مقاله پژوهشی

مقایسه حساسیت و ویژگی سیتولوژی و اندازه گیری فعالیت تلومراز در ادرار به روش Trap Assay جهت تشخیص سرطان مثانه

دکتر نصرت الله ضرغامی* ، **دکتر بهمن فرشید**** ، **دکتر سعید صمدزاده***** ، **دکتر بهزاد نجمی******
بهرنگ علنی***** ، **جمال حلاج زاده ********

دریافت : ۸۴/۴/۸ ، پذیرش : ۸۴/۹/۱۶

چکیده:

مقدمه و هدف: تلومراز یک آنزیم ترانس کریپتازی معکوس است که جهت نامیرایی و سرطانزایی سلولهای سرطانی مـورد نیـاز می‌باشد و تشخیص فعالیت تلومراز یک روش امیدوار کننده جهت تشخیص زودرس سرطان مثانه و سایر تومورها می‌باشـد. در این مطالعه حساسیت دو روش سیتولوژی ادراری و اندازه‌گیری فعالیت تلومراز در بیماران مبتلا به سرطان مثانه مقایسه گردید.

روش کار : در این تحقیق از نوع موردی - شاهدی، تعداد ۳۳ بیمار مبتلا به سرطان مثانه بعنـوان گـروه مـورد و ۳۳ بیمـار فاقـد سرطان مثانه بعنوان گروه شاهد مراجعه کننده به بخش اورولوژی بیمارستان امام خمینی ارومیه مورد بررسی قـرار گرفتنـد. از همه بیماران دو نمونه اولین ادرار صبحگاهی قبل از انجام هر گونه مداخلهٔ درمانی گرفته شد تا جهت انجام سـیتولوژی ادراری و اندازه‌گیری فعالیت تلومراز بر پایه واکنشهای زنجیره‌ای پلیمراز و الیزا مورد آزمایش قرار گیرند.

نتایج : حساسیت سیتولوژی ادراری در تومورهای درجه یک۳۰٪، درجه دو ۸۳٪ و درجه سه ۵۲٪ اندازه‌گیری شـد در حـالی کـه حساسیت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم تلومراز در تومورهای درجه یک ۸۰٪ و در تومورهای با درجه دو و سه۱۰۰٪ بود. حساسیت کلی سیتولوژی ادراری نیز ۵۱/۵ ٪ و حساسیت تلومراز ۹۳٪ اندازه‌گیری شد. همچنین ویژگی تست اندازه گیری آنزیم تلـومراز ۸۷/۵٪ محاسبه گردید. فعالیت آنزیم تلومراز و سیتولوژی ادراری در هیچکدام از بیماران فاقد کانسر مثانه مثبت نبود.

نتیجه نهائی : اندازه‌گیری فعالیت تلومراز در افراد مبـتلا بـه سـرطان مثانـه نسـبت بـه سـیتولوژی ادراری از حساسـیت بـالاتری برخوردار بوده و یک روش مناسب جهت تشخیص و پیگیری بیماران مبتلا به سرطان مثانه می‌باشد.

کلید واژه ها : ادرار ـ سلول شناسی / تلومراز / سرطان مثانه

مقدمه :

سرطان مثانه چهارمین سرطان شایع در مردان بعد از سرطانهای پروستات، ریه و کولورکتال مـی‌باشـد و حـدود ۶/۲٪ سرطانهای مردان را شـامل مـی‌شـود. در زنـان نیـز سـرطان مثانـه هشـتمین سـرطان شـایع بـوده و حـدود ۲/۵٪ تمـام سـرطانها را شـامل مـی‌شـود(۱).همـاچوری شایعترین علامت و نشـانه در بیمـاران مبـتلا بـه سـرطان مثانه است. اما یک یافتهٔ اختصاصی نبوده و در بسـیاری از بیماریهای خوش خیم نیز مشاهده می شود. تشخیص علل بدخیم هماچوری از علل خوش خیم آن بخصوص از طریق

* دانشیار گروه بیوشیمی بالینی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز (Zarghami@tbzmed.ac.ir)
** استادیار گروه ارولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
*** دانشیار گروه ارولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
**** دستیار گروه ارولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
***** مربی پژوهشی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
****** کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

روشهای غیر تهاجمی بسیار مفید می‌باشد(۲). سیتولوژی ادراری شایعترین روش غیر تهاجمی جهت تشخیص و مانیتورینگ سرطان مثانه می‌باشد. محدودیت مهم سیتولوژی ادراری ظاهر نرمال سلولهای تومورال کاملا تمایز یافته می‌باشد. در ضمن چون سلولهای کاملا تمایز یافته چسبندگی زیادی دارند به آسانی در ادرار دفع نمی‌شوند بنابراین حساسیت سیتولوژی ادراری در تومورهای درجه پایین کم می‌باشد(۳). سیتولوژی ادراری در تشخیص تومورهای مثانه با درجه بالا یا کارسینوم insitu حساس است با این وجود حتی در مورد تومورهای با درجه بالا نیز سیتولوژی ادراری در حدود ۲۰٪ موارد بصورت کاذب منفی می‌باشد. یک سیتولوژی مثبت حتی در حضور سیستوسکوپی منفی شدیداً مؤید سرطان مثانه می‌باشد اگر چه نتایج مثبت کاذب ممکن است در ۱۲-۱٪ بیماران مشاهده شود که اکثراً ناشی از التهاب، تغییرات ناشی از پرتودرمانی یا شیمی‌درمانی می‌باشد(۴). سیستوسکوپی روش استاندارد طلایی جهت بررسی هماچوری از نظر وجود یا عدم وجود کانسر مثانه می‌باشد ولی این روش یک روش مهاجم می‌باشد. روشهای غیر تهاجمی متعددی مانند فلوسیتومتری، آنالیز تصویری ، هیالورونیک اسید و هیالورونیداز، آنتی ژنهای توموری مثانه، تلومراز وغیره جهت تشخیص غیر تهاجمی سرطان مثانه مورد مطالعه قرار گرفته است(۵).

یکی از مهم‌ترین آنزیمهایی که در پیشرفت سرطان از اهمیت خاصی برخوردار است آنزیم تلومراز می باشد. تلومراز یک ترانس کریپتاز معکوس است که مسئول بسط توالیهای TTAGGG تلومر است در نتیجه کوتاه شدن تلومرها را جبران می کند(۶). سلولهای سوماتیک طبیعی انسان دارای فعالیت تلومرازنیستند و این فعالیت تنها در سلولهای بنیادی و سلوهای توموری دیده می شود (۷،۸). وجود فعالیت تلومراز باعث ایجاد سلولهای نامیرا و مسئول تکثیر نامحدود سلولهای سرطانی می گردد(۹،۱۰). لذا در این تحقیق جهت دستیابی به یک روش غیر تهاجمی با حساسیت و ویژگی بالا در تشخیص سرطان مثانه، اندازه گیری فعالیت آنزیم تلومراز و حساسیت سیتولوژی در ادرار بیماران مبتلا به سرطان مثانه مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

روش کار:

در این مطالعه ۳۳بیمار مبتلا به سرطان مثانه بعنوان گروه مورد و۳۳ بیمار فاقد سرطان مثانه بعنوان گروه شاهد که‌از تیرماه۸۱تا تیرماه۸۲ به بخش اورولوژی بیمارستان امام خمینی ارومیه مراجعه کرده بودندوارد مطالعه شدند. از این افراد دو نمونهٔ اولین ادرار صبحگاهی(۳۰cc)تهیه‌شد. نمونه‌های‌ادراری به مدت ۵دقیقه در ۳۰۰۰g در درجه حرارت ۴درجه سانتیگراد سانتریفیوژ گردید و برای شستشوی سلولهای ته نشین شده بافرPBS اضافه و سانتریفیوژ مجدداً در همان شرایط تکرار شد. نمونه‌ها در دمای ۷۰- درجه فریز شد تاجهت انجام سیتولوژی ادراری و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم تلومراز مورداستفاده قرار گیرند.

تشخیص مثبت بودن سیتولوژی ادراری نمونه ها پس از رنگ آمیزی بر روی لام به روش پاپانیکولا و مشاهده وجود سلول های سرطانی زیر میکروسکوپ نوری انجام گردید(۱۱). جهت اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم تلومراز از روشTRAP Assay (Telomeric Repeat Amplification Protocol) مبتنی بر دو تکنیک واکنشهای زنجیره ای پلیمرازی و الیزا (کیت شرکت رش آلمان) بر اساس روش هولت استفاده شد(۱۲). در ابتدا پس از جداسازی سلولهای ته نشین شده، جهت استخراج پروتئین ، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر بافر لیز سلولی (۱۰ میلی مولار Tris-HCl [pH ۸] ،یک میلی مولار کلرید منیزیم، ۰/۱ میلی مولار بنزآمیدین، ۵ میلی مولار بتامرکاپتواتانل، ۰/۵ درصد chaps ، ۱۰ درصد گلیسرول و ۱ میلی مولار EGTA) اضافه شده و به مدت۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰ g سانتریفیوژ شد. فاز رویی به آرامی به اپندورف جدید منتقل شد. مقدار پروتئین استخراجی بر طبق روش برادفوردبا استفاده از رنگ آبی کوماس۲۵۰ و منحنی استاندارد آلومین سرم گاوی تعیین گردید(۱۳).

به منظور بهینه سازی شرایط TRAP-PCR، غلظت واکنش‌گر برای حجم ۵۰ میکرولیتر شامل ۱۰ میکروگرم نمونه پروتئین استخراجی حاوی آنزیم تلومراز، ۶۰ نانوگرم از آغازگر، dNTP با غلظت ۱۰ میلی مولار ، ۵ میکرولیتر استاندارد حاوی نمونه DNA و ۱۶ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر استریل تنظیم و آماده شد. لازم به ذکر است که در این واکنش آنزیم تلومراز نقشTaq Polymerase را ایفا میکند. پس از آماده سازی واکنشگرها برنامه

لازم جهت انجام PCR در دستگاه ترموسایکلر شرکت اپندرف تنظیم گردید. در این برنامه یک دور به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد جهت آماده سازی آنزیم تلومراز برای شروع فعالیت و سپس یک دور جهت تک رشته ای شدن کلی DNA تلومری به مدت ۳۰دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۲۷ دور شامل مراحل مربوط به اتصال پرایمر به مدت۳۰ ثانیه که دمای اتصال آن برای آغازگر در کیت ۳۰ درجه مشخص شده است، سنتزتوالیهای تلومری به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۵۹ درجه، تک رشته ای شدن DNA های ساخته شده به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه بر روی دستگاه ترموسایکلر تنظیم شد. پس از انجام PCR از تکنیک الیزا برای اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم تلومراز بر اساس تکثیر توالی های تلومری در محصولات PCR به روش هیبریداسیون استفاده شد. در اولین قدم ۳ میکرولیتر از محصولات PCR از طریق اضافه شدن به پلیت پوشیده از توالیهای پلی نوکلئوتیدی مکمل آن غیر متحرک و ساکن شد. پس از انکوبه کردن پلیت به مدت ۲ ساعت در دمای اطاق سه بار با استفاده از بافر مربوطه شستشو داده شد. سپس آنتی بادی نشاندار شده با بیوتین به کمپلکس حاصله افزوده شد. آنتی بادی مربوطه با پراکسیداز تربچه (Horseradish Peroxidase) کنژوگه شده بود. با اضافه کردن محلول سوبسترا که حاوی ۵و۵و۳و۳ تترا متیل بنزن است ، واکنش رنگی صورت گرفته و مقدار رنگ ایجاد شده در طول موج ۴۵۰ نانومتر در دستگاه الیزا ریدر قرائت گردید. با قرار دادن مقادیر جذب شده از نمونه ها در منحنی استاندارد بدست آمده میزان فعالیت نسبی آنزیم تلومراز در نمونه‌های مجهول بدست آمد(بدون واحد ، لازم به ذکر است که مقادیر بالای صفر مثبت و زیر صفر منفی در نظر گرفته شد).

آنالیز آماری : جهت تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون تی مستقل استفاده شد. معنی دار بودن آماری برای P<۰/۰۵ کلیه آزمونهای آماری دو دنباله ای در نظر گرفته شد. کلیه آزمونهای آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS۱۱/۵ انجام شد.

نتایج :

بیماری سرطان مثانه هر ۳۳ فرد (۳۱مرد و ۲زن) با میانگین سنی۶۴/۱۱سال (محدودهٔ سنی ۴۴ تا ۹۰سال) توسط روشهای تهاجمی تائید شده بود. جهت تعیین ویژگی هردو تست علاوه بر افراد بیمار تعداد ۳۳ نفر بیمار فاقد سرطان مثانه (۲۵ مرد و ۸ زن) با میانگین سنی ۴۶/۱۳ سال (با محدوده سنی ۶۲-۳۰ سال) نیز انتخاب گردیدند. این بیماران شامل افراد دارای سنگهای کلیوی، التهاب مثانه، ناراحتیهای عفونی دستگاه ادراری و انسداد مجاری ادراری بودند.

سی تی اسکن شکم و لگن با کنتراست وریدی و خوراکی و نیز رادیکال سیستکتومی جهت مرحله بندی پاتولوژی سرطان مثانه نشان می داد که ۱۹ نفر در مرحله T1، ۵ نفر T2b، ۲ نفر مرحله T3a و ۷ نفر در مرحلهT3b توموری قرار داشتند.

سیتولوژی ادراری تنها در ۸ نفر از ۱۹ نفر با مرحله T1 توموری مثبت بود. فعالیت آنزیم تلومراز تنها در ۲ نفر از این افراد منفی بود. در تومورهای با مرحلهT2b سیتولوژی ادراری و فعالیت آنزیم تلومراز در هر ۵ بیمار مثبت بود. در افراد دارای تومورهای با مراحل T3a و T3b فعالیت آنزیم تلومراز به ترتیب در همه۵ و ۷ نفراز این دو گروه مثبت بودولی سیتولوژی ادراری به ترتیب یک و سه نفر از دو گروه مثبت بود.

حساسیت سیتولوژی ادراری درتشخیص سرطان مثانه در مرحلهT1 برابر۴۷٪ ، T2 ۱۰۰٪ و T3a ۵۰٪ و مرحله T3b برابر ۴۳٪ گردید در حالیکه حساسیت تلومراز درتشخیص سرطان مثانه در مرحله T1 ۸۹٪ و در سایر مراحل ۱۰۰٪ بود. میانگین فعالیت نسبی تلومراز در تومورهای مرحله T1برابر۴/۶±۱۰/۶۸، در مرحله T2 برابر۶/۳± ۸ /۲۳ ، در مرحله T3aحدود ۷/۴ ±۲۵/۵ و در مرحله T3b ۸/۵±۲۶/۸ محاسبه شد که این اختلاف بین مرحله T1 با سایر مراحل از نظر آماری معنی دار بود(P<۰/۰۴) ولی بین سایر مراحل این اختلاف قابل ملاحظه نبود(جدول ۱).

جدول ۱ : مقایسهٔ حساسیت سیتولوژی ادراری و اندازه گیری فعالیت تلومراز به روش Trap Assay در مراحل مختلف

	مرحلهT1	مرحلهT2b	مرحلهT3a	مرحلهT3b	کلی
سیتولوژی					
مثبت	۸	۵	۱	۳	۱۷
منفی	۱۱	۰	۱	۴	۱۶
حساسیت(٪)	۴۷	۱۰۰	۵۰	۴۳	۵۱/۵
تلومراز					
مثبت	۱۷	۵	۲	۷	۳۱
منفی	۲	۰	۰	۰	۲
حساسیت (٪)	۸۹	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۳

درجه بندی تومورها طبق طبقه بندی Ash نشان داد (۱۴) که ۱۰ نفر دارای تومور درجه یک، ۶ نفر درجه دو و ۱۷ نفر دارای تومور درجه سه بودند. از تعداد ۱۰ نفر دارای مرحله یک توموری، سیتولوژی ادراری تنها قادر به شناسایی بیماری سه نفر گردید و فعالیت آنزیم تلومراز در ۸ نفر از این افراد مشاهده شد دو نفر از این افراد سیتولوژی ادراری و فعالیت آنزیم تلومرازی منفی بودند. در ۶ فرد دارای تومور با درجه دو تنها یک نفر سیتولوژی ادراری منفی داشت در حالیکه هر۶ نفر فعالیت آنزیم تلومرازی مثبت بودند. همچنین سیتولوژی ادراری تنها در ۸ نفر از ۱۷ بیمار با تومورهای درجه سه مثبت بود با این حال فعالیت آنزیمی همه۱۷ بیمار مثبت ارزیابی شد.

حساسیت سیتولوژی ادراری در تومورهای با درجات مختلف به ترتیب، درجه یک ۳۰٪ و درجه دو ۸۳٪ و درجه سه ۵۲٪ محاسبه شد در حالی که حساسیت تلومراز در تشخیص سرطان مثانه در تومورهای بادرجه یک ۸۰٪ و درتومورهای با درجات دو و سه ۱۰۰٪ برآورد گردید. میانگین فعالیت نسبی تلومراز در تومورهای درجه یک ۷/۳۳±۲/۱ ، درجه دو برابر ۱۲±۴/۱و درجه سه برابر ۲۵±۲/۱ اندازه گیری شد که این اختلاف بین تومورهای با درجات یک و سه و نیز دو و سه قابل ملاحظه بود (P<۰/۰۰۵) ولی این اختلاف بین تومورهای با درجات یک و دو قابل ملاحظه نبود(جدول۲).

جدول ۲: مقایسهٔ حساسیت سیتولوژی ادراری و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم تلومراز به روش Trap Assay در تشخیص سرطان مثانه در درجات مختلف

	درجه۱	درجه۲	درجه۳	کلی
سیتولوژی				
مثبت	۳	۵	۹	۱۷
منفی	۷	۱	۸	۱۶
حساسیت(٪)	۳۰	۸۳	۵۲	۵۱/۵
تلومراز				
مثبت	۸	۶	۱۷	۳۱
منفی	۲	۰	۰	۲
حساسیت(٪)	۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۳

حساسیت کلی سیتولوژی ادراری درتشخیص سرطان مثانه ۵۱/۵٪ محاسبه شد در حالی که حساسیت کلی اندازه‌گیری فعالیت تلومراز ۹۳٪ بود. بر این اساس ویژگی کلی اندازه گیری فعالیت آنزیم تلومراز ۸۷/۵ درصد محاسبه شد. در این مطالعه مشاهده گردید که فعالیت آنزیم تلومراز در تومورهای با درجه و مراحل بالا یک روند افزایشی را نشان می دهد. همچنین سیتولوژی ادراری و اندازه گیری فعالیت تلومراز در هیچکدام از افراد فاقد تومور مثانه مثبت نبود.

بحث:

در بررسیهای کلینیکی سرطان مثانه تشخیص تومورهای با درجه پایین و دستیابی به مارکرهای مولکولی جدید جهت شناسایی زودرس و فالوآپ سرطان مثانه هدف اصلی اکثر مطالعات می‌باشد(۲). سیستوسکوپی سنگ بنای تشخیص سرطان مثانه باقی مانده است ولی این روش تهاجمی بوده و بخصوص در مواقع فالوآپ بیماران یک روش قابل قبول برای خیلی از بیماران نمی‌باشد. سیتولوژی ادراری یک روش ساده جهت تشخیص و مانیتور سرطان مثانه می‌باشد اما حساسیت این تست فقط در تومورهای با درجه بالا و کارسینوم insitu بالا می‌باشد(۳).

فعالیت تلومراز اخیراً در بافت اکثر سرطانهای انسانی با استفاده از Trap Assay قابل شناسایی می‌باشد و حساسیت اندازه گیری فعالیت تلومراز در بافتهای سرطانهای مختلف انسانی از۲۰٪ تا ۱۰۰٪ گزارش شده است(۷). در مطالعات متعدد اندازه‌گیری فعالیت آنزیم تلومراز به روش Trap Assay در نمونهٔ ادرار بیماران مبتلا به سرطان مثانه جهت تشخیص غیرتهاجمی سرطان مثانه حساسیت و ویژگی متفاوتی را ذکر شده است.بطوریکه در مطالعهٔ کاوالر و همکاران ۷۹٪ تومورهای درجه یک، ۸۴٪ تومورهای درجه دو و۸۷/۵٪ تومورهای درجه سه فعالیت مثبت تلومراز داشتند در حالیکه ۱۳٪ تومورهای درجه یک و ۴۴٪ تومورهای درجه دو و ۸۲٪ تومورهای درجه سه توسط سیتولوژی ادراری شناسایی شدند. با این حال هر۵ بیمار مبتلا به کارسینوم insitu سیتولوژی ادراری و فعالیت تلومرازی مثبت داشتند(۱۵). در مطالعهٔ راماکومار و همکاران حساسیت و ویژگی تستهای مختلف در ۵۷ بیمار مبتلا به سرطان مثانه و ۱۳۹بیمار بدون سرطان مثانه از طریق اندازه‌گیری

مارکرهای مختلف ادراری با هم مقایسه شدند. دراین مطالعه حساسیت کلی سیتولوژی ادراری ۴۴٪ و تلومراز ۷۰٪ و BTA stat ۷۴٪ و NMP22 ۵۳٪ FDP ۵۲٪ و hemoglobin dipstick ۴۷٪ گزارش شد. ویژگی تستهای سیتولوژی ادراری ۹۵٪، تلومراز ۹۹٪ FDP ۹۱٪، BTA stat ۷۳٪ و NMP22 ۶۰٪ و hemoglobin dipstick ۸۴٪ گزارش شد. در این مطالعه نتیجه گیری شد که درتمام مراحل و درجات تومور ارتباط بین فعالیت تلومراز و سرطان مثانه بیش از سایر تستها می‌باشد(۱۶). یانگ و همکاران نیز از روش سنجشTRAP جهت شناسایی فعالیت آنزیم تلومراز در نمونه ادرار ۲۳ بیمار مبتلا به سرطان مثانه استفاده کردند که تنها در یک نفر از بیماران فعالیت آنزیم تلومراز مشاهده نشد. همچنین سیتولوژی ادراری ۱۷ نفر از بیماران مثبت بود(۱۷). در مطالعه ما نیز حساسیت کلی سیتولوژی ادراری و اندازه گیری فعالیت آنزیم تلومراز درتشخیص سرطان مثانه به ترتیب ۵۱/۵٪ و ۹۳٪ محاسبه گردید. حساسیتTrap assay در تومورهای درجه یک تا سه به ترتیب ۸۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد و سیتولوژی ادراری به ترتیب ۳۰، ۸۳ و۵۲ درصد محاسبه شد. همچنین ویژگی تست اندازه گیری فعالیت تلومراز در مطالعه ما ۸۷/۵ درصد محاسبه شد. با این حال برخی محققین حساسیت بسیار کمتر Trap Assay جهت شناسایی سرطان مثانه راگزارش کردند. دالباگنی و همکاران حساسیت کلی Trap Assay درتشخیص سرطان مثانه را در نمونهٔ ادرار بیماران ۳۵٪ گزارش کردند در حالیکه حساسیت کلی سیتولوژی ادراری جهت تشخیص سرطان مثانه ۷۱٪ بود(۱۸). همچنین هاین و همکاران با بررسی نمونه ادرار ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان مثانه نشان دادند که فعالیت آنزیم تلومراز تنها در ۲ بیمار قابل شناسایی بود در حالی حساسیت سیتولوژی ادراری به مراتب بهتر توانایی شناسایی تومورها را داشت(۱۹).

در تمام مطالعات فوق نشان داده شده است که می‌توان فعالیت تلومراز را با استفاده از Trap Assay در نمونهٔ ادرار بیماران مبتلا به سرطان مثانه جستجو کرد ولی حساسیت این تست درمطالعات گوناگون متفاوت ذکر شده است. اول: اینکه ممکن است مهارکننده های آنزیم تلومراز در ادرار وجود داشته باشد. دوم: وجود RNAase یا پروتئازهایی که باعث نابودی زنجیره های RNA یا قسمت کاتالتیک (hTERT) آنزیم تلومراز می‌شود سوم: حساسیت تشخیص فعالیت تلومراز وابسته به تعداد سلولهایی است که این فعالیت را از خود نشان می‌دهند (۲۰). بطوریکه تعدادی از محققین معتقدندکه حداقل ۵۰ سلول با فعالیت تلومراز جهت شناسایی این آنزیم به روش Trap Assay مورد نیاز می‌باشد(۶). چهارم اینکه چون نمونه ها در عرض ۲۴ ساعت بعد از جمع آوری شسته و آماده نمی‌شوند تخریب آنزیم تلومراز ممکن است مشاهده شود(۲۰).

نتیجه نهائی :

بر اساس این نتایج می توان پیشنهاد کرد که اندازه‌گیری فعالیت آنزیم تلومراز می‌تواند به عنوان یک تست حساس و غیر تهاجمی جهت تشخیص سرطان مثانه باشد و با توجه به حساسیت بالای این تست در تمامی درجات و مراحل مختلف توموری، روش مناسبتری نسبت به روش سیتولوژی ادراری جهت تشخیص سرطان مثانه باشد و این نیازمند بررسی بر روی نمونه های بیشتر می باشد.

سپاسگزاری :

از تشریک مساعی کارکنان بخش پیوند کلیه بیمارستان امام خمینی ارومیه و نیز آزمایشگاه تخصصی و فوق تخصصی پاتوبیولوژی مرکزی دانشگاه علوم پزشکی تبریز برای تمهید مقدمات این پژوهش قدردانی می شود.

منابع :

1. Campbell FM, Walsh CP, Retic BA. Urothelial Tumors: Etiology, Natural History, Pathology, Detection and Staging. Campbell's urology. 8th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2002
2. Brown FM. Urine cytology. It is still the gold standard for screening? Urol Clin North Am 2000; 27(1):25-37.
3. Harley CB: Telomere Loss: mitotic clock or genetic time bomb? Mutat Res 1991; 256 (2-6):271-82.
4. Yoshida K, Sugino T, Tahara H, Woodman A, Bolodeoku J, Nargund V, et al. Telomerase activity in bladder carcinoma and its implication for non-invasive diagnosis by detection of ex-foliated cancer cells in urine. Cancer 1997; 79(2):362-9.

5. Kinoshita H, Ogawa O, Kakehi Y, Mishina M, Mitsumori K, Itoh N, et al. Detection of telomerase activity in exfoliated cells in urine from patients with bladder cancer. J Natl Cancer Inst 1997; 89(10):724-30.
6. Blackburn EH. Telomeres and telomerase: their mechanisms of action and the effects of altering their functions. FEBS Lett 2005; 579(4): 859-62.
7. Ahmed A, Tollefsbol TO. Telomerase, telomerase inhibition, and cancer. J Anti Aging Med 2003; 6(4):315-25.
8. Smogorzewska A, de Lange T. Regulation of telomerase by telomeric proteins. Annu Rev Biochem 2004; 73: 177-208.
9. Muller M. Telomerase: its clinical relevance in the diagnosis of bladder cancer. Oncogene. 2002; 21(4):650-5.
10. Altshuler ML, Severin SE, Glukhov AI. The tumor cell and telomerase. Biochemistry(Mosc)2003;68(12):1275-83.
11. Papanicolaou NG. A new procedure for staining vaginal smears. Science, 1942, 5: 432.
12. Holt SE, Norton JC, Wright WE, Shay JW. Comparison of the telomeric repeat amplification protocol (TRAP) to the new TRAP-eze telomerase detection kit. Methods in Cell Science 1996; 18:237-248
13. Bradford MM. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Anal. Biochem 1976; 72:248-254.
14. Ash JE. Epithelial tumors of the bladder. J Urol 44:135-145, 1940.
15. Kavaler E, Landman J, Chang Y, Droller MJ, Liu BC: Detecting human bladder carcinoma cells in voided urine samples by assaying for the presence of Telomerase activity. Cancer 1998; 82:708-714.
16. Ramakumar S, Bhuiyan J, Besse JA, Roberts SG, Wollan PC, Blute ML et al: Comparison of screening method in detection of bladder cancer. J urol 1999; 161(2): 388-394.
17. Yang SC, Lee DH, Hong SJ, Chung, BH, Kim IY. Telomerase Activity a potential marker of bladder Transitional cell carcinoma in bladder washes. Yonsei med J 1997; 38(3): 155-159.
18. Dalbagni G, Han W, Zhang ZF, Cordon-Cardo C, Saigo P, Fair WR, et al: Evaluation of the Telomeric repeat Amplification protocal (Trap) assay for Telomerase as a diagnostic modality in recurrent bladder cancer clin cancer Res 1997; 3: 1593-98.
19. Heine B, Hummel M, Muller M, Heicappell R, Miller K, Stein H. Nonradioactive measurement of telomerase activity in human bladder cancer, bladder washings, and in urine. J Pathol 1998; 184(1):71-6.
20. Liu BCS and Loughlin KR. Telomerase in human bladder cancer. Urologic Clinics of North America 2000; 27: 115-123.