



تقييم بعض المتغيرات الكيموحيوية كمؤشر حيوي لتطور سرطان القولون

موجدا عبد الكريم محمد

قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة الموصل، الموصل العراق

mujdaabdulkarim@gmail.com

رفد ربيع سعدون محمد

قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة الموصل، الموصل العراق.

rafadsaadun2000@uomosul.edu.iq

الخلاصة

شملت الدراسة الحالية (90) مريضا مصابا بسرطان القولون ومن كلا الجنسين (ذكور وإناث) و (52) شخصا سليما (مجموعة السيطرة). تم تقدير فعالية انزيم كاتبسين د في مصل الدم للأشخاص الأصحاء ودراسة تأثير العمر، الجنس، التدخين ومنسب كتلة الجسم على فعالية الانزيم وبينت النتائج عدم تأثيرها على فعالية الانزيم. بينت النتائج دورا مهما لثلاثة من المتغيرات الحيوية التي تم دراستها والتي يمكن اعتبارها متغيرات مهمة تقاس مختبريا لمتابعة الحالة الصحية للمرضى واطهرت النتائج زيادة معنوية عالية في فعالية انزيم كاتبسين د في مصل مرضى سرطان القولون مقارنة مع مجموعة السيطرة وتشير وهذه النتائج الى دور انزيم كاتبسين د كمؤشر حيوي لتشخيص الإصابة بسرطان القولون وكذلك دوره في تطور وانتشار المرض. وبينت النتائج ايضا وجود زيادة معنوية في تركيز البروتين التفاعلي سي في مجموعة مرضى سرطان القولون مقارنة مع مجموعة السيطرة والذي يعتبر من المؤشرات المهمة للالتهابات ويدل على التهاب مفرط للورم وتلف الأنسجة، مما يسهل في النهاية نمو الورم وتفاقم المرض لذلك يمكن اعتباره كمؤشر لتفاقم المرض ، كما ان مستوى الفيرتين في مجموعة السيطرة (8.48 ng/ml \pm 48.17) وتم تقسيم مرضى سرطان القولون الى مجموعتين بالاعتماد على قيم الفيرتين في مجموعة السيطرة ، المجموعة الاولى اظهرت قيم واطئة لمستوى الفيرتين 29.301 ng/ml وبنسبة % 17.7 من المرضى والمجموعة الثانية اظهرت زيادة معنوية عالية جداً في مستوى الفيرتين (ng/ml 542.1595) وبنسبه % 82.2 من المرضى مقارنة مع مجموعة السيطرة وعليه فان قياس مستويات الفيرتين في مرضى سرطان القولون امر ضروري للغاية ويرتبط بالوضع الصحي ومستوى تقدم الورم وينصح بأجراء الفحص دوريا لمتابعة تطور المرض.

كلمات مفتاحية: سرطان القولون، كاتبسين د، فرتين، بروتين سي التفاعلي

Evaluation of some biochemical variables as a biomarker for colon cancer development

Mojda Abdul Karim Mohammed

Department of Chemistry, College of Science, University of Mosul, Mosul, Iraq

Rafd Rabie Saadoun Mohammed

Department of Chemistry, College of Science, University of Mosul, Mosul, Iraq.

Abstract

The current study included (90) patients with colon cancer of both sexes (males and females) and (52) healthy people (control group). Activity of cathepsin D in serum of healthy people was estimated and effects of age, sex, smoking and body mass index on it was studied. The results showed that this factors had no effect on activity of enzyme. The results showed an important role for three of the vital variables that were studied, which can be considered important variables that are measured in laboratory to monitor health status of patients, which are as follows The results showed a highly significant increase in activity of cathepsin D in serum of colon cancer patients compared with control group.



These results indicate the role of cathepsin D enzyme as a biomarker for diagnosing colon cancer, as well as its role in the development and spread of disease. The results also showed that there was a significant increase in concentration of C-reactive protein in colon cancer patients compared to control group, which is considered an important indicator of inflammation and indicates excessive inflammation of tumor and tissue damage, which ultimately facilitates growth of tumor and exacerbation of disease, so it can be considered as an indicator of exacerbation and severity of disease. The results showed that ferritin level in control group was 48.17 ng/ml. Colon cancer patients were divided into two groups based on ferritin values in control group. First group showed low values of ferritin level, 29.301 ng/ml by 17.7% of patients, and second group showed A very high significant increase in level of ferritin (ng/ml 542.1595) by 82.2% of patients compared to control group. Therefore, measuring ferritin levels in colon cancer patients is very necessary and is linked to health status and level of tumor progression. It is recommended to perform examination periodically to follow development of disease.

Keywords: Colon cancer, Cathepsin D, Ferritin, C-reactive protein

المقدمة introduction

سرطان القولون هو مرض يتميز بالنمو غير المنضبط للخلايا الغير الطبيعية عندما يحدث هذا النوع من النمو في القولون فإنه يسمى بسرطان القولون (Al zahrani, et al., 2021). يعتبر القولون أحد اجزاء الجهاز الهضمي ويشكل الجزء العلوي من الامعاء الغليظة وهو انبوب عضلي يبلغ طوله حواله (1.5 متر) (Lee, et al., 2015) تتم تسمية اجزاء القولون حسب الطريقة التي ينتقل بيها الطعام. (Burón, et al., 2017) سرطان القولون مرض شائع جدا في جميع أنحاء العالم باعتباره ثالث اكثر أنواع السرطانات شيوعا (Rosander, 2022). وتتميز بنمو غير الطبيعي لخلايا ظهارة القولون في البداية، ثم يستمر إلى داخل جدار القولون والعقد الليمفاوية والأنسجة المحيطة، يؤدي في النهاية إلى حدوث ورم خبيث Malignant كما أن سرطان القولون من اكثر الامراض تعقيدا مع أعراض تعتبر منهكة ويصبح أكثر حده في المراحل المتقدمة من المرض تحديدا (Abualkhair, et al., 2020). اذ اوصت الجمعية الأمريكية لسرطان القولون والمستقيم بإجراء الفحص المبكر في سن 45 عاما بدلا عن 50 عاما بسبب ارتفاع معدلات الإصابة والوفاة (Meester, et al., 2018). كاثبسين D (EC 3.4.23.5) بروتين يتم ترميزه في البشر بواسطة جين CTSD وهو احد انزيمات الأسبارتيك بروتينز. ويعد اندوبيبتايديز endopeptidase موجود في اللايسوسوم ويتطلب بيئة حامضية للنشاط التحفيزي الأقصى للأنزيم عند درجة حامضيه 3.5 PH (Benes, et al., 2008)، ويلعب دورا كبيرا في نمو الخلايا السرطانية في العديد من انواع السرطان (Pranjol, et al., 2018). أظهرت الدراسات على مدى العقدين الماضيين زيادة وفرط في إفراز الكاثبسين D في عدة انواع من السرطان بما في ذلك سرطان المبايض وسرطان الثدي وسرطان بطانة الرحم وسرطان الرئة وسرطان الجلد وسرطان البروستات (Winiarski, et al., 2013).

المواد وطرق العمل: Methods

مجموعة السيطرة: Control group

تم جمع (52) نموذجاً من الدم لأشخاص أصحاء، تضمنت (29) نموذجاً للذكور و(23) نموذجاً للإناث تراوحت أعمارهم بين 30-70 سنة.



مجموعة المرضى: Patients group

تم جمع (90) نموذجاً من الدم لأشخاص مصابين بسرطان القولون، تضمنت (54) نموذجاً للذكور و(36) نموذجاً للإناث تراوحت أعمارهم بين 30-70 سنة. وتم جمع عينات الاصحاء بالتعاون مع مصرف الدم المركزي في الموصل وجمعت عينات المرضى بالتعاون مع مستشفى الاورام والطب النووي في الموصل وبموافقة دائرة صحة نينوى وجمعت معلومات خاصة للمرضى والاصحاء حسب استمارة استبيان اعدت لهذا الغرض وموضحة الجدول (1).

الجدول (1) استمارة استبيان اعدت لهذا الغرض

نموذج استمارة الاستبيان	
نوع المرض	الاسم
مدة المرض	العمر
التاريخ الوراثي للعائلة	الجنس
الامراض الاخرى	الطول
التدخين	الوزن
الصوم	BMI
الفحوصات السريرية	
C-Reactive protein	Ferritin
Total protein	Creatinine
Albumine	Cathepsin D
Globuline	

جمع نماذج مصل الدم وحفظها: Blood serum collection and preservation

تم جمع عينات الدم بسحب الدم من الوريد Venous blood بحجم (5-7) مليلتر للأشخاص الاصحاء والمصابين بسرطان القولون ثم وضعت النماذج في أنبوبة بلاستيكية Plain tube جافة ونظيفة ثم حُضنت عند درجة حرارة (37 °C) ولمدة 10 دقائق، بعد ذلك وضعت في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق وبسرعة (3000 x g) ثم سحب مصل الدم بواسطة ماصة دقيقة Micropipette ويجب أن يكون الدم غير متحلل ومفصول جيداً ويتم تقسيمه على ثلاثة أجزاء في أنابيب بلاستيكية صغيرة جافة ونظيفة وتحفظ في درجة حرارة (-20°C) (Haque, et al., 2019)

طرائق العمل: Assay methods

تم قياس المتغيرات السريرية باستخدام عدة التحليل الجاهزة Kit من شركات مختلفة.

- استخدمت طريقة انزيمية Eynzymatic assay لقياس فعالية الكاثاسبين D (Perlmann, & Lorand, 1970).
- عدة قياس جاهزة kit من شركة Giese Diagnostics الإيطالية لقياس مستوى البروتين التفاعلي C والكرياتينين.
- عدة قياس جاهزة kit من شركة Biolabo الفرنسية لقياس تركيز البروتين الكلي والألبومين وتم ايجاد مستوى الكلوبولين حسابياً.
- عدة قياس جاهزة kit من شركة Roche الألمانية لقياس مستوى الفيرتين.



التحليل الإحصائي: Statistical Analysis

تم تحليل البيانات التي تم الحصول عليها من الدراسة الحالية باستخدام البرنامج الإحصائي (SPSS) الإصدار 21 لإيجاد كل مما يأتي:

تم استخدام طرق الإحصاء القياسي Standard Statistical Methods لتحديد المعدل Mean، والخطأ القياسي للمعدل Standard Error.

1- تم إجراء اختبار T (T- Test) للمقارنة بين متغيرين وإيجاد الاختلاف بين القيم التي ظهرت من خلال قيمة P (P- Value) التي اعتبرت ($P \leq 0.05$) اختلافاً معنوياً Significant ($P > 0.05$) واختلافاً غير معنوي.

2- تم إجراء دنكن اختبار Duncan Test بتحليل ANOVA للمقارنة بين أكثر من متغيرين وإيجاد الاختلاف من خلال قيمة P كما ذكر آنفاً.

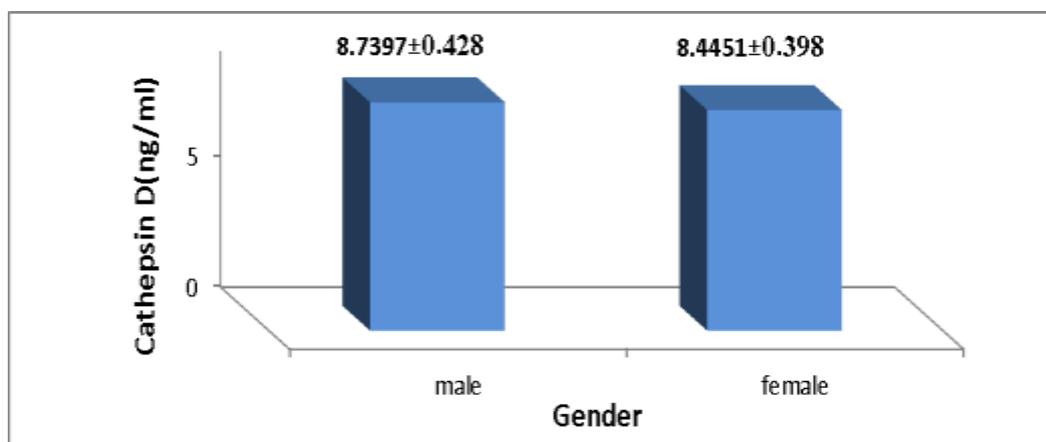
3- تم إجراء ارتباط بيرسون (Person Correlation) لإيجاد العلاقة بين الأنزيم والمتغيرات الكيموحيوية المقاسة.

النتائج: Results

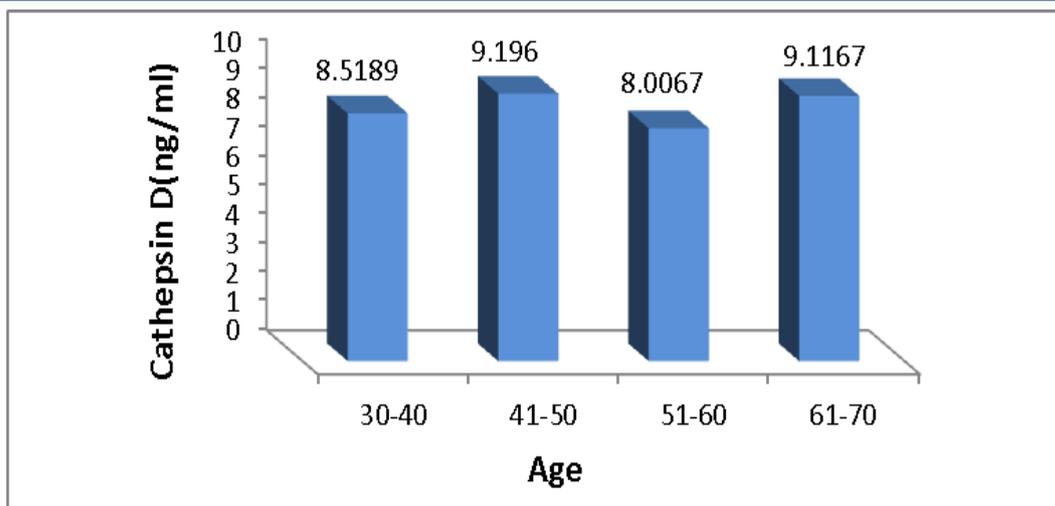
أظهرت النتائج أن القيمة الطبيعية لأنزيم كاثبسين D في مجموعة السيطرة ك انت $0.294 \pm$ ng/mL (8.61)

تمت دراسة تأثير عدة عوامل على فعالية كاثبسين D في مجموعة السيطرة، وأظهرت النتائج أن فعالية الإنزيم لا تتأثر باختلاف الجنس أو العمر كما مبين في الشكل (2.1) و (3.1)

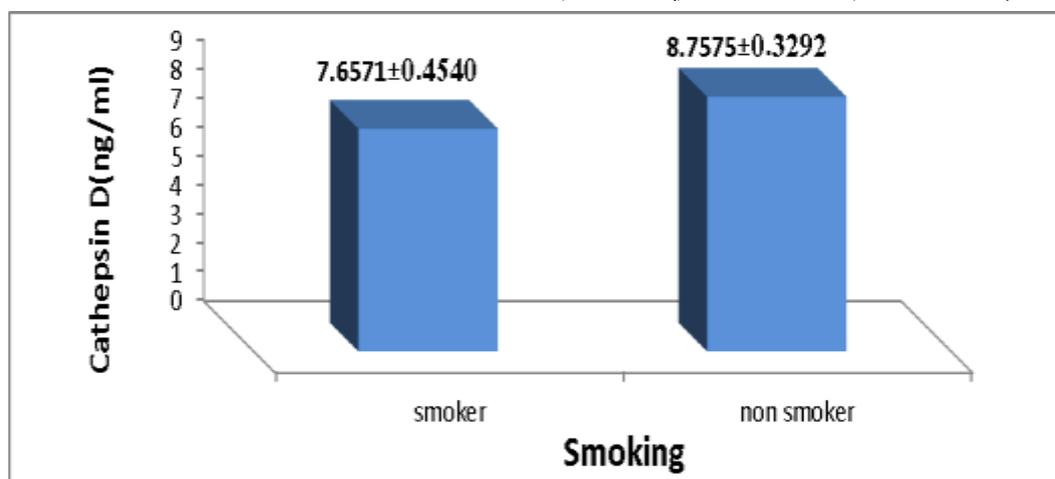
كما لا تتأثر فعالية الإنزيم بالتدخين ومؤشر كتلة الجسم كما هو موضح في الشكل (4.1) و (5.1) وهذا يتفق مع نتائج الباحثين (Mohammadpour et al., 2018)



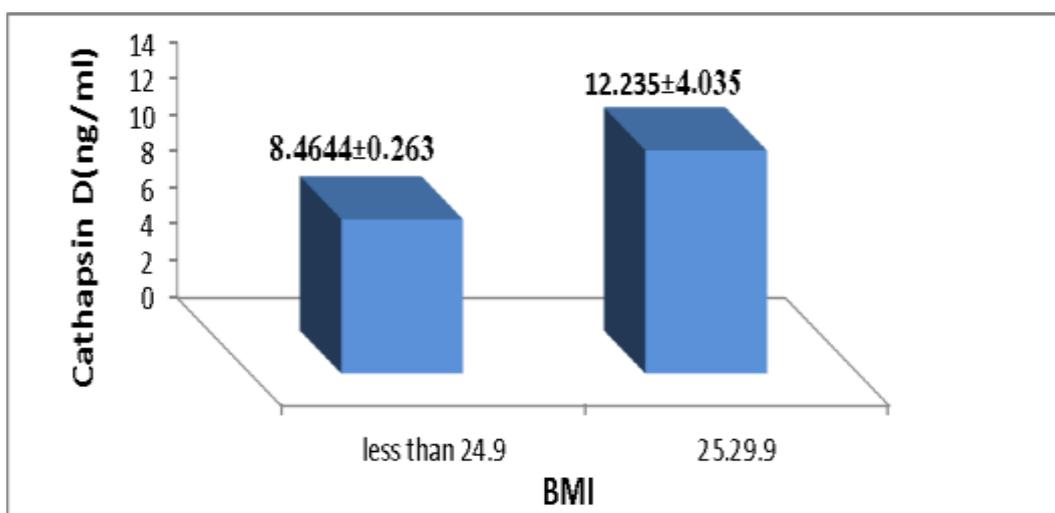
الشكل (2.1) فعالية أنزيم كاثبسين D في مصل دم مجموعة السيطرة حسب الجنس



الشكل (3.1) فعالية أنزيم كاثبسين D في مصل دم مجموعة السيطرة حسب الفئات العمرية



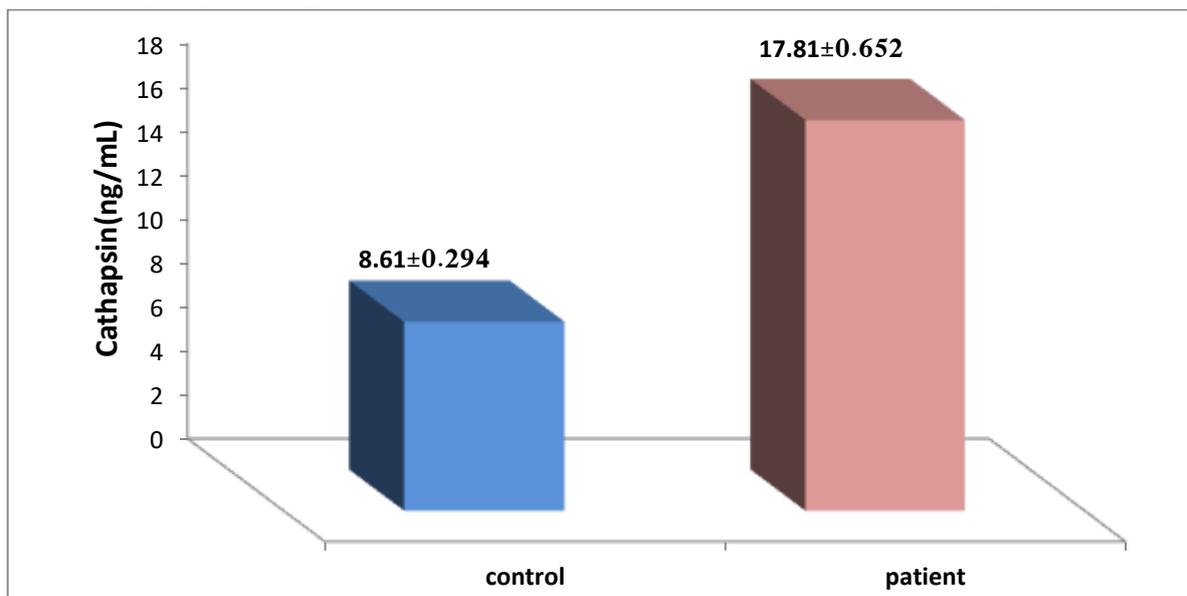
الشكل (4.1) فعالية أنزيم كاثبسين D في مصل دم مجموعة السيطرة حسب التدخين



الشكل (5.1) فعالية أنزيم كاثبسين D في مصل دم مجموعة السيطرة حسب BMI

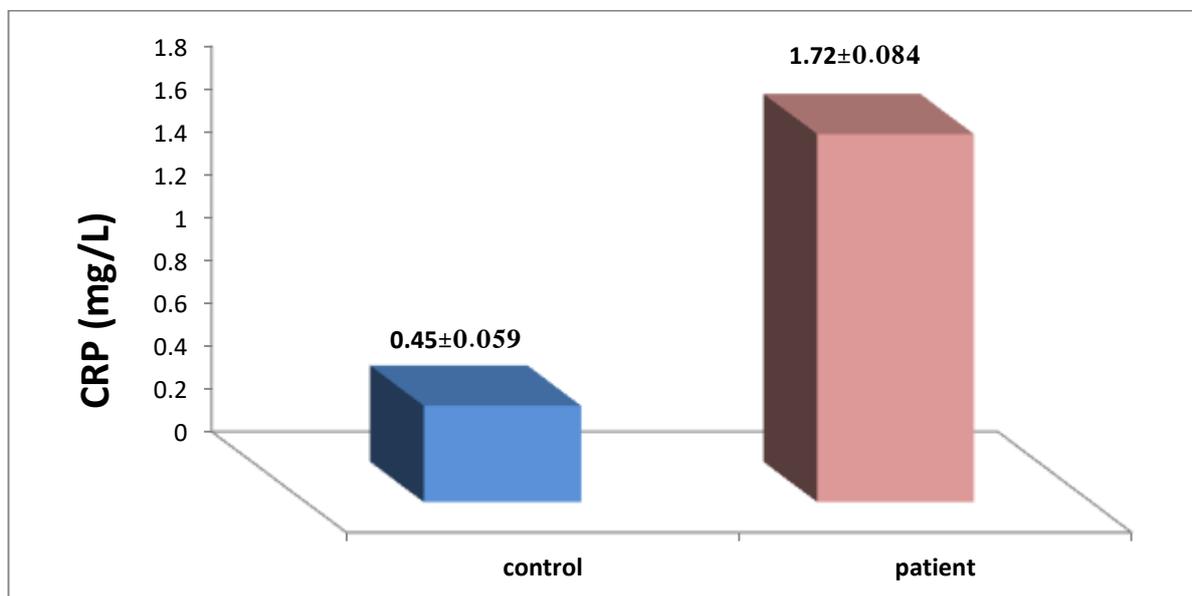


كما أثبتت النتائج زيادة معنوية عالية في فعالية الكاثيسين D في مجموعة المرضى 17.81 ± 0.652 ng/mL مقارنة بمجموعة السيطرة عند $P > 0.001$ كما هو مبين في الشكل (6.1)



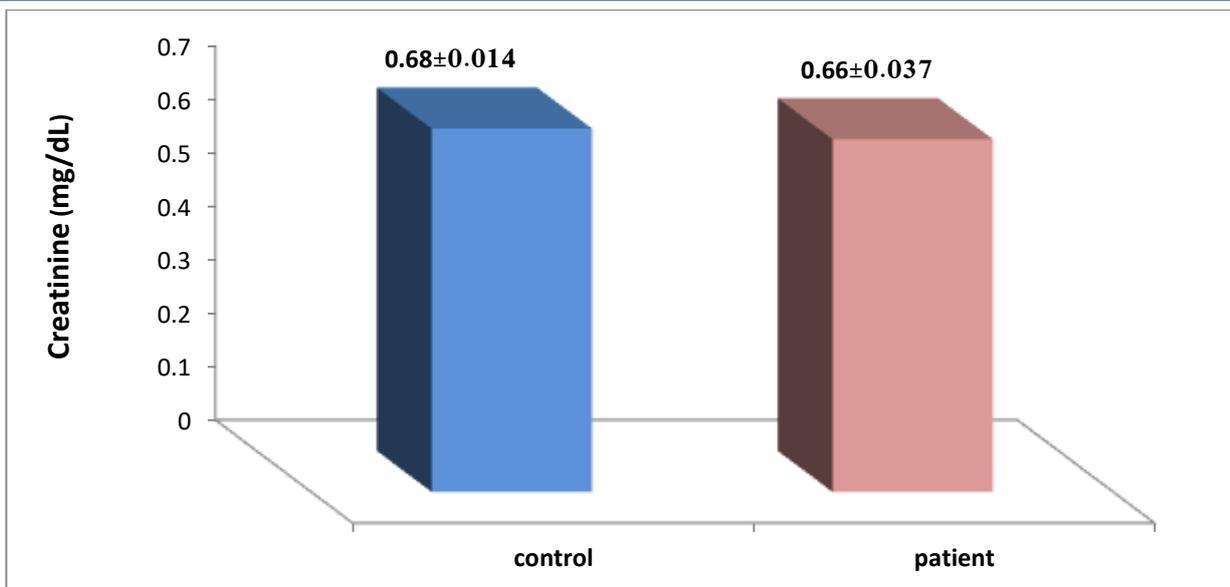
الشكل (6.1) فعالية أنزيم كاثيسين D في مصل دم مرضى سرطان القولون ومقارنتها مع مجموعة السيطرة

بينت النتائج وجود زيادة معنوية في تركيز البروتين التفاعلي CRP في مجموعة مرضى سرطان القولون مقارنة مع مجموعة السيطرة 1.72 ± 0.084 mg/L عند مستوى الاحتمالية $P \leq 0.05$ كما في الشكل (7.1).



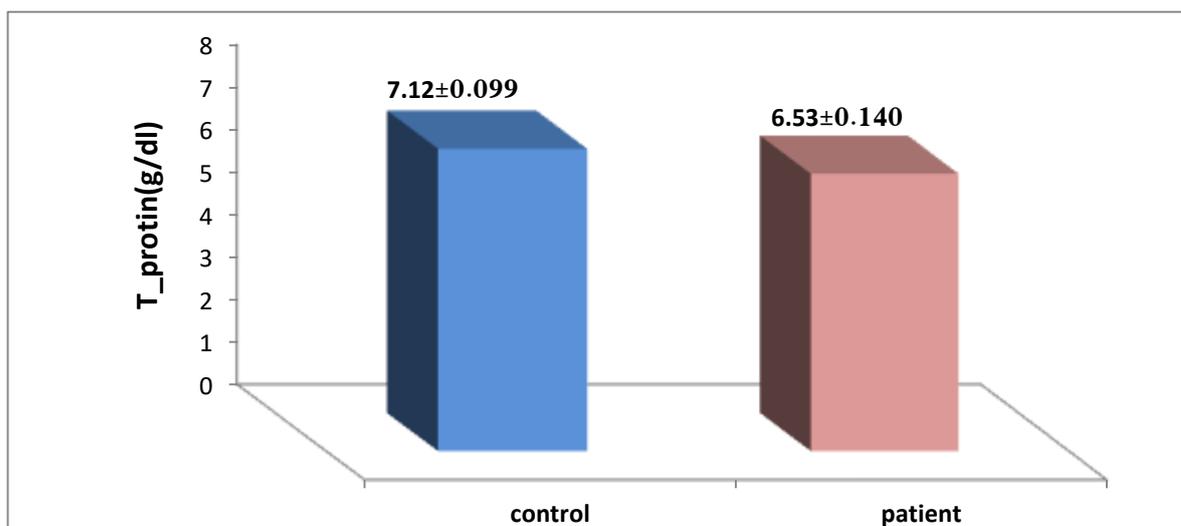
الشكل (7.1) تركيز البروتين التفاعلي في مصل دم مرضى سرطان القولون ومقارنتها مع مجموعة السيطرة.

بينما أظهرت النتائج عدم وجود فرق معنوي في تركيز الكرياتينين بين مجموعة مرضى سرطان القولون ومجموعة السيطرة 0.66 ± 0.037 mg/dL كما في الشكل (8.1).



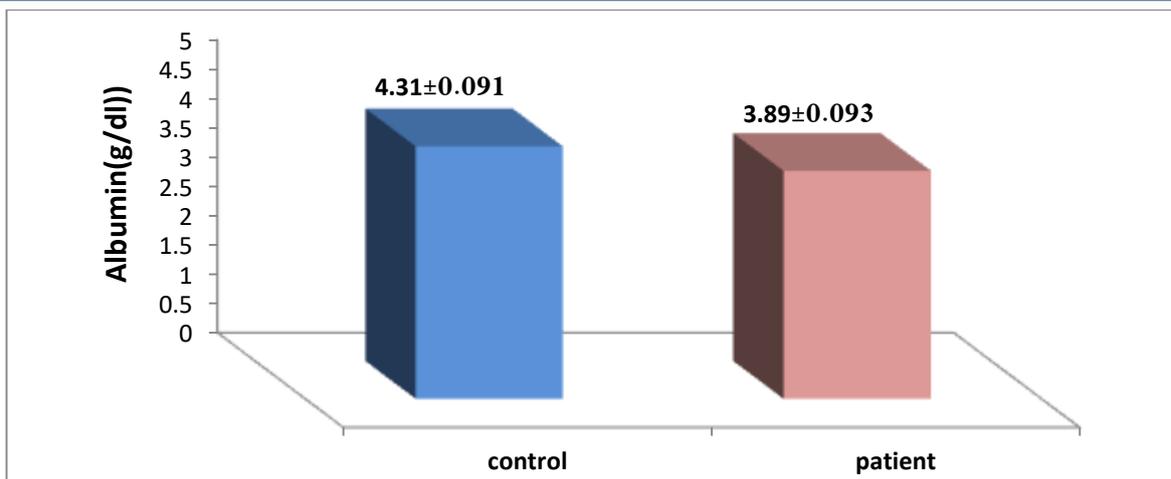
الشكل (8.1) تركيز الكرياتينين في مصل دم مرضى سرطان القولون ومقارنته مع مجموعة السيطرة

أظهرت النتائج عدم وجود فرق معنوي تركيز البروتين الكلي بين مجموعة السيطرة (7.12 ± 0.099)g/dl ومجموعة مرضى سرطان القولون (6.53 ± 0.140) g/dl عند مستوى احتمالية كما في الشكل (9.1)

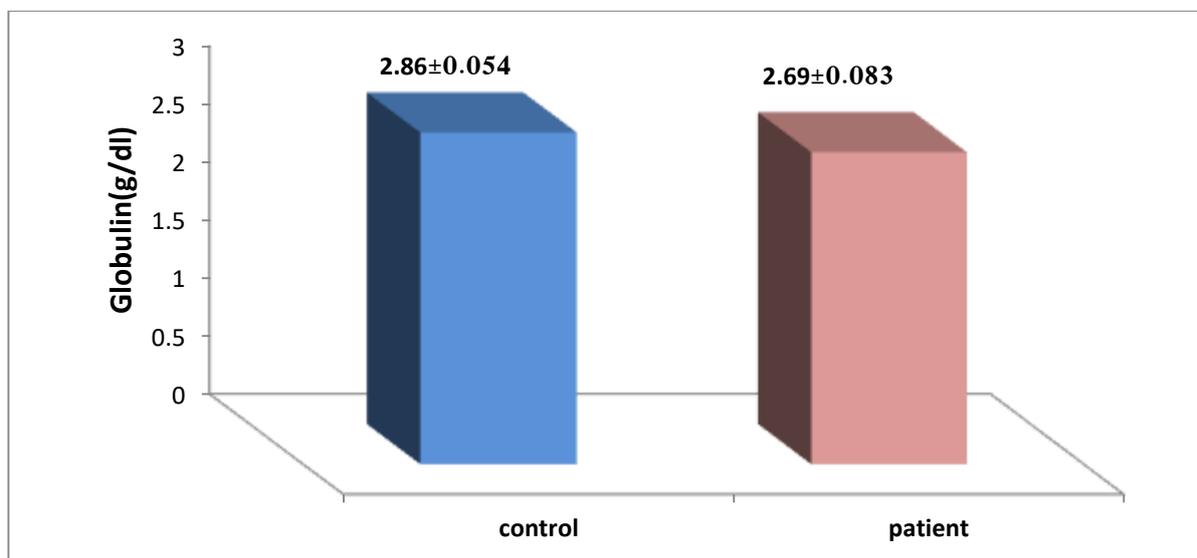


الشكل (9.1) تركيز البروتين الكلي في مصل دم مرضى سرطان القولون ومقارنتها مع مجموعة السيطرة

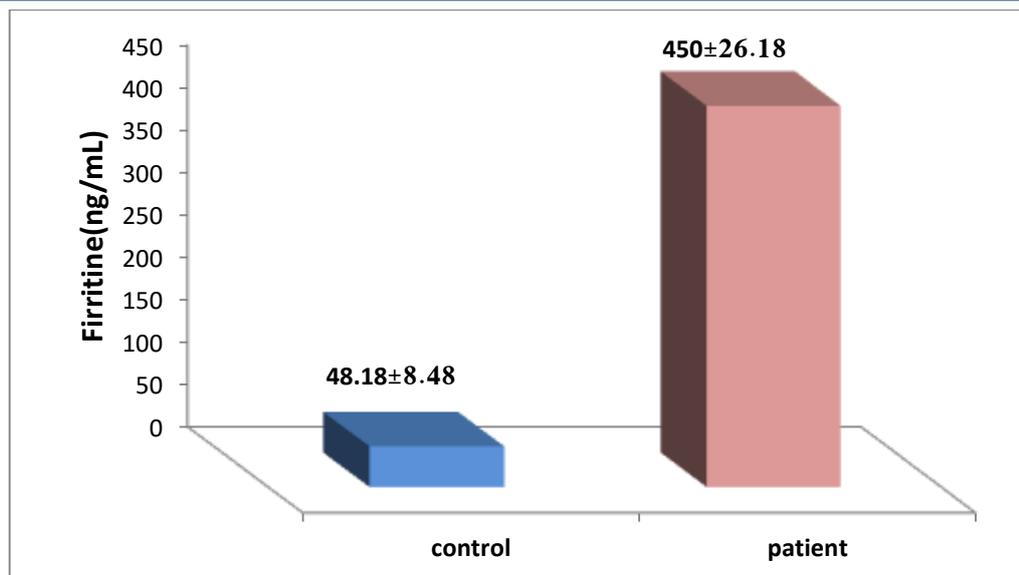
أظهرت النتائج عدم وجود فرق معنوي تركيز الألبومين بين مجموعة السيطرة (4.31 ± 0.091)g/dl ومجموعة مرضى سرطان القولون (3.89 ± 0.093) g/dl كما في الشكل (10.1).



الشكل (10.1) تركيز الألبومين في مصل دم مرضى سرطان القولون ومقارنتها مع مجموعة السيطرة أظهرت النتائج عدم وجود فرق معنوي في تركيز الكلوبولين بين مجموعة السيطرة (2.86 ± 0.054) g/dl ومجموعة مرضى سرطان القولون (2.69 ± 0.083) g/dl كما في الشكل (11.1).



الشكل (11.1) تركيز الكلوبولين في مصل دم مرضى سرطان القولون ومقارنتها مع مجموعة السيطرة أظهرت النتائج ان مستوى الفيرتين في مجموعة السيطرة (48.17 ± 8.48) ng/ml وتم تقسيم مرضى سرطان القولون الى مجموعتين بالاعتماد على قيم الفيرتين في مجموعة السيطرة، المجموعة الاولى اظهرت قيم واطئة لمستوى الفيرتين (29.3012 ng/ml) وبنسبة % 17.7 من المرضى والمجموعة الثانية اظهرت زيادة معنوية عالية جداً في مستوى الفيرتين (542.1595 ng/ml) وبنسبه % 82.2 من المرضى كما في الشكل (12.1) والجدول (1.1)



الشكل (12.1) تركيز الفيريتين في مصل دم مرضى سرطان القولون ومقارنتها مع مجموعة السيطرة

		Ferritine (ng/ml)
control	Mean N	48.1769 b 52
Less than 48.17	Mean N	29.3012 b 16
More than 48.17	Mean N	542.1595 a 74

الجدول (1.1) مقارنة قيم الفيريتين في مرضى سرطان القولون ومجموعة السيطرة

المناقشة Discussion

تم في الدراسة الحالية، تقييم فعالية كاتبسين D في مصل مرضى سرطان القولون بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. أظهرت النتائج أن فعالية كاتبسين D كانت مرتفعة بشكل ملحوظ في مرضى سرطان القولون، وأن فعالية الإنزيم في مجموعة السيطرة لم تتأثر بالعمر والجنس ومؤشر كتلة الجسم والتدخين.

(Seo, et al., 2022)

علاوة على ذلك، فإن الزيادة في فعالية الكاتبسين D كانت مرتبطة بشكل مباشر بتطور المرض. كما أنه يرتبط بشكل كبير بمستوى المستضد السرطاني المضغي (CEA)، وهو علامة لسرطان القولون، وتتوافق هذه النتائج مع نتائج الباحث (Teijeira, et al., 2022) وقد تعزى زيادة مستوى الكاتبسين D في مصل مرضى سرطان القولون إلى الإفراط في التعبير عن الكاتبسين D في الخلايا السرطانية، مما قد يؤدي إلى فقدان سلامة مكونات البروتين في النسيج البيني خارج الخلية Extracellular matrix

(Wang, et al., 2023)

من المعروف أن كاتبسين D باعتباره إندوبيتيداز يحلل بروتينات النسيج البيني خارج الخلية وبروتينات الظهارة القاعدية بالإضافة إلى العديد من البروتينات الداخلية الخلوية. ويعمل بشكل رئيسي في الحويصلات الشبيهة بالبلعوم عند رقم هيدروجيني حامضي حيث توجد مكونات النسيج البيني خارج



الخلية ويلعب كاثبسين D دورا مهما في تحلل البروتينات وتطور السرطان Ikari, & Arakawa, (2023).

اظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي في مستوى بروتين سي التفاعلي (CRP) في مرضى سرطان القولون عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة، حيث تشير الابحاث والدراسات الحديثة ان مرضى السرطان الذين يعانون من ارتفاع مستمر في مستويات CRP في الدم. (Hart., et al., 2020) يُقترح استمرار الالتهاب بسبب التحفيز الالتهابي المستمر من الورم المتطور الذي يحفز إنتاج CRP من الكبد او ربما من الورم نفسه، مما يؤدي إلى حدوث حالة تسمى "الجرح الذي لا يلتئم أبداً". (Potempa, et al., 2022)

كما قد يعزى الارتفاع إلى التأثيرات المؤيدة للالتهابات لـ CRP جنبا إلى جنب مع قدرة الخلايا على تحفيز تفكك ب ادي PCR. (Rajab., et al., 2020). ولذلك فإن الارتفاع المستمر لـ CRP قد يؤدي بعد إلى التهاب مفرط للورم وتلف الأنسجة، مما يسهل في النهاية نمو الورم وتفاقم المرض لذلك يمكن اعتباره كمؤشر لتفاقم المرض وشدته. الفيريتين هو بروتين يوجد داخل الخلايا يتحكم في تخزين وتحرير الحديد ويعكس مستوى الفيريتين حالة الحديد في الجسم. (Han, et al., 2022).

ونظراً لكون الحديد من العناصر الأساسية والنادرة essential trace elements والذي يدخل في عملية تكاثر الخلايا، التفاعلات الانزيمية، استقلاب الطاقة، التنفس الخلوي، وتخليق الحامض النووي بالإضافة لدوره في اليات اصلاح التلف. (Huang, et al., 2023)

ولذلك هدفت الدراسة لتحديد مستويات الفيريتين في الاشخاص المصابين بسرطان القولون واستخدامه كمؤشر حيوي لنمو وانبثاث الورم لدى الاشخاص المصابين.

وقد اظهرت النتائج انخفاض في مستوى الفيريتين في مجموعة من الاشخاص المصابين بسرطان القولون والذي يشير الى ان مخازن الحديد الفارغة كانت شائعة بنسبة (17.7%) من مرضى سرطان القولون . وهي مؤشر الى ان مستوى سرطان القولون كان متقدما حيث ان فقر الدم واضح سريريا بسبب نقص الحديد والذي يعزى الى حدوث نزيف مستمر وفقدان الدم مع البراز و تشير الابحاث ان فقدان الدم في مرضى سرطان القولون بمقدار (3-4) ml/day حيث تحتوي كل 1ml على (0.5 mg) من الحديد. (Khan, et al., 2020)

بينما اظهرت النتائج زيادة في مستوى الفيريتين في المجموعة الثانية من المرضى. وبنسبة (82.2%) وان زيادة مستوى الفيريتين تشير الى زيادة مستوى الحديد داخل الخلايا، والذي يولد مستويات عالية من اصناف الاوكسجين الفعالة reactive oxygen species والتي تؤدي الى حدوث تلف في الحامض النووي والحامض النووي الرايبوزي وكذلك تعمل على بيروكسيده الدهون. (Song, et al., 2021) ويحدث ارتفاع مستويات الحديد لسببين الاول يعزى لحدوث طفرات جينية مختلفة تؤثر على خزن وتحرير الحديد. (Sawayama, et al., 2021)

يرجع السبب الثاني الى الافراط في تناول الحديد عن طريق الغذاء وخصوصا الحديد الهيمي ومصادره اللحوم الحمراء واللحوم المصنعة وهذا يؤدي الى حدوث خلل في نظام نقل الحديد في الامعاء والذي يمكن اعتباره أحد اسباب الاصابة بسرطان القولون ولذلك يمكن اعتبار حدوث الخلل في تنظيم نقل الحديد في الامعاء سببا مهما في حدوث سرطان القولون بالإضافة الى زيادة مستويات اصناف الاوكسجين الفعالة التي تؤدي الى حدوث طفرات كما قد تؤدي الى الاسراع في نمو الورم وانتشاره. (Zheng, et al., 2021)

وبذلك فان قياس مستويات الفيريتين في مرضى سرطان القولون امرا ضروري للغاية ويرتبط بالفوضع الصحي ومستوى تقدم الورم.



دراسة العلاقة بين فعالية أنزيم كاثبسين D والمتغيرات السريرية المقاسة في مصل دم مرضى سرطان القولون:

Study the relationship between activity of Cathepsin D and clinical parameters had been measured in Serum of colon cancer patients

تم دراسة علاقة فعالية أنزيم كاثبسين D مع مستوى المتغيرات السريرية في مرضى سرطان القولون من خلال إيجاد معامل الارتباط الخطي Correlation Coefficient الموضحة في الجدول (13.1) وتبين وجود علاقة طردية معنوية عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ بين فعالية أنزيم كاثبسين D ومستوى البروتين -سي التفاعلي CRP في مرضى سرطان القولون .

كما بينت النتائج وجود علاقة عكسية بين فعالية أنزيم كاثبسين D وتركيز كل من البروتين الكلي والألبومين والكلوبيولين عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ في مرضى سرطان القولون ، إذ أظهرت النتائج إرتفاعاً في تركيز الألبومين والكلوبيولين مع انخفاض في فعالية الكاثبسين D .

أظهرت النتائج علاقة طردية معنوية عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ بين فعالية الكاثبسين D وتركيز الفيريتين في مرضى سرطان القولون .

أظهرت النتائج علاقة معنوية عكسية بين فعالية الكاثبسين D ومستوى الكرياتينين عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ في مرضى سرطان القولون.

المتغيرات المقاسة	t- Value
CRP	-12.378
Total protein	3.415
Albumin	3.178
Globulin	1.700
Firritine	-14.649
Creatinine	0.551

الشكل (13.1) علاقة المتغيرات الكيموحيوية مع فعالية أنزيم كاثبسين D في مصل دم مرضى سرطان القولون

المصادر: References.

A.H. Mohammadpour, Z.Salehinejad, S.Elyasi, M.Mouhebat, S.R.Mirhafez, S.Samadi, M.Ghayour-Mobarhan, G.Ferns and A.Sahebkar. "Evaluation of serum cathepsin D concentrations in coronary artery disease". Indian Heart Journal, 70(4), pp.471-475, 2018.

Abualkhair, W. H., Zhou, M., Ahnen, D., et al., (2020). Trends in incidence of early-onset colorectal cancer in the United States among those approaching screening age. JAMA network open, 3(1), e1920407-e1920407



- Alzahrani, S. M., Al Doghaither, H. A., & Al-Ghafari, A. B. (2021). General insight into cancer: An overview of colorectal cancer. *Molecular and Clinical Oncology*, 15(6), 1-8.
- Benes, P., Vetvicka, V., and Fusek, M. (2008) Cathepsin D – many functions
- Burón Pust A, Alison R, Blanks R, et al. Heterogeneity of colorectal cancer risk by tumour characteristics: Large prospective study of UK women. *Int J Cancer*. 2017;140(5):1082-1090.
- Han, C. L., Meng, G. X., Ding, Z. N., Dong, Z. R., Chen, Z. Q., Hong, J. G., ... & Li, T. (2022). The predictive potential of the baseline C-reactive protein levels for the efficiency of immune checkpoint inhibitors in cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Immunology*, 13, 827788.
- Hart, P. C., Rajab, I. M., Alebraheem, M., & Potempa, L. A. (2020). C-reactive protein and cancer—diagnostic and therapeutic insights. *Frontiers in immunology*, 11, 595835
- Huang, L., Li, W., Lu, Y., Ju, Q., & Ouyang, M. (2023). Iron metabolism in colorectal cancer. *Frontiers in Oncology*, 13, 1098501.
- Ikari, N., & Arakawa, H. (2023). Identification of a mitochondrial targeting sequence in cathepsin D and its localization in mitochondria. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 655, 25-34.
- Khan, A., Singh, P., & Srivastava, A. (2020). Iron: Key player in cancer and cell cycle?. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 62, 126582.
- Lee GH, Malietzis G, Askari A, Bernardo D, Al-Hassi HO, Clark SK. Is right-sided colon cancer different to left-sided colorectal cancer? – a systematic review. *Eur J Surg Oncol*. 2015;41(3):300-308.
- Meester RGS, Peterse EFP, Knudsen AB, et al. Optimizing colorectal cancer screening by race and sex: microsimulation analysis II to inform the American Cancer Society colorectal cancer screening guideline. *Cancer*. 2018;124(14):2974-2985 of one aspartic protease. *Crit. Rev. Oncol. Hematol*. 68, 12–28
- Perlmann, G. E., & Lorand, L. (1970). *Methods in enzymology*. Volume XIX. Proteolytic enzymes. Volume XIX. 316-336.
- Potempa, L. A., Qiu, W. Q., Stefanski, A., & Rajab, I. M. (2022). Relevance of lipoproteins, membranes, and extracellular vesicles in understanding C-reactive protein biochemical structure and biological activities. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 9, 979461.
- Pranjol, M. Z. I., Gutowski, N. J., Hannemann, M., & Whatmore, J. L.. Cathepsin D non-proteolytically induces proliferation and migration in human omental microvascular endothelial cells via activation of the ERK1/2 and PI3K/AKT pathways. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell*



- Research, (2018); 1865(1), 25-33. specificity of cathepsin D. *J. Biol. Chem.* 248, 6701–6708
- Rajab, I. M., Hart, P. C., & Potempa, L. A. (2020). How C-reactive protein structural isoforms with distinctive bioactivities affect disease progression. *Frontiers in immunology*, 11, 2126.
- Rosander, E. (2022). Aspects of locally advanced colon cancer (Doctoral dissertation, Karolinska Institutet (Sweden)).
- Sawayama, H., Miyamoto, Y., Mima, K., Kato, R., Ogawa, K., Hiyoshi, Y., ... & Baba, H. (2021). Preoperative iron status is a prognosis factor for stage II and III colorectal cancer. *International journal of clinical oncology*, 26, 2037-2045.
- Seo, S. U., Woo, S. M., Im, S. S., Jang, Y., Han, E., Kim, S. H., ... & Kwon, T. K. (2022). Cathepsin D as a potential therapeutic target to enhance anticancer drug-induced apoptosis via RNF183-mediated destabilization of Bcl-xL in cancer cells. *Cell death & disease*, 13(2), 115.
- Song, J., Liu, T., Yin, Y., Zhao, W., Lin, Z., Yin, Y., ... & You, F. (2021). The deubiquitinase OTUD1 enhances iron transport and potentiates host antitumor immunity. *EMBO reports*, 22(2), e51162.
- Teijeira, A., Migueliz, I., Garasa, S., Karanikas, V., Luri, C., Cirella, A., ... & Melero, I. (2022). Three-dimensional colon cancer organoids model the response to CEA-CD3 T-cell engagers. *Theranostics*, 12(3), 1373.
- Wang, Z., Chen, K., Zhang, K., He, K., Zhang, D., Guo, X., ... & Nie, S. (2023). *Agrocybe cylindracea* fucoglucogalactan induced lysosome-mediated apoptosis of colorectal cancer cell through H3K27ac-regulated cathepsin D. *Carbohydrate Polymers*, 319, 121208.
- Winiarski, B. K., Wolanska, K. I., Rai, S., Ahmed, T., Acheson, N., Gutowski, N. J., & Whatmore, J. L.. Epithelial ovarian cancer-induced angiogenic phenotype of human omental microvascular endothelial cells may occur independently of VEGF signaling. *Translational oncology*, (2013) 6(6), 703-713
- Zheng, S., Hu, L., Song, Q., Shan, Y., Yin, G., Zhu, H., ... & Zhou, C. (2021). miR-545 promotes colorectal cancer by inhibiting transferrin in the non-normal ferroptosis signaling. *Aging (Albany NY)*, 13(24), 26137.