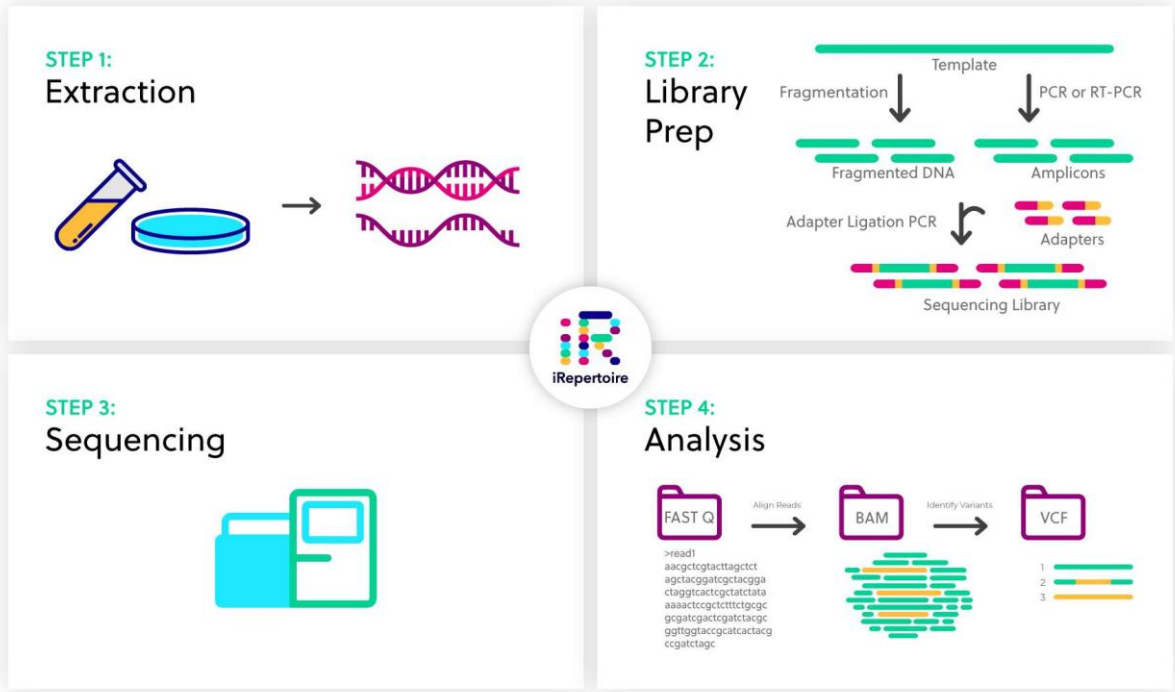
4.5. طرق الكشف عن عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) والتقدّم المحرز فيها:

مع تنفيذ مشروع الجينوم البشري، بدأ العلماء في دراسة أكثر عُمقاً للجينات المرتبطة بأمراض الإنسان، مما أدى إلى اكتشاف ظاهرة عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) المرتبطة بها، وسعيهم لتطوير طرق دقيقة للكشف عنها.

1.4.5. تسلسل الجيل التالي (NGS):

نظراً للأخطاء التي قد تحدث في وظيفة نظام إصلاح عدم التطابق (MMR) أثناء تكرار الحمض النووي، فإن عدم الاستقرار الجيني (MSI) يكون أكثر عرضة للظهور. سريرياً، يمكن الكشف عن MSI من خلال اكتشاف التغيرات في تسلسلات الجينات الصغيرة، أو من خلال الكشف عن فقدان بروتينات MMR لتحديد ما إذا كانت هناك عيوب وظيفية في نظام الإصلاح. ومع ذلك، وجدت بعض الدراسات أن الاعتماد على طريقة كشف واحدة فقط قد يؤدي إلى الحكم الخاطئ، لكن استخدام طريقتي كشف في الوقت نفسه يواجه مشكلتي الحاجة إلى كمية كبيرة من العينة وارتفاع تكلفة الفحص [66].

لحل هذه المشكلات، يمكن استخدام عينات دقيقة للكشف عن MSI بواسطة تقنية تسلسل الجيل التالي (NGS) في كشف واحد لمعرفة حالة MSI وجينات MMR المرتبطة به والعِبء الطفري الورمي (TMB) [67]. يعتمد كشف NGS على التوجه المباشر لتسلسل حوالي مائة جين معروفة لفحص عدم استقرار الجينات الصغيرة في الأنسجة الورمية. في عام 2017، تمت الموافقة على منتج MSK-IMPACT لتحديد عدم الاستقرار الجيني MSI في الأنسجة السرطانية. وبالمقارنة مع الطرق التقليدية، يمكن لتطابق نتائج فحص IMPACT أن يصل إلى أكثر من 92% [68]. وفي العام التالي، تمت الموافقة على المنتج F1CDX من شركة FMI من قِبل إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) ويمكن استخدامه أيضاً لتحديد حالة MSI [69].



الشكل (12): تقنية التسلسل التالي.

2.4.5. تفاعل البوليميراز المتسلسل متعدد البادئات المتألق والرحلان الكهربائي الشعري:

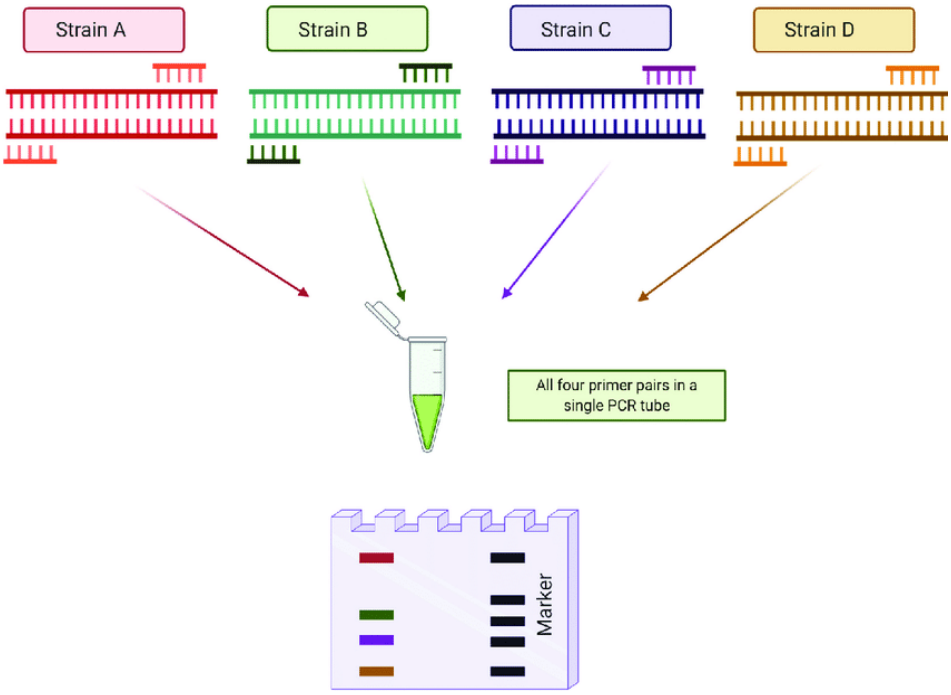
تعتمد طريقة تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) على مقارنة مواقع الجينات الصغيرة التي يتم اكتشافها في الأنسجة الورمية مع الحمض النووي الطبيعي. وقد أوصى المعهد الوطني للسرطان باستخدام موقعي تكرار للنيوكليوتيدات الأحادية هما BAT-25 و BAT-26 وثلاثة مواقع لتكرار النيوكليوتيدات المتعددة هي D2S123 و D5S346 و D17S250 كعلامات للجينات الصغيرة لتحديد حالة عدم الاستقرار الجيني (MSI) [70].

يُطلق على عدم الاستقرار في موقع واحد اسم عدم الاستقرار المنخفض للجينات الصغيرة (MSI-L)، بينما يسمى عدم الاستقرار في موقعين أو أكثر عدم الاستقرار العالي للجينات الصغيرة (MSI-H). إذا لم يظهر أي من المواقع الخمسة عدم استقرار، تسمى الحالة استقرار الجينات الصغيرة (MSS).

يمكن لهذه الطريقة أن تعكس حالة MSI بشكل مباشر , لكنها لا توفر سوى النمط الجيني لـ MSI [71]. حالياً , يُستخدم تفاعل البوليميراز المتسلسل متعدد البادئات المتألق والرحلان الكهربائي الشعري (CE) للكشف عن حالة MSI في سلاسل الجزيئات DNA في الأنسجة الطبيعية والأنسجة الورمية لنفس المريض. تُستخدم هذه التقنية لاكتشاف الجينات بعد تضخيمها بواسطة PCR باستخدام بادئات مشعة.

ونظراً لخصائصها ذات الكفاءة العالية والحساسية المرتفعة وموثوقية النتائج التحليلية , أصبحت هذه الطريقة المعيار الذهبي للكشف عن MSI.

يتم حاليًا، استنادًا إلى تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل متعدد البادئات المتألق والرحلان الكهربائي الشعري، تصميم أنظمة تحليلية متخصصة للكشف عن عدم استقرار الجينات الصغيرة في الخلايا البشرية[72] . تتيح هذه الطريقة الكشف عن خمسة مواقع (BAT-26، NR-21، BAT-25، MONO-27، NR-24) في اختبار واحد.



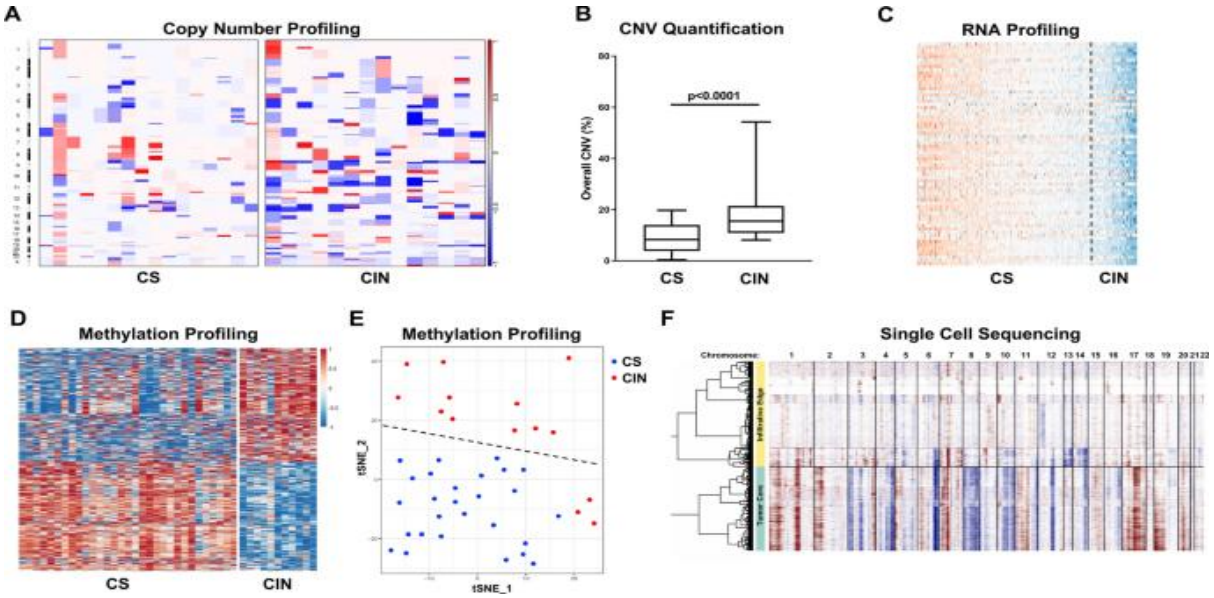
الشكل (13): تفاعل البوليميراز المتسلسل متعدد البادئات.

3.4.5. الكيمياء النسيجية المناعية (IHC):

يعد الكشف عن فقدان جينات إصلاح عدم التطابق (MMR) وسيلة غير مباشرة لمعرفة حالة عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI). تُستخدم تقنية الكيمياء النسيجية المناعية (IHC) للكشف عن التعبير عن بروتينات MMR التي تتكون من hMLH1 و hPMS2 و hMSH2 و hMSH6 [73]. إذا أظهرت النتائج فقدان التعبير عن أي من بروتينات MMR المذكورة، فإن ذلك يعني وجود نقص في إصلاح عدم التطابق (dMMR).

أما إذا كانت بروتينات MMR الأربعة معبرًا عنها، فإن ذلك يعني كفاءة إصلاح عدم التطابق (pMMR). بشكل عام، يعادل dMMR حالة عدم الاستقرار العالي للجينات الصغيرة (MSI–H) [74].

تتميز تقنية IHC بأنها بسيطة وعملية لدرجة أن البعض يقترح استخدامها كبديل لتقنية PCR [75، 76]. ولكن في بعض الحالات، قد لا يتم اكتشاف dMMR و MSI–H في الوقت نفسه. على سبيل المثال، فإن dMMR الناجم عن طفرة في جين MSH6 قد لا يستوفي معايير تشخيص MSI–H، كما أن الورم الإيجابي لـ MSI–H قد ينشأ من بروتين في مسار MMR لا يمكن للتقنيات الحالية اكتشافه. لذلك، تقترح بعض الدراسات أن تطبيق التحليل الجزيئي إلى جانب تحليلي IHC و MSI يمكن أن يقلل من عدم التوافق في النتائج [77].



الشكل (14): استخدام الكيمياء النسيجية المناعية في الكشف عند فقدان جينات إصلاح عدم التطابق.

4.4.5. مسابر الانقلاب الجزيئي أحادي الجزيء (smMIPs):

مسابر الانقلاب الجزيئي أحادي الجزيء هي تقنية متطورة في مجال تسلسل الحمض النووي، تعمل كبديل دقيق وفعّال للطرق التقليدية في تحديد تسلسل المناطق المستهدفة من الجينوم. تعتمد آلية عمل مسابر الانقلاب الجزيئي أحادي الجزيء (smMIPs) على تصميم مجسات قصيرة تتعرف بشكل خاص على التسلسلات المستهدفة في الجينوم، حيث تحتوي كل مجسة على ذراعي ارتباط يتقاسمان التعرف على التسلسل المستهدف وتلتصقان به، بالإضافة إلى تسلسل فريد يمثل باركوداً لتحديد هوية كل جزيء DNA على حدى.

بعد الالتصاق بالتسلسل المستهدف، تدخل المجسات في عملية انقلاب جزيئي يتم فيها سد الفجوة بين ذراعي الارتباط باستخدام إنزيمات لتشكيل حلقة دائرية تحتوي على التسلسل المستهدف، ثم يتم التخلص من جميع الجزيئات غير المكتملة وتضخيم الجزيئات الدائرية بنجاح فقط. أخيراً، تُستخدم تقنيات التسلسل عالية الإنتاجية لتحليل هذه المنتجات، حيث يمكن تتبع كل قراءة تسلسلية إلى جزيء DNA الأصلي بفضل الباركود الفريد، مما يلغي أخطاء التضخيم ويوفر قياساً كمياً دقيقاً للطفرات في التسلسلات المستهدفة مثل مواقع الجينات الصغيرة[78] .

نشرت الأكاديمية الوطنية للعلوم مؤخرًا طريقة للكشف عن عدم استقرار الجينات الصغيرة باستخدام مسابر الانقلاب الجزيئي أحادي الجزيء (smMIPs)، والتي تتميز بدقتها ولا تتطلب من المرضى تقديم عينات نسيجية طبيعية مقارنة. تعتمد هذه الطريقة على التقاط المسابر العكسية أحادية الجزيء وتسلسل الإنتاجية العالية لتشخيص عدم استقرار الجينات بنمط شامل للسرطانات. وفقًا لهذه الدراسة، يمكن لـ smMIPs التعرف بدقة على عدم استقرار الجينات الصغيرة في سرطانات القولون والمستقيم والبروستات وبطانة الرحم لتحديد وجود MSI [79].

5.4.5. طريقة حساب عدم الاستقرار الجيني (MSI):

تعتمد أداة MANTIS على حساب متوسط فرق توزيع الأليلات في كل موقع من مواقع الجينات الصغيرة من خلال مقارنة العينات الورمية مع العينات الطبيعية، ويُستخدم هذا المتوسط كدرجة لقياس عدم الاستقرار الجيني (MSI score). تتميز MANTIS بقدرتها على تحليل عدد أكبر من مواقع الجينات الصغيرة مع الحفاظ على دقة عالية. وتُستخدم حاليًا على نطاق واسع في الكشف عن عدم الاستقرار الجيني في أنواع السرطان المختلفة [80].

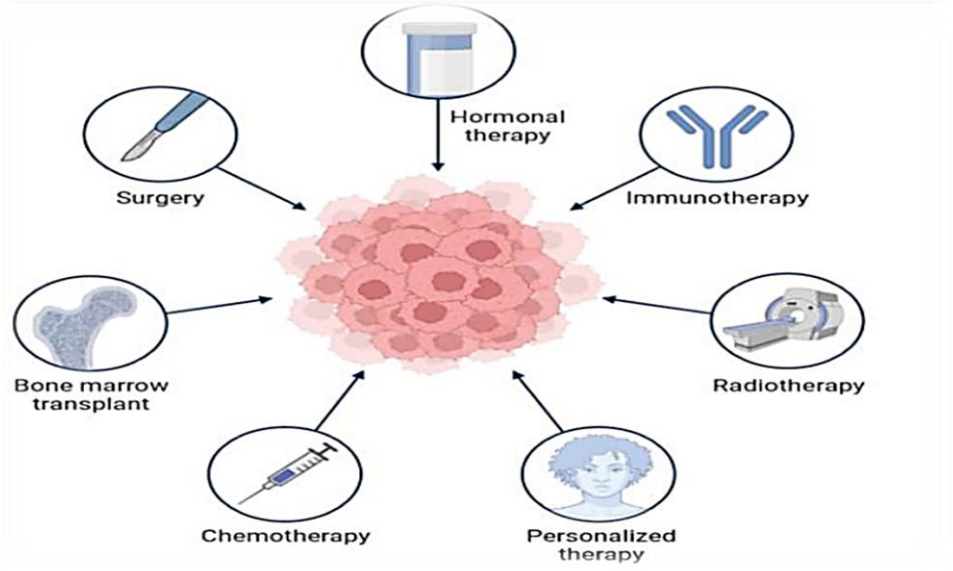
مؤخرًا، قام الباحثون ببناء نظام ثنائي يستخدم الشبكات العصبية الالتفافية (CNN) كنواة له. ومن خلال تطوير خوارزمية التعلم العميق ResNet18، استطاع الباحثون استخدام صور الأقسام النسيجية الملطخة بصبغة H&E وفحص الخلايا السرطانية للتنبؤ بحالة عدم الاستقرار الجيني. مقارنة بمجموعات بيانات الكشف عن الأورام الحالية، تمتاز ResNet18 بوقت تدريب قصير وأداء تصنيفي جيد، لكنها تعاني من عيوب مثل صغر حجم بيانات التدريب. ولم يتم تعميم هذه الطريقة على نطاق واسع حتى الآن [81].

6. علاجات سرطان القولون والمستقيم:

توجد أنواع عديدة من العلاجات للمرضى المُشخَّصين بسرطان القولون، كما هو موضح في الشكل 8 أدناه. يقدم الطبيب خيارات مختلفة لخطة العلاج، والتي تعتمد أيضاً على مرحلة السرطان وطبيعة الحالة.

في المراحل المبكرة جداً، عندما يكون الورم في مراحله الأولى، يكون العلاج بسيطاً وأحياناً غير مُكثَّف، ولا يحتاج المريض إلى فترة طويلة للتعافي. ومع ذلك، عند اكتشاف الخلايا السرطانية في أجزاء مختلفة من الجسم في المراحل المتأخرة، يصبح العلاج معقداً ويتطلب وقتاً طويلاً.

بالإضافة لذلك، قد تتطلب خطة العلاج في بعض الحالات استخدام نوعين أو ثلاثة من العلاجات معاً. تواجه علاجات سرطان القولون والمستقيم (CRC) صعوبات عديدة. تُعد الجراحة حجر الأساس في علاج هذا النوع من السرطان، بينما يُطبق العلاج الكيميائي المساعد بشكل روتيني لتقليل تطور السرطان لدى المرضى [82]. ومع ذلك، تُشكل مقاومة الأدوية الكيميائية إحدى المشاكل الرئيسية التي تعيق علاج سرطان القولون والمستقيم. نظراً لأن وجود الخلايا الجذعية السرطانية (CSCs: Cancer Stem Cells) يؤدي إلى فشل العلاج الكيميائي وتكرار الإصابة بالورم، فإن استهداف هذه الخلايا قد يحسّن فعالية العلاج في سرطان القولون والمستقيم [83]. لذا، فإن استكشاف الجزيئات المتحكمة في "الخاصية الجذعية" لخلايا هذا السرطان قد يوفر أهدافاً علاجية جديدة له.



الشكل(15) : الطرق المختلفة في علاج سرطان القولون

1.6. جراحة القولون:

في المراحل المبكرة، وإذا كان الورم صغيراً ولم ينتشر إلى أعضاء أخرى، يكون العلاج الموضعي هو الخيار الأول للمريض. تعني العلاجات الموضعية الجراحة لاستئصال سرطان القولون، وتُستخدم عادةً للمرحلتين 0 و I.

تتضمن هذه الجراحة أحياناً استخدام المنظار، وفي أحيان أخرى يتم استئصال الجزء المصاب بالخلايا السرطانية لإزالة المنطقة المتضررة بالكامل، وتُعرف هذه العملية باسم استئصال نصف القولون أو الاستئصال الجزئي للقولون أو الاستئصال القطاعي [84].

إذا تم استئصال القولون بالكامل، فقد يعيد الجرّاحون توصيل الجزء السليم من القولون بالمستقيم لدى بعض المرضى. تسمى هذا الإجراء (الفغرة القولونية)، وتتطلب إجراء فتحة في جدار البطن لإخراج الفضلات [85]. مع ذلك، تساعد التقنيات الروبوتية الحديثة أو أنظمة التصوير المتطورة في تحسين جودة الصور عالية الدقة ثلاثية الأبعاد للمجال الجراحي، مما يمكّن الجراحين من رؤية التفاصيل الدقيقة بوضوح أكبر. هذه الرؤية المحسَّنة تسهّل تحديد الأجزاء الأكثر أهمية واستئصالها بدقة، مع تقليل الضرر على الأنسجة السليمة.

2.6. العلاج الكيميائي:

العلاج الكيميائي هو علاج جهازي، أي يتم فيه إعطاء أدوية عبر الدم أو الفم للتخلص من الورم. يمكن استخدام هذا النوع من العلاج في أوقات مختلفة، كما يمكن استخدامه بالمشاركة مع علاجات أخرى. يُستخدم أحياناً بعد الجراحة للتأكد من عدم بقاء أي خلايا سرطانية، أو قبل الجراحة لتقليل حجم الورم وتسهيل استئصاله، أو للسيطرة على نمو الورم. من الأدوية الكيميائية المستخدمة في علاج سرطان القولون والمستقيم: كابسيتابين (زيلودا)، فلورويوراسيل، أوكساليبلاتين (إلوكساتين)، 5-فلورويوراسيل (5-FU)، وإيرينوتيكان (كامبتوسار). قد يُستخدم هذا العلاج أيضاً لمرضى المراحل المتأخرة عندما ينتشر الورم في أنحاء الجسم، حيث يهدف إلى إطالة عمر المريض وتحسين جودة حياته. المشكلة الرئيسية في هذا العلاج هي آثاره الجانبية العديدة، حيث يعمل على مهاجمة الخلايا سريعة الانقسام، مما يجعله مؤذياً للخلايا الشعرية والجلدية.

تتوفر أدوية مضادة للسرطان يمكن استخدامها لعلاج سرطان القولون والمستقيم بمفردها أو مع أدوية أخرى، مثل:

- **بيفاسيزوماب (أفاستين):** يُستخدم مع فلوروبوراسيل كعلاج أولي أو ثانوي، أو مع فلوروبوراسيل وإما إيرينوتيكان هيدروكلورايد أو أوكساليبلاتين كعلاج ثانوي لمرضى المرحلة الثالثة الذين ساءت حالتهم بعد فشل العلاج بالبيفاسيزوماب.
- **سيتوكسيماب (إربيتوكس):** يُستخدم مع علاج كيميائي مركب (FOLFIRI) كعلاج أولي لمرضى لديهم بروتين EGFR وجين KRAS من النوع الذي يمتلك ضراوة شديدة، أو مع إيرينوتيكان هيدروكلورايد إذا فشل العلاج السابق بهذا الدواء، أو بمفرده إذا لم يستجب الورم للأوكساليبلاتين والإيرينوتيكان.
- **إنكورافينيب (برافتوفي):** مُصرَّح باستخدامه مع أدوية أخرى لعلاج السرطانات ذات الطفرة المحددة في جين BRAF، ويُستخدم مع السيتوكسيماب للبالغين الذين انتشر السرطان لديهم بعد علاجات سابقة.
- **إيبليموماب (يرفوي):** يُستخدم مع نيفولوماب لعلاج السرطانات النقيلية ذات (MSI–H) لدى البالغين والأطفال فوق 12 عاماً، بعد تفاقم الحالة رغم العلاج بالفلوروبوراسيل و الأوكساليبلاتين و الإيرينوتيكان هيدروكلورايد [86].

3.6. العلاجات المُستهدَفة لسرطان القولون والمستقيم:

ساهمت العلاجات التقليدية لسرطان القولون والمستقيم (مثل العلاج الإشعاعي، الكيميائي، والعوامل البيولوجية) في تحسين حالة المرضى، لكنها تسبب آثاراً جانبية خطيرة مثل مقاومة الأدوية وسميتها على الخلايا/الأنسجة السليمة. دفعت الاستراتيجيات الابتكارية للعلاجات المُستهدَفة (كأنظمة توصيل الأدوية، طرق التشخيص الدقيق، والممارسات الجراحية المتطورة) الباحثين إلى تعميق البحث في بدائل مثل التقنيات القائمة على الجسيمات النانوية. ركزت دراسات حديثة على توصيل الأدوية عبر الجسيمات النانوية بسبب عوامل مثل زمن العلاج، فعالية الدواء، وتقليل الآثار الجانبية. كما استُخدمت هذه التقنية لاستهداف الورم دون التأثير على الخلايا الأخرى، حيث أثبتت العديد من الجسيمات النانوية فعاليتها في توصيل الدواء والقضاء على الخلايا السرطانية بدقة [87].

بفضل التطورات الحاصلة في الجسيمات النانوية، أصبح من الممكن اليوم إيصال الأدوية المضادة للسرطان إلى الخلايا المستهدفة دون إيذاء الخلايا السليمة. تم تصميم أنظمة توصيل دوائية فعالة باستخدام جسيمات نانوية تتمتع بتوزيع دوائي عالٍ، تحلل حيوي مُحسَّن، اختراق فعّال للورم، وعمر نصفي أطول في الأنسجة. تساعد المستقبلات السطحية الخاصة على الجسيمات النانوية في تحسين استهداف سرطان القولون عبر ارتباطها بجينات محددة. كما يُعتقد أن العلاجات النانوية المُستهدَفة قد تكون قابلة للتطبيق في التجارب السريرية المبكرة [88]. الريسفيراترول (3,4′,5) (RES–تريهيدروكسي ستيلبين): مركب يُستخلص من نباتات مثل الفول السوداني والعنب والخوخ والتوت [89].

أظهرت دراسات أن الريسفيراترول يثبط انتشار الخلايا السرطانية وتطور الورم في خطوط خلايا سرطان القولون والمستقيم عبر تثبيط مسار Wnt/β–catenin [90]، كما يعيد تنظيم عملية الانتقال الظهاري–اللحيمي (EMT) وهي عملية بيولوجية معقدة تتحول خلالها الخلايا الظهارية (التي تتميز بالترابط القوي والاستقرار) إلى خلايا لحمية (أكثر حركية). تُعد هذه العملية أساسية في التطور الجنيني، التئام الجروح، ولكنها أيضًا تلعب دورًا مركزيًا في انتشار السرطان (النقائل) ومقاومة العلاج. عبر مسار إشارات Akt/GSK–3β/Snail في خلايا السرطان وأورام الفئران [91].

رفع العلاج بالريسفيراترول التعبير عن الواسم الظهاري E–cadherin حيث من المعروف أن انخفاض مستوياته في الأورام يرتبط بإنذار سيئ وزيادة خطر النقائل ويُستخدم كمؤشر حيوي في سرطانات الثدي، المعدة، والقولون، وخفض التعبير عن الواسمات اللحيمية مثل N–cadherin المعروفة بزيادة قدرة الخلايا السرطانية على الحركة وغزو الأنسجة كما يساهم فيتسهيل اختراق الخلايا السرطانية للأوعية الدموية والانتشار إلى أعضاء بعيدة (نقائل) [92].

كما قلل العلاج بالريسفيراترول من تكاثر الخلايا وحفز موتها المبرمج، وأوقف دورة الخلية في الطور G1. بالإضافة إلى ذلك، تم تحديد Akt1 وAkt2 كأهداف محتملة للريسفيراترول، حيث أدى تثبيطهما إلى تقليل تكاثر الخلايا وتشكيل الأورام السرطانية بشكل مشابه لتأثيرات الريسفيراترول [93]. رغم فعالية الريسفيراترول، إلا أن استخدامه محدود بسبب انخفاض ذوبانه في الوسط المائي وتوافره الحيوي الضعيف. لذلك، استُخدمت أنظمة إيصال دوائية نانوية مثل الليبوزومات، الجسيمات البوليمرية، المذيلات، الجسيمات المعدنية (فضية/ذهبية)، والمواد السيليكونية لحمل وإيصال الريسفيراترول [94].

تتميز هذه التركيبات النانوية بخصائص فيزيوكيميائية فريدة مثل سعة حمل عالية، حماية المواد الدوائية المراد إيصالها، اختراق عميق للورم، وتوافق حيوي عالي بالإضافة لسميتها المنخفضة.

الليبوزومات: أحد أنظمة توصيل الأدوية الدهنية، تتكون من الكوليسترول والفوسفوليبيدات مع نواة محبة للماء وطبقة ثنائية كارهة للماء [95]. يتم تعديل سطح الليبوزومات باستخدام بوليمر البولي إيتيلين غليكول (PEGylation) لتعزيز عملية البلعمة الخلوية بوساطة المستقبلات. وفقاً لدراسات سابقة، تزيد الليبوزومات المعدلة بالـPEG من العمر النصفي للدواء في الجسم عبر تقليل الاستجابة المناعية وإزالة البروتينات غير المستهدفة، مما يحد من الآثار الجانبية.

1.3.6. الجسيمات النانوية القائمة على الدهون:

تعتبر الجسيمات النانوية القائمة على الدهون (LNPs: Lipid Nanoparticles)، وخاصة الليبوزومات، أدوات واعدة للعلاج السرطاني، نظرًا لقابليتها الجيدة للتحلل الحيوي، وتوافقها الحيوي، وبساطة تركيبها الهيكلي، وقابليتها للتعديل الوظيفي [96]. يمكن تصنيف الجسيمات النانوية القائمة على الدهون إلى فئات رئيسية: الليبوزومات، والمذيلات (micelles)، والجسيمات النانوية الدهنية الصلبة (SLN: Solid Lipid Nanoparticles)، والكيوبوزومات (cubosome). يمكن تعديل سطح الليبوزومات عن طريق دمج مجموعات وظيفية متنوعة.

لا تُستخدم هذه الجسيمات على نطاق واسع فقط بسبب تنوعها، بل أيضًا لقدرتها على تحميل مجموعة متنوعة من العوامل العلاجية الكارهة للماء والمحبة للماء، بما في ذلك الأدوية الكيميائية، والببتيدات، والبروتينات، والحمض النووي (DNA)، والحمض النووي الريبوزي (RNA)[97]

تتكون الجسيمات النانوية الدهنية الصلبة من دهون ذات نقطة انصهار منخفضة، بالإضافة إلى أنواع متنوعة من العوامل الفاعلة على السطح (surfactants) و/أو العوامل السطحية المساعدة (co– surfactants) [98]. يحدد اختيار أنواع الدهون والعوامل السطحية ونسبتها خصائص الجسيمات مثل الحجم، والشحنة السطحية، والاستقرار، وسعة تحميل الدواء، وطريقة تحرره.

تُستخدم هذه الجسيمات لتحسين توصيل الأدوية ذات الذوبانية المائية الضعيفة. على سبيل المثال، يُظهر الكيرسيتين (quercetin) – وهو مضاد أكسدة موجود في البصل – فعالية مضادة للأورام ضد سرطان القولون والمستقيم (CRC)، لكن ذوبانيته في الماء ضعيفة. قام لي وزملاؤه [99] بتصميم جسيمات نانوية دهنية صلبة محملة بالكيرسيتين (QT–SLNs) باستخدام طريقة الاستحلاب والتصلب عند درجات الحرارة المنخفضة.

أظهرت النتائج زيادة في الوقت الأقصى لتركيز الدواء (Tmax) وزيادة في متوسط وقت بقاء الدواء في الجسم (MRT)، بالإضافة إلى تحسن التوافر الحيوي، مما يشير إلى فعالية هذه الجسيمات كناقلات فموية للعوامل الكارهة للماء.

وبشكل مشابه، طور شين وزملاؤه [100] نظام توصيل باستخدام جسيمات نانوية دهنية صلبة محملة بالدوكسوروبيسين وجسيمات أكسيد الحديد فائقة المغنطة، مع تعديل سطحها بإضافة حمض الفوليك (FA) والدكستران (dextran). حسَّن هذا التعديل القدرة الاستهدافية للخلايا السرطانية وسهَّل امتصاصها الخلوي. أظهرت التجارب على الحيوانات أن هذه الجسيمات كبحت نمو الورم في مراحله الأولية وقللت من انتشار النقائل السرطانية بشكل فعال، بالإضافة لذلك كانت سمية العلاج محدودة.

يمكن تصنيف الليبوزومات إلى ثلاثة أنواع بناءً على الحجم وعدد الطبقات الدهنية(lamellarity) ، وهي:

- ❖ الحويصلات أحادية الطبقة الصغيرة(SUVs) : يتراوح حجمها بين 25 و50 نانومتر.
- ❖ الحويصلات أحادية الطبقة الكبيرة(LUVs) : يزيد حجمها عن 100 نانومتر.
- ❖ الحويصلات متعددة الطبقات :(MLVs) يتراوح حجمها بين 0.05 و10 ميكرومتر، وتتكون من طبقات متعددة من الفوسفوليبيدات.

بشكل عام، تتراكم الأدوية الكارهة للماء ضمن الطبقة الثنائية الفوسفوليبيدية لليبوزومات، بينما تُحتبس الأدوية المحبة للماء داخل تجويف الليبوزوم [101].

صمم باتيست وزملاؤه [102] تركيبة جديدة من الإيرينوتيكان والفلوكسوريدين مُغلَّفة باللليبوزومات، تُعرف باسم CPX–1، وتم تحسين نسب الدوائيْن لتحقيق تآزر علاجي. لم يُحافظ هذا النظام على تراكيز عالية من الدواء في الدورة الدموية فحسب بعد التناول الجهازي، بل أظهر أيضًا نشاطًا مضادًا للأورام في مرضى سرطان القولون والمستقيم (CRC). حاليًا، يوجد تجربة سريرية من المرحلة الثانية لتقييم فعالية وسلامة CPX–1 في علاج هذا النوع من السرطان.

تخضع نتائج عدد من العلاجات الكيميائية المعتمدة على الليبوزومات للتجارب السريرية. من بينها OSI-7904L (تركيبة ليبوزومية لمثبط غير تنافسي لأنزيم (TSI: Triple Sugar Iron)، مُصممة لمرضى الأورام الصلبة المتقدمة كما أظهرت تركيبة L-NDDP الليبوزومية فعالية مضادة للأورام في المرضى [103].

استُخدمت بعض الجزيئات الدهنية الطبيعية لتحضير الجسيمات النانوية. على سبيل المثال، رُبط السكوالين (وهو مركب دهني طبيعي) بجزيئات دوائية نشطة حيويًا، مما سمح لها بالتجمُّع الذاتي في الوسط المائي. باستخدام هذه التقنية، طور كوتيليفيتس وزملاؤه [104] جسيمات نانوية من السكوالين محملة بالسيسبلاتين (SQ-CDDP NP) للتناول الفموي، مما حسَّن فعالية الدواء بشكل ملحوظ. تجدر الإشارة إلى أن استخدام السيسبلاتين التقليدي لعلاج سرطان القولون يرتبط بآثار جانبية شديدة ومقاومة دوائية عالية [105]، لكن استخدام الجسيمات النانوية قلل هذه المشاكل عبر تعزيز الامتصاص الخلوي. كما تم تطوير تقنية تعتمد على ربط الأدوية الكيميائية بأحماض دهنية عديدة عدم التشبع (PUFAs)، مما يسمح بالتجمُّع الذاتي دون مواد مساعدة خارجية، ويوفر الشكل الدوائي السابق تأثيرات فعالة مضادة للأورام [106].

في الختام، تُعد الجسيمات النانوية القائمة على الدهون من أكثر منصات توصيل الأدوية الواعدة نظرًا لتوافقها الحيوي، وقدرتها على التحلل الحيوي، وتنوعها الوظيفي. تعمل هذه الجسيمات على تحسين ذوبانية الأدوية، وزيادة كفاءة التوصيل، وتقليل السمية الجهازية، مما يجعلها مثالية للاستخدام في العلاجات السرطانية المتقدمة.

2.3.6. الجسيمات النانوية البوليمرية(Polymeric Nanoparticles)

استُخدمت المواد البوليمرية في العديد من المنتجات الصيدلانية لأكثر من 50 عامًا. تتمتع الجسيمات النانوية البوليمرية المُستخدمة في توصيل الأدوية بعدة مزايا، منها [107,108] :

(1)استقرار عالٍ في المختبر (in vitro) وفي الجسم الحي(in vivo) .

(2)القدرة على تحقيق إطلاق مستهدف في أجزاء مختلفة من الجسم.

(3)القدرة على تحميل الحمض النووي(DNA) ، والحمض النووي الريبوزي(RNA) ، والبروتينات ومنع تحللها.

(4)سهولة التعديل على بنيتها.

يمكن تصميم الخصائص الفيزيوكيميائية لأنظمة التوصيل العلاجية (مثل: الشحنة، التوجيه، الاستجابة للمحفزات، حجم الجسيمات، الشكل الهندسي، نسبة النواة إلى الغلاف، الطول إلى القطر، والاستقرار) لزيادة فعاليتها وتقليل تأثيراتها السامة.

الكيتوزان هو بوليمر حيوي يُنتج عبر عملية إزالة الأسيتيل القلوية (alkaline deacetylation) للكيتين (chitin)، وهو مكون أساسي في الهيكل الخارجي للقشريات. يُستخدم على نطاق واسع لربط الأدوية أو تغليف أسطح الجسيمات بسبب توافقه الحيوي العالي، وقابليته للتحلل الحيوي، وقدرته على اختراق الأغشية الخلوية، وعدم تحريضه للاستجابة المناعية، وسمّيته المنخفضة. تحمل جسيمات الكيتوزان النانوية شحنة موجبة، مما يسهل تفاعلها مع الأغشية الخلوية ويعزز اختراقها للخلايا السرطانية [109].

صمم اوربانسكا وزملاؤه [110] جسيمات دقيقة من الألجينات (alginate) المغلفة بالكيتوزان والمحملة بعقار الأوكساليبلاتين (oxaliplatin)، حيث كانت الجسيمات السابقة حساسة لتغيرات ال (pH).

تم تحميل الدواء أولاً في جسيمات نانوية بوليمرية شبيهة بالدهون، ثم تم تغليف هذه الجسيمات داخل جسيمات دقيقة من الألجينات. استهدفت هذه الجسيمات الأمعاء بشكل فعال بعد مرورها عبر المعدة، مما قلل من تطور الورم ومن الآثار الجانبية للدواء. طور حسين زاده وزملاؤه [111] جسيمات نانوية محملة بالجيمسيتابين (gemcitabine) باستخدام الكيتوزان. أظهرت الجسيمات تحررًا مضبوطًا للدواء مع قدرة أكبر على تدمير الخلايا السرطانية مقارنة بالدواء الحر.

بالإضافة إلى الأدوية الكيميائية، يمكن استخدام جسيمات الكيتوزان لتوصيل جزيئات طبيعية. على سبيل المثال، تم تحضير جسيمات نانوية محملة بالكركمين (curcumin). بالإضافة إلى ذلك، صمم وين وزملاؤه [112] ألياف نانوية ذات بنية نواة–غلاف (core–sheath electrospun fiber mat) تحتوي على جسيمات كيتوزان محملة بالكيرسيتين (Q–loaded EFM)، مما حسن التوافر الحيوي الفموي والتوجيه القولوني للكيرسيتين – وهو فلافونويد نشط حيويًا يثبط تطور السرطان [113].

تُستخدم الحوامل النانوية المصنوعة من بولي (حمض اللاكتيك–كوغليكوليك) (PLGA) في توصيل الأدوية. تتميز الجسيمات النانوية القائمة على PLGA بالتوافق الحيوي الجيد والتحلل الحيوي المضبوط، مما يجعلها فعالة في توصيل الأدوية والجزيئات الكبيرة. صمم يانغ وزملاؤه [114] جسيمات نانوية من نوع PLGA/PLA–PEG–FA لتحسين التوافر الحيوي الفموي لعقار AAG–17، وهو مثبط لبروتين الصدمة الحرارية (HSP: Heat shock proteins) يُستخدم في علاج التهاب القولون التقرحي وسرطان القولون المرتبط بالالتهاب (CAC).

أظهرت النتائج أن هذه الجسيمات امتصها نسيج الأمعاء الملتهب بشكل فعال، مما أدى إلى فعالية علاجية أعلى حتى عند استخدام جرعات منخفضة.

بالنسبة لبوليمر (PEG–PLA) هو بوليمر ثنائي الكتلة حيث يمكن ربط العديد من الأدوية بهذه البوليمرات لتشكيل مركبات بوليمر–دواء تملك خواص محبة للدهون. يُعد عقار TNP–470، وهو مشتق من الفوماجيلين (fumagillin)، من أول الأدوية المضادة لتكوين الأوعية الدموية (antiangiogenic) التي خضعت للتجارب السريرية لكن استخدامه السريري محدود بسبب ضعف التوافر الفموي وعمره النصفي القصير جدًا في البلازما.

طور بيني وزملاؤه [115] تركيبة فموية من TNP–470 أُطلق عليها اسم لودامين (Lodamin)، حيث رُبط العقار ببوليمر PEG–PLA مشكلًا مذيلات نانوية بوليمرية (polymeric nanomicelles) ذات تأثير مضاد للأورام والنقائل السرطانية. أظهرت التجارب الخلوية أن الخلايا البطانية امتصت اللودامين عبر الالتقام الخلوي (endocytosis) مع الحفاظ على نشاطه الأساسي المضاد لتكوين الأوعية الدموية.

3.3.6. الجسيمات النانوية غير العضوية:

يمكن استخدام الجسيمات النانوية غير العضوية (Inorganic NPs)، مثل الجسيمات النانوية المعدنية (Metal NPs) والجسيمات النانوية المصنوعة من السيليكا (Silica NPs)، لصياغة الأدوية، أو عوامل التصوير، أو الناقلات الجينية [116]. توفر التطورات في مجال الجسيمات النانوية غير العضوية في الطب الحيوي طرقًا واعدة لتطوير أنظمة تصوير وتوصيل أدوية جديدة، نظرًا لتعدد تطبيقاتها [117].

بناءً على المواد المستخدمة والأشكال، يمكن تصنيف هذه الجسيمات إلى: ذهب كروي (spherical gold)، قضبان ذهبية نانوية (gold nanorod)، أقفاص ذهبية نانوية (gold nanocage)، أغلفة ذهبية نانوية (gold nanoshell)، جسيمات فضية نانوية (silver NPs)، أكسيد الهافنيوم (hafnium oxide)، أكسيد الجادولينيوم (gadolinium oxide)، جسيمات سيليكا مسامية نانوية (mesoporous silica NPs)، نقاط كمومية (quantum dots)، أكسيد الحديد (iron oxide)، أنابيب نانوية كربونية (carbon nanotubes). يتكون الجسيم النانوي غير العضوي النموذجي من ثلاثة أجزاء: نواة غير عضوية، وطلاء سطحي معدل، وغلاف من الجزيئات الحيوية الممتزة [118].

تُظهر الجسيمات المغلفة بطبقة عضوية توافقًا حيويًا أفضل مع خصائص امتصاص خلوي جيدة. بعد اختراق الخلايا، تتغير الخصائص الفيزيائية والشكلية للجسيمات، وتتحلل النواة غير العضوية. يمكن أيضًا التخلص من الطبقة العضوية عبر التحلل داخل الخلايا. تُستخدم الجسيمات النانوية المعدنية (Metal-based NPs) على نطاق واسع في علاج سرطان القولون والمستقيم (CRC)، نظرًا لتميزها بالاستقرار العالي وإمكانية إنتاجها على نطاق واسع دون الحاجة إلى مذيبات عضوية. تُستخدم الجسيمات النانوية الفضية (AgNPs) في مجالات متنوعة مثل الطب، والغذاء، وإدارة الصحة، والاستهلاك، والصناعة، بفضل خصائصها البصرية، والكهربائية، والحرارية، والحيوية الفريدة [119].

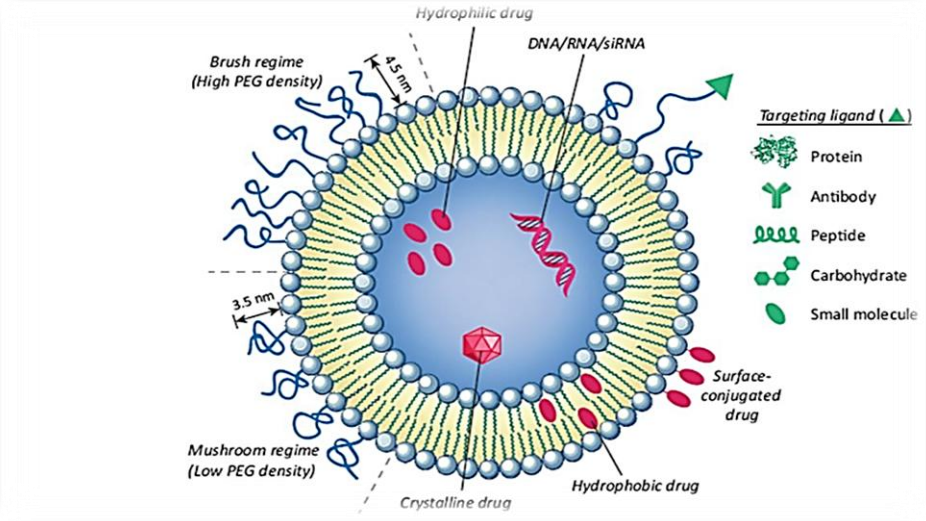
صمم رانجان وزملاؤه [120] جسيمات نانوية فضية مغلفة بالنشا (starch-capped AgNPs)، والتي حفزت موت الخلايا المبرمج (apoptosis) للخلايا عبر آلية تعتمد على بروتين p53، من خلال زيادة التعبير عن p53 وp21، وتثبيط مسارات AKT وNF-κB. يمكن تعديل هذه الجسيمات لتحسين فعاليتها في توصيل الأدوية. على سبيل المثال، طور غلانداري وزملاؤه [121] جسيمات نانوية من بروتين بيتا-لاكتوغلوبيولين (β-LG) للتوصيل الفموي لعقار أوكسالي-بالاديوم (oxali-palladium) كدواء معدني لعلاج سرطان القولون. أظهرت الدراسة أن التركيبة السابقة تُعد مرشحًا واعدًا لتحسين التوصيل الفموي للأدوية المستخدمة في علاج السرطان.

بالإضافة لذلك، يُستخدم السيليكا بشكل شائع في تصنيع الجسيمات النانوية غير العضوية. ظهرت الجسيمات النانوية السيليكا المسامية لأول مرة في أوائل التسعينيات [122]، وتُعد نظام إيصال واعد لتوصيل الأدوية في المجال الطبي الحيوي.

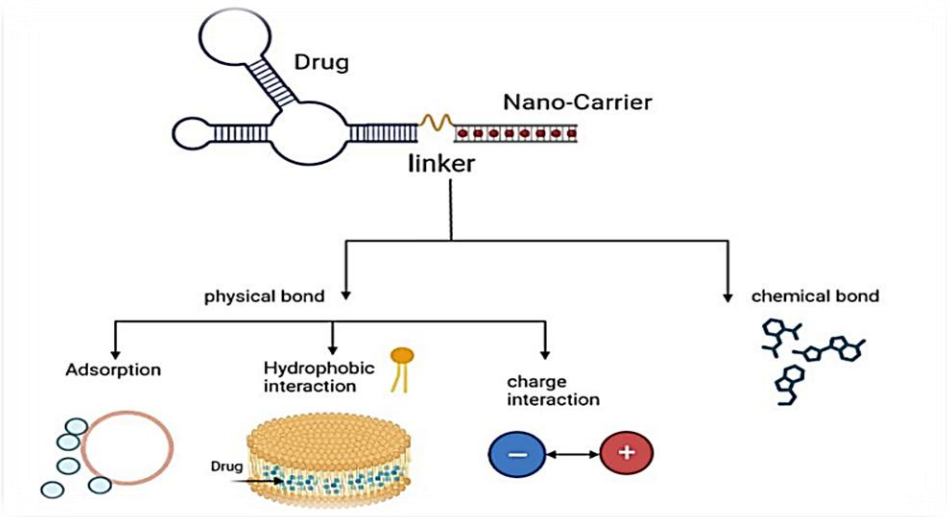
تتمتع هذه الجسيمات بقدرة فعالة على علاج الخلايا السرطانية بسبب الخصائص التالية: (1) مساحة سطحية كبيرة وحجم مسامي يسمحان بتحميل الأدواء بكفاءة، (2) بنية مسامية قابلة للتعديل لضمان تحرر الدواء بشكل مضبوط، (3) سطح سهل التعديل لتحقيق العلاج المستهدف، (4) توافق حيوي جيد (5) إمكانية دمجها مع مواد مغناطيسية أو مضيئة لتمكين التصوير الحيوي أثناء إعطاء الدواء [123].

صمم ليو وزملاؤه [124] جسيمات نانوية من السيليكا المسامية محملة بعقار 5-فلوروبوراسيل (5-FU) ومعدلة بالأمين ومغلفة بالكيتوزان (GCs)، والتي أظهرت دقة عالية في التعرف على مستقبلات الجالاكتين في الخلايا السرطانية وتحفيز موت الخلايا المبرمج.

استُخدم صمغ الجوار (Guar gum) – وهو بوليمر كربوهيدراتي طبيعي – لتغليف الأدوية (GG–MSN)، وأظهرت الجسيمات تأثيرًا مضادًا للأورام في خطوط خلايا سرطان القولون. بالإضافة إلى ذلك، حمَّل نغوين وزملاؤه [125] عقار البريدنيزون في جسيمات سيليكا مسامية معدلة بالأمينو بروبيل (MCM–NH2)، ثم غلّفها ببوليمر ε–بولي ليسين. سُمح هذا التعديل بإطلاق الدواء عند درجة حموضة تتراوح بين 5.5–7.4 (الخاصة بالقولون)، مع استقرار الجسيمات في المعدة والأمعاء الدقيقة. كما تفاعلت الجزيئات السابقة مع الخلايا المعوية والسرطانية عبر تفاعلات كهروستاتيكية، مما يزيد من وقت بقاء الدواء في الموقع المستهدف.



الشكل(16): ربط دواء مضاد للسرطان بتركيبة نانوية لتوصيله بشكل مستهدف.



الشكل (17): عملية ربط دواء مضاد للسرطان بالناقلات النانوية عبر الروابط الفيزيائية والكيميائية.

4.3.6. تطبيق الجسيمات النانوية القائمة على العلاج الضوئي في سرطان القولون والمستقيم:

لزيادة فعالية العلاجات الكيميائية، يتم حالياً تطوير العديد من الطرق لتعزيز العلاج الضوئي وخصائص المواد الحساسة للضوء (PSs: Photosensitizer). تُظهر هذه الأدوات فعالية أكبر في تدمير الورم بسرعة عند تعرض المنطقة المصابة لأنواع مختلفة من الضوء بأطوال موجية تتراوح بين 600 إلى 1000 نانومتر، بما في ذلك الضوء القريب من تحت الأحمر NIR [126]، مما يسمح باختراق الأنسجة وتدمير الورم السرطاني فوراً. بالإضافة إلى ذلك، وجدت دراسات حديثة أن الأطوال الموجية ذات الإنتاجية العالية من الأكسجين الأحادي (O21) هي الأفضل للإشعاع. في بعض الحالات، قد تكون هناك حاجة لرفع درجة الحرارة إلى 42 درجة مئوية، وهو ما يُعرف بالفعل الحراري الضوئي [127].

عندما يتم دمج المواد الحساسة للضوء (PS) مع الأنسجة السرطانية أو موقع الورم أثناء العلاج الحراري الضوئي (PTT: Photothermal Therapy)، تتحول طاقة الطول الموجي المستهدف لليزر إلى طاقة حرارية تُدمر الأنسجة السرطانية. يتميز العلاج الحراري الضوئي عن العلاجات التقليدية بكونه أقل تداخلاً، وأقل سمية للخلايا، وأعلى استقلاباً للدواء. يُعتبر PTT خياراً علاجياً ناجحاً لمرضى سرطان القولون والمستقيم. ساهمت تقنيات التصوير مثل التصوير الفلوري، التصوير الصوتي الضوئي، والرنين المغناطيسي في الكشف المبكر عن السرطان، رغم محدودية العلاج الضوئي المنفرد في اختراق الأورام العميقة [128].

تُستخدم جسيمات نانوية بأشكال وأحجام مختلفة كناقلات دوائية لحمل جزيئات حساسة للضوء خلال العلاج الضوئي لتحسين اختراق الدواء داخل الأنسجة السرطانية [129]. الآلية الجزيئية للعلاج الحراري الضوئي تعتمد على القتل الانتقائي للخلايا السرطانية عبر تدمير عضياتها الداخلية مثل الميتوكوندريا، الجسيمات الحالة، الأغشية الخلوية، المادة الوراثية والنووية، والأوعية الدموية، مما يؤدي إلى موت الخلايا السرطانية [130].

4.6. الهرمونات الأنثوية: آفاق واعدة لعلاج سرطان القولون والمستقيم

تُسجل عالمياً معدلات أعلى لسرطان القولون والمستقيم لدى الذكور مقارنة بالإناث، بسبب الدور الوقائي للهرمونات الجنسية في تطور المرض. أظهرت أبحاث دور الإستروجين ومستقبلاته (خاصة ERβ) في بدء وتقدم السرطان، حيث يُعتقد أن الإستروجين يمارس تأثيراً وقائياً عبر ERβ.

في مرحلة ما بعد انقطاع الطمث، يرتبط العلاج التعويضي بالهرمونات (HRT: Hormone Replacement Therapy) وتناول الصويا بانخفاض حدوث السرطان. حسب تحليل تلوي قلل استخدام HRT من خطر الإصابة بسرطان القولون بنسبة 56%، بينما خفض استهلاك الصويا الخطر بنسبة 21%. يحدث تراجع وفقدان في التعبير عن ال ERβ في الخلايا السرطانية أثناء التسرطن، لكن HRT أو مشتقات الصويا تحافظ على التعبير عنه، مما يشير إلى أن توقيت التدخل العلاجي هو عامل حاسم.

تعتمد الآليات الوقائية للإستروجين على مسارات جزيئية ثانوية، لذا فإن تطوير معدلات الإستروجين للوقاية يرتبط بتحديد الفئات الأكثر عرضة [131]. يُعد ERβ المستقبل الغالب في الخلايا الظهارية الطبيعية والسرطانية بالقولون، لكن فقده خلال التقدم الورمي يشير إلى دور محتمل لإشارات الإستروجين في تطور المرض. قد تمارس الهرمونات الإستروجينية تأثيراً مضاداً للسرطان عبر تحفيز مسارات الاستماتة بوساطة ERβ، تثبيط الالتهاب، وتعديل البيئة الدقيقة للورم.

أظهرت دراسات أن مسار الإستروجين قد يكون هدفاً علاجياً واعداً عبر آليات وقائية على المستويين الخلوي والجزيئي [132]. ارتبط استخدام HRT بعد انقطاع الطمث بانخفاض خطر الوفاة المرتبطة بسرطان القولون في تحاليل تلوية متعددة. أكدت دراسات سكانية في السويد أن HRT بعد التشخيص يقلل من الوفيات السرطانية [133].

أما الهرمون الأنثوي الآخر (البروجسترون)، فقد ارتبط انخفاض مستوياته وانخفاض مستقبلاته (PGR) بزيادة خطر الإصابة بالسرطان. أشارت دراسات إلى أن البروجسترون كبح تكاثر خلايا السرطان عبر تعطيل الدورة الخلوية وتحفيز الموت الخلوي المبرمج. في الجسم الحي، عزز البروجسترون التعبير عن بروتين GADD45 المسبب لتوقف النمو، مما حفز مسار إشارات JNK لتثبيط التكاثر وتعزيز موت الخلايا [134].

أظهر العلاج المشترك بالإستروجين والبروجسترون زيادة في علامات الاستماتة (كاسباز 3، PARP) وانخفاضاً في علامات التكاثر (PCNA)، مع تعزيز التعبير عن ERβ في الأورام [135]. نستنتج أن التأثير التآزري للهرمونين يعزز تثبيط السرطان عبر تفعيل ERβ.

5.6. العلاج المساعد والعلاج قبل الجراحي في السرطان:

في المرضى المصابين بسرطان القولون المرحلة الثالثة ، يعد العلاج الكيميائي المساعد باستخدام مزيج الأوكساليبلاتين مع الفلوروبيريميدين (FOLFOX أو CAPOX) معيارًا روتينيًا للرعاية. يمكن تقليل مدة العلاج من 6 أشهر إلى 3 أشهر، اعتمادًا على البروتوكول المستخدم، للمرضى ذوي الخطورة المنخفضة لعودة المرض، دون فقدان الفعالية مع تقليل خطر الاعتلال العصبي الحسي.

يتميز العلاج الجهازي قبل الجراحي بالعديد من المزايا المحتملة مقارنة بالجراحة الفورية، مثل تقليل حجم الورم، وعلاج النقائل المجهرية مبكرًا، وتقييم استجابة الورم في الجسم الحي. بسبب هذه المزايا، أصبح العلاج قبل الجراحي معيارًا لعدد متزايد من أنواع الأورام. حاليًا، لا يزال علاج مرضى سرطان القولون يعتمد بشكل روتيني على الجراحة الفورية، ولم يصبح العلاج الجهازي قبل الجراحي معياريًا بعد. تشمل العوائق التي تحول دون انتشار استخدامه الدقة المحدودة في التصنيف الإشعاعي للمرحلة، ووجود مخاوف من تطور الورم أثناء العلاج قبل الجراحة، مما قد يجعل المريض غير قابل للشفاء، ونقص البيانات المعشاة التي تثبت فائدة هذا الإجراء.

ومع ذلك، يوجد اهتمام كبير بالعلاج الكيميائي قبل الجراحي، وتجري حاليًا عدة تجارب سريرية. أظهرت متابعة أولية للعلاج الكيميائي قبل الجراحي لسرطان القولون انخفاضًا في مرحلة الورم وتحسنًا محتملًا في البقاء دون وجود المرض.

6.6. عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) في علاج سرطان القولون والمستقيم غير النقيلي:

1.6.6. القيمة التنبؤية لحالة عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) في سرطان القولون والمستقيم غير النقيلي:

أثبتت العديد من الدراسات والتحليلات التلوية أن الأورام ذات خاصية عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) ترتبط بُتوقع سير مرض (إنذار) أفضل مقارنة بالأورام ذات خاصية استقرار الجينات الصغيرة (MSS) في سرطانات القولون والمستقيم بالمرحلتين الثانية والثالثة. ففي تحليل تلوي ضم 31 دراسة، شملت 1277 ورمًا من نوع MSI من بين 7642 ورمًا، انخفض خطر الوفاة بنسبة 35% لدى المرضى حاملي الأورام ذات خاصية MSI [136].

يُعزى هذا الإنذار المرضي الأفضل إلى انخفاض معدلات عودة المرض في كلا المرحلتين الثانية والثالثة من الأورام ذات خاصية MSI [137]. ففي دراسة سينيكروب وزملاؤه (Sinicrope)، تم الكشف عن خاصية MSI في 344 حالة من أصل 2141 حالة سرطان قولون بالمرحلتين الثانية والثالثة (بنسبة 16.1%)، وارتبطت هذه الخاصية بما يلي:

- ❖ انخفاض معدلات عودة المرض خلال 5 سنوات
- ❖ تأخر زمن عودة المرض
- ❖ انخفاض في حالات انتشار المرض (انتقاله إلى أعضاء أخرى) [138].

بالانتقال إلى سرطانات القولون في المرحلة الثانية، أظهرت دراسة "كوازار" (QUASAR) أيضًا الأهمية التنبؤية لحالة عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) في هذه المرحلة، حيث كان مخاطر تكرار المرض حوالي نصف نظيرتها في الأورام ذات خاصية الاستقرار (MSS) [139].

إجمالاً، وفي ضوء نتائج الدراسات التي شملت مرضى عولجوا بالجراحة فقط أو بالعلاج الكيميائي المساعد القائم على دواء 5–فلوروبوراسيل (5–FU)، يبدو أن حالة عدم الاستقرار الجيني (MSI) ترتبط بإنذار أفضل للمرض مقارنةً بحالة الاستقرار (MSS).

إن معدل الانتكاس المنخفض الذي بلغ حوالي 10% على مدى 10 سنوات، كما ورد في تجربة "كوازار" ودراسات أخرى لمرض المرحلة الثانية، مهّد الطريق لعدم اللجوء إلى العلاج الكيميائي المساعد في هؤلاء المرضى، شريطة أن يكونوا قد خضعوا لاستئصال سرطان القولون وذلك كما هو موصى به في أحدث الإرشادات الصادرة عن الجمعية الأوروبية للأورام (ESMO) [140].

2.6.6. القيمة التنبؤية لحالة عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) فيما يتعلق بفعالية العلاج الكيميائي المساعد بالفلوروبيريميدين:

لا تقتصر أهمية حالة عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) على قيمتها التنبؤية لمآل المرض فحسب، بل يُقترح أيضًا أنها قد تتنبأ باستجابة المرضى للعلاج الكيميائي المساعد أو مقاومتهم له. وفي الواقع، توجد بيانات متضاربة بشأن الفائدة الإجمالية للعلاج الكيميائي المساعد في حالات سرطانات القولون والمستقيم غير النقيلية ذات خاصية MSI.

ففي الأدبيات العلمية، أشارت العديد من الدراسات الأولية إلى عدم وجود فائدة في معدل البقاء عند علاج المرضى الحاملين للأورام ذات خاصية MSI بالعلاج المساعد بعقار 5–فلوروبوراسيل (5FU) [141]. وقد أكد تحليل تلوي حديث ومُحدَّث لقاعدة بيانات ACCENT، خاص بمرضى سرطان القولون في المرحلة الثالثة، عدم وجود فائدة من العلاج الكيميائي المساعد باستخدام FU5 وحده، ولكنه سجل في الوقت ذاته عدم وجود تأثير ضار لهذا العلاج [142].

بالنسبة لمرضى سرطان القولون في المرحلة الثانية، أظهرت عدة دراسات انخفاض الفائدة العلاجية للعلاج الكيميائي المساعد باستخدام الفلوروبيريميدين منفردًا، بل وحتى تأثيرًا ضارًا محتملًا في الأورام ذات خاصية عدم الاستقرار الجيني (MSI) مقارنة بالأورام ذات خاصية الاستقرار (MSS).

في الدراسة الأولى التي أجراها ريبيك وزملاؤه (Ribic)، لم يكن هناك فرق ذو دلالة إحصائية في معدل البقاء الإجمالي بين مرضى أورام MSI الذين تلقوا علاجًا كيميائيًا مساعدًا قائمًا على 5–فلوروبوراسيل (FU5) وأولئك الذين لم يتلقوه في كل من المرحلتين الثانية والثالثة [143].

وفي تحليل كبير شمل خمس تجارب سريرية للعلاج الكيميائي المساعد القائم على الفلوروبيريميدين، ضمت 165 ورمًا من نوع MSI و1027 ورمًا من نوع MSS، لوحظ وجود اتجاه نحو تأثير ضار للعلاج الكيميائي المساعد القائم على الفلوروبيريميدين مقارنة بالجراحة وحدها في مرضى المرحلة الثانية من حاملي أورام MSI.

3.6.6. القيمة التنبؤية لحالة عدم استقرار الجينات الصغيرة (MSI) فيما يتعلق بفعالية العلاج الكيميائي المساعد القائم على الأوكساليبلاتين:

يؤدي إضافة عقار الأوكساليبلاتين إلى العلاج المساعد بالفلوروبيريميدين (FU5) إلى تحسين "البقاء خاليًا من المرض" لدى مرضى سرطانات القولون ذات خاصية MSI في المرحلتين الثانية والثالثة، وذلك وفقًا لبعض التجارب والدراسات الراجعة الكبيرة [144].

ففي تحليل لبيانات من مشروع الجراحة المساعد الوطني لسرطان الثدي والقولون (NSABP)، استمرت فائدة البقاء على قيد الحياة الناتجة عن إضافة الأوكساليبلاتين إلى العلاج المساعد بالـ FU5 بغض النظر عن حالة عدم الاستقرار الجيني (MMR).

وأظهر التحليل الفرعي لتجربة MOSAIC بعد متابعة وسيطة استمرت قرابة 10 سنوات وجود اتجاه نحو تحسن في "معدل البقاء الإجمالي" عند استخدام مزيج FU5 والأوكساليبلاتين مقارنة بالـ FU5 وحده في سرطانات القولون ذات خاصية MSI [145].

وأشارت سلسلة دراسية راجعة كبيرة أخرى مستمدة من أكثر من 20 مركزًا فرنسيًا إلى نتائج أفضل مع استخدام الأوكساليبلاتين في المرضى الحاملين لسرطانات القولون ذات خاصية MSI. حيث كان "معدل البقاء خاليًا من التكرار" لمدة 3 سنوات هو 75.2% للمجموعة التي عولجت بالجراحة فقط، و66.4% للمجموعة التي عولجت بالفلوروبيريميدين وحده، مقارنة بـ 84.2% للمجموعة التي عولجت بمزيج الفلوروبيريميدين والأوكساليبلاتين في سرطانات القولون ذات خاصية MSI في المرحلتين الثانية/الثالثة [146].

وأشارت سلسلة دراسية راجعة كبيرة أخرى مستمدة من أكثر من 20 مركزًا فرنسيًا إلى نتائج أفضل مع استخدام الأوكساليبلاتين في المرضى الحاملين لسرطانات القولون ذات خاصية MSI. حيث كان "معدل البقاء خاليًا من التكرار" لمدة 3 سنوات هو 75.2% للمجموعة التي عولجت بالجراحة فقط، و66.4% للمجموعة التي عولجت بالفلوروبيريميدين وحده، مقارنة بـ 84.2% للمجموعة التي عولجت بمزيج الفلوروبيريميدين والأوكساليبلاتين في سرطانات القولون ذات خاصية MSI في المرحلتين الثانية/الثالثة [146].

في تحليل آخر، أظهر المرضى الذين عولجوا بمزيج الفلوروبيريميدين والأوكساليبلاتين فترة بقاء خالية من المرض أطول بشكل ذي دلالة إحصائية مقارنة بالمرضى الذين عولجوا بالجراحة وحدها. في المقابل، لم يلاحظ أي فائدة في البقاء للمرضى الذين عولجوا بالفلوروبيريميدين وحده.

4.6.6. الإرشادات العلاجية في سرطانات القولون والمستقيم ذات خاصية عدم الاستقرار الجيني:

بالنسبة لمرضى المرحلة الثانية من سرطانات القولون ذات خاصية MSI:

وفقًا للإرشادات الفرنسية الوطنية: يُوصى بـ 6 أشهر من العلاج الكيميائي القائم على الأوكساليبلاتين فقط لمرضى المرحلة الثانية من فئة pT4b (سرطان المرحلة الرابعة ب من نظام التصنيف الورمي) بينما لا يُوصى بأي علاج مساعد لجميع الحالات الأخرى من المرحلة الثانية [147].

على النقيض من ذلك، الإرشادات الحديثة للشبكة الوطنية الشاملة للسرطان في الولايات المتحدة (NCCN): تُوصي بالمراقبة فقط (بدون علاج كيميائي مساعد) حتى في حالات المرحلة الثانية عالية الخطورة ذات خاصية MSI، بما في ذلك الأورام المصنفة T4b.

أما إرشادات الجمعية الأوروبية للأورام (ESMO): فتوصي باستخدام علاج FOLFOX (حمض الفولينيك و5–فلوروبوراسيل، وأوكساليبلاتين لمدة 6 أشهر أو CapOx (الكابيسيتابين والأوكساليبلاتين) لمدة 3 أشهر لمرضى المرحلة الثانية عالية الخطور ذات خاصية MSI، والمعرفة بأنها الأورام المصنفة pT4. بينما لا توصي بأي علاج مساعد لجميع حالات المرحلة الثانية الأخرى ذات خاصية MSI [148].

أما بالنسبة لمرضى المرحلة الثالثة:

يتم التوصية باستخدام علاج CapOx لمدة 3 أشهر لمرضى المرحلة الثالثة منخفضة الخطورة ذات خاصية MSI.

بينما يُوصى باستخدام علاج FOLFOX أو CapOx لمدة 6 أشهر لمرضى المرحلة الثالثة مرتفعة الخطورة ذات خاصية MSI.

وتجدر الإشارة إلى أن هذه التوصيات تطابق تمامًا تلك المتبعة لعلاج سرطانات القولون ذات خاصية الاستقرار (MSS) في المرحلة الثالثة [149].

في الختام، لا تُوصي المبادئ التوجيهية الحالية بالعلاج المساعد باستخدام 5–FU وحده لمرضى سرطان القولون في المرحلة الثانية ذوي خاصية عدم الاستقرار الجيني (MSI)، حتى عند وجود عوامل خطورة مرتفعة.

في المقابل، يُوصى بالعلاج المساعد باستخدام نظام CapOx لمدة 3 أشهر أو نظام FOLFOX لمدة 6 أشهر لكل من مرضى المرحلة الثانية عالية الخطورة ومرضى المرحلة الثالثة منخفضة الخطورة ذوي خاصية MSI. أما بالنسبة لمرضى المرحلة الثالثة مرتفعي الخطورة ذوي خاصية MSI، فيُوصى بنظام علاجي قائم على الأوكساليبلاتين لمدة 6 أشهر.

5.6.6. العلاجات الحديثة والمناعية في سرطانات القولون والمستقيم الموضعية ذات خاصية عدم الاستقرار الجيني (MSI):

دفع الأداء المتميز لمثبطات نقاط التفتيش المناعية في علاج سرطانات القولون والمستقيم النقيلية ذات خاصية MSI إلى تقييمها في المرضى الذين يعانون من المرض غير النقيلي، كعلاجات (تمهيدية) ومساعدة.

لقد تم إثبات جدوى وسلامة استخدام مثبطات نقاط التفتح المناعية في السياق العلاجي التمهيدي (قبل الجراحة) في عدة أنواع من الأورام، بما في ذلك سرطانات القولون والمستقيم [150]. في حالات سرطانات القولون والمستقيم الموضعية، اختبرت تجربة NICHE من المرحلة الثانية فعالية علاج تمهيدي قصير المدة باستخدام نيفولوماب (مضاد لمستقبل PD−1، بجرعة 3 ملغ/كغ في اليومين 1 و15) بالاشتراك مع إيبليموماب (مضاد لمستقبل CTLA−4، بجرعة 1 ملغ/كغ في اليوم 1) في كل من سرطانات القولون والمستقيم القابلة للاستئصال ذات خاصيتي MSS وMSI، وشملت 21 ورمًا من نوع MSI [151].

أظهرت جميع أورام MSI المستأصلة استجابة مرضية، بما في ذلك استجابة مرضية كبرى بنسبة 95% (19 من أصل 20 ورمًا) (مُعرفة بوجود ≤10% من الخلايا السرطانية الحية)، واستجابة مرضية كاملة بنسبة 60% (12 من أصل 20 ورمًا). على النقيض من ذلك، لوحظت استجابة مرضية كبرى في 3 أورام فقط من أصل 15 ورمًا مستأصلًا من نوع MSS (20%). ومن الجدير بالذكر أن وجود خلايا T من نوع PD−1 +CD8+ داخل الأورام كان مؤشرًا تنبؤيًا على الاستجابة في أورام MSS. كان العلاج بمثبطات نقاط التفتح جيد التحمل، وخضع جميع المرضى لاستئصال جذري للورم دون أي تأخير.

تم الإبلاغ عن نتائج مشابهة في دراسة من المرحلة الثانية اختبرت العلاج التمهيدي باستخدام توريبااليماب (مضاد لـ PD−1) مع أو بدون سيلكوكسيب (مثبط لأنزيم COX−2) لسرطانات القولون ذات خاصية MSI [152].

بشكل عام، تم توزيع 34 مريضًا عشوائيًا على مجموعة العلاج المركب (توريبااليماب مع سيلكوكسيب) أو مجموعة العلاج المنفرد توريبااليماب فقط. وأظهرت النتائج استجابة مرضية كاملة في 88% من المرضى في مجموعة العلاج المركب مقارنة بـ 65% في مجموعة العلاج المنفرد. وكان جميع المرضى على قيد الحياة وخاليين من انتكاسة المرض، بمتابعة وسيطة بلغت 14.9 شهرًا.

أما في دراسة مستمرة تستخدم البيمبروليزوماب لمدة 6 أشهر يليها استئصال جراحي لعلاج الأورام الصلبة غير النقيلية ذات خاصية MSI، سواء كانت غير قابلة للاستئصال أو عالية الخطورة، فقد أظهرت النتائج الأولية معدل استجابة مرضية كاملة بلغ 67% بين المرضى الذين خضعوا للجراحة [153]. والأكثر إثارة للاهتمام، تم اختيار نهج العلاج غير الجراحي (باستخدام البيمبروليزوماب لمدة 12 شهرًا) لـ 15 مريضًا، وتم تحقيق الحفاظ على العضو لمدة عام في جميع المرضى.

إضافة إلى ذلك، قامت دراسة مستقبلية حديثة من المرحلة الثانية بتقييم دواء دوستارليماب، وهو جسم مضاد وحيد النسيلة مضاد لمستقبل PD−1، كعلاج تمهيدي لمرضى سرطان المستقيم الغدي في المرحلتين الثانية أو الثالثة الحامل لطفرات dMMR/MSI−H [154].

المرضى الذين أبدوا استجابة سريرية كاملة بعد انتهاء العلاج بالدوستارليماب استمروا في المسار العلاجي دون الحاجة للعلاج الكيميائي الإشعاعي أو الجراحة. ومن بين المرضى الذين أكملوا العلاج بالدوستارليماب ولديهم متابعة لمدة 6 أشهر على الأقل، أظهر جميعهم استجابة سريرية كاملة. هذه النتائج تفتح الباب أمام إمكانية اتباع إستراتيجية "المراقبة والانتظار" باستخدام مثبطات نقاط التفتح المناعية وحدها لعلاج سرطان المستقيم القابل للاستئصال ذي الخلل في إصلاح عدم تطابق القواعد (dMMR).

استنادًا إلى هذه النتائج، تم إطلاق تجربة IMHOTEP لتقييم فعالية جرعة واحدة من البيمبروليزوماب قبل الجراحة من حيث معدل الاستجابة المرضية الكاملة في الأورام ذات خاصية عدم الاستقرار الجيني (MSI) (وتشمل أربع مجموعات وفقًا لموقع الورم الأساسي: القولون، بطانة الرحم، المعدة، وسرطانات الجهاز الهضمي الأخرى).

أما دراسة تجريبية أخرى مستمرة فتقوم بتقييم استخدام البيمبروليزوماب المساعد في 10 مرضى يعانون من أي ورم صلب ذي خاصية MSI، خضعوا لاستئصال جراحي علاجي كامل (R0)، ويظهرون مرضًا متبقيًا ضئيلًا تم تقييمه بواسطة الحمض النووي الورمي المنتشر في الدم، وذلك خلال 4 أشهر من انتهاء العلاج المساعد القياسي المناسب (الجراحة، العلاج الكيميائي، الإشعاع حسب الاقتضاء).

7.6. عدم الاستقرار الجيني (MSI) في سرطان القولون والمستقيم النقيلي:

1.7.6. حالة MSI في مرحلة الانتشار:

بينما تبدو الخاصية الجينية MSI في سرطانات القولون والمستقيم بمثابة علامة تنبؤية في السياق المساعد (ما بعد الجراحة)، إلا أن الأمور قد تكون مختلفة في المرحلة المنتشرة. تمثل الأورام ذات خاصية MSI حوالي 5% من سرطانات القولون والمستقيم النقيلية [155].

في تحليل شمل أكثر من 3000 مريض بسرطان القولون والمستقيم المنتشر عولجوا في أربع تجارب سريرية من المرحلة الثالثة، أظهر "فيندربوش" وزملاؤه أن 153 مريضًا (4.9%) كانوا حاملين لأورام MSI، وكان 34.6% من هؤلاء المرضى يحملون طفرة BRAFV600E. كان معدل البقاء الخالي من التقدم ومعدل البقاء الإجمالي الوسيطان أقل بشكل ملحوظ لدى المرضى الحاملين لأورام MSI مقارنة بأولئك الحاملين لأورام MSS. كما كانا أقل أيضًا لدى المرضى الحاملين لطفرات BRAFV600E.

على العكس من ذلك، بينما بدا أن معدل البقاء الخالي من التقدم ومعدل البقاء الإجمالي الوسيطان أقل بشكل ملحوظ لدى المرضى الحاملين لطفرة BRAFV600E والذين تكون أورامهم من نوع MSS، إلا أن حالة BRAFV600E لم تعد ذات تأثير تنبؤي في المرضى الحاملين لأورام MSI [156].

تُظهر هذه النتائج، التي تُرجح وجود تأثير تنبؤي إيجابي لخاصية عدم الاستقرار الجيني (MSI) فقط لدى المرضى الحاملين للنسخة الطبيعية من جين BRAF (أي غير الحاملين للطفرة V600E)، تعارضاً مع تحليل آخر شمل أكثر من 2000 مريض من قاعدة بيانات ACCENT. جميع هؤلاء المرضى عانوا من انتكاسة مرضية منتشرة بعد أن كانوا قد خضعوا سابقاً لاستئصال جراحي وعلاج مساعد قائم على دواء الأوكساليبلاتين. في هذه المجموعة، ارتبطت خاصية MSI بنتيجة مرضية أفضل بغض النظر عن حالة جين BRAF [157].

وفي نفس العام تقريباً، أبلغ إنوسينتي وزملاؤه عن نتائج مشابهة لدى مرضى السرطان المنتشر من نوعي MSI وMSS عند علاجهم بداء بيفاسيزوماب (المضاد للأوعية الدموية). ومع ذلك، لاحظوا قصراً في معدل البقاء الإجمالي لدى مرضى MSI المنتشر الذين عولجوا بداء سيتوكسيماب (المضاد لمستقبل EGFR) مقارنة بمرضى MSS النقيلي [158].

2.7.6. خاصية MSI في مرحلة المنتشرة كعامل تنبؤيً لفعالية العلاج المناعي:

كما ذُكر سابقًا، تمتلك الأورام ذات خاصية عدم الاستقرار الجيني (MSI) عددًا من الطفرات الجسدية يزيد من 10 إلى 100 مرة مقارنة بالأورام ذات خاصية الاستقرار (MSS)، وترتبط بوجود تسلل مناعي أكبر في البيئة الدقيقة للورم [159]. هذه الخصائص قد تجعلها أكثر حساسية للعلاج بمثبطات نقاط التفتيش المناعية (سواء بمضادات PD-1/PD-L1 وحدها أو مدمجة مع مضادات CTLA-4).

أظهرت دراسة لي وزملاءه (Le et al) أن مجموعة المرضى الذين يعانون من سرطان قولون ومستقيم نقيلي ذي خاصية MSI والذين تلقوا سابقًا أكثر من خطين علاجيين، أبدت حساسية خاصة للعلاج المناعي بمضاد PD-1 (البيمبروليزوماب)، على غرار المرضى الذين يعانون من سرطانات غير قولونية ذات خاصية MSI.

عند مقارنة هاتين المجموعتين بمجموعة MSS في القولون والمستقيم، كان معدل الاستجابة الموضوعية 62% (مقارنة بـ 0% في مجموعة MSS القولونية و60% في مجموعة MSI غير القولونية). بالنسبة لسرطانات MSI، لم يتم الوصول إلى متوسط البقاء الخالي من التقدم ومتوسط البقاء الإجمالي بعد متابعة وسيطة بلغت 18 شهرًا [160].

3.7.6. فعالية العلاج المناعي لسرطان القولون والمستقيم النقيلي ذي خاصية عدم الاستقرار الجيني:

تم تقييم دواء آخر مضاد لـ PD-1، وهو نيفولوماب، في تجربة من المرحلة الثانية متعددة المجموعات، لمرضى سرطان القولون والمستقيم المنتشر ذوي خاصية MSI (الذين تلقوا أكثر من خطين علاجيين سابقين)، سواءً بمفرده أو بالاشتراك مع العلاج المناعي المضاد لـ CTLA-4 إيبليموماب [161].

حققت الجرعة المنفردة من النيفولوماب:

- ❖ معدل استجابة عام بلغ 32% (وفقًا للتقييم المركزي).
- ❖ بقاء خالٍ من التقدم بنسبة 50% عند 12 شهرًا.
- ❖ بقاء عام بنسبة 73% عند 12 شهرًا.

ومجددًا، كانت مدة الاستجابة طويلة. في مجموعة الجمع بين النيفولوماب والإيبليموماب، ارتفع معدل الاستجابة العام إلى 62%، مع بقاء خالٍ من التقدم بنسبة 53% وبقاء عام بنسبة 70.5% عند 48 شهرًا [162].

تم تقييم نفس مثبطات نقاط التفتح المناعية في سياق خط العلاج الأول ولوحظ أن المرضى الذين عولجوا بنيفولوماب + إيبليموماب حققوا معدل استجابة عام 69٪ ولم يتم حتى الآن تحديد متوسط البقاء الخالي من تطور المرض ومتوسط البقاء العام ومتوسط مدة الاستجابة جميع النتائج مستمرة بعد متابعة 3 سنوات [163].

تم تقييم البيمبروليزوماب في تجربة لعلاج سرطان القولون والمستقيم النقيلي ذي خاصية عدم الاستقرار الجيني (MSI) في خط العلاج الأول (تجربة Keynote–177) بالمقارنة مع العلاج الكيميائي المزدوج بالإضافة إلى العلاج الموجه (مضاد مستقبل عامل نمو البشرة [EGFR] أو مضاد عامل نمو بطانة الأوعية الدموية [VEGF]) [164].

تم تعيين 307 مرضى بشكل عشوائي. تحسن متوسط البقاء الخالي من التقدم بشكل ملحوظ في مجموعة البيمبروليزوماب: 16.5 شهرًا مقابل 8.2 شهرًا. عند المتابعة لمدة 5 سنوات، لم يتم تحديد متوسط البقاء العام في مجموعة البيمبروليزوماب وكان 36.7 شهرًا في مجموعة العلاج الكيميائي [165].

يرتبط هذا البقاء العام الممتاز للمرضى المعالجين بالعلاج الكيميائي (±العلاج الموجه) بحقيقة أن 60٪ منهم في هذه المجموعة تلقوا العلاج المناعي في خطوط العلاج اللاحقة. كانت نسبة الاستجابة الموضوعية 45.1٪ في مجموعة العلاج المناعي مقارنة بـ 33.1٪ في مجموعة العلاج الكيميائي [166].

أصبح البيمبروليزوماب، الذي يُعطى عن طريق تسريب مدته 30 دقيقة كل 3 أسابيع ولمدة عامين، المعيار القياسي لعلاج سرطان القولون والمستقيم النقيلي غير القابل للاستئصال ذي خاصية عدم الاستقرار الجيني. تفتح فعاليته الملحوظة آفاقاً جديدة في علاج هؤلاء المرضى، ولا سيما فيما يتعلق بفرصة استئصال النقائل التي أصبحت قابلة للاستئصال.

على سبيل المثال، حوالي 70٪ من المستجيبين للعلاج ظلوا خاليين من تطور المرض عند 5 سنوات، ومن المحتمل أن بعضهم قد شُفي بالعلاج الجهازي دون جراحة. في ضوء هذه النتائج الممتازة، يجب النظر بعين الاعتبار إعطاء الدواء لعلاج الاعتلالات والوفيات الناجمة عن الإجراء الجراحي، خاصة في عمليات الاستئصال المعقدة، قبل اتخاذ قرار الجراحة لمرضى سرطان القولون والمستقيم النقيلي ذي خاصية عدم الاستقرار الجيني المعالجين بالعلاج المناعي.

4.7.6. فعالية العلاج المناعي لسرطان القولون والمستقيم النقيلي ذي خاصية عدم الاستقرار الجيني والطفرات في جين BRAFV600E:

يتميز سرطان القولون والمستقيم النقيلي الحامل لطفرة BRAFV600E بإنذار سيء للغاية، حيث لا يتجاوز متوسط البقاء العام 20 شهرًا حتى مع العلاج الكيميائي المكثف في الخط الأول (الثنائي أو الثلاثي) المدمج مع البيفاسيزوماب، والذي يمثل المعيار العلاجي الحالي في هذه الحالات [167].

هناك ارتباط قوي بين خاصية عدم الاستقرار الجيني وطفرات BRAFV600E في سرطانات القولون والمستقيم النقيلية. حيث وجد فانديربوش وزملاؤه أن 21.2% من الأورام ذات طفرة BRAFV600E كانت ذات خاصية عدم استقرار جيني وأن حوالي 34.6% من الأورام ذات خاصية عدم الاستقرار الجيني تحمل طفرة BRAFV600E [168].

أظهرت التحليلات الفرعية لتجربتي Keynote-177 وCheckmate-142 فعالية مماثلة للعلاج المناعي في مجموعة الأورام ذات خاصية عدم الاستقرار الجيني، بغض النظر عن حالة طفرة BRAF. وعليه، يجب أن يكون العلاج المناعي الخيار المفضل في الخط العلاجي الأول للمرضى الحاملين لأورام ذات خاصية عدم الاستقرار الجيني وطفرة BRAFV600E [169].

الحالات السريرية:

الحالة السريرية الأولى:

تاريخ الحالة: 2017/9

الجنس: أنثى

العمر: 27 عاماً

العرض الرئيسي: ألم بطني، وانقطاع التبرز لمدة يوم واحد.

الفحوص والتشخيص الأولي:

- ❖ أظهر فحص تنظير القولون وجود آفة حَيِّزِيَّة (كتلة) على بعد 30 سم من حافة الشرج.
- ❖ الفحص النسيجي (الخزعة) للآفة: أشار إلى وجود ورم غدي ضعيف التمايز.
- ❖ التصوير المقطعي المحوسب (CT): لم يظهر أي دليل على وجود نقائل.

العلاج الأولي:

خضعت المريضة لـ استئصال جذري لسرطان القولون الأيسر.

النتائج المرضية بعد الجراحة (المرحلة المرضية):

- ❖ ورم متقدم موضعيًا: الورم كبير واخترق جدار الأمعاء بشكل عميق.
- ❖ انتشار إلى العقد الليمفاوية: هناك انتشار كبير للخلايا السرطانية في الجهاز الليمفاوي، مما يزيد بشكل كبير من خطر عودة المرض.
- ❖ لا وجود للنقائل البعيدة (في ذلك الوقت): كان المرض محصورًا في منطقة القولون والأنسجة والعقد الليمفاوية المجاورة له.
- ❖ التقييم الأساسي بعد الجراحة: لم يظهر أي دليل على تكرار الورم أو وجود نقائل.

العلاج المساعد:

تم اختيار نظام XELOX كعلاج كيميائي مساعد بعد الجراحة. هذا العلاج يجمع بين فعالية دواء وريدي (أوكساليبلاتين) وراحة الدواء الفموي (كابسيتابين).

تطور المرض:

بعد إكمال ست دورات من العلاج الكيميائي، ظهر تقدم في المرض.

- ❖ الفحوص الإشعاعية (ECT وCT): أشارت إلى وجود تدمير في عظم الورك الأيمن، مما عزز الشكوك بوجود نقائل عظمية.
- ❖ فحص تنظير القولون المتكرر: كشف عن وجود ورم في قمة المفاغرة (مكان الوصلة الجراحية).
- ❖ الفحص النسيجي للورم الجديد: أظهر وجود ورم غدي متوسط التمايز.
- ❖ وبالتالي يوجد انتكاسة للمرض مع ظهور نقائل عظمية وانتكاس موضعي.

العلاج من الدرجة الثانية (Second-line Treatment):

بناءً على نتائج الفحص الجيني التي كشفت عن وجود طفرة في جين KRAS، تم تعديل الخطة العلاجية كالتالي:

تم استخدام العلاج المناعي الموجه باستخدام عقار بيفاسيزوماب (Bevacizumab) بالاشتراك مع نظام العلاج الكيميائي FOLFIRI: حمض الفولينيك Leucovorin، والفلورويوراسيل (5-FU)، والإرينوتيكان (Irinotecan)

العلاج الموضعي: خضعت المريضة للعلاج الإشعاعي الموضعي للنقائل العظمية في منطقة الورك الأيمن.

الاستجابة والنتيجة:

لسوء الحظ، وبعد دورتين فقط من هذا النظام العلاجي المدمج (الكيميائي والموجه)، ظهر تقدم مرضي مرة أخرى. أظهرت الفحوصات الإشعاعية ما يلي:

تضخم في الكتلة النسيجية حول الورك الأيمن.

ظهور نقائل متعددة جديدة في الفقرات (المناطق الصدرية والقطنية والعجزية) وكذلك في (النواتئ) الخاصة بها.

المراجعة التشخيصية والعلاج من الدرجة الثالثة:

تم مراجعة نتائج الفحص النسيجي المناعي (IHC) لأنسجة الورم، والتي كشفت عن فقدان التعبير عن بروتين MSH2. وأكدت فحوص تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) والتسلسل الجيني (NGS) وجود حالة عدم الاستقرار الجيني العالي (MSI–H) لدى المريضة. كما أشارت فحوص NGS إلى وجود حمل طفرات ورمي عالٍ (TMB) في كل من الدم المحيطي والنسيج الورمي للمريضة.

هذه المؤشرات الحيوية مجتمعة (MSI–H و TMB–high) تشير إلى أن المريضة لديها احتمال كبير للاستفادة من العلاج بمثبطات نقاط التفتيش المناعية، وتحديدًا العلاج بمضادات PD–1.

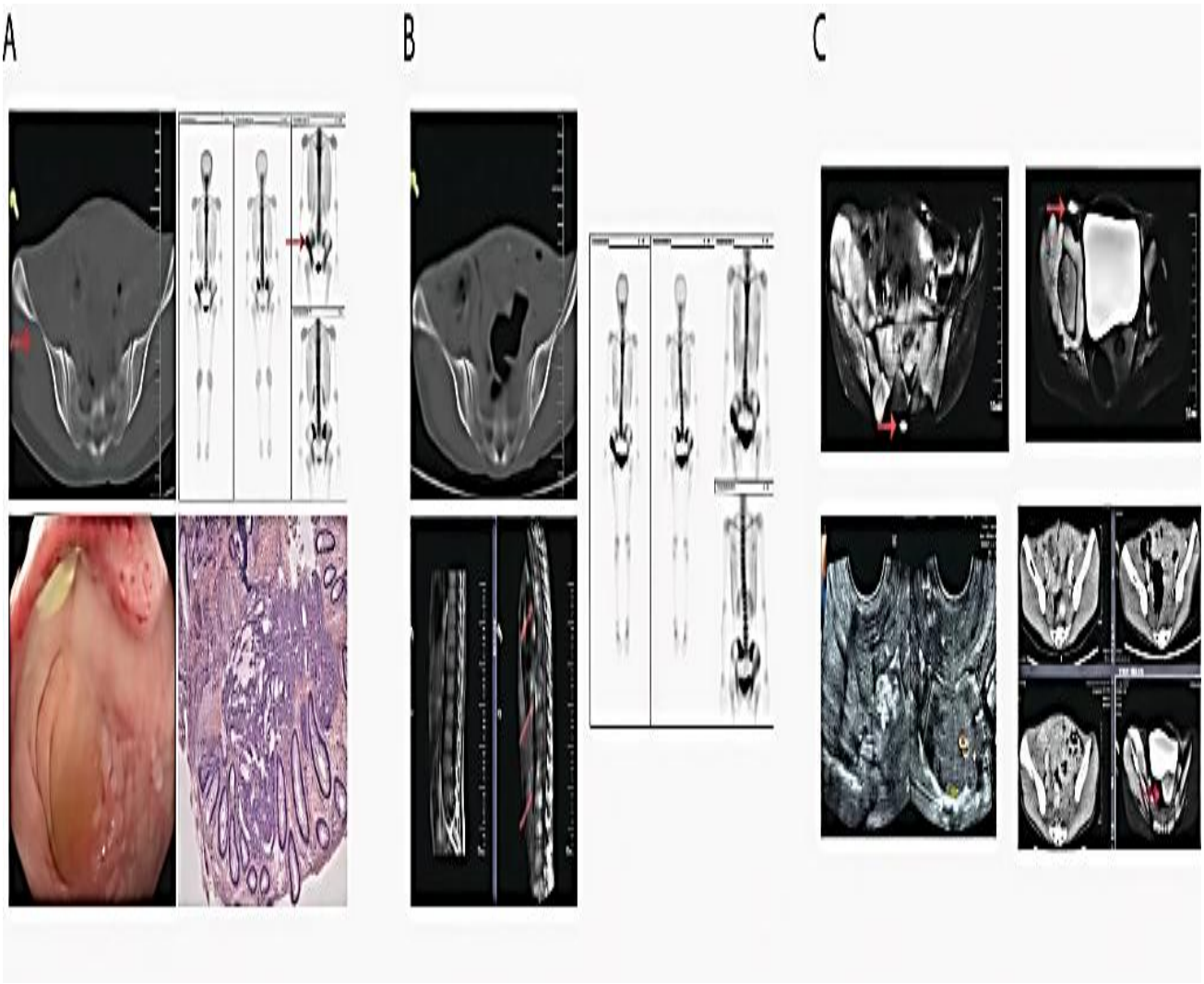
وفقًا لهذه النتائج، تم اختيار العلاج المناعي بمضاد PD–1 (تيسيليزوماب بجرعة 200 ملغ كل 3 أسابيع) كعلاج من الدرجة الثالثة.

نتائج العلاج:

بعد 3 دورات علاجية: أظهر التصوير استقرارًا في حجم الآفات الأصلية وتقلصًا في النقائل العظمية.

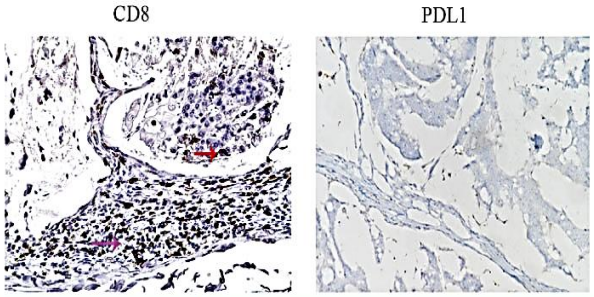
بعد 6 دورات علاجية: أظهر التصوير استجابة جزئية كبيرة، مع اختفاء بعض النقائل وانكماش واضح في الآفات الأخرى.

استمرت المريضة في تلقي العلاج المناعي مع تحسن عام في حالتها الصحية، وتمكنت من العودة إلى ممارسة حياتها الطبيعية. بقيت الآفات المتبقية مستقرة لفترة طويلة، مما يشير إلى تحقيق سيطرة دائمة على المرض.



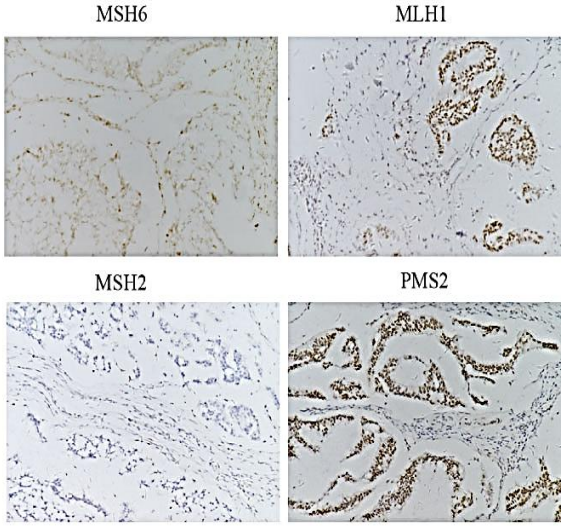
(A) صور إشعاعية لنقائل الورم بعد العلاج بـ XEOLX. (B) صور إشعاعية لنقائل الورم بعد العلاج من الخط الثاني. (C) صور إشعاعية لنقائل الورم بعد العلاج المناعي المضاد لـ PD1.

A



Markers	Stroma	Intratumoral
CD8	48 (counts/mm2)	272 (counts/mm2)
PDL1	0 (counts/mm2)	0 (counts/mm2)

B



C

Tissue	Blood
KRAS p.G13D	KRAS p.Ala146
MSH2 c.793-1G > A	MSH2 c.793-1G > A
APC p.Asn1979fs	APC p.Asn1979fs
ATR p.F153fs	AKT1 p.Glu17Lys
PTEN p.K267fs	MSH6 p.lys247fs
PTEN p.N323fs	ARID1A p.phe2141fs
	RB1 p.Ala74fs
	RB1 p.Val654fs
	SLX4 p.Ala938fs

D

	Tissue	Blood
TMB	63.5/Mb	100/Mb

(A): التعبير البروتيني لـ CD8 و PDL1. السهم الأحمر يشير إلى الخلايا التائية الإيجابية لـ CD8 داخل الورم. (B): صور الكيمياء النسيجية المناعية توضح التعبير عن بروتينات إصلاح عدم التطابق لدى هذه المريضة. (C): أظهر فحص التسلسل الجيني الجديد وجود عدة طفرات جينية عالية التكرار في الدم المحيطي والنسيج الورمي لدى هذه المريضة. (D): نتائج قياس العبء الطفري الورمي من الدم المحيطي والنسيج الورمي لدى هذه المريضة.

الحالة السريرية الثانية:

الجنس: ذكر

العمر: 69 عاماً.

الشكوى الرئيسية: قام المريض بزيارة المشفى بشكوى فقدان الوزن وألم بطني.

نتائج الفحوص الأولية:

- ❖ الفحوصات الإشعاعية: كشفت عن وجود كتلة في الصفاق بحجم 10 سم، يشتبه في منشأها من القولون الأيمن.
- ❖ تنظير البطن: أظهر وجود كتلة خلف الصفاق مع نقائل صفاقية.
- ❖ نتائج الخزعة: أكدت تشخيص سرطانة مع نقائل صفاقية.

نتائج فحوص المتابعة:

- ❖ تنظير القولون: كشف عن وجود كتلة قطرها 3 سم عند قاعدة الأعور.
- ❖ الفحص النسيجي: أظهر وجود غدية مخاطية ذات نمط خلايا كأسية، مع إفراز واسع للمخاط خارج الخلوي.
- ❖ الرنين المغناطيسي للبطن: أظهر كتلة بحجم 514x5.5x سم مع امتداد النقائل إلى جذر الوريد المساريقي العلوي واتصاله بالاثني عشر، مع وجود استسقاء بسيط في الحوض.
- ❖ التصوير المقطعي للصدر: أشار إلى وجود تضخم في العقد اللمفاوية بالمنصف مقاس 1015x مم دون أي نتائج شاذة أخرى.

التحاليل الجزيئية للورم الأولي:

- ❖ إيجابي لطفرة BRAF V600E
- ❖ سلبي لطفرات KRAS وNRAS (طبيعي)
- ❖ سلبي لمستقبل HER-2.

الخطة العلاجية الحالية:

تم بدء العلاج الجهازي للمريض بنظام FOLFIRINOX (5-فلوروبوراسيل، حمض الفولينيك، إرينوتيكان، أوكساليبلاتين) مع بيفاسيزوماب، وذلك في انتظار نتائج فحص عدم استقرار الجينات (MSI).

الاستجابة للعلاج الأولي:

بعد 4 دورات من العلاج بنظام FOLFIRINOX + بيفاسيزوماب، أظهر التصوير المقطعي المحوسب تراجعاً جزئياً في الأورام. استكمل المريض 8 دورات علاجية كاملة.

أظهر فحص PET/CT بعد الدورات الثمانية استجابة استقلابية ممتازة بنسبة 90%.

التقييم الجزيئي والنسيجي المناعي:

كشف الفحص النسيجي المناعي لعينة الورم الأولي عن نمط تلطيخ غير طبيعي (نقطي نووي) لكل من

بروتين MLH1 وبروتين PMS2

نظراً لذلك تم إجراء فحص تفاعل البوليميراز المتسلسل الذي أكد وجود النمط الظاهري MSI-H (عدم الاستقرار الجيني عالي المستوى). وتم إجراء فحص متيلة MLH-1 الذي كشف عن فرط متيلة في المنطقة المحفزة لجين MLH-1.

التحول في الخطة العلاجية:

بعد التأكد من تشخيص MSI-H، تم تغيير النظام العلاجي إلى:

- ❖ FOLFOX (حمض الفولينيك، فلوروبوراسيل، وأوكساليبلاتين)
- ❖ pembrolizumab: مضاد PD-1

بناءً على الاستجابة التي أظهرها الورم الأولي، والعقد اللمفاوية النقيلية، والنقائل الصفاقية للعلاج الكيميائي الثلاثي (FOLFIRINOX) مع البيفاسيزوماب، تم دمج العلاج المناعي (pembrolizumab) مع نظام FOLFOX لتحقيق أقصى فائدة علاجية مستدامة.

المرحلة النهائية من العلاج والتحضير للجراحة:

تلقى المريض 4 دورات إضافية من علاج FOLFOX بالتزامن مع pembrolizumab دون ظهور أي آثار جانبية. أظهر الرنين المغناطيسي قبل الجراحة تراجع الورم في الأعور واقتصاره على المساريقا.

الإجراء الجراحي:

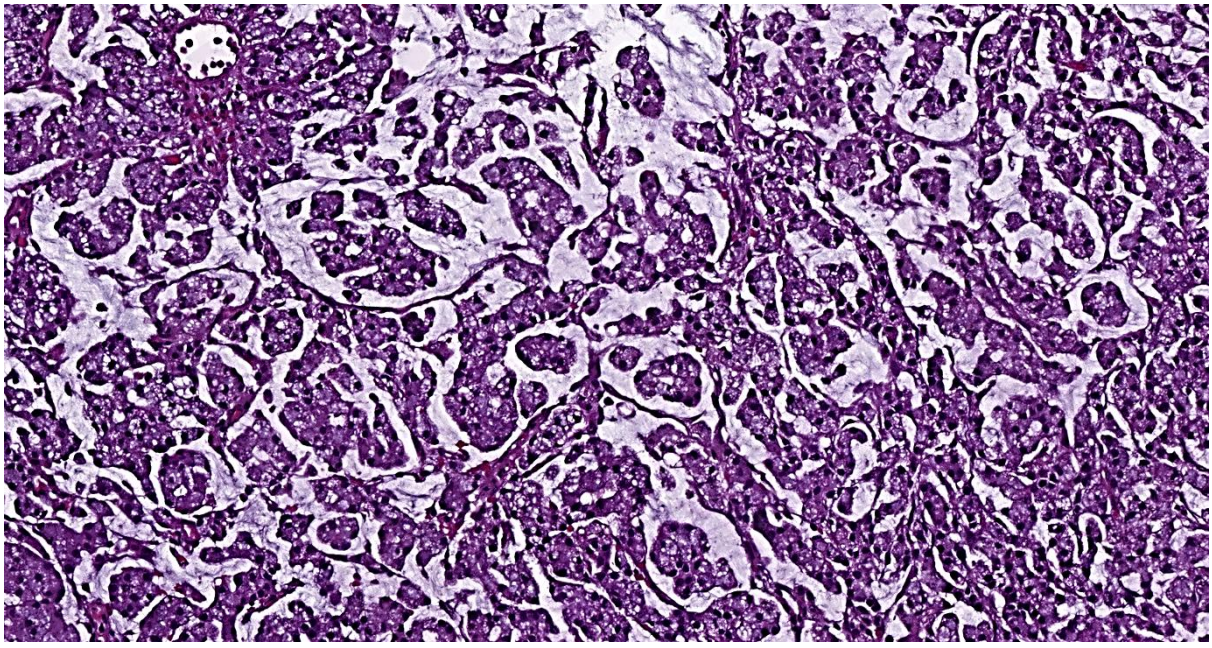
خضع المريض للعمليات التالية:

- ❖ استئصال النصف الأيمن للقولون
- ❖ استئصال الصفاق للحوض ومنطقة البطن السفلية
- ❖ استئصال البريتوان
- ❖ عمل مفاغرة ل اللفائفي على شكل حلقة

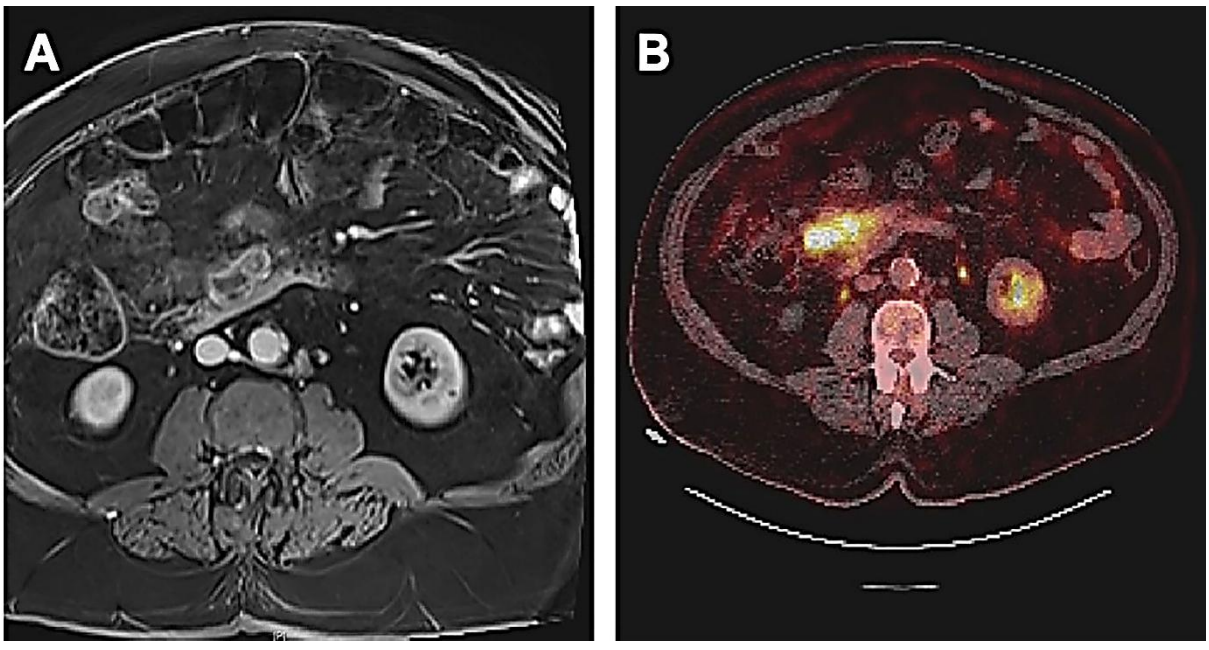
لم تحدث مضاعفات جراحية كبرى وتم إعادة توصيل الأمعاء بعد شهر من الجراحة.

العلاج المساعد والمتابعة:

- ❖ تم الاستمرار في علاج pembrolizumab كـ علاج صيانة بعد الاستئصال الجذري.
- ❖ أظهرت المتابعة بعد 6 أشهر من الجراحة خلو المريض من أي دليل على عودة الورم.
- ❖ الخطة المستقبلية: الاستمرار في العلاج لمدة 24 شهراً في حال عدم ظهور أي سمية أو آثار جانبية.

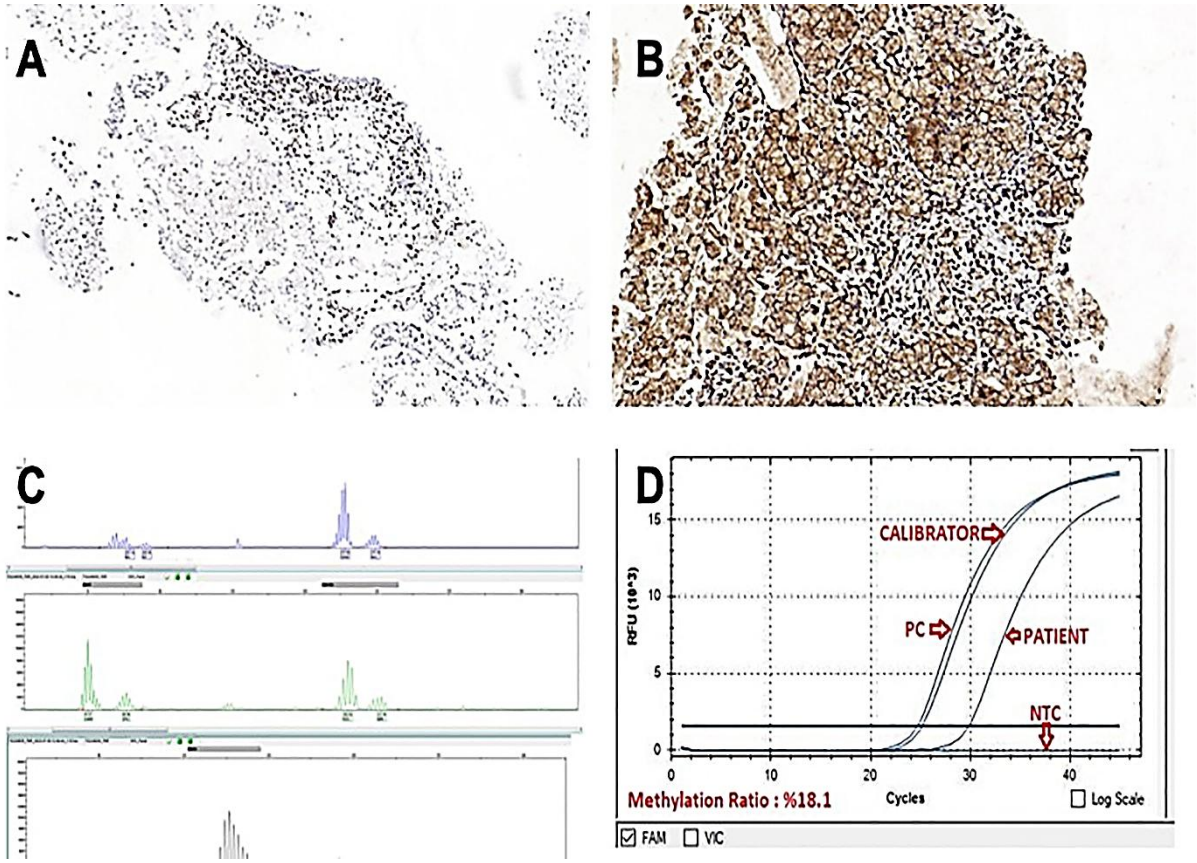


الورم الغدي المخاطي ذات نمط الخلايا الكأسية، بصبغة الهيماتوكسيلين واليوزين (H&E) تحت التكبير.



(A): التصوير بالرنين المغناطيسي عند التشخيص: يظهر وجود كتلة مع امتداد إلى جذر الوريد المساريقي العلوي بالإضافة إلى وجود استسقاء بسيط في الحوض.

التصوير المقطعي بالإصدار البوزيتروني عند التشخيص: يُظهر آفة متكتلة في المساريقا ومناطق مفرطة النشاط الاستقلابي في البطن تُعزى إلى الانتشار الصفاقي للمرض.



(A): فحص البروتين MLH-1: الفحص النسيجي المناعي (IHC) يُظهر نمط تلطيش نقطي نووي غير طبيعي – مؤشر على خلو وظيفي في بروتين الإصلاح MLH-1.

(B): فحص البروتين PMS-2: الفحص النسيجي المناعي (IHC) يُظهر فقدان التعبير البروتيني لـ PMS-2، وهو متوقع بسبب التبعية الوظيفية لبروتين PMS-2 لبروتين MLH-1.

(C): التحليل الجزيئي للنمط الظاهري: فحص تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) يؤكد وجود النمط الظاهري MSI-H (عدم الاستقرار الجيني عالي المستوى).

(D): تحليل متيلة MLH-1: كشف التحليل وجود فرط متيلة في المنطقة المُحَفِّزة لجين MLH-1، مما يشرح آلية تعطيل الجين ويفسر النتائج السابقة.

References

1. Olovo, C.V.; Huang, X.; Zheng, X. Faecal microbial biomarkers in early diagnosis of colorectal cancer. *J. Cell. Mol. Med.* 2021.
2. Pavitra, E.; Dariya, B.; Srivani, G.; Kang, S.M.; Alam, A.; Sudhir, P.R.; Kamal, M.A.; Raju, G.S.R.; Han, Y.K.; Lakkakula, B.V.K.S.; et al. Engineered nanoparticles for imaging and drug delivery in colorectal cancer. *Semin. Cancer Biol.* 2021.
3. International Agency for Research on Cancer (IARC-WHO) Cancer Today. Data visualization Tools for Exploring the Global Cancer Burden in 2020. Available online: https://gco.iarc.fr/today/ (accessed on 30 July 2023).
4. Yu, J.; Zhang, J.; Peng, T.; Fei, Z.; Jin, L.; Yang, M. Predictive Value of Circulating Tumor Cells in Prognosis of Stage III/IV Colorectal Cancer after Oxaliplatin-based First-line Chemotherapy. *In Vivo* 2022, *36*, 806–813.
5. The American Cancer Society Medical and Editorial Content Team (ACSMECT). American Cancer Society. Cancer.Org. Available online: https://www.cancer.org/cancer/colon-rectal-cancer/causes-risks-prevention/risk-factors.html (accessed on 29 June 2020).
6. O'Connell, J.B.; Maggard, M.A.; Ko, C.Y. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J. Natl. Cancer Inst.* 2004, *96*, 1420–1425.
7. Alana Biggers, M.M.B. *Signs and Symptoms of Colon Cancer (Also Known as Colorectal Cancer)*; Healthline: San Francisco, CA, USA, 2021.
8. Noone, A.M.; Howlader, N.; Krapcho, M.; Miller, D.; Brest, A.; Yu, M.; Ruhl, J.; Tatalovich, Z.; Mariotto, A.; Lewis, D.R.; et al. *SEER Cancer Statistics Review (CSR) 1975–2015*; National Cancer Institute: Bethesda, MD, USA, 2019. Available online: https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2017/ (accessed on 30 July 2023).
9. Sawicki, T.; Ruszkowska, M.; Danielewicz, A.; Niedźwiedzka, E.; Arłukowicz, T.; Przybyłowicz, K.E. A Review of Colorectal Cancer in Terms of Epidemiology, Risk Factors, Development, Symptoms and Diagnosis. *Cancers* 2021, *13*, 2025.
10. Shin, A.; Joo, J.; Bak, J.; Yang, H.R.; Kim, J.; Park, S.; Nam, B.H. Site-specific risk factors for colorectal cancer in a Korean population. *PLoS ONE* 2011, *6*, e23196.
11. Chung, I.-M.; Subramanian, U.; Thirupathi, P.; Venkidasamy, B.; Samynathan, R.; Gangadhar, B.H.; Rajakumar, G.; Thiruvengadam, M. Resveratrol nanoparticles: A promising therapeutic advancement over native resveratrol. *Processes* 2020, *8*, 458.
12. Board Cancer Net Editorial. Cancer.Net. Knowledge Conquers Cancer. 2022. Available online: https://www.cancer.net/cancer-types/colorectal-cancer/stages (accessed on 28 July 2023).
13. Haraldsdottir, S.; Einarsdottir, H.M.; Smaradottir, A.; Gunnlaugsson, A.; Halfdanarson, T.R. Krabbamein í ristli og endaþarmi [Colorectal cancer—review]. *Laeknabladid* 2014, *100*, 75–82. (In Icelandic) [Google Scholar] [CrossRef]
14. Howlader, N.; Noone, A.M.; Krapcho, M.; Neyman, N.; Aminou, R.; Waldron, W.; Altekruse, S.F.; Kosary, C.L.; Ruhl, J.; Tatalovich, Z.; et al. *SEER Cancer Statistics Review, 1975–2009 (Vintage 2009 Populations)*; National Cancer Institute: Bethesda, MD, USA, 2012. Available online: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2009_pops09/ (accessed on 28 July 2023).
15. Siegel, R.; Naishadham, D.; Jemal, A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J. Clin.* 2012, *62*, 10–29.
16. Alexiusdottir, K.K.; Möller, P.H.; Snaebjornsson, P.; Jonasson, L.; Olafsdottir, E.J.; Björnsson, E.S.; Tryggvadottir, L.; Jonasson, J.G. Association of symptoms of colon cancer patients with tumor location and TNM tumor stage. *Scand. J. Gastroenterol.* 2012, *47*, 795–801.

17. Winawer, S.J.; Zauber, A.G.; Gerdes, H.; O'Brien, M.J.; Gottlieb, L.S.; Sternberg, S.S.; Bond, J.H.; Waye, J.D.; Schapiro, M.; Panish, J.F.; et al. Risk of colorectal cancer in the families of patients with adenomatous polyps. *N. Engl. J. Med.* 1996, *334*, 82–87.
18. Atkin, W.S.; Morson, B.C.; Cuzick, J. Long-term risk of colorectal cancer after excision of rectosigmoid adenomas. *N. Engl. J. Med.* 1992, *326*, 658–662.
19. Farraye, F.A.; Odze, R.D.; Eaden, J.; Itzkowitz, S.H. AGA technical review on the diagnosis and management of colorectal neoplasia in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2010, *138*, 746–774.
20. Botteri, E.; Iodice, S.; Bagnardi, V.; Raimondi, S.; Lowenfels, A.B.; Maisonneuve, P. Smoking and colorectal cancer: A meta-analysis. *JAMA* 2008, *300*, 2765–2778.
21. Botteri, E.; Støer, N.C.; Sakshaug, S.; Graff-Iversen, S.; Vangen, S.; Hofvind, S.; de Lange, T.; Bagnardi, V.; Ursin, G.; Weiderpass, E. Menopausal hormone therapy and colorectal cancer: A linkage between nationwide registries in Norway. *BMJ Open* 2017, *7*, e017639
22. Rothwell, P.M.; Wilson, M.; Price, J.F.; Belch, J.F.; Meade, T.W.; Mehta, Z. Effect of daily aspirin on risk of cancer metastasis: A study of incident cancers during randomized controlled trials. *Lancet* 2012, *379*, 1591–1601.
23. Park, Y.; Leitzmann, M.F.; Subar, A.F.; Hollenbeck, A.; Schatzkin, A. Dairy food, calcium, and risk of cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Arch. Intern. Med.* 2009, *169*, 391–401.
24. Selchick, F. *MaryAnn De Pietro, CRT*; Healthline: San Francisco, CA, USA, 2022; Available online: https://www.healthline.com/health/colorectal-cancer/stages-of-colon-cancer (accessed on 28 July 2023).
25. Villéger, R.; Lopès, A.; Veziant, J.; Gagnière, J.; Barnich, N.; Billard, E.; Boucher, D.; Bonnet, M. Microbial markers in colorectal cancer detection and/or prognosis. *World J. Gastroenterol.* 2018, *24*, 2327.
26. Zygulska, A.L.; Pierzchalski, P. Novel Diagnostic Biomarkers in Colorectal Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, *23*, 852.
27. Lech, G.; Słotwiński, R.; Słodkowski, M.; Krasnodębski, I.W. Colorectal cancer tumour markers and biomarkers: Recent therapeutic advances. *World J. Gastroenterol.* 2016, *22*, 1745–1755.
28. Shajari, E.; Mollasalehi, H. Ribonucleic-acid-biomarker candidates for early-phase group detection of common cancers. *Genomics* 2020, *112*, 163–168.
29. Bresalier, R.S.; Grady, W.M.; Markowitz, S.D.; Nielsen, H.J.; Batra, S.K.; Lampe, P.D. Biomarkers for Early Detection of Colorectal Cancer: The Early Detection Research Network, a Framework for Clinical Translation. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2020, *29*, 2431–2440.
30. Srivastava, S.; Verma, M.; Henson, D.E. Biomarkers for Early Detection of Colon Cancer. *Clin. Cancer Res.* 2001, *7*, 1118–1126.
31. Kim, V.N. MicroRNA biogenesis: Coordinated cropping and dicing. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2005, *6*, 376–385.
32. Marcuello, M.; Vymetalkova, V.; Neves, R.P.L.; Duran-Sanchon, S.; Vedeld, H.M.; Tham, E.; Gironella, M. Circulating biomarkers for early detection and clinical management of colorectal cancer. *Mol. Asp. Med.* 2019, *69*, 107–122.
33. Bartley, A.N.; Yao, H.; Barkoh, B.A.; Ivan, C.; Mishra, B.M.; Rashid, A.; Hamilton, S.R. Complex Patterns of Altered MicroRNA Expression during the Adenoma-Adenocarcinoma Sequence for Microsatellite-Stable Colorectal Cancer. *Clin. Cancer Res.* 2011, *17*, 7283–7293
34. Danese, E.; Montagnana, M.; Brentegani, C.; Lippi, G. Short-term stability of free metanephrines in plasma and whole blood. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2020, *58*, 753–757.
35. Ogino, S.; Nosho, K.; Irahara, N.; Shima, K.; Baba, Y.; Kirkner, G.J.; Fuchs, C.S. Prognostic Significance and Molecular Associations of 18q Loss of Heterozygosity: A Cohort Study of Microsatellite Stable Colorectal Cancers. *J. Clin. Oncol.* 2009, *27*, 4591–4598.

36. Boyle, T.; Keegel, T.; Bull, F.; Heyworth, J.; Fritschi, L. Physical Activity and Risks of Proximal and Distal Colon Cancers: A Systematic Review and Meta-analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* 2012, *104*, 1548–1561. [Google Scholar] [CrossRef]
37. Bahari, A. Characteristics of Fe_3O_4, α-Fe_2O_3, and γ-Fe_2O_3 Nanoparticles as Suitable Candidates in the Field of Nanomedicine. *J. Supercond. Nov. Magn.* 2017, *30*, 2165–2174. [Google Scholar] [CrossRef]
38. Li, X.; Liu, L.; Li, S.; Wan, Y.; Chen, J.-X.; Tian, S.; Huang, Z.; Xiao, Y.-F.; Cui, X.; Xiang, C.; et al. Biodegradable π-Conjugated Oligomer Nanoparticles with High Photothermal Conversion Efficiency for Cancer Theranostics. *ACS Nano* 2019, *13*, 12901–12911. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
39. Mayo Clinic Team. Mayo Foundation for Medical Education and Research (MFMER). 1998–2022. Myoclonic. Available online: https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/colon-cancer/symptoms-causes/syc-20353669 (accessed on 30 July 2023).
40. Nakajima, F.; Furumatsu, Y.; Yurugi, T.; Amari, Y.; Iida, T.; Fukui, T.; Kuramoto, T. Investigation of small intestinal lesions in dialysis patients using capsule endoscopy. *Hemodial. Int.* 2019, *23*, 77–80. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
41. Obaro, A.E.; Burling, D.N.; Plumb, A.A. Colon cancer screening with CT colonography: Logistics, cost-effectiveness, efficiency and progress. *Br. J. Radiol.* 2018, *91*, 20180307. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
42. Kleinschmidt, T.K.; Clements, A.; Parker, M.A.; Scarcliff, S.D. Retrospective Review of Multitarget Stool DNA as a Screening Test for Colorectal Cancer. *Am. Surg.* 2023, *89*, 603–606. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
43. Body, A.; Prenen, H.; Latham, S.; Lam, M.; Tipping-Smith, S.; Raghunath, A.; Segelov, E. The Role of Neoadjuvant Chemotherapy in Locally Advanced Colon Cancer. *Cancer Manag. Res.* 2021, *13*, 2567–2579. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
44. Garrido-Ramos MA. Satellite DNA: an evolving topic. Genes. 2017;8(9):230.
45. Lower SS, McGurk MP, Clark AG, et al. Satellite DNA evolution: old ideas, new approaches. Curr Opin Genet Dev. 2018;49:70–8.
46. Bonneville R, Krook MA, Chen HZ, et al. Detection of microsatellite instability biomarkers via next-generation sequencing. Methods Mol Biol. 2020;2055:119–32.
47. Nikanjam M, Arguello D, Gatalica Z, et al. Relationship between protein biomarkers of chemotherapy response and microsatellite status, tumor mutational burden, and PD-L1 expression in cancer patients. Int J Cancer. 2019.
48. Vogelstein B, Fearon ER, Kern SE, et al. Allelotype of colorectal carcinomas. Science. 1989;244:207–211. doi: 10.1126/science.2565047. [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
49. 8.Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, et al. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. Nature. 1993;363:558–561. doi: 10.1038/363558a0. [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
50. Blake C, Tsao JL, Wu A, et al. Stepwise deletions of polyA sequences in mismatch repair-deficient colorectal cancers. Am J Pathol. 2001;158:1867–1870. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64143-0. [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
51. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. Science. 1993;260:816–819. doi: 10.1126/science.8484122. [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
52. Peltomaki P, Lothe RA, Aaltonen LA, et al. Microsatellite instability is associated with tumors that characterize the hereditary non-polyposis colorectal carcinoma syndrome. Cancer Res. 1993;53:5853–5855. [PubMed] [Google Scholar]
53. Aaltonen LA, Peltomaki P, Leach FS, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. Science. 1993;260:812–816. doi: 10.1126/science.8484121. [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
54. Grilley M, Holmes J, Yashar B, et al. Mechanisms of DNA-mismatch correction. Mutat Res. 1990;236:253–267. doi: 10.1016/0921-8777(90)90009-t. [DOI] [PubMed] [Google Scholar]

55. Culligan KM, Meyer-Gauen G, Lyons-Weiler J, et al. Evolutionary origin, diversification and specialization of eukaryotic MutS homolog mismatch repair proteins. Nucleic Acids Res. 2000;28:463–471. doi: 10.1093/nar/28.2.463 .
56. Hughes CR, Queller DC. Detection of highly polymorphic microsatellite loci in a species with little allozyme polymorphism. Mol Ecol. 1993;2(3):131–7.
57. Lai Y, Sun F. The relationship between microsatellite slippage mutation rate and the number of repeat units. Mol Biol Evol. 2003;20(12):2123–31.
58. Lower SS, McGurk MP, Clark AG, et al. Satellite DNA evolution: old ideas, new approaches. Curr Opin Genet Dev. 2018;49:70–8.
59. Tang X, Huang Y, Lei J, et al. The single-cell sequencing: new developments and medical applications. Cell Biosci. 2019;9:53.
60. Cortes-Ciriano I, Lee S, Park WY, et al. A molecular portrait of microsatellite instability across multiple cancers. Nat Commun. 2017;8:15180.
61. Tanne A, Muniz LR, Puzio-Kuter A, et al. Distinguishing the immunostimulatory properties of noncoding RNAs expressed in cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA. 2015;112(49):15154–9.
62. Zhu X, Luo H, Xu Y. Transcriptome analysis reveals an important candidate gene involved in both nodal metastasis and prognosis in lung adenocarcinoma. Cell Biosci. 2019;9:92.
63. Carr PR, Alwers E, Bienert S, et al. Lifestyle factors and risk of sporadic colorectal cancer by microsatellite instability status: a systematic review and meta-analyses. Ann Oncol. 2018;29(4):825–34.
64. Patil DT, Bronner MP, Portier BP, et al. A five-marker panel in a multiplex PCR accurately detects microsatellite instability-high colorectal tumors without control DNA. Diagn Mol Pathol. 2012;21(3):127–33.
65. Hause RJ, Pritchard CC, Shendure J, et al. Corrigendum: classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types. Nat Med. 2018;24(4):525.
66. Cohen R, Hain E, Buhard O, et al. Association of primary resistance to immune checkpoint inhibitors in metastatic colorectal cancer with misdiagnosis of microsatellite instability or mismatch repair deficiency status. JAMA Oncol. 2018. https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.4942.
67. Hempelmann JA, Lockwood CM, Konnick EQ, et al. Microsatellite instability in prostate cancer by PCR or next-generation sequencing. J Immunother Cancer. 2018;6(1):29.
68. Cheng DT, Prasad M, Chekaluk Y, et al. Comprehensive detection of germline variants by MSK-IMPACT, a clinical diagnostic platform for solid tumor molecular oncology and concurrent cancer predisposition testing. BMC Med Genomics. 2017;10(1):33.
69. First Comprehensive Companion Diagnostic OK'd. Cancer Discov 2018, 8(3):OF4.
70. Suraweera N, Duval A, Reperant M, et al. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. Gastroenterology. 2002;123(6):1804–11.
71. Berg KD, Glaser CL, Thompson RE, et al. Detection of microsatellite instability by fluorescence multiplex polymerase chain reaction. J Mol Diagn. 2000;2(1):20–8.
72. Arulananda S, Thapa B, Walkiewicz M, et al. Mismatch repair protein defects and microsatellite instability in malignant pleural mesothelioma. J Thorac Oncol. 2018;13(10):1588–94.
73. Cheah PL, Li J, Looi LM, et al. Screening for microsatellite instability in colorectal carcinoma: practical utility of immunohistochemistry and PCR with fragment analysis in a diagnostic histopathology setting. Malays J Pathol. 2019;41(2):91–100.

74. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. Cancer Res. 1998;58(22):5248–57.
75. Bacher JW, Flanagan LA, Smalley RL, et al. Development of a fluorescent multiplex assay for detection of MSI-High tumors. Dis Markers. 2004;20(4–5):237–50.
76. Zhu X, Chen MS, Tian LW, et al. Single nucleotide polymorphism of rs430397 in the fifth intron of GRP78 gene and clinical relevance of primary hepatocellular carcinoma in Han Chinese: risk and prognosis. Int J Cancer. 2009;125(6):1352–7.
77. Berardinelli GN, Scapulatempo-Neto C, Duraes R, et al. Advantage of HSP110 (T17) marker inclusion for microsatellite instability (MSI) detection in colorectal cancer patients. Oncotarget. 2018;9(47):28691–701.
78. Waalkes A, Smith N, Penewit K, et al. Accurate pan-cancer molecular diagnosis of microsatellite instability by single-molecule molecular inversion probe capture and high-throughput sequencing. Clin Chem. 2018;64(6):950–8.
79. Liu J, Li D, Luo H, et al. Circular RNAs: the star molecules in cancer. Mol Aspects Med. 2019;70:141–52.
80. Kautto EA, Bonneville R, Miya J, et al. Performance evaluation for rapid detection of pan-cancer microsatellite instability with MANTIS. Oncotarget. 2017;8(5):7452–63.
81. Pietrantonio F, Miceli R, Raimondi A, et al. Individual patient data meta-analysis of the value of microsatellite instability as a biomarker in Gastric cancer. J Clin Oncol. 2019;37:3392–400.
82. Siegel, R.L.; Miller, K.D.; Goding Sauer, A.; Fedewa, S.A.; Butterly, L.F.; Anderson, J.C.; Cercek, A.; Smith, R.A.; Jemal, A. Colorectal cancer statistics, 2020. CA Cancer J. Clin. 2020, 70, 145–164.
83. Ramos, E.K.; Hoffmann, A.D.; Gerson, S.L.; Liu, H. New opportunities and challenges to defeat cancer stem cells. Trends Cancer 2017, 3, 780–796.
84. The American Cancer Society Medical and Editorial Content Team (ACSMECT). American Cancer Society. Cancer.Org. Available online: https://www.cancer.org/cancer/colon-rectal-cancer/causes-risks-prevention/risk-factors.html (accessed on 29 June 2020).
85. Alana Biggers, M.M.B. Signs and Symptoms of Colon Cancer (Also Known as Colorectal Cancer); Healthline: San Francisco, CA, USA, 2021. [Google Scholar]
86. National Cancer Institute. Colorectal Cancer—Patient Version. Available online: https://www.cancer.gov/types/colorectal (accessed on 30 July 2023).
87. Pavitra, E.; Dariya, B.; Srivani, G.; Kang, S.M.; Alam, A.; Sudhir, P.R.; Kamal, M.A.; Raju, G.S.R.; Han, Y.K.; Lakkakula, B.V.K.S.; et al. Engineered nanoparticles for imaging and drug delivery in colorectal cancer. Semin. Cancer Biol. 2021.
88. Gangane, N.M. Chapter 13—Nanotherapeutics for colon cancer. In Photophysics and Nanophysics in Therapeutics; Gangane, N.M., Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2022; pp. 251–268. [Google Scholar]
89. Koushki, M.; Amiri-Dashatan, N.; Ahmadi, N.; Abbaszadeh, H.; Rezaei-Tavirani, M. Resveratrol: A miraculous natural compound for diseases treatment. Food Sci. Nutr. 2018, 6, 2473–2490. [Google Scholar] [CrossRef]
90. Ji, J.; Sundquist, J.; Sundquist, K. Use of hormone replacement therapy improves the prognosis in patients with colorectal cancer: A population-based study in Sweden. Int. J. Cancer 2018, 142, 2003–2010.
91. Bhaskara, V.K.; Mittal, B.; Mysorekar, V.V.; Amaresh, N.; Simal-Gandara, J. Resveratrol, cancer and cancer stem cells: A review on past to future. Curr. Res. Food Sci. 2020, 3, 284–295.

92. Yuan, L.; Zhou, M.; Huang, D.; Wasan, H.S.; Zhang, K.; Sun, L.; Huang, H.; Ma, S.; Shen, M.; Ruan, S. Resveratrol inhibits the invasion and metastasis of colon cancer through reversal of epithelial mesenchymal transition via the AKT/GSK3β/Snail signaling pathway. Mol. Med. Rep. 2019, 20, 2783–2795. [Google Scholar] [PubMed]
93. Li, D.; Wang, G.; Jin, G.; Yao, K.; Zhao, Z.; Bie, L.; Guo, Y.; Li, N.; Deng, W.; Chen, X.; et al. Resveratrol suppresses colon cancer growth by targeting the AKT/STAT3 signaling pathway. Int. J. Mol. Med. 2019, 43, 630–640.
94. Ahmadi, Z.; Mohammadinejad, R.; Ashrafizadeh, M. Drug delivery systems for resveratrol, a non-flavonoid polyphenol: Emerging evidence in last decades. J. Drug Deliv. Sci. Technol. 2019, 51, 591–604. [Google Scholar] [CrossRef]
95. Yingchoncharoen, P.; Kalinowski, D.S.; Richardson, D.R. Lipid-based drug delivery systems in cancer therapy: What is available and what is yet to come. Pharmacol. Rev. 2016, 68, 701–787.
96. Tang, W. L., Tang, W. H., and Li, S. D. (2018). Cancer theranostic applications of lipid-based nanoparticles. Drug Discov. Today 23, 1159–1166. doi: 10.1016/j.drudis.2018.04.007
97. Yang, C., and Merlin, D. (2020). Lipid-based drug delivery nanoplatforms for colorectal cancer therapy. Nanomaterials 10:1424. doi: 10.3390/nano10071424
98. Tapeinos, C., Battaglini, M., and Ciofani, G. (2017). Advances in the design of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for targeting brain diseases. J. Control. Release 264, 306–332. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.08.033
99. Li, H., Zhao, X., Ma, Y., Zhai, G., Li, L., and Lou, H. (2009). Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles. J. Control. Release 133, 238–244. doi: 10.1016/j.jconrel.2008.10.002
100. Shen, M. Y., Liu, T. I., Yu, T. W., Kv, R., Chiang, W. H., Tsai, Y. C., et al. (2019). Hierarchically targetable polysaccharide-coated solid lipid nanoparticles as an oral chemo/thermotherapy delivery system for local treatment of colon cancer. Biomaterials 197, 86–100. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.01.019
101. Yingchoncharoen, P., Kalinowski, D. S., and Richardson, D. R. (2016). Lipid-based drug delivery systems in cancer therapy: what is available and what is yet to come. Pharmacol. Rev. 68, 701–787. doi: 10.1124/pr.115.012070
102. Batist, G., Gelmon, K. A., Chi, K. N., Miller, W. J., Chia, S. K., Mayer, L. D., et al. (2009). Safety, pharmacokinetics, and efficacy of CPX-1 liposome injection in patients with advanced solid tumors. Clin. Cancer Res. 15, 692–700. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-08-0515
103. Dragovich, T., Mendelson, D., Kurtin, S., Richardson, K., Von Hoff, D., and Hoos, A. (2006). A Phase 2 trial of the liposomal DACH platinum L-NDDP in patients with therapy-refractory advanced colorectal cancer. Cancer Chemother. Pharmacol. 58, 759–764. doi: 10.1007/s00280-006-0235-4
104. Kotelevets, L., Chastre, E., Caron, J., Mougin, J., Bastian, G., Pineau, A., et al. (2017). A squalene-based nanomedicine for oral treatment of colon cancer. Cancer Res. 77, 2964–2975. doi: 10.1158/0008-5472.can-16-1741
105. Saber, M. M., Al-Mahallawi, A. M., Nassar, N. N., Stork, B., and Shouman, S. A. (2018). Targeting colorectal cancer cell metabolism through development of cisplatin and metformin nano-cubosomes. BMC Cancer 18:822.
106. Wu, L., Zhang, F., Chen, X., Wan, J., Wang, Y., Li, T., et al. (2020). Self-assembled gemcitabine prodrug nanoparticles show enhanced efficacy against patient-derived pancreatic ductal adenocarcinoma. ACS Appl. Mater. Interfaces 12, 3327–3340. doi: 10.1021/acsami.9b16209
107. Bao, G., Mitragotri, S., and Tong, S. (2013). Multifunctional nanoparticles for drug delivery and molecular imaging. Annu. Rev. Biomed. Eng. 15, 253–282.

108. Banik, B. L., Fattahi, P., and Brown, J. L. (2016). Polymeric nanoparticles: the future of nanomedicine. Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol. 8, 271–299. doi: 10.1002/wnan.1364
109. Zhang, E., Xing, R., Liu, S., Qin, Y., Li, K., and Li, P. (2019). Advances in chitosan-based nanoparticles for oncotherapy. Carbohydr. Polym. 222:115004. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115004
110. Urbanska, A. M., Karagiannis, E. D., Guajardo, G., Langer, R. S., and Anderson, D. G. (2012). Therapeutic effect of orally administered microencapsulated oxaliplatin for colorectal cancer. Biomaterials 33, 4752–4761. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.03.023
111. Hosseinzadeh, H., Atyabi, F., Dinarvand, R., and Ostad, S. N. (2012). Chitosan-Pluronic nanoparticles as oral delivery of anticancer gemcitabine: preparation and in vitro study. Int. J. Nanomed. 7, 1851–1863. doi: 10.2147/ijn.s26365
112. Chuah, L. H., Billa, N., Roberts, C. J., Burley, J. C., and Manickam, S. (2013). Curcumin-containing chitosan nanoparticles as a potential mucoadhesive delivery system to the colon. Pharm. Dev. Technol. 18, 591–599. doi: 10.3109/10837450.2011.640688
113. Wen, P., Zong, M. H., Hu, T. G., Li, L., and Wu, H. (2018). Preparation and characterization of electrospun colon-specific delivery system for quercetin and its antiproliferative effect on cancer cells. J. Agric. Food Chem. 66, 11550–11559. doi: 10.1021/acs.jafc.8b02614
114. Dechy-Cabaret, O., Martin-Vaca, B., and Bourissou, D. (2004). Controlled ring-opening polymerization of lactide and glycolide. Chem. Rev. 104, 6147–6176. doi: 10.1021/cr040002s
115. Yang, M., Zhang, F., Yang, C., Wang, L., Sung, J., Garg, P., et al. (2020). Oral targeted delivery by nanoparticles enhances efficacy of an Hsp90 inhibitor by reducing systemic exposure in murine models of colitis and colitis-associated cancer. J. Crohns Colitis 14, 130–141. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjz113
116. Benny, O., Fainaru, O., Adini, A., Cassiola, F., Bazinet, L., Adini, I., et al. (2008). An orally delivered small-molecule formulation with antiangiogenic and anticancer activity. Nat. Biotechnol. 26, 799–807. doi: 10.1038/nbt1415
117. Sekhon, B. S., and Kamboj, S. R. (2010). Inorganic nanomedicine–part 2. Nanomedicine 6, 612–618. doi: 10.1016/j.nano.2010.04.003
118. Tee, J. K., Yip, L. X., Tan, E. S., Santitewagun, S., Prasath, A., Ke, P. C., et al. (2019). Nanoparticles' interactions with vasculature in diseases. Chem. Soc. Rev. 48, 5381–5407. doi: 10.1039/c9cs00309f
119. Klebowski, B., Depciuch, J., Parlinska-Wojtan, M., and Baran, J. (2018). Applications of Noble metal-based nanoparticles in medicine. Int. J. Mol. Sci. 19:4031.
120. Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., and Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. Int. J. Mol. Sci. 17:1534. doi: 10.3390/ijms17091534
121. Satapathy, S. R., Mohapatra, P., Preet, R., Das, D., Sarkar, B., Choudhuri, T., et al. (2013). Silver-based nanoparticles induce apoptosis in human colon cancer cells mediated through p53. Nanomedicine 8, 1307–1322. doi: 10.2217/nnm.12.176
122. Ghalandari, B., Divsalar, A., Saboury, A. A., and Parivar, K. (2014). The new insight into oral drug delivery system based on metal drugs in colon cancer therapy through beta-lactoglobulin/oxali-palladium nanocapsules. J. Photochem. Photobiol. B 140, 255–265. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2014.08.003
123. Kresge, C. T., Leonowicz, M. E., Roth, W. J., Vartuli, J. C., and Beck, J. S. (1992). Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. Nature 359, 710–712. doi: 10.1038/359710a0
124. Wang, Y., Zhao, Q., Han, N., Bai, L., Li, J., Liu, J., et al. (2015). Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications. Nanomedicine 11, 313–327.

125. Liu, W., Zhu, Y., Wang, F., Li, X., Liu, X., Pang, J., et al. (2018). Galactosylated chitosan-functionalized mesoporous silica nanoparticles for efficient colon cancer cell-targeted drug delivery. R. Soc. Open Sci. 5:181027. doi: 10.1098/rsos.181027
126. Nguyen, C. T., Webb, R. I., Lambert, L. K., Strounina, E., Lee, E. C., Parat, M. O., et al. (2017). Bifunctional succinylated epsilon-polylysine-coated mesoporous silica nanoparticles for pH-responsive and intracellular drug delivery targeting the colon. ACS Appl. Mater. Interfaces 9, 9470–9483. doi: 10.1021/acsami.7b00411
127. Zhang, P.; Hu, C.; Ran, W.; Meng, J.; Yin, Q.; Li, Y. Recent Progress in Light-Triggered Nanotheranostics for Cancer Treatment Theranostics. Theranostics 2016, 6, 948.
128. Yan, J.; Wang, C.; Jiang, X.; Wei, Y.; Wang, Q.; Cui, K.; Xu, X.; Wang, F.; Zhang, L. Application of phototherapeutic-based nanoparticles in colorectal cancer. Int. J. Biol. Sci. 2021, 17, 1361.
129. Chen, J.; Zeng, Z.; Huang, L.; Luo, S.; Dong, J.; Zhou, F.H.; Zhou, K.; Wang, L.; Kang, L. Photothermal therapy technology of metastatic colorectal cancer. Am. J. Transl. Res. 2020, 12, 3089–3115. [Google Scholar] [PubMed]
130. Henderson, B.W.; Waldow, S.M.; Mang, T.S.; Potter, W.R.; Malone, P.B.; Dougherty, T.J. Tumor destruction and kinetics of tumor cell death in two experimental mouse tumors following photodynamic therapy. Cancer Res. 1985, 45, 572–576. [Google Scholar] [PubMed]
131. Li, J.; Li, X.L.; Yuan, Y.; Zhang, S.Z. Disputes and exploration of neoadjuvant and adjuvant therapy for colon cancer. Zhonghua Wei Chang. Wai Ke Za Zhi 2019, 22, 329–335. (In Chinese)
132. Barzi, A.; Lenz, A.M.; Labonte, M.J.; Lenz, H.J. Molecular Pathways: Estrogen Pathway in Colorectal Cancer Estrogen and Colorectal Cancer. Clin. Cancer Res. 2013, 19, 5842–5848.
133. Symer, M.M.; Wong, N.Z.; Abelson, J.S.; Milsom, J.W.; Yeo, H.L. Hormone Replacement Therapy and Colorectal Cancer Incidence and Mortality in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial. Clin. Color. Cancer 2018, 17, e281–e288. [Google Scholar] [CrossRef]
134. Simin, J.; Khodir, H.; Fornes, R.; Tamimi, R.M.; Brusselaers, N. Association between menopausal hormone therapy use and mortality risk: A Swedish population-based matched cohort study. Acta Oncol. 2022, 61, 632–640. [Google Scholar] [CrossRef]
135. Zhang, Y.L.; Wen, X.D.; Guo, X.; Huang, S.Q.; Wang, T.T.; Zhou, P.T.; Li, W.; Zhou, L.F.; Hu, Y.H. Progesterone suppresses the progression of colonic carcinoma by increasing the activity of the GADD45α/JNK/cJun signalling pathway. Oncol. Rep. 2021, 45, 1–13.
136. Popat, S. · Hubner, R. · Houlston, R s Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis .J Clin Oncol. 2005; 23:609-618.
137. Hutchins, G. · Southward, K. · Handley, K .Value of mismatch repair, KRAS, and BRAF mutations in predicting recurrence and benefits from chemotherapy in colorectal cancer. J Clin Oncol. 2011; 29:1261-1270.
138. Sinicrope, F.A. · Foster, N.R. · Thibodeau, S.N .DNA mismatch repair status and colon cancer recurrence and survival in clinical trials of 5-fluorouracil-based adjuvant therapy. J Natl Cancer Inst. 2011; 103:863-875.
139. QUASAR Collaborative Group .Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. Lancet. 2007; 370:2020-2029.
140. Argilés, G. · André, T. · Hollebecque, A .Phase I dose-escalation of trifluridine/tipiracil in combination with oxaliplatin in patients with metastatic colorectal cancer .Eur J Cancer. 2019; 112:12-19.
141. Sargent, D.J. · Marsoni, S. · Monges, G .Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer.J Clin Oncol. 2010; 28:3219-3226.

142. Cohen, R. · Taieb, J. · Fiskum, J .Microsatellite instability in patients with stage III colon cancer receiving fluoropyrimidine with or without oxaliplatin: an ACCENT pooled analysis of 12 adjuvant trials.J Clin Oncol. 2020.
143. Ribic, C.M. · Sargent, D.J. · Moore, M.J .Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. N Engl J Med. 2003; 349:247-257.
144. Gavin, P.G. · Colangelo, L.H. · Fumagalli, D .Mutation profiling and microsatellite instability in stage II and III colon cancer: an assessment of their prognostic and oxaliplatin predictive value.Clin Cancer Res. 2012; 18:6531-6541.
145. André, T. · de Gramont, A. · Vernerey, D .Adjuvant fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin in stage II to III colon cancer: updated 10-year survival and outcomes according to BRAF mutation and mismatch repair status of the MOSAIC study.J Clin Oncol. 2015; 33:4176-4187.
146. Tougeron, D. · Mouillet, G. · Trouilloud, I .Efficacy of adjuvant chemotherapy in colon cancer with microsatellite instability: a large multicenter AGEO study.J Natl Cancer Inst. 2016; 108.
147. Sargent, D.J. · Marsoni, S. · Monges, G .Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer.J Clin Oncol. 2010; 28:3219-3226.
148. Argilés, G. · André, T. · Hollebecque, A .Phase I dose-escalation of trifluridine/tipiracil in combination with oxaliplatin in patients with metastatic colorectal cancer.Eur J Cancer. 2019; 112:12-19.
149. Argilés, G. · Tabernero, J. · Labianca, R .Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up.Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. 2020; 31:1291-1305.
150. Forde, P.M. · Chaft, J.E. · Smith, K.N .Neoadjuvant PD-1 blockade in resectable lung cancer.N Engl J Med. 2018; 378:1976-1986.
151. Chalabi, M. · Fanchi, L.F. · Dijkstra, K.K .Neoadjuvant immunotherapy leads to pathological responses in MMR-proficient and MMR-deficient early-stage colon cancers Nat Med. 2020.
152. Hu, H. · Kang, L. · Zhang, J .Neoadjuvant PD-1 blockade with toripalimab, with or without celecoxib, in mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high, locally advanced, colorectal cancer (PICC): a single-centre, parallel-group, non-comparative, randomised, phase 2 trial Lancet Gastroenterol Hepatol. 2021.
153. Ludford, K. · Raghav, K. · Murphy, M.A.B .1758O neoadjuvant pembrolizumab in localized/locally advanced solid tumors with mismatch repair deficiency Ann Oncol. 2021; 32:S1210
154. Cercek, A. · Lumish, M. · Sinopoli, J .PD-1 blockade in mismatch repair–deficient, locally advanced rectal cancer .N Engl J Med. 2022.
155. Bonneville, R. · Krook, M.A. · Kautto, E.A .Landscape of microsatellite instability across 39 cancers types.JCO Precis Oncol. 2017; 2017.
156. Venderbosch, S. · Nagtegaal, I.D. · Maughan, T.S .Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies.Clin Cancer Res. 2014; 20:5322-5330.
157. Taieb, J. · Shi, Q. · Pederson, L .Prognosis of microsatellite instability and/or mismatch repair deficiency stage III colon cancer patients after disease recurrence following adjuvant treatment: results of an ACCENT pooled analysis of seven studies Ann Oncol. 2019; 30:1466-1471.
158. Innocenti, F. · Ou, F.-S. · Qu, X .Mutational analysis of patients with colorectal cancer in CALGB/SWOG 80405 identifies new roles of microsatellite instability and tumor mutational burden for patient outcome. J Clin Oncol. 2019.

159. Muzny, D.M. · Bainbridge, M.N. · Chang, K .Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer.Nature. 2012; 487:330-337.
160. Le, D.T. · Uram, J.N. · Wang, H .PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency.N Engl J Med. 2015; 372:2509-2520.
161. Overman, M. · McDermott, R. · Leach, J. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study.Lancet Oncol. 2017; 18:1182-1191.
162. André, T. · Lonardi, S. · Wong, K.Y.M .Nivolumab + low-dose ipilimumab in previously treated patients with microsatellite instability-high/mismatch repair-deficient metastatic colorectal cancer: 4-year follow-up from CheckMate 142.Ann Oncol. 2022.
163. Lenz, H.-J. · Van Cutsem, E. · Luisa Limon, M .First-line nivolumab plus low-dose ipilimumab for microsatellite instability-high/mismatch repair-deficient metastatic colorectal cancer: the phase II CheckMate 142 study.J Clin Oncol. 2021.
164. André, T. · Shiu, K.-K. · Kim, T.W .Pembrolizumab in microsatellite-instability–high advanced colorectal cancer.N Engl J Med. 2020; 383:2207-2218.
165. Diaz, L.A. · Shiu, K.-K. · Kim, T.-W .Pembrolizumab versus chemotherapy for microsatellite instability-high or mismatch repair-deficient metastatic colorectal cancer (KEYNOTE-177): final analysis of a randomised, open-label, phase 3 study.Lancet Oncol. 2022; 23:659-670.
166. Andre, T. · Amonkar, M. · Norquist, J.M .Health-related quality of life in patients with microsatellite instability-high or mismatch repair deficient metastatic colorectal cancer treated with first-line pembrolizumab versus chemotherapy (KEYNOTE-177): an open-label, randomised, phase 3 trial.Lancet Oncol. 2021.
167. Stintzing, S. · Heinrich, K. · Tougeron, D .Randomized study to investigate FOLFOXIRI plus either bevacizumab or cetuximab as first-line treatment of BRAF V600E-mutant mCRC: the phase-II FIRE-4.5 study (AIO KRK-0116). J Clin Oncol. 2021; 39 3502–3502.
168. Venderbosch, S. · Nagtegaal, I.D. · Maughan, T.S .Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies.Clin Cancer Res. 2014; 20:5322-5330.
169. Phelip, J.M. · Tougeron, D. · Léonard, D .Metastatic colorectal cancer (mCRC): French intergroup clinical practice guidelines for diagnosis, treatments and follow-up (SNFGE, FFCD, GERCOR, UNICANCER, SFCD, SFED, SFRO, SFR). Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver. 2019.