

معرفی رویکردی نوین و غیرتهاجمی برای ارزیابی خطر سرطان پروستات با استفاده از RNA اگزوزومی در نمونه ادرار

● دکتر مسعود وثوق

دکترای حرفه‌ای پزشکی (MD)، دکتری تخصصی (PhD)، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه پزشکی بازساختی، تهران، ایران
masvos@yahoo.com



● دکتر زهره هاشمیان

دکتری تخصصی (PhD)، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه پزشکی بازساختی، تهران، ایران



● دکتر مهسا صالحی

دکتری تخصصی (PhD)، مرکز تحقیقات فرآورده‌های بیولوژیک و سلامت خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران، ایران



□ چکیده

سرطان پروستات یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌های مردان است و افتراق موارد خوش خیم از سرطان‌های دارای اهمیت بالینی همچنان یکی از چالش‌های تشخیصی مهم به شمار می‌رود. اگرچه اندازه‌گیری آنتی‌ژن اختصاصی پروستات یا PSA به طور گسترده برای ارزیابی اولیه بیماران استفاده می‌شود، اختصاصیت محدود آن می‌تواند به انجام بیوپسی‌های غیرضروری منجر شود. آزمون تشخیصی ExoDx Prostate IntelliScore (EPI) یک روش غیرتهاجمی مبتنی بر بیوپسی مایع است که با بررسی RNA موجود در اگزوزوم‌های نمونه ادرار بیمار، خطر وجود سرطان پروستات را ارزیابی می‌کند. در این آزمون، میزان بیان سه ژن PCA3، ERG و SPDEF با استفاده از RT-qPCR اندازه‌گیری شده و نتایج از طریق یک الگوریتم

اختصاصی به یک امتیاز کمی تبدیل می‌شوند. امتیاز پایین‌تر، احتمال کمتری برای وجود سرطان پروستات با اهمیت بالینی را نشان می‌دهد و می‌تواند در کنار سایر اطلاعات بالینی و آزمایشگاهی، به تصمیم‌گیری درباره ضرورت انجام بیوپسی کمک کند. این آزمون عمدتاً برای مردان بالای ۵۰ سال با PSA بین ۲ تا ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر کاربرد دارد. در مجموع، این فناوری نمونه‌ای از کاربرد اگزوزوم‌ها در پزشکی آزمایشگاهی است و اعتبارسنجی این نوع آزمون‌ها در جمعیت‌های مختلف و بررسی عملکرد تشخیصی و هزینه اثربخشی آن‌ها، به‌ویژه در جمعیت ایرانی، می‌تواند زمینه را برای توسعه و بومی‌سازی رویکردهای تشخیصی غیرتهاجمی مشابه فراهم کند.
واژگان کلیدی: اگزوزوم، سرطان پروستات، بیوپسی مایع، ExoDx، RNA ادراری، PSA

□ مقدمه

سرطان پروستات یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در مردان است و تشخیص به موقع آن نقش مهمی در بهبود روند درمان و کاهش مرگ‌ومیر ناشی از بیماری دارد (۱). با این حال، افتراق تومورهای خوش خیم و با رشد آهسته از سرطان‌های تهاجمی و دارای اهمیت بالینی همچنان یکی از چالش‌های اصلی در ارزیابی بیماران است. این چالش می‌تواند به دو پیامد متضاد منجر شود: از یک سو، شناسایی اشتباه موارد کم خطر ممکن است بیمار را در معرض اقدامات تشخیصی و درمانی غیرضروری و عوارض ناشی از آن‌ها قرار دهد؛ از سوی دیگر، عدم شناسایی به موقع سرطان‌های تهاجمی می‌تواند موجب تأخیر در مداخله درمانی مناسب و افزایش خطر پیشرفت بیماری شود (۲-۴).

اندازه‌گیری آنتی ژن اختصاصی پروستات (Prostate-specific antigen; PSA) یکی از رایج‌ترین روش‌های آزمایشگاهی برای ارزیابی اولیه بیماری‌های پروستات است. با وجود ارزش بالینی، PSA یک نشانگر اختصاصی سرطان پروستات نیست و افزایش آن ممکن است در شرایطی مانند هیپرپلازی خوش خیم پروستات و التهاب پروستات نیز مشاهده شود (۴). این محدودیت به‌ویژه در مردانی که سطح PSA آن‌ها در محدوده ۲ تا ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر قرار دارد، تصمیم‌گیری درباره انجام بیوپسی را دشوار می‌کند. از سوی دیگر، بیوپسی پروستات روشی تهاجمی است و می‌تواند با درد، خونریزی و عفونت همراه باشد. بنابراین، توسعه آزمون‌های غیرتهاجمی و دقیق‌تر برای بهبود طبقه بندی خطر و انتخاب بیماران مناسب برای انجام بیوپسی، یکی از نیازهای مهم در پزشکی آزمایشگاهی و تشخیص سرطان پروستات به شمار می‌رود (۲،۵).

در سال‌های اخیر، بیوپسی مایع به عنوان رویکردی نوین برای شناسایی و ارزیابی نشانگرهای مولکولی مرتبط با سرطان مورد توجه قرار گرفته است. در این میان، اگزوزوم‌ها به دلیل حضور در مایعات زیستی و حمل طیف متنوعی از مولکول‌ها، به عنوان منبعی بالقوه برای شناسایی بیومارکرهای سرطان مطرح شده‌اند (۶،۷). بر پایه ظرفیت بالقوه اگزوزوم‌های موجود در ادرار،

ExoDx Prostate IntelliScore (EPI) به عنوان یک

آزمون مولکولی مبتنی بر RNA اگزوزومی ادرار برای کمک به ارزیابی خطر سرطان پروستات با اهمیت بالینی توسعه یافته است (شکل ۱) (۸،۹). این آزمون می‌تواند با شناسایی بیمارانی که احتمال کمتری برای وجود سرطان پروستات با اهمیت بالینی دارند، به تصمیم‌گیری آگاهانه‌تر درباره انجام بیوپسی و کاهش برخی بیوپسی‌های غیرضروری کمک کند. در ادامه، مبانی فناوری و سازوکار مولکولی EPI، کاربرد بالینی و نحوه تفسیر نتایج، همچنین مزایا، محدودیت‌ها و جایگاه این آزمون در پزشکی آزمایشگاهی مورد بررسی قرار خواهد گرفت.



شکل ۱. نمای کیت ExoDx Prostate Test Urine Collection Kit
این کیت برای جمع‌آوری نمونه ادرار در آزمون EPI استفاده می‌شود

□ مبانی فناوری و سازوکار آزمون EPI

وزیکول‌های خارج سلولی یا به طور مصطلح اگزوزوم‌ها، ساختارهای محصور شده با غشای دولایه فسفولیپیدی هستند که توسط سلول‌های مختلف، از جمله سلول‌های طبیعی و بدخیم، به انواع مختلفی از مایعات زیستی از جمله عرق، ادرار، اشک و خون آزاد می‌شوند. این وزیکول‌ها حاوی مولکول‌های زیستی متنوعی مانند پروتئین‌ها، متابولیت‌ها، لیپیدها و انواع RNA هستند و محتوای مولکولی آن‌ها می‌تواند ویژگی‌های سلول مبدأ را منعکس کند (شکل ۲). به علاوه غشای لیپیدی دولایه اگزوزوم‌ها می‌تواند RNA محصورشده درون آن‌ها را در برابر تخریب آنزیمی توسط RNase محافظت کند و به حفظ پایداری نسبی RNA



در مایعات زیستی و امکان شناسایی آن به عنوان یک بیومارکر مولکولی کمک نماید. از این رو، RNA اگزوزومی به عنوان نشانگر مولکولی پایدار برای تشخیص انواع مختلفی از بیماری‌ها، از جمله سرطان، مورد توجه قرار گرفته است (۷، ۱۰، ۱۱). ادرار نیز به دلیل سهولت و ماهیت غیرتهاجمی نمونه‌گیری، یکی از نمونه‌های زیستی مناسب برای بررسی بیومارکرهای مرتبط با بیماری‌های دستگاه ادراری، به ویژه سرطان پروستات، محسوب می‌شود. سلول‌های پروستات، از جمله سلول‌های سرطانی، اگزوزوم‌های حاوی RNA را به محیط اطراف و مجاری ادراری آزاد می‌کنند؛ بنابراین، بررسی محتوای مولکولی اگزوزوم‌های نمونه ادرار می‌تواند اطلاعاتی درباره وضعیت پروستات فراهم کند. علاوه بر غیرتهاجمی بودن، سهولت جمع‌آوری و امکان تکرار نمونه‌گیری و آزمون، ادرار را به نمونه‌ای مناسب برای توسعه آزمون‌های تشخیصی نوین تبدیل کرده است (۱۱).



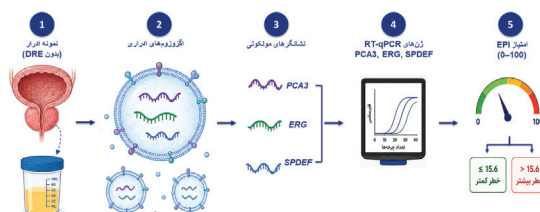
شکل ۲. ویژگی‌های ساختاری، محتوای مولکولی و ارزش تشخیصی اگزوزوم‌ها

آزمون EPI بر سنجش RNA مرتبط با سه ژن PCA3، ERG و SPDEF در اگزوزوم‌های ادرار استوار است. انتخاب این سه نشانگر بر اساس نقش زیستی آن‌ها در سرطان پروستات و توانایی آن‌ها در ارائه اطلاعات مولکولی مکمل انجام شده است. PCA3 یک RNA بلند غیرکدکننده با بیان نسبتاً اختصاصی در بافت پروستات است که میزان بیان آن در بسیاری از نمونه‌های سرطان پروستات افزایش می‌یابد و به عنوان یکی از نشانگرهای مولکولی مرتبط با این بیماری شناخته شده است. ERG یکی از اعضای خانواده عوامل رونویسی ETS است که افزایش بیان آن در بخشی از سرطان‌های پروستات، عمدتاً در ارتباط با همجوشی

TMPRSS2-ERG، مشاهده می‌شود. برای در نظر گرفتن ناهمگنی مولکولی تومور، در آزمون EPI میزان کلی RNA مربوط به ERG، شامل رونوشت‌های مرتبط با همجوشی TMPRSS2، بررسی می‌شود. SPDEF نیز یک فاکتور رونویسی مرتبط با تمایز سلول‌های اپی‌تلیال پروستات است که در این آزمون به عنوان ژن مرجع برای نرمال‌سازی بیان PCA3 و ERG مورد استفاده قرار می‌گیرد. ترکیب این سه نشانگر امکان ارزیابی بهتر تغییرات مولکولی مرتبط با سرطان پروستات و طبقه‌بندی خطر بیماران را فراهم می‌کند (۶، ۱۲).

روند کلی این آزمون با جمع‌آوری بخش ابتدایی ادرار آغاز می‌شود. پس از جمع‌آوری، نمونه مطابق دستورالعمل آزمون به آزمایشگاه منتقل شده و طی مراحل آماده‌سازی، دبری‌ها، سلول‌ها و سایر اجزای بزرگ و مداخله‌گر حذف می‌شوند. سپس بخش حاوی اگزوزوم‌ها، برای استخراج RNA مورد استفاده قرار می‌گیرد. اگر چه جزئیات دقیق روش جداسازی اگزوزوم‌ها، مراحل استخراج RNA و مواد مصرفی مورد استفاده در این آزمون اختصاصی شرکت سازنده است، اساس آزمون بر جداسازی RNA موجود در بخش اگزوزومی نمونه ادرار و به حداقل رساندن تداخل ناشی از رسوبات سلولی و سایر اجزای موجود در ادرار استوار است (۶، ۱۳). پس از استخراج RNA اگزوزومی، RNA به DNA مکمل یا cDNA تبدیل می‌شود. سپس میزان بیان ژن‌های ERG، PCA3، و SPDEF با روش RT-qPCR اندازه‌گیری می‌شود. مقادیر چرخه آستانه یا Ct حاصل از تکثیر این سه نشانگر، پس از کنترل کیفیت و نرمال‌سازی، برای محاسبه امتیاز آزمون مورد استفاده قرار می‌گیرند (شکل ۳). در نسخه آزمایشگاهی اروپایی این آزمون نیز داده‌های حاصل از بیان این سه ژن در چارچوب الگوریتم اختصاصی EPI به یک امتیاز عددی تبدیل می‌شوند که بیانگر میزان خطر وجود سرطان پروستات در نمونه بالینی است (۳، ۱۳). یکی از ویژگی‌های مهم الگوریتم EPI آن است که امتیاز اصلی آزمون صرفاً بر اساس بیان سه ژن مذکور در نمونه‌های اگزوزوم ادرار محاسبه می‌شود و متغیرهای بالینی مانند سن، سابقه خانوادگی، نتیجه معاینه رکتال یا مقدار PSA را مستقیماً در محاسبه امتیاز EPI

وارد نمی‌کند. بنابراین، EPI را می‌توان یک آزمونی دانست که اطلاعات مولکولی جدیدی را در کنار ارزیابی‌های معمول بالینی در اختیار پزشک قرار می‌دهد (۹،۱۳).



شکل ۳. نمای کلی آزمون

ExoDx Prostate IntelliScore (EPI). پس از جمع‌آوری نمونه ادرار و جداسازی اگزوزوم‌ها، RNA اگزوزومی استخراج شده برای سنجش بیان PCA3، ERG و SPDEF بررسی شده و بر اساس نتایج RT-qPCR، امتیاز EPI برای ارزیابی خطر سرطان پروستات محاسبه می‌شود. امتیاز $EPI \leq 15.6$ نشان‌دهنده خطر پایین‌تر سرطان پروستات با درجه بالا و امتیاز $EPI > 15.6$ نشان‌دهنده خطر بالاتر

کاربرد بالینی و تفسیر نتایج

کاربرد اصلی آزمون EPI کمک به تصمیم‌گیری درباره انجام نمونه برداری پروستات در مردان ۵۰ ساله و بالاتر است که میزان PSA آن‌ها در محدوده ۲ تا ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر، قرار دارد. در این بیماران، افزایش PSA به تنهایی نمی‌تواند به طور دقیق میان بیماری‌های خوش‌خیم و سرطان پروستات تمایز ایجاد کند. بنابراین، این آزمون یک ابزار ارزیابی خطر پیش از بیوپسی است و برای غربالگری عمومی یا تشخیص قطعی سرطان طراحی نشده است (۶). نتیجه آزمون به صورت یک امتیاز عددی در محدوده صفر تا ۱۰۰ گزارش می‌شود. افزایش امتیاز EPI با افزایش احتمال وجود سرطان پروستات دارای همبستگی است. نقطه برش (Cut-off point) اعتبارسنجی شده این آزمون ۱۵/۶ است (۸). در بیمارانی که امتیاز EPI کمتر از ۱۵/۶ دارند، احتمال وجود سرطان پروستات کاهش می‌یابد و پزشک می‌تواند با در نظر گرفتن سایر یافته‌ها، بیوپسی را به تعویق انداخته و بیمار را تحت پیگیری قرار دهد.

با این حال، امتیاز پایین، خطر سرطان را به طور کامل حذف نمی‌کند. در مقابل، امتیاز برابر یا بیشتر از ۱۵/۶ نشان‌دهنده افزایش احتمال تومور بدخیم است و می‌تواند انجام بررسی‌های تکمیلی یا نمونه برداری را تسریع کند؛ اما نتیجه بالاتر از نقطه برش نیز به تنهایی معادل تشخیص قطعی سرطان نیست و تأیید نهایی همچنان به بررسی بافت‌شناسی توسط پاتولوژیست نیاز دارد (۸).

در تحلیل تجمیعی سه مطالعه آینده‌نگر مستقل شامل ۱۲۱۲ مرد کاندید بیوپسی اولیه پروستات، استفاده از نقطه برش ۱۵/۶ با حساسیت حدود ۹۲ درصد و اختصاصیت حدود ۹۰ درصد برای شناسایی سرطان پروستات Grade 2 یا بالاتر همراه بود. بر اساس این نتایج، استفاده از آزمون توانست حدود ۲۳ درصد از کل بیوپسی‌های پروستات و ۳۰ درصد از بیوپسی‌های غیرضروری، شامل موارد خوش‌خیم یا سرطان Grade 1، را کاهش دهد. بنابراین، کارکرد اصلی EPI بیشتر در شناسایی افراد با خطر پایین سرطان پروستات با درجه بالاتر و کمک به رد نسبی نیاز فوری به بیوپسی است، نه اثبات قطعی وجود سرطان در افراد دارای امتیاز بالا (۱۴).

در یک مطالعه آینده‌نگر، تصادفی و دوسوکور با گروه کنترل که در ۲۴ مرکز و با مشارکت ۷۲ اورولوژیست انجام شد، تأثیر بالینی آزمون EPI بر تصمیم‌گیری درباره انجام بیوپسی در ۱۰۹۴ مرد کاندید بیوپسی اولیه با PSA در محدوده ۲ تا ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر بررسی شد. در این مطالعه، ۶۸٪ از اورولوژیست‌ها گزارش کردند که نتیجه EPI بر تصمیم آن‌ها برای انجام یا به تعویق انداختن بیوپسی تأثیر داشته است. بیماران با امتیاز پایین EPI، به‌ویژه امتیاز کمتر از ۱۵/۶، بیشتر در معرض توصیه به تعویق انداختن بیوپسی قرار گرفتند؛ در مقابل، در بیماران با امتیاز بالاتر، احتمال توصیه به انجام بیوپسی افزایش یافت و میزان پایبندی بیماران به این توصیه نیز بیشتر بود. در مقایسه با مراقبت استاندارد، استفاده از EPI با شناسایی ۳۰٪ موارد بیشتر سرطان پروستات با درجه بالا همراه بود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که EPI می‌تواند با تفکیک بهتر بیماران، هم در اجتناب از بیوپسی در افراد کم‌خطر و هم در هدایت بیماران پرخطرتر به سمت بیوپسی به تصمیم‌گیری بالینی کمک کند (۸).



□ مزایا، محدودیت‌ها و جایگاه آزمایشگاهی EPI

یکی از مزایای اصلی EPI، ماهیت غیرتهاجمی و سهولت نسبی جمع آوری نمونه است که می‌تواند پذیرش آزمون را برای بیمار افزایش دهد. علاوه بر این، EPI یک منبع اطلاعاتی مولکولی متفاوت از شاخص‌های متداول بالینی از جمله PSA فراهم می‌کند. در تحلیل تجمیعی، EPI برای افتراق سرطان پروستات با درجه بالاتر، عملکرد بهتری از PSA و برخی محاسبه‌گرهای خطر بالینی نشان داد و از این منظر این آزمون می‌تواند به عنوان یک ابزار مکمل برای طبقه بندی خطر پیش از بیوپسی و تصمیم گیری درباره ضرورت انجام آن مورد استفاده قرار گیرد (۹،۱۵).

با وجود ارزش بالینی EPI، این آزمون یک ابزار طبقه‌بندی خطر است و نه یک آزمون تشخیصی قطعی. امتیاز بالاتر از نقطه برش ۶/۱۵ لزوماً نشان‌دهنده وجود سرطان پروستات نیست و ممکن است در برخی بیماران مبتلا به بیماری‌های خوش خیم یا سرطان‌های کم‌درجه نیز مشاهده شود. این محدودیت لزوماً ناشی از انتخاب نامناسب نشانگرهای مورد بررسی نیست، بلکه تا حد زیادی به ماهیت پیچیده و ناهمگن سرطان پروستات مربوط می‌شود. اگرچه PCA3، ERG و SPDEF هر یک با جنبه‌هایی از زیست‌شناسی سرطان پروستات مرتبط هستند، هیچ نشانگر مولکولی منفردی قادر به بازتاب تمامی تغییرات ژنتیکی، اپی‌ژنتیکی و محیطی موجود در یک تومور نیست. همچنین، برخی تغییرات بیان این ژن‌ها ممکن است در شرایط غیرسرطانی یا در تومورهای کم‌درجه نیز مشاهده شوند. از این رو، EPI باید به عنوان یک ابزار کمک‌کننده در طبقه‌بندی خطر تفسیر شود و نتیجه آن در کنار PSA، روند تغییرات آن، سابقه خانوادگی، یافته‌های معاینه بالینی، MRI پروستات و سایر عوامل مرتبط با خطر مورد ارزیابی قرار گیرد و جایگزین تشخیص بافت‌شناسی نشود. از سوی دیگر، امتیاز پایین نیز احتمال سرطان با درجه بالاتر را به‌طور کامل منتفی نمی‌کند و ممکن است تعداد محدودی از موارد Grade Group ≥ 2 در این گروه قرار گیرند (۱۶). محدودیت دیگر، قابلیت تعمیم عملکرد آزمون به جمعیت‌های مختلف است. شاخص‌های عملکرد تشخیصی EPI می‌توانند تحت تأثیر ویژگی‌های جمعیت مورد مطالعه قرار گیرند. بنابراین،

عملکرد گزارش شده در مطالعات اعتبارسنجی ممکن است در سایر جمعیت‌ها و نظام‌های سلامت با همان میزان مشاهده نشود. از این رو، پیش از به‌کارگیری گسترده EPI در جمعیت‌های جدید، انجام مطالعات اعتبارسنجی مستقل در جمعیت هدف برای ارزیابی عملکرد آزمون و تعیین تناسب آن با شرایط بالینی و اپیدمیولوژیک آن جمعیت ضروری است (۱۷). از دیگر محدودیت‌های EPI، ماهیت اختصاصی فرآیند فنی و الگوریتم محاسبه امتیاز است. EPI یک آزمون تجاری مبتنی بر بیان سه ژن و الگوریتم اختصاصی است و تمامی جزئیات مربوط به فرآیند پردازش نمونه و نحوه محاسبه امتیاز نهایی الزاماً در دسترس عمومی قرار ندارد. بنابراین، EPI را نمی‌توان صرفاً یک آزمون متداول RT-qPCR تلقی کرد که بدون دسترسی به فناوری و الزامات اختصاصی، در هر آزمایشگاهی قابل اجرا باشد. علاوه بر این، هزینه آزمون، دسترسی به زیرساخت‌های تخصصی، نیاز به انتقال نمونه و زمان پاسخ‌دهی می‌توانند بر امکان استفاده روتین از آن در برخی نظام‌های سلامت تأثیرگذار باشند.

بر این اساس، در صورت بررسی امکان استفاده بالینی از EPI یا توسعه آزمونی مشابه در ایران، انجام مطالعات اعتبارسنجی تحلیلی و بالینی در جمعیت هدف ضروری خواهد بود. این مطالعات باید ضمن ارزیابی دقت و تکرارپذیری، عملکرد بالینی آزمون، از جمله حساسیت، ویژگی و مناسب بودن نقطه برش را در جمعیت ایرانی تعیین کنند. این ارزیابی می‌تواند مشخص کند که آیا عملکرد گزارش شده EPI در مطالعات بین‌المللی، در جمعیت ایرانی نیز قابل تکرار است و آیا این آزمون در این جمعیت، ارزش افزوده بالینی قابل توجهی در فرآیند ارزیابی و تصمیم‌گیری پیش از بیوپسی ایجاد می‌کند.

□ نتیجه‌گیری

آزمون EPI را می‌توان یکی از نمونه‌های قابل توجه در توسعه آزمون‌های مبتنی بر اگزوزوم‌ها دانست که نشان می‌دهد محتوای مولکولی اگزوزوم‌های ادراری می‌تواند به عنوان منبعی برای استخراج اطلاعات زیستی مرتبط با سرطان پروستات مورد استفاده قرار گیرد. با این حال،

مستقل این رویکردها در جمعیت‌های مختلف، ارزیابی هزینه‌آفرینشی و استانداردسازی فرآیندهای آزمایشگاهی الزامات مهم برای استفاده گسترده‌تر آن‌ها در پزشکی آزمایشگاهی خواهد بود. بنابراین، تجربه حاصل از توسعه و ارزیابی EPI را می‌توان فراتر از یک آزمون منفرد، نمونه‌ای از ظرفیت رو به رشد فناوری‌های مبتنی بر آگروزوم‌ها در تشخیص و طبقه‌بندی خطر بیماری‌های بدخیم دانست.

به دلیل ناهمگنی مولکولی سرطان پروستات و محدودیت بررسی تعداد محدودی نشانگر، این آزمون همچنان یک ابزار ارزیابی خطر محسوب می‌شود و جایگزین روش‌های تشخیصی قطعی نیست. در آینده، توسعه پنل‌های چندنشانگری، ادغام اطلاعات RNA آگروزومی با سایر داده‌های بالینی، تصویربرداری و روش‌های پیشرفته تحلیل داده می‌تواند به افزایش قدرت پیش‌بینی و بهبود تصمیم‌گیری بالینی کمک کند. همچنین، اعتبارسنجی

References:

- 1- Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2024;74(3):229-63.
- 2- Raja N, Russell CM, George AK. Urinary markers aiding in the detection and risk stratification of prostate cancer. *Transl Androl Urol*. 2018;7(Suppl 4):S436-s42.
- 3- McKiernan J, Noerholm M, Tadigotla V, Kumar S, Torkler P, Sant G, et al. A urine-based Exosomal gene expression test stratifies risk of high-grade prostate Cancer in men with prior negative prostate biopsy undergoing repeat biopsy. *BMC Urol*. 2020;20(1):138.
- 4- Wei JT, Barocas D, Carlsson S, Coakley F, Eggener S, Etzioni R, et al. Early Detection of Prostate Cancer: AUA/SUO Guideline Part I: Prostate Cancer Screening. *J Urol*. 2023;210(1):46-53.
- 5- Dani H, Loeb S. The role of prostate cancer biomarkers in undiagnosed men. *Curr Opin Urol*. 2017;27(3):210-6.
- 6- McKiernan J, Donovan MJ, O'Neill V, Bentink S, Noerholm M, Belzer S, et al. A novel urine exosome gene expression assay to predict high-grade prostate cancer at initial biopsy. *JAMA oncology*. 2016;2(7):882-9.
- 7- Salehi M, Sharifi M. Exosomal miRNAs as novel cancer biomarkers: Challenges and opportunities. *Journal of Cellular Physiology*. 2018;233(9):6370-80.
- 8- Tutrone R, Donovan MJ, Torkler P, Tadigotla V, McLain T, Noerholm M, et al. Clinical utility of the exosome based ExoDx Prostate (IntelliScore) EPI test in men presenting for initial Biopsy with a PSA 2–10 ng/mL. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*. 2020;23(4):607-14.
- 9- Margolis E, Brown G, Partin A, Carter B, McKiernan J, Tutrone R, et al. Predicting high-grade prostate cancer at initial biopsy: clinical performance of the ExoDx (EPI) Prostate Intelliscore test in three independent prospective studies. *Prostate cancer and prostatic diseases*. 2022;25(2):296-301.
- 10- Welsh JA, Goberdhan DC, O'Driscoll L, Buzas EI, Blenkiron C, Bussolati B, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. *Journal of extracellular vesicles*. 2024;13(2):e12404.
- 11- Nilsson J, Skog J, Nordstrand A, Baranov V, Mincheva-Nilsson L, Breakefield X, et al. Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer. *British journal of cancer*. 2009;100(10):1603-7.
- 12- Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun X-W, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *science*. 2005;310(5748):644-8.
- 13- Kretschmer A, Kajau H, Margolis E, Tutrone R, Grimm T, Trottmann M, et al. Validation of a CE-IVD, urine exosomal RNA expression assay for risk assessment of prostate cancer prior to biopsy. *Sci Rep*. 2022;12(1):47.77.
- 14- Margolis E, Brown G, Partin A, Carter B, McKiernan J, Tutrone R, et al. Predicting high-grade prostate cancer at initial biopsy: clinical performance of the ExoDx (EPI) Prostate Intelliscore test in three independent prospective studies. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*. 2022;25(2):296-301.
- 15- Erdbrügger U, Blijdorp CJ, Bijnsdorp IV, Borräs FE, Burger D, Bussolati B, et al. Urinary extracellular vesicles: A position paper by the Urine Task Force of the International Society for Extracellular Vesicles. *Journal of extracellular vesicles*. 2021;10(7):e12093.
- 16- Sultan MI, Huynh LM, Kamil S, Abdelaziz A, Hammad MA, Gin GE, et al. Utility of noninvasive biomarker testing and MRI to predict a prostate cancer diagnosis. *International Urology and Nephrology*. 2024;56(2):539-46.
- 17- Sathianathan NJ, Kuntz KM, Alarid-Escudero F, Lawrentschuk NL, Bolton DM, Murphy DG, et al. Incorporating biomarkers into the primary prostate biopsy setting: a cost-effectiveness analysis. *The Journal of urology*. 2018;200-201:1215(6).

