

نشریه فارماکوژنومیک

وفناوری‌های
امیکس



فصلنامه پزشکی / سال چهارم / شماره دوازدهم / قیمت: ۱۵۰۰۰۰ ریال / تابستان ۱۴۰۱ - شماره شاپا ۷۲۳۶-۲۶۷۶



ژنوم شما بر نحوه پاسخگویی به داروها مؤثر است.



صاحب امتیاز:

شرکت دانش بنیان گروه توسعه فناوری پزشکی آمیتیس ژن

مدیر مسئول: دکتر رویا امیری نژاد

سرمدیر: مهندس سیده نیره مصلحی

مدیر اجرایی و طراح: فاطمه محمدی پور

طراح: فاطمه محمدی پور

صفحه آرا: فریبا دولت آبادی

ویراستاری و ارزیابی مقالات: زهرا انتشاری

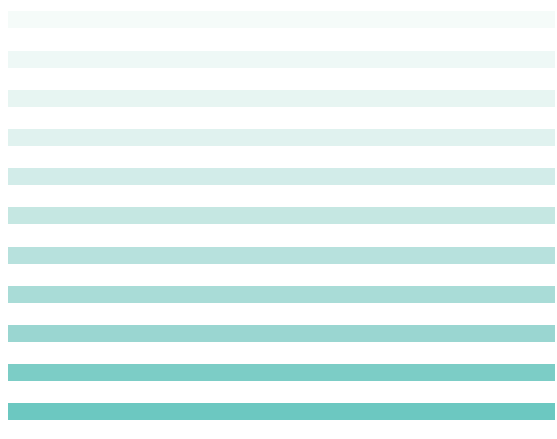
اعضای هیئت تحریریه در کارگروه ها (به ترتیب حروف الفبا):
دکتر محمدرضا اکبری، دکتر ملیحه انتظاری،
دکتر ناصر پارسا، دکتر سلام حیدری نژاد، دکتر عادل
حیدری نژاد، دکتر علی اصغر رحیمی، دکتر رضا رفوگران،
دکتر ندا سرای گرد افشاری، دکتر حسن سعادت، دکتر رضا
شیرکوهی، دکتر محمد علی صارمی، دکتر جمشید مولایی،
دکتر بهار نقوی، دکتر رضا نکوئیان، دکتر مجید نیک پی،
دکتر سید مسعود هوشمند، دکتر محمود یعقوبی

شماره تماس: ۸۸۹۸۵۲۹۳ (۰۲۱)

آدرس: تهران، ابتدای خیابان ایتالیا، پلاک ۲، طبقه ۱، واحد ۱

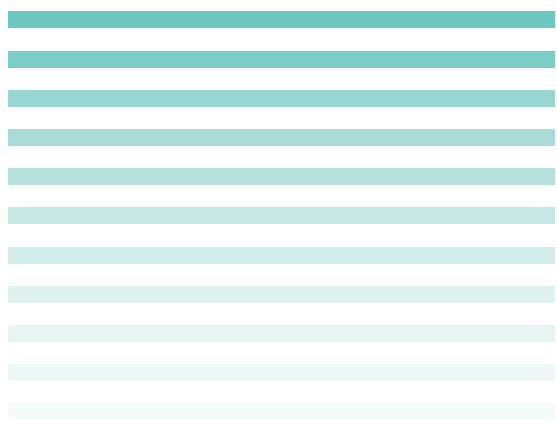
وب سایت: WWW.PGOTjournal.com

ایمیل: info@PGOTJournal.com



فهرست مطالب:

- ۴ طبقه بندی مولکولی جدید برای هدایت استراتژی های پزشکی دقیق در سندرم شوگرن اولیه
- ۲۴ نقشه ی راه ایمونولوژی شخصی
- ۴۲ نقشه برداری از معماری ژنتیک انسانی در رابطه با بیماری COVID-19
- ایجاد چشم اندازهای جدید برای تحقیقات حوزه ی آرتریت روماتوئید با استفاده از روش های
- ۵۰ فلوسایتومتری عملکردی مبتنی بر خون کامل
- ۶۰ تصمیم گیری مشترک در سلامت روان: چشم انداز پزشکی شخصی



طبقه‌بندی مولکولی جدید برای هدایت استراتژی‌های پزشکی دقیق در سندرم شوگرن اولیه

خلاصه

در حال حاضر هیچ درمان تایید شده‌ای برای سندرم شوگرن اولیه وجود ندارد. این بیماری عمدتاً زنان بالغ را تحت تاثیر قرار می‌دهد. مشکل توسعه درمان‌های موثر تا حدودی به دلیل ناهمگونی در تظاهرات بالینی و پاتوفیزیولوژی بیماری است. یافتن خصوصیات مولکولی مشترک در میان زیر گروه‌های بیماران می‌تواند باعث بهبود درک ما از علت بیماری شده و توسعه درمان‌های هدفمند را تسهیل کند. در این مطالعه کوهورت مقطعی، یک طبقه‌بندی مولکولی برای بیماران مبتلا به سندرم شوگرن را گزارش می‌کنیم. این طبقه‌بندی بر اساس پروفایل مولتی امیکس نمونه‌های خون از یک گروه اروپایی متشکل از بیش از ۳۰۰ بیمار و تعداد یکسانی از افراد سالم با پراکندگی سن و جنس مشابه، ایجاد شد. با استفاده از داده‌های رونویسی، ژنومی، اپی ژنتیکی، بیان سیتوکین و فلوسایتومتری، همراه با پارامترهای بالینی، ما چهار گروه از بیماران را با الگوهای مشخصی از اختلالات ایمنی شناسایی کردیم. بیومارکرهایی که ما شناسایی کردیم می‌توانند در آینده توسط یادگیری ماشین برای دسته‌بندی بیماران در زیر گروه‌های مختلف استفاده شوند و امکان ارزیابی مجدد پاسخ‌ها به درمان‌ها در کارآزمایی‌های بالینی را فراهم کنند.

مقدمه

سندرم شوگرن اولیه (pSS) یک بیماری خودایمنی سیستمیک مزمن، ناتوان کننده و پیچیده است که بیشتر، زنان بالغ را تحت تاثیر قرار می‌دهد



فاطمه محمدی پور^۱

۱- کارشناسی بیوتکنولوژی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
پژوهشگر مرکز تحقیقات پزشکی شخصی آمیتیس زن



هستند، بنابراین تغییر قابل توجهی در سیر طبیعی خود در مورد شروع، انتشار و شعله‌ور شدن آن‌ها نشان می‌دهند.

مطالعه‌ی حاضر به منظور ایجاد یک طبقه‌بندی مولکولی دقیق از بیماران مبتلا به pSS به دسته‌های همگن‌تر (صرف نظر از فنوتیپ بیماری، فعالیت یا درمان آن‌ها) انجام شد. در اینجا ما در مورد پروفایل مولکولی یکپارچه ۳۰۴ بیمار pSS در مقایسه با ۳۳۰ داوطلب سالم همسان (HV) به دست آمده توسط داده‌های مولتی امیکس با توان بالا در پروژه PRECISESADS IMI JU را گزارش می‌کنیم (ژنتیک، اپی ژنومیک، ترانسکریپتومیک، همراه با داده‌های فلوسایتومتری، سیتوکین‌های مالتی پلکس، و همچنین سرولوژی کلاسیک و داده‌های بالینی). در این مطالعه چهار گروه از بیماران را با الگوهای مشخصی از اختلالات سیستم ایمنی شناسایی شد. خوشه ۱ C3، C1 و C4 IFN بالایی را نشان می‌دهد که منعکس‌کننده درگیری پاتولوژیک مسیر IFN با غنی‌سازی‌های مختلف ژن IFN نوع I و II ژن IFN است. C1 دارای قوی‌ترین امضای IFN با غنی‌سازی ژن نوع I و نوع II در مقایسه با C3 (متوسط) و C4 (پایین تر) است. C4 دارای غنی‌سازی ژن نوع II بیشتر از نوع I و معادل C3 است، در حالی که C3 دارای ترکیب مخالف است. C2 دارای یک بیان ضعیف IFN نوع I و نوع II بدون مشخصات قابل تشخیص آشکار دیگری نسبت به HV است. ما بیشتر C3، C1 و C4 را با استفاده از داده‌های مولتی امیکس و بالینی مشخص کردیم. بیماران C1 شیوع بالایی از SNP‌ها را نشان می‌دهند، بیماران C3 درگیری جزء سلول B برجسته‌تر از سایر خوشه‌ها و عمدتاً افزایش فراوانی سلول‌های B در خون هستند.

در مقابل، بیماران C4 دارای خصوصیات التهابی هستند که توسط مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها و وضعیت متیلاسیون نابجا هدایت می‌شود. الگوریتم‌های مشتق شده از یادگیری ماشینی، ۴ خوشه را بر اساس بیومارکرهای مختلف متمایز می‌کنند که می‌توانند به راحتی در یک مدل ترکیبی برای طبقه‌بندی بیماران در آزمایشات بالینی استفاده شوند. این مدل ترکیبی با استفاده از یک گروه اولیه مستقل از ۳۷

و هنوز درمان خاصی ندارد. اگرچه درگیری غدد بزاقی و اشکی علامت بارز این بیماری است، در طول پیشرفت pSS، اندام‌ها و سیستم‌های مختلفی از جمله مفاصل، ریه‌ها، کلیه‌ها، کبد، سیستم عصبی و اسکلتی عضلانی نیز می‌توانند درگیر شوند. بنابراین، طیف بالینی بیماری شامل غده‌ی درون‌ریز خوش‌خیم تا یک اختلال سیستمیک شدید با ناهمگنی علائم قابل توجه و عوارض پراکنده متغیر است. تشخیص pSS بر اساس ترکیبی از پارامترهای بالینی، سرولوژیکی، بافت‌شناسی و عملکردی است که اغلب تنها در مراحل پایانی بیماری، یعنی زمانی که اختلال عملکرد غدد و علائم به شدت بر کیفیت زندگی کلی بیمار تأثیر می‌گذارد، صورت می‌گیرد. علاوه بر این، یک پنجم بیماران pSS ممکن است درگیری اندام مرکزی با آسیب بالقوه شدید اندام انتهایی را نشان دهند و پنج درصد از بیماران نیز ممکن است به لنفوم غیر هوچکین مبتلا شوند. pSS یکی از معدود بیماری‌های اولیه است که خودایمنی، توسعه سرطان و عفونت‌ها را به هم مرتبط می‌کند و بینش منحصر به فردی را در مورد بسیاری از علوم پایه و حوزه‌های پزشکی بالینی ارائه می‌دهد. با این حال، پاتوژنز بیماری میهم باقی مانده است. به طور خاص، دانش محدود از انواع بیماری pSS موجود مسلماً بزرگترین مانع برای بهبود تشخیص بیماران و شناسایی زیرمجموعه‌های بیماران با توجه به طبقه بندی اولیه و درمان شخصی شده است. اخیراً در پروژه PRECISESADS IMI JU نشان داده شد که بیماری‌های خودایمنی سیستمیک طیف متنوع و یک فنوتیپ مولکولی پیچیده یا همپوشانی را با چهار خوشه شناسایی شده نشان می‌دهند که نشان‌دهنده الگوهای «inflammatory»، «interferon»، «lymphoid» و «healthy-like» هستند. که هر کدام شامل تمام تشخیص‌ها می‌شود و با ویژگی‌های ژنتیکی، بالینی، سرولوژیکی و سلولی تعریف می‌شود. بسیاری از آن‌ها ژن‌های مشترک دارند و بیان بیش از حد ژن‌های القایی اینترفرون (IFN) معروف به امضای IFN در بسیاری از این بیماران مشاهده می‌شود. چنین بیماری‌های خودایمنی تحت تأثیر عوامل محیطی متعددی

بیمار PSS تایید شده است. در نتیجه، این کار درک روشنی از ناهمگنی PSS ارائه می‌کند، و امضاهای مرتبط بالینی و ایمنی را برای هدایت استراتژی‌های پزشکی دقیق ارائه می‌کند. تصمیم‌گیری مبنی بر این طبقه بندی بیماران بلافاصله برای ارزیابی مجدد پاسخ‌های درمانی در کارآزمایی‌های بالینی اعمال می‌شوند.

نتایج

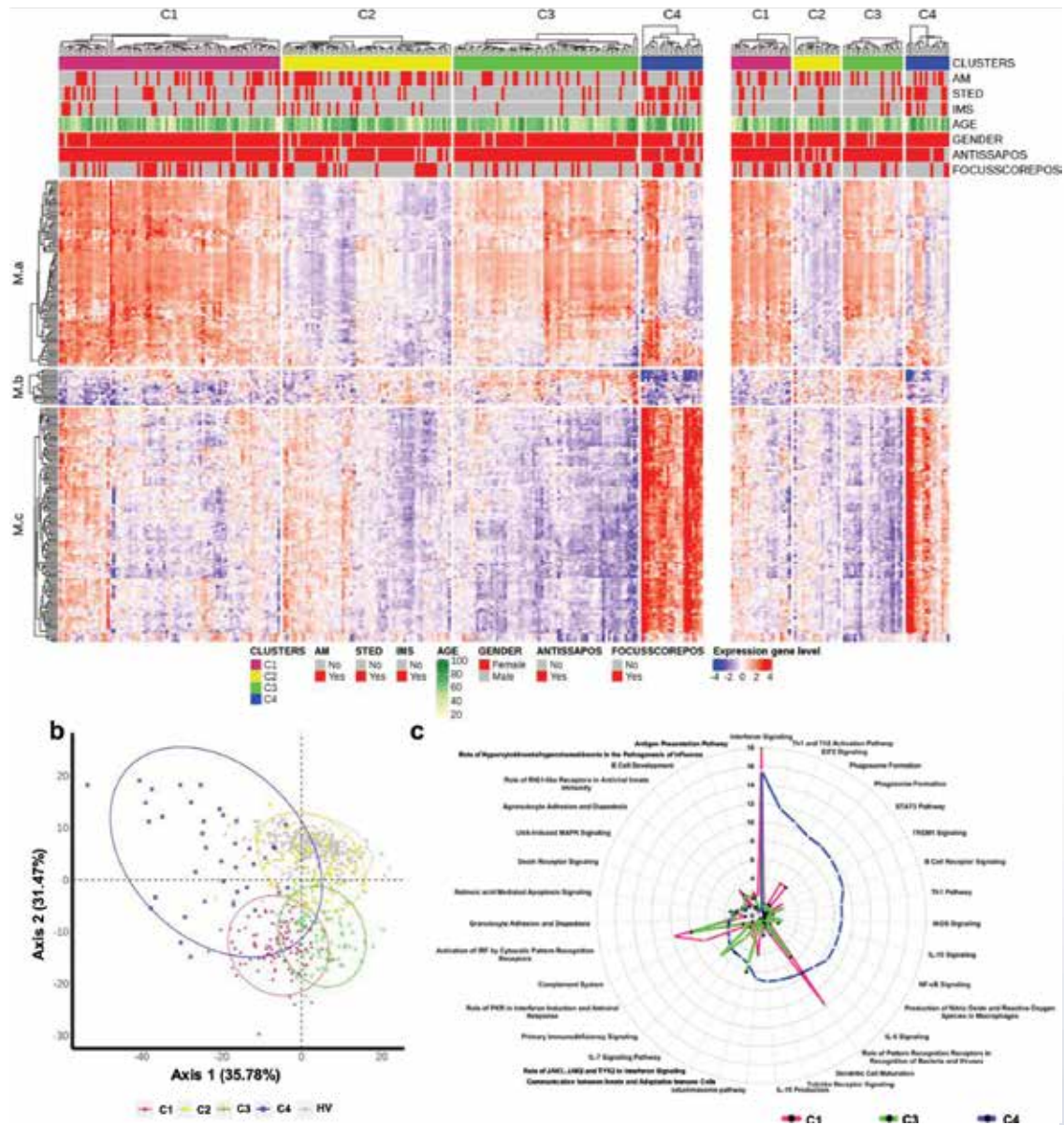
شناسایی چهار خوشه مولکولی عملکردی از بیماران PSS

جمعیت مطالعه اولیه ما که در مطالعه مقطعی PRECISESADS ثبت نام کردند شامل ۳۸۲ بیمار PSS بود. پس از کنترل کیفیت کامل و تایید تشخیص (هر بیمار باید آنتی‌بادی ضد SSA/Ro یا سیالانیت لنفوسیتی کانونی را با امتیاز تمرکز ≤ 1 کانون در میلی‌متر مربع ارائه می‌کرد)، ۷۸ بیمار حذف شدند. ویژگی‌های بیماران در جدول ۱ ارائه شده است. برای خوشه بندی ۳۰۴ نمونه باقیمانده، داده‌های ترنسکریپتومیکس با یک رویکرد قوی نیمه نظارتی که قبلاً برای سرطان پستان اعمال شده بود، آنالیز شد. نمونه‌ها به یک مجموعه کشف و

یک مجموعه اعتبارسنجی تقسیم شدند که ۷۵٪ و ۲۵٪ از قطعات را نشان می‌دهد. مجموعه اکتشاف برای خوشه‌ای از بیماران در چهار گروه، همانطور که در مجموعه اعتبارسنجی تایید شد (شکل ۱a) اجازه داد. هنگامی که دو مکان ادغام شدند، خوشه ۱ (C1) شامل ۱۰۱ بیمار (۳۳.۲٪)، خوشه ۲ (C2) ۷۷ بیمار (۲۵.۳٪)، خوشه ۳ (C3) ۸۸ بیمار (۲۸.۹٪) و خوشه ۴ (C4) ۳۸ نفر (۱۲.۵٪) بود. مرحله نظارت امکان انتخاب زیرمجموعه‌ای از ۲۵۷ ژن برتر را فراهم می‌کند که ۴ خوشه از بیماران را متمایز می‌کند و به سه ماژول تقسیم می‌شود: M.a (۱۰۵) ژن، M.b (۲۰) ژن و M.c (۱۳۲) ژن. آنالیز غنی‌سازی برای تفسیر هر یک از ماژول‌های ژنی مورد استفاده قرار گرفت، که نشان داد M.a در سیگنال دهی IFN، M.b در مسیرهای دودمان لنفاوی و M.c در رونوشت‌های دودمان التهابی و میلوئیدی غنی شده است. C1، و تا حدی کمتر، C3، بیان بیش از حد ماژول ژن M.a را نشان داد، در حالی که C3 بیان بیش از حد M.b را نیز نشان داد و C4 بیان بیش از حد قوی M.c را نشان داد (شکل ۱a). از آنجایی که C2 هیچ الگوی قابل تشخیص آشکاری نداشت، داوطلبان سالم (HV) به فاصله چهار خوشه مولکولی تا مرکزها اختصاص داده شدند (شکل ۱b). هنگامی که در جمعیت بیمار پیش‌بینی شد، HV یک خوشه جداگانه تشکیل نمی‌داد، بلکه عمدتاً با C2 مطابقت داشت (به ترتیب ۰.۵٪، ۹۳٪، ۴٪ و ۲.۵٪ HV با C1، C2، C3 و C4 ادغام شدند). این بدان معنی است که امضای ترنسکریپشنال C2 حداقل در سطح خون متفاوت از HV نیست. جالب توجه است، داده‌های ما با مشاهدات قبلی یک گروه بیمار مشابه سالم که در یک جمعیت تلفیقی از ۷ بیماری خودایمنی مختلف شناسایی شده بود، مطابقت دارد.



جدول ۱ - داوطلبان سالم (HV) و ویژگی‌های بیمار با سندرم شوگرن اولیه (pSS).						
pSS All (N = 304)	pSS Validation (N = 77)	pSS Discovery (N = 227)	HV (N = 330)			
						دموگرافی
304	77	227	330	n		سن
58.401 ± 13.448	58.039 ± 13.554	58.524 ± 13.440	53.294 ± 10.998	Mean ± SD		
304	77	227	330	n		جنسیت
282 (92.76)	71 (92.21)	211 (92.95)	302 (91.52)	n (%)	زن	
292	74	2108	238	n		چاقی (BMI >= ۳۰)
33 (11.30)	3 (4.05)	30 (13.76)	24 (7.27)	n (%)	بله	
304	77	227	330	n		نژاد
2 (0.66)	1 (1.30)	1 (0.44)	2 (0.61)	n (%)	آسیایی	
1 (0.33)	1 (1.30)	-	-	n (%)	سیاه پوست / آفریقایی آمریکایی	
298 (98.03)	74 (96.10)	224 (98.68)	328 (99.39)	n (%)	قفقازی / سفید	
3 (0.99)	1 (1.30)	2 (0.88)	-	n (%)	باقی	
						معیارهای تشخیصی
109	27	82	-	n		امتیاز تمرکز < ۱
97 (88.99)	24 (88.89)	73 (89.02)	-	n (%)	بله	
304	77	227	-	n		ضد SSA مثبت
274 (90.13)	69 (89.61)	205 (90.30)	-	n (%)	بله	
						فعالیت بیماری
302	77	225	-	n		مدت بیماری، سال
10.866 ± 8.101	11.094 ± 9.620	10.788 ± 7.535	-	میانگین ± SD		
286	75	22=11	-	n		فعالیت بیماری (PGA*)
25.465 ± 19.488	24.840 ± 20.984	25.687 ± 18.976	-	میانگین ± SD		
193	60	133	-	n		ESSDAI (**)
4.684 ± 5.388	4.850 ± 5.495	4.609 ± 5.358	-	میانگین ± SD		
150	44	106	-	n		ESSPRI (**)
4.998 ± 2.405	4.568 ± 2.648	5.176 ± 2.286	-	میانگین ± SD		
n: تعداد بیماران با اطلاعات موجود. (*): PGA: ارزیابی کلی پزشک. (**): در یک مطالعه فرعی جمع آوری شده است.						



شکل ۱: توزیع الگوی مولکولی توسط ۴ خوشه از بیماران pSS با مسیرهای متعارف مختلف نشان داده شده است.

(a) نقشه حرارتی برای ۳۰۴ بیمار pSS (مجموعه کشف: ۲۲۷، مجموعه اعتبارسنجی: ۷۷) انجام شد که توزیع ترنسکریپتوم ژن را در ۴ خوشه نشان می‌دهد. در ستون‌ها، بیماران با انتساب خوشه‌ای و در ردیف‌ها زن‌ها بر اساس مازول‌های عملکردی گروه‌بندی می‌شوند. هر زیر مجموعه از بیماران (مجموعه کشف در سمت چپ و مجموعه اعتبارسنجی در سمت راست) به طور جداگانه ارائه می‌شود. قرمز نشان دهنده بیان بیش از حد و آبی نشان دهنده کم بیانی است. تفسیر در بالای شکل نشان می‌دهد: هر یک از گروه‌های درمانی برای هر فرد (AM): ضد مالاریا، STED: استروئیدها و IMS: سرکوبگرهای ایمنی؛ قرمز نشان دهنده بیماران تحت درمان و خاکستری نشان دهنده بیماران بدون درمان، سن (سطوح زرد تا سبز). با زرد برای بیماران جوان‌تر و سبز تیره برای بیماران مسن‌تر، جنسیت (قرمز نشان دهنده زن و خاکستری نشان دهنده مرد)، ANTISSAPOS: آنتی‌بادی ضد ۱ کانون/۲mm (است. b). نمودار پراکندگی دو جزء اول PCA (که برای ۳۰۴ بیمار pSS و ۳۳۰ HV انجام شد) که خوشه‌های مشخصی را در ژن امضا نشان می‌دهد. HV (نقطه خاکستری) با خوشه C2 (نقطه زرد) اشتباه گرفته می‌شود. ۲۰ مسیر متعارف مهم برای هر خوشه، نمودارهای رادار بر اساس $-\log(p\text{-value})$ (آزمون دقیق فشر) مرتبط با مهم‌ترین مسیرهای هر خوشه نشان داده می‌شوند. C1 (صورتی)، C3 (سبز)، C4 (آبی).



غنی شد. فعال سازی فاکتور (IRF) قابل توجه، C3 و C4 بیشتر با تغییرات در شبکه‌های بیولوژیکی مرتبط با ایمنی تطبیقی مشخص شدند. به طور خاص، فعال شدن قابل توجه مسیرهای متعارف مربوط به فعال سازی سلول B مانند سیگنال دهی گیرنده سلول B، و توسعه سلول B در C3 مشاهده شد. علاوه بر این، آنالیزهای مقایسه‌ای شواهدی برای تنظیم بالا سیگنالینگ IL7 و فعال سازی LXR/RXR در C3 در مقایسه با C1 ارائه کردند.

جالب توجه است، C4 اندوتیپ با بیشترین تعداد DEG در مقایسه با HV با مسیرهای متعارف بسیار نااهنگ بود. آنالیز مسیر ابتکاری فعال شدن مسیرهای مربوط به لنفوسیت‌های T و B را تایید کرد که منعکس کننده فعال سازی Th1 و Th2، سیگنال دهی گیرنده سلول B، همراه با علائم التهابی برجسته است که به ویژه با سیگنال دهی سیتوکین مرتبط است (IL-6 و IL-10 سیگنالینگ، تولید IL-15، مسیر STAT-3).

آنالیز بیشتر تنظیم کننده بالادستی فعال شدن قابل توجه IFN- α را در هر سه خوشه، و همچنین CpG ODN در C3 و TNF- α ، IFN γ ، LPS، و IL-4 در C4 را پیش‌بینی کرد، که فعالیت سلول B و پاسخ‌های التهابی را به ترتیب در C3، C3، و C4 برجسته‌تر کرد. در حالی که C2 هیچ DEG را در مقایسه با HV نشان نداد، ۱۴ ژن در بیماران C2 به طور متفاوتی برای آنتی‌بادی‌های SSA در مقایسه با HV مثبت بیان شد در حالی که تنها ۲ DEG در بیماران C2 SSA منفی یافت شد. این بیماران C2 مثبت SSA با غنی‌سازی قابل توجهی در ژن‌های مرتبط با IFN در مقایسه با HV از جمله، IFI144، IFI44L، IFI16، IFIFT1، IFIT3، ISG15، MX1، OAS3، SERPING1 و SIGLEC1 مشخص شدند.

برای مشخص کردن بیشتر تنوع خوشه‌ای بیماران در سطح مولکولی، ما از مجموعه مدولار رونوشت خون که اخیراً بر روی طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها و وضعیت‌های پاتولوژیک ایجاد شده است، استفاده کردیم. مورد دوم شامل ۳۸۲ ماژول ترنسکرپتوم بر اساس الگوهای بیان مشترک ژن در ۱۶ بیماری و ۹۸۵ پروفایل رونوشت منحصر به فرد است. باز هم، هیچ تجمعی به طور متفاوت در C2 یافت نشد که پروفایل سالم مانند این بیماران را تایید کند، در حالی که یک امضای IFN

سپس ارزیابی کردیم که آیا متغیرهای کمکی مانند درمان‌های سیستمیک می‌توانند خوشه‌بندی مبتنی بر ترنسکرپتوم را هدایت کنند یا خیر. در واقع، نیمی از بیماران PSS در زمان ویزیت با داروهای ضد مالاریا، سرکوب‌کننده‌های ایمنی یا استروئیدها تحت درمان قرار گرفتند که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در توزیع بین چهار خوشه وجود داشت (p-value برای ضد مالاریا به ترتیب ۰.۰۰۲ بود، ۰.۰۰۱ < برای سرکوب‌کننده‌های ایمنی و استروئیدها) (جدول ۲). در مقایسه با ۳ خوشه دیگر، نسبت بیشتری از بیماران تحت درمان با داروهای ضد مالاریا در C2 و نسبت بیشتری از بیماران دریافت کننده سرکوب‌کننده‌های ایمنی یا استروئیدها در C4 مشاهده شد. مهمتر از همه، آنالیز حساسیت بیماران تحت درمان در مقابل بیماران درمان نشده در هر خوشه هیچ تاثیری از درمان‌ها بر توزیع خوشه نشان نداد.

آنالیز دقیق مسیر عملکردی خوشه‌های pSS فردی

برای بررسی فرآیندهای مولکولی و عملکرد بیولوژیکی آنها در زیربنای هر یک از خوشه‌های بیماران pSS، امضاهای ژن‌های بیان شده متفاوت (DEG) در مقایسه با HV با استفاده از Limma در ۴ خوشه ارزیابی شد. متعاقباً از آنالیز مسیر هوشمندی (IPA) برای تعیین مسیرهای متعارف بی‌نظم قابل توجهی با مقدار p تنظیم‌شده بنجامینی-هوخرگ $0.05 \leq (FDR)$ و تغییر برابر مطلق $1.5 \geq (FC)$ استفاده شد. در نتیجه، ۲۸۴ درجه در C1، ۳۰۱ درجه در C3 و ۱۶۸۶ درجه در C4 معنی‌دار بود.

از آنجایی که هیچ DEG در C2 در مقایسه با HV مشاهده نشد، تنها C1، C3 و C4 از نظر عملکردی تفسیر شدند. ۲۰ مسیر متعارف مهم در هر امضای DEG ارائه شده‌اند و مسیرهای مربوط به پاسخ‌های ایمونولوژیکی غنی‌شده‌تر به‌عنوان نمودارهای راداری در شکل ۱c گزارش شده‌اند. در حالی که هر ۳ خوشه در ژن‌های دخیل در پاسخ‌های ضدویروسی و ضدباکتریایی غنی شده بودند که نشان‌دهنده یک پروفایل فعال‌سازی با واسطه ذاتی است، C1 عمدتاً با مسیرهای مرتبط با IFN از جمله سیگنال‌دهی IFN، نقش گیرنده‌های تشخیص الگو برای باکتری‌ها و ویروس‌ها و تنظیم کننده اینترفرون



جدول ۲ آنالیز توصیفی پارامترهای بالینی توسط خوشه سندرم شوگرن اولیه.							
p-value	C4 (n=38)	C3 (n=88)	C2 (n=77)	C1 (n=101)			
	38	88	77	101	n		سن و سال
0.10	63.105 ± 14.790	57.250 ± 12.032	58.805 ± 13.688	57.327 ± 13.705	میانگین ± SD		
	38	88	77	101	n		جنسیت
0.70	34 (89.47)	81 (92.05)	71 (92.21)	96 (95.05)	n (%)	زن	
	37	88	76	101	n		سن شروع، سال
0.071	51.739 ± 16.053	47.606 ± 12.687	50.428 ± 14.532	45.663 ± 14.475	میانگین ± SD		
	37	88	76	101	n		مدت بیماری، سال
0.02994	12.625 ± 8.52	10.183 ± 7.210	8.965 ± 7.336	12.247 ± 8.921	میانگین ± SD		
	36	85	71	94	n		فعالیت بیماری (PGA)*
0.092	31.556 ± 20.646	23.212 ± 18.766	22.718 ± 17.698	27.245 ± 20.535	میانگین ± SD		
	27	44	52	70	n		ESSDAI
0.10	6.370 ± 6.828	4.227 ± 4.017	3.731 ± 4.594	5.029 ± 5.959	میانگین ± SD		
	21	30	43	56	n		ESSPRI
0.87	4.937 ± 1.803	5.300 ± 2.703	5.031 ± 2.429	4.833 ± 2.460	میانگین ± SD		
	38	86	77	98	n		آرتروز
0.016	12 (31.58)	20 (23.26)	18 (23.38)	39 (39.80)	n (%)	گذشته	
	5 (13.16)	4 (4.65)	3 (3.90)	2 (2.04)	n (%)	حال حاضر	
	14	21	29	96	n		امتیاز تمرکز < ۱
0.4	12 (85.71)	17 (80.95)	28 (96.55)	39 (40.63)	n (%)	بله	
	38	88	77	101	n		ضد SSA مثبت
<0.001	31 (81.57)	87 (98.86)	56 (72.72)	99 (99.00)	n (%)	بله	
	38	86	77	100	n		
<0.001	11 (28.95)	39 (45.35)	12 (15.58)	61 (61.00)	n (%)	بله	
					n		
					n (%)	بله	
	38	86	73	97	n		هیپرگاماگلوبولینمی
<0.001	3 (7.89)	9 (10.47)	8 (10.96)	23 (23.71)	n (%)	گذشته	
	7 (18.42)	41 (47.67)	10 (13.70)	44 (45.36)	n (%)	حال حاضر	



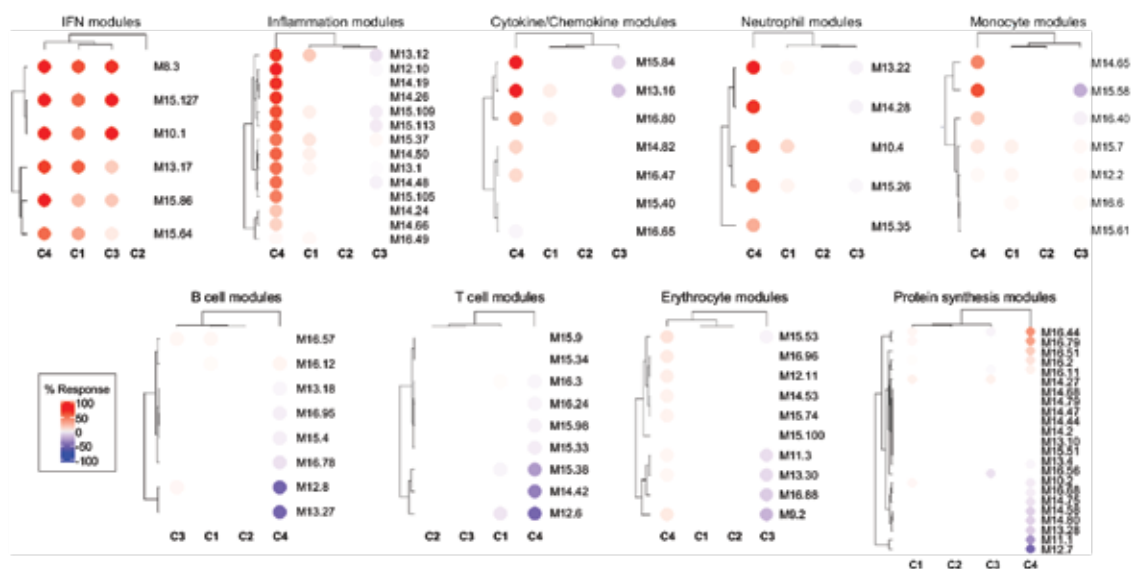
جدول ۲ آنالیز توصیفی پارامترهای بالینی توسط خوشه سندرم شوگرن اولیه.						
	38	87	77	100	n	شاخص‌های التهابی غیرطبیعی
0.003	12 (31.58)	20 (22.99)	13 (16.88)	28 (28.00)	n (%)	گذشته
	10 (26.32)	22 (25.29)	11 (14.29)	35 (35.00)	n (%)	حال حاضر
	35	82	74	93	n	کاهش سطح C3
0.8	4 (11.43)	11 (13.41)	5 (6.76)	13 (13.98)	n (%)	گذشته
	3 (8.57)	5 (6.10)	4 (5.41)	7 (7.53)	n (%)	حال حاضر
	35	82	74	93	n	کاهش سطح C4
0.10	4 (11.43)	9 (10.98)	3 (4.05)	13 (13.98)	n (%)	گذشته
	4 (11.43)	3 (3.66)	3 (4.05)	10 (10.75)	n (%)	حال حاضر
	38	88	77	98	n	کراتینین غیر طبیعی
0.009	2 (5.26)	-	4 (5.19)	10 (10.20)	n (%)	گذشته
	6 (15.79)	7 (7.95)	2 (2.60)	5 (5.10)	n (%)	حال حاضر
n	25	56	58	65	n	پروتئینوری
0.093	3 (12.00)	1 (1.79)	2 (3.45)	5 (7.69)	n (%)	در حد متوسط
	—	3 (5.36)	—	5 (7.69)	n (%)	گذشته
	38	88	77	101	n	استفاده کنونی از داروهای ضد مالاریا
0.002	15 (39.47)	24 (27.27)	42 (54.55)	33 (32.67)	n (%)	بله
	38	88	77	101	n	استفاده فعلی از داروهای سرکوب کننده ایمنی
<0.001	15 (39.47)	7 (7.95)	14 (18.18)	17 (16.83)	n (%)	بله
n	38	88	77	101	n	استفاده کنونی از استروئیدها
<0.001	23 (60.53)	10 (11.36)	14 (18.18)	23 (22.77)	n (%)	بله

n: تعداد بیماران با اطلاعات موجود،
 PGA: Physician Global Assessment(*)
 آزمون‌های آماری انجام شده: آزمون کای دو استقلال برای متغیر طبقه‌بندی و آزمون کروسکال-والیس برای متغیر ادامه.

امضاهای IFN

مطابق با ادبیات، غنی ترین مسیری که به طور قابل توجهی تایید شده است که در هر سه خوشه تنظیم شده است، مسیر سیگنالینگ IFN بود (شکل ۲). در SLE، چیچه و همکاران. قبلاً سه ماژول مشروح M3.4، M1.2 و IFN (M5.12) را از داده های رونوشت خون محیطی شناسایی کرده اند که برای هر ماژول یک آستانه فعال سازی متمایز وجود دارد. ژن های درون ماژول M1.2 توسط IFN α القا می شوند، در حالی که سایر ژن های هر دو M1.2 و M3.4 توسط IFN β تنظیم می شوند، که مربوط به امضای IFN نوع I است. ژن های M5.12 به تنهایی توسط IFN α و IFN β ضعیف القا می شوند، اما توسط IFN γ مشخص کننده امضای IFN نوع II تنظیم می شوند. علاوه بر این، ترنسکریپتوم متعلق به M3.4 و M5.12 تنها به طور کامل توسط ترکیبی از IFN های نوع I و نوع II القا شدند. کپرو و همکاران مشاهدات مشابهی انجام داد و ژن هایی را شناسایی کرد که ترجیحاً توسط IFN α یا IFN γ 12 القا می شوند. سپس امتیازهای Z مختلف بر این اساس برای مشخص کردن بیشتر امضای IFN مشاهده شده در خوشه های مختلف محاسبه شد (شکل ۳). تمام IFN z-نمرات تا حدی در C2 در مقایسه با HV افزایش

تنظیم شده بالا در C1، C3 و C4 غالب بود (شکل ۲). در C4، ماژول های القا شده شامل ژن های مرتبط با التهاب و نوتروفیل ها هستند. به عنوان بالاترین فنوتیپ التهابی، C4 با هیپر سیتوکینمی/هیپر کموکینمی مشاهده شده در ماژول ها (M13.16، M15.84، M16.80) همراه است که با تنظیم مثبت ماژول مرتبط با TNF (M16.47) و کاهش میزان ماژول مرتبط با TGF β (M16.65) (شکل ۲). برخی از ماژول ها کمتر بیان شده بودند، مانند آن هایی که با هر دو سنتز پروتئین (M12.7، M11.1، M13.28، M14.80)، سلول های B (M13.27، M12.8) و سلول های T (M15) مرتبط هستند. ژن هایی که عمدتاً در C1 بیان می شوند نیز در پاسخ های التهابی و نوتروفیل ها (A33، A35)، به موازات امضای سلول های B و T تنظیم شده پایین دخیل بودند. علاوه بر این، ماژول های فرعی مجزا که در جهت های مخالف بیان می شوند، امکان تمایز عملکردی C1 و C3 را فراهم می کنند. بیماران از C3 بیان کمتر قابل توجهی از ماژول های مربوط به گلبول های قرمز (M9.2، M11.3، A37) و سیتوکین ها / کموکین ها (M15.84، M13.16، A35) و افزایش بیان در برخی از سلول های B را نشان دادند.



شکل ۲: الگوهای فراوانی ماژول های مختلف، چهار خوشه pSS را متمایز می کند. هر نقشه حرارتی که با بسته BloodGen3Module R به دست آمد، یکی از مهم ترین الگوهای متمایز کننده چهار خوشه ۳۰۴ بیمار (C1: 101، C2: 77، C3: 88 و C4: 38) pSS را در مقایسه با ۳۳ داوطلب سالم (HV) نشان می دهد. این الگوها با ماژول های مرتبط با IFN، نوتروفیل ها، التهاب، سیتوکین ها/کموکین ها، سنتز پروتئین، گلبول های قرمز، مونوسیت ها، سلول های B و سلول های T مطابقت دارند. ستون های این نقشه حرارتی مربوط به خوشه ها هستند. هر ردیف مربوط به یکی از ماژول های مرتبط با الگو است. برای هر ماژول، درصد افزایش ژن (از ۰ تا ۱۰۰) و ژن کاهش یافته (از ۰ تا -۱۰۰) محاسبه شد. یک نقطه قرمز روی نقشه حرارتی نشان دهنده افزایش فراوانی رونوشت های متشکل از یک ماژول معین برای یک خوشه معین است. یک نقطه آبی نشان دهنده کاهش فراوانی رونوشت ها است. عدم وجود رنگ نشان دهنده عدم تغییر است.

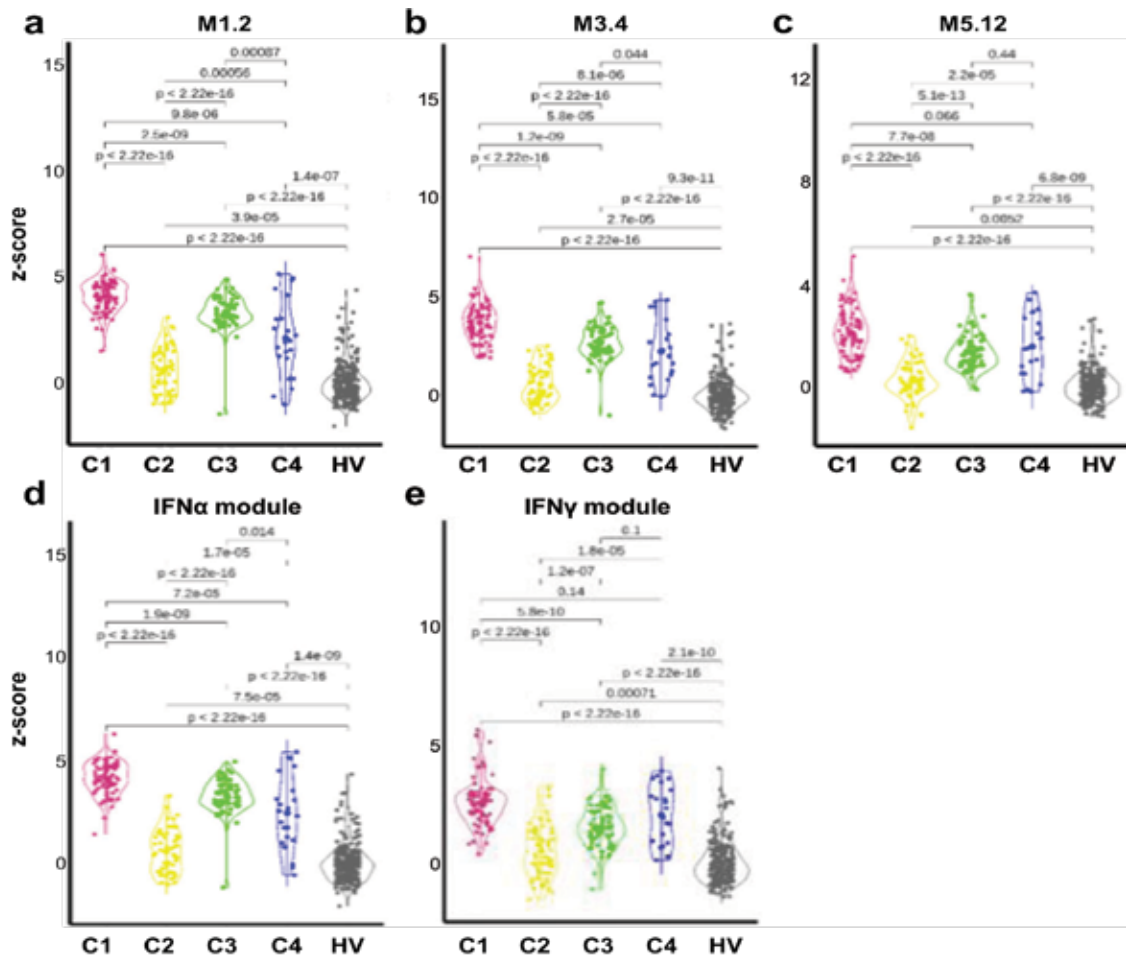


تحلیل شده (pSS ۳۰۴ و HV ۳۳۰)، ما به طور واضح (با سیگنال‌های سطح معنی‌داری گسترده ژنوم 8×10^{-5}) ۳۵ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNPs) در C1 در مقایسه با تنها شش در C3 شناسایی کردیم. و یکی در C4 (شکل ۴a). جالب توجه است که هیچ غنی‌سازی قابل توجهی در C2 یافت نشد. 35 SNP ارزیابی شده در C1 در ژن‌های مرتبط با سیستم ایمنی (HLA-DQB1، HLA-DQA1، HLA-DRA، HLA-C، HLA-G انتقال سیگنال (NOTCH4)، زیست‌شناسی رشدی (POU5F1)، یافت می‌شوند. بیان ژن (DDX39B) یا چرخه سلولی (TUBB). وجود چنین پیوندهای ژنتیکی قابل توجهی قبلاً در خوشه‌هایی از بیماران بیماری

یافت. در راستای سیگنال قوی مشاهده شده، بیماران C1 بالاترین نمرات نوع I و II را داشتند. جالب توجه است که C3 امتیاز IFN نوع I بالاتری نسبت به C4 داشت اما این ۲ خوشه برای نمره IFN نوع II تفاوتی نداشتند. آنالیز بالادست IFN γ DEG C4 را به عنوان یک تنظیم‌کننده مهم پیش‌بینی کرد که نشان می‌دهد فعال سازی IFN نوع II در C4 برجسته بود.

آنالیز مطالعه ارتباط ژنومی

ما بررسی کردیم که آیا خوشه‌ها تفاوت‌هایی را در مشارکت ژنتیکی آل‌های خطر شناخته شده با pSS نشان می‌دهند. حتی در گروه متوسط از بیماران تجزیه و



شکل ۴: خوشه pSS امضای معمولی IFN را مطابق با امتیازهای z مدولار IFN نشان می‌دهند. آنالیز امتیاز IFN برای ۳۰۴ بیمار pSS و ۳۳۰ داوطلب سالم (HV) انجام شد. تقسیم مجدد نمونه‌ها از ۴ خوشه pSS با توجه به مشخص‌ترین امتیازات z ماژول IFN نشان داده شده است. ژن‌های (a) M1.2 توسط IFN α القا می‌شوند، در حالی که ژن‌های (b) M3.4 (ZBP1، IFIH1، EIF2AK2، PARP9 و M3.4) و (c) ژن‌ها (SP140 و PSMB9، NCOA7، TAP1، ISG20) از ماژول M5.12 به تنهایی توسط IFN α و IFN β ضعیف القا می‌شوند در حالی که توسط IFN γ تنظیم می‌شوند. علاوه بر این، رونوشت‌های متعلق به M3.4 و M5.12 تنها به طور کامل توسط ترکیبی از IFN نوع I و نوع II القا شدند. ماژول‌های دیگر ژن‌هایی را که ترجیحاً توسط IFN α (IFIT1، IFI44) (d) یا IFN γ (IRF1، GBP1 یا EIF2AK2) (e) القا می‌شوند شناسایی کردند. (e). نتایج آزمون مجموع رتبه ویلکاکسون جفتی دو دم نشان داده شده است. نمودارها میانه را با نوارهای خط نشان می‌دهند که محدوده بین چارکی را نشان می‌دهد.

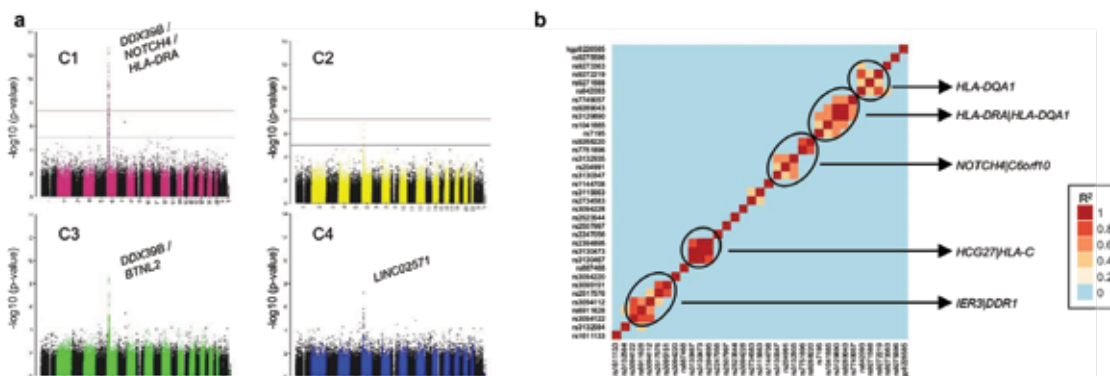
لوکوس NOTCH4|C6orf10 دارای پنج SNP مرتبط (rs3130347، rs204991، rs3132935، rs7751896) و rs9268220) همچنین IER3 | لوکوس DDR1 (rs3094122، rs6911628، rs3094112، rs2517576، rs3095151) را ارائه کرد.

آنالیز متیلاسیون

آنالیز متیلاسیون با بنجامینی هوچبرگ و $FDR < 0.1$ و ΔBeta مطلق > 0.075 انجام شد. تنها دو موقعیت متیله متفاوت (DMPs) مربوط به دو ژن در C2 یافت شد. آن DMPها با ۳ خوشه دیگر مشترک بودند (شکل 5a) و در ساحل $5'UTR$ و در TSS ۱۵۰۰ ژن NLRC5 و در اینترون ۱ کننده MX1، دو ژن درگیر در امضای IFN، قرار داشتند. NLRC5 از طریق مهار فعال شدن NF-kappa-B و تنظیم منفی مسیرهای سیگنالینگ نوع I IFN نقش در پاسخ سیتوکین و ایمنی ضد ویروسی ایفا می کند. MX1 یک GTPase دینامیک ناشی از IFN را با فعالیت ضد ویروسی کم می کند که به عنوان یک نشانگر زیستی قابل اجرا بالینی برای شناسایی نوع I IFN سیستم در pSS19 پیشنهاد شده است. ۱۴۵ DMP مربوط به ۸۷ ژن و ۹۶ DMP مربوط به ۵۶ ژن به ترتیب در C1 و C3 یافت شد، در حالی که وضعیت متیلاسیون نابجا با ۸۴۴۵ DMP مربوط به ۳۶۳۶ ژن C4 را مشخص می کند (شکل 5a). به منظور آزمایش اینکه آیا نقص متیلاسیون در C4 با درمان استروئیدی مرتبط است، ما ۹ بیمار درمان نشده را با

خودایمنی سیستمیک که مسیر بیماری مولکولی آنها مسیر IFN نوع I است، مشاهده شده است. علاوه بر این، ارتباط قوی SNPها با ژنهای HLA کلاس II در بیماران SLE با سطح بالایی از آنتی بادیها گزارش شد. یک SNP (rs2734583) با C1 و C3 مشترک بود و با ژن DDX39 مرتبط است. شایان ذکر است، DDX39 پروتئین کدگذاری شده توسط این ژن، برای جلوگیری از تشکیل dsRNA در طول عفونت ویروس آنفلوآنزای A مورد نیاز است و در نتیجه از فعال شدن سیستم IFN نوع I جلوگیری می کند. پنج SNP دیگر در C3 عبارتند از، HLA-DQA، HLA-DRA (2 SNP)، BTNL2 و HCG23. تنها SNP (rs2247056) که در C4 یافت شد، همچنین با C1 مشترک است، در اینترون ۱ ژن LINC02571 قرار دارد و قبلاً با خطر ابتلا به SLE مرتبط بود.

عدم تعادل پیوندی یک ارتباط غیر تصادفی از آللها در جایگاههای مختلف در یک جمعیت معین است. هنگام آنالیز عدم تعادل پیوندی (شکل 4b) در ۳۵ جایگاههای SNP شناسایی شده در C1 و واقع در کروموزوم ۶ (از پایه ۹۳۶۲۰۹۸ تا ۳۲۶۸۱۶۳۱)، سه SNP به شدت در مکان HLA-DQA1 (rs919,29,29,29,2927rs) مرتبط بودند. پنج SNP در لوکوس HLA-DQA1|HLA-DRA (rs7195، rs1041885، rs3129890، rs9269043، rs7749057) و سه SNP در لوکوس HCG27|HLA-C (rs3130473، rs2394895 و rs3130467). دو منطقه دیگر حاوی SNPهای مرتبط قوی هستند.

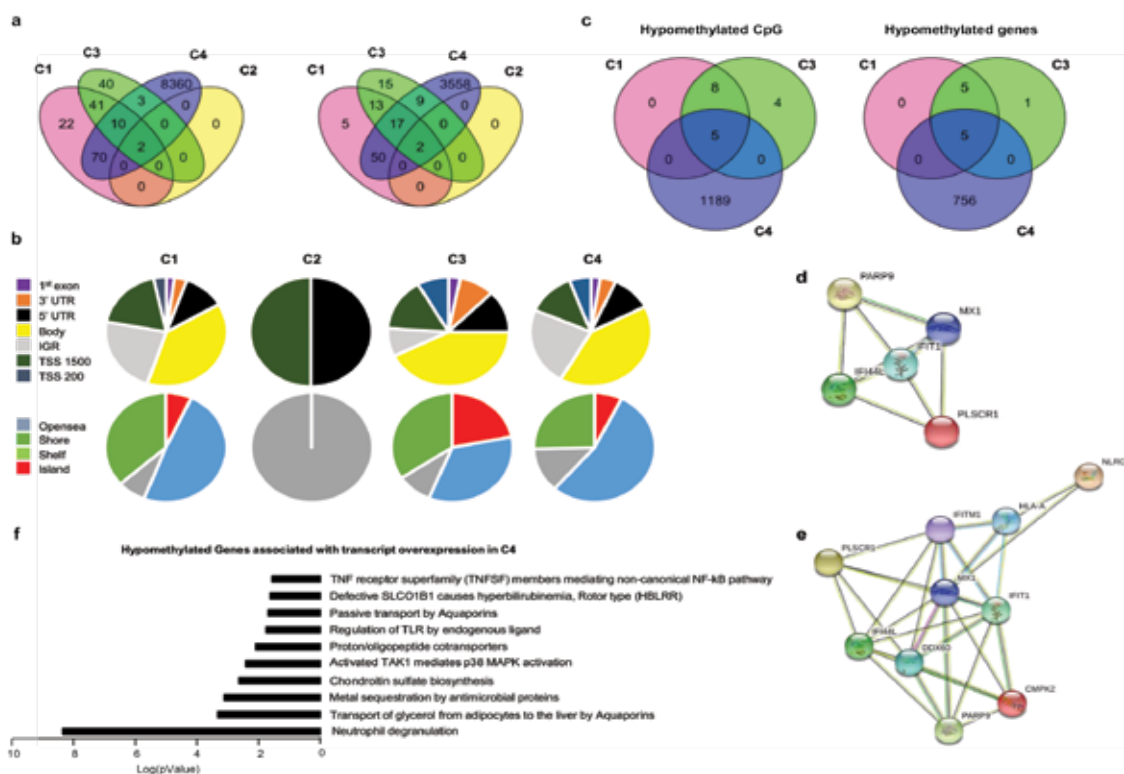


شکل ۴: تجزیه و تحلیل ارتباط ژنومی خوشه ای (GWAS)، آنالیز GWAS با استفاده از Plink، یک مجموعه ابزار آنالیز انجمن کل ژنوم منبع باز، با استفاده از رگرسیون لجستیک برای (C1: 101، C2: 77، C3: 88 و C4: 38) و هر خوشه با HV مقایسه شد. یک نمودار منهن برای هر خوشه نشان داده شده است. b آنالیز عدم تعادل پیوندی در جایگاههای ۳۵ SNP شناسایی شده در C1 و واقع در کروموزوم ۶ از پایه ۹۳۶۲۰۹۸ تا پایه ۳۲۶۸۱۶۳۱. ضریب همبستگی R^2 و نقشه حرارتی عدم تعادل پیوندی به ترتیب با بسته بندی Plink و oncofunco R به دست آمدند. قوی ترین ارتباط بین SNPها مشروح شده است.



تا ۲ کیلوبایت از جزیره CpG)، قفسه ها (مناطق از ۲ تا ۴ کیلوبایت از جزیره CpG) و دریای آزاد (بقیه ژنوم). ۲۱.۸٪ از DMPs برای C3 در جزایر CpG در مقابل ۶.۹٪ و ۷.۴٪ برای C1 و C4، به ترتیب قرار داشتند. برای شناسایی قوی‌ترین و قابل توجه‌ترین علامت ژن‌های هیپو و هیپر متیله، برش ΔBeta را در ۰.۱۵ ثابت کردیم. با توجه به CpG‌های هیپومتیله، 13 DMP در C1، ۱۷ در C3 و ۱۱۹۴ در C4 یافت شد که به ترتیب مربوط به ۱۰، ۱۱ و ۷۶۱ ژن هیپومتیله است. پنج ژن با DMP‌های هیپومتیله در این ۳ خوشه مشترک بودند (PLSCR1 و IFI44L، IFIT1، MX1، PARP9) (شکل ۵c)، که مربوط به ژن‌هایی است که برهمکنش‌های قوی ارائه می‌دهند (شکل ۵d). این ژن‌ها در مقایسه با HV به طور قابل توجهی در C2 هیپومتیله شدند. قابل توجه، ۵ ژن اضافی (HLA-A، DDX60، CMPK2، IFITM1)

۱۷ بیمار تحت درمان مقایسه کردیم. هیچ CpG با مقدار p تنظیم شده بنجامینی-هوشبرگ $FDR < 0.1$ به طور متفاوت در بیماران درمان شده در مقایسه با بیماران درمان نشده متیله نشد. یک هیپومتیلاسیون جهانی CpG برای همه خوشه‌ها مشاهده شد (۸۹.۶٪ در C1، ۱۰۰٪ در C2، ۶۷.۷٪ در C3 و ۸۰.۴٪ در C4). از آنجا که متیلاسیون DNA از نظر عملکردی مهم در نواحی پروموتور و در جزایر CpG20 رخ می‌دهد، توزیع DMP در مناطق مختلف ژنومی مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۵b). نمایش بالاتری از DMPs در ناحیه پروموتور در C3 (36.4٪) و C1 (33.1٪) در مقایسه با C4 (29.1٪) یافت شد. نتیجه نمایش کمتر DMPs در مناطق بین ژنی برای C3 (8.8٪) در مقایسه با C1 (22.8٪) و C4 (23.1٪) بود. برای به دست آوردن بینش در مورد این الگو، ما پروب‌ها را بر اساس جزایر CpG تقسیم کردیم. سواحل (مناطق



شکل ۵: تجزیه و تحلیل متیلاسیون امضای قوی IFN در C1 و C3 را تأیید می‌کند و وضعیت متیلاسیون نایجا را در C4 نشان می‌دهد. آنالیز متیلاسیون خون کامل برای ۲۲۶ بیمار (C1: 26 و C2: 62 و C3: 57 و C4: 81) و pSS (C1: 81 و C2: 57 و C3: 62 و C4: 26) انجام شد که مقایسه‌های زوجی بین هر خوشه و HV انجام دادند. یک نمودار ون که همپوشانی سایت‌ها و ژن‌های CpG متیله شده متفاوت را بین ۴ خوشه با ΔBeta مطلق > 0.075 نشان می‌دهد. توزیع DMP در مناطق مختلف ژنومی (بدنه ژنی، ۳' UTR، بین ژنی، ۵' UTR، IGR) آگزون ۱، TSS ۱۵۰۰ و ۲۰۰ TSS؛ و با توجه به تراکم CpG به جزیره CpG، قفسه، ساحل و باز دریا c نمودار ون که همپوشانی CpG هیپومتیله و ژن‌ها را با ΔBeta مطلق > 0.15 بین سه خوشه IFN نشان می‌دهد. امضای IFN شبکه تعامل ۱۰ ژن مشترک C1 و C3 توسط تجزیه و تحلیل STRING با قطع اطمینان ۰.۴ هیپومتیله شده است. f . $FC \geq 1.5$ ، $p < 0.15$).

یک لنفوپنی که عمدتاً بر سلول های T تأثیر می گذارد در C1 یافت شد. در نهایت، متمایزترین خوشه از نظر توزیع و تعداد مطلق سلول ها C4 است. به طور خاص، C4 با درصدهای بالاتر و اعداد مطلق PMN (به ویژه نوتروفیل ها) در خون محیطی در مقایسه با سایر خوشه ها و HV مشخص شد. برعکس، درصد لنفوسیت ها (سلول های B و T) و مونوسیت ها در C4 در مقایسه با گروه شاهد یا سایر خوشه ها به طور قابل توجهی کاهش یافت. در نهایت، فرکانس های پایین تر و اعداد مطلق بازوفیل ها و DC ها نیز در این خوشه یافت شد.

سپس یک آنالیز دقیق از زیرجمعیت های سلولی مختلف انجام شد. اول، مونوسیت ها یک جمعیت سلولی ناهمگن را از نظر فنوتیپ و عملکرد نشان می دهند. بر اساس بیان CD14، 3 و CD16، زیر مجموعه مونوسیتی را می توان تعریف کرد که شامل کلاسیک (-CD14++CD16)، متوسط (CD14++CD16+) و غیر کلاسیک (CD14+CD16++) می شود. مونوسیت های کلاسیک برای پاسخ التهابی اولیه حیاتی هستند، می توانند به ماکروفاژها در بافت تمایز پیدا کنند و به بیماری مزمن کمک کنند. مونوسیت های میانی سلول های فاگوسیتی بسیار بالایی هستند که سطوح بالایی از ROS و واسطه های التهابی تولید می کنند. مونوسیت های غیر کلاسیک به طور گسترده ای به عنوان ضد التهاب تلقی می شوند، زیرا هموستاز عروقی را حفظ می کنند و اولین خط دفاعی را در شناسایی و پاکسازی پاتوژن ها تشکیل می دهند. جالب توجه است، فراوانی و تعداد مطلق مونوسیت های میانی در C1 و C3 افزایش یافت در حالی که فراوانی مونوسیت های کلاسیک در مقایسه با ۲ مورد دیگر کاهش یافت و زیرمجموعه غیر کلاسیک به طور قابل توجهی در C4 در راستای پاسخ التهابی مشاهده شده در این خوشه های مختلف کاهش یافت.

دوم، سلول های NK با بیان CD56 و فقدان کمپلکس CD3-TCR تعریف می شوند. علاوه بر این، بر اساس سطوح بیان CD16 و CD56، آنها در دو زیر مجموعه طبقه بندی می شوند: CD56hiCD16lo و CD56loCD16hi. زیرمجموعه سلول NK اخیر، سمیت سلولی طبیعی و وابسته به آنتی بادی را واسطه می کند و سطوح بالایی از پرفورین و افزایش کشتار را نشان می دهد. در مقابل، سلول های NK CD56hiCD16lo با سطوح پایین

و NLRC5) برای C1 و C3 مشترک بودند و همچنین به شدت با ژن های قبلی مرتبط بودند، و امضای IFN را در این دو خوشه تقویت می کردند (شکل ۵e). این ۱۰ ژن رایج هیپومتیله در پاسخ های دفاعی به ویروس نقش دارند و توسط IFN21 القا می شوند.

۷۵۶ ژن هیپومتیله باقی مانده در C4 عمدتاً با مسیر دگرانولاسیون نوتروفیل مرتبط بودند. با توجه به CpG هایپر متیله، 41 DMP مربوط به ۲۵ ژن تنها در C4 یافت شد. این ژن ها عمدتاً در انتقال ZAP-70 به سیناپس ایمنولوژیک، فسفوریلاسیون زنجیره های CD3 از جمله زتا، فعال سازی پلاکت ها، سیگنال دهی و تجمع، هموستاز و سیگنال دهی PD-1 نقش دارند.

با ترکیب آنالیزهای رونویسی ($FC \geq 1.5$) و متیلومیک ($\Delta\text{Beta} \text{ مطلق} > 0.15$)، ترنسکرپتوم ۸، ۸، ۱۲۶ ژن به ترتیب در ارتباط با کاهش وضعیت متیلاسیون در C1، C3 و C4 افزایش یافتند. ۵ ژن مشترک هیپومتیله شده قبلی که در سیگنال دهی IFN دخیل بودند نیز در سطوح رونویسی در ۳ خوشه بیان شده بودند. بیان بیش از حد رونوشت به شدت با هیپومتیلاسیون در C1 (8/10) و C3 (8/11) و به میزان کمتر در C4 (126/761) همراه بود. از بین ۱۲۶ ژن از C4، ۲۱ ژن در دگرانولاسیون نوتروفیل نقش داشتند که مطابق با ۲۲ Reactome Pathway Database (شکل ۵f) مرتبط ترین مسیرها را تشکیل می دهد. تنها ۶/۲۵ رونوشت در ارتباط با افزایش وضعیت متیلاسیون ژن های آنها در این خوشه سرکوب شد (CD247، CD3G، CDC25B، CXCR6، TBC1D4، UBASH3A).

آنالیز فلوسایتومتری

همانطور که تغییرات قابل توجهی در الگوهای لکوسیت های خون محیطی قبلاً شرح داده شده است، ما سپس ترکیب زیر مجموعه های لکوسیتی را در خوشه های مختلف بررسی کردیم. (شکل 6a&b). در C2، فرکانس و اعداد مطلق مشابه HV در تمام زیر مجموعه های مختلف تحلیل شده بودند. افزایش در فرکانس مونوسیت ها و لنفوسیت ها C3 را مشخص می کند، در ارتباط با افزایش قابل توجه فرکانس سلول های B. در همان زمان،



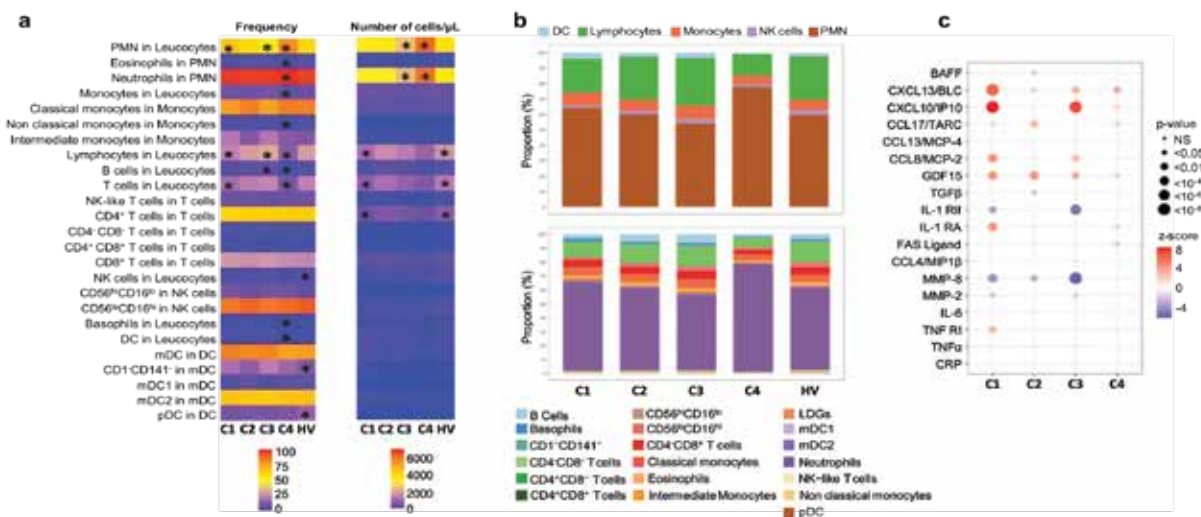
IFN قوی، افزایش یافتند. در همان زمان، IL-1 RII، گیرنده طعمه برای سیتوکین متعلق به خانواده IL-1، در C1 و C3 تنظیم شد. به طور کلی، C1 تا حد زیادی در IL-6، CXCL13/BLC، IL-1RA و CXCL10 غنی شد. سطوح MMP-8، یک پروتئاز که عمدتاً توسط نوتروفیل ها بیان می شود، متفاوت از HV در C4 نبود اما در خوشه های دیگر کمتر بود. توجه داشته باشید، بسیاری از سیتوکین ها مانند CXCL10/ IP-10، CXCL13/BLC، BAFF همه خوشه ها از جمله C2 در مقایسه با HV افزایش یافته اند. با این حال، هیچ تفاوتی بین خوشه ها برای CRP، Fas Ligand، CCL13/MCP-4، CCL4/MIP-1β و TGFβ یافت نشد.

برای تأیید اینکه بیماران دارای امضای فعال IFN دارای نوع I در گردش هستند، ما سطوح IFNα در پلاسما را با استفاده از فناوری آرایه تک مولکولی Simoa در بیماران pSS و HV اندازه گیری کردیم. سطح متوسط IFNα در پلاسما ۸۰۷ (۱۷۴۴-۱۷۷) fg/ml و ۵۳۰ (۱۰۳۳-۱۰۶) fg/ml در C1 و C3 بود، در حالی که

پرفورین مشخص می شوند و در درجه اول برای تولید سیتوکین از جمله IFN26،27 تخصصی هستند. بر این اساس، فرکانس سلول های NK CD56hiCD16lo از CD56loCD16hi در C1، C3، C4 و به میزان کمتری در C2 افزایش یافت. این ممکن است تا حدی تنظیم بالا سیتوکین ها و مسیرهای اینترفرون را در خوشه های بیماری توضیح دهد. اگرچه تصور می شود که سلول های دندریتیک پلاسما سیتوتوئید (pDCs) نمایانگر سلول های اصلی تولیدکننده IFNα هستند، هیچ تفاوتی بین خوشه ها مشاهده نشد و کاهش آنها در خون محیطی بیماران pSS در مقایسه با HV28 تأیید شد.

آنالیز سیتوکین

ما متعاقباً ارزیابی کردیم که آیا خوشه های pSS نیز تفاوت هایی را در پارامترهای سیستمیک التهاب، مانند سیتوکین ها، کموکاین ها و سایر عوامل محلول نشان می دهند (شکل ۶c). پروتئین القا شده با IFNγ (CXCL10/IP-10) و همچنین CCL8/MCP-2 و TNFα در C1 و C3، یعنی دو خوشه اصلی مرتبط با امضای



شکل ۶: توزیع زیر مجموعه سلولی در خون و سیتوکین ها، کموکاین ها و واسطه های التهابی در سرم در ۴ خوشه و داوطلبان سالم (HV). آنالیز فلوسایتومتری برای بیمار C1: 36) C4؛ 80؛ C3؛ 71؛ C2؛ 96 و ۳۰۹ HV انجام شد. ۲ نقشه حرارتی توزیع میانگین زیرمجموعه های سلول های خونی را در فرکانس (%۱۰۰-۰) و در اعداد مطلق (در هر میکرولیتر خون) در ۴ خوشه و HV ارزیابی شده توسط فلوسایتومتری نشان می دهد. ستون ها خوشه ها و HV را نشان می دهند و ردیف ها زیر مجموعه های مختلف سلول هستند. ستاره به این معنی است که خوشه (یا HV) از نظر آماری یا بقیه متفاوت است. b داده های فلوسایتومتری نشان داده شده توسط نمودارهای میله ای نسبت انواع سلول در هر خوشه، c واسطه های سرمی برای ۱۹۲ بیمار (C1: 67؛ C2: 48؛ C3: 61؛ C4: 16) و pSS (HV ۱۷۱) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. توزیع بیمار و HV با توجه به هر متغیر تجزیه و تحلیل شده در روش ها توضیح داده شده است. IL-1 RII، TNF-RI، CXCL13/BLC، FAS Ligand، GDF-15، CXCL10/IP-10، CCL8/MCP-2، CCL13/MCP-4، CCL4/MIP-1β، MMP-8، CCL17/TARC، IL-1 RII، TNF-RI، IL-1RA، IL-6، TNFα، CRP، MMP-2، CRP، TNFα، IL-6، BAFF محلول. بیان شد. سطوح غلظت سیتوکین یا کموکاین برای هر خوشه با HV مقایسه شد. اهمیت آماری با استفاده از یک آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن آزمون توکی پس از آن تعیین می شود. اهمیت بین خوشه و HV به صورت گلوله ای از کوچک (غیر معنی دار) تا بزرگ (معنی دار) نشان داده می شود. جهت ارتباط به عنوان z-score نشان داده می شود که در آن گلوله قرمز به سمت بالا تنظیم می شود و گلوله آبی پایین تنظیم می شود.

($p\text{-value} = 0.16$). بین چهار خوشه مشاهده شد. همچنین بیماران C4 علائم بالینی شدیدتری را در مقایسه با سه خوشه دیگر گزارش کردند. برخی از ویژگی‌های سرولوژیکی در ۴ خوشه تفاوت معنی داری داشتند، هیپرگاماگلوبولینمی ($p\text{-value} < 0.001$)، آنتی بادی‌های آنتی ژن هسته ای قابل استخراج ($p\text{-value} < 0.001$) (ENA)، وجود سرمی anti-SSA52/anti-SSA60 اتوآنتی بادی ها ($p\text{-value} < 0.001$) و زنجیره‌های سبک آزاد کاپا و لامبدا با گردش بالاتر ($p\text{-value} < 0.001$) (cFLC) (شکل C1). C3 و 7b با سطوح بالاتری از این پارامترها در مقایسه با C2 و C4 همراه بودند. علاوه بر این، C2 و C4 در بیماران مبتلا به تظاهرات غددی بیماری که در غیاب آنتی‌بادی‌های ضد SSA با امتیاز تمرکز مثبت ارزیابی شده‌اند، غنی شدند (جدول ۲). علاوه بر این، سطوح فاکتور روماتوئید ($p\text{-value} < 0.001$) و سطوح کسر مکمل C4 ($p\text{-value} = 0.003$) از نظر آماری بین چهار خوشه متفاوت بود. C1 با فاکتور روماتوئید بالاتر و کاهش سطح کسر C4 مکمل در مقایسه با خوشه‌های دیگر مشخص شد. در حالی که برخی از بیماران آنتی بادی‌های ضد dsDNA را در C1 و C3 و آنتی بادی‌های ضد CCP را در C4 ارائه کردند، تقریباً هیچ یک از این آنتی بادی‌های اتوآنتی بادی در سایر خوشه ها وجود نداشت.

پیش‌بینی عضویت بیمار در هر یک از چهار خوشه

سپس از طریق رویکردهای یادگیری ماشینی، یک مدل ترکیبی ایجاد کردیم که می‌تواند با توجه به تعداد کمی از متغیرها، پیش‌بینی کند که هر بیمار به کدام یک از ۴ خوشه تعلق دارد. مدل ترکیبی پیشنهادی با یک رویکرد ۲ مرحله‌ای برای تخصیص بیماران به خوشه درست ساخته شد. مجموعه نهایی ویژگی‌های انتخاب شده از ۱۰ ژن برای مدل پیش‌بینی C4 (مرحله اول) و ۳۱ ژن برای مدل طبقه بندی C1، C2، و C3 (مرحله دوم) تشکیل شده است. توزیع بین خوشه‌های بیان نرمال شده تبدیل تثبیت کننده واریانس (vst) برای همه این رونوشت‌ها در شکل تکمیلی ۱۱ نشان داده شده است. مجموعه اعتبارسنجی (شکل ۱ و جدول ۱) برای آموزش

سطوح در گردش در سایر خوشه‌ها و HV نزدیک به حد پایین اندازه‌گیری بود. جالب توجه است که $IFN\alpha$ در سرم با دو ماژول ترنسکرپتوم M1.2 و IFN و ماژول $IFN\alpha$ که در شکل ۳ توضیح داده شده است، به ویژه در C1 و به میزان کمتر در C3 همبستگی مثبت داشت، که تایید کننده امضای IFN نوع I مشاهده شده در این بیماران است. نکته قابل توجه، نیمی از بیماران در C2 ضد مالاریا دریافت کردند و مطالعات قبلی نیز نشان داده اند که استفاده از هیدروکسی کلروکین می‌تواند سطح گردش خون نوع I29,30 و نوع II31,32 را کاهش دهد. $IFN\alpha$ z-scores در IFN در سرم با ESSDAI ارتباط نداشت. اما سطوح بالاتر $IFN\alpha$ سرم با حوزه‌های خونی و بیولوژیکی ESSDAI مرتبط بود.

علائم بالینی و ویژگی‌های سرولوژیکی

سابقه پزشکی بیمار و ویژگی‌های بیماری شامل پارامترهای بالینی و سرولوژیکی برای ۳۰۴ بیمار pSS جمع آوری شد. بیماران از C2 در مقایسه با بیماران از سایر خوشه ها، مدت زمان بیماری کمتری داشتند. اگرچه ارزیابی جهانی پزشک (PGA) برای کل جمعیت جمع‌آوری شد، ESSDAI و ESSPRI فقط در مراکز خبره (بارسلونا، برست، کوردوبا، ژنو، هانوفر، لوون، میلانو، پورتو و سگد) در زیر مجموعه‌ای از ۱۹۳ و ۱۵۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند.

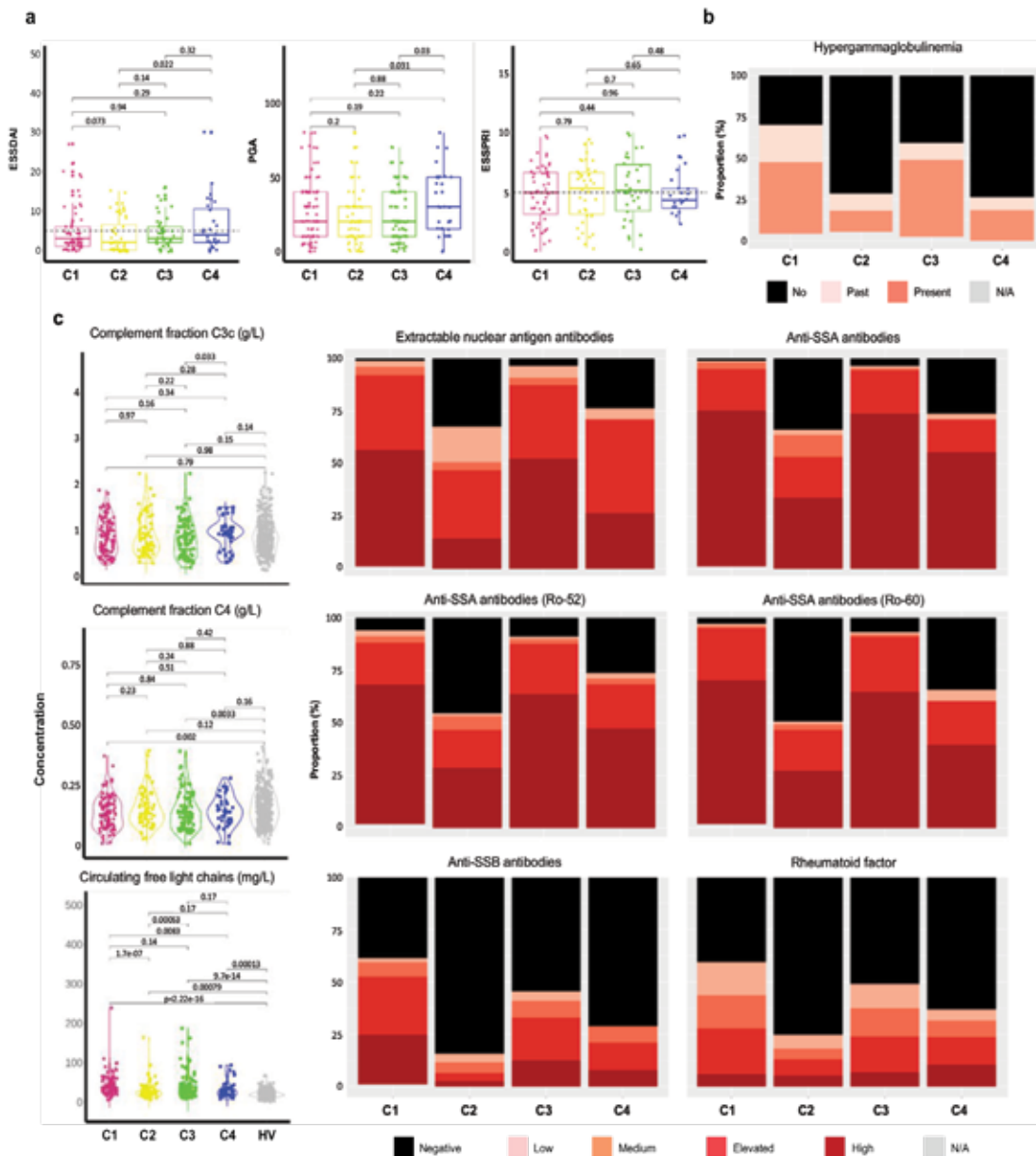
کمترین میانگین نمره ESSDAI در C2 و بالاترین میانگین نمرات ESSDAI و PGA در C4 مشاهده شد (جدول ۲، شکل 7a) اما از نظر آماری تفاوت معنی داری بین ۴ خوشه وجود نداشت. هیچ تفاوت واضحی در اجزای ESSDAI و یا در معیارهای عینی خشکی چشم و بزاق بین ۴ خوشه مشاهده نشد. علاوه بر این، هیچ تفاوت معنی داری برای نمره جهانی ESSPRI و ۳ مولفه آن (یعنی خشکی، درد و خشکی) وجود نداشت، به جز بین بیماران C2 مثبت SSA که نمرات ESSPRI پایین تری ($p\text{-value} = 0.001$) در مقایسه با بیماران SSA منفی گزارش کردند.

تفاوت آماری معنی داری در توزیع آرتريت گزارش شده ($p\text{-value} = 0.016$)، میزان سابقه سرطان ($p\text{-value} = 0.028$)، بیماری عروق کرونر ($p\text{-value} = 0.002$) و بیماری انسدادی مزمن ریه



متمایز مربوطه، و احتمال تعلق به یکی از ۴ خوشه به ترتیب در شکل ۸a و b، نشان داده شده است. ما از یک گروه اولیه مستقل از ۳۷ بیمار pSS برای تعمیم مدل ترکیبی استفاده کردیم. پس از پیش بینی، C1

به دلیل ناهمگونی بیماران pSS C4 در این مجموعه، و مدل ترکیبی سپس بر روی مجموعه کشف اجرا شد. دقت مدل برای مرحله اول و دوم به ترتیب ۹۵.۱۵٪ با ۹۹.۱۲٪ و ۹۵.۵۷٪ بود. ماتریس سردرگمی، تحلیل تابع



شکل ۷: فعالیت بیماری و توزیع سرولوژیکی در ۴ خوشه. a) اوری شده برای ۱۹۳ بیمار (C1: 70، C2: 52، C3: 44، C4: 27) و PGA جمع آوری شده برای ۲۸۶ بیمار (C1: 94، C2: 71، C3: 85، C4: 36) و PSS توزیع شده برای ۱۵۰ بیمار (C1: 56، C2: 43، C3: 30، C4: 21) توزیع در ۴ خوشه نشان داده شده است. نتایج آزمون مجموع رتبه ویلکاکسون جفتی Two-tailed نشان داده شده است. b) باریلات نسبت هیپرگاماگلوبولینمی گذشته (نارنجی روشن) یا فعلی (نارنجی) (C1: 97، C2: 73، C3: 86، C4: 38) را در هر خوشه نشان می دهد. c) آنتی بادی های آنتی ژن هسته ای قابل استخراج، آنتی بادی های ضد SSA، آنتی بادی های ضد SSA (RO-۶۰)، آنتی بادی های ضد SSB، فاکتور روماتوئید برای ۳۰۴ بیمار PSS انجام شد (C1: 101، C2: 77، C3: 88، C4: 38) و HV ۲۳۰ و در همان مرکز، با استفاده از یک ایمونوآنالیز شیمیایی خودکار (IDS-ISYS) اندازه گیری می شوند. باریلات ها نسبت سطح غلظت را در هر خوشه نشان می دهد (سیاه: منفی، صورتی روشن: کم، نارنجی: متوسط، قرمز: بلند و قرمز تیره: زیاد). از توریدیمتری برای فاکتور روماتوئید (RF)، کسری مکمل C3 و C4 تعیین شده و زنجیره های نور آزاد استفاده شد. اهمیت آماری با آزمون جمع دو برابر Wilcoxon-Rank دو دم دو دم تعیین می شود. توطئه ها با میله های خطا که نشان دهنده دامنه interquartile است، میانه را نشان می دهد. توزیع بیمار و HV با توجه به PGA و پارامترهای بیولوژیکی متغیر تجزیه و تحلیل در روش ها توضیح داده شده است.

تحلیل موجود در مخزن GitHub آزمایشگاه ۳۳ یکپارچه شده است.

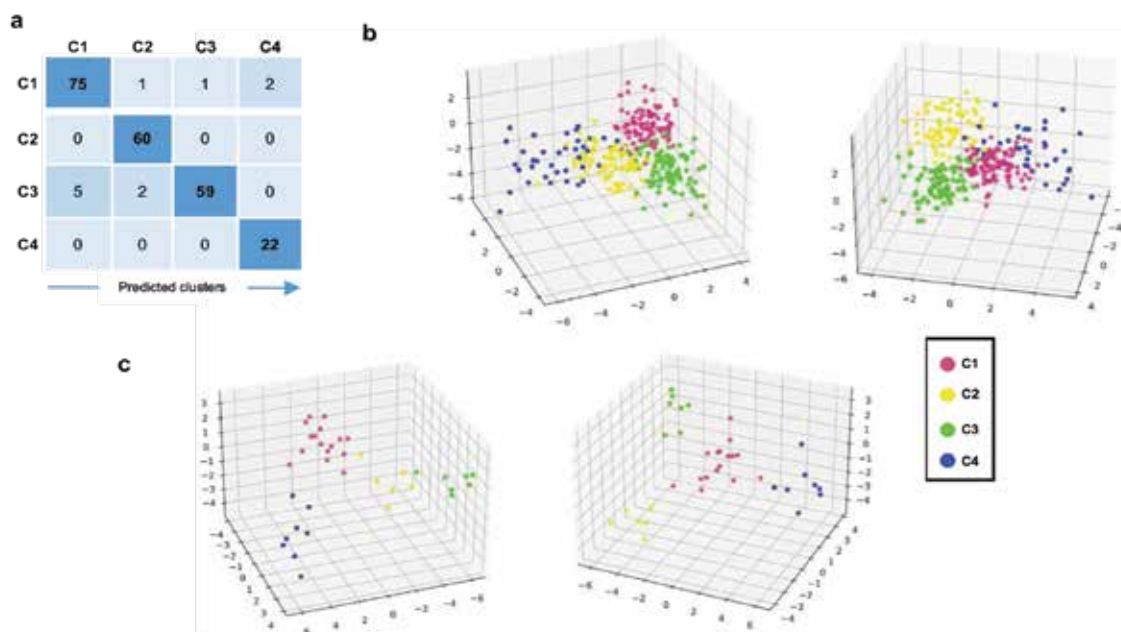
بحث

در طول دهه گذشته، بسیاری از درمان‌های تعدیل‌کننده ایمنی هدفمند برای pSS نتوانسته‌اند در کارآزمایی‌های بالینی سودمند باشند. از این رو هنوز هیچ درمان اصلاح‌کننده بیماری برای این بیماری تأیید نشده است. ماهیت ناهمگن pSS و توسعه غیرخطی آن، همراه با شعله‌ور شدن فعالیت و بهبودی متعاقب آن همراه با تظاهرات بالینی بسیار ناهمگون، ممکن است شکست‌های کارآزمایی بالینی را توضیح دهد. در این زمینه، علاقه فزاینده‌ای به شناسایی زیرگروه‌های مشخص شده از بیماران، پیش‌نیاز عنوان بیومارکرهای مولکولی پیش‌بینی‌کننده پاسخ درمانی وجود دارد.

در اینجا در مورد یک مطالعه پروفایل مولکولی قابل توجهی که بر روی بیماران pSS انجام شده است را بدون توجه به فنوتیپ‌های بالینی گزارش می‌کنیم. مطالعات قبلی در pSS عمدتاً بر درگیری سیگنالینگ IFN تمرکز دارد. بنابراین، بیماران pSS را می‌توان به

شامل ۱۶ بیمار (۴۳.۲٪)، C2 ۶ بیمار (۱۶.۲٪)، C3 ۷ بیمار (۱۸.۹٪) و C4 ۸ بیمار (۲۱.۶٪) بود. آنالیز تابع متمایز مربوطه و احتمال تعلق یک بیمار به یکی از ۴ خوشه به ترتیب در شکل ۸c و داده‌های تکمیلی ۱۰ نشان داده شده است. سپس از فهرست حداقل ۲۵۷ امضای ژن متمایز که قبلاً در شکل ۱a انتخاب شده بود برای ایجاد یک نقشه حرارتی با پیش‌بینی ایجاد شده توسط مدل ترکیبی استفاده کردیم. خوشه‌های مشاهده‌شده دارای مشخصات مشابهی با آنهایی بودند که در مجموعه کشف شناسایی شده بودند و دوباره در مجموعه اعتبارسنجی مشاهده شدند (شکل ۱a)، که یک بار دیگر مدل خوشه‌بندی را تأیید می‌کند. علاوه بر این، بیماران پیش‌بینی‌شده توزیعی از امضای IFN را نشان دادند مطابق با امضای خوشه‌های شناسایی‌شده (شکل ۳). در مجموع، این مشاهدات اعتبار مدل ترکیبی ما را تقویت می‌کند.

در نهایت، برای اینکه مدل ما بتواند گروه‌های دیگر بیماران را پردازش کند، یک تابع درون‌یابی مبتنی بر شش ژن را اجرا می‌کنیم که بیان ثابتی را در هر ۴ خوشه و HV ارائه می‌کند. مدل ترکیبی در یک ابزار تجزیه و



شکل ۸: توسعه یک مدل ترکیبی برای پیش‌بینی تعلق یک بیمار به یکی از ۴ خوشه. a ماتریس سردرگمی از مدل ترکیبی در گروه کشف انجام شده برای ۲۲۷ بیمار (C1: بیمار ۶۶، C2: ۶۰، C3: ۶۶، C4: ۲۲) نشان داده شده است. b آنالیز عملکرد متمایز (DFA) بیماران پیش‌بینی‌شده از گروه کشف، خوشه‌های کاملاً جدا شده را نشان می‌دهد. دو نمای مختلف از یک DFA نشان داده شده است. c DFA بیماران پیش‌بینی‌شده از گروه ابتدایی، خوشه‌های کاملاً جدا شده را نشان می‌دهد. دو نمای مختلف از یک DFA نشان داده شده است. سی و هفت بیمار pSS از گروه ابتدایی مورد آنالیز قرار گرفتند و به صورت C1: ۱۶، C2: ۶، C3: ۷ و C4: ۸ پیش‌بینی شدند.



به غده بزاقی در آینده تصویر کاملی از پاتوفیزیولوژی بیماری به خصوص در C2 ارائه می دهد. سه خوشه دیگر تفاوت‌های قابل توجهی با HV و به ویژه امضای ژن برجسته IFN نشان دادند. این یافته‌ها به شواهد روبه‌رشد نقش مهم مسیره‌های IFN در پاتوژنز اختلالات سیستمیک و اندام خاص از جمله pSS اضافه می‌کنند. در حالی که IFN نوع I به عنوان عوامل اصلی در پاتوژنز pSS پیشنهاد شده بود، نقش IFN نوع II در پاتوژنز بیماری نیز برجسته شده است ۶،۴۷. نتایج ما نشان می‌دهد که امضای IFN در ۳ خوشه مبتنی بر IFN متفاوت است. بیماران C1 بالاترین نمرات IFN نوع I و II را داشتند، C3 امتیاز IFN نوع I بالاتر از C4 داشتند و این ۲ خوشه نمرات IFN نوع II مشابهی داشتند. بنابراین، امتیاز IFN C4 عمدتاً توسط فعال سازی IFN نوع II هدایت می‌شود. در نتیجه، C1 و C3 با خوشه IFN توصیف شده توسط جیمز و همکاران یکسان بودند، همچنین با سطوح بالای پروتئین خون CXCL10/IP-10 مرتبط بود.

مطابق با نمرات مشاهده شده IFN، سطح سرمی IFN α در گردش با امضای IFN نوع I (شکل ۳)، به ویژه در C1 و به میزان کمتر در C3، همبستگی مثبت داشت. با این حال، سطوح IFN α در سرم با نمره جهانی ESSDAI همبستگی نداشت، اما سطوح بالاتر IFN α سرم با حوزه‌های خونی و بیولوژیکی ESSDAI مرتبط بود.

در حالی که IFN عمدتاً C1 را هدایت می‌کند، افزایش فراوانی لنفوسیت‌های B در خون مرتبط با فعال‌سازی قابل توجه مسیرهای متعارف مرتبط با فعال‌سازی سلول B، مانند سیگنال‌دهی گیرنده سلول B و توسعه سلول B در C3 مشاهده شد. ویژگی‌های اصلی بیولوژیکی مرتبط با C3 و همچنین C1 هیپرگاماگلوبولینمی، آنتی‌بادی‌های ضد هسته‌ای، آنتی‌بادی‌های ضد SSA52/anti-SSA60، سرم و cFLC بالاتر بود که آنچه قبلاً در بیماران pSS مثبت آنتی‌بادی گزارش شده بود را تأیید می‌کند. در نهایت، SNP‌های مرتبط با ژن‌های HLA کلاس II عمدتاً در بیماران C1 و C3 گزارش شده‌اند که دارای امضای مثبت IFN و سطوح بالای اتوآنتی‌بادی هستند، همانطور که در SLE۱۶ نشان داده شده است.

بیماران از C4 فنوتیپ بالینی شدیدتری را نسبت به سایرین نشان دادند، با امضای رونویسی التهابی که عمدتاً

زیرگروه‌های اینترفرون منفی، نوع I یا نوع I+II مثبت با شیوع بالاتر ضد SSA و anti-SSB در میان افرادی که فعال‌سازی IFN بدون ارتباط با فعالیت سیستمیک دارند، طبقه‌بندی کرد. گروه دیگری آنالیز خوشه‌بندی ریزآرایه بیان ژن خون را انجام دادند، که ۴۷ بیمار pSS را در سه خوشه طبقه‌بندی کرد که با IFN و التهاب بدون ویژگی‌های بالینی متمایز مشخص می‌شد. علاوه بر این، چهار زیر گروه از بیماران با ویژگی‌های بالینی مشابه بر اساس تعداد سلول‌های مطلق در هر میکرولیتر خون شناسایی شدند. در نهایت، یک طبقه بندی بر اساس فنوتیپ‌های بالینی بیمار که به صورت پسینی در سطح مولکولی مشخص می‌شود، پیشنهاد شد. این کارها مبنای معقولی برای ساختن یک طبقه بندی مولکولی pSS فراهم می‌کند. رویکرد یکپارچه ما با استفاده از ویژگی‌های بالینی مولتی امیکس و بیمار امکان درک بیشتر ناهمگونی pSS را فراهم می‌کند.

ما ماژول‌های ترنسکریپتوم را شناسایی کردیم که به ما امکان می‌دهد بیماران pSS را بدون توجه به نوع درمانشان، به چهار دسته مجزا جدا کنیم، که الگوهای خاصی از اختلالات سیستم ایمنی را با فعالیت بیماری و میانگین علائم گزارش شده توسط بیمار، نمرات مشابه با گروه‌های طبیعی مانند ASSESS و UKPSSR منعکس می‌کند.

بیماران از C2 نمایه‌ای مانند سالم نشان دادند که با این وجود شامل بیماران pSS است که سطح مشابهی از علائم عینی خشکی، درد و خستگی را گزارش می‌کنند (البته ESSDAI پایین‌تری نسبت به سه خوشه دیگر). C2 همچنین در بیماران مبتلا به تظاهرات بیماری غدد با امتیاز تمرکز مثبت و بدون آنتی‌بادی ضد SSA غنی شد. خوشه مشابهی اخیراً بدون افزایش در ماژول‌های IFN و حداقل فعالیت ماژول‌های ژنی مرتبط با التهاب توصیف شد. تمام داده‌های پروفایل مولکولی گزارش شده در اینجا از نمونه‌های خون به دست آمده است که می‌تواند بر تفسیر برخی از نتایج تأثیر بگذارد. به عنوان مثال، کاهش pDC‌های خون محیطی بیماران pSS در مقایسه با HV که قبلاً گزارش شده است، به این معنا نیست که pDC در غدد بزاقی غنی شده است و این احتمال وجود دارد که محل‌های بافتی ممکن است منبع مهم IFN α در این افراد باشد. گسترش آن آنالیزها

از آنجایی که فرضیه ها از یک مطالعه مقطعی و یک گروه ابتدایی کوچک استخراج شده اند، یافته ها باید در گروه های طولی تأیید شوند تا مشخص شود که آیا بیماران به صورت طولی در خوشه اولیه خود باقی خواهند ماند؟ (صرف نظر از سطح فعالیت بیماری و درمان های دریافتی، یا اینکه آیا درمان ها کاهش فعالیت بیماری با اصلاح وسعت و دامنه اختلالات سیگنال دهی ژن). در مجموع، نتایج ما می تواند استراتژی های درمان pSS را بهبود بخشد و به یک رویکرد بیمار محور اجازه دهد. این پارادایم که قبلاً در زمینه انکولوژی اجرا شده است، احتمال موفقیت آزمایشی را افزایش می دهد و توسعه داروهای کارآمد جدید علیه pSS را تقویت می کند.

منبع:

<https://www.nature.com/articles/s41467-021-23472-7>

به سیگنال دهی سیتوکین از پاسخ فاز حاد مرتبط بود. C4 همچنین با لنفوبینی عظیم و سطوح بالای نوتروفیل ها مشخص شد. قبلاً نشان داده شده بود که نسبت نوتروفیل به لنفوسیت (NLR) با فعالیت بیماری در خودایمنی سیستمیک ارتباط دارد. در واقع، در مطالعه ای بر روی ۴۸۳ بیمار بالغ مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس، NLR می تواند بین مولتیپل اسکلروزیس عودکننده - فروکش کننده و مولتیپل اسکلروز اولیه پیشرونده تمایز قائل شود و بدتر شدن ناتوانی را پیش بینی کند. مطالعات بیشتری در pSS برای ارزیابی اهمیت این نسبت مورد نیاز است. از آنجایی که چالش اصلی فعلی در کارآزمایی های بالینی درمان های جدید برای pSS، انتخاب بیماران مناسب است، ما در اینجا ترکیبی از پارامترهای مولکولی را پیشنهاد می کنیم که امکان طبقه بندی بیمار بر اساس اندوتیپ ها را فراهم می کند. سپس ما یک مدل ترکیبی برگرفته از یادگیری ماشینی را بر اساس استفاده از تعداد محدودی رونوشت از RNASeq خون کامل و اعتبارسنجی در مجموعه داده های مستقل از یک مطالعه اولیه pSS ایجاد کردیم تا امکان تحلیل مجدد کارآزمایی های بالینی قبلی و در حال انجام را فراهم کنیم. پیش بینی کننده های پاسخ درمانی را به تصویر می کشد.

این یافته ها پیامدهای قابل توجهی برای درمان بیماران pSS دارند، و منطقی برای موقعیت یابی بهینه دارو و ترکیبی از داروها با مکانیسم های اثر مکمل ارائه می کنند. به طور خاص، یافته های ما یک منطق قوی برای درمان بیماران دارای پروفایل C1، C3، یا C4 با مهارکننده های پاسخ های IFN نوع I به تنهایی یا به صورت ترکیبی ارائه می کند، زیرا از ارتباط سلول های B به عنوان اهداف بالقوه درمانی در بیماران C3 پشتیبانی می کنند. کارآزمایی ها با آنتی بادی های کاهش دهنده سلول B (rituximab) نتایج امیدوارکننده ای را در کاهش فعالیت سیستمیک در pSS51 نشان داده اند.

مناطق که نیاز به بررسی بیشتر دارند شناسایی شده است. اولاً، اگرچه امضای ژن خوشه ای شناسایی شده ما برای غلبه بر عدم تعادل در تعداد سلول های خونی به اندازه کافی قوی هستند و با طول مدت بیماری مرتبط نیستند، به جز C2، تجزیه و تحلیل RNA-Seq از ترکیب نوع سلولی نمونه غافل است. تحقیقات بیشتر با استفاده از رویکردهای deconvolution ادامه دارد. دوم،



مرکز شتابدهی و نوآوری رایژن

مرکز شتابدهی و نوآوری رایژن را به کمک جمعی از اساتید برجسته ایران تأسیس کردیم تا دانشجویان و محققان جوان و متعدد حوزه زیست پزشکی، بتوانند کسب و کار دانش محور خود را ایجاد کنند و نه تنها جزه فرهیختگان علمی کشور باشند بلکه دانش خود را به ثروت تبدیل کنند.

خدمات تخصصی

مشاوره های تخصصی



کارآفرینان و مدیران موفق در حوزه های مختلف در مرکز نوآوری و شتابدهی، ما را همراهی می کنند و تیم های پذیرفته شده از تجربیات آن ها بهره مند می شوند

خدمات آموزشی و مربیگری

ما در مرکز نوآوری و شتابدهی، برای افراد دارای ایده های ناب کلاس ها، دوره ها و کارگاه های آموزشی مرتبط با حوزه های مختلف را برگزار می کنیم



معرفی فضاها و خدمات



ما در مرکز نوآوری و شتابدهی در تلاشیم تا با فراهم آوردن تمام بسترهای مورد نیاز در مسیر راه اندازی کسب و کارتان شما را همراهی کنیم

سرمایه گذاری

این مرکز علاوه بر ارائه امکانات و خدمات در دوره های شتاب دهی، با توجه به نوع فعالیت تیم استارت آپ، سرمایه گذاری برای تیم های پذیرفته شده فراهم می کند



با ما در ارتباط باشید

www.RayaaGen.ir

[RayaGen_Accelerator](https://www.instagram.com/RayaGen_Accelerator)

[RayaGen_Accelerator](https://www.facebook.com/RayaGen_Accelerator)

اشتیاق، خلاقیت و مقاومت.

اساسی ترین مهارت ها در کسب و کار هستند.

اگر این ها را دارید، برای فتح قله آماده هستید.

نقشه‌ی راه ایمونولوژی شخصی

خلاصه

ایجاد کلان داده و پردازش محاسباتی، پزشکی را قادر می‌سازد تا از رویکرد «یک راهکار مناسب برای همه» به طبقه‌بندی و درمان دقیق بیمار دست یابد. دستاوردهای قابل توجهی با استفاده از داده‌های آمیکس، به خصوص در انکولوژی شخصی سازی شده، به دست آمده است. با این حال، سلول‌های ایمنی، نسبت به سلول‌های تومور، درجه بسیار بالاتری از پیچیدگی را در ناهمگونی، پویایی، قابلیت حافظه، انعطاف پذیری و تعاملات «اجتماعی» نشان می‌دهند. هنوز راه درازی در راه ترجمه توانایی ما برای شناسایی بیومارکرهای شخصی سازی شده بالقوه قابل هدف به درمان شخصی موثر در بیماری‌های متمرکز بر سیستم ایمنی وجود دارد. در اینجا، ما پیشرفت‌های اخیر و کاربردهای موفق در استفاده از داده‌های آمیکس و آنالیز شبکه بر روی نمونه‌های آزمایش‌ها و مطالعات بالینی بیماران، و همچنین چالش‌ها و استراتژی‌های اصلی در جهت طبقه‌بندی شخصی و درمان بیماری‌های التهابی عفونی یا غیرواگیر (مانند بیماری‌های خود ایمنی یا آلرژی) را مورد بحث قرار می‌دهیم. ما یک نقشه راه ارائه می‌دهیم و آنالیز تجربی، بالینی، محاسباتی، مدیریت داده‌ها، و مسائل اخلاقی و مقرراتی را برای تسریع اجرای ایمونولوژی شخصی سازی شده برجسته می‌کنیم.

مقدمه

پیشرفت‌های مستمر در فناوری‌های آزمایشگاهی و زیست‌پزشکی محاسباتی، تولید و پردازش حجم وسیعی از داده‌ها را امکان پذیر کرده است، پیش نیازهایی که به پزشکی اجازه می‌دهد از رویکرد «یک راهکار مناسب»



عباس اردلان^۱

۱- کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه اراک، اراک، ایران
پژوهشگر مرکز تحقیقات پزشکی شخصی آمیتیس زن

تومور جهش‌یافته خاص بیمار توصیف کردند که نتایج امیدوارکننده‌ای را به همراه داشت و انتظارات را در مورد پزشکی شخصی، حداقل در سرطان، افزایش داد. جالب توجه است که این دستاوردهای اخیر، عمدتاً در ایجاد ایمنی ضد تومور مؤثر است. بنابراین، می‌توان به طوری ایمونولوژی شخصی‌سازی شده را توسعه داد که نه تنها به آزمایش بیومارکرهای شخصی شده بپردازد، بلکه به شناسایی مارکرهای مولکولی عملکردی قابل هدف‌گیری پایین دست نیز منجر شود.

نیاز به ایمونولوژی شخصی

اگرچه مفهوم پزشکی شخصی‌سازی شده به طور کلی مدتی است در این زمینه مطرح شده است، اما عمده کاربردهای موفق آن در زمینه سرطان به دست آمده است.

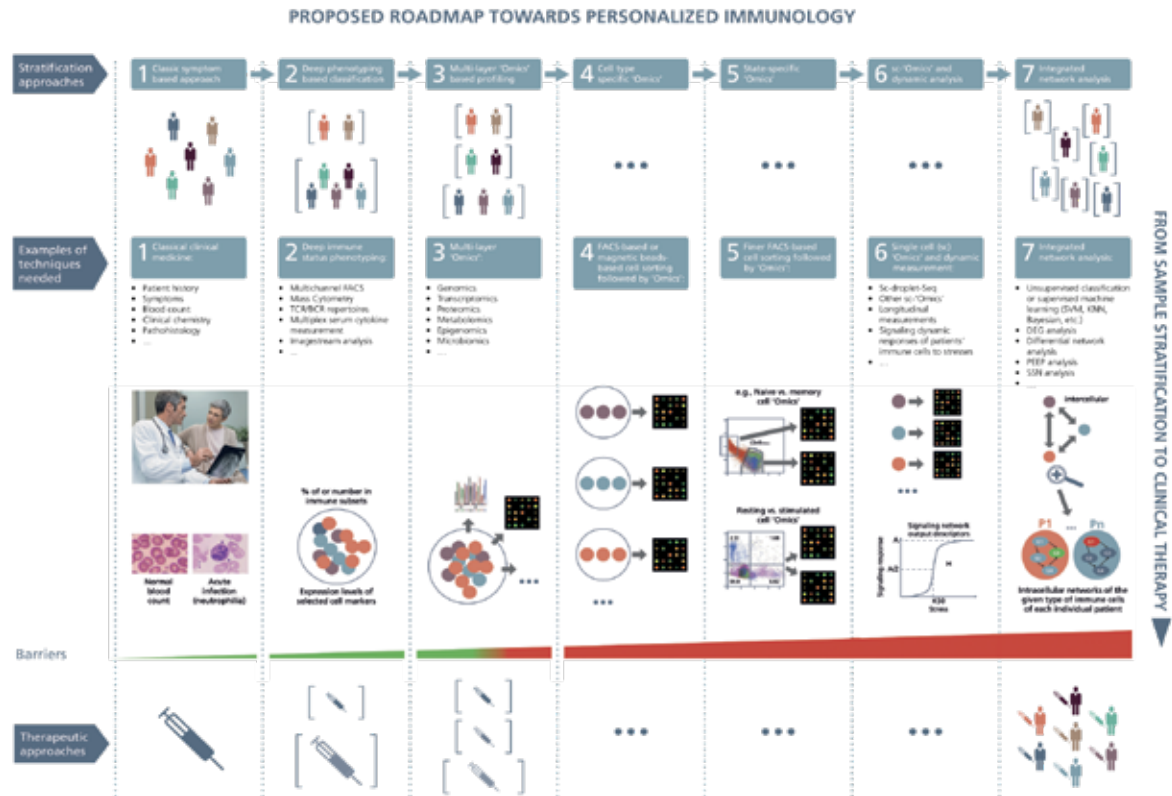
ویژگی منحصر به فرد سلول‌های ایمنی در مقایسه با انواع سلول‌های دیگر (به عنوان مثال، سلول‌های تومور) در بدن انسان، توانایی آن‌ها برای جابجایی بین حالت‌های فعال‌سازی چندگانه حتی در شرایط فیزیولوژیکی است. اگر مناطق خاکستری یا مناطق زنجیره‌ای که اغلب وجود دارند را در نظر بگیریم، سلول‌های ایمنی حداقل می‌توانند بین دو حالت، حالت استراحت و حالت تحریک شده، تغییر حالت دهند. سیستم ایمنی بدن ما حالات پیچیده‌تری اعم از نابالغ/بالغ، خسته، «بی‌حسی» پیر و بسیاری دیگر را دارد. این ویژگی‌ها ایمونولوژی را لایه‌ای از پیچیدگی خاص می‌سازد و مشکلات را در تعیین شبکه‌های دینامیکی زیربنایی برای تعیین الگوهای پاسخ ایمنی و تنظیم واریانس آنها در بین افراد افزایش می‌دهد. پیچیدگی عظیم سیستم‌های ایمنی به شدت به کاربرد زیست‌شناسی/پزشکی سیستم‌ها در ایمونولوژی نیاز دارد. تمرکز اساسی زیست‌شناسی سامانه‌ای، مطالعه ویژگی‌های در حال ظهور لایه‌های مختلف شبکه‌های مولکولی، سلولی و اکولوژیکی به جای اجزای منفرد مبتنی بر تقلیل‌گرایی از شبکه‌های سلولی و مولکولی در هم تنیده است. بنابراین، ویژگی‌های نوظهور سیستم‌های ایمنی به خاطر وجود بیش از حد شبکه‌های ایمنی بین سلولی و درون سلولی بدون مشارکت مناسب و توسعه بیشتر سیستم‌های زیست‌پزشکی که قبلاً با موفقیت در جنبه‌های مختلف مرتبط با آن به اثبات رسیده است،

به طبقه‌بندی دقیق‌تر بیمار و درمان شخصی‌سازی شده در آینده تکامل یابد. با انتشار گزارش دوره‌ای در مورد ابتکار پزشکی دقیق در سال ۲۰۱۱ و اعلامیه رئیس جمهور ایالات متحده آمریکا اوباما در سخنرانی خود در اتحادیه در سال ۲۰۱۵، پزشکی دقیق/شخصی به یکی از حوزه‌های مورد توجه در تحقیقات زیست‌پزشکی در سراسر جهان تبدیل شده است. رویکردهای سنتی مبتنی بر علائم بالینی و چند مارکر آزمایشگاهی کلاسیک تنها می‌توانند اطلاعات ناقصی در مورد تظاهرات بیماری ارائه دهند. علاوه بر این، ناهمگونی مولکولی و بالینی در بین بیماران در بسیاری از بیماری‌ها، به ویژه در بیماری‌های پیچیده چند عاملی بسیار شایع است. برای مثال، پاسخ‌های ایمنی بدن‌ها همان درمان‌ها ممکن است مختص فرد باشد. به عنوان یک نتیجه بالینی، برخی از داروهایی که به طور معمول استفاده می‌شوند، به عنوان مثال، استاتین‌ها، که به طور گسترده برای کاهش کلسترول تجویز می‌شوند، می‌توانند تنها برای بخش کوچکی از بیماران مفید باشند، در حالی که سایر داروها حتی ممکن است برای گروه‌های قومی خاص مضر باشند. بنابراین، برای محققان و پزشکان ضروری است که عوامل مولکولی و محیطی را که تعیین می‌کنند و چگونه یک بیمار به یک درمان خاص پاسخ می‌دهد، شناسایی کنند.

حرکت به سمت درمان شخصی‌شده ابتدا نیازمند آنالیز بی‌طرفانه در مقیاس بزرگ از ویژگی‌های ژنومی و مولکولی افرادی است که شرایط بیماری تعریف‌شده را تجربه می‌کنند تا بیومارکرهای قابل اعتماد ویژه بیمار را که ژنوتیپ‌ها، پروفایل‌ها/اندوتیپ‌های مولکولی، پیشرفت بیماری و داده‌های امیکس را به هم مرتبط می‌کنند و پردازش کند. تا کنون تحقیقات زیادی برای شناسایی بیومارکرهای حوزه‌ی پزشکی شخصی انجام شده است که در یکی از بلندپروازانه‌ترین آنها (NCT02465060، معروف به NCI-MATCH، که در سال ۲۰۱۵ راه‌اندازی شد) کارآزمایی بالینی بر روی هزاران شرکت‌کننده برای درمان متفاوت بیماران مبتلا به تومورهای جامد یا لنفوم‌ها، با توجه به ناهنجاری‌های ژنتیکی، با یکی از ۲۳ داروی منتخب بوده است. در سال ۲۰۱۷، دو مطالعه، رویکردهای درمانی را با استفاده از واکسیناسیون شخصی با هدف قرار دادن نوآنتی‌ژن‌های

علائمشان یا در ترکیب با برخی مارکرهای خونی تقسیم می کنند (شکل ۱، مرحله ۱). به دلیل قضاوت ذهنی علائم، پزشکان نمی توانند به راحتی و با دقت بیماران را تنها بر اساس علائم بالینی طبقه بندی کنند. برای اینکه بتوان بیماران را برای درمان دقیق و شخصی طبقه بندی کرد، نیاز شدیدی به شناسایی بیومارکرهای مولکولی قابل اعتماد وجود دارد. با توسعه تکنیک های مختلف توان عملیاتی بالا، ما اکنون رویکردهایی داریم که به طور سیستماتیک فرکانس زیرجمعیت های مختلف ایمنی و سطوح ترکیبات مختلف بیومارکرهای فعال کننده و یا بازدارنده را اندازه گیری می کنند و همچنین مولکول های کوچک و ماکرو در مقیاس ژنوم را از کل بافت تا سطوح

آشکار نمی شوند. بنابراین، ما باید به طور سیستماتیک صدها زیرجمعیت مختلف ایمنی را در هر بیمار مشخص کنیم و پروفایل تهیه کنیم، که تمرکز سیستم-ایمونولوژی است. در مقایسه با سلول های تومور، قابلیت حافظه سیستم ایمنی ما لایه دیگری از پیچیدگی را به ویژگی های خاص ایمونولوژی شخصی می افزاید. در واقع، پاسخ های سیستم ایمنی ما نه تنها توسط عوامل ژنتیکی، بلکه توسط عناصر محیطی نیز تعیین می شود. بیماری های پیچیده مرتبط با سیستم ایمنی اغلب ترکیبی از علائم بالینی مختلف را نشان می دهند و به طور سنتی، پزشکان عمدتاً بیماران را به زیر گروه هایی با یک بیماری منفرد بر اساس



شکل ۱: نقشه راه ارائه شده برای ایمونولوژی شخصی: به طور عمودی، برای ترجمه طبقه بندی نمونه به درمان های بالینی، ما باید از آنالیز پیشرفته "Omics" و رویکردهای یکپارچه سازی شبکه برای طبقه بندی بیماران در زیر گروه ها و سپس پیاده سازی رویکردهای درمانی شخصی برای درمان بیماران استفاده کنیم. به طور افقی: ممکن است لازم باشد حداقل ۷ مرحله را برای فعال کردن ایمونوتراپی های شخصی سازی شده طی کنیم، (۱) رویکرد مبتنی بر علائم کلاسیک، (۲) رویکرد فنوتیپینگ عمیق، (۳) پروفایل سازی چند لایه مبتنی بر آمیکس، (۴) آمیکس خاص سلولی (۵) آمیکس اختصاصی حالت، (۶) آمیکس تک سلول و آنالیز پاسخ پویا سلول های ایمنی، (۷) آنالیز یکپارچه ی یکپارچه، مرتب سازی سلولی فعال شده با فلورسانس (FACS)، گیرنده سلول T و گیرنده سلول (TCR / BCR)، افتراق بیان ژن (DEG)، پروفایل انحراف بیان شخصی (PEEP)، شبکه خاص نمونه (SSN). در زیر لایه اول (به اصطلاح لایه بندی)، رنگ های مختلف بیماران نشان دهنده بیماران فردی با پروفایل های سلولی و یا مولکولی متفاوت است در حالی که براکت ها نشان دهنده زیر گروه های بیمار هستند. در زیر لایه دوم (به اصطلاح لایه های تکنیک)، دایره های کوچک مختلف با رنگ های متمایز نشان دهنده سلول های ایمنی مختلف هستند در حالی که دایره های بزرگ نشان دهنده گروه های (زیر) بیماران هستند. در زیر لایه های تکنیکی، عکس فوری از ریزآرایه که آنالیز رونوشت مبتنی بر ریزآرایه یا مبتنی بر RNA-seq را نشان می دهد، در زیر لایه سوم (به اصطلاح لایه درمانی)، سرتگ ها یا رن ها یا تونالیته های مختلف رویکردهای درمانی متفاوتی را نشان می دهند. P1، Pn، P1، Pn در مرحله ۷ بیماران مختلف را تعیین می کند. G1، G2، G3، G4 ژن های مختلف را نشان می دهند، فلش های بین آنها نشان دهنده روابط تنظیمی است. سه تصویر در لایه دوم مرحله ۱ با مجوزهای Fotolia.com استفاده می شود.

شخصی داریم، نه تنها به دلیل پیچیدگی بسیار بالا در سیستم ایمنی، بلکه به بیماری‌های کاملاً متمایز نیز نسبت داده می‌شود. ما در اینجا چند نمونه از بیماری‌های مرتبط با ایمنی مانند بیماری‌های عفونی، بیماری‌های خودایمنی و آلرژی‌ها را توضیح می‌دهیم.

نمونه‌های منتخب در ایمونولوژی شخصی

در رابطه با کامات کلیدی «systems medicine» یا «systems biology»، تنها چند مطالعه در پایگاه داده اصلی کارآزمایی بالینی (<https://clinicaltrials.gov>) ثبت شده است. همانطور که انتظار می‌رفت، خیلی‌ها به «personalized» / «precision» و «inflammation» توجه نداشتند (فقط ۲۰۰ مطالعه). حتی در بین آن‌ها، اکثریت هنوز به رشته انکولوژی مربوط می‌شود. در جدول ۱، فهرست غیر جامعی از کارآزمایی‌ها با جنبه‌های ایمونولوژیک دقیق را می‌توان یافت (اچ‌آی‌وی حذف شد زیرا تمرکز این بررسی نیست). شایان ذکر است، تنها تعداد کمی از این مطالعات بیماری ایمونولوژی فهرست شده بر روی سنجش داده‌های امیکس تمرکز دارند، در حالی که بسیاری دیگر هنوز تنها جنبه‌های منفرد یک بیماری یا، در سناریوی بهتر، ترکیبی از چندین جنبه خاص را بررسی می‌کنند که به وضوح مشخص نمی‌شود. یک ارزیابی در مقیاس ژنوم، نشان‌دهنده تقاضای بالا برای توسعه بیشتر ایمونولوژی شخصی است.

سلولی اندازه گیری می‌کنند. برای مثال، اکنون می‌توانیم فنوتیپ‌سازی عمیق زیرمجموعه ایمنی، توالی‌یابی مجموعه گیرنده‌های سلول‌های T و یا (TCR/BCR)، توالی‌یابی ژنوم، توالی‌یابی ریزآرایه RNA، پروتئومیکس، متابولومیکس، اپی ژنومیکس، میکروبیومیکس و سایر آنالیزهای در مقیاس بزرگ انجام دهیم. بنابراین، ما در حال حاضر فرصتهایی برای به دست آوردن داده‌های با ابعاد بالا داریم، که اطلاعات بسیار غنی‌تر هستند و می‌توانند به عنوان پایه‌ای برای اکتشافات بیومارکرها و طبقه بندی بیماران استفاده شوند.

نسل بعدی ایمونولوژی، سیستم‌ها ایمونولوژی شخصی شده است که نه تنها از رویکردهای سیستم بیولوژی برای بررسی ایمونولوژی پایه، ترجمه‌ای و بالینی استفاده می‌کند، بلکه هدف آن شناسایی بیومارکرها شخصی شده بر اساس امیکس زمانی چندلایه و داده‌های بالینی برای طبقه‌بندی دقیق‌تر مربوط به سیستم ایمنی است. بیماری‌ها و به طور متوالی درمان‌ها را شخصی سازی کنید (شکل ۱، مرحله ۱-۳). از نقطه نظر بیماری، ایمونولوژی شخصی شده بر بیماری‌های التهابی، عفونی، خودایمنی، آلژیک و سایر بیماری‌های مرتبط با ایمنی تمرکز می‌کند که ظاهراً خارج از حوزه اصلی انکولوژی شخصی شده هستند. به طور خلاصه، ما نیاز به بالا بردن و توسعه ایمنی شناسی

وضعیت مطالعه	آنچه سنجیده و یا برنامه ریزی می شود	نوع نمونه های مورد آنالیز	بیماری مورد مطالعه	کد کارآزمایی بالینی
فعال	«پروفایل omics یکپارچه» تحمل گلوکز LDL، (OGTT)، تری گلیسیرید	خون	دیابت تایپ ۲	NCT02437084
فعال	بیان RNA، پروفایل های پروتئین و کوچک مولکولی روی سلول های ایمنی که در طول زمان قبل و بعد از فعال سازی ایمنی توسط واکسن تغییر می کنند ← پروفایل آمیکس یکپارچه	خون	واکسیناسیون پنوموکوک	NCT02654704
فعال	مجموعه داده های آمیکس شامل ژنتیک، اپی ژنتیک (متیلاسیون)، بیان ژن، microRNA و سطوح متابولومیک	مشخص نیست، احتمالاً خون	COPD	NCT02183818
فعال	ترنسکریپتوم زمانی زیر مجموعه های مختلف CD4+ مرتب شده، سایتوکاین های سرم، فنوتیپ عمیق سلول های ایمنی PBMC	خون، مدفوع	آلرژی به سم حشرات و گرده	NCT02931955
تکمیل شد	پلی مورفیسم/هاپلوتیپ ها، ترکیبات ژنوتیپ و برهمکنش های ژن-محیطی که می تواند بر التهاب تاثیر بگذارد.	مشخص نیست، احتمالاً خون	التهاب در بیماری مزمن کلیه و بیماری قلبی عروقی	NCT00897715
تکمیل شد	«داده های ژنتیکی»	مشخص نیست، احتمالاً خون	خس خس و آسم دوران کودکی	NCT01423461
تکمیل شد	«تست های ژنتیکی»، تست های عملکرد ریه	بزاق، احتمالاً خون، آزمایشات عملکرد ریه	آسم کودکان	NCT01681732
فعال	تأثیرات ژنتیکی بر شدت بیماری و استفاده از تکنیک های مدل سازی آماری برای درک بهتر فنوتیپ های بیماری	خون، آزمایشات عملکرد ریه	آسم	NCT01750411
فعال	«بیومارکرهای جدید» (به نحوی بر اساس یک سنجش LPS- از توضیحات مشخص نیست)	خون	سپسیس	NCT02721134
فعال	بیومارکر	خون، اشک، مایع نخاعی	Ms	NCT03109288
تکمیل شد	آلل HLA «بیومارکر» بیشتر مشخص نشده است	خون	Ms	NCT00942214

وضعیت مطالعه	آنچه سنجیده و یا برنامه ریزی می شود	نوع نمونه های مورد آنالیز	بیماری مورد مطالعه	کد کارآزمایی بالینی
فعال	پلی مورفیسم های ژنتیکی آنزیم های متابولیزه کننده دارو و فارماکو کینتیک سیکلوفسفامید	خون	لوپوس اریتماتوی سیستمیک	NCT01060410
فعال	کمپلکس پروتئین متصل شونده به کلسیم، S100A8/A9، پری آلبومین، هاپتوگلوبین (Hapto)، پروتئین C-reactive (CRP)، آنتی تریپسین α_1 ، آپولیپوپروتئین A1 (ApoA1)، فاکتور پلاکتی 4 (PF4)، پروتئین S100A12	خون	اسپوندیلوآرتریت	NCT03033095
تکمیل شد	پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی OAT1 (SNP)، OAT3، و OCT2، غلظت کراتینین پلاسما و وانکومایسین	خون	بیمارانی که وانکومایسین دریافت می کنند	NCT00251017
هنوز باز نشده است.	تاثیر ژن های ABCB1 و CYP2C19 بر فارماکو کینتیک لانزوپرازول، پرسشنامه، تست های عملکرد ریه	آزمایش خون و عملکرد ریه	رفلاکس معده و آسم کودکان	NCT03015610
فعال	تبدیل نمونه های پوست به سلول های بنیادی پرتوان برای رویکردهای ژن درمانی	نمونه های پوست	نقص ایمنی و تنظیم ایمنی	NCT00895271
فعال	Hominis anti IgG	-	آرتریت سپتیک مایکوپلاسما هومینیس مزمن شخصی شده.	NCT02508584
تکمیل شد	مشخص نشده است	خون، سواب بینی، مدفوع، بیوپسی پوست	پاسخ سیستم ایمنی به طور کلی	NCT01699893
تکمیل شد	وضعیت هاپلوتیپ گلو تاتیون ترانسفرز ز تا 1 (GSTZ1).	خون	داوطلبان سالم، بعداً بیماران مبتلا به کمبود کمپلکس پیرووات دهیدروژناز را هدف قرار دادند	NCT02690285
فعال	مقایسه ضایعات پوستی پسوریازیس مثبت/منفی HLA-Cw6 در سطح تک سلول	بیوپسی خون، پوست	پسوریازیس	NCT02929745

نحوه استفاده کامل از همان مقادیر کوچک نمونه های بیمار یا بیوپسی برای سنجش همزمان انواع مختلف مولکول ها و سلول ها نیز با چالش هایی همراه است زیرا انواع مختلف مولکول ها ممکن است به روش های بسیار متفاوتی برای آماده سازی نمونه نیاز داشته باشند. یک چالش بزرگ دیگر، ادغام مجموعه های داده چند لایه ای آمیکس با داده های بالینی است، زیرا ما کاملاً از دشواری مدیریت حتی یک نوع مجموعه داده در مقیاس ژنومی آگاه هستیم. باید توجه داشت که آنچه در جنبه های مجوز اخلاقی و حفاظت از داده های بیمار ساده به نظر می رسد، در واقعیت، بسیار چالش برانگیز است که در بخش های بعدی مورد بحث قرار خواهد گرفت. آخرین اما نه کم اهمیت، ما همچنین باید بر جنبه های پیچیده دیگری فائق آییم، برای نام بردن چند مورد، بار هزینه های مالی بالای رویکردهای مولتی آمیکس، که نه تنها به سنجش در مقیاس ژنوم، بلکه به تعداد بیشتری از پرسنل مورد نیاز برای نمونه برداری متراکم سری زمانی، و برای غلبه بر موانع تخصص متمایز و استانداردهای آزمایشگاه ها/گروه های محاسباتی درگیر (جدول ۲). مطالعه در حال انجام ما (NCT02931955) که فقط بر روی یک بیماری مدل تمرکز می کند تا یک رویکرد سری زمانی چند لایه را برای درک ویژگی های ژنتیکی و مولکولی آن ایجاد کند، باید بر همه مسائل ذکر شده غلبه کند. در پاراگراف های بعدی، چند نمونه را برجسته می کنیم و تمرکزهای بالقوه آینده حوزه های منتخب تحقیقات بالینی و بالینی را مورد بحث قرار می دهیم.

در حالی که برخی از مسائل، از جمله جمع آوری به موقع نمونه های سری زمانی، با موفقیت در بسیاری از کارآزمایی های بالینی کلاسیک انجام شده است، هنوز در چندین زمینه چالش های دیگری مانند هماهنگی، تایید اخلاق، حفاظت از داده ها، وجود دارد. هماهنگ کردن آزمایش های بالینی پیچیده برای به دست آوردن داده های چند لایه ای آمیکس در حال حاضر چالش برانگیز است. یعنی متقاعد کردن برای سازماندهی و همگام سازی فعالیت های شرکای مختلف مانند شرکای بالینی، بانک زیستی، آزمایشگاه ها، مدیران داده ها، گروه های آنالیز محاسباتی، و لجستیک حمل و نقل نمونه در میان شرکای مختلف، مستلزم مشارکت رهبری سطح بالا است. همچنین بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی، مانند رونویسی و متابولیسم، بسیار سریع تغییر می کنند و تقریباً تمام فرآیندهای بیولوژیکی و عملکرد سلول های ایمنی تحت تنظیم ریتم های شبانه روزی و سایر مکانیسم های مبتنی بر بازخورد منفی هستند. ممکن است طبق قضیه نمونه گیری نایکوئیست-شانون مجبور به گرفتن نمونه های سری زمانی با فواصل زمانی کوتاه برای برخی بیماری های ایمنی باشیم. بر اساس تجربه ما در کارآزمایی های بالینی، انجام نمونه برداری سری های زمانی با فواصل زمانی، به تلاش ها و منابع متفاوتی نیاز دارد. به ترتیب سال، ماه، روز، ساعت یا دقیقه. تاکنون، اکثر گروه های طولی عمدتاً از بیماران با فاصله سال ها/ماه یا در بهترین موارد هفته ها یا روزها نمونه برداری می کنند، که هنوز فقط مستلزم تلاش های معمول است. به علاوه

چالش های اصلی	راه حل های بالقوه
آنالیز در مقیاس ژنومی یا در مقیاس دقیق تر بر روی داده های «میانگین» انواع سلول های هتروژنوس از مایعات بدن (به عنوان مثال، خون یا PBMC) یا بیوپسی	آنالیز آمیکس اختصاصی نوع سلول و حالت خاص بر روی سلول های ایمنی طبه بندی شده
میانگین نتایج سلول های ایمنی فردی هتروژنوس	آمیکس تک سلول
عدم پیشرفت بیماری و بیومارکرهای پیش بینی کننده، پیش آگهی و هشدار دهنده اولیه بیماری	سنجش و تحلیل سری زمانی داده های آمیکس در طول مطالعات
عدم وجود پروفایل جامع انواع مختلف مولکول ها	آمیکس چند لایه و آنالیز تجربی و محاسباتی یکپارچه
تمرکز روی سلول های انسانی خودمان	آنالیز میکروبیوم پوست، ریه، روده و دستگاه تناسلی

چالش‌های اصلی	راه‌حل‌های بالقوه
عدم تأثیر زیاد SNV‌های شناسایی شده بر بیماری‌ها یا علائم	انتخاب بیماران یا افراد با معیارهای ورود یا خروج تعریف‌شده‌تر، به‌عنوان مثال، حذف افراد مبتلا به چند بیماری همزمان؛ اثرات ترکیبی تعداد بیشتر SNV با کامپیوترهای قدرتمندتر
در دسترس بودن ابزارهای آنالیز ژنتیکی متمرکز بر تحقیق	ابزارهای استاندارد آنالیز ژنتیکی مبتنی بر کلینیک با دقت، پایداری و قدرت محاسباتی بالاتر
تنها بخش کوچکی از بیماران با بیومارکرهای تنظیم‌شده بالا یا پایین با رویکردهای گروهی شناسایی شده‌اند.	پروفایل‌های آشفتگی بیان مربوط به هر فرد
تفسیر زیست پزشکی برای محققان یا پزشکان زیست پزشکی با استفاده از رویکردهای طبقه‌بندی مبتنی بر یادگیری ماشین هنوز ارائه نشده است	پروفایل‌های آشفتگی بیان مربوط به هر فرد
غیرقابل اطمینان و تکرار ناپذیری در یک یا پانل شناسایی شده از بیومارکرهای مولکولی	استانداردسازی در روش‌های نمونه‌گیری بالینی، سنجش نمونه، مدیریت و آنالیز داده‌ها؛ تعیین کمیت مطلق بیومارکرهای مورد نظر با استفاده از تعداد زیادی مجموعه داده امیکس به‌عنوان یک مرجع مشترک قابل اعتماد. شبکه اختصاصی نمونه شخصی (SSN)
سلول‌های ایمنی مرتبط با مولکول‌های مورد علاقه اغلب ویژگی‌های دینامیکی غیرخطی را نشان می‌دهند	تحلیل وضعیت فضایی سری زمانی
ناپایداری ترنسکریپت‌ها و متابولیت‌ها	آنالیز مبتنی بر پروتئومیکس
فقدان اطلاعات سلول‌های ایمنی در مورد مواجهه محیطی	آنالیز مبتنی بر اپی ژنومیک
داده‌های بالینی عظیم بدون ساختار و غیر استاندارد	ابزارهای متن‌کاوی قابل اعتماد و کارآمد
عدم ادغام دانش قبلی از مکانیسم‌های بیماری با بیومارکرهای بالقوه	ایجاد نقشه‌های مولکولی برای بیماری‌های مختلف
کلان داده‌های تکه تکه شده، غیر استاندارد، نامن، دیجیتالی نشده، ساختار نیافته، غیرمتمرکز و در حال افزایش	پلتفرم‌های اختصاصی مدیریت کلان داده و زیرساخت مشترک ملی و بین‌المللی با به روز رسانی طولانی مدت.
رضایت آگاهانه کلاسیک (ICs) با مدت زمان مشخص و اهداف تحقیقاتی.	ICs گسترده یا پویا
تهدید حریم خصوصی داده‌های بیمار به دلیل استفاده گسترده از رسانه‌های اجتماعی یا اطلاعات بالینی یا رفتاری مشتق از ابزار پوشیدنی	رویکردهای جدید ناشناس‌سازی و نام مستعار برای شناسایی بیماران
رویکردهای گروهی برای ارزیابی اثربخشی و ایمنی داروهای کاندیدا	ارزیابی جداگانه اثرات روی افراد یا زیر گروه‌های بیماران
هزینه مالی بالا و طولانی مدت	برای تعدیل و تمدید چارچوب دوره مالی جاری برای اکثر آژانس‌ها؛ همکاری نزدیک با ارائه دهندگان بیمه سلامت برای درمان متفاوت زیر گروه‌های بیمار
خطوط لوله تولید دارویی یک برش	خطوط لوله تولید سفارشی با هدایت چند امیکس

بیماری های خود ایمنی - لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE)

SLE یک بیماری خودایمنی است که عمدتاً زنان جوان را تحت تأثیر قرار می دهد، با تظاهرات پوستی، عروقی و سایر تظاهرات خود التهابی. به خصوص درگیری کلیه به شکل نفریت پیش آگهی را تعیین می کند. از امروز، هیچ درمان واحدی درمانی نیست و ناهمگونی بسیار زیادی در الگوهای بالینی و مولکولی وجود دارد. بنابراین، طبقه بندی بیماران برای بهبود درمان های شخصی ضروری است. برای این منظور، Banchereau و همکاران. ابتدا از صدها بیمار SLE کودکان از طریق یک کوهورت طولی نمونه خون گرفت و ترنسکریپتوم خون کامل را آنالیز کرد. به دنبال آن، رویکردهای آنالیز شبکه هم بیان ژن وزن را برای شناسایی ماژول های هم بیان خاص بیمار که بهترین همبستگی را با ویژگی های بالینی در طول زمان داشتند، به کار بردند. آن ها سپس از ماژول های مربوط به بیمار خاص برای خوشه بندی و طبقه بندی بیماران در هفت گروه بیمار استفاده کردند. بر این اساس، آن ها همچنین قادر به طبقه بندی دقیق بیماران آزمایش اضافی در زیر گروه های مربوطه بودند. این ماژول های بیان مشترک ممکن است برای طبقه بندی بیماران به زیرگروه هایی که نیاز به نمونه گیری طولی دارد، بسیار ارزشمند باشند. با این حال، ممکن است برای اکثر بیماران در دسترس نباشد.

در حالی که این یک گام مهم رو به جلو است، این مفهوم هنوز باید به عمل بالینی تبدیل شود تا بتوان از طبقه بندی بیمار برای شناسایی یک رویکرد درمانی بالقوه یا نظارت بر بیماری استفاده کرد. برای ارزیابی بیشتر این پتانسیل، ادغام لایه های ژنومیک، متابولومیک و دیگر داده ها مورد نیاز است. علاوه بر این، اطلاعات ترنسکریپتوم خون کامل هم ممکن است تا حدی تمام تظاهرات SLE را منعکس کند، و حتی ممکن است برخی از تغییرات متداول مهم بیماری خاص یا خاص بیمار را نادیده گرفت. ژن های داده شده ممکن است در انواع مختلفی از سلول های ایمنی بیان شوند.

به موازات آن، ما همچنین می توانیم بیماران مبتلا به SLE را با استفاده از اطلاعات پروتئینی، مانند اتوانتی بادی ها، طبقه بندی کنیم. Budde و همکارانش اخیراً یک سنجش در مقیاس متوسط با حداکثر ۸۶

آنتی ژن برای تشخیص اتوانتی بادی های متنوع درگیر در مسیرهای مختلف ایجاد کرده اند. با استفاده از چنین رویکردی، آن ها توانستند بیماران SLE را به پنج خوشه جدا کنند. چنین رویکرد مبتنی بر اتوانتی بادی همچنین ممکن است به طبقه بندی دقیق بیمار، به ویژه برای بیماری های خود ایمنی کمک کند. ما بر این باوریم که با اطلاعات اضافی در مورد لایه های دیگر داده های آمیکس و گسترش به طیف گسترده تری از آنتی بادی ها، طبقه بندی دقیق تر بیماران SLE باید در آینده نزدیک امکان پذیر باشد.

بیماری های آلرژیک - ایمونوتراپی آلرژن

آلرژی بیش از ۱۰ درصد از جمعیت بیشتر کشورها را تحت تأثیر قرار می دهد و عامل بیماری های ثانویه و بار مالی قابل توجهی است. در حال حاضر، تنها گزینه درمانی، ایمونوتراپی آلرژن (IT) است. این دارو از طریق فرآیندهای پیچیده ایمونولوژیکی عمل می کند که با حساسیت زدایی از ماست سل و بازوفیل شروع می شود که منجر به تغییرات در بخش سلول T و در نهایت تغییرات در سلول های B و همچنین ماست سل ها، بازوفیل ها و الگوهای پاسخ آلرژن ائوزینوفیل می شود.

خصوصیات اجزای آلرژن ها به طور قابل توجهی تشخیص مولکولی آلرژن ها را بهبود بخشیده است، به عنوان مثال، تمایز بین حساسیت مضاعف به زهر زنبور و زنبور و حساسیت متقابل، که به ایجاد IT مناسب کمک می کند. علاوه بر این، با آنالیز مؤلفه های با وضوح بالاتر، ما توانستیم نشان دهیم که حساسیت IgE غالب به Api m ۱۰ در بیماران منفرد ممکن است مارکر پیش بینی کننده خوبی برای شکست در درمان آلرژن زهر زنبور عسل در فناوری اطلاعات باشد. با این حال، موفقیت درمان را نمی توان با رویکردهای کلاسیک از جمله سنجش IgE یا IgG4 خاص، آزمایش پوست یا تست های فعال سازی بازوفیل پیش بینی کرد.

به منظور پیش بینی بهتر موفقیت فناوری اطلاعات، رایان و همکارانش رپرتوار TCR و فهرستی از بیان ۲۴ ژن از لنفوسیت های T تک CD4+ را در بیماران مبتلا به آلرژی به بادام زمینی که تحت IT خوراکی قرار می گیرند، و افراد کنترل سالم را آنالیز کرده اند. سلول های CD4+ T بیماران را می توان به هفت گروه خوشه بندی کرد که

است، زیرا ابتدا نیاز به درک جامع از ویژگی‌های فردی میزبان و پاتوژن قبل از روشن شدن چگونگی تأثیرات متقابل آن‌ها در تعیین پیامدهای عفونت در بیماران مختلف دارد. مطالعات رونویسی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMCs)، سلول‌های CD4+ T و CD8+ در طول دوره عفونت برای شناسایی ژن‌های مرتبط با بقا، خستگی یا فنوتیپ حافظه مورد بررسی قرار گرفت. با این حال، این مطالعات ارزش‌های نشانگر زیستی پیش‌بینی‌کننده را به فهرست‌های شناسایی شده ژن‌ها اختصاص ندادند.

تنوع بین فردی و درون فردی در ایمنی انطباقی و ذاتی، همچنین سن، جنسیت، قومیت، میکروبیوم، عوامل محیطی (همچنین به عنوان اکسپوزوم شناخته می‌شود) یا بیماری‌های موجود بر پاسخ‌های کلی به آنتی ژن‌ها تأثیر می‌گذارد. مطالعات سیستمیک این پارامترها با توجه به پاسخ به واکنش‌ها احتمالاً به پیش‌بینی پیامدهای واکنش‌ها، با شناسایی امضاهای مولکولی ایجاد شده پس از واکنش‌ها، کشف مکانیسم‌های بیولوژیکی ایجادکننده آن‌ها، و ارزیابی ارزش پیش‌بینی آن‌ها نسبت به وضعیت پاسخ‌دهنده کمک خواهد کرد. در این راستا، سیستم واکنش‌های مولکولی می‌تواند امکان شناسایی امضاهای مولکولی شخصی شده اولیه مرتبط با واکنش‌ها را فراهم کند، که می‌تواند اثربخشی یک استراتژی واکنش‌ها را نظارت یا پیش‌بینی کند یا می‌تواند به شناسایی بیماران در معرض خطر واکنش‌های سیستمیک پس از واکنش‌ها کمک کند. از طریق تجزیه و تحلیل رونویسی، فوراتی و همکارانش یک امضای مرتبط با سن و یک امضای ۱۵ ژنی را شناسایی کردند که پیش‌بینی‌کننده پاسخ کم واکنش به آنتی ژن سطحی ویروس هپاتیت B در افراد مسن بود. احتمالاً به دلیل این واقعیت است که آنالیز ترانسکریپتومیک بر اساس نمونه‌های خون کامل بود که قدرت پیش‌بینی آنها کاملاً محدود است. این مثال‌ها نشان می‌دهند که اولین عکس‌ها با استفاده از رویکردهای مشابه «ایمن‌شناسی شخصی» برای بیماری‌های عفونی، نه تنها محققان را قادر می‌سازد تا تغییراتی را که در میزبان پس از انتقال پاتوژن یا هم‌تای واکنش آن رخ می‌دهد، مستند کنند، بلکه ابزار اصلی برای پیش‌بینی پیامدهای عفونت یا واکنش‌ها قبل از وقوع است.

تغییرات فنوتیپی پیچیده‌ای را در لنفوسیت‌های CD4+ در طول دوره IT خوراکی نشان دادند، و تغییرات زمانی مشخص به‌ویژه در لنفوسیت‌های CD4+ اختصاصی آنتی ژن مشاهده شد. بیمارانی که با موفقیت یک چالش خوراکی دوسوکور کنترل شده با دارونما را پشت سر گذاشتند، تنها ۳ ماه پس از القای IT، تغییر به سمت فنوتیپ «Th2 متحمل» را نشان دادند.

اگرچه چنین آنالیزی طیف گسترده‌ای در پیش‌بینی موفقیت IT بسیار قدرتمند است، این اطلاعات تنها بخش کوچکی از تمام تظاهراتی را نشان می‌دهد که واقعاً نمایه‌های ایمنولوژیکی بیماران را منعکس می‌کند. فنوتیپ عمیق سطح سیستمیک زیرمجموعه‌های ایمنی مرتبط مختلف و پروفایل بیان مقیاس ژنوم یا سطوح غلظت رونوشت‌ها، پروتئین‌ها و متابولیت‌های هر نوع سلول ایمنی مربوطه باید توصیف و طبقه‌بندی مولکولی بسیار دقیق‌تر و بی‌طرف‌تری را در ترکیب با اطلاعات بالینی کلاسیک ارائه دهد. به عنوان مثال در کارآزمایی بالینی که توسط ما آغاز شده است (NCT02931955)، جدول ۱) دنبال می‌شود.

IT خود کانون تحقیقات آینده خواهد بود و در سال‌های آینده دقیق‌تر و متناسب با افراد خواهد شد. به عنوان یک ابتکار، آلرژن‌های نوترکیب که برای اهداف تشخیصی تولید می‌شوند، گزینه جالبی برای IT شخصی متناسب با آینده ارائه می‌کنند و ممکن است جایگزین عصاره‌های خام کل آلرژن امروزی شوند که ممکن است در ترکیبشان متفاوت باشد. این ممکن است به کاهش تعداد بیمارانی که از عوارض جانبی درمان رنج می‌برند کمک کند، زیرا تا ۴۰٪ از بیماران تحت IT زیر جلدی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، که برای اطمینان از پایداری بیمار، با کمک طبقه‌بندی مبتنی بر امیکس باید کاهش یابد.

بیماری‌های عفونی

بیماری‌های عفونی عامل اصلی مرگ و میر در سرتاسر جهان هستند که به دلیل عدم کارایی تشخیصی و دسترسی ضعیف به درمان، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، تقویت می‌شوند، در حالی که افزایش مقاومت ضد میکروبی به عنوان یک چالش اصلی برای سلامت عمومی جهانی به نظر می‌رسد. نظارت و درمان بیماری‌های عفونی به‌ویژه از دیدگاه پزشکی شخصی چالش‌برانگیز

چالش های اصلی برای ایمونولوژی شخصی

از بافت کامل گرفته تا آمیکس خاص سلول و خاص حالت خاص.

تاکنون، اکثر مطالعات در سطح ژنوم، نتایج «میانگین» زیرجمعیت های مختلف ایمنی را گزارش کرده اند، به عنوان مثال، از PBMCs یا حتی خون کامل یا سایر مایعات بدن یا نمونه برداری ها (جدول ۲). اگرچه اخیراً رویکردهای پیشرفته دکانولوشن سلولی *in-silico* برای استخراج اطلاعات خاص نوع سلولی از بافت های کامل ایجاد شده است، اما آنها از محدودیت های جدی رنج می برند. برای مثال، عمدتاً می تواند گروه هایی از بیماران را در مقابل افراد سالم آنالیز کند، که در تضاد با الزامات پزشکی شخصی شده است. بنابراین، شناسایی بازیکنان کلیدی مولکولی و سلولی در ایمونولوژی شخصی شده تنها زمانی می تواند موفقیت آمیز باشد که زیرجمعیت های سلولی خاص جدا شده با توجه به داده های آمیکس آنها در سطح دقیق تری ارزیابی شوند، به عنوان مثال، از آنالیز سلول های CD4+ T و سپس جداسازی بیشتر آنها به زیرگروه های آنها (به عنوان مثال، سلول های T تنظیمی (Th1، Th2، Th17)، Tregs) استفاده شود. یک قدم جلوتر، بسیاری از بیماری ها عمدتاً با اختلال عملکرد در زیرمجموعه های خاصی از سلول های ایمنی در حالت فعال سازی خاص یا سایر حالت های عملکردی مشخص می شوند در حالی که رشد آن سلول های ایمنی دست نخورده است. برای مثال، تومورهایی که به سلول های CD8+ T نفوذ می کنند، عمدتاً یک فنوتیپ (حالت) خسته را نشان می دهند، و میزان تقویت مجدد سلول های T خسته شده محیطی در رابطه با بار تومور قبل از درمان، نتایج بالینی بیماران را تعیین می کند. مگر اینکه ما آنالیز آمیکس را روی زیرمجموعه های بسیار مرتب شده سلول های ایمنی در حالت های داده شده انجام دهیم، از جمله، استراحت در مقابل تحریک شده، خسته در مقابل سلول های T غیر خسته ۴۵ (شکل ۱، مرحله ۵-۴). ما نمی توانیم بی طرفانه حقایق بی شماری را کشف کنیم که آیا و چگونه زیرمجموعه های خاصی از سلول های ایمنی در حالت های معین می توانند به پیامدهای بالینی بیماران خاص پس از درمان کمک کنند یا آنها را پیش بینی کنند. این تقاضا برای بررسی عمیق تر آنالیز آمیکس

خاص نوع سلول و حالت خاص (شکل ۱، مرحله ۵-۴) توسط سلول های ایمنی ساکن بافت پیچیده تر می شود، که ممکن است الگوهای مولکولی کاملاً متفاوتی را بین بافت های مختلف (به عنوان مثال سلول های T حافظه انسان از مغز استخوان و PBMC) نشان دهند. سلول های ایمنی ساکن بافت نیز ممکن است در پاتوژنز بسیاری از بیماری ها نقش داشته باشند. پیشرفته ترین مرتب سازی سلول های فعال شده با فلورسانس چند کاناله (FACS) به دنبال آنالیز آمیکس چنین ارزیابی فوق الذکر را مجاز می سازد.

آمیکس تک سلول (sc)

رویکردهای «حد وسط» مبتنی بر نوع سلول سهم عمده ای در درک شبکه های مولکولی و عملکرد سلول ها داشته اند. با این حال، هیچ سلول واحدی حتی برای یک نوع سلول یکسان نیست و ما نمی دانیم که مقادیر «حد وسط» دقیقاً به چه معنا هستند (جدول ۲). چنین تمایزی در بین سلول های فردی مختلف می تواند ناشی از جهش، تغییرات تصادفی یا اختلالات محیطی باشد. این تفاوت ممکن است در سطوح مختلف مولکولی (DNA، رونویسی کدکننده و غیر کدکننده، ترجمه، متابولیسم، تغییرات اپی ژنتیکی و سطوح دیگر) منعکس شود. هتروژنیته مولکولی در بین سلول های منفرد ممکن است در نهایت باعث هتروژنیته عملکردی شود. چنین ناهمگونی مولکولی نیز ممکن است به مراحل مختلف فعال سازی نسبت داده شود، که ممکن است به ویژه برای سلول های ایمنی صادق باشد.

بر اساس پیشرفت های اخیر (شکل ۱، مرحله ۶) در sc-transcriptomics، sc-proteomics و حتی سنجش همزمان اپی توپ و رونویسی در سلول های منفرد، ما اکنون در موقعیت منحصر به فردی برای توصیف هتروژنیستی مولکولی و عملکردی جمعیت های سلولی نادر هستیم. پیشرفت قابل توجهی در مطالعات sc-s برای توصیف بهتر ناهمگنی سلول های تومور در سرطان و مغز و همچنین برای نشان دادن ناهمگنی برخی از سلول های ایمنی، به عنوان مثال، ماکروفاژها و سلول های دندریتیک صورت گرفته است.

علاوه بر این، پیشرفت های اخیر در اپی ژنتیک به ما این امکان را داده است که آنالیز sc-epigenomic را

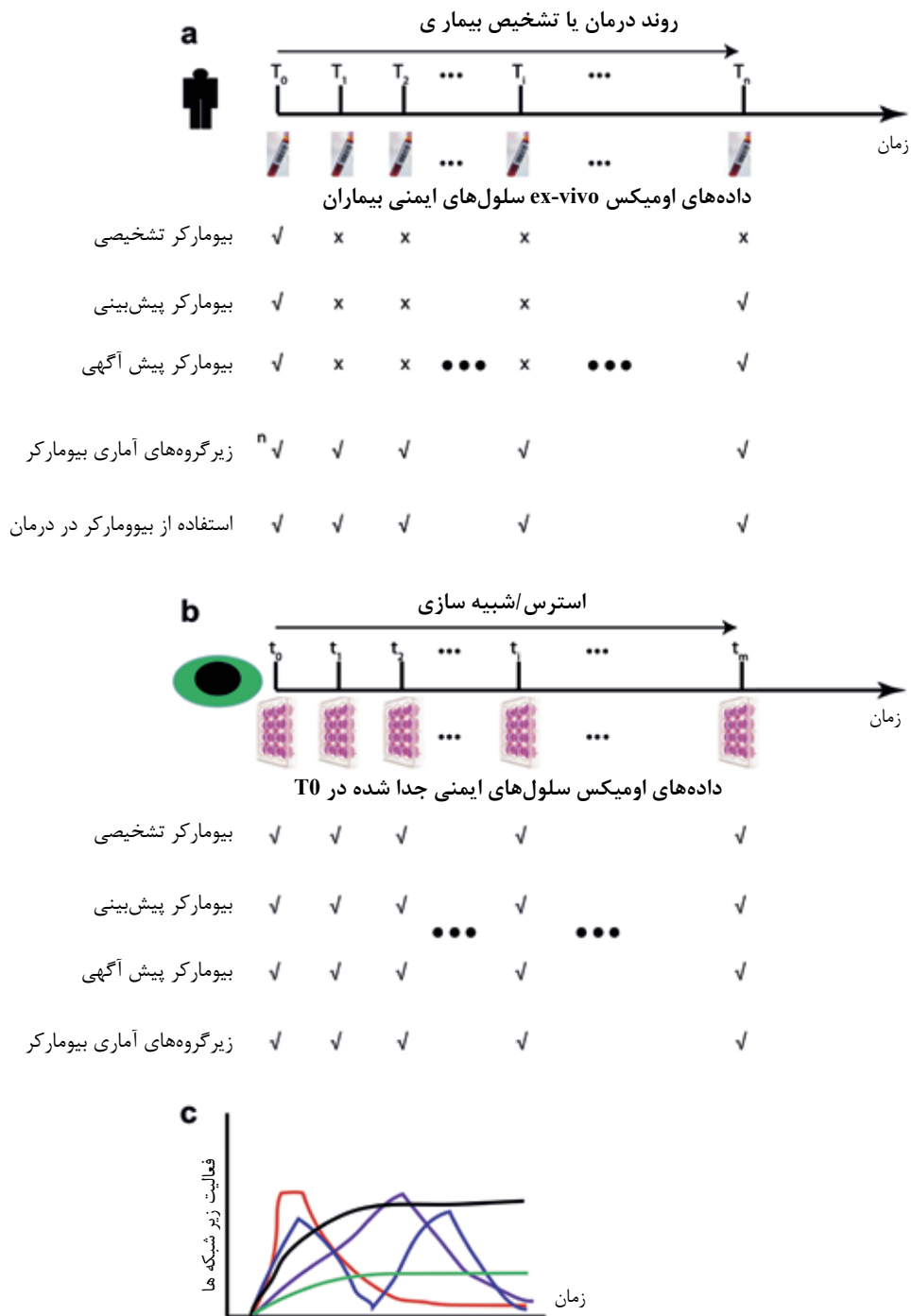
بیومارکرها پیش بینی کننده تشخیصی یا درمانی در مطالعات بالینی گزارش نکرده است. در سال های آینده پیش بینی شده است.

مطالعات طولی و تحلیل دینامیکی

در حالی که مفهوم پیگیری طولی آینده نگر یک عنصر کلیدی در مطالعات بالینی برای کمک به شناسایی عوامل خطر آینده نگر، بیومارکر پیش آگهی و اثربخشی درمان برای بیماری ها است (شکل ۲)، این هنوز باید در تحقیقات مبتنی بر امیکس مدرن اجرا شود (جدول ۲). همانطور که در مورد اکتساب جهش در سلول های سرطانی نشان داده شده است، ممکن است با ایجاد یک درخت ردیابی نسب به صورت گذشته نگر پشتیبانی شود. علاوه بر این، ایجاد مطالعات کوهورت طولی برای بیومارکر پیش بینی کننده از آنالیز امیکس ضروری است، به عنوان مثال، بیومارکر هشدار اولیه انتقال بحرانی (شکل ۲a)، قبل از ظهور علائم بالینی آشکار، زمانی که ممکن است برای درمان مؤثر یا درمان بسیاری از بیماری های مزمن خیلی دیر باشد. شناسایی آن بیومارکر هشداردهنده اولیه می تواند عمیقاً به ما کمک کند تا در مورد زمان و نحوه اعمال درمان های پیشگیرانه برای بسیاری از بیماری های مزمن که تاکنون غیرقابل درمان هستند، تصمیم بگیریم (جدول ۲). سپس باید این امر به روشی شخصی سازی شده در یک رویکرد آینده نگر اعمال شود. هتروژنیسیته در بیماران نه تنها در سطح بیان ژن ها و پروتئین های کدکننده و غیرکدکننده، غلظت متابولیت ها، فعالیت پروتئین های انتقال سیگنال یا ترکیبی از آن ها اثر خود را نشان می دهد بلکه در شبکه های برهمکنش مولکولی حاصل، به ویژه در الگوهای پاسخ پویا و خروجی عملکردی شبکه ها به دنبال استرس فیزیولوژیکی یا پاتولوژیک نیز اثر خود را اعمال می کند. با این حال، همه بیومارکرها «ایستا» فاقد اطلاعات در مورد مکانیسم مولکولی زیربنایی هستند، که حداقل تا حدی، معمای فعلی را توضیح می دهد که چرا اغلب بیومارکرها لزوماً اهداف درمانی یا پیش آگهی مناسبی نیستند. به منظور ارائه بیومارکرها مبتنی بر مکانیسم و طبقه بندی زیر بیماران، پیشگامان، به عنوان مثال، Kholodenko و همکارانش، قبلاً شروع به کشف مارکرها پیش آگهی جدید با شبیه سازی خروجی پویا مسیرهای انتقال

در انواع مختلف سلول ها، مانند جنین، آدنوکارسینوم اولیه ریه، فیبروبلاست ها و سلول های کبدی انجام دهیم. جالب تر اینکه، تکنیک های پیشرفته ای نیز برای آنالیز sc-metabolomics، به ویژه برای آنالیز سلول های سرطانی در گردش که منجر به متاستاز می شوند، ایجاد شده اند. با این حال، این رویکردها هنوز به طور جامع برای جمعیت های نادر سلول های ایمنی، از جمله Tregs، سلول های کشنده طبیعی، سلول های لنفوئیدی ذاتی و سایر موارد به کار گرفته نشده اند. در مراحل بعدی، این روش ها را می توان با تکنیک های تصویربرداری به عنوان مثال، ImageStream که قدرت فلوسایتومتری و میکروسکوپ را ترکیب می کند، ترکیب کرد تا دانش در مورد عملکرد سلول های ایمنی، تعامل پروتئین-پروتئین و تعامل سلول-سلول را افزایش دهد. استفاده از این رویکردهای مولتی امیکس در یک محیط وسیع تر به حداکثر کردن پوشش، دقت و تکرارپذیری در سال های آینده متکی است و امکان پیش بینی دقیق تر از ژنوتیپ تا اندوتیپ تا فنوتیپ را فراهم می کند.

سوال چالش برانگیز بعدی این است که تا چه حد می توانیم آنالیز مبتنی بر تک سلول را برای اهداف تشخیصی یا پیش آگهی در تنظیمات بالینی واقعی اعمال کنیم، زیرا هتروژنیته در بین سلول های ممکن است حتی بیشتر از هتروژنیته در بین بیماران فردی باشد. می توان تصور کرد که درجه هتروژنیته برای یک نوع سلول خاص ممکن است در بیماران مبتلا به بیماری های خاص افزایش یا کاهش یابد. در این صورت، درجه هتروژنیته یا فرکانس ها یا خوشه های زیرمجموعه های سلولی با مشخصه ریز می توانند به عنوان بیومارکر استفاده شوند. تعداد سلول های منفرد مورد نیاز برای ارائه بینش قابل اعتماد در مورد هتروژنیته بیان ژن، متیلاسیون یا متابولیسم باید بین هزینه آنالیز و توان آماری مورد نیاز متعادل شود. با کاهش هزینه در تکنیک های توالی یابی، ما قدرت بیشتری برای شناسایی مارکرها تشخیصی و پیش آگهی قابل اعتماد از سلول های ایمنی منفرد جدا شده برای بیماری های مرتبط با ایمنی خواهیم داشت. اگرچه چند کارآزمایی بالینی در حال انجام است یا به تازگی به پایان رسیده است (به عنوان مثال، NCT02929745 و دیگران، جدول ۱)، هیچ کدام تاکنون استفاده از ترانسکرپتوم تک سلول را برای شناسایی



شکل ۲: مطالعات طولی و اندازه گیری دینامیکی برای کشف انواع مختلف بیومارکرها حیاتی هستند. (a) پیگیری طولی بیماران فردی با آنالیز آمیکس چند لایه برای شناسایی انواع مختلف بیومارکرها ضروری است. مارکرها بررسی در نقطه زمانی معین، اندازه گیری و ارزیابی بالینی آمیکس لازم را برای آشکار کردن نوع معین بیومارکر نشان می دهد در حالی که نماد متقاطع نشان دهنده دخالت غیرضروری در نقطه زمانی معین برای نوع معین بیومارکر است. (b) آنالیز سری زمانی آمیکس سلول های ایمنی جدا شده کشت شده از اولین بازدید (T_0 در پانل a) به دنبال تحریک یا استرس خاص نیز می تواند به استخراج انواع مختلف بیومارکرها کمک کند. (c) انواع مختلفی از الگوهای دینامیکی مسیرها یا ماژول ها یا زیرشبکه های مختلف نوع مربوطه سلول های ایمنی جدا شده از PBMC یا سایر بافت های بیماران منفرد ممکن است برای طبقه بندی زیرگروه بیماران ارزشمند باشند. فعالیت های زیرشبکه در زمان معین را می توان با سطوح بیان ژن های هم بیان شده، یا با سطوح بیان ژن های مؤثر (مانند سیتوکین ها) یا هر بازخوانی دیگری که می تواند فعالیت ها یا خروجی های مسیر معین را تعریف کند.

پیش‌بینی وضعیت‌های بیماری ایمنی وجود دارد که در ریاضیات به عنوان جاذبه‌ها نیز شناخته می‌شوند. می‌توان با استفاده از اندازه‌گیری‌های دینامیکی لایه‌های مختلف مولکول‌ها در هر نوع سلول ایمنی مرتبط، یا با استفاده از اندازه‌گیری‌های دینامیکی فرکانس‌ها و مارکرها عملکردی، مانند فعال کردن یا مهار گیرنده‌ها یا سیتوکین‌ها/کموکاین‌ها، یا واسطه‌های سیتوتوکسیک هر یک، مدل‌های فضای حالت ساخت. نوع سلول‌های ایمنی مربوطه در حالت ایده‌آل، ممکن است نیاز به ترکیب هر دو الگوی دینامیکی لایه‌های مختلف مولکول‌ها و انواع مختلف سلول‌های ایمنی باشد، زیرا با گیرنده‌های فعال یا بازدارنده شناخته شده به تنهایی نمی‌توانیم تمام جنبه‌های عملکردی و پتانسیل پاسخ سلول‌های ایمنی داده شده را آشکار کنیم. تنها از این طریق، می‌توان از مجموعه‌های داده‌های در مقیاس بزرگ سری زمانی برای پیش‌بینی اختلالات ایمنی آینده یا پیشرفت بیماری استفاده کامل کرد و در عین حال اشکالات ظاهری مدل‌های فضای حالت فعلی، مانند ناتوانی در پیش‌بینی طولانی مدت را در نظر داشت.

آنالیز میکروبیوم

ارتباط واضحی بین میکروبیوم روده انسان و ایجاد بیماری‌های مرتبط با سیستم ایمنی، مانند بیماری التهابی روده و آلرژی وجود دارد. به طور کلی، تنوع بیشتر میکروبیوتای یک فرد با کاهش خطر ابتلا به آسم و سایر آلرژی‌ها مرتبط است و حتی می‌تواند تا حدودی ایجاد آلرژی را پیش‌بینی کند. با استفاده از یک رویکرد یادگیری ماشینی، از داده‌های میکروبیوم استفاده شد (به عنوان مثال، برای طبقه‌بندی بیماران مبتلا به سندرم روده تحریک پذیر با موفقیت در زیر گروه‌ها) (شکل ۱، مرحله ۳). تژدو و همکاران توانستند بیماران مبتلا به بیماری کرون را بر اساس ترکیب میکروبیوتای مدفوع به درستی شناسایی کنند. در حالی که ریه از نظر تاریخی بدون میکروب در نظر گرفته می‌شد، دانش در مورد میکروبیوم ریه انسان به لطف مزایای تکنیک‌های مبتنی بر توالی‌ابی نسل بعدی، در سال‌های گذشته به طور پیوسته در حال افزایش است. مجموعه داده‌های میکروبیوم انسانی (<http://hmpdacc.org>) نشان می‌دهد که گونه‌های باکتریایی فراوانی در ریه وجود دارد و این

سیگنال مربوطه بر اساس سطوح بیان رونویسی اندازه‌گیری شده در به طور قابل توجهی، آنها قبلاً با موفقیت نشان داده‌اند که شاخص‌های خروجی مختلف، مانند دامنه حداکثر (A)، آستانه فعال سازی (K_{50})، و توان هیل (H) کیناز N ترمینال Jun. پاسخ‌های سیگنالینگ سلول‌های تومور (شکل ۱، مرحله ۶)، می‌تواند برای پیش‌بینی بقای ضعیف یا مطلوب بیماران مبتلا به نوروبلاستوما استفاده شود.

در سیستم ایمنی، درجه هتروژنیسیته نه تنها در مورد انواع متعدد سلول‌های ایمنی، بلکه در مورد وضعیت‌های مختلف سلول‌های ایمنی، و حتی انواع سلول‌های گذرا با انعطاف‌پذیری دو جهته، پیچیده‌تر است. درجه هتروژنیسیته با تعاملات چنین طیف وسیعی از سلول‌های ایمنی پیچیده‌تر می‌شود. در سطح مولکولی، قبلاً نشان داده شده است که ماژول‌های ژنی که بر اساس الگوهای بیان رونوشت در خون محیطی افراد مسن سازمان‌دهی شده‌اند، می‌توانند برای طبقه‌بندی آن افراد در دو حالت بالینی و ایمنی کاملاً متفاوت استفاده شوند. انتظار می‌رود کار به توصیف انواع مختلفی از مولکول‌ها، نه تنها در دینامیک انتقال سیگنال (شکل ۱، مرحله ۶)، بلکه در الگوهای دینامیکی بیان ژن و اصلاح اپی‌ژنتیکی (جدول ۲) زیر مجموعه‌های ایمنی جدا شده خاص که باید قادر باشند، مشخص کند. برای ارائه قدرت پیش‌بینی و طبقه‌بندی بسیار بهتر (شکل ۲b، c). تا جایی که ما می‌دانیم، متاسفانه این مسیر امیدوارکننده هنوز در ایمونولوژی وجود ندارد.

با امکان به دست آوردن اندازه‌گیری‌های مقیاس بزرگ سری زمانی بر روی انواع مختلف مولکول‌ها و سلول‌های ایمنی بیماران در گروه‌های طولی به خوبی طراحی شده، در موقعیت قدرتمندی منحصر به فرد قرار خواهیم گرفت. ما نه تنها می‌توانیم الگوهای دینامیکی مولکولی و سلولی را توصیف کنیم (شکل ۲a-c)، بلکه می‌توانیم تغییرات احتمالی وضعیت ایمنی آینده بیماران را نیز پیش‌بینی کنیم. مدل‌های وضعیت فضایی تثبیت‌شده‌ای که به طور گسترده در زمینه‌های مختلف مانند مالی، بوم‌شناسی، پویایی جمعیت و پیش‌بینی آب‌وهوا استفاده می‌شوند، باید در پیش‌بینی وضعیت ایمنی با استفاده از مجموعه‌های داده سری زمانی گروه‌های طولی سازگار و قابل استفاده باشند (جدول ۲). حداقل سه راه برای

کلونی سازی در افراد مبتلا به آسم در مقایسه با افراد سالم متفاوت است. علاوه بر این، کاهش تنوع میکروبیوتا پس از درمان آنتی بیوتیکی از نظر بالینی با کاهش بیش از حد پاسخ دهی برونش ارتباط دارد. این به تداخل بین میکروبیوم ریه و توسعه آسم اشاره دارد. کاهش تنوع میکروبیوتای پوست نیز در بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک یا پسوریازیس مشاهده شد. این مطالعات نشان می دهد که میکروبیوم پوست، روده و ریه می تواند به طور بالقوه به عنوان بیومارکر تشخیصی و اثربخشی درمان در زمینه بسیاری از بیماری های دیگر با واسطه ایمنی مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این، تفاوت های بین فردی گزارش شده در محتوای ژن گونه های باکتریایی روده انسان ممکن است ضرورت توسعه رویکردهایی را برای استفاده از لایه های اطلاعات اضافی در میکروبیوم خاص بیمار برای طبقه بندی دقیق زیر گروه های بیمار نشان دهد (جدول ۲). در نهایت، این نه تنها باید جنبه های تشخیصی یا پیش آگهی را پوشش دهد، بلکه باید به سمت رویکردهای درمانی نیز حرکت کند.

شبکه شخصی و تحلیل محاسباتی

پس از تولید داده های آنالیز در مقیاس بزرگ، مرحله چالش برانگیز بعدی آنالیز محاسباتی این داده ها برای طبقه بندی دقیق بیماران به زیر گروه هایی بر اساس مجموعه های مختلف بیومارکرها در لایه های مولکولی مختلف در ترکیب با فرکانس های زیرمجموعه های سلول های ایمنی، اطلاعات بالینی است. و داده های اپیدمیولوژیک تلاش های قابل توجهی در حال حاضر برای شناسایی وریده های ژنتیکی که با صفات خاصی مرتبط هستند (به عنوان مثال، شناسایی ارتباط قوی بین وریده تک نوکلئوتیدی (SNV) با صفات منفرد یا بیماری های پیچیده) انجام شده است. اگرچه الگوریتم های محاسباتی زیادی برای این منظور توسعه داده شده اند، متأسفانه اکثر SNV های شناسایی شده تأثیرات بسیار کمی بر صفات یا بیماری های داده شده دارند. بدون ذکر نوع دیگری از داده های آمیکس، با حجم بی سابقه ای از داده های توالی ژنومی پس از اعلام ابتکار پزشکی دقیق در بسیاری از کشورها، ما قطعاً به الگوریتم های تراز و مونتاژ قدرتمندتری نیاز داریم. این رویکردها برای توانمندسازی ما برای انجام فراخوانی دقیق تر واریتسه و آنالیز توالی

ژنومی دقیق تر برای شناسایی وریده های خاص بیمار که در پاتوژن یک بیماری خاص در یک بیمار خاص نقش دارند، حیاتی هستند. در این زمینه، ابزارهای آنالیز ژنتیکی مبتنی بر کلینیک در مقابل پژوهش متمرکز که به دقت، ثبات، و قدرت/سرعت محاسباتی بالاتری نیاز دارند، هنوز توسعه نیافته اند.

به طور سنتی، پزشکان قبلاً از اطلاعات غلظت متابولیت ها، به عنوان مثال، سطح گلوکز سرم برای اهداف تشخیصی استفاده می کردند (شکل ۱، مرحله ۱). اخیراً، محققان قبلاً ابزارهای بیوانفورماتیک مختلفی را برای استفاده از کلان داده ها، به عنوان مثال، داده های متابولومیک برای جستجوی بیومارکرها توسعه داده و به کار گرفته اند (شکل ۱، مرحله ۳). به عنوان مثال، محققان قبلاً شروع به استفاده از داده های متابولومیک به عنوان بیومارکرها پاسخ درمانی اولیه سرطان، تشخیصی و درمانی کرده اند. محققان همچنین از داده های متابولومیک به عنوان بیومارکرها برای بیماری های خودایمنی مختلف مانند بیماری کرون و اخیراً بیماری های روماتیسمی استفاده کرده اند. از آنجایی که متابولیت ها در یکی از لایه های موثر عملکردهای سلولی قرار دارند، مزایای خاصی برای استفاده از داده های متابولومیک به عنوان بیومارکرها وجود دارد. اگرچه از نظر فنی در مقایسه با آنالیزهای mRNA چالش برانگیزتر است، اما متابولوم درون سلولی نوع خاصی از سلول های ایمنی باید نه تنها بینش جدیدی در مورد متابولیسم ایمنی، بلکه بیومارکرها خاص نوع سلولی نیز ارائه دهد.

تلاش های کنونی برای شناسایی بیومارکرها و طبقه بندی زیرگروه های بیمار عمدتاً بر روی داده های ترنسکریپتوم انجام می شود که یا از سنجش ریزآرایه ای از پیش انتخاب شده توسط پروب یا تکنیک های مبتنی بر توالی یابی RNA بی طرف به دست می آیند. بسیاری از رویکردهای آماری برای شناسایی بیومارکرها با بیان متفاوت استفاده شد (شکل ۱، مراحل ۳ و ۷). با این حال، بیومارکرها کشف شده بر اساس این رویکردهای گروهی، تنها در بخش کوچکی از گروه های بیمار در مقایسه با گروه های سالم تنظیم می شوند. علاوه بر این، به دلیل تعداد محدود نمونه های آموزشی، بیوانفورماتیکان اغلب فهرستی طولانی از بیومارکرها با بیان متفاوت تولید می کنند. با این حال، برای اعمال موفقیت آمیز

که نتایج را ارائه می‌داند بسیار متفاوت بود. بنابراین یک شاخص حساسیت بین‌المللی معرف‌های مورد استفاده با آزمایش یک فاکتور بافت مرجع بین‌المللی (ISI) تعیین می‌شود. یک رویکرد مشابه ممکن است گسترش یافته و با سنجش‌های مختلف امیکس تطبیق داده شود.

در عین حال، بازبایی بیان یا تغییر سطح غلظت گزارش‌شده مولکول‌های منفرد مانند mRNAها، پروتئین‌ها یا متابولیت‌ها دشوار است، نه تنها به دلیل ویژگی‌های دینامیکی غیرخطی آن‌ها، مانند نوسانات ناشی از ریتم شبانه‌روزی و چالش‌های فنی، بلکه به دلیل به تأثیرات محیطی، تغذیه‌ای یا حتی عاطفی. به منظور کاهش چالش‌های فنی که تا حدی مسئول تکرارناپذیری داده‌ها در اندازه‌گیری mRNA در مقیاس ژنوم هستند، سیتا و همکارانش از تعداد زیادی مجموعه داده ریزآرایه به عنوان مرجع مشترک برای تخمین مقادیر بیان مطلق هر ژن مورد نظر استفاده کرده‌اند (جدول ۲). به این ترتیب، حداقل می‌توان فرصت‌هایی برای تعیین کمیت بیومارکرهای مورد نظر، مقایسه دقیق‌تر آنها با هم‌تایان گروه‌های کنترل به منظور حمایت از تصمیم‌گیری بالینی داشت. در غیر این صورت، به دلیل تنوع ناشی از چالش‌های فنی به تنهایی، نمی‌توان تعیین کرد که آیا ژن‌های داده شده یا سایر بیومارکرهای واقعاً در بیماران خاص تنظیم‌شده یا پایین‌تر شده‌اند و بنابراین ممکن است تشخیص اشتباهی به عمل آید یا حتی درمان نامناسبی پیشنهاد شود. اخیراً، چن و همکارانش پیشنهاد کرده‌اند به جای بیومارکرهای تک مولکولی از شبکه‌هایی استفاده کنند که قرار است در برابر واریانس‌های فنی و بیولوژیکی مقاوم‌تر باشند (جدول ۲). آنها بیومارکرهای SSN شخصی شده را با محاسبه شبکه‌های همبستگی افتراقی بین گروه‌های مرجع و آن گروه هدف که گروه‌های مرجع را با نمونه‌ای از بیمار مورد علاقه با استفاده از داده‌های ترنسکریپتوم ترکیب می‌کند، شناسایی کردند (شکل ۱، مرحله ۷). آنها با موفقیت عملکرد بسیار بالایی (دقت بیش از ۹۸ درصد) را هنگام طبقه‌بندی نمونه‌های تومور نشان داده‌اند. نکته مهم، با استفاده از رویکردهای خود، آنها شناسایی کردند که بیشتر ژن‌های هاب در شبکه‌های همبستگی دیفرانسیل به صورت غیرمتمايز بیان می‌شوند و اهمیت عملکردی خود را در مقاومت دارویی به‌طور تجربی تأیید کرده‌اند.

این مورد در زندگی واقعی تنظیمات بالینی، تعداد بیومارکرها در پانل‌ها باید محدود باشد. رویکردهای یادگیری ماشین، مانند طبقه‌بندی‌کننده‌های بیزی و ماشین بردار پشتیبان، با موفقیت در مطالعات مختلف برای طبقه‌بندی گروه‌های بیمار به کار گرفته شده‌اند. با این حال، رویکردهای یادگیری ماشین برای اکثر زیست‌شناسان و پزشکان جعبه سیاه هستند که به سختی می‌توانند تفسیر زیست‌پزشکی ارائه دهند (شکل ۱، مرحله ۷). برای پرداختن به این محدودیت و همچنین هتروژنیسیته‌های عظیم در بین بیماران مختلف حتی برای بیماری‌های مشابه، Barabasi و گروهش اخیراً رویکردی را برای استفاده از پروفایل‌های اختلال بیان شخصی هر فرد بر اساس سنجش ترنسکریپتوم به عنوان بارکد برای هر فرد ایجاد کرده‌اند. آن‌ها دریافتند که کسری از ژن‌ها از ماژول بیماری شناسایی شده که در یک فرد مختل می‌شود، می‌تواند وضعیت فرد معین را به دقت پیش‌بینی کند (شکل ۱، مرحله ۷). در مقایسه با رویکردهای یادگیری ماشین، این مدل ترکیبی می‌تواند واضح‌تر باشد. با این حال، مانند هر روش دیگری، این رویکرد نیز محدودیت‌های خاص خود را دارد، مانند اینکه ابتدا باید تصمیم گرفت و آستانه را بهینه کرد تا مشخص شود که آیا ژن‌ها مختل هستند یا نه و هنوز مطمئن نیستیم که آیا این روش برای طبقه‌بندی بیشتر (از بیماران مبتلا به بیماری‌های مشابه به گروه‌های فرعی) مفید است یا خیر.

غیرقابل اعتماد بودن و تکرارناپذیری در یک یا پانل مشخص شده از بیومارکرهای مولکولی، نگرانی‌های زیادی را هم از سوی دانشگاه‌ها و هم شرکت‌های داروسازی به وجود آورده است. چنین تکرارناپذیری می‌تواند ناشی از مسائل فنی یا خود واریانس بیولوژیکی ذاتی یا ترکیبی از هر دو عامل باشد. وجود نتایج زیست‌پزشکی غیرقابل تکرار نیز می‌تواند به عدم استانداردسازی در امور مستعد خطا، مانند آماده‌سازی نمونه، سنجش نمونه، آنالیز داده‌ها یا ترکیبی از همه مراحل نسبت داده شود (جدول ۲). به عنوان مثال، در مورد سنجش نمونه بالینی، استانداردسازی جهانی یک تست تشخیصی توسعه نسبت نرمال شده بین‌المللی (INR) برای سنجش مسیر بیرونی انعقاد است. در ابتدا از زمان پروترومبین استفاده می‌شد اما آزمایشگاه‌های مختلف

زیرا داده‌های بالینی در بسیاری از بیمارستان‌ها یا مراکز بالینی هنوز تجویز یا توصیف ساختار یافته و استاندارد شده را اجباری نمی‌کنند، در حالی که حجم چنین داده‌هایی به طور تصاعدی در حال افزایش است.

با توسعه و انباشت درک ما در مورد مکانیسم‌های مولکولی طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها، محققان مفاهیم و رویکردهایی را برای بازسازی، تجسم و آنالیز نقشه‌های مولکولی بیماری‌ها، مانند نقشه بیماری آلزایمر و نقشه بیماری پارکینسون، آغاز کرده‌اند. ما متقاعد شده‌ایم که با پشتیبانی از دانش قبلی، یعنی نقشه‌های بیماری (جدول ۲)، نه تنها باید بتوانیم بیماران را با توجه به مسیرها و یا شبکه‌های خاصی که در بیماران خاص شناسایی شده‌اند، با دقت بیشتری طبقه بندی کنیم، بلکه در روشی بسیار شهودی برای حمایت از پزشکان برای درک بهتر مکانیسم‌های پاتولوژیک، تصمیم‌گیری و درمان متفاوت بیماران نیز عمل کنیم. با این حال، برخلاف نقشه‌های متمرکز بر نوروں در بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی، انواع مختلف سلول‌های ایمنی با مراحل دینامیکی مختلف که اغلب در اختلالات مرتبط با ایمنی درگیر هستند، توسعه چنین نقشه‌های بیماری را چالش برانگیزتر می‌کنند. محدودیت اساسی در طبقه‌بندی بیماران با استفاده از نقشه‌های بیماری این است که آیا می‌توانیم زیرگروه جدیدی از بیماران مورد علاقه را بر اساس دانش قبلی شناسایی کنیم، که اگر مکانیسم‌های متنوع زیربنای بیماری خاص به خوبی درک شده باشند، ممکن است دیگر چندان مهم نباشد. تا کنون، بیشتر رویکردهای تحلیل شبکه مبتنی بر داده‌های آمیکس تک لایه است. با این حال، شبکه‌های مولکولی و سلولی ما در واقع از انواع مختلفی از حجم مولکول‌ها مانند DNA ژنومی، DNA میتوکندری، mRNA کد کننده، mRNA غیر کد کننده، پروتئین‌ها، متابولیت‌ها و تغییرات اپی ژنتیکی تشکیل شده‌اند. علاوه بر این، بدن ما نه تنها از سلول‌های خودمان، بلکه از میلیاردها میکروارگانیسم همزیست تشکیل شده است که می‌توانند برای سیستم ایمنی بدن ما مفید یا آسیب‌شناس باشند (به بالا مراجعه کنید). بنابراین، برای ما ضروری است که انواع / لایه‌های مختلف آمیکس و داده‌های بالینی را برای ایجاد مدل‌های شبکه چند مقیاسی و چند لایه جامع‌تر برای طبقه‌بندی زیرگروه‌های بیماران برای بیماری‌های پیچیده

به طور تصادفی، کشف ژن‌های کلیدی غیرمتمايز بیان شده نیز توسط کار قبلی ما نشان داده شده است. این بیومارکرهای شبکه نشان دهنده یک جهت جدید در آینده است که احتمالاً تعریف بیومارکرهای معمول را تجدید می‌کند و می‌تواند به طور گسترده در پزشکی شخصی از جمله ایمونولوژی شخصی استفاده شود، زیرا فقط به یک نمونه برای هر فرد نیاز دارد. با این حال، به دلیل ویژگی‌های دینامیکی اضافی انواع مختلف سلول‌های ایمنی در طول پیشرفت بیماری و حتی فقط به دلیل ریتم شبانه‌روزی بیولوژیکی، باید احتیاط کرد. پس از فعال‌سازی، اگر ویژگی‌های دینامیکی سلول‌های ایمنی مربوطه یا مولکول‌های مورد علاقه غیرخطی را نشان دهند، که ممکن است در بسیاری از موقعیت‌ها وجود داشته باشد، یک رویکرد طبقه‌بندی ساده مبتنی بر شبکه دیگر چندان کارآمد نخواهد بود.

با توجه به پایداری نسبی پروتئین‌ها، رویکردهای محاسباتی مبتنی بر پروتئومیکس برای شناسایی بیومارکرهای قوی‌تر، به ویژه در زمینه آنکولوژی، توسعه یافته است. تعداد فزاینده‌ای از شواهد نشان می‌دهد که بسیاری از بیماری‌ها به دنبال قرار گرفتن در معرض انواع مختلف عوامل محیطی حاد یا مزمن ایجاد می‌شوند (شکل ۱، مرحله ۳)، بنابراین ارزیابی اثرات آنها بر وضعیت‌های اپی ژنتیک انواع سلول‌های مختلف از جمله سلول‌های ایمنی منطقی است. با این حال تاکنون روش‌های کمی برای شناسایی بیومارکرهای اپی ژنتیک ایجاد شده است. به منظور بهبود بیشتر سطح دقت و اطمینان، که در محیط بالینی بسیار مهم است، ادغام لایه‌های مختلف مولکول‌ها و اطلاعات بالینی برای شناسایی بیومارکرهای چندلایه قابل اعتماد و طبقه‌بندی دقیق‌تر بیماران در گروه‌های مناسب برای درمان شخصی ضروری است (شکل ۱، مرحله ۳). برای مثال، در محیط‌های بالینی، نرخ‌های منفی کاذب تشخیصی ممکن است در بسیاری از انواع بیماری‌ها مضرت‌تر از میزان مثبت کاذب باشد و برای بسیاری دیگر از روش‌های دیگر. برعکس، در زمینه تحقیق، ممکن است این دو نوع نرخ به طور یکسان مورد بررسی قرار گیرند. آخرین اما نه کم‌اهمیت، ما همچنین نیاز به توسعه ابزارهای متن‌کاوی قابل اعتماد و سریع داریم تا اطلاعات بالینی را از داده‌های بالینی ساختار نیافته و غیراستاندارد استخراج کنیم (جدول ۲). این جنبه نیز بی‌اهمیت نیست،

مهم است. فایل‌های متمرکز بیمار با رشد انفجاری حجم داده‌های مولکولی امیکس به روز رسانی طولانی مدت برای ظرفیت‌های فناوری مانند فضای ذخیره سازی داده ها در سرورها، الگوریتم‌های فشرده سازی/فشرده سازی بهتر و سریع‌تر و دسترسی کاربر پسند برای پزشکان نیاز دارد. پزشکان عمومی ممکن است نتوانند از عهده هزینه‌ها برآیند، به این معنی که پرونده‌های بیماران فقط از مراکز مراقبت‌های بهداشتی بزرگ‌تر قابل دسترسی است. امیدواریم زیرساخت‌های سلامت فردا توسط پزشکی شخصی سازی شده متحول شده و در نهایت از آن حمایت شود.

نتایج

همانطور که در بالا ذکر شد، ما چالش‌های متعدد را مورد بحث قرار می‌دهیم و یک نقشه راه را پیشنهاد می‌کنیم، نه تنها در جنبه‌های علمی و بالینی، بلکه در مدیریت کلان داده‌ها، جنبه‌های قانونی و نظارتی به سمت ایمونولوژی شخصی شده. از جمله، آنالیز امیکس چند لایه در امتداد مطالعات کوهورت طولی به شدت مورد نیاز است تا به طور همزمان انواع مختلفی از بیومارکرهای قابل اعتماد را بدست آوریم. در حال حاضر، به نظر می‌رسد رویکردهای توسعه یافته برای طبقه بندی زیر گروه بیماران نسبت به درمان‌های شخصی کاملاً پیشرفته است. یکی از موانع اساسی که باید در آینده نزدیک برطرف شود، تبدیل طبقه بندی زیر گروه بیماران به درمان شخصی است. در حال حاضر، موفقیت ما هنوز عمدتاً با طبقه بندی بیماران مرتبط است. توسعه بیشتر روش‌های اندازه‌گیری و تحلیل محاسباتی کاربردی بالینی در پزشکی شخصی فرصتی باورنکردنی برای افزایش سلامت جهانی است، مشروط بر اینکه بازده سرمایه‌گذاری نه تنها از نظر سود مالی، بلکه از نظر رفاه بیمار نیز ارزیابی شود. به عبارت دیگر، ما باید به خودمان ابزاری بدهیم تا اجازه دهیم ایمونولوژی شخصی سازی شده پیشرفتی برای سلامتی و ثروت باشد.

در دسترس بودن داده ها

هیچ مجموعه داده ای در طول مطالعه حاضر تولید یا آنالیز نشد.

منبع:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29423275/>

مورد نظر (شکل ۱، مرحله ۳) ادغام کنیم. دستیابی به این هدف به دلایل مختلفی مانند هزینه‌های مالی بالا، عدم وجود رویکردهای محاسباتی مناسب، عدم درک مشترک از تخصص مشترک و موارد دیگر راه درازی در پیش است.

مدیریت کلان داده

برای کارآمدتر، سازگارتر و ایمن‌تر، همه مجموعه داده‌های پزشکی و کلان داده‌ی امیکس بیماران، صرف نظر از بیماری‌هایی که مربوط می‌شوند، باید دیجیتالی، یکپارچه، ساختاریافته، متمرکز، ایمن و استاندارد شوند (به اختصار، "DISCSS"، جدول ۲). نه تنها استانداردسازی در روش‌های نمونه‌گیری تجربی و بالینی مورد نیاز است، بلکه استانداردسازی در قالب‌بندی، توصیف، مخزن، تجزیه و تحلیل، ادغام و اشتراک‌گذاری داده‌های بزرگ نیز برای موفقیت ایمونولوژی شخصی شده حیاتی است (جدول ۲). علاوه بر این، داده‌های تصویربرداری پزشکی با وضوح بالا، داده‌های رفتاری و علائم/فنوتیپی که از رسانه‌های اجتماعی و ابزارهای پوشیدنی و تلفن‌های هوشمند به دست می‌آیند، حجم بی‌سابقه فزاینده‌ای از داده‌های مرتبط بالینی را تولید خواهند کرد. برای این منظور، پلت‌فرم‌های مدیریت داده‌های زیست‌پزشکی در مقیاس بزرگ، مانند TransSMART، FAIRDOM و موارد دیگر به شدت برای مطالعات بالینی یا پیش بالینی مختلف مورد نیاز هستند. زیرساخت‌های مشترک بین‌المللی یا ملی در زمینه ذخیره‌سازی، آنالیز و آموزش کلان داده‌ها بالاترین استانداردها برای به حداکثر رساندن ارزش فراداده‌های زیست پزشکی، مانند همکاری اروپایی برای مدیریت داده‌ها در علوم زیستی، که به ELIXIR و BD2K نیز معروف است (Big Data to Knowledge). ابتکار عمل باید بیشتر توسعه یابد و در سراسر جهان رایج شود. این حداقل با مفهوم سلامت الکترونیک توسط کمیسیون اروپا در چارچوب ابتکار H2020 مطابقت دارد (<https://ec.europa.eu/digital-single-market/en/policies/ehealth>). با محوریت مراقبت‌های بهداشتی بیمار محور. رعایت جنبه‌های قانونی و نظارتی (مثلاً مقررات عمومی حفاظت از داده‌ها) ممکن است از مفهوم سلامت الکترونیک فرامرزی جلوگیری کند یا به آن آسیب برساند، که برای اروپا که جابجایی کارگران در کشورهای مختلف در حال تبدیل شدن به امری عادی است، بسیار

نقشه برداری از معماری ژنتیک انسانی در رابطه با بیماری COVID-19

چکیده

ساختار ژنتیکی یک فرد به حساسیت و پاسخ به عفونت ویروسی کمک می‌کند. اگرچه عوامل محیطی، بالینی و اجتماعی در شانس قرار گرفتن در معرض SARS-CoV-2 نقش دارند و ژنتیک میزبان COVID-19 نیز ممکن است مهم باشد. شناسایی عوامل ژنتیکی اختصاصی میزبان ممکن است مکانیسم‌های بیولوژیکی مربوط به درمان را آشکار کند و روابط علت و معلولی عوامل خطر محیطی قابل تغییر برای عفونت SARS-CoV-2 و پیامدها را روشن کند. ما یک شبکه جهانی از محققان را برای بررسی نقش ژنتیک انسانی در عفونت SARS-CoV-2 و شدت COVID-19 تشکیل دادیم. در اینجا ما نتایج سه متآنالیز ارتباط گسترده ژنوم را توصیف می‌کنیم که شامل حداکثر ۴۹۵۶۲ بیمار مبتلا به کووید-۱۹ از ۴۶ مطالعه در ۱۹ کشور است. ما ۱۳ جایگاه مهم در سراسر ژنوم را گزارش می‌کنیم که با عفونت SARS-CoV-2 یا تظاهرات شدید COVID-19 مرتبط هستند. چندین مورد از این جایگاه‌ها با ارتباط مستند قبلی با بیماری‌های ریوی یا خودایمنی و التهابی مطابقت دارند. آنها همچنین مکانیسم‌های بالقوه قابل عمل در پاسخ به عفونت را نشان می‌دهند. تحلیل‌های تصادفی‌سازی مندلی از نقش علی برای سیگار کشیدن و شاخص توده بدنی برای COVID-19 شدید پشتیبانی می‌کنند. شناسایی فاکتورهای ژنتیکی جدید میزبان مرتبط با کووید-۱۹ توسط جامعه محققان ژنتیک انسانی گرد هم آمدند تا به اشتراک گذاری داده‌ها، نتایج، منابع و چارچوب‌های تحلیلی را در اولویت قرار دهند. این مدل کاری از همکاری بین‌المللی بر آنچه برای اکتشافات ژنتیکی آینده در همه‌گیری‌های در حال ظهور یا در واقع برای



غزل قجری^۱

۱- کارشناسی ارشد سلولی مولکولی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
پژوهشگر مرکز تحقیقات پزشکی شخصی آمیتیس ژن



مشترک در COVID-19 را بررسی می کنند، با قوی ترین و قوی ترین یافته ها، از دخالت چندین مکان ژنومی مرتبط با شدت و حساسیت COVID-19 پشتیبانی قوی ارائه کرده اند. برای شدت در جایگاه p21.313. با این حال، در مورد اساس ژنتیکی استعداد ابتلا به SARS-CoV-2 و شدت COVID-19 چیزهای زیادی ناشناخته باقی مانده است.

ابتکار ژنتیک میزبان COVID-19 (COVID-19 HGI) یک همکاری بین المللی و علمی باز برای به اشتراک گذاشتن روش ها و منابع علمی با گروه های تحقیقاتی در سراسر جهان با هدف نقشه برداری قوی از عوامل ژنتیکی میزبان عفونت SARS-CoV-2 است. در اینجا، آخرین نتایج متاآنالیز ۴۶ مطالعه از ۱۹ کشور (شکل ۱) را برای اثرات ژنتیکی میزبان COVID-19 گزارش می کنیم.

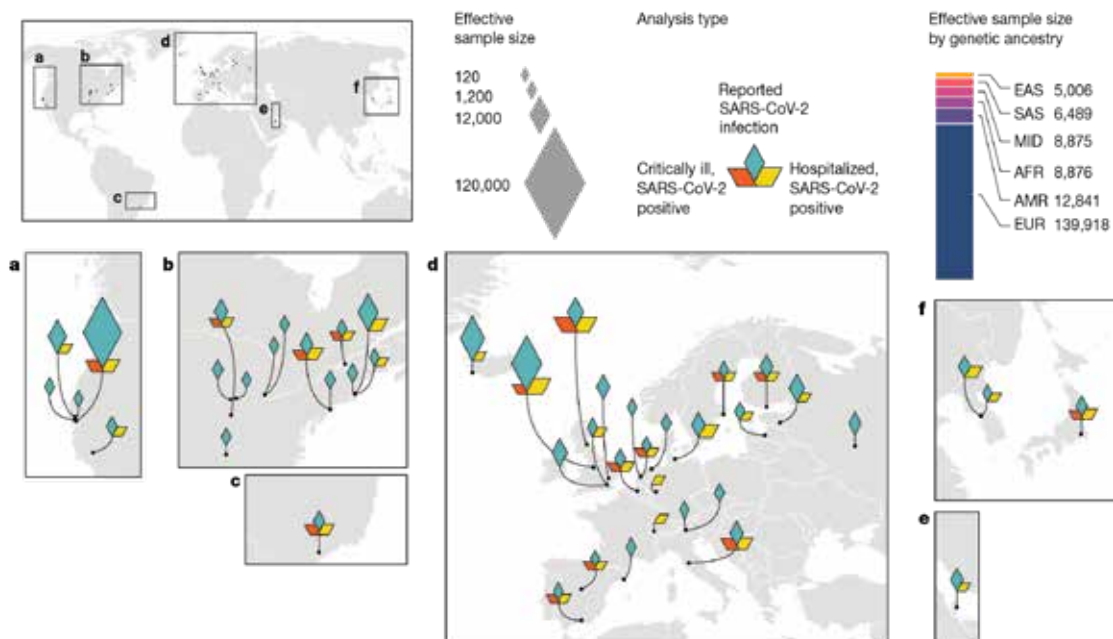
متاآنالیز COVID-19

به طور کلی، COVID-19 HGI داده های ژنتیکی ۴۹۵۶۲ مورد و ۲ میلیون کنترل را در ۴۶ مطالعه مجزا ترکیب کرد (شکل ۱). داده ها شامل مطالعات جمعیت های اجداد ژنتیکی مختلف، از جمله اروپایی، آمریکایی، آفریقایی، خاورمیانه، آسیای جنوبی و آسیای شرقی بود. یک نمای کلی از طرح مطالعه در داده های توسعه یافته شکل ۱ ارائه شده است. ما متاآنالیز مورد-شاهدی را در

هر بیماری پیچیده انسانی ممکن است، تأکید می کند.

اصلی

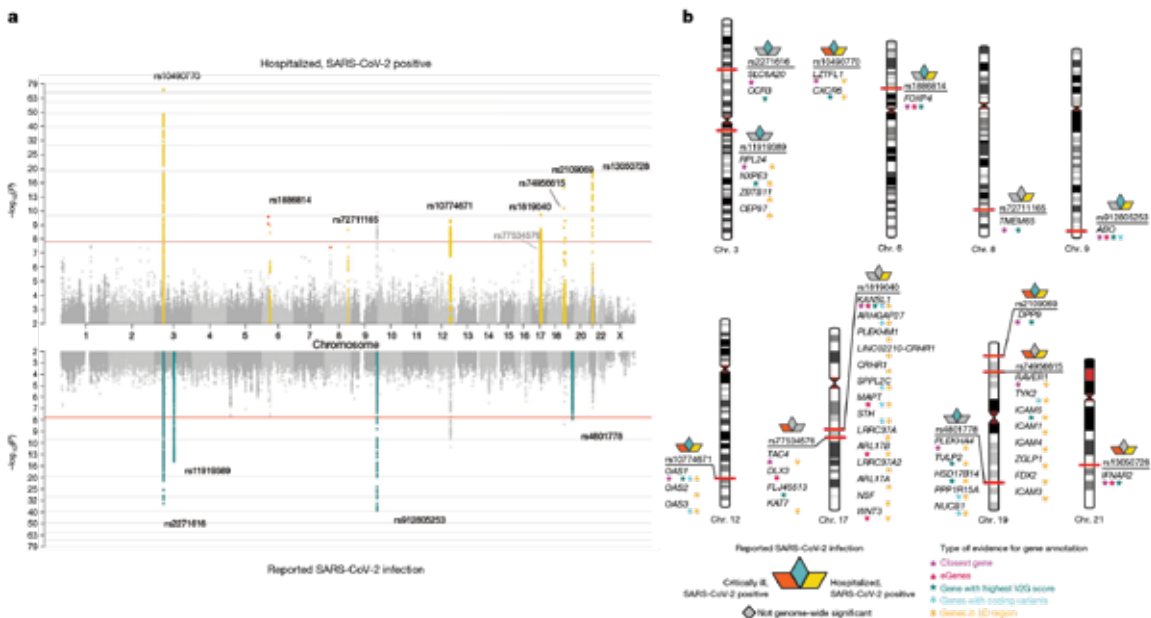
همه گیری COVID-19، ناشی از عفونت با SARS-CoV-2، منجر به بار سلامتی و اقتصادی عظیمی در سراسر جهان شده است. یکی از قابل توجه ترین ویژگی های عفونت SARS-CoV-2، تنوع در پیامدها است که از پنومونی ویروسی بدون علامت تا تهدید کننده زندگی و سندرم دیسترس تنفسی حاد متغیر است. اگرچه عوامل میزبان ثابت شده با شدت بیماری ارتباط دارد (به عنوان مثال، افزایش سن، مرد بودن و داشتن شاخص توده بدنی بالاتر ۱)، این عوامل خطر به تنهایی همه تنوع در شدت بیماری مشاهده شده در بین افراد را توضیح نمی دهند. عوامل ژنتیکی موثر در حساسیت و شدت COVID-19 ممکن است بینش های بیولوژیکی جدیدی را در مورد پاتوژن بیماری و شناسایی اهداف مکانیکی برای توسعه درمانی یا استفاده مجدد از دارو ارائه دهد، زیرا درمان این بیماری با وجود توسعه اخیر واکسن ها همچنان یک هدف بسیار مهم است. علاوه بر حمایت بیشتر از این خط تحقیق، انواع نادر از دست دادن عملکرد در ژن های دخیل در پاسخ اینترفرون نوع I ممکن است در اشکال شدید کووید-۱۹ دخیل باشند. در عین حال، چندین مطالعه مرتبط با ژنوم گسترده که سهم تنوع ژنتیکی



شکل ۱: بررسی اجمالی جغرافیایی مطالعات کمک کننده به COVID-19 HGI و ترکیب توسط گروه های اصلی اجداد. جمعیت ها به صورت آفریقایی (AFR)، آمیخته آمریکایی (AMR)، آسیای شرقی (EAS)، اروپایی (EUR)، خاورمیانه (MID) و آسیای جنوبی (SAS) تعریف می شوند.

مجاورت بسیار نزدیک در ناحیه p21.313 قرار دارند که قبلاً به عنوان یک لوکوس منفرد مرتبط با شدت کووید-۱۹ گزارش شده بود (داده‌های توسعه یافته شکل ۳). به طور کلی، با استفاده از داده‌های ۶۱۷۹ مورد و ۱۴۸۳۷۸۰ کنترل از ۱۶ مطالعه، شش ارتباط مهم ژنومی برای بیماری‌های بحرانی ناشی از COVID-19 پیدا کردیم (داده‌های توسعه یافته شکل ۴). از آنالیز ۱۳,۶۴۱ مورد کووید-۱۹ و ۲,۰۷۰,۷۰۹ کنترل در ۲۹ مطالعه، ۹ لوکوس مهم در سراسر ژنوم برای COVID-19 متوسط تا شدید بستری در بیمارستان (شامل پنج مکان از شش لوکوس بیماری بحرانی) شناسایی شد (شکل ۲a، بالا). در نهایت، هفت لوکوس در آنالیز با استفاده از داده‌های مربوط به همه ۴۹۵۶۲ مورد گزارش شده عفونت SARS-CoV-2 و ۱۷۷۰۲۰۶ کنترل، با استفاده از داده‌های مجموعاً ۴۴ مطالعه، به اهمیت ژنومی رسیدند (شکل ۲a، پایین). نسبت موارد با اصل و نسب ژنتیکی غیر اروپایی برای هر یک از سه آنالیز ۲۳٪، ۲۹٪ و ۲۲٪ بود. ما توجه کردیم که دو واکوس، که با وریته‌های اصلی rs72711165 و rs1886814 برچسب‌گذاری شده‌اند،

سه دسته اصلی بیماری کووید-۱۹ بر اساس معیارهای فنوتیپی از پیش تعریف شده و تا حدی همپوشانی انجام دادیم. این موارد شامل (۱) موارد بدخیم کووید-۱۹، به عنوان افرادی که نیاز به حمایت تنفسی در بیمارستان داشتند یا به دلیل بیماری فوت کردند، تعریف می‌شوند. (۲) موارد کووید-۱۹ متوسط یا شدید، به عنوان آن دسته از شرکت کنندگانی تعریف می‌شود که به دلیل علائم مرتبط با عفونت در بیمارستان بستری شده‌اند. و (۳) همه موارد با عفونت SARS-CoV-2 گزارش شده بدون توجه به علائم. اگر این اطلاعات در دسترس بود، کنترل‌ها برای هر سه آنالیز به‌عنوان نمونه‌های همسان ژنتیکی بدون عفونت شناخته شده SARS-CoV-2 انتخاب شدند. میانگین سنی شرکت کنندگان مبتلا به کووید-۱۹ در مطالعات ۵۵ سال بود. ما در سه آنالیز خود مجموعاً ۱۳ لوکوس مهم ژنومی مستقل مرتبط با COVID-19 را گزارش کردیم (آستانه $P < 1.67 \times 10^{-8}$ برای آزمایش چند صفت تنظیم شده است) که اکثر آنها بین دو یا چند مورد مشترک بودند. فنوتیپ‌های COVID-19 دو مورد از این لوکوس‌ها در



شکل ۲: نتایج ارتباط ژنومی برای COVID-19

a، بالا، نتایج یک مطالعه ارتباط ژنومی در مورد موارد بستری شده در بیمارستان (n = ۱۳,۶۴۱ COVID-19 مورد و ۲,۰۷۰,۷۰۹ کنترل). در پایین، نتایج عفونت‌های SARS-CoV-2 گزارش شده (۴۹۵۶۲ مورد و ۱۷۷۰۲۰۶ نفر شاهد). لوکوس‌های مشخص شده با رنگ زرد (بالا) مناطق مرتبط با شدت تظاهرات COVID-19 را نشان می‌دهد - یعنی افزایش احتمال ابتلا به فنوتیپ‌های شدیدتر COVID-19. مکان‌هایی که با رنگ سبز (پایین) مشخص شده‌اند، مناطقی هستند که با حساسیت به عفونت SARS-CoV-2 مرتبط هستند - یعنی تأثیر آن در فنوتیپ‌های خفیف و شدید COVID-19 یکسان است. ما واریانت‌های مهم ژنوم قرمز را برجسته می‌کنیم که دارای هتروژنوسیتی بالایی در مطالعات مشارکت‌کننده بودند و بنابراین از فهرست لوکوس‌های یافت شده حذف شدند. b، نتایج اولویت‌بندی ژن با استفاده از معیارهای شواهد مختلف تفسیر ژن. ژن‌های دارای واریانت‌های کدکننده و eGenes (نقشه‌بندی دقیق واریانت > 0.1 در cis-eQTL PIP > 0.1) اگر در LD با یک وریته مهم (COVID-19 $r^2 > 0.6$) تفسیر می‌شوند. V2G، بالاترین ژن اولویت‌بندی شده توسط امتیاز V2G ژنتیک هدف باز.



داد (OR = 1.79×10^{-34} ; $P = 95\%$) فاصله اطمینان (CI) = 1.15 (1.13-1.18) نسبت به بستری شدن (OR(95%CI=(1.12(1.06-1.19)); $P=1.05 \times 10^{-10^{-5}}$) برای این منبع - که حاوی سیگنال‌های مستقل اضافی است - الگوی ارتباط-عدم تعادل (LD) با انتظارات P-value ناسازگار است (داده‌های توسعه‌یافته شکل ۶)، که به یک واریانت علی گمشده کلیدی یا یک گونه چند آلی یا واریانت ساختاری بالقوه کشف نشده در این لوکوس اشاره می‌کند.

در مقابل، ۹ مورد از ۱۳ لوکوس با افزایش خطر علائم شدید همراه با نسبت شانس به طور قابل توجهی بزرگ‌تر برای کووید-۱۹ بستری در بیمارستان در مقایسه با خفیف‌ترین فنوتیپ عفونت SARS-CoV-2 گزارش شده (هشت جایگاه زیر آستانه $P < 0.004$ مرتبط بودند. (تست تفاوت اندازه اثر) و علاوه بر این، واریانت مهم rs10774671 علیرغم عدم عبور از این آستانه، افزایش واضحی در نسبت شانس داشت. ما بیشتر نسبت‌های شانس را برای این ۹ لوکوس برای بیماری بحرانی ناشی از COVID-19 در مقابل بستری شدن در بیمارستان به دلیل COVID-19 مقایسه کردیم و دریافتیم که این لوکوس‌ها افزایش کلی در خطر ابتلا به بیماری بحرانی را نشان می‌دهند (روش‌ها، داده‌های توسعه‌یافته شکل ۷a)، اما قدرت کمتر برای آنالیز ارتباط کووید-۱۹ بدحال به این معنی است که این نتایج باید به عنوان پیشنهاد در نظر گرفته شوند. به طور کلی، این نتایج نشان داد که این ۹ لوکوس بیشتر با پیشرفت بیماری و پیامد بدتر عفونت SARS-CoV-2 در مقایسه با استعداد ابتلا به عفونت SARS-CoV-2 مرتبط هستند.

برای برخی از این تحلیل‌ها، کنترل‌ها صرفاً کنترل‌های جمعیت موجود بدون اطلاع از عفونت SARS-CoV-2 یا وضعیت COVID-19 بودند، که ممکن است بر تخمین اندازه تأثیر بگذارد زیرا برخی از این افراد ممکن است به SARS-CoV-2 آلوده شده باشند. یا COVID-19 را توسعه داده است. ما چندین تجزیه و تحلیل حساسیت را انجام می‌دهیم (داده‌های توسعه‌یافته شکل 7b)، که در آنها نشان می‌دهیم که استفاده از کنترل‌های جمعیت می‌تواند یک استراتژی معتبر و قدرتمند برای کشف ژنتیکی میزبان بیماری‌های عفونی، و به‌ویژه آنهایی باشد که گسترده و با پیامدهای شدید نادر هستند.

دارای فراوانی آلی بالاتری در آسیای جنوب شرقی بودند (rs1886814: 15%) و اصل و نسب ژنتیکی آسیای شرقی (rs72711165: 8%)، در حالی که فراوانی آلی جزئی در جمعیت‌های اروپایی کمتر از 3% بود. این امر ارزش گنجاندن داده‌های جمعیت‌های مختلف را برای کشف ژنتیکی برجسته می‌کند.

اثرات متغیر بر شدت و حساسیت

ما هیچ اثر جنسی قابل توجهی در کل ژنوم در ۱۳ لوکوس پیدا نکردیم. با این حال، ما اثرات هتروژنوس قابل توجهی ($P < 0.004$) را در بین مطالعات برای ۳ از ۱۳ لوکوس شناسایی کردیم، که احتمالاً نشان دهنده تشخیص افتراقی نمونه‌ها است. تعداد کمی از نمونه‌های همپوشانی (۸۳۸۰ نفر از اجداد اروپایی؛ ۷۴۵ نفر از اجداد آسیای شرقی) بین گروه‌های کنترل از مطالعات genOMICC و Biobank بریتانیا وجود داشت، اما آنالیز حساسیت یک‌باره هیچ گونه سوگیری را در اثر مربوطه نشان نداد. اندازه‌ها یا مقادیر P (داده‌های توسعه‌یافته شکل ۵). سپس می‌خواستیم بهتر بفهمیم که آیا ۱۳ لوکوس مهم از طریق مکانیسم‌هایی عمل می‌کنند که حساسیت به عفونت را افزایش می‌دهند یا بر پیشرفت علائم به سمت بیماری شدیدتر تأثیر می‌گذارند. برای همه ۱۳ لوکوس، نسبت شانس (ORs) واریانت سرب (قویترین ارتباط P ارزش) را برای آلی افزایش دهنده خطر در تعاریف مختلف فنوتیپ COVID-19 مقایسه کردیم.

با تمرکز بر دو آنالیز قوی تر: همه موارد با عفونت SARS-CoV-2 گزارش شده و همه موارد بستری در بیمارستان به دلیل COVID-19، متوجه می‌شویم که چهار لوکوس از نسبت شانس مشابهی بین این دو تجزیه و تحلیل دارند (روش‌ها و جدول تکمیلی ۲). چنین سازگاری ارتباط قوی‌تری با حساسیت به عفونت SARS-CoV-2 به جای ایجاد کووید-۱۹ شدید نشان می‌دهد. قوی‌ترین سیگنال حساسیت منبع ABO قبلاً گزارش شده بود (rs912805253). قابل توجه، و در توافق با مطالعه‌ای که قبلاً گزارش شده بود، ما همچنین منبعی را در ناحیه p21.313 گزارش می‌کنیم که قوی‌تر با استعداد ابتلا به SARS-CoV-2 نسبت به پیشرفت به فنوتیپ‌های شدیدتر COVID-19 مرتبط بود. rs2271616 ارتباط قوی‌تری با عفونت گزارش شده SARS-CoV-2 نشان

اولویت بندی ژن و ارتباط با سایر صفات

برای درک بهتر مکانیسم بیولوژیکی بالقوه هر لوکوس، ما چندین رویکرد را برای اولویت بندی ژن های علت کاندید و بررسی ارتباط های اضافی با بیماری ها و صفات دیگر اعمال کردیم. از ۱۳ جایگاه مهم در سطح ژنوم، ما دریافتیم که ۹ جایگاه ژن های قابل قبول بیولوژیکی را دخیل می کنند (جدول تکمیلی ۲ و ۵). واریانت های تغییردهنده پروتئین در LD با واریانت های مهم، ژن ها را در شش لوکوس دخیل کردند، از جمله TYK2 (کروموزوم و نوار سیتوژنتیک ((19p13.2) chr. و chr.) PPP1R15A و rs74956615T>A در واریانت مهم کووید در TYK2، که خطر ابتلا به بیماری بحرانی (OR (95% CI) = 1.43 (1.29-1.59)، (P = 9.71 × 10⁻¹²) و بستری شدن در بیمارستان به دلیل COVID-19 (OR) ایجاد می کند. (OR) = 1.27 (1.18-1.36)، P = 5.05 × 10⁻¹⁰) با واریانت اشتباه rs34536443:G>C در واریانت مهم کووید (p.Pro1104Ala) (r² = 0.82) همبستگی دارد. این با نقص ایمنی اولیه توصیف شده با از دست دادن کامل عملکرد TYK2 مطابقت دارد زیرا این واریانت برای کاهش عملکرد شناخته شده است. در مقابل، این واریانت نادرست قبلاً گزارش شده بود که در برابر بیماری های خود ایمنی محافظت می کند (داده های توسعه یافته شکل ۸)، از جمله آرتريت روماتوئید (OR = 0.74، P = 3.0 × 10⁻⁸؛ UK Biobank SAIGE) و کم کاری تیروئید (OR = 0.84، P = 1.8 × 10⁻¹⁰؛ UK Biobank). در لوکوس 19q13.33، واریانت مهم rs4801778 SARS-CoV-2 (OR (95% CI) = 0.95 (0.93-0.96)، P = 2.1 × 10⁻⁸) مرتبط بود، در LD (r² = 0.93) با یک واریانت اشتباه

PPP1R15A. در rs11541192:G>A (p.Gly312Ser) لوکوس های ویژه کمی بیان cis ویژه ریه از GTEX v.8 و کنسرسیون Lung eQTL پشتیبانی بیشتری برای زیر مجموعه ای از لوکوس ها، از جمله FOXP4 و IFNAR2/IL10RB، OAS1/OAS3/OAS2، که در آن COVID-19 انواع مرتبط بیان ژن در ریه دارند. علاوه بر این، آنالیز مطالعه ارتباط گسترده ما سه لوکوس اضافی مرتبط با عملکرد ریه، با شواهد متوسط eQTL ریه را دخیل دانست - یعنی، واریانت مهم به

خوبی نقشه برداری نشده بود، اما به طور قابل توجهی مرتبط بود. یک واریانت درونی rs2109069:G>A در DPP9، که به طور مثبت با بیماری مرتبط است، قبلاً گزارش شده بود که برای بیماری بینابینی ریه خطر آفرین است. واریانت مهم rs1886814:A>C در COVID-19 جایگاه FOXP4 با یک واریانت مهم در آدنوکارسینوم ریه و به طور مشابه با یک واریانت مهم گزارش شده برای بیماری بینابینی ریه تحت بالینی مرتبط است. در COVID-19 شدید، سرطان ریه و بیماری بینابینی ریه، آلل جزئی و افزایش دهنده بیان با افزایش خطر مرتبط است. ما همچنین دریافتیم که واریانت های اینترونیک و rs1819040:T>A در KANSL1، مرتبط با محافظت در برابر بستری شدن در بیمارستان به دلیل COVID-19، قبلاً برای کاهش عملکرد ریه گزارش شده بود. قابل ذکر است، لوکوس 17q21.31 یک منبع شناخته شده برای واریانت های ساختاری است که حاوی پلی مورفیسم وارونگی مگاباس و تغییرات پیچیده تعداد کپی است، که در آن اشکال H2 معکوس به طور مثبت در افراد اروپایی انتخاب شده است.

در نهایت، دو لوکوس در ناحیه p21.313 با ژن های متفاوتی وجود دارد که با روش های مختلف برای سیگنال های مستقل مختلف اولویت بندی شده اند. برای واریانت اصلی CXCR6، rs10490770:T>C، Variant2Gene اولویت بندی کردیم، اگرچه LZTFL1 نزدیک ترین ژن است. CXCR6 در سیگنال دهی کمو کاین نقش دارد و LZTFL1 در سرطان ریه نقش دارد. rs2271616:G>T، که با حساسیت مرتبط است، یک لوکوس پیچیده شامل چندین سیگنال مستقل را علامت گذاری می کند که همگی در بدنه ژنی SLC6A20 قرار دارند، که پروتئینی را کد می کند که به طور عملکردی با گیرنده SARS-CoV-2 ACE2 تعامل دارد. با این حال، هیچ یک از واریانت های در ناحیه p21.313 قبلاً با سایر صفات یا بیماری ها در آنالیز PheWAS ما مرتبط نبوده است. اگرچه این نتایج شواهد سیلیکونی را برای اولویت بندی ژن علی کاندید ارائه می کنند، توصیف عملکردی بیشتر مورد نیاز است.



ساختار

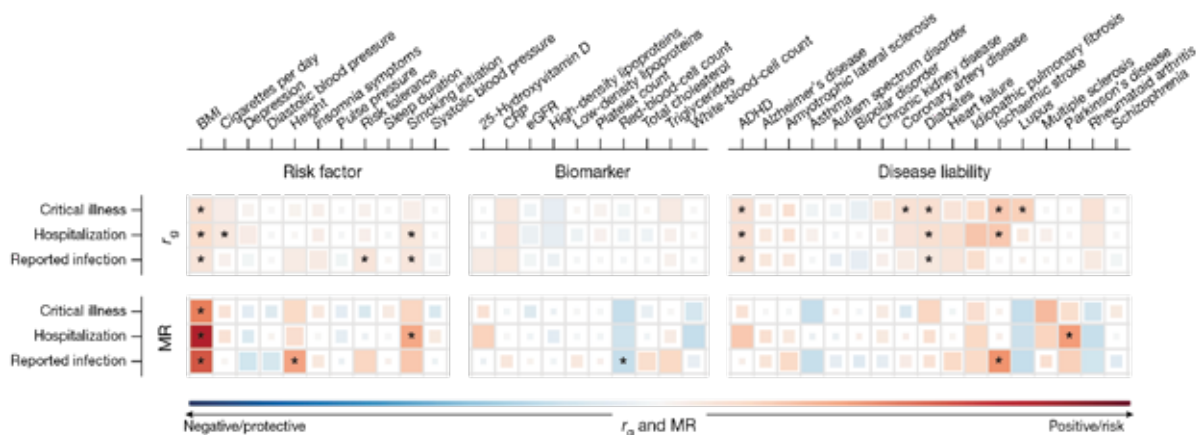
چند ژنی COVID-19

برای بررسی بیشتر ساختار ژنتیکی COVID-19، ما از نتایج متاآنالیزها از جمله نمونه‌هایی از اجداد اروپایی برای تخمین وراثت‌پذیری توضیح داده شده توسط پلی‌مورفیسم‌های رایج تک نوکلئوتیدی استفاده کردیم - یعنی نسبت تنوع در دو فنوتیپ که به آن نسبت داده می‌شود. واریانت‌های ژنتیکی رایج - و تعیین اینکه آیا وراثت‌پذیری فنوتیپ‌های COVID-19 در ژن‌هایی که به‌طور خاص در بافت‌های خاصی از مجموعه داده‌های GTEx بیان می‌شوند، غنی شده است یا خیر. ما وراثت‌پذیری کم، اما قابل توجه را در هر سه آنالیز شناسایی کردیم. این مقادیر در مقایسه با مطالعات قبلی منتشر شده پایین است، اما ممکن است با تفاوت در مقیاس برآورد گزارش شده، روش خاص مورد استفاده، تخمین شیوع بیماری، تفاوت فنوتیپی بین گروه‌های بیمار یا تعیین کنترل توضیح داده شود. علی‌رغم مقادیر کم گزارش شده، ما دریافتیم که وراثت‌پذیری عفونت SARS-CoV-2 گزارش شده به‌طور قابل توجهی در ژن‌هایی که به‌طور خاص در ریه بیان می‌شوند غنی شده است. این یافته‌ها، همراه با مکان‌های مهم ژنومی که در متاآنالیزها شناسایی شده‌اند، نشان می‌دهند که یک معماری چند ژنی قابل توجهی وجود دارد که می‌تواند با اندازه‌های نمونه بزرگ‌تر در آینده بهتر مورد استفاده قرار گیرد.

همبستگی ژنتیکی و تصادفی سازی مندلی

همبستگی ژنتیکی (rg) بین سه فنوتیپ COVID-19 بالا بود، اگرچه همبستگی کمتری بین COVID-19 بستری در بیمارستان و عفونت SARS-CoV-2 گزارش شده مشاهده شد. برای درک بهتر اینکه کدام صفات از نظر ژنتیکی همبستگی و یا به طور بالقوه با بستری شدن در بیمارستان کووید-19، بیماری بحرانی و عفونت گزارش شده SARS-CoV-2 مرتبط هستند، مجموعه ای از 38 فنوتیپ بیماری، سلامت و عصب روانپزشکی را به عنوان عوامل خطر بالقوه COVID-19 بر اساس همبستگی بالینی آنها با حساسیت، شدت یا مرگ و میر بیماری انتخاب کردیم.

ما شواهدی (نرخ کشف کاذب $(FDR) < 0.05$) از همبستگی ژنتیکی قابل توجه بین نه صفت و بستری شدن در بیمارستان COVID-19 و عفونت گزارش شده SARS-CoV-2 یافتیم (شکل 3). قابل ذکر است، مسئولیت ژنتیکی در برابر سکتة مغزی ایسکمیک فقط با بیماری بحرانی یا بستری شدن در بیمارستان به دلیل COVID-19 ارتباط مثبت معنی‌داری داشت، اما با احتمال بالاتری با عفونت SARS-CoV-2 گزارش شده ارتباط مثبت نداشت (rg عفونت = 0.019 در مقابل بستری $P = 0.006$ ، $z = 2.7$ ، $rg = 0.41$ ؛ عفونت rg = 0.019 در مقابل بستری بحرانی $P = 0.013$ ، $z = 2.49$ ، $rg = 0.40$). سپس از تصادفی سازی مندلی دو نمونه‌ای برای استنتاج



شکل 3: همبستگی‌های ژنتیکی و تصادفی‌سازی مندلی تخمین علی بین 38 صفت و بیماری بحرانی COVID-19، بستری شدن در بیمارستان و عفونت گزارش شده SARS-CoV-2.

مربع‌های بزرگتر با مقادیر P با اهمیت بالاتر مطابقت دارد، با همبستگی‌های ژنتیکی (rg) یا تصادفی‌سازی مندلی (MR) تخمین‌های علی به طور قابل توجهی متفاوت از صفر است. اندازه هر مربع رنگی نشان‌دهنده بزرگی مقدار P است، با $P < 0.05$ به عنوان یک مربع با اندازه کامل، $P = 0.05-0.1$ به عنوان یک مربع بزرگ، $P = 0.1-0.5$ به عنوان یک مربع متوسط و $P > 0.5$ به عنوان عنوان یک مربع کوچک نشان داده شده است. یک مربع کوچک همبستگی‌های ژنتیکی یا تخمین‌های علی که به طور قابل توجهی با صفر در $FDR \leq 5\%$ متفاوت هستند، با ستاره مشخص می‌شوند. مقادیر P دو طرفه با استفاده از LDSC برای همبستگی ژنتیکی و آنالیز وزنی معکوس واریانس برای تصادفی سازی مندلی محاسبه شد. ADHD، اختلال کم توجهی بیش فعالی؛ BMI، شاخص توده بدنی؛ CRP، پروتئین واکنشی C؛ eGFR، نرخ فیلتراسیون گلوبولولی تخمین زده شده است.

این منبع به جای شدت، با حساسیت به COVID-19 مرتبط بود. منبع روی SLC6A20 همپوشانی دارد، که یک انتقال دهنده اسید آمینه را رمزگذاری می کند که با ACE2 تعامل دارد. با این وجود، ما هشدار می دهیم که برای حل ماهیت رابطه بین تنوع ژنتیکی و COVID-19 در این لوکوس به داده های بیشتری نیاز است، به ویژه زیرا نزدیکی فیزیکی، ساختار LD و الگوهای ارتباط نشان می دهد که تنوع ژنتیکی بدون برچسب می تواند سیگنال ارتباط را در این ناحیه هدایت کند. یافته های ما از این ایده حمایت می کند که برخی از واریانتهای ژنتیکی، به ویژه در لوکوسهای ABO و PPP1R15A و SLC6A20، می توانند حساسیت به عفونت را تحت تأثیر قرار دهند تا پس از آلوده شدن به کووید-۱۹ شدید پیشرفت کنند.

چندین لوکوس گزارش شده در اینجا با واریانتهای ژنتیکی شناخته شده ای که ارتباط ژنتیکی ایجاد کرده اند، تلافی می کنند. نمونه هایی از این موارد شامل انواع DPP9 و FOXP4 است که شواهد قبلی از افزایش خطر ابتلا به بیماری بینابینی ریه را نشان می دهند و واریانتهای نادرست در TYK2 که اثر محافظتی بر چندین بیماری مرتبط با خود ایمنی نشان می دهند. این نتایج همراه با غنی سازی وراثت پذیری مشاهده شده در ژن های بیان شده در بافت های ریه، دخالت مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با ریه را در ایجاد COVID-19 شدید نشان می دهد. چندین لوکوس دیگر، علی رغم وجود ژن های کاندید مهم و جذاب برای COVID-19 (به عنوان مثال، لوکوسهای OAS1/ CXCR6، LZTFL1، IFNAR2 و OAS2/OAS3)، هیچ ارتباط قابل توجهی را که قبلاً در سطح ژنوم ثبت شده بود، نشان نمی دهند. ارتباط های گزارش شده قبلی برای قوی ترین ارتباط برای شدت کووید-۱۹ در تعداد لوکوس و مونوسیت p21.313 احتمالاً به دلیل نزدیکی و نه یک هم محلی سازی واقعی است.

افزایش بازنمایی جهانی در مطالعات ژنتیکی، توانایی تشخیص ارتباطات جدید را افزایش می دهد. دو مورد از لوکوسهایی که بر شدت بیماری تأثیر می گذارند، تنها با گنجاندن چهار مطالعه روی افراد با اصل و نسب آسیای شرقی کشف شدند. یکی از این لوکوسها - نزدیک به FOXP4 - به ویژه در شرکت کنندگان آسیای شرقی

روابط علی بالقوه بین این صفات استفاده کردیم. پس از تصحیح آزمایش های چندگانه ($FDR < 0.05$)، هشت جفت صفت مواجهه COVID-19 شواهدی مبنی بر ارتباط علی را نشان دادند (شکل ۳). پنج مورد از این ارتباطها در برابر نقض احتمالی مفروضات اساسی تصادفی سازی مندلی مقاوم بودند. با تأیید نتایج همبستگی ژنتیکی و شواهد حاصل از مطالعات اپیدمیولوژیک، شاخص توده بدنی بالاتر پیش بینی شده ژنتیکی و سیگار کشیدن با افزایش خطر بستری شدن در بیمارستان COVID-19 همراه بود و شاخص توده بدن نیز با افزایش خطر عفونت SARS-CoV-2 مرتبط بود. افزایش قد پیش بینی شده ژنتیکی با افزایش خطر ابتلا به عفونت SARS-CoV-2 گزارش شده مرتبط بود، در حالی که پیش بینی ژنتیکی بیشتر تعداد گلبول های قرمز خون با کاهش خطر ابتلا به عفونت SARS-CoV-2 گزارش شده مرتبط بود. علی رغم شواهدی مبنی بر همبستگی ژنتیکی بین دیابت نوع II و پیامدهای COVID-19، هیچ شواهدی مبنی بر ارتباط علت و معلولی در آنالیز تصادفی مندلی وجود نداشت، که نشان می دهد همبستگی های ژنتیکی مشاهده شده به دلیل اثرات پلیوتروپیک بین شاخص توده بدن و دیابت نوع ۲ است.

بحث

COVID-19 HGI محققان را از سراسر جهان گرد هم آورده است تا کشف ژنتیکی عفونت SARS-CoV-2 و بیماری شدید COVID-19 را پیش ببرند. ما ۱۳ لوکوس مهم در سراسر ژنوم را گزارش می کنیم که با برخی از جنبه های عفونت SARS-CoV-2 یا COVID-19 مرتبط هستند. بسیاری از این جایگاهها با ارتباط های گزارش شده قبلی با فنوتیپ های مرتبط با ریه یا بیماری های خودایمنی یا التهابی همپوشانی دارند، اما برخی از جایگاهها ژن کاندید واضحی ندارند.

چهار مورد از سیزده لوکوس مهم ژنومی، اثرات مشابهی را در آنالیز عفونت SARS-CoV-2 گزارش شده (نمایشی برای حساسیت به بیماری) و COVID-19 در بیمارستان بستری شده (نمایشی برای شدت بیماری) نشان دادند. از این میان، یک مکان در مجاورت سیگنال ژنتیکی اصلی برای شدت COVID-19 در جایگاه p21.313 و در عین حال مستقل از آن قرار داشت. قابل ذکر است،



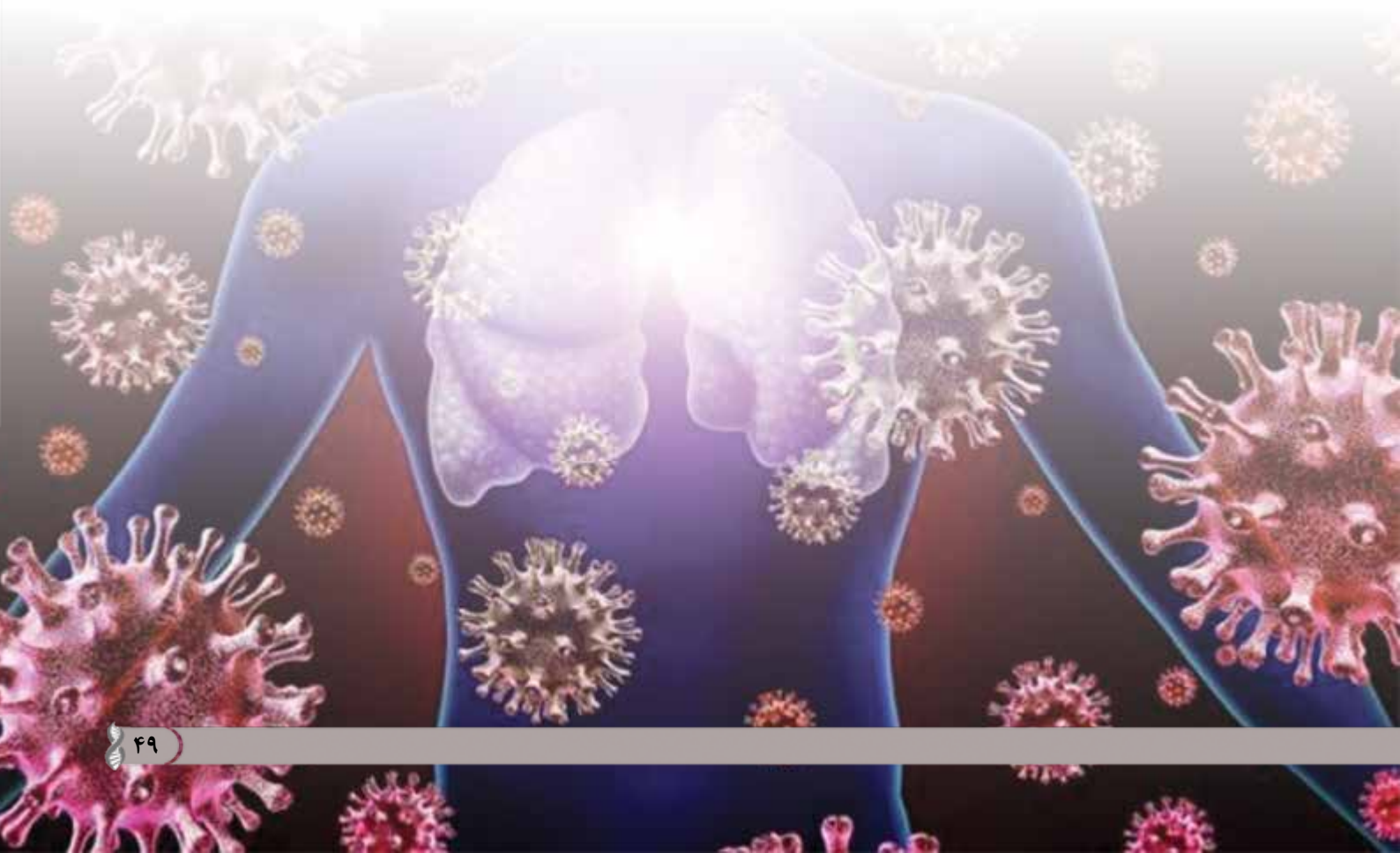
اجداد و طرح‌های مطالعاتی متنوع است. برای تسریع تحقیقات پایین دستی و اکتشافات درمانی، COVID-19 HGI به طور منظم نتایج متاآنالیز حاصل از انجماد داده‌های دوره ای را در وب سایت <https://www.covid19hg.org/> منتشر می کند و یک کاوشگر تعاملی ارائه می‌دهد که از طریق آن محققان می‌توانند نتایج و نتایج را مرور کنند. لوکوس‌های ژنومی با جزئیات بیشتر کارهای آینده برای درک بهتر ارزش بیولوژیکی و بالینی این یافته‌ها مورد نیاز خواهد بود. تلاش‌های مستمر برای جمع‌آوری نمونه‌های بیشتر و داده‌های فنوتیپی دقیق باید در سطح جهانی تأیید شود، تا امکان بررسی دقیق‌تر علائم متغیر و ارثی را فراهم کند، به‌ویژه با توجه به سویه‌های تازه در حال ظهور SARS-CoV-2، که ممکن است پاسخ‌های میزبان متفاوتی را تحریک کند که منجر به بیماری شود.

منبع:

<https://www.nature.com/articles/s41586-021-03767-x>

(۳۲٪) و همچنین شرکت‌کنندگان آمریکایی مختلط در قاره آمریکا (۲۰٪) و شرکت‌کنندگان خاورمیانه (۷٪) رایج است، اما در اکثر اروپایی‌ها فراوانی پایینی دارد. اگرچه ما نمی‌توانیم از مکانیسم عمل مطمئن باشیم، ارتباط FOXP4 یک هدف بیولوژیکی جذاب است، زیرا در اپیتلیوم مجاری هوایی پروگزیمال و دیستال بیان می‌شود و نشان داده شده است که نقشی در کنترل سرنوشت سلول‌های اپیتلیال در طول رشد ریه دارد. COVID-19 HGI به دنبال گسترش مجموعه داده‌های موجود در آنالیزهای کنسرسیون به جمعیت‌هایی از جمعیت‌های کمتر در انتشار داده‌های آینده است. ما قصد داریم زمانی که اندازه‌های نمونه امکان یک متاآنالیز قوی را فراهم کند، نتایج مربوط به نسب را به طور کامل منتشر کنیم.

هنگام تفسیر نتایج حاصل از یک متاآنالیز به دلیل چالش‌هایی که در تشخیص مورد و کنترل و سوگیری برخورداردهنده وجود دارد، باید دقت شود. ترسیم یک نقشه جامع و قابل تکرار از عوامل ژنتیکی میزبان مرتبط با شدت COVID-19 و SARS-CoV-2 نیازمند تلاش بین‌المللی پایدار برای گنجاندن



ایجاد چشم اندازهای جدید برای تحقیقات حوزهی آرتريت روماتوئیدبا استفاده از روش های فلوسایتومتری عملکردی مبتنی بر خون کامل

چکیده

علیرغم معرفی داروهای ضد روماتیسمی اصلاح کننده بیولوژیکی بیماری (DMARDs) برای درمان آرتريت روماتوئید (RA)، استراتژی های درمانی همیشه منجر به کنترل بیماری و بهبودی نمی شود. از این رو، طبقه بندی و نظارت بر مارکرها و ابزارهای زیستی بیمار کارآمدتر برای فعال کردن پزشکی شخصی سازی شده تر مورد نیاز است. ما از یک روش فلوسایتومتری عملکردی مبتنی بر خون استفاده کردیم تا سلول های ایمنی بیماران RA (درمان شده یا نشده)، اهداکنندگان سالم و بیماران آرتريت پسوریاتیک (PsA) را با توجه به پاسخ های آنها به LPS و یا ضد TNF α (infliximab, IFX) مشخص کنیم. بیان مارکر فعال سازی با استفاده از یک پانل فلوسایتومتری ۱۰ رنگی به دنبال پروتکل بدون شستشو اندازه گیری شد. بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئیدی که درمان نشده بودند، پروفایل التهابی قوی تری در مقایسه با اهداکنندگان سالم در سطح پایه داشتند. بیان بالاتر مارکرهاى فعال سازی (CD69 و یا CD11b) روی سلول های B، NK و گرانولوسیت ها و بیان کمتر مولکول چسبندگی CD62L روی مونوسیت ها، گرانولوسیت ها و سلول های B اندازه گیری شد. پس از LPS، سلول های بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئید ساده توانایی کمتری در تنظیم CD16، CD11b، CD69، یا CD62L داشتند که اختلال در توانایی های فعال سازی را نشان می دهند. پس از انکوباسیون مشترک LPS و IFX، آنالیز خوشه بندی سلسله مراتبی پروفایل های متفاوتی را بین گروه ها نشان داد. ما معتقدیم که این رویکرد مبتنی بر خون کامل باید بیشتر برای توصیف بیمار RA ارزیابی شود زیرا دیدگاه های جدیدی برای طبقه بندی و یا نظارت ارائه می دهد.



معصومه کهندانی^۱

۱- کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست شناسی

سلولی و مولکولی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

پژوهشگر مرکز تحقیقات پزشکی شخصی آمیتیس ژن

مقدمه

متنوع بیمار به درمان می‌شود، بنابراین، همه بیماران به کنترل بیماری دست نمی‌یابند. به طور کلی، این فرآیند تطبیق درمان و شناسایی استراتژی درمانی مناسب برای یک بیمار خاص طولانی است و ممکن است به طور قابل توجهی رسیدن به بهبودی بیماری را به تاخیر بیندازد. همچنین ممکن است منجر به عوارض پزشکی غیرقابل حل شود. از این رو، بیومارکرها و ابزارهایی که می‌توانند به پیش بینی پاسخ به درمان و بهبود رویکردهای درمانی فعلی کمک کنند، به شدت مورد نظر هستند.

در مطالعه قبلی، با استفاده از نمونه‌هایی از افراد سالم، استراتژی سنجش عملکردی مبتنی بر خون کامل را برای توصیف و ارزیابی مکانیسم‌های اثر ضد TNFs (MOAs) در مرجع اهداکننده ایجاد کردیم. همانطور که این هدف اولیه دنبال می‌شد، هدف نیز ارائه اطلاعات مربوط به مطالعه شرایط التهابی به طور کلی بود. در نتیجه، مارکرهایی که یا قادر به اطلاع رسانی در مورد MOA هستند یا شناخته شده به عنوان مورد علاقه و یا در شرایط RA بی‌نظم هستند، ترکیب شدند. بنابراین ما یک پانل فلوسایتومتری ۱۰ رنگی طراحی کردیم که در آن، به غیر از مارکرهای ۶، gating مارکر فعال‌سازی در نظر گرفته شد. CD69 برای ارزیابی وضعیت فعال‌سازی عمومی سلول‌ها استفاده شد و مولکول‌های چسبندگی مانند CD11b (ITGAM)، CD54 (ICAM-1)، CD62L (L-selectin)، یا CD66b (CEACAM8) برای مطالعه فرآیندهای مهاجرت و یا چسبندگی گنجانده شدند. یک آنتی بادی ضد TNF با فلوروکروم کونژوگه نیز برای مطالعه بیان TNF گذرنده در درمان آزمایشگاهی با داروهای ضد TNF مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت، CD16، که ممکن است به عنوان gating یا مارکر فعال‌سازی عمل کند، برای اطلاع رسانی در مورد درگیری بالقوه سلول‌های NK از طریق سمیت سلولی وابسته به آنتی بادی MOA (ADCC) استفاده شد.

در اینجا، هدف ما ارزیابی ارتباط سنجش عملکردی مبتنی بر خون کامل قبلاً توسعه یافته برای توصیف بیمار RA و طبقه‌بندی بیشتر بود. برای این منظور، نمونه‌های خون کامل از افراد سالم یا بیماران مبتلا

آرتریت روماتوئید (RA) یک بیماری خود ایمنی است که باعث درد، سفتی و تخریب مفاصل می‌شود. طبق گزارش اتحادیه اروپا در مورد روماتیسم (EULAR)، این وضعیت بین ۰.۳ تا ۱.۰ درصد از جمعیت عمومی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. فاکتورهای روماتوئید یا ACPA ها (آنتی بادی‌های پروتئین ضد سیترولینه) امروزه معمولاً در تشخیص RA، به ویژه ACPA ها استفاده می‌شود، زیرا آنها خاص RA هستند و در ۸۰-۷۰٪ موارد وجود دارند.

واسطه‌های پیش التهابی مانند ایکوزانوئیدها یا سیتوکین‌ها به التهاب، شروع و تداوم RA کمک می‌کنند. فاکتور نکروز تومور (TNF- α) یکی از قوی‌ترین عوامل مزمن التهاب است و از طریق دو مسیر سیگنالینگ مختلف به نام‌های سیگنالینگ رو به جلو (FS) و سیگنالینگ معکوس (RS) عمل می‌کند. به طور خلاصه، FS دارای یک نتیجه پیش التهابی است که منجر به تکثیر، ضد آپوپتوز و التهاب می‌شود، در حالی که RS پاسخ‌های ضد التهابی و آپوپتوز را تحریک می‌کند.

گزینه‌های درمانی در دهه‌های گذشته برای ارائه چندین استراتژی ممکن برای درمان RA افزایش یافته‌اند. داروهای ضد روماتیسمی مرسوم اصلاح کننده بیماری (DMARDs) مانند متوترکسات در طول تاریخ به عنوان درمان اولیه استفاده شده است. در ادامه DMARDهای بیولوژیکی برای رسیدن به بهبودی بیماری اضافه شده است. از طریق مسدود کردن FS، محرک RS و یا سمیت سلولی وابسته به آنتی بادی (ADCC)، ضد TNFها یک نوآوری مهم در این زمینه هستند و معمولاً از زمان معرفی آنها استفاده می‌شود.

بیماران RA پس از تجویز درمان برای پیگیری تکامل بیماری و ارزیابی کارایی درمانی تحت نظر قرار می‌گیرند. معمولاً در نظر گرفته می‌شود که هر درمان باید حداقل ۳ ماه قبل از مشاهده بهبود احتمالی در بیماران و ۶ ماه برای دستیابی به هدف درمانی قبل از تعدیل استراتژی درمانی اجرا شود. متأسفانه، ناهمگونی بیماری، که باعث تفاوت در ویژگی‌های اهداکننده می‌شود، منجر به پاسخ‌های

شدند و از نور با مخلوط رنگ آمیزی زیر محافظت شدند: CD3-allophycocyanin (APC) Alexa Fluor® (AF) 750 (UCHT1)، CD11b-PE (Bear1)، CD14-Pacific Blue (RMO52)، CD16-ECD (3G8)، CD45-KrO (J33)، CD54-FITC (84H10)، CD56-PC5.5 (N901)، CD62L-APC (DREG56)، CD66b-APCAF750 (80H3)، CD69-PC7 (TP1.55.3)، و tmTNF-AF700 (HRS4) (همه از Beckman Coulter Life Sciences). سپس یک پروتکل بدون سانتریفیوژ برای ساده کردن گردش کار دنبال شد. گلبول های قرمز خون با استفاده از OptiLyse C (Beckman Coulter Life Sciences) مطابق دستورالعمل سازنده برای استفاده (Beckman Coulter Life Sciences) لیز شدند. در نهایت، بیان مارکر با فلوسیتومتر سیتوفلکس ۱۳ رنگی سه لیزری (Beckman Coulter Life Sciences) در مدت ۵ ساعت پس از رنگ آمیزی اندازه گیری شد.

تحلیل آماری

داده های فلوسایتومتری با نرم افزار آنالیز Kaluza نسخه ۲.۱ (Beckman Coulter) آنالیز شد. جمعیت های مورد بررسی به صورت دستی نمونه برداری شدند و JMP ۱۴.۲.۰ (موسسه SAS) برای آنالیز آماری تک و یا چند متغیره استفاده شد. مقادیر خام یا نرمال شده متوسط شدت فلورسنت (MFI) بسته به شرایط مورد مطالعه در نظر گرفته شد. MFI های خام برای مطالعه سطوح بیان مارکر پایه مورد استفاده قرار گرفتند در حالی که شرایط LPS یا IFX + به ترتیب با شرایط منفی یا LPS نرمال شدند و در نتیجه Stim. Index به دست آمد. آنالیز بدون نظارت با استفاده از پلت فرم غربالگری پاسخ JMP برای شناسایی بیشتر پارامترهای متمایز بر اساس نتایج آزمون t-student یا ANOVA و نرخ کشف نادرست (p-value) FDR های تصحیح شده استفاده شد. آنالیز مؤلفه های اصلی (PCA) با در نظر گرفتن بیشتر ویژگی های متمایز انجام شد. برای مطالعه بیشتر واگرایی بین گروه ها، نمایش های نمودار جعبه استفاده شد و خوشه بندی سلسله مراتبی انجام شد. تفاوت در شاخص های MFI و یا تحریک با استفاده از آزمون ویلکاکسون غیر پارامتری که برای آن مقادیر *p

به آرتريت روماتويد، چه در حال درمان و چه بهبود یافته، در نظر گرفته شد. نمونه هایی از بیماران آرتريت پسونياتيك (PSA) نیز به عنوان مجموعه دیگری از بیماران مبتلا به بیماری التهابی برای آزمایش بیشتر ارتباط رویکرد پیشنهادی گنجانده شد. با تحریک سلول ها با LPS یا LPS در ترکیب با IFX، ما فرض کردیم که علاوه بر بیان مارکر سلول های ایمنی پایه، ظرفیت تحریک LPS و پاسخ بیشتر به IFX می تواند بینش های ارزشمندی ارائه دهد و به عنوان بیومارکر ممکن در آینده برای طبقه بندی بیماران و یا پیش بینی پاسخ به درمان استفاده کند.

مواد و روش ها نمونه ها

بر اساس اعلامیه هلسینکی، پس از کسب رضایت، خون از ۲۱ اهداکننده سالم از داوطلبانی که به بیمارستان سنت جوزف (مارسی، فرانسه) مراجعه کرده بودند، جمع آوری شد. نمونه هایی از ۳۳ بیمار ۱۶ (RA بیمار، ۱۷ درمان شده) که معیارهای ACR/ ۲۰۱۰ EULAR را برآورده می کردند و ۱۳ بیمار آرتريت پسونياتيك (PSA) که معیارهای CASPAR را داشتند در بیمارستان Sainte-Marguerite (AP-HM) (مارسیل، فرانسه) جمع آوری شدند.

سنجش عملکردی مبتنی بر خون کامل - فلوسایتومتری

رویکرد پیاده سازی شده در اینجا مشابه روشی بود که قبلاً در اولین مطالعه اثبات مفهومی ما توضیح داده شد که در آن سنجش ابتدا از دیدگاه های مختلف، از جمله ارتباط مکانیکی و تکرارپذیری، توسعه و مشخص شد. از خون کامل هپارینه شده برای جلوگیری از جداسازی یون های فلزی استفاده شد. به طور خلاصه، ۵۰ میکرولیتر خون کامل در هر شرایط، شامل یک کنترل منفی، یک کنترل LPS (۲۰۰ نانوگرم در میلی لیتر) (سیگما آلدریج) و یک ترکیب (۱) LPS + IFX میکروگرم / ۵۰ میکرولیتر خون کامل (Merck) انکوبه شد. پس از ۵ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، سلول ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق رنگ آمیزی

سلولی بر روی نمونه‌های با نام مستعار انجام شد و تمام داده‌های جمع‌آوری شده در مطالعه از سوابق موضوع توسط پزشک بازیابی شد.

نتایج

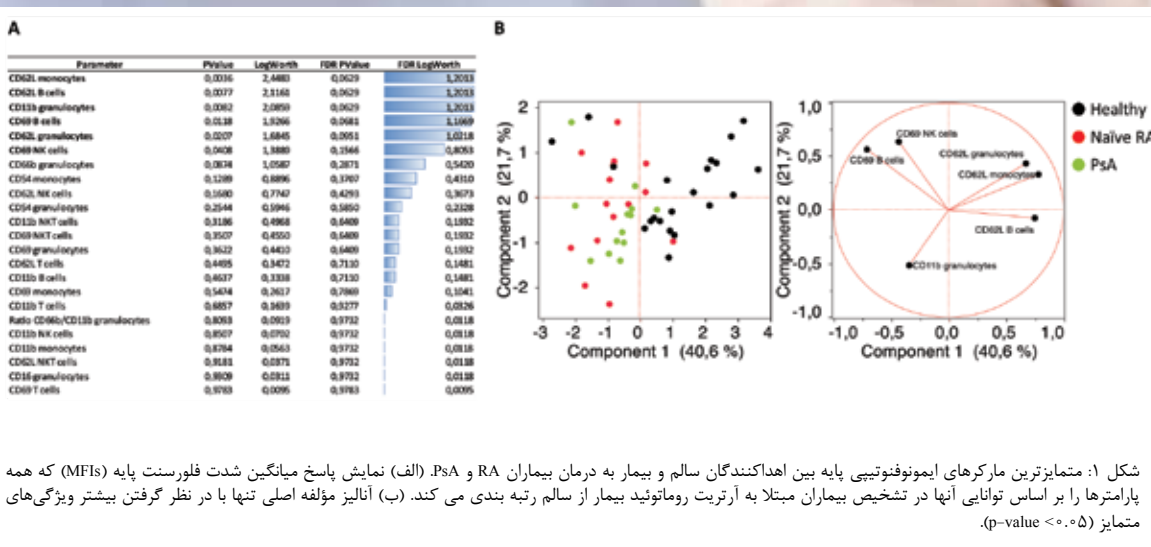
بیان پایه CD11b، CD69، و CD62L در برخی از زیر مجموعه‌های سلولی بین بیماران مبتلا به RA و سالم متفاوت بود.

یک آنالیز بدون نظارت ابتدا برای ارزیابی اینکه آیا بیان پایه نشانگرهای فعال‌سازی در نظر گرفته شده می‌تواند نشان دهنده ویژگی‌های تمایز بین بیماران RA و سالم باشد انجام شد (شکل 1A). بیان CD62L روی مونوسیت‌ها و سلول‌های B و همچنین CD11b روی گرانولوسیت‌ها به عنوان متمایزترین ویژگی‌ها با مقادیر p زیر ۰.۰۱ ظاهر شد. CD69 روی سلول‌های B و سلول‌های NK همراه با CD62L روی گرانولوسیت‌ها نیز مقادیر p قابل توجهی داشتند. سپس یک آنالیز مؤلفه اصلی (PCA) با انتخاب ۶ پارامتر متمایزترین با مقادیر p زیر ۰.۰۵ انجام شد (شکل 1B). اهداکنندگان بیمار و سالم به جز ۳/۲۱ اهداکننده سالم و ۱/۱۶ بیمار ساده به طور جداگانه دسته بندی شدند. بیماران PsA کنترل عمدتاً با بیماران RA همپوشانی داشتند.

کمتر از ۰.۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد، آنالیز شد.

موارد اخلاقی

همه بیماران ثبت نام شده رضایت آگاهانه را ارائه کردند و رویه‌های انجام شده مطابق با اعلامیه هلسینکی بود. مراقبت از آزمودنی‌ها اصلاح نشد و نتایج مطالعه تأثیری بر مدیریت آزمودنی‌ها نداشت. نمونه‌های خون سالم از اهداکنندگانی بود که در بیمارستان سنت جوزف (مارسی، فرانسه) تحت معاینه عمومی قرار گرفتند. طبق قانون فرانسه، تأیید کمیته اخلاق و رضایت اهداکننده برای این نوع مطالعه غیر مداخله‌ای مورد نیاز نبود، مشروط بر اینکه اهداکنندگان اطلاعات دریافت کرده باشند و حق مخالفت با استفاده از نمونه‌های اضافی و داده‌های پزشکی ناشناس را حفظ کنند (Loi n°۲۰۱۲-۳۰۰ در ۵ مارس، ۲۰۱۲). با توجه به نمونه‌های بیمار، از خون کامل ۱۶ بیمار RA، ۱۷ بیمار PsA استفاده شد و همه بیماران در نظر گرفته شده رضایت کتبی آگاهانه برای این مطالعه دادند. مجموعه نمونه بیمار توسط کمیته حفاظت از افراد Sud-Méditerranée II (CPP) (مرجع کمیته: Direction Générale de la خدمات و C10 ۲۰۸ Recherche et de l'Innovation du Ministère شماره شناسایی DC-۲۰۰۸-۳۲۷ تأیید شد. آنالیز

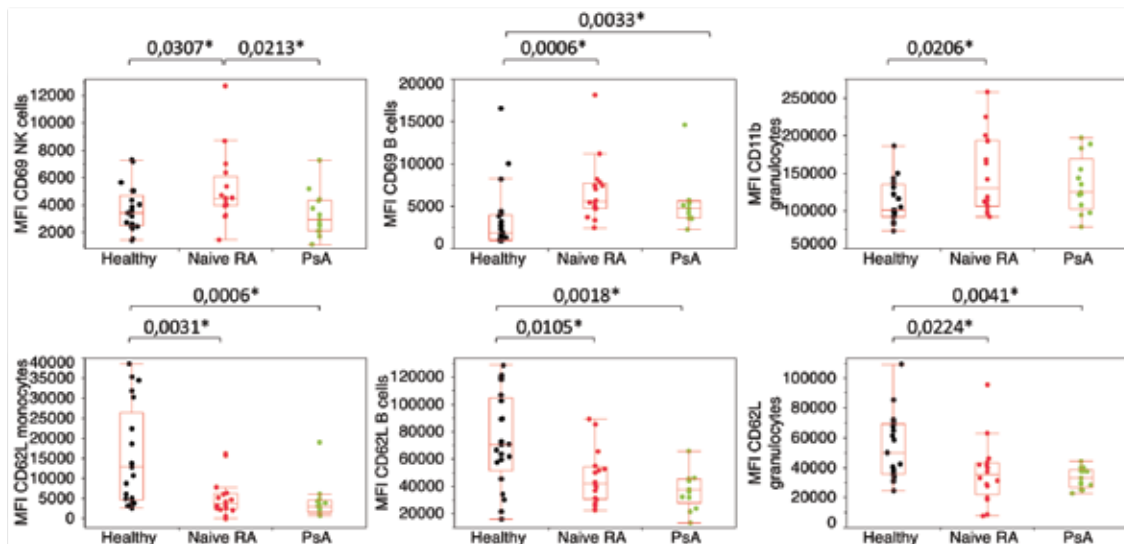


شکل ۱: متمایزترین مارکرهای ایمونوفنوتیپی پایه بین اهداکنندگان سالم و بیمار به درمان بیماران RA و PsA. (الف) نمایش پاسخ میانگین شدت فلورسنت پایه (MFIs) که همه پارامترها را بر اساس توانایی آنها در تشخیص بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید بیمار از سالم رتبه بندی می‌کند. (ب) آنالیز مؤلفه اصلی تنها با در نظر گرفتن بیشتر ویژگی‌های متمایز (p-value < ۰.۰۵).

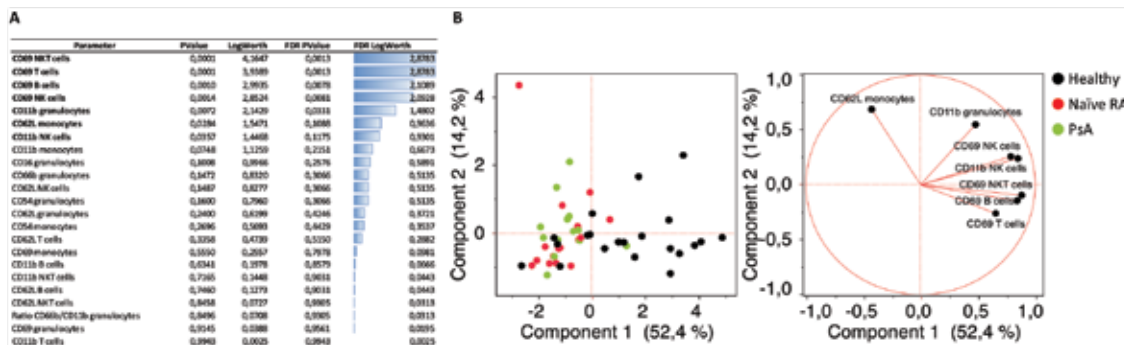
با توجه به بیان چندین مارکر فعال سازی، قابلیت های تحریک سلولی در بیماران RA کمتر بود

پس از مقایسه سطوح بیان مارکرهای فعال سازی پایه، قابلیت های تحریک سلول های ایمنی افراد سالم و بیماران مبتلا به RA را به دنبال رویکردی که قبلاً توضیح داده شد، بررسی کردیم. در شکل ۳، نتایج یک تحلیل بدون نظارت که اکثر پارامترهای متمایز بین گروه ها را تشخیص می دهد نشان داده شده است. همانطور که در مطالعه قبلی ما نشان داد شد، نه تنها مونوسیت ها، بلکه تمام زیرمجموعه های اصلی سلول های ایمنی در درمان LPS در نتیجه واکنش آبخاری آغاز شده توسط اثر LPS بر روی مونوسیت ها تحریک شدند. تحت

برای بررسی بیشتر این که آیا این پارامترها در بیماران RA تنظیم شده اند یا نه، نمودارهای جعبه نمایش داده شد (شکل ۲). مارکرهای فعال سازی مانند CD69 در چندین زیر مجموعه و CD11b بر روی گرانولوسیت ها در بیماران مبتلا به RA در مقایسه با افراد سالم به طور قابل توجهی افزایش یافت. برعکس، بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، CD62L را روی مونوسیت ها، سلول های B و گرانولوسیت ها نشان دادند. در حالی که برخی از مارکرها بین بیماران RA و PsA مشابه به نظر می رسد، برخی دیگر مانند CD69 در سلول های CD62L، B، و CD69 در سلول های NK یا CD11b بر روی گرانولوسیت ها به طور قابل توجهی بین دو زیر گروه بیماری التهابی متفاوت است.



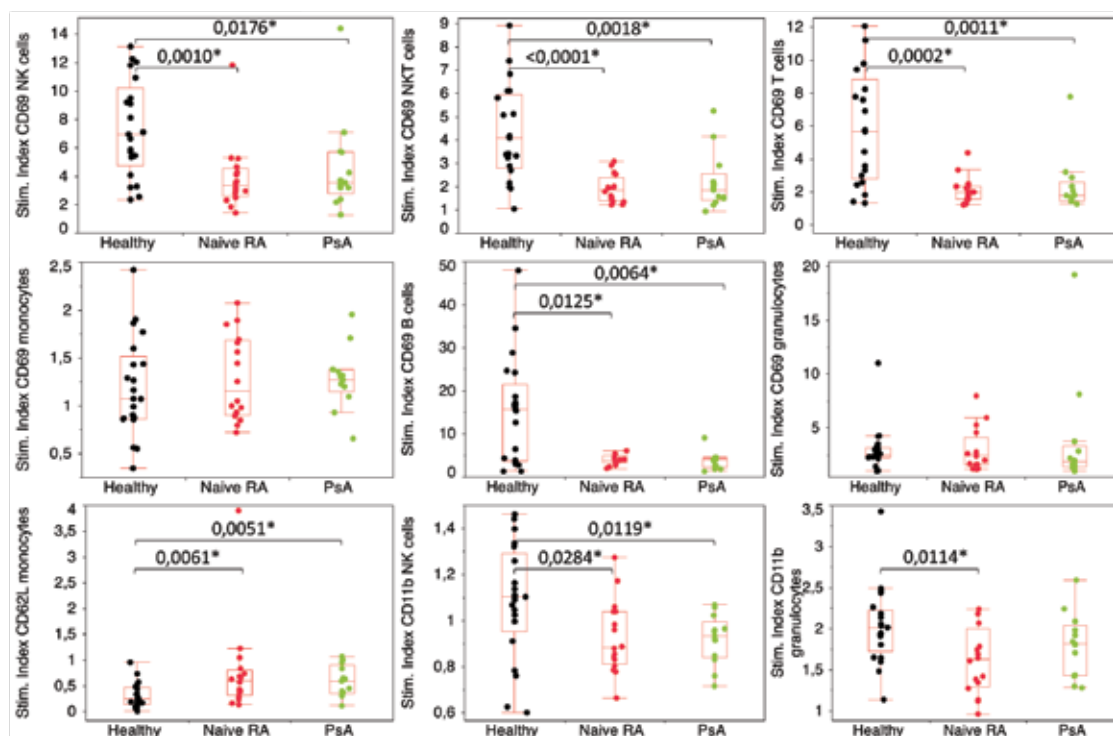
شکل ۲: متمایزترین بیان پایه مارکر ایمنی در بیماران RA و PsA. بیان CD69 میانگین شدت فلورسنت (MFI) در سلول های NK و CD11b MFI و B، گرانولوسیت ها، CD62L در گرانولوسیت ها، سلول های B و گرانولوسیت ها. معنی داری آماری با استفاده از آزمون پارامتری Wilcoxon با $p < 0,05$ تعیین شد.



شکل ۳: آنالیز چند متغیره تمام پارامترهای در نظر گرفته شده برای وضعیت LPS از اهداکنندگان سالم، بیماران مبتلا به RA و PsA. (A) صفحه پاسخ Stim. Index. همه پارامترها را با توجه به قدرت تمایز آن برای تشخیص بیماران RA از سالم پس از تحریک LPS رتبه بندی می کند. (B) آنالیز مؤلفه اصلی تنها ویژگی های متمایزکننده ای بودند که دارای $p\text{-value} < 0,05$ بودند در آنالیز گنجانده شدند.

با کاهش کمتری در تحریک LPS نسبت به داوطلبان سالم، بیماران RA کاهش قابل توجهی بیشتری از CD11b روی سلول‌های NK و گرانولوسیت‌ها نسبت به افراد سالم و نمونه‌های PSA ارائه کردند. پاسخ *In vitro* به Infiximab بین بیماران مبتلا به RA، افراد سالم و درمان شده متفاوت بود از آنجایی که پاسخ به درمان یکی از بزرگترین چالش‌ها در مدیریت RA است، در مرحله بعدی توانایی *ex vivo* برای پاسخ به یک ضد TNF شناخته شده (infiximab) برای ارزیابی اینکه آیا طبقه‌بندی و نظارت بیماران می‌تواند به طور بالقوه از چنین رویکردی سود ببرد، ما را شگفت‌زده کرد. تجزیه و تحلیل بدون نظارت با در نظر گرفتن گروه‌های بیماران مبتلا به RA، افراد سالم و درمان انجام شد (شکل ۵A). همانطور که قبلاً، ما یک رویکرد آنالیز بدون نظارت را اتخاذ کردیم و متعاقباً یک اسکریپت پاسخ و یک آنالیز PCA انجام دادیم (شکل 5B). (شکل CD69 روی سلول‌های NK و CD62L روی سلول‌های NK، مونسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها، CD11b روی سلول‌های B و درصد مونسیت‌های +tmTNF

این شرایط فعال‌سازی، CD69 در سلول‌های T، NKT، NK و B به‌عنوان متمایزکننده‌های اصلی بین بیماران مبتلا به RA و افراد سالم شناسایی شدند. مولکول‌های چسبنده مانند CD11b روی گرانولوسیت‌ها و CD62L روی مونسیت‌ها نیز دارای p-value کمتر از ۰.۰۵ بودند. علیرغم برخی تفکیک فضایی متمایز بین گروه‌ها، هیچ خوشه‌بندی آشکاری هنگام در نظر گرفتن ۷ بهترین تمایز برای آنالیز PCA بعدی مشاهده نشد (شکل 3B). به‌عنوان یکی از متمایزترین مارکر در چندین زیر مجموعه، ما سپس با جزئیات بیشتر مارکرهای فعال‌سازی عمومی CD69 را آنالیز کردیم. همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده است، مقادیر کمتری Stim. Index در بیماران RA و PsA در مقایسه با افراد سالم مشاهده شد. این کاهش در چندین نوع سلول از جمله سلول‌های T، NK، B قابل مشاهده بود. در مقابل، هیچ تفاوتی برای مونسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها یافت نشد. نه تنها CD69 بلکه شاخص‌های تحریک CD11b و CD62L نیز بین گروه‌ها متفاوت بود. در حالی که CD62L در بیماران RA و PsA رفتار مشابهی داشت،



شکل ۴: نمودارهای جعبه‌ای برای بیان CD69، CD62L و CD11b پس از تحریک LPS در بیماران RA و PsA و افراد سالم Stim. Index با نرمال کردن مقادیر MFI از شرایط LPS با شرایط منفی به دست آمد. معنی‌داری آماری با استفاده از آزمون ناپارامتری Wilcoxon با مقدار * $p < 0.05$ تعیین شد.

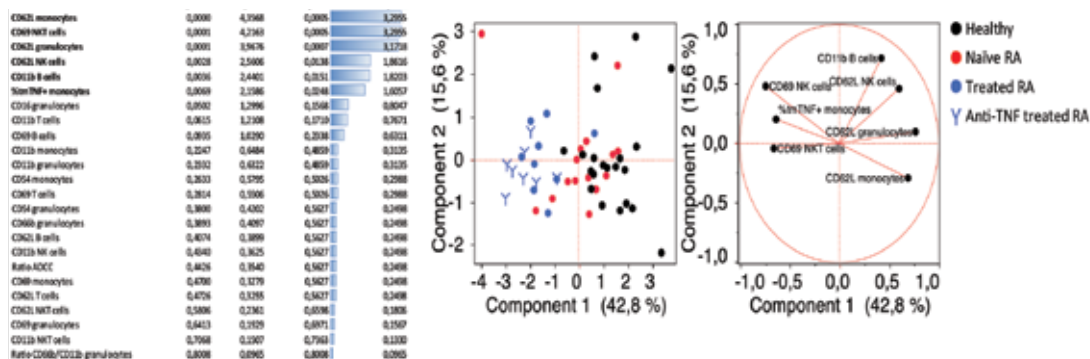
بحث

آرتریست روماتوئید یک بیماری با ویژگی های ناهمگن بیماران است که چشم انداز درمان آن به طور قابل توجهی در دهه های گذشته تکامل یافته است. علاوه بر متوترکسات که از لحاظ تاریخی مورد استفاده قرار می گرفت، بسیاری از درمان های بیولوژیکی توسعه یافته اند، و از زمانی که EULAR 2013 توصیه های به روز شده برای درمان RA را به روزرسانی کرد، درمان های ترکیبی نیز در آن گنجانده شده اند. با این حال، درمان بیماران دشوار به عنوان یک چالش حل نشده باقی مانده است که مدیریت این بیماری را در سطح جهانی مختل می کند. برخی گزارش ها پیشنهاد می کنند که نرخ عدم پاسخ دهی برای درمان های ضد TNF می تواند تا ۴۰-۳۰٪ باشد. با چنین نرخ بالای بیماری که به درمان پاسخ نمی دهند، نیاز به درک بهتر ویژگی های ایمنی، از جمله بیومارکرهایی که می توانند به بهبود استراتژی های درمانی کمک کنند، وجود دارد.

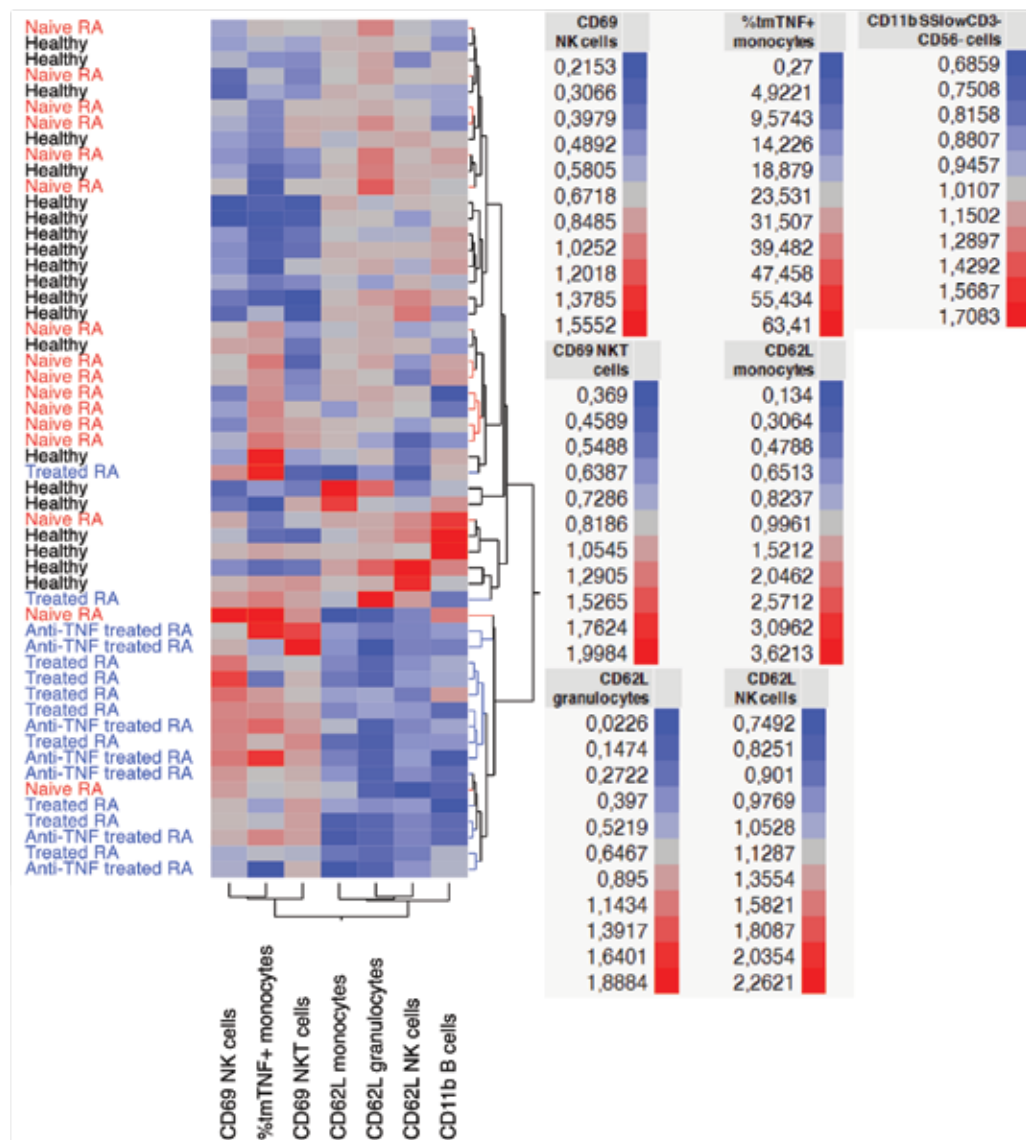
RA به طور گسترده با استفاده از انواع مدل های پیش بالینی *in vivo* و *in vitro* مورد بررسی قرار گرفته است. معمولاً از موش ها برای انجام مطالعات بنیادی استفاده می شود. سیستم های دیگری مانند رده های سلولی، سلول های مشتق شده از انسان مانند سلول های جدا شده یا سلول های تک هسته ای خون محیطی (PBMCs) نیز برای انعکاس بهتر وضعیت انسان در داخل بدن مورد بررسی قرار گرفته اند. موش های انسانی نیز امروزه بیشتر مورد استفاده قرار می گیرند، با این حال بسیار گران هستند و محدودیت های متعددی دارند. در

ویژگی های متمایز ($p\text{-value} < 0.05$) بودند و برای آنالیز PCA در نظر گرفته شدند. در حالی که اهداکنندگان سالم و بیماران روماتوئید RA در طرح PCA همپوشانی داشتند، بیماران RA تحت درمان، بدون توجه به درمان، به طور قابل توجهی از بقیه افراد جدا شدند و یک خوشه نسبتاً کاملاً تعریف شده را تشکیل دادند که تنها ۱ بیمار RA درمان شده از ۱۷ مورد در آن خوشه نبود.

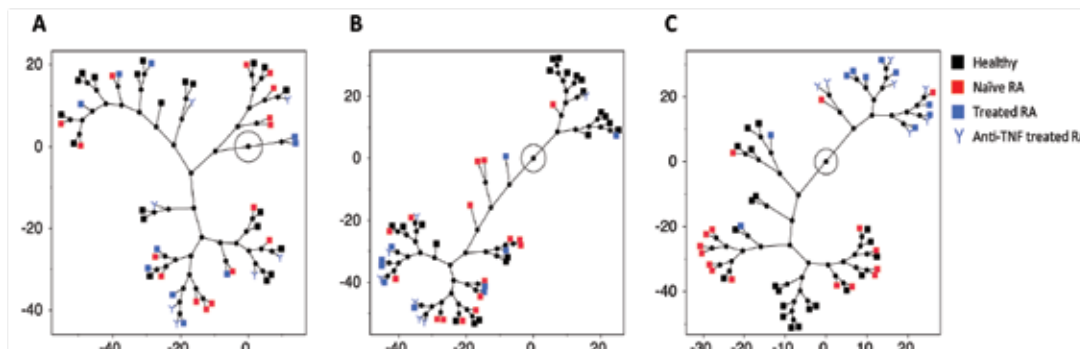
با تعمیق بیشتر در پاسخ *in vitro* به IFX، یک آنالیز خوشه بندی سلسله مراتبی برای بررسی جزئیات تفاوت های موجود بین گروه ها انجام شد (شکل ۶). شایان ذکر است، شاخص های تحریک CD62L در سلول های NK، مونوسیت ها و گرانولوسیت ها در بیماران تحت درمان با RA در مقایسه با اهداکنندگان ساده و سالم کمتر بود که نشان دهنده تأثیر کمتر IFX در این گروه است. جالب توجه است که CD11b روی سلول های B نمایه ای مشابه با CD62L نشان داد. برعکس، CD69 روی سلول های NK، NKT، B و همچنین نسبت مونوسیت های tmTNF^+ در بیماران تحت درمان بیشتر بود. علاوه بر روندهای کلی، چنین آنالیزی به این ترتیب امکان ثبت ناهمگونی پاسخ بین افراد را فراهم می کند. جالب توجه است، مشخص شد که نمایه خوشه بندی به شدت به شرایط فعال سازی بستگی دارد (شکل ۷). با استفاده از نمودارها، هیچ خوشه آشکاری در شرایط منفی (شکل ۷A) و LPS (شکل ۷B) یافت نشد، در حالی که گروه بیماران تحت درمان عموماً هنگامی که اینفلیکسیماب به ترکیب اضافه شد، به طور جداگانه دسته بندی شدند (شکل ۷C).



شکل ۵: آنالیز چند متغیره تمام پارامترهای در نظر گرفته شده برای شرایط LPS+IFX اهداکنندگان سالم، بیماران RA و درمان شده در شرایط LPS+IFX اسکرین پاسخ Stim. Index مارکرهای سلول ایمنی. Stim. Index با عادی سازی مقادیر MFI LPS+IFX توسط MFI LPS به دست آمد. (B) آنالیز مؤلفه اصلی تنها بیشتر ویژگی های متمایز با داشتن $p < 0.05$ در آنالیز گنجانده شد.



شکل ۶: دندوگرام بر اساس آنالیز خوشه بندی دو طرفه با توجه به اکثر پارامترهای متمایز بین بیماران، افراد سالم و درمان شده RA. خوشه بندی سلسله مراتبی بدون نظارت با در نظر گرفتن افراد سالم (سیاه) مبتلا (قرمز) و درمان شده یا تحت درمان با anti-TNF (آبی) انجام شد که در آن هر ردیف نشان دهنده یک اهداکننده است.



شکل ۷: خوشه بندی نمونه با در نظر گرفتن اهداکنندگان سالم، بیماران RA و درمان شده. کنترل منفی غیر نرمال شده (A)، شرایط نرمال شده LPS توسط کنترل منفی (B)، LPS+IFX، نرمال شده توسط شرایط (C) رنگ‌ها نشان دهنده افراد سالم (سیاه) بیمار (قرمز) یا تحت درمان هستند. هر سطر با یک نقطه پایانی نمایش داده می شود و هر پیوند خوشه با یک نقطه جدید نشان داده می شود. خطوط نشان دهنده فاصله بین خوشه ها و نسبت به یکدیگر هستند.

بیماران RA بیشتر CD69 را روی سلول های B بیان می کنند، می تواند مربوط به فعال سازی پایه سلول های B و تولید ایمونوگلوبولین و آنتی بادی بالاتر باشد. در تنظیمات ما، بیماران RA در مقایسه با اهداکنندگان سالم، بیان تغییر یافته CD11b بر روی گرانولوسیت ها و CD62L در مونوسیت ها، سلول های B و گرانولوسیت ها را نشان دادند. این در توافق با مطالعات قبلی است که همچنین چنین تغییراتی را در نمونه های بیماران RA گزارش کرده بودند. CD11b و CD62L که با نام های ITGAM و L-selectin نیز شناخته می شوند، مولکول های چسبنده هستند و نقش کلیدی در مهاجرت سلولی و فرآیندهای کموتاکسی دارند. نقش CD62L در التهاب قبلاً به عنوان نقش مهمی برای انتقال سلول به بافت ها مشخص شده است. CD11b برای چرخش لکوسیت، چسبندگی، خزیدن و انتقال از طریق عروق خونی مهم است. می توان فرض کرد که تغییر بیان این مولکول ها ممکن است به نرخ نفوذ سلولی بالاتر به غشای سینوویال کمک کند.

برخی از این ویژگی های مشخصه در گروه PsA نیز قابل مشاهده بود. CD69 روی سلول های NK یا CD11b و CD62L روی گرانولوسیت ها به نظر می رسد که فقط گروه RA را متمایز می کنند، و دوباره به نقش احتمالاً اصلی ایمنی ذاتی در RA اشاره می کنند. نقش ویژه CD69 در پاتوژنز RA قبلاً در مدل های تجربی مختلف برای پاسخ سلول های التهابی برجسته شده است. هنگام مقایسه بیان پایه مارکرها بین گروه های RA و PsA، تضاد قابل توجهی توسط آنالیز PCA با CD69 روی سلول های NK و NKT و همچنین CD62L روی سلول های T به عنوان تمایز کننده های قوی تر مشخص شد.

ما در مرحله بعد قابلیت های فعال سازی سلولی را با استفاده از تحریک LPS در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردیم. از طریق تعامل TLR4، مونوسیت ها در ابتدا فعال می شوند و انواع واسطه های التهابی، از جمله TNF را تولید می کنند که باعث ایجاد یک آبشار فعال سازی پایین دستی می شود که باعث فعال سازی کلی سلول های ایمنی می شود و در نتیجه یک محیط التهابی را دوباره ایجاد می کند. علیرغم تفکیک ناقص PCA بین گروه ها، شاخص های تحریک نمونه RA پس از تحریک LPS در زیر مجموعه های مختلف با توجه به بیان CD69، CD11b

تلاش برای توسعه مدل های جدید که در آن فیزیولوژی انسان حتی بهتر ارائه می شود، رویکردهای جدیدی ظهور کرده و در دهه گذشته بهبود یافته اند، به ویژه در مورد مفاهیم ارگانوئیدها و/یا ارگان روی تراشه. به عنوان مثال، رویکردهای مهندسی بافت سه بعدی که ویژگی های ساختاری مفصل یا رویکردهای میکروسسیال را تقلید می کنند، اخیراً مورد بحث قرار گرفته اند. علاوه بر این که به راحتی در دسترس است، خون کامل دارای مزایای زیادی است. اگر تازه (۲۴ ساعت) کشیده شود، نه تنها حاوی سلول های ایمنی زنده است که عملکرد آنها قابل بررسی است، بلکه دارای بخش های خونی اضافی است که شامل گلبول های قرمز، پلاکت ها، متابولیت ها، لیپیدها، پروتئین ها، آنتی بادی ها می شود. مسیرها و یا فعل و انفعالاتی که باید اتفاق بیفتند. در اینجا ما فرض کردیم که سنجش های عملکردی مبتنی بر خون کامل می تواند به طور قابل توجهی شبیه فیزیولوژی انسان در داخل بدن باشد و دیدگاه های ارزشمند تحقیق ترجمه را باز کند. علاوه بر این، با استفاده از پروتکلی که در آن دستکاری نمونه به حداقل کاهش می یابد، هدف ما ارائه یک گردش کار ساده و کاربردی با حذف بسیاری از منابع تنوع است. ما ابتدا بیان مارکرها پایه را بررسی کردیم تا تفاوت ها را در سطوح مارکرها فعال سازی بین اهداکنندگان سالم و بیماران مبتلا به RA همانطور که در شکل تکمیلی خلاصه شده است، برجسته کنیم. همانطور که در شکل های ۱ و ۲ نشان داده شده است، تفاوت های قابل توجهی با CD69 مشاهده شد که روی سلول های NK، سلول های B و گرانولوسیت های بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئیدی ساده تنظیم شده است، که آخرین مورد مطابق با Capsoni و همکارانش است. بیان CD69 بالاتر در هر دو بخش NK و گرانولوسیت بیشتر تایید می کند که ایمنی ذاتی نقش مرکزی در پاتوژنز RA ایفا می کند. به عنوان مثال، نسبت ها و وضعیت فعال سازی سلول های NK مایع سینوویال در بیماران مبتلا به RA پیشرفته و فعال بیشتر است که نشان دهنده نقش مهمی در فعالیت بیماری است. مکانیسم های فعال سازی نوتروفیل ها مانند NETosis، استرس اکسیداتیو و یا قابلیت های مهاجرت نیز گزارش شده است که در RA تنظیم نشده است و می تواند به طور قابل توجهی به بیماری کمک کند. این واقعیت که

هیچ پاسخی نشان ندادند. از آنجایی که ۱۶ نفر از ۱۷ بیمار تحت درمان حداقل یک درمان بیولوژیکی را انجام داده‌اند یا در حال حاضر هستند، می‌توان این فرض را داشت که اهداکنندگان تحت درمان با RA در نتیجه مکانیسم‌های مقاومت درمانی نصب شده قبلی کمتر به IFX پاسخ می‌دهند. با این حال، هیچ ارتباط و تمایزی در هنگام بررسی اهداکنندگانی که قبلاً درمان ضد TNF داشته‌اند، یافت نشد، از این رو این فرضیه باید بیشتر مورد مطالعه قرار گیرد. اگرچه، این نتایج با مطالعات قبلی مطابقت دارد، که کاهش تولید TNF را در بیماران مبتلا به RA قبلاً تحت درمان (چه در مورد متوترکسات یا درمان‌های ضد TNFs) قرار داده‌اند.

نتیجه

سنجش عملکردی مبتنی بر خون کامل پیشنهادی می‌تواند یک ابزار ارزشمند برای توصیف بیمار RA باشد. علاوه بر نشان دادن تفاوت‌های پایه بین اهداکنندگان بیمار و سالم برای بیان برخی از مارکرهای فعال‌سازی، قابلیت‌های فعال‌سازی نامنظم بر تحریک LPS گزارش شده است. نشان داده شده است که پروفایل‌های خوشه‌بندی نمونه به شدت به شرایط فعال‌سازی بستگی دارد، نه تنها زمانی که شرایط پایه و LPS مقایسه شدند، بلکه زمانی که درمان *in vitro* ضد TNF انجام شد. علاوه بر این، پروفایل‌های متفاوتی در گروه بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید RA یافت شد که اهمیت مطالعه عملکرد سلولی را برای آشکار کردن ویژگی‌های طبقه‌بندی بیمار برجسته می‌کند. با این مطالعه اثبات مفهوم، هدف ما نشان دادن ارتباط سنجش‌های عملکردی مبتنی بر خون کامل در مطالعات انتقال دانش به بالین بود. برای ادامه ارزیابی استفاده بالقوه از این رویکرد در زمینه پیش‌بینی پاسخ، گروه‌های بزرگ‌تر و همچنین مارکرهای فرسودگی و فعال‌سازی بیشتر باید در نظر گرفته شوند. علاوه بر این، بیماران به درمان در نظر گرفته شده در اینجا پس از تجویز درمان به صورت طولی تحت نظارت قرار خواهند گرفت.

منبع:

<https://www.nature.com/articles/s41598-022-16622-4>

یا CD62L به طور قابل توجهی پایین‌تر بود. با توجه به این نتایج، ما دو فرضیه ممکن را در نظر می‌گیریم. از یک طرف، ما تأیید کردیم که وضعیت فعال‌سازی پایه بیماران RA بالاتر از اهداکنندگان گرم است، که ممکن است توضیح دهد که چرا قابلیت‌های تحریک سلولی در این بیماران کمتر است. از سوی دیگر، سلول‌ها ممکن است در نتیجه وضعیت التهاب مزمن موجود در RA خسته شوند. در حمایت از این فرضیه، برخی از نشانگرهای خستگی در بیماران RA بالاتر هستند. به عنوان مثال، PD-1، چه به صورت محلول و چه بر روی سلول‌های T، Tim-3 در محیطی، سلول‌های T و مونوسیت‌ها و همچنین CTLA-4 در سلول‌های T سینه‌ویال و Tregs دچار اختلال در تنظیم شدند.

در نهایت، ما پاسخ آزمایشگاهی به LPS و infliximab را برای ارزیابی توانایی هر فرد و یا گروه برای پاسخ به این ضد TNF، از جمله بیماران RA تحت درمان، مورد مطالعه قرار دادیم. الگوهای خوشه‌بندی متفاوتی پیدا شد که نشان دهنده قابلیت متفاوتی برای پاسخ به IFX است. شاخص‌های تحریک CD69 روی سلول‌های B، NKT، NK و سلول‌های T و همچنین CD11b روی گرانولوسیت‌ها، در بیماران RA تحت درمان پایین‌تر بود، که همگی در مورد مکانیسم عمل خنثی‌سازی سیگنالی‌نگ به جلو (MOA) اطلاع‌رسانی می‌کردند. با توجه به MOA سیگنال دهی معکوس، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد زیرا هر دو بیان tmTNF و CD54 توسط مونوسیت‌ها قابل مقایسه بودند. ناهمگونی در سطح فردی نیز قابل مشاهده بود. با ترکیب پانل ۱۰ امکان پذیر شد، درگیری سلول‌های NK از طریق MOA ADCC نیز از طریق نظارت همزمان CD16 و CD69 بر روی آن زیر مجموعه سلولی خاص مورد مطالعه قرار گرفت. حدود ۷۰ درصد از بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید ساده نسبت سمیت سلولی وابسته به آنتی‌بادی (ADCC) کمتری نسبت به گروه کنترل سالم نشان دادند، در نتیجه قابلیت‌های ADCC بالاتری را نشان می‌دهند. با این حال، تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد. جالب توجه است، بیماران PsA نسبت به طور قابل توجهی پایین‌تر در مقایسه با اهداکنندگان سالم نیز هستند. در مقابل، بیماران RA تحت درمان با مکانیسم ADCC

تصمیم‌گیری مشترک در سلامت روان: چشم‌انداز پزشکی شخصی

چکیده

این مقاله مدل تصمیم‌گیری مشترک را توصیف می‌کند، وضعیت فعلی آن را در زمینه سلامت روان بررسی می‌کند، و تاثیر بالقوه آن را بر پزشکی شخصی مورد بحث قرار می‌دهد. تصمیم‌گیری مشترک بیانگر فرآیند ساختاری است که مشارکت کامل بیمار و ارائه دهنده را تشویق می‌کند. تحقیقات کنونی نشان می‌دهد که تصمیم‌گیری مشترک می‌تواند مشارکت بیماران سلامت روان و کیفیت تصمیم‌گیری را از نظر دانش و ارزش بهبود بخشد. تأثیر تصمیم‌گیری مشترک بر پایبندی، خود مدیریت بیماری و پیامدهای سلامت هنوز مورد مطالعه قرار می‌گیرد. اجرای تصمیم‌گیری مشترک به طور گسترده نیازمند مهندسی مجدد جریان مراقبت‌های بالینی در تنظیمات معمول و استفاده بیشتر از فناوری اطلاعات است. تغییرات مشابهی برای ترکیب داده‌های ژنومی و سایر داده‌های بیولوژیکی با ارزش‌ها و ترجیحات بیماران و با تخصص پزشکان مورد نیاز است. آینده پزشکی شخصی شده با توانایی ما برای ایجاد زیرساخت و پذیرش فرهنگی نسبت به این تغییرات بسیار مرتبط است.

مقدمه:

پیچیدگی فعلی درمان‌ها و نتایج در پزشکی مدرن یک معضل اساسی را ارائه می‌دهد. تعداد کمی از تصمیمات درمانی پزشکی شامل بهترین انتخاب واضح است. تصمیم پزشکی معمولی شامل معاوضه بین چندین مداخله تا حدی موثر با خطرات مختلف است. مورد مداخلات جراحی را در نظر بگیرید. قرار دادن سنجاق در لگن شکسته یک مورد نادر از بهترین درمان توافقی



وحید رضا اصفهانی^۱

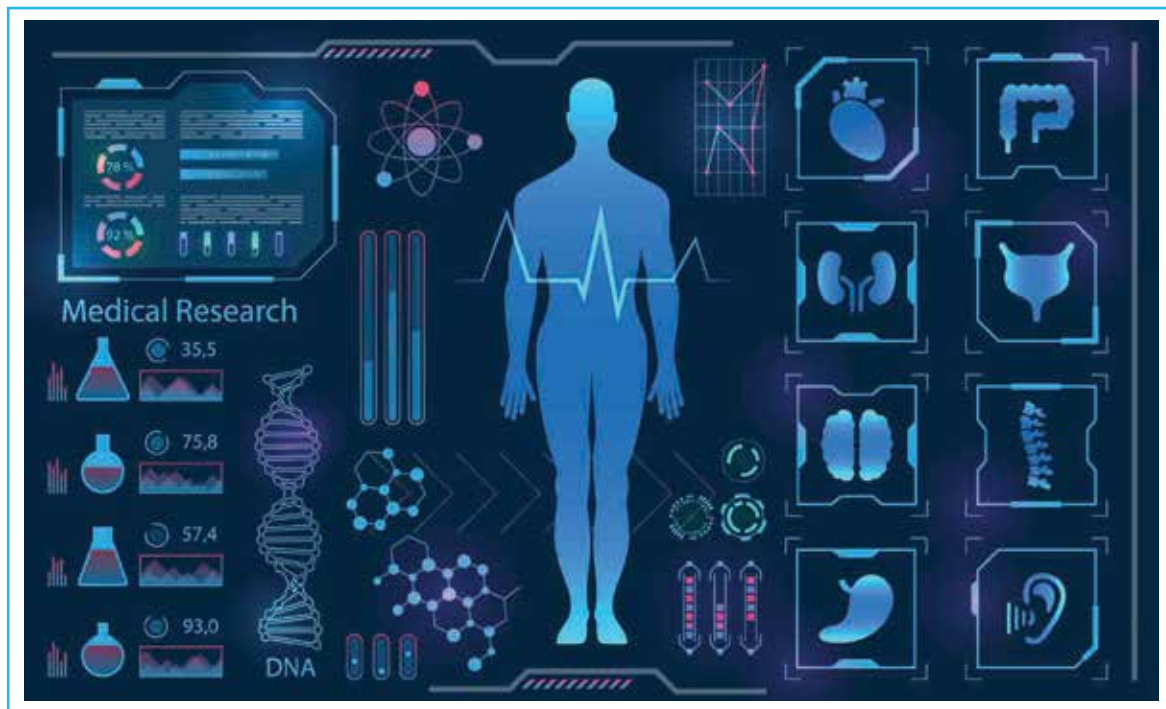
۱- کارشناسی ارشد سلولی مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
پژوهشگر مرکز تحقیقات پزشکی شخصی آمیتیس ژن



جایگزین‌ها، تخصص به ارمغان می‌آورد. بیمار (اغلب توسط خانواده یا اعضای شبکه حمایتی کمک می‌کند) تخصص مربوط به درک ارزش‌ها، اهداف، حمایت‌ها و ترجیحات فرد را به همراه دارد. تصمیم‌گیری مشترک عموماً شامل ارائه دیدگاه‌های مربوط به هر دو طرف و سپس مذاکره در مورد طرحی است که هر دو موافق اخلاقی، مطابق با شواهد، مطابق با ترجیحات بیمار و عملی است. از لحاظ مفهومی، تصمیم‌گیری مشترک بین دو رویکرد افراطی برای تصمیم‌گیری پزشکی قرار می‌گیرد: مدل‌های تصمیم‌گیری پدران‌ه و خودمختار. در مدل سنتی پدران‌ه، پزشک بر اساس شواهد علمی و قضاوت بالینی بهترین را برای یک بیمار خاص ارزیابی می‌کند و تصمیم می‌گیرد. در مدل تصمیم‌گیری خودمختار، اطلاعات به بیمار ارائه می‌شود، اطلاعات را وزن می‌کند و به صورت یک طرفه انتخاب می‌کند. به عنوان یک مثال ساده از تصمیم‌گیری مشترک، زن جوانی را در نظر بگیرید که به طور ناگهانی در نتیجه آسیب کمر دچار درد شدید می‌شود. معاینه پزشکی و تصویربرداری رزونانس مغناطیسی او بیرون‌زدگی دیسک کمر را نشان می‌دهد. پزشک او روش‌های جایگزین را توصیف می‌کند که شامل جراحی، بلوک‌های عصبی،

برای تقریباً هر بیمار است. در بسیاری از موقعیت‌های رایج جراحی دیگر، شواهد به طور قابل توجهی پیچیده تر است. به عنوان مثال، جراحی برای هیپرتروفی خوش خیم پروستات، جریان ادرار بهتری را در خطر بی‌اختیاری و ناتوانی جنسی ایجاد می‌کند. هنگامی که مردان به طور دقیق این معاوضه را درک می‌کنند، بسیاری داروها یا انتظار هوشیارانه را ترجیح می‌دهند. به طور مشابه، برای سرطان پستان اولیه، آسیب دیسک ستون فقرات، سرطان پروستات، صدمات روتاتور کاف، فیبروم رحم، بیماری عروق کرونر، و بسیاری از شرایط جراحی دیگر، انتخاب از میان مداخلات مختلف وجود دارد. با پیامدهای پیچیده و اثرات نامطلوب قاعده است. این معضل اساسی این باور را ایجاد می‌کند که بیماران باید به طور کلی در تصمیم‌گیری‌های پزشکی مشارکت داشته باشند و به طور خاص به پارادایم تصمیم‌گیری مشترک منجر می‌شود.

تصمیم‌گیری مشترک فرض می‌کند که دو متخصص (یا تیم‌های متخصص) باید در تصمیم‌گیری‌های پیچیده پزشکی با یکدیگر همکاری کنند. ارائه‌دهنده مراقبت‌های بهداشتی (اغلب تیمی از متخصصان) در درک مشکل پزشکی، مداخلات احتمالی و مزایا و خطرات بالقوه



از سلامت روان باید فرد محور باشد. همانطور که در مورد سایر بیماری‌های درازمدت صادق است، توانمندسازی افراد برای آگاهی و فعال بودن در مدیریت بیماری‌های روانی خود حیاتی است. تصمیمات مربوط به بیماری‌های مزمن از چندین جهت با تصمیمات مراقبت‌های حاد متفاوت است: به عنوان مثال، فرصت‌های زیادی برای تصمیم‌گیری و بازبینی مجدد وجود دارد و بیمار باید مسئولیت بسیار بیشتری را در اجرای تصمیمات روزانه به عهده بگیرد. به دلیل ارزش‌های شخصی و پاسخ‌های ذهنی، خود بیماران می‌توانند به بهترین وجه معاوضه در اثربخشی و عوارض جانبی را ارزیابی کنند. در سلامت روان، تصمیم‌گیری مشترک، روابط کاری مورد نیاز برای بهینه‌سازی نتایج بلندمدت را افزایش می‌دهد. برای مثال، یادگیری مدیریت بیماری با داروها شامل فرآیندی پویا و طولی است که شامل حل تعارضات تصمیم‌گیری، انجام آزمایش‌ها، ایجاد تعادل بین اثرات مثبت و منفی و ایجاد تغییرات می‌شود. یک اتحاد کاری نزدیک بین پزشک و مشتری شرط اساسی موفقیت است. علاوه بر این نگرانی‌های عملی، دیگران استدلال‌های اخلاقی و قانونی برای تصمیم‌گیری مشترک ارائه کرده‌اند. خودمختاری - حق تصمیم‌گیری در مورد بدن خود - از دیرباز یک اصل اساسی اخلاق پزشکی غربی بوده است. با توجه به اهمیت استقلال، استاندارد قانونی مراقبت پزشکی از رضایت آگاهانه به انتخاب آگاهانه در میان گزینه‌های معقول تغییر می‌کند.

اکثر بیماران سلامت روان تمایل خود را برای مشارکت در تصمیم‌گیری در مورد داروها و بستری شدن در بیمارستان ابراز می‌کنند. با این وجود، تصمیم‌گیری مشترک در الگوریتم‌های دارویی روانپزشکی که به طور گسترده منتشر شده است برجسته نیست و معمولاً در مدیریت روزانه دارو اعمال نمی‌شود. بیماران مبتلا به بیماری‌های روانی شدید و مداوم گزارش می‌دهند که نقش درک شده آنها در تصمیم‌گیری‌های پزشکی معمولاً منفعل است. علاوه بر این، بسیاری از روانپزشکان به طور مداوم گزارش می‌دهند که تصمیم‌گیری مشترک برای تصمیم‌گیری در مورد داروها و بستری شدن در بیمارستان به دلیل ناتوانی در تصمیم‌گیری بیماران قابل اعمال نیست.

در عین حال، شواهد در حمایت از تصمیم‌گیری

بریس پشت، فیزیوتراپی و انتظار مراقبه است. بیمار و والدینش از جراحی بیزار هستند، به خصوص زمانی که خطرات آن را درک می‌کنند و درمان محافظه کارانه را ترجیح می‌دهند. پزشک موافقت می‌کند که پوشیدن بریس و انتظار ۲ ماهه برای ارزیابی مجدد آسیب منطقی است. دو ماه بعد، او بسیار بهبود یافته است، و آنها موافقت می‌کنند که ورزش بهترین استراتژی است.

حالا یک تصمیم پیچیده‌تر را در نظر بگیرید. زن جوان دومی دچار توده سینه می‌شود و سرطان پستان اولیه بدون عارضه تشخیص داده می‌شود. پزشک او جایگزین‌های جراحی (لومپکتومی در مقابل برداشتن سینه) و همچنین شیمی‌درمانی و پرتودرمانی کمکی را با او مرور می‌کند و خطرات و مزایای هر کدام را شرح می‌دهد. با توجه به مراحل اولیه بیماری، پزشک به وضوح معتقد است که بیمار یک کاندید عالی برای لامپکتومی است. به دلیل سابقه خانوادگی قوی و تجربه تماشای مرگ مادرش بر اثر سرطان سینه، اما زن جوان ماستکتومی دوطرفه را ترجیح می‌دهد پس از بحث بیشتر با بیمار و همسرش، پزشک تصمیم بیمار را درک کرده و می‌پذیرد و عمل جراحی رادیکال‌تری را انجام می‌دهد. در این حالت، پزشک ابتدا با انتخاب بیمار مخالف است اما ترجیح و حق تصمیم‌گیری بیمار را می‌پذیرد.

ادبیات پزشکی و شواهد تحقیقاتی در مورد تصمیم‌گیری مشترک، پشتیبانی تصمیم‌گیری و کمک‌های تصمیم‌گیری گسترده و به سرعت در حال رشد هستند. به عنوان مثال، در حال حاضر به معنای واقعی کلمه صدها وسیله کمکی برای تصمیم‌گیری برای کمک به بیماران در تصمیم‌گیری پزشکی وجود دارد. تنوع این ابزارها اخیراً منجر به توسعه استانداردهای بین‌المللی شده است. شواهد نشان می‌دهد که کمک‌های تصمیم‌گیری به بیماران کمک می‌کند تا تصمیمات آگاهانه‌تری اتخاذ کنند که با ارزش‌ها و ترجیحات آنها همخوانی بیشتری دارد. اثرات بلندمدت بر پیامدهای اولیه سلامت هنوز به خوبی مورد مطالعه قرار نگرفته است.

تصمیم‌گیری مشترک در سلامت روان: وضعیت فعلی

چندین استدلال حاکی از اهمیت تصمیم‌گیری مشترک در سلامت روان است. اول و مهمتر از همه، مراقبت موثر



دادند و دریافتند که بیماران آزمایشی بهبودهایی را در کیفیت ارتباط پزشک بیمار گزارش کردند و مداخله بلافاصله تغییراتی را در مدیریت دارو ایجاد کرد. Hamann و همکاران یک کارآزمایی تصادفی سازی و کنترل شده را با بیماران بستری اسکیزوفرنی انجام دادند و متوجه افزایش دانش و مشارکت درک شده در تصمیم گیری های گروه آزمایش در طول بستری شدند. Priebe و همکاران از یک طرح تصادفی خوشه ای برای مطالعه استفاده از یک مداخله با واسطه کامپیوتری برای ساختار دادن به تعاملات بیمار و پزشک در رابطه با کیفیت زندگی و نیاز به مراقبت هر ۲ ماه به مدت یک سال استفاده کردند. بیماران اسکیزوفرنی در گروه آزمایش کیفیت ذهنی زندگی بهتر، نیازهای برآورده نشده کمتر و رضایت بیشتری از درمان در یک سال داشتند. Loh و همکاران از یک طرح تصادفی خوشه ای برای مطالعه یک مداخله تصمیم گیری مشترک با بیماران افسرده استفاده کردند. در پیگیری ۶ تا ۸ هفته ای، بیماران گروه آزمایش مشارکت بیشتری در تصمیم گیری و رضایت بیشتر از مراقبت را گزارش کردند، اگرچه مداخله بر شدت علائم افسردگی تأثیری نداشت. Joosten و همکاران از یک طرح تصادفی خوشه ای برای مطالعه تصمیم گیری مشترک در برنامه های درمان اعتیاد بستری استفاده کردند. بیمارانی که تصمیم گیری مشترک را به جای تصمیم گیری سنتی دریافت کردند، کاهش بیشتری در مصرف مواد مخدر و علائم روانپزشکی در پیگیری ۳ ماهه داشتند. Woltmann از یک طرح تصادفی خوشه ای برای مطالعه تصمیم گیری مشترک در طول یک جلسه برنامه ریزی درمان بین مدیران پرونده و مراجعان مبتلا به بیماری های روانی شدید و پایدار استفاده کرد. مشتریان و مدیران پرونده در گروه تصمیم گیری مشترک بیشتر گزارش می دهند که تصمیمات مشارکتی بوده است. بنابراین، مانند پزشکی عمومی، تحقیقات اولیه در سلامت روان نشان می دهد که تصمیم گیری مشترک کیفیت تصمیم ها (دانش، مشارکت و تطابق با ارزش ها) را افزایش می دهد، اما حداقل شواهدی در مورد نتایج عینی سلامت وجود دارد. مطالعات بلندمدت پیامدهای سلامت مرتبط با دانش بیشتر، مشارکت در خود مدیریتی بیماری و روابط بهتر با پزشکان باید ارزیابی شوند.

مشترک در سلامت روان به سرعت در حال گسترش است. اولاً، تقریباً همه بیماران روانپزشکی، حتی اکثریت بزرگی از بیماران مبتلا به شدیدترین اختلالات مانند اسکیزوفرنی، قادر به درک انتخاب های درمانی و تصمیم گیری منطقی هستند. مانند بسیاری از بیماران دیگر با تحصیلات محدود، اختلالات یادگیری یا سایر معایب، برخی نیاز به تکرار اطلاعات یا منابع اطلاعاتی چندوجهی دارند. همچنین، برخی از بیماران روانپزشکی ناتوانی موقت در تصمیم گیری را تجربه می کنند، مانند دوره های روان پریشی، و ممکن است تصمیم بگیرند که دستورالعمل های پیشرفته روانپزشکی را برای پوشش چنین دوره هایی از ناتوانی تصمیم گیری ایجاد کنند.

دوم، تصمیم گیری مشترک یک اصل اصلی بسیاری از شیوه های مؤثر سلامت روان را تشکیل می دهد و ممکن است تا حدی اثربخشی آنها را توضیح دهد. به عنوان مثال، احترام به ترجیح مشتری برای نوع شغل، یک اصل اساسی برای اشتغال حمایتی است، و کل مدل از تصمیمات مشتری در مورد زمان جستجوی شغل، چند ساعت کار، افشای یا عدم افشای بیماری به افراد بالقوه پیروی می کند. تأکید بر تصمیم گیری مشترک نیز در مدیریت بیماری و بهبودی، خانواده درمانی رفتاری، درمان اختلالات دوگانه یکپارچه، و مدیریت سیستماتیک دارو است. رفتار قاطعانه جامعه، که از لحاظ تاریخی به دلیل پدرگرایی مورد انتقاد قرار می گرفت، نیز مشتری محورتر می شود.

سوم، اگرچه تحقیقات در مورد تصمیم گیری مشترک در سلامت روان در مراحل اولیه است، هفت کارآزمایی تصادفی سازی شده اولیه کنترل شده از اثربخشی آن حمایت می کنند. Malm و همکاران چندین جلسه تصمیم گیری مشترک را در یک برنامه درمانی برای بیماران اسکیزوفرنی ارائه کردند و دریافتند که گروه آزمایشی در ۲ سال از رضایت بیمار نسبت به گروه شاهد بالاتر بود. Van Korff و همکاران چندین جلسه تصمیم گیری مشترک را برای بیماران افسرده ارائه کردند و نتایج بهتری را برای پایبندی و علائم افسردگی به نفع شرکت کنندگان تجربی نسبت به گروه کنترل در ۳، ۶، ۹ و ۱۲ ماهگی یافتند. Van Os و همکاران در یک کارآزمایی بالینی تصادفی یک جلسه تصمیم گیری مشترک را به بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی و پزشکانشان

نقش پزشک در تصمیم گیری مشترک

در این بخش، برخی از موانع اجرای تصمیم گیری مشترک در سلامت روان را با بررسی نقش روانپزشک سرپایی نشان می‌دهیم. نکته اصلی این است که تمرین تصمیم گیری مشترک بسیار بیشتر از تایید مفهوم است. ساختار پیچیده و فرآیند مراقبت باید از عمل مورد نظر پشتیبانی کند. برای دستیابی به تصمیمات مشترک، روانپزشکان و بیماران به زمان قابل توجهی، ارتباطات تسهیل شده و دسترسی آسان به دانش علمی مفید بالینی نیاز دارند. این شرایط در حال حاضر در مطب روانپزشکی در ایالات متحده وجود ندارد. بنابراین، فرآیند مراقبت باید دوباره طراحی شود تا تصمیم گیری مشترک به روشی آسان و طبیعی انجام شود.

مراجعه به مطب روانپزشکی، تعاملات پیچیده و پویایی است که مملو از وظایف روانی، بین فردی و عملی است. اینها شامل ایجاد یک رابطه قابل اعتماد است. شناسایی اهداف برای رویارویی؛ جمع آوری اطلاعات مورد نیاز، مانند ارزیابی و رسیدگی به علائم، عملکرد و یا عوارض جانبی درمان؛ برنامه ریزی مراحل بعدی؛ مستندسازی برخورد؛ تجویز داروها؛ ارتباط با سایر ارائه دهندگان؛ و پر کردن فرم‌ها زمان برای تصمیم گیری مشترک باید از زمانی باشد که معمولاً برای این وظایف دیگر صرف می‌شود زیرا افزایش طول بازدید در حال حاضر به دلیل هزینه‌ها ممنوع است. رسیدگی به معضل زمانی مستلزم مهندسی مجدد تمرین اداری و استفاده از فناوری اطلاعات است. در سطح میکروسیستم، یک تیم آموزش دیده و سازماندهی شده (یک بیمار فعال، پشتیبانی از سایر کارکنان، و یک سیستم اطلاعاتی به خوبی طراحی شده) می‌تواند در جریان بازدید از مطب کارایی ایجاد کند. اعضای تیم به غیر از روانپزشک می‌توانند نگرانی‌ها، تجربیات و ارزش‌های فعلی بیماران را استخراج و ثبت کنند. آن‌ها همچنین می‌توانند علائم حیاتی مورد نیاز را به دست آورند، ارزش‌های آزمایشگاهی را ردیابی کنند، بخش‌هایی از فرم‌هایی را که روانپزشک باید امضا کند، تهیه کنند، نسخه‌هایی را برای بررسی و امضای پزشک تهیه کنند و به بیمار کمک کنند تا حد امکان فعال باشد،

از جمله مشارکت مستقیم در جمع آوری اطلاعات از طریق پورتال‌های بیمار به پرونده الکترونیکی پزشکی یک پرونده پزشکی الکترونیکی که به خوبی طراحی شده باشد می‌تواند کارایی (و بهبود مراقبت) را با جمع‌آوری و نمایش گرافیکی اطلاعات وارد شده توسط بیمار، طرح الگوریتم‌های درمانی مبتنی بر شواهد، و ساده‌سازی وظایف رایج مورد نیاز مانند مستندات بالینی، نوشتن نسخه‌ها و ارتباطات بالینی سایر ارائه دهندگان مراقبت‌های بهداشتی افزایش دهد.

بسیاری از افراد، از جمله آن‌هایی که علائم روانپزشکی دارند یا بدون علائم روانپزشکی، ابراز وجود خود را در مطب پزشکان دشوار می‌دانند. فرآیند مراقبت‌های پزشکی شفاف نیست و مردم به طور طبیعی نمی‌دانند چه اطلاعاتی برای برقراری ارتباط مرتبط و مهم است. علاوه بر این، تنظیمات پزشکی اغلب ترسناک هستند و مردم عصبی هستند. با این وجود، صدای بیمار باید در قلب فرآیند تصمیم گیری باشد. بدون شنیدن نگرانی‌های اصلی بیمار، تجربیات ذهنی زندگی و ارزش‌های اصلی، تصمیم‌ها فاقد داده‌ها و اهمیت زندگی بیمار هستند. در حال حاضر، تمام اطلاعات در مورد دیدگاه بیمار از گفتگوی بین روانپزشک و بیمار در طول ویزیت شلوغ مطب حاصل می‌شود. مسائل مهم، مانند اینکه آیا نگرانی‌های اصلی بیمار برای جلسه به طور معمول بیان می‌شود و اینکه آیا تجربه بیمار به شیوه‌ای معتبر و قابل اعتماد جمع‌آوری شده است یا خیر، به عادات تمرینی خود طراحی شده توسط روانپزشک بستگی دارد. بدون سیستمی که برای برانگیختن، سازماندهی و تقویت صدای بیمار طراحی شده باشد، روانپزشک به راحتی می‌تواند اطلاعاتی را که تصمیمات بالینی را آگاهانه‌تر، مرتبط‌تر و مشارکتی‌تر می‌کند، از دست بدهد. مهندسی مجدد دفتر می‌تواند ارتباط را از سه طریق تسهیل کند. اول، طراحی مجدد می‌تواند اعتماد و توانایی بیماران را برای مشارکت فعال در فرآیند مراقبت با استقبال صریح از آن‌ها در هنگام رسیدن به خدمات، جهت‌دهی آن‌ها به فرآیند مراقبت و ارائه آموزش در دسترس در مورد بیماری‌ها و گزینه‌های



تصمیم‌گیری در قالب تداخلات دارو و دارو است که به عنوان هشدارهای ایمنی در سوابق الکترونیکی ظاهر می‌شود. به زودی، پزشکی فردی را شامل می‌شود: اطلاعات تاریخی، پزشکی، فیزیولوژیکی و ژنتیکی که عوامل خطر خاص بیمار را خلاصه می‌کند.

نیازهای افراد مبتلا به بیماری‌های روانی شدید و مداوم از سائیتی به سایت دیگر تفاوت اساسی ندارد. بنابراین، یک فرآیند دگرگونی ویزیت مطب روانپزشک که تمام عناصر مورد نیاز برای عملکرد کارآمد روانپزشکی مبتنی بر شواهد را با هم ترکیب می‌کند، می‌تواند به طور گسترده طراحی، آزمایش، بسته‌بندی و اجرا شود. انجام این کار فرآیند بازدید از مطب را به سمتی سوق می‌دهد که به طور خاص برای رفع نیازهای افرادی که دارای یک بیماری روانپزشکی یا آسیب‌پذیری مداوم هستند، با استفاده از اصولی طراحی شده است که نشان داده شده است در بهبود مراقبت از افراد با سایر مشکلات سلامتی مداوم مفید است.

مراقبت از سلامت روان شخصی و تصمیم‌گیری مشترک

ایجاد یک جریان مراقبتی که تصمیمات به اشتراک گذاری را طبیعی و کارآمد می‌کند، زمانی اهمیت بیشتری پیدا می‌کند که ما به آزمایش‌هایی دسترسی داشته باشیم که اطلاعاتی در سطح فرد و مرتبط با تصمیمات مراقبت از سلامت روان در اختیار ما قرار می‌دهد. وضعیت فعلی انتخاب درمان در سلامت روان با انتخاب‌های متعدد مشخص می‌شود، با شواهد کمی برای تصمیم‌گیری برای انتخاب درمان‌های اولیه یا بعدی. عوامل ژنتیکی یا مولکولی ممکن است با شناسایی افراد پیشینی که احتمالاً دارای عوارض جانبی هستند، مانند افکار خودکشی فوری در پاسخ به داروهای ضدافسردگی یا سندرم‌های متابولیک با درمان ضد روان‌پریشی، به انتخاب درمان کمک کند. آزمایشات ژنتیکی همچنین ممکن است افرادی را که به دوزهای کم یا زیاد دارو نیاز دارند، افرادی که احتمال بهبودی بیماری دارند یا حتی افرادی که احتمال بیشتری دارد به مکانیسم اثر دارویی خاصی پاسخ دهند را شناسایی کند.

درمانی افزایش دهد. دوم، صدای بیمار را می‌توان با برانگیختن و مستندسازی صریح نگرانی‌ها، تجربیات و ارزش‌های اصلی تقویت کرد. اگر این پرس و جو قبل از برخورد واقعی رخ دهد، اطلاعات به احتمال زیاد کامل می‌شود، سوالات بیمار مکتوب می‌شود، بنابراین آن‌ها فراموش نمی‌شوند، و زمان ویزیت برای درک مجدد بررسی و برای بحث عمیق آزاد می‌شود. در نهایت، علائم، عوارض جانبی دارو، و سوالات وضعیت عملکردی را می‌توان به صورت سیستماتیک با استفاده از ابزار استاندارد شده توسط کامپیوتر پرسید و نتایج طولی را می‌توان به صورت گرافیکی نمایش داد. کامپیوتری شدن به بیمار و روانپزشک اجازه می‌دهد تا پیشرفت را بررسی کرده و بحث‌ها را بر اساس داده‌های استاندارد شده طولی به عنوان یک تیم، تمرین پزشکی مبتنی بر شواهد فردی انجام دهند.

جوهر عمل مبتنی بر شواهد، استفاده از دانش به دست آمده از طریق تحقیق برای اطلاع‌رسانی انتخاب‌های بالینی خاص است. در صورتی که اطلاعات در جریان منظم بازدید از دفتر در دسترس باشد، از پشتیبانی تصمیم‌گیری استفاده می‌شود. بنابراین، ارتباط بیمار و روانپزشک با شواهدی که در زمان مورد نیاز است و به شکلی که هر دو بتوانند آن را درک کنند، یکی دیگر از عناصر حیاتی طراحی مجدد بازدید از مطب برای تسهیل تصمیم‌گیری مشترک است.

هم بیماران و هم روانپزشکان نیاز به دسترسی به موقع به یافته‌های تحقیقاتی دارند. بیماران می‌توانند از اطلاعات جهت‌گیری در مورد بیماری‌ها و آنچه در مورد گزینه‌هایی برای به حداقل رساندن علائم و به حداکثر رساندن عملکرد شناخته شده است بهره‌مند شوند. روان‌پزشکان و بیماران با هم می‌توانند از نمودارها و الگوریتم‌های پشتیبانی‌شده توسط پژوهش بهره‌مند شوند که زمینه‌های دانش را در مسیرهای مورد حمایت پژوهشی برای مراقبت متراکم می‌کند. روانپزشکان همچنین نیاز به دسترسی مستقیم به اطلاعات دقیق دارند، زمانی که آن‌ها بیش از حد حجیم یا پیچیده برای به خاطر سپردن هستند. در حال حاضر، این شامل حمایت از

شناسایی عوامل ژنتیکی یا مولکولی فردی، در آینده، ممکن است به ایجاد تشخیص در افراد مبتلا به علائم ساب‌سندرمی یا تشخیص‌های نامشخص کمک کند، و همچنین به اطلاع بیشتر بستگان بدون علامت افراد مبتلا به بیماری‌های روانی در تصمیم‌گیری‌های باروری و انتخاب‌های سبک زندگی شخصی کمک کند.

در عین حال، اطلاعات از این نوع ممکن است خطرات اجتماعی و روانی و بدبینی را در رابطه با اثربخشی درمان ایجاد کند. پیامدهای نامطلوب بالقوه می‌تواند بر رفاه عاطفی، روابط خانوادگی، شغل و بیمه تأثیر بگذارد. بنابراین، پتانسیل ژنومیک روانپزشکی به بحث‌های اخلاقی و قانونی ادامه داده است.

در دسترس بودن چنین اطلاعات پیچیده‌ای باید با یک سیستم ساختاریافته از ارتباط دادن مزایا و خطرات آزمایش به بیماران همراه شود تا امکان ادغام موثر آن در فرآیند تصمیم‌گیری پزشکی مشترک فراهم شود. در سایر زمینه‌های پزشکی، مطالعات مربوط به انتقال اطلاعات ژنتیکی به بیماران، اهمیت آموزش، ارتباط ریسک و حمایت عاطفی را مشخص کرده است.

اطلاعات ژنتیکی به طور چشمگیری پیچیدگی خطر را افزایش می‌دهد. در ژنتیک سرطان، Huiart و همکاران. تفاوت بین خطر فردی وراثت یا انتقال ژن‌های مستعد کننده و خطر فردی ابتلا به بیماری را تشریح کرد. این برای سلامت روان بسیار مرتبط است، زیرا بیشتر اختلالات عصبی روانی چند ژنی هستند و هر گونه تنوع ژنی ممکن است کمترین تأثیر را بر خطر فردی داشته باشد. تغییرات ژنی می‌تواند اثرات افزایشی بر بیان یک فنوتیپ داشته باشد، یا یک تنوع ژنی خاص ممکن است تنها از طریق تعامل با محیط بیان شود. توانایی یک آزمایش برای شناسایی تنوع ژنی ممکن است با توانایی آن برای شناسایی فنوتیپ مورد نظر متفاوت باشد. علاوه بر این، برای مثال، در آزمایش سیستم سیتوکروم، شناسایی یک فنوتیپ خاص، مانند متابولیزورهای آهسته، بسته به عوامل دیگر، مانند قومیت یا انتخاب دارو، ممکن است کاربرد بالینی داشته باشد یا نداشته باشد.

مانند سایر حوزه‌های پزشکی، انتقال معانی عدم قطعیت، خطر و آمار در شرایط سلامت روان دشوار است. آموزش بیمار نه تنها باید شامل اطلاعاتی در مورد انتخاب‌ها باشد، بلکه اطلاعاتی را برای افزایش سواد آماری نیز شامل شود. چندین یافته تحقیقاتی به این زمینه کمک کرده است. به عنوان مثال، استفاده از خطرات مطلق به جای خطرات نسبی و تبدیل احتمالات به فرکانس‌های طبیعی که به صورت پیکتوگرام نمایش داده می‌شوند، ارتباط و درک را تسهیل می‌کند.

مشاوران تخصصی ژنتیک به طور سنتی اطلاعات خطر را در ژنتیک پزشکی ارائه می‌دهند. اخیراً، کمک‌های تصمیم‌گیری متمرکز بر ارتباطات خطر و آموزش بیمار برجسته شده‌اند. بررسی اخیر مداخلات ارتباط ریسک نشان داد که تصمیم‌گیری به بهبود دانش کمک می‌کند اما لزوماً اضطراب را کاهش نمی‌دهد. با این حال، در دسترس بودن کمک‌های تصمیم‌گیری قبل از مواجهه با پزشک، زمان بحث در مورد خطر شخصی را به جای آموزش افزایش می‌داد. مشاوره فردی به عنوان یک عنصر مهم از ارتباطات ژنتیکی برای بهبود درک خطر و پرداختن به اثرات روانی و اجتماعی آزمایش ژنتیک بر بیمار و خانواده شناسایی شده است. ادراک نادرست از خطر پس از برقراری ارتباط با سلامت روانی فرد مرتبط بود. مشاوره انفرادی با کاهش تعارض تصمیم در پزشکی عمومی همراه بود، اما تحقیقاتی در مورد مشاوره مرتبط با خطر ژنتیکی در سلامت روان هنوز انجام نشده است. مشاوره مشترک روانپزشک و مشاور ژنتیک و رویکردهای خانواده محور در سلامت روان پیشنهاد شده است.

روانپزشکان و همچنین سایر ارائه دهندگان پزشکی در مقیاس‌های مشارکت بیمار در تصمیم‌گیری نمره پایینی می‌گیرند، شاید تا حدی به این دلیل که مشاوره ژنتیک سنتی بر اساس مدل‌های انتخاب مستقل بوده است. افزایش فعال‌سازی بیمار زمانی توصیف شد که استراتژی‌های خود بیماران سلامت روان برای رفاه و بهبودی شناسایی و پشتیبانی شد. به طور کلی، بیماران انتظار دارند و ترجیح می‌دهند در زمینه تصمیم‌گیری در مطالعات ارتباطات



به سلامت خود مغرضانه هستند، با انتخاب‌های زیاد گیج می‌شوند، در درک خطرات آماری مشکل دارند و تحت تأثیر اطلاعات جانبدارانه صنعت قرار می‌گیرند. این مسائل باید با تحقیقات بیشتر روشن شوند و در سطوح مختلف مورد توجه قرار گیرند: علم تصمیم‌گیری پایه، آموزش پزشک، اجرای ساختاری، زیرساخت الکترونیکی، توانمندسازی بیمار و غیره.

خلاصه و نتیجه‌گیری

اجرای تصمیم‌گیری مشترک در مراقبت‌های روتین بهداشت روان نوید قابل توجهی از نظر اخلاق، کیفیت، تصمیم‌گیری آگاهانه، رضایت بیمار، افزایش توانایی برای خود مدیریت، بهبود پایبندی و نتایج معنادار می‌دهد. قرار دادن این پتانسیل‌ها در تمرین روزمره مملو از مشکلات خواهد بود. اکنون زمان رسیدگی به این موانع از طریق تحقیق در مورد تصمیم‌گیری مشترک است، زیرا انفجار اطلاعات و پزشکی شخصی سازی شده به ساختارهای آموزشی، الگوهای ارتباطی و اشکال تصمیم‌گیری جدید نیاز دارد.

منبع:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3181931/>

اطلاعات ژنتیکی کمک کنند. تصمیم‌گیری مشترک در سلامت روان باید در آینده ارتباط مؤثری در مورد آزمایش‌های ژنتیکی و مولکولی داشته باشد. ارزیابی‌های ساختاریافته قبل از مشاوره بیان اهداف و ارزش‌های بیمار از جمله اهداف آزمایش ژنتیک را تسهیل می‌کند. کمک‌های تصمیم‌گیری ارائه شده قبل از مشاوره می‌تواند دانش بیماران را افزایش داده و اطلاعات را فردی کند. برخورد با یک ارائه دهنده باید ارتباط ریسک و تصمیم‌گیری را تسهیل کند.

محدودیت‌ها

موانع تصمیم‌گیری مشترک بسیار زیاد است. پزشکان فاقد آشنایی و آموزش هستند، گاهی اوقات با این مفهوم مخالف هستند و اغلب در مورد ظرفیت تصمیم‌گیری و مسئولیت قانونی نگرانی‌هایی دارند. بیماران اغلب فاقد اطلاعات، توانمندی، انگیزه و خودکارآمدی لازم برای شرکت در تصمیم‌گیری مشترک هستند. سیستم‌های سلامت روان تقریباً به طور کلی فاقد زیرساخت‌های رایانه‌ای مورد نیاز هستند. در سطح علوم پایه، نگرانی‌ها شامل عدم قطعیت و خطر، سوگیری در بسیاری از کمک‌های تصمیم‌گیری و به طور کلی سوگیری‌های انسانی در تصمیم‌گیری است. به عنوان مثال، بیماران سلامت روان، مانند سایرین، با خوش بینی نسبت

Real Time PCR Instrument

Made by Agilent USA

4 channels with the ability to upgrade to 6 channels

Feature	Description
Excitation Source	8 dye specific LEDs per optical module
Detection Sources	8 photodiodes
Optical Cartridges	SYBR/FAM HEX ROX CY3 CY5 ATTO425 6 slots, swappable optical modules
Dye Selection	Excitation and Emission
Reaction Volume	10 µL to 30 µL
Chemistries Supported	SYBR, Probe, HRM
Thermal System	Six Peltiers made from two ceramic plates with semi-conductor elements, 96-well
Thermal System Temperature Range	25.0 – 99.9°C Heating: 6.0°C/sec Cooling: 3.0°C/sec (Median), 2.5°C/sec (Average) Accuracy: ± 0.2°C or better at typical annealing, amplification, and denaturation temperatures
Dynamic Range	9
Experiment Types	Quantitative PCR with dye, Quantitative PCR with probe, Allele Discrimination with HRM, Allele Discrimination with probe, Comparative Quantitation, User Defined
Uniformity	± 0.4°C
Data Acquisition Time	<3 seconds for all
Cq Uniformity	Cq St Dev <0.20 at fast cycling (5s 95°C/10s 60°C)
Electrical Power (input)	100 – 240VAC, 50/60Hz, 1100VA
Operating Environment	20 – 30°C, 20 – 80% non-condensing humidity, 7500 feet, max altitude
Weight	50 lbs. (23 kg)
Dimensions	19.7" W x 18.1" D x 16.5" H (50cm x 46cm x 42cm)

Feature	Description
Sample Containers	96-well plates, strip tubes; 0.2 mL tubes
Warranty	<ul style="list-style-type: none"> • 1-year warranty is standard with the instrument • 5-year warranty and service packages available
Onboard Analytics	<ul style="list-style-type: none"> • Thermal, physical, interactive (sensors) tests • Extended: 125 performance points tested in 30 minutes • Start-up: 59 performance points tested in ~ 1 minute • Optional bypass of both features
Services (upon request)	<ul style="list-style-type: none"> • Installation and familiarization • Standard and Enhanced Preventative Maintenance • Additional year warranty (+1 increments, up to 5 years coverage) • Return-to-Agilent Instrument Exchange Program • Thermal block verification
Operating System	• Windows 7 and 10
MS Office Compatibility	• Microsoft 2010 and 2013 compatible
Run Modes	<ul style="list-style-type: none"> • Stand alone • PC connected • LAN connected to PC (more than 20 instruments can be connected and monitored remotely) • USB connected, external devices
Software	Free software including LIMS connectivity
Optical Module Calibration and Cleaning	<ul style="list-style-type: none"> • All channels can be tested and calibrated • All attributes of optical channels are calibrated at the factory – LED light output, light path, mirror, and photodiode • Optical modules can be cleaned in lab without Agilent technician or sending back to factory
Selected Applications	<ul style="list-style-type: none"> • Quantitative and qualitative gene expression analysis • miRNA analysis • Genetic mapping • Genetic fingerprinting • NGS library quantification • 2-6 channel multiplex ability • HRM analysis (including genotyping, mutational analysis, and class IV SNP detection) • Pathogen quantification

For more information contact us

+ 98(21)88985291-3





قیمت مناسب - ضمانت معتبر
کارشناسی متغیر - صرفه جویی در هزینه ها
تحت نظارت اداره کل تجهیزات پزشکی ایران




www.BBox.ir



بی باکس

مرجع تخصصی نیازمندی های پزشکی

 +98(021)88969528

 **bboxmedical**

This Number articles

A new molecular classification to drive precision treatment strategies in primary Sjögren's syndrome.....	4
A roadmap towards personalized immunology.....	24
Mapping the human genetic architecture of COVID-19.....	42
Leveraging whole blood based functional flow cytometry assays to open new perspectives for rheumatoid arthritis translational research.....	50
5-Shared decision making in mental health prospects for personalized medicine.....	60





Magazine Owner: AmitisGen Med TECH Group

Responsible Director: Dr. Roya Amirinejad

Editor In Chief: Seyedeh Nayyere Moslehi

Telephone: +98(21)88985293

Email: info@PGOTJournal.com

Editorial Board According:

Dr.N.Afshari, Dr.M.R.Akbari, Dr.M.Entezari,
Dr.A.Heydarinejad, Dr.S.Heydarinejad, Dr
.S.M.Houshmad, Dr.J.Molaei, Dr.B.Naghavi,
Dr.R.Nekouian, Dr.M. Nikpay, Dr.N.Parsa,
Dr.A.A.Rahimi, Dr.H.Saadat, , Dr.M.A.Saremi,
Dr.R.Shirkoohi, Dr.M.Yaghubi

PharmacoGenomics
& Technologies
JOURNAL



Medical Journal / 4 year / No.12 / 150000 Rials / 2022 Summer/ ISSN 2676 -7236



Your Genome Affects The Way You Respond to Drugs.

