Pejouhesh dar Pezeshki (i.e., Research in Medicine) **Review Article**

The Quarterly Journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2023; Vol. 47; No. 4

A Review of the Role of Circulating Tumor DNA (ctDNA) Biomarkers in Cancer

Negin Maali, Mehdi Azad*

Department of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Allied Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

Received: September 17, 2023; Accepted: October 07, 2023

Abstract

Background and Aim: Early diagnosis is one of the most important factors in cancer patients' treatment. Early detection of cancer requires the discovery of sensitive and specific biomarkers. These biomarkers include proteins (i.e., enzymes, receptors, antibodies and peptides), nucleic acids (DNA- based, such as cell-free DNA (cfDNA) or could be RNA-based, such as microRNA or other non-coding RNAs). In this review, we investigated the role of circulating tumor DNA (ctDNA) biomarker in the diagnosis of cancer.

Methods: In order to find articles related to the purpose of the research, keywords ctDNA and cancer and diagnosis were searched in Google Scholar, PubMed and Web of Science databases. After reviewing 312 found articles, the articles without exact subject and purpose relevance were excluded from the study. Finally, 174 related articles were included in the study. After linking the findings, the articles were read and the desired content was adapted.

Results: It seems that cfDNA is the result of DNA fragmentation after apoptosis, necrosis, active secretion and damage or death of cells and different tissues and is released into the bloodstream. cfDNA is also used as a biomarker for the diagnosis, recurrence and prognosis of some cancers. Also, ctDNA is a part of cfDNA, which includes small pieces of DNA with a length of less than 200 nucleotides. ctDNA is derived from tumor cells circulating in the bloodstream and lymphatic system. Also, ctDNA may be released directly from cells in the tumor site that are dying due to apoptosis and necrosis, or through active release from healthy tumor cells in the bloodstream and lymphatic system. The amount of ctDNA in different people is different and depends on the type of tumor, its location and for cancerous tumors, the stage of the cancer. Assessing the amount of ctDNA, tracking its mutations and investigating the occurrence of aberrant methylation of ctDNA are important biomarkers in diagnosis, determining prognosis, and the course of treatment for cancer patients. Controlling cancers by measuring dynamic ctDNA in blood, plasma or serum is a new and developing area of research.

Conclusion: It seems that despite the challenges in the clinical application of ctDNAs, they can be used in the early diagnosis of cancer.

Keywords: ctDNA; cancer; laboratory diagnosis; biomarker; prognosis; treatment; malignancy; liquid biopsy

Please cite this article as: Maali N, Azad M. A Review of the Role of Circulating Tumor DNA (ctDNA) Biomarkers in Cancer. Pejouhesh dar Pezeshki. 2023;47(4):106-128.

***Corresponding Author:** Mehdi Azad; **Email:** haematologicca@gmail.com

Department of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Allied Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

پژوهش در پزشکی
مقاله مروری
فصلنامه علمی-پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شهید بهشتی
دوره ۴۷، شماره ۴، سال ۱۴۰۲ شمسی، صفحات ۱۰۶ تا ۱۲۸

مروری بر نقش بیومارکری DNA توموری در گردش (ctDNA) در تشخیص بیماری سرطان

نگین معالی، مهدی آزاد*

گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۱۵

چکیده

سابقه و هدف: تشخیص زودهنگام از مهم‌ترین عوامل در پاسخ به درمان در بیماران مبتلا به سرطان است. تشخیص سرطان در مراحل اولیه نیازمند کشف بیومارکرهای حساس و اختصاصی است. این بیومارکرها می‌توانند شامل پروتئین‌ها (انواع آنزیم‌ها، گیرنده‌ها، آنتی‌بادی‌ها و پپتیدها)، اسیدهای نوکلئیک (از جنس DNA، مانند DNA بدون سلول (cfDNA) و یا از جنس RNA، مانند microRNA یا سایر RNAهای غیر کدکننده) باشد. هدف از انجام این تحقیق، بررسی نقش بیومارکری DNA توموری در گردش (ctDNA) در تشخیص بیماری سرطان است.

روش کار: برای دستیابی به مقاله‌های مرتبط با هدف تحقیق، کلیدواژه‌های ctDNA، cancer و diagnosis در بانک‌های اطلاعاتی Google Scholar، PubMed و Web of Science جست‌وجو شد. پس از بررسی و مرور ۳۱۲ مقاله یافت‌شده، مقاله‌های فاقد ارتباط موضوعی دقیق با عنوان و هدف پژوهش از مطالعه خارج شده و در نهایت، ۱۷۴ مورد از مقاله‌های مرتبط وارد مطالعه شدند. پس از مرتبط‌سازی یافته‌ها، مقاله‌ها مطالعه شدند و محتوای مورد نظر اقتباس شد.

یافته‌ها: به نظر می‌رسد که cfDNA، حاصل تکه تکه شدن DNA در نتیجه‌ی آپوپتوز، نکروز، ترشح فعال، آسیب یا مرگ سلول و بافت‌های مختلف است که به داخل جریان خون آزاد می‌شوند. cfDNA نیز به عنوان یک بیومارکر برای تشخیص، بررسی عود و پیش‌آگهی برخی سرطان‌ها استفاده می‌شود. همچنین، ctDNA نیز جزئی از cfDNA است که شامل قطعه‌های کوچکی از DNA با طول کمتر از ۲۰۰ نوکلئوتید است. ctDNA از سلول‌های توموری درحال گردش در جریان خون و سیستم لنفاوی مشتق می‌شود. همچنین ممکن است ctDNA مستقیماً از سلول‌های محل تومور که در اثر آپوپتوز و نکروز در حال مرگ‌اند و یا از طریق رهاسازی فعال از سلول‌های سالم توموری در جریان خون و سیستم لنفاوی آزاد شوند. مقدار ctDNA در افراد مختلف، متفاوت است و به نوع تومور، محل آن و برای تومورهای سرطانی، به مرحله سرطان بستگی دارد. ارزیابی میزان ctDNA، ردیابی جهش در ctDNA و بررسی رخداد متیلاسیون نابجای ctDNA از بیومارکرهای مطرح در تشخیص، تعیین پیش‌آگهی و تعیین مسیر درمان برای بیماران سرطانی است. کنترل سرطان‌ها با اندازه‌گیری ctDNA دینامیک در خون، پلاسما یا سرم، یک بخش جدید و در حال توسعه در تحقیق‌هاست.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که با وجود چالش‌های موجود در کاربرد بالینی ctDNA ها، آنها می‌توانند در تشخیص زودهنگام سرطان استفاده شوند.

واژگان کلیدی: ctDNA؛ سرطان؛ تشخیص آزمایشگاهی؛ بیومارکر؛ پیش‌آگهی؛ درمان؛ بدخیمی؛ بیوپسی مایع

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Maali N, Azad M. A Review of the Role of Circulating Tumor DNA (ctDNA) Biomarkers in Cancer. Pejouhesh dar Pezeshki. 2023;47(4):106-128.

*نویسنده مسئول مکاتبات: مهدی آزاد؛ آدرس پست الکترونیکی: haematologicca@gmail.com

گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

CC BY NC

مقدمه

سرطان به انواع تومورهای بدخیم (نئوپلازم) گفته می‌شود که حاصل رشد غیرطبیعی سلول‌های بدن است (۱). این سلول‌ها، توانایی گسترش و تهاجم به بافت‌های دیگر بدن (متاستاز[1]) را دارند. این بیماری چندژنی (مولتی ژنیک[2]) است که به دنبال تغییرهای اپی‌ژنتیکی و یا جهش در ژنوم رخ می‌دهد (۲). تشخیص زودهنگام سرطان از مهم‌ترین عوامل درمان بیمار به شمار می‌رود. غربالگری سرطان در جمعیت‌ها (به ویژه جمعیت های پرخطر)، با ایجاد بستری برای تشخیص زود هنگام سرطان سبب کاهش هزینه‌های درمانی و تسهیل روند درمان بیماران خواهدشد (۳). از انواع روش‌های غربالگری سرطان می‌توان به تست پاپانیکولائو برای زنان جهت تشخیص سرطان دهانه رحم و ماموگرافی برای تشخیص سرطان پستان (۵، ۴)، سنجش سطح سرمی آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA[3]) در نمونه خون برای مردان جهت تشخیص سرطان پروستات (۶)، بررسی وجود یا عدم وجود خون مخفی در مدفوع برای تشخیص سرطان روده بزرگ (۷) و آندوسکوپی، سی‌تی‌اسکن، تصویربرداری اشعه ایکس، تصویربرداری اولتراسوند[4] و MRI برای تشخیص سرطان‌های مختلف اشاره کرد. روش‌های غربالگری قدیمی علاوه بر عدم دقت بالا در تشخیص سرطان در مراحل اولیه، با هزینه بالایی که دارند در دسترس همه اقشار جامعه نیستند. از این رو محققان در پی کشف روش‌های دقیق‌تر و کم‌هزینه‌تری هستند (۸).

تست‌های دقیق تشخیص زودهنگام سرطان منجر به موفقیت بیشتر در درمان آن می‌شود؛ زیرا تومورهای کوچک‌تر، غیر تهاجمی (غیرمتاستاتیک) و با پیچیدگی کمتر، روند درمانی موفقیت‌آمیزتری دارند (۱۰، ۹). از مزایای دیگر تست‌های دقیق تشخیصی می‌توان به غربالگری صحیح و زود هنگام انواع سرطان‌ها در جمعیت‌های پرخطر و درنتیجه کاهش مرگ‌ومیر اشاره کرد (۱۱). به علاوه، جراحی و برداشت تومورهای کوچک‌تر و پیش‌متاستاتیک با موفقیت بیشتری در درمان همراهند.

به گفته مؤسسه ملی سرطان (NCI[5]) بیومارکر یا نشانگر زیستی مولکول‌های بیولوژیک قابل ردیابی در مایعات بدن (نظیر خون، پلاسما، ترشحات بدن و خلط) و یا در بافت‌های بدن (که با روش تهاجمی نظیر بیوپسی ارزیابی می‌شوند) هستند که در بررسی یک فرایند فیزیولوژیک یا پاتولوژیک، ارزیابی خطر بیماری، تشخیص و پیش‌آگهی بیماری، یا بررسی میزان اثر بخشی درمان، عود دوباره بیماری و یا شرایط خاص (مانند بارداری) ردیابی می‌شوند (۱۲). مولکول‌های بیوشیمیایی از جمله اسید های نوکلئیک (از جنس DNA، مانند DNA بدون سلول (cfDNA) و یا از جنس RNA، مانند microRNA یا سایر RNAهای غیر کدکننده)، پروتئین‌ها (انواع آنزیم‌ها ،گیرنده‌ها، آنتی‌ژن‌ها، آنتی‌بادی‌ها و پپتیدها)، قندها (کربوهیدرات)، متابولیت‌های کوچک و پارامترهای سیتوژنتیک و سیتوکینتیک، انواعی از بیومارکرها را تشکیل می‌دهند (۱۴، ۱۳).

بیومارکرهای DNA، مولکول‌هایی مشتق‌شده از سلول‌های سرطانی دارای DNA تغییر یافته (مانند جهش‌های نقطه‌ای، از دست دادن هتروزیگوسیتی، تزائد ژن و هایپرمتیلاسیون پروموتر ژن سرکوبگر تومور) هستند (۱۵). از انواع این بیومارکرها می‌توان به cfDNA (۱۶) و DNA تومور در گردش[6] (ctDNA) اشاره کرد (۱۵). تغییرهای متیلاسیون (کمتر یا بیشتر از حد طبیعی و یا در مکان غیرطبیعی) یکی از مشخصه‌های رخداده در انواع سرطان‌ها است که در مراحل اولیه بیماری رخ می‌دهد (۱۷). با توجه به اهمیت تشخیصی مولکول‌های اسید نوکلئیک، این مطالعه با هدف بررسی نقش بیومارکری ctDNA در تشخیص بیماری سرطان صورت پذیرفت.

روش کار

برای دستیابی به مقاله‌های مرتبط با هدف تحقیق، کلیدواژه‌های ctDNA، cancer و diagnosis در بانک‌های اطلاعاتی Google Scholar، PubMed و Web of Science جست‌وجو شد. پس از بررسی و مرور ۳۱۲ مقاله یافت‌شده، مقاله‌های فاقد ارتباط موضوعی دقیق با عنوان و هدف پژوهش از مطالعه خارج شده و در نهایت، ۱۷۴ مورد از مقاله‌های مرتبط وارد مطالعه شدند. این

[1] Metastasis
[2] Multigenic
[3] Prostate Specific Antigen
[4] Ultrasound
[5] National Cancer Institute
[6] Circulating tumor

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

مقاله‌ها در زمینه‌های مختلفی از جمله معرفی انواع بیومارکرها در سرطان (شامل بیومارکرهای پروتئینی، RNA و DNA)، معرفی cfDNA و ctDNA، نقش متیلاسیون در ctDNA، نقش ctDNA در تشخیص انواع سرطان (به تفکیک انواع سرطان رایج) و همچنین چالش‌های موجود در برابر استفاده از ctDNA برای تشخیص زودهنگام طبقه‌بندی شدند. پس از طبقه‌بندی، جزء به جزء مقاله‌ها توسط دو پژوهشگر بررسی شدند. نکته‌های لازم از هر مقاله استخراج شده و طبق استنتاج پژوهشگر و با رعایت حفظ محتویات علمی آن، در مقاله حاضر استفاده می‌شود. علاوه بر این، نتایج مقاله‌هایی که در آن ctDNA به عنوان بیومارکر در تشخیص سرطان ارزیابی شده بود، به صورت سیستماتیک وارد مقاله شد.

یافته‌ها و بحث

cfDNA چیست؟

cfDNA حاصل تکه تکه شدن DNA (۱۸) در نتیجه آپوپتوز، نکروز و یا ترشح فعال، آسیب یا مرگ سلول و بافت‌های مختلف است که به داخل جریان خون آزاد می‌شوند (۲۰، ۱۹). بنابر منشأ cfDNA آن را به دو دسته هسته‌ای (cf-nDNA) (cell-free nuclear DNA) و میتوکندریایی (cf-mtDNA) (cell-free mitochondrial DNA) طبقه‌بندی می‌کنند. سطح سرمی cf-nDNA برای بررسی و نظارت بر روند بیماری کاربرد دارد (۲۳-۲۱). cf-mtDNA نیز به عنوان یک بیومارکر برای تشخیص، بررسی عود و پیش‌آگهی برخی سرطان ها استفاده می‌شوند (۲۵، ۲۴).

بررسی و تحقیق‌ها در مورد تغییرات متیلاسیون cfDNA برای تشخیص زود هنگام سرطان، نظارت بر حداقل بیماری باقی مانده (minimal residual disease) (MRD)، بررسی و پیش‌بینی پیش‌آگهی و پاسخ درمانی و ردیابی منشأ بافت سرطانی در حال توسعه است (۱۷) (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه روش‌های مختلف تشخیص سرطان

روش تشخیص	نقاط قوت	محدودیت‌ها	منابع
روش های مبتنی بر تصویر برداری (CT, MRI, PET)	سریع،استفاده آسان؛ نمایش تومور جامد بصری	قادر به تشخیص حداقل بیماری باقی مانده نیست ، قرار دادن بیماران در معرض تابش یونیزان اضافی	(۲۶) (۲۷) (۲۸)
بیوپسی جامد	بازتاب برخی مسائل بافتی مدت زمان کوتاه	به علت هتروژنسیتی داخل و بین توموری نمی تواند نمایانگر تومور باشد. بیوپسی مکرر اغلب غیر عملی است؛ بیماران به علت راحت نبودن رنج می‌برند؛ برای برخی تومورها قابل دسترس نیست	(۲۹) (۳۰) (۳۱) (۳۲)
بیوپسی مایع پروتئین (CA-125, CEA, PSA)	غیر تهاجمی،دسترسی آسان	اختصاصیت پایین؛ قادر به تشخیص در اکثریت قریب به اتفاق بیماران مبتلا به سرطان پیشرفته نیست	(۳۳) (۳۴) (۳۵)
CTC	غیر تهاجمی اختصاصیت بالا؛ نشان دادن تکثیر سیگنال ها؛ ارزیابی بیان پروتئین؛ توانایی نشان‌دادن هتروژنسیتی تومور	نسبت کم سیگنال به نویز؛ تحت تأثیر هتروژنسیتی در روش‌های انتخابی	(۳۶) (۳۷) (۳۸)
ctDNA	غیر تهاجمی اختصاصیت و حساسیت بالا ؛ ارائه تصویر شخصی از بیماری؛ به طور کامل نمایانگر تومورها است	نسبت کم سیگنال به نویز؛ کمبود کلوکالیزاسیون، بیان پروتئین و مطالعات عملکردی	(۳۹) (۱۶) (۳۶)
cfRNA در گردش خون	غیر تهاجمی پایدار؛ نشان دادن الگوهای بیان ژن متمایز از تومور خاص	کمبود مطالعه‌ها در مقیاس بزرگ؛ فقدان ارتباط بین رفتار تومور و یافته‌ها	(۴۰) (۴۱) (۴۲)
اگزوم ها	غیر تهاجمی پایدار در داخل اگزوم‌ها؛ آسان برای ایزوله کردن یا غنی سازی	کمبود مطالعه‌ها در مقیاس بزرگ؛ معنی کردن آن دشوار است	(۴۳) (۴۴) (۴۳)

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

کشف و شناسایی cfDNA راهی کم‌هزینه و سریع‌تر و غیرتهاجمی برای تشخیص و نظارت بر برخی بیماری‌ها و آسیب‌ها را به جامعه پزشکی ارائه داد. تشخیص زودهنگام بیماری‌ها بر درمان مؤثر و به موقع تأثیر گذار بوده و درنتیجه روند بهبودی با سرعت و دقت بیشتری رخ می‌دهد (۱۵). این نشانگر زیستی حاصل از DNA آزاد شده سلول‌های آسیب‌دیده، در حال نکروز یا آپوپتوز است که به خون آزاد می‌شود. این افزایش DNA در خون به واسطه آزاد سازی cfDNA سریع‌تر و به مقدار قابل تشخیصی رخ می‌دهد که آن‌را به یک نشانگر زیستی برای تشخیص برخی بیماری‌ها مبدل ساخته است (۴۵).

ctDNA

معرفی ctDNA

ctDNA جزئی از cfDNA است (۴۶) که شامل قطعه‌های کوچکی از DNA با طول کمتر از ۲۰۰ نوکلئوتید است. ctDNA از سلول‌های تومور در گردش (CTC)[1] که سلول‌های توموری سالمی‌اند که از تومور جداشده و در جریان خون و سیستم لنفاوی قابل ردیابی هستند، مشتق می‌شوند (۴۷) یا مستقیماً از سول‌های محل تومور که در اثر آپوپتوز و نکروز در حال مرگند و یا آزادسازی فعال از سلول‌های سالم توموری آزاد می‌شوند. مقدار ctDNA در افراد مختلف، متفاوت است و به نوع تومور، محل آن و برای تومورهای سرطانی، به مرحله سرطان بستگی دارد.

ctDNA پلاسما بیش از ۶۰ سال پیش با استفاده بیوپسی مایعات بدن شناسایی شد (۴۸). در سال ۱۹۹۷، Leon و همکاران DNA آزادشده از سلول را با رادیوایمونواسی که در بیماران دارای لنفوما و تومورهای ریه، تخمدان، رحم و سرویکس افزایش غلظت داشت را شناسایی کردند (۲۱). در سال ۱۹۸۹ Stroun و همکاران آشکار کردند که یک سوم از بیماران با بدخیمی‌های مختلف مقدار فراوانی از cfDNA را دارند، در حالی که cfDNA در افراد نرمال شناسایی نشد (۴۹). پنج سال بعد، Vasukhinio و همکاران قطعه‌های ژنی RAS جهش یافته در خون بیماران Myelodysplastic syndromes (MDS) و Acute myeloblastic leukemia (AML) را شناسایی کردند.

در سال‌های بعدی تغییرهای اپی‌ژنتیکی در cfDNA شناسایی شد.

Fujiwara و همکاران حضور متیلاسیون نابجا در پروموتور ۵ عدد ژن سرکوب‌کننده تومور۲ در DNA سرم بیماران مبتلا به سرطان ریه را در نمونه cfDNA نشان دادند (۵۰). در دهه گذشته دسته بزرگی از مطالعه‌ها به شناسایی ctDNA در چندین نوع تومور مثل سرطان پستان (۵۴-۵۱)، کلورکتال (۵۷-۵۵)، پروستات (۶۰-۵۸)، ریه (۶۱) و پانکراس (۶۲) اختصاص یافته‌است.

انواع تغییرهای ctDNA

بررسی تغییرهای‌ژنتیکی و غیرژنتیکی ctDNA موجود در خون محیطی یکی از انواع روش‌های تشخیص و بررسی تغییرهای سلول‌های منشأ ctDNA آزاد شده است. بررسی جهش‌های موجود در ctDNA می‌تواند نشان‌دهنده تغییرها و جهش‌های انجام گرفته در DNA سلول منشأ باشد. کنترل نقاط متیله‌شده روی ctDNA هم می‌تواند در تشخیص و مطالعه الگوی متیلاسیون ژنوم سلول منشأ کمک کند (۶۳).

جهش در ctDNA

امروزه با کمک روش‌های موجود همچون توالی‌یابی نسل بعد (NGS) و هیبریدسازی ژنومی مقایسه‌ای (CGH)[3]، توالی‌یابی و سکانس کردن ژنوم سلولی امکان‌پذیر شده است. در این روش‌ها تمامی تغییرهای به وجود آمده در ctDNA موردنظر نیز قابل ردیابی است. از این رو می‌توان تغییرها و جهش‌های ژنتیکی موجود در ctDNA را بدون روش‌های تهاجمی مانند بیوپسی شناسایی کرد (۶۴).

مقدار قابل شناسایی ctDNA به وزن و نوع تومور و همچنین دیگر مکانیسم‌های بیولوژیکی بالقوه مثل فعالیت نوکلئازهای پلاسما متکی است (۶۵، ۶۶). به واسطه پیشرفت‌های اخیر تکنولوژی، روش‌های بسیاری برای تشخیص جهش‌های ژنتیکی در سرطان هم اکنون در دسترس است. روش‌هایی مثل micrarray بر پایه CGH، آنالیز پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP)[4] و توالی‌یابی نسل آینده (NGS)[1]، با افزایش

[1] Circulating tumor cells

[2] Tumor suppressor gene

[3] Comparative genomic hybridization

[4] Single Nucleotide Polymorphism

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

افزایش حساسیت و دقت در تشخیص ژنوم توموری بشر را به بینشی حیاتی در بیولوژی تومور رسانده است (۲). به علاوه، سنجش microarray برمبنای CGH و SNP که هر دو براساس هیبریدسازی با سنجش پروب‌های اولیگونوکلئوتیدی‌ثابت‌شده روی اسلاید است، امکان شناسایی تغییرهای ژنتیکی را به خوبی فراهم می‌کند. سنجش SNP شامل توالی‌های نوکلئوتیدی خاص است که به عنوان پروب استفاده می‌شود تا با قطعه‌های DNA تک رشته‌ای هیبرید شود. همچنین، مطالعه‌های همراهی کل ژنوم (GWAS)[۲]، آنالیز بیش از یک میلیون SNP را با استفاده از از تکنولوژی microarray برای تشخیص DNA تومور در نمونه خون فرد مشکوک به سرطان را ممکن ساخته است (۶۷). لیکن نیاز است که تکنولوژی‌های مرتبط با تشخیص مقدار کم DNA تومور در گردش خون بیماران سرطانی به روز شوند.

تکنولوژی‌های تشخیصی پیشرفته سبب افزایش حساسیت این تست‌ها شده است. برای مثال، بازتوالی‌یابی پلاسمای هدف (TAM-Seq)[۳] برای اولین بار در سال ۲۰۱۲ برای تشخیص موتاسیون‌های جدید از DNA به دست آمده از نمونه خون فاقد سلول استفاده شد (۶۷). TAM-Seq توانست جهش‌های TP53 را با ردیابی ctDNA در بیماران مبتلا به سرطان تخمدان شناسایی کند (۶). برای مراقبت‌های بهداشتی شخصی، تکنیک MPS شامل PARE و Shotgun MPS، می‌تواند تغییرهایی در مقدار ctDNA بیماران قبل و بعد از جراحی را ردیابی کند (۶۸). در سال ۲۰۱۳، Chan و همکاران با استفاده از Shotgun MPS واریانت‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNV)[۴] و تغییرهای تعداد کپی (CNV)[۵] در پلاسمای چهار بیمار HCC۶ را شناسایی کردند (۶۹). به علاوه، بسیاری روش‌های دیگر برای تشخیص ctDNA مثل روش‌هایی بر اساس PCR مبتنی بر آلل خاص[۷]، روش‌های مبتنی بر PCR دیجیتال[۸]، توالی‌یابی کل ژنوم (WGS)[۹] و توالی‌یابی کل اگزوم (WES)[۱۰] در دسترس هستند. این تکنیک‌ها در جدول ۲ مقایسه شده‌اند.

در سال ۱۹۹۹، Vogelstein، شیوه دیجیتال PCR، که براساس PCR معمولی است، را ابداع کرده و جهش‌ها را با استفاده از پروب‌های فلوئورسنت آنالیز کرد (۷۶). با استفاده از دیجیتال PCR او توانست تعداد کم سلول‌های جهش یافته در میان چندین سلول سالم را با استفاده از نسبت کمتر سیگنال به نویز[۱۱] تشخیص دهند. ddPCR[۱۲] در ترکیب با دیجیتال PCR و آنالیز سریع میکروفلوئیدیک می‌تواند به طور قابل توجهی حساسیت شناسایی ctDNA را افزایش دهد. در مقایسه با Real Time-qPCR، ddPCR دقت بیشتری به نمایش می‌گذارد و می‌تواند به طور کامل مقادیر اسیدهای نوکلئیک را بسنجد (۷۱). چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که ddPCR روشی برای شناسایی ctDNA در چندین سرطان شامل سرطان پستان، ملانوما، HCC (۷۷) و سرطان کلورکتال (۷۸، ۷۹) می باشد. این تکنیک ممکن است به عنوان یک جانشین بالقوه برای شناسایی ctDNA به کار گرفته شود و پتانسیلی عالی را در کاربردهای کلینیکی نمایان کرده است.

به علاوه Alizadeh و همکاران روشی جدید تحت عنوان تعیین پروفایل شخصی سرطان با توالی‌یابی عمیق (CAPP-Seq)[۱۳] گسترش دادند. این یک روش مبتنی بر NGS برای شناسایی ctDNA بوده و حساسیت افزایش‌یافته‌ای برای تعیین مقدار ctDNA دارد. استفاده از CAPP-Seq در نمونه‌های NSCLC[۱۴] منجر به شناسایی بیش از ۹۵درصد تومورها شد (۷۳). Newman و همکاران روشی جدیدی به نام iDES- Enhanced CAPP- Seq را گسترش دادند که با حساسیت ۹۲درصد و اختصاصیت بیش از ۹۹/۹۹درصد برای واریانت‌های آللی و همزمان حساسیت ۹۰درصد و اختصاصیت ۹۶درصد در بیماران می‌تواند جهش‌های دومین EGFR کیناز را بدون بیوپسی و از طریق نمونه سرم تعیین پروفایل کند (۷۵). براساس آنچه در بالا

[1] Next- generation sequencing
[2] Genome- Wide Association Studies
[3] Tagged- amplicon deep sequencing
[4] Single nucleotide variants
[5] Copy number variation
[6] hepatocellular carcinoma
[7] Allele- Specific PCR- based Method
[8] Digital PCR- based Method
[9] Whole- genome sequencing
[10] Whole- exome sequencing
[11] Lower Signal- to- Noise Ratio
[12] droplet digital PCR
[13] cancer personalized profiling by deep sequencing
[14] non- small cell lung cancer

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

ذکر شد این تکنیک‌ها آنالیز ctDNA را با ردیابی منشأ تومور، بدون اجراکردن بیوپسی تهاجمی ممکن ساخته است.

متیلاسیون ctDNA

متیلاسیون DNA از جمله تغییرهای قابل بازگشت بر روی ژن است. هایپرمتیلاسون و هایپومتیلاسیون در پروموتر ژن به ترتیب سبب کاهش بیان و افزایش بیان ژن می‌شود. تغییرهای نابجای الگوی متیلاسیون در ایجاد سرطان نقش بسزایی دارد (۸۰، ۸۱). همچنین، به دلیل منحصر به فرد بودن الگوی متیلوم در بافت‌های مختلف بدن، می‌توان با بررسی الگوی متیلاسیون ctDNA به منشأ بافتی آن پی‌برد. همچنین، با بررسی تغییرهای نابجای الگوی متیلاسیون در ctDNA می‌توان به تغییرهای رخ‌داده در الگوی متیلاسیون ژن‌های سرکوبگرتومور و اونکوژن‌ها پرداخت، این امر می‌تواند استراتژی درمان را (با به‌کارگیری داروهای ویرایش‌گر متیلاسیون) تعیین کند (۱۷).

استراتژی‌های مورد استفاده در آنالیز متیلاسیون DNA می‌تواند در دو گروه طبقه‌بندی شود: شناسایی مکان ویژه و شناسایی متیلاسیون کل ژنوم. هم اکنون شناسایی جایگاه‌های خاص متیلاسیون DNA در تشخیص سرطان و تعیین پیش‌آگهی بیشتر کمک کننده‌اند (۸۲، ۸۳). بسیاری از روش‌های مبتنی بر استفاده از شناسایی جایگاه‌های خاص متیلاسیون DNA ژنوم، برای شناسایی جایگاه‌های خاص ctDNA مناسب‌اند. دنبال کردن تغییرهای بی‌سولفیت یا غنی‌سازی متیلاسیون ctDNA و تشخیص متیلاسیون ctDNA می‌تواند به وسیله روش‌های متفاوت تقویت PCR شامل Conventional methylation-specific PCR (۸۶-۸۴)، QM-PCR[1] و MOB[2] (۸۷) تسهیل تسهیل شود. همچنین روشی برای غنی‌سازی توالی‌های متیله-شده CPG برای استفاده در کیت‌ها گسترش یافته است (۸۸). DNA متیله‌شده غنی‌سازی‌شده می‌تواند برای هر دو مورد توالی یابی و تقویت PCR استفاده شود. MSP[3] متداول می‌تواند مستقیماً در شناسایی متیلاسیون ctDNA استفاده شود (۸۶). این روش فقط به ml ۵ خون محیطی احتیاج دارد و می‌تواند برای بررسی غیرتهاجمی بالینی استفاده شود (۸۹). فلوئورسانس برمبنای Real Time- MSP که تکنیک پیشرفته‌تری از MSP است با استفاده از ترکیب‌کردن پروب‌های فلوئورسنت و شناسایی در Real- Time، شناسایی مقدار متیلاسیون ctDNA را تسهیل کرده است (۹۰). علاوه بر این Quantom dots (QDs) به عنوان انتقال دهنده انرژی رزونانس فلوئورفور و فلوئورسنت (FRET)[4]، برای بررسی بیولوژیکی و شناسایی بیومارکر هدف استفاده شد (۹۱). روش دیگر اصلاح شده ورژن PCR متداول (MOB)، سه فرآیند استخراج DNA، تغییر بی‌سولفیت و PCR را در یک لوله که از Silice Super Paramagnetic Beads به عنوان ناقل DNA استفاده شده ترکیب می‌کند (۹۲، ۸۷). در سال ۲۰۱۴ سنجش CMeth-DNA به عنوان روش جدید برپایه QM-MSP استاندارد، برای شناسایی ژن‌های سرطان پستان متیله شده در سرم گزارش شد. سنجش CMeth-DNA به واسطه‌ی دارابودن توانایی بهبود سیگنال‌ها، برای شناسایی متیلاسیون ctDNA مناسب است (۹۳).

اگرچه روش‌های زیادی برمبنای تغییر بی‌سولفیت و غنی‌سازی وجود دارد، تعداد کمی از این روش‌ها می‌توانند برای آنالیز متیلاسیون ctDNA به خاطر ویژگی‌های ctDNA به کار برده شوند. برای مثال روش‌های مبتنی بر تغییر بی‌سولفیت، شامل Methyl C-Seq یا BS-Seq برای این هدف مناسب نیستند؛ زیرا توالی‌یابی بی‌سولفیت کل ژنوم به مقادیر زیادی از DNA نیاز دارند (۹۴). روشی که PRBS[5] نامیده شد، با تمرکز به جزایر CPG و مناطق پروموتور، اجازه‌ی توالی‌یابی مناطق متیله شده‌ای را می‌دهد که به روش دیگر با استفاده از تکنیک‌های توالی‌یابی تغییرهای بی‌سولفیت، توانایی تعیین پروفایل دقیق را نداشتند (۹۵). به علاوه، تکنیک‌هایی که از روش غنی‌سازی استفاده می‌کنند، شامل MBD-Seq و MeDIP-Seq قابلیت استفاده برای غلظت‌های پایین (کمتر از ۱۵۰ نانوگرم) DNA را ندارند (۹۰). هر دو روش MBD-Seq و MeDIP-Seq که براساس تکنولوژی‌های غنی‌سازی DNA هستند به ترتیب از Methyl CPG Binding Domain Protein 2b و آنتی‌بادی ۵- متیل سیتوزین استفاده می‌کنند، ممکن است حساسیت

[1] Quantitative multiplex PCR
[2] Methylation on beads
[3] methylation- specific PCR
[4] Forster or fluorescence resonance energy transfer
[5] pseudorandom binary sequences

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

کمتری در رزولوشن‌های تک بازی نشان دهند. همچنین Shotgun Massively Parallel Bisulfite Sequencing تکنیکی دیگری برمبنای توالی یابی بی‌سولفیت است که برای تشخیص متیلاسیون DNA گسترش یافت. این روش ctDNA را با حساسیت و اختصاصیت بالا در توالی‌های با ژرفای کم تشخیص می‌دهد. به علاوه مقدار نمونه استفاده شده در این روش می‌تواند تا مقدار چهار میلی‌لیتر از پلاسما کاهش یابد (۹۶).

Wen و همکاران روش توالی‌یابی و تقویت CPG متیله‌شده پشت سر هم کل ژنوم (MCTA-Seq) را برای تشخیص جزایر هایپرمتیله CPG در ctDNA اختراع کرد. با توجه به اینکه ctDNA فقط بخش کوچکی از cfDNA را تشکیل می‌دهد، این روش حساس برای شناسایی متیلاسیون ctDNA مناسب است، چون فقط به مقدار کم ctDNA نیاز دارد (کمتر از ۷/۵ پیکوگرم) (۹۷). این اولین تکنیک گسترده ژنوم برای تشخیص متیلاسیون ctDNA است (جدول ۳).

جدول ۲- مقایسه روش های تشخیص ctDNA

روش	شرح	محدودیت شناسایی ctDNA%	نقاط قوت	محدودیت ها	نمونه	منابع
Allele- specific TaqMan PCR (castPCR)	مولکول‌های DNA جهش یافته را به ترتیب تقویت می‌کنند.	۰/۱۰-۱/۰۰	سهولت استفاده؛ کم‌ترین هزینه	حساسیت پایین؛ تنها قادر به آزمایش تعداد کمی از موقعیت ژنوم در یک نمونه است.	پلاسما	(۷۰)
droplet digital PCR (ddPCR)	شمارش مولکول‌های جهش یافته از طریق پراکندگی مولکول‌های DNA	۰/۰۱	حساسیت بالا	فقط قادر به آزمایش تعداد کمی از موقعیت ژنوم در یک نمونه است.	پلاسما و سرم	(۷۱)
NGS amplicon based	توالی‌یابی عمیق با PCR amplicons	۰/۰۱-۲/۰۰	حساسیت بالا (بعضی از روش ها)؛ ارزان‌تر از سایر روش‌های NGS	نسبت به سایر روش‌های NGS کمتر استفاده می‌شود؛ قادر به شناسایی SCNA ها[1] و تشخیص بازآرایی‌ها بدون سنجش انطباق محصول نیست.	پلاسما و سرم	(۲)
whole- genome sequencing (WGS)	توالی‌یابی عمیق کل ژنوم	۱/۰۰	ردیابی کل ژنوم؛ عموما بدون شخصی‌سازی قابل اجراست.	گران؛ حساسیت کم؛ اغلب به تشخیص SCNA محدود می‌شود.	پلاسما	(۷۲)
whole- exome sequencing (WES)	توالی‌یابی عمیق exome	۵/۰۰	بازجویی کل ژنوم؛ عموما بدون شخصی‌سازی قابل اجراست.	گران؛ حساسیت کم	پلاسما	(۷۲)
Cancer Personalized Profiling by deep Sequencing (CAPP-Seq)	گرفتن هیبرید هدفمند	۰/۰۱	حساسیت بالا برای تشخیص SNVs، indels، rearrangement و SCNAs؛ عموما بدون شخصی‌سازی قابل اجراست.	کمتر از WGS یا WES استفاده می‌شود.	پلاسما	(۷۳) (۷۴)
iDES- enhanced CAPP-Seq	گرفتن هیبرید هدفمند و سرکوب خطای دیجیتال یکپارچه	۰/۰۱	مقیاس پذیری بالا، انعطاف پذیری و یکنواختی پوشش؛ قادر است با اطمینان همه کلاس های جهش در یک آزمون واحد را ارزیابی می‌کند.	کمتر از WGS یا WES جامع است.	پلاسما و سرم	(۷۵)

[1] Somatic copy number alterations

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

جدول ۳- روش‌های تشخیص متیلاسیون DNA در ctDNA

تشخیص	روش	شرح	منابع
تشخیص جایگاه ویژه	Conventional MSP	نیاز به مقدار کم نمونه (۵ میلی لیتر از محیط محیطی)؛ قادر به استفاده در تشخیص ژن‌های متیله شده خاص در پلاسما و سرم؛ با استفاده از پرایمرهای اختصاصی PCR برای توالی‌های متیله‌شده	(۸۶)
	Fluorescence-based real-time MSP	تسهیل تشخیص کمی؛ حساس؛ نیاز به دانش قبلی از توالی‌های متیله‌شده	(۹۸)
	QDs- FRET	قادر به کاهش پس‌زمینه برای شناسایی اهداف در غلظت کم؛ حساسیت بیشتر؛ محدودیت کارایی FRET، نمونه‌های چالش برانگیز مانند سرم و پلاسما غیر عملی است.	(۹۱)
	MOB	استفاده آسان؛ افزایش توان تشخیص؛ ارائه تشخیص متیلاسیون کارآمد و حساس در تشخیص. قادر به استفاده در نمونه‌های خون	(۸۷)
	cMeth DNA	حساسیت، ویژگی، تکثیرپذیری، دامنه دینامیکی بالا و مزایای کمی. تشخیص مکان متیله ده در سطوح کم DNA آزاد از سلول در سرم؛ متعهد به ابزار بیوپسی مایع جدید است.	(۹۳)
تشخیص در مقیاس در ژنوم	Conventional bisulfite	استاندارد طلایی برای تشخیص متیلاسیون DNA؛ نیاز به مقدار نسبتاً زیادی از نمونه؛ تمرکز روی جزایر CpG یا مناطق پروموتور	(۹۹)
	conversion- based methods	نیاز به غلظت بالا DNA؛ احتمالا با استفاده از آنتی بادی در برابر ۵ mC یا ۵ mCG مکان‌های متیله-شده دیگر را نادیده می‌گیرند.	(۱۰۰)
	Conventional enrichment- based	تشخیص با حساسیت و اختصاصیت بالا حتی در توالی‌های کم عمق با ۱۰ میلیون اطلاعات توالی‌یابی شده؛ تنها نیاز به چهار میلی لیتر پلاسما	(۹۶)
	Methods	به خوبی با نمونه‌های ctDNA به اندازه ۷/۵ پیکوگرم می‌توان کار کرد؛ قادر به تشخیص همزمان هزاران جزیره CpG هایپر متیله شده در cfDNA	(۹۷)

نقش ctDNA در تشخیص انواع سرطان

ctDNA با داشتن پروفایل ژنی مربوط به سلول‌های بافت منشأ خود، دارای تغییرهای الگوی ژنی بافت منشأ خود نیز است. از این رو شناسایی و بررسی ctDNA در خون و ردیابی آنها می‌توان به بافت مبدأ، انواع جهش و متیلاسیون سلول‌های منشأ آن پی‌برد. بررسی و تفسیر سریع و دقیق ctDNA امکان تشخیص زودهنگام سرطان، منشا بافتی نئوپلازم و دیگر آسیب‌های مربوطه را برای ما فراهم می‌کند (۵۱).

سرطان پستان

سرطان پستان بالاترین مرگ‌ومیر مربوط به سرطان در خانم‌های سرتاسر جهان را داراست (۱۰۱). در چند سال اخیر تعداد تحقیق‌هایی که در تلاش برای استفاده از مارکرهای خونی سرطان پستان برای تشخیص زودهنگام، بررسی وضعیت دقیق تومور و پایش درمان در بیماران است، افزایش یافته است. Shaw و همکاران به مقایسه پروفایل جهش‌های CTCs و cfDNA بیماران مبتلا به سرطان پستان متاستاتیک پرداختند. نتایج آنها نشان داد که تفاوت در مقدار آنتی‌ژن کربوهیدرات ۳-۱۵، آلکالن فسفاتاز، cfDNA تام و شمارش سلولی به طور قابل توجهی می‌تواند نشان‌دهنده وضعیت متاستاتیک باشد. وجود cfDNA تام منعکس‌کننده وجود CTCهای بیان‌کننده EPCAM[1] در بیماران مبتلا به سرطان پستان متاستاتیک است (۱۰۲). این

[1] epithelial cell adhesion molecule

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

اولین مطالعه در مقایسه کمی cfDNA و ctDNA در گردش خون افراد نیست. در یک مطالعه بزرگ‌تر که در سال ۲۰۱۴ توسط Bettgowda و همکاران منتشر شد، به مقایسه ۶۴۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان پرداخته شد. دراین مطالعه نشان داده شد ctDNA قابل شناسایی در بیش از ۷۵درصد از بیماران متاستاتیک و۵۰درصد بیماران با تومورهای موضعی قابل شناسایی است. در این مطالعه، هیچ نمونه‌ای وجود نداشت که ctDNA وجود نداشته باشد، اما CTCها شناسایی شوند. در طرف مقابل در بسیاری از نمونه‌هایی که ctDNA جداسازی شد (۸۱/۲۵درصد - ۱۳ از ۱۶ مورد) CTC ها در روش‌های سنجش یکسانی قابل شناسایی نبودند. به طور جالب توجه در پنج مورد از نمونه‌های بیماران با سرطان پستان نشان داده شد که شناسایی ctDNA از شناسایی CTC در سرطان پستان دارای حساسیت بیشتری در تشخیص متاستاز است (۱۰۳).

روش‌های تشخیصی مرسوم مثل ایمونوهیستوشیمی و هیبریدسازی فلئورسنت درجا[1] توانایی محدودی در تشخیص سرطان پستان دارند (۱۰۴). بنابراین، روش‌هایی با حساسیت بیشتر برای ارزیابی وضعیت‌های تومور نیاز است طراحی شوند. در سال ۲۰۱۲، Higgins و همکاران، جهش‌های PIK3CA در نمونه‌های سرم را با bead، امولوسیون سازی، تقویت و روش‌های مغناطیسی با حساسیت ۱۰۰درصد (۱۴ از ۱۴ بیمار) گزارش کرد (۱۰۵). در سال ۲۰۱۳ Dawson و همکاران، ctDNA را به عنوان بیومارکر با حساسیت بالا برای سرطان پستان متاستاتیک توصیف کرد. استفاده از Micro Fluidic Digital PCR و توالی‌یابی مستقیم پلاسما، آنها را در جداسازی ctDNA و CTCs به ترتیب در (۹۷درصد) ۲۹ و (۸۷درصد) ۲۶ از ۳۰ زن توانمند ساخت (۱۰۶). علاوه بر این، همبستگی قوی‌تری بین سطوح ctDNA ها و تغییرهای حجم تومور نسبت به شاخص CTC وجود دارد.

Beaver و همکاران نشان دادند که Pre-Surgical ctDNA و جهش‌های PIK3CA در بیماران با سرطان پستان با حساسیت ۹۳/۳درصد و اختصاصیت ۱۰۰درصد در ddPCR قابل ردیابی هستند (۱۰۷). همچنین با استفاده از روش ddPCR، Chu و همکاران نشان دادند که ctDNAها ناشی از بیماران با سرطان پستان متاستاتیک، فرکانس بالای ESR1 را نشان می‌دهند که استروژن رسپتور ۱ را کدگذاری می‌کند. در شش عدد از ۱۲ بیمار (۵۰درصد)، هفت جهش در ctDNA مربوط به ESR1 تشخیص داده شد (۱۰۸). چندین مطالعه دیگر نشان دادند شناسایی ctDNA یک روش جانشین برای بیوپسی مرسوم در تشخیص سرطان پستان است (۱۱۱-۱۰۸).

پیشنهاد شده است که متیلاسیون نابجای ctDNA بیومارکری پایدارتر و قابل استفاده‌تر به عنوان DNA تومور در سرم در مقایسه با جهش‌های DNA است. نشان داده شده است متیلاسیون RARb2 در خون بیمارانی که تومور با عمل جراحی حذف شده است، کاهش یافته است (۱۱۲). همچنین، مطالعه‌های دیگر گزارش کرده‌اند که متیلاسیون RASSF1A در بیماران سرطانی می‌تواند به عنوان شاخص پاسخ به درمان به تاموکسیفن به خدمت گرفته شود (۱۱۳). در حالی که متیلاسیون نابجای ctDNA (در استفاده بالینی) در بیماران با سرطان پستان هنوز مورد تأیید برای استفاده در بالین نبوده است (۱۱۸-۱۱۴).

سرطان پروستات

سرطان پروستات شایع‌ترین سرطان در جامعه مردان است (۱۱۹). این سرطان در دسته سرطان‌های موضعی قرار گرفته؛ البته امکان تهاجم و گسترش در مراحل پیشرفته بیماری وجود دارد (۱۲۰). در مرحله گسترش، سلول‌های سرطانی پروستات تحت گذار اپیتلیالی- مزانشیمی قرار گرفته و به عنوان CTC وارد جریان خون می‌شوند. مهاجرت این سلول‌ها اغلب به مغز استخوان و از طریق عبور از دیوارهای سینوسی و استرومای مغز استخوان است که این تهاجم در اثر ساخت و ترشح برخی مولکول‌ها است. همچنین، پس از تهاجم نیز این سلول‌ها

[1] Fluorescence in situ Hybridization

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

مولکول‌هایی برای ایجاد اختلال در روند خونسازی تولید می‌کنند (۱۲۱).

وجود تغییرهای ژنتیکی در سلول‌های توموری سبب ایجاد ویژگی‌هایی همچون قابلیت تهاجم و گسترش و دیگر خصوصیات مربوط به تومور می‌شود. از این تغییرها می‌توان به جهش‌های عودکننده SPOP[1] (۱۳-۱۱درصد) در تومورهای فیوژن ETS اشاره کرد؛ بررسی این جهش راهی برای تشخیص این سرطان است (۱۲۲، ۱۲۳). SPOP یک جزء لیگاز یوبیکوئیتین E3 را کد می‌کند. پروتئین SPOP جهش‌یافته سبب تثبیت سوبستراهای سرطان‌زا (NCOA3-DEK-MAPK8) می‌شود (۱۲۶-۱۲۴). از دیگر تغییرهای ژنومی می‌توان به جهش‌های کلیدی در IDH1 همراه با هایپر متیلاسیون شدید DNA در سراسر ژنوم اشاره کرد. تومورهای جهش‌یافته IDH1R132 با شیوع کم (۱درصد) زیر گروهی از سرطان پروستات زودرس را ایجاد می‌کنند که تغییرهای کمتری در DNA ژنومی رخ داده است و با بررسی این تغییرهای ژنتیکی می‌توان در مراحل اولیه سرطان را تشخیص داد (۱۲۷).

در این میان، هنگام تهاجم و گسترش و یا آسیب های سلولی اعم از آپوپتوز و نکروز و یا ترشح فعال، ctDNA از CTCها و یا سلول‌های موضعی تومور آزاد می‌شود. بررسی و ردیابی ctDNA در پلاسمای افراد ابزاری نوظهور برای تعیین ژنوتیپ سرطان بالینی و پایش طول و روند بیماری است (۵۹). مطالعه‌های انجام شده نشان می‌دهد ctDNA در مراحل اولیه سرطان پروستات، در خون قابل ردیابی است. از این رو یکی از تست‌های غیرتهاجمی مؤثر در تشخیص زودهنگام سرطان پروستات به شمار می‌رود (۵۸، ۶۰).

سرطان کلورکتال

سرطان کلورکتال با ۳۳درصد مرگ‌ومیر، از شایع‌ترین سرطان‌های جوامع امروزی است (۱۲۸). تقریباً ۵۰درصد بیماران با سرطان کلورکتال که برای بار اول تشخیص داده می‌شوند در وضعیت انتهایی هستند و حدود ۵۰درصد متاستاز را تجربه می‌کنند. بنابراین، نیاز به گسترش سریع یک بیومارکر جدید برای تشخیص زودهنگام سرطان کلورکتال حس می‌شود. بعضی تغییرهای ژنتیکی وابسته به تومور مثل EGFR ، BRAF، ALK، KIT، PDGFR، HER2 و KRAS به وسیله سنجش برمبنای ctDNA تشخیص داده شده‌اند. با این حال، نتایج حاصله هنور مجوز استفاده در تشخیص آزمایشگاهی را ندارند (۱۳۰، ۱۲۹). در سال ۲۰۱۲، Spindler و همکاران مقدار بیان آلل جهش یافتهKRAS در پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال را نشان داد. جهش‌های KRAS در ۴۱ بیمار با تومورهای اولیه و متاستاتیک تشخیص داده شد که مقدار KRAS جهش یافته پلاسما (pmKRAS) کمتر از ۷۵درصد بود (۱۳۱). نتایج مشابهی در مطالعه دیگر در گروه مشابهی که ۶۴ بیمار را آزمایش کردند که با temsirolimus به تنهایی یا با ترکیب irinotecan درمان شده‌اند، مشاهده شد (۱۳۲). به علاوه استفاده از بیومارکر برپایه سه ژن P53- K- ras و APC تشخیص حداقل یک جهش ژنی در ۷۵درصد موارد بافت‌های سرطان کلورکتال را قادر ساخته است (۱۳۳). در سال ۲۰۱۵، Tie و همکاران گزارش کردند که بیماران با جهش‌های کلیدی مثل KRAS G13D در بافت‌های سرطان کلورکتال در نمونه cfDNA ۴۸ مورد از ۵۲ بیمار (۹۹/۳درصد) قابل شناسایی است (۱۳۴). در همین سال kidess و همکاران نشان دادند که تشخیص جهش در بافت و پلاسمای بیماران متاستاتیک، ۹۳درصد و در در بیماران غیرمتاستاتیک، ۵۴درصد مطابقت دارد (۱۳۵). به علاوه آنالیز DNA جهش یافته موجود در گردش خون در پایش بیمارانی که درمان Anti-EGFR را دریافت کرده‌اند مفید است (۱۲۹، ۱۳۹-۱۳۶). همچنین چندین مطالعه نشان داده‌اند که جهش‌های بتا- کاتنین به طور ویژه با بافت‌های سرطان کلورکتال رخ می‌دهد و پیشنهاد شده‌است که جهش در ctDNA می‌تواند به عنوان هدف در تشخیص سرطان کلورکتال به کار گرفته شود (۱۲۹، ۱۳۷، ۱۳۹). به علاوه، مطالعه‌ها نشان داده‌اند که هایپرمتیلاسیون RASSF1A و E-CAD در نمونه

[1] Speckle- type POZ protein

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

ctDNA به عنوان یک بیومارکر بالقوه برای سرطان کلورکتال است (۱۴۰، ۱۴۱).

سرطان ریه

سومین سرطان شایع بعد از سرطان پستان و پروستات است. پیشرفت‌های علمی در زمینه درمان سرطان ریه، به ویژه از سال ۲۰۱۰ به بعد، سبب کاهش چشم‌گیر مرگ ومیر ناشی از این سرطان شده است (۱۴۲، ۱۴۳). علاوه بر این پیشرفت‌های راه‌های درمانی، تشخیص زودهنگام سرطان نیز به بهبود شرایط درمانی کمک می‌کند. بررسی، ردیابی و اندازه‌گیری ctDNA در خون یکی از روش‌های تشخیص زود هنگام سرطان ریه است که کمک شایانی در زمینه کاهش مرگ‌ومیر ناشی از این بیماری کرده است. هایپرمتیلاسیون SEPT9 که septin9 را کد می‌کند قرابت معناداری با پیشروی سرطان ریه دارد. Powrozek و همکاران در آزمایشی برای بررسی متیلاسیون sept 9 در نمونه ctDNA افراد مبتلا به سرطان ریه، موفق شدند ۳۱ مورد از ۷۰ (۴۴درصد) مورد مبتلا به سرطان ریه را شناسایی کنند (۱۴۴). در حالی که نتایج مثبت در تشخیص افراد کنترل فقط ۴ از ۱۰۰ مورد بود.

تعیین ژنوتیپ بافت تومور به طور روتین در مورد سرطان‌های ریه برای شناسایی تغییرهای هدف‌دار و ویژه شامل جهش‌های EGFR و بازآرایی‌های ALK استفاده می‌شود. تست Cobas® EGFR Mutation Test V2 از Roche اولین تست بیوپسی مایعات تاییدشده توسط US Food and Drug Administration)USFDA) در ۲۰۱۶ برای تشخیص حذف‌های اگزون ۱۹ و اگزون ۲۱ EGFR و جهش‌های جایگزینی در بیماران NSCLC بود.

حساسیت جداسازی ctDNA در بیماران NSCLC در مطالعه‌های متفاوت متغیر است. برای مثال، ctDNA در مطالعات مختلف در ۷ از ۸ مورد (۸۸درصد) بیماران در استیج ۳ سرطان (۶۸)، ۱ از ۱ مورد (۱۰۰درصد) بیماران در استیج ۳ سرطان و ۴ از ۴ (۱۰۰درصد) بیماران در استیج ۴ سرطان (۱۴۵) و ۴ از ۵ (۸۰درصد) بیماران در استیج ۴ سرطان شناسایی شدند (۱۰۳). نقش متیلاسیون ctDNA در جدول ۴ خلاصه شده است.

جدول ۴- بیومارکرهای متیلاسیون ctDNA در سرطان‌های شایع

نوع سرطان	بیومارکر	حساسیت	اختصاصیت	منابع
سرطان کلورکتال	MLH1	۳/۱۸ (۱۷٪)	N/A	(۱۴۶)
	CDKN2A (INK4A)	۱۴/۵۲ (۲۷٪)	۴۴/۴۴ (۱۰۰٪)	(۱۴۷)
	ALX4	۲۱/۵۸ (۳۶٪)	N/A	(۱۴۸)
	CDH4	۲۵/۳۰ (۸۳٪)	۳۶/۵۲ (۷۰٪)	(۱۴۹)
	NGFR	۳۲/۴۶ (۷۰٪)	۱۷/۱۷ (۱۰۰٪)	(۱۵۰)
	RUNX3	۶۸/۱۳۳ (۵۱٪)	۱۵۰/۱۷۹ (۸۴٪)	(۱۴۹)
	SEPT9	۱۱/۱۷ (۶۵٪)	۱۰/۱۰ (۱۰۰٪)	(۱۵۱)
	TMEFF2	۸۷/۱۳۳ (۶۵٪)	۱۲۳/۱۷۹ (۶۹٪)	(۱۵۲)
سرطان پستان	CDKN2A (INK4A)	۵/۳۵ (۱۴٪)	N/A	(۱۵۳)
سرطان ریه	CDKN2A (INK4A)	۳/۲۲ (۱۴٪)	N/A	(۱۵۴)
	DAPK1	۴/۲۲ (۱۸٪)	N/A	
	GSTP1	۱/۲۲ (۵٪)	N/A	

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

انواع دیگر تومورها

مطالعه‌های قبلی نشان داده‌اند میزان بالای ctDNA در پلاسمای ۲۹ بیمار با سرطان کبد یافت شده است. در بیماران مبتلا به سرطان کبد، در حدود ۲۴درصد از ctDNA پلاسما از منشا کبدی بوده؛ این در حالی است که فقط حدود ۱۰درصد ctDNA پلاسما در گروه کنترل دارای منشا کبدی است (۱۵۵). به علاوه، حساسیت تشخیص جهش‌های ctDNA در سرطان‌های پانکراس اولیه تقریباً ۵۰-۳۰درصد و اختصاصیت آن معمولاً بیشتر است (تقریباً ۹۰درصد) (۱۵۶). مطالعه‌های بیشتر در انواع دیگر سرطان‌ها مخصوصاً سرطان‌های تخمدان و کارسینومای پانکراتیک هنوز در دست انجام است (۱۵۷).

چالش‌های موجود در برابر استفاده از ctDNA برای تشخیص زودهنگام

اگرچه موتاسیون‌های اختصاصی تومور و متیلاسیون در ctDNA هدف‌های بالقوه‌ای برای تشخیص غیرتهاجمی سرطان و برای تشخیص، مدیریت درمان و راهنمایی برای درمان این سرطان‌ها هستند، هنوز موانعی در تشخیص دقیق ctDNS وجود دارد (۱۵۸). تاکنون استانداردی برای حد آستانه مقدار ctDNA برای تشخیص سرطان تعیین نشده است. هنوز اتفاق نظری راجع به غلظت معمول cfDNA موجود در خون افراد سالم وجود ندارد. برپایه‌ی وضعیت فعلی نمونه خون زیادی برای تشخیص ctDNA به دلیل کمبود غلظت آنها در خون نیاز (۱۶۲-۱۵۹). نیاز است سرعت تخلیص ctDNA از نمونه خون به خوبی بهبود یابد. قطعه‌های DNA توموری به وسیله DNA نرمال در گردش خون رقیق می‌شوند و ممکن است مانع آنالیزهای بعدی شوند. به علاوه هنوز نتایج مثبت کاذب در چندین روش به دلیل کافی نبودن حساسیت و اختصاصیت این روش‌ها یافت می‌شود (۱۶۳). برای دستیابی به نتایج بهتر، بهبود تکنولوژی و فهم بهتری از بیولوژی ctDNA نیاز است. با وجود تمام پیشرفت‌ها در به‌کارگیری ctDNA به عنوان بیومارکر در مقوله سرطان، قبل از تبدیل تحقیق‌های اولیه به ابزار بالینی و بهبود روش تشخیص برای درمان دقیق‌تر، لازم است درک عمیقی از مکانیسم این که چگونه سلول‌های سرطانی هتروژن در سرطان‌های مختلف رفتارهای متنوعی در وضعیت‌های مختلف دارند، داشته باشیم.

کنترل سرطان ها با اندازه‌گیری ctDNA دینامیک در خون یا سرم یک بخش جدید و در حال توسعه در تحقیق‌ها است. باتوجه به مشکلات شناخته شده در دستیابی به نمونه‌های بیوپسی بافت، بیوپسی مایع می‌تواند یک روش مؤثر برای تشخیص سرطان باشد. بیوپسی مایع برای غلبه بر مشکلات ناهمگونی تومورهای طبیعی بیوپسی بافت‌ها برای درمان شخصی کمک‌کننده بوده و می‌تواند برای تشخیص سرطان حتی قبل از تشخیص با استفاده از مطالعه‌های تصویربرداری استفاده شود. (شکل ۱).

نتیجه‌گیری

باوجود چالش های موجود در کاربرد بالینی ctDNAها، تشخیص آنها می‌تواند به صورت real- time انجام شود و مزایای غیر تهاجمی، غیر آسیب‌زننده و همچنین حساسیت و اختصاصیت بالا را به ارمغان آورد. همچنین ctDNA ممکن است در مقایسه با بیومارکرهای پروتئینی به دلیل اختصاصیت و حساسیت بالاتر، بیومارکرهای ارزشمندتری باشند. به علاوه، پیشرفت‌های تکنولوژی شناسایی هزاران ناحیه‌ی CPG را تسهیل کرده و توالی‌یابی کل ژنوم توانسته تغییرهای بی‌سولفیت ctDNA را در تشخیص سرطان به خوبی به کار برد.

در همین راستا و با توجه به پتانسیل‌های بالقوه ctDNA در تشخیص زودهنگام سرطان، پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های آزمایشگاهی بیشتری در زمینه ارزیابی نقش بیومارکری ctDNAها در سرطان های مختلف انجام پذیرد.

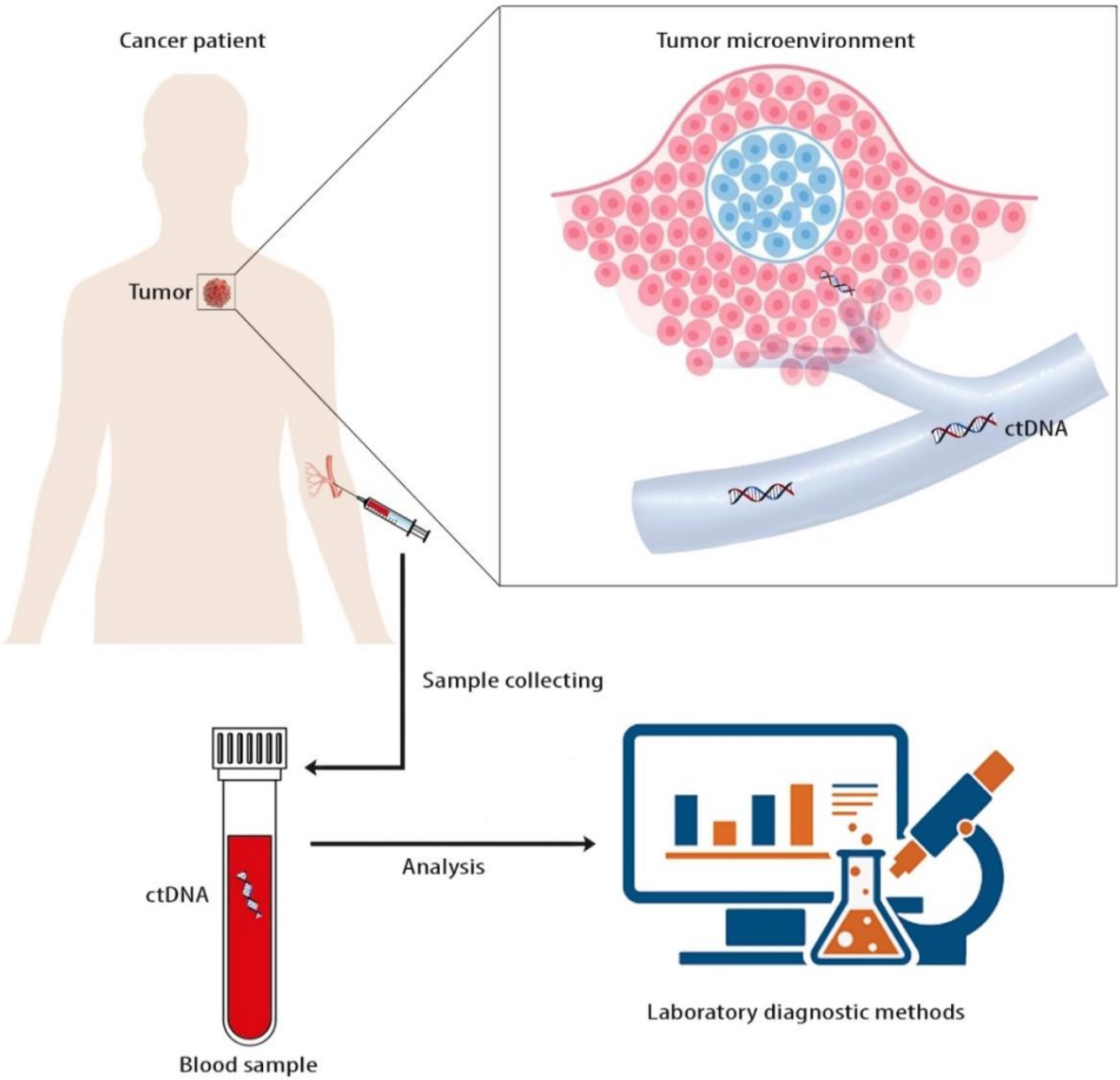
تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله، از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین به منظور حمایت‌های معنوی صورت‌گرفته، تقدیر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافعی را گزارش نکرده‌اند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]



شکل ۱- نمای کلی کاربرد ctDNA در تشخیص سرطان.

در این روش، بدون استفاده مستقیم از بافت توموری، میتوان به نمونه‌ی ctDNA که از موضع تومور ترشح شده است، در نمونه خون یا سایر مایعات بیولوژیک در دسترس، دست یافت. سپس، با استفاده از تکنیک‌های مولکولی خاص، می توان ctDNA را ردیابی کرد.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

References

1. Yin W, Wang J, Jiang L, James Kang Y. Cancer and stem cells. Exp Biol Med (Maywood). 2021;246(16):1791-801.

2. Mäbert K, Cojoc M, Peitzsch C, Kurth I, Souchelnytskyi S, Dubrovska A. Cancer biomarker discovery: current status and future perspectives. Int J Radiat Biol. 2014;90(8):659-77.

3. Hellyer P. Early cancer diagnosis reduces the cost of the disease. Br Dent J. 2022;233(1):42.

4. Ludwig JA, Weinstein JN. Biomarkers in cancer staging, prognosis and treatment selection. Nat Rev Cancer. 2005;5(11):845-56.

5. Khojastehpour S, Foroughi F, Gheibi N, Mohammadi Z, Ahmadi MH, Nasirian N, Maali A, Azad M. The Association of Methylation Status and Expression Level of MyoD1 with DNMT1 Expression Level in Breast Cancer Patients. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res. 2023;17(3):133-44.

6. Catalona WJ. Clinical utility of measurements of free and total prostate-specific antigen (PSA): a review. Prostate Suppl. 1996;7:64-9.

7. Holtedahl K, Borgquist L, Donker GA, Buntinx F, Weller D, Campbell C, Månsson J, Hammersley V, Braaten T, Parajuli R. Symptoms and signs of colorectal cancer, with differences between proximal and distal colon cancer: a prospective cohort study of diagnostic accuracy in primary care. BMC Fam Pract. 2021;22(1):148.

8. Choi YE, Kwak JW, Park JW .Nanotechnology for early cancer detection. Sensors (Basel). 2010;10(1):428-55.

9. Campos-Carrillo A, Weitzel JN, Sahoo P, Rockne R, Mokhnatkin JV, Murtaza M, Gray SW, Goetz L, Goel A, Schork N, Slavin TP. Circulating tumor DNA as an early cancer detection tool. Pharmacol Ther. 2020;207:107458.

10. Dehghanifard A, Kaviani S, Abroun S, Mehdizadeh M, Saiedi S, Maali A, Ghaffari S, Azad M. Various Signaling Pathways in Multiple Myeloma Cells and Effects of Treatment on These Pathways. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2018;18(5):311-20.

11. Kwong GA, Ghosh S, Gamboa L, Patriotis C, Srivastava S, Bhatia SN. Synthetic biomarkers: a twenty-first century path to early cancer detection. Nat Rev Cancer. 2021;21(10):655-68.

12. Wu L, Qu X. Cancer biomarker detection: recent achievements and challenges. Chem Soc Rev. 2015;44(10):2963-97.

13. Henry NL, Hayes DF. Cancer biomarkers. Mol Oncol. 2012;6(2):140-6.

14. Azad M, Bakhshi Biniaz R, Goudarzi M, Mobarra N, Alizadeh S, Nasiri H, Dehghani Fard A, Kaviani S, Moghadasi MH ,Sarookhani MR, Vatanmakan M, Sahmani M. Short view of leukemia diagnosis and treatment in iran. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res. 2015;9(2):88-94.

15. Pessoa LS, Heringer M, Ferrer VP. ctDNA as a cancer biomarker: A broad overview. Crit Rev Oncol Hematol. 2020;155:103109.

16. Schwarzenbach H, Hoon DS, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. Nat Rev Cancer. 2011;11(6):426-37.

17. Luo H, Wei W, Ye Z, Zheng J, Xu RH. Liquid Biopsy of Methylation Biomarkers in Cell-Free DNA. Trends Mol Med. 2021;27(5):482-500.

18. Kustanovich A, Schwartz R, Peretz T, Grinshpun A. Life and death of circulating cell-free DNA. Cancer Biol Ther. 2019;20(8):1057-67.

19. Hashimoto T, Yoshida K, Hashiramoto A, Matsui K. Cell-Free DNA in Rheumatoid Arthritis. Int J Mol Sci. 2021;22(16):8941.

20. Galardi F, Luca F, Romagnoli D, Biagioni C, Moretti E, Biganzoli L, Leo AD, Migliaccio I, Malorni L, Benelli M. Cell-Free DNA-Methylation-Based Methods and Applications in Oncology. Biomolecules. 2020;10(12):1617.

21. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. Cancer Res. 1977;37(3):646-50.

22. Agostini M, Enzo MV, Bedin C, Belardinelli V, Goldin E, Del Bianco P, Maschietto E, D'Angelo E, Izzi L, Saccani A ,Zavagno G, Nitti D. Circulating cell-free DNA: a promising marker of regional lymphonode metastasis in breast cancer patients. Cancer Biomark. 2012;11(2-3):89-98.

23. Hao TB, Shi W, Shen XJ, Qi J, Wu XH, Wu Y, Tang YY, Ju SQ. Circulating cell-free DNA in serum as a biomarker for diagnosis and prognostic prediction of colorectal cancer. British Journal of Cancer. 2014;111(8):1482-9.

24. Huang CY, Chen YM, Wu CH, Tsai CM, Lee YC, Perng RP, Whang-Peng J. Circulating free

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

mitochondrial DNA concentration and its association with erlotinib treatment in patients with adenocarcinoma of the lung. Oncol Lett. 2014;7(6):2180-4.

25. Ellinger J, Albers P, Müller SC, von Ruecker A, Bastian PJ. Circulating mitochondrial DNA in the serum of patients with testicular germ cell cancer as a novel noninvasive diagnostic biomarker. BJU Int. 2009;104(1):48-52.

26. Hendee WR, Edwards FM. Health effects of exposure to low-level ionizing radiation. Acta Radiol. 1998;39(4):453-4.

27. Morgan WF, Sowa MB. Non-targeted effects induced by ionizing radiation: mechanisms and potential impact on radiation induced health effects. Cancer Lett. 2015;356(1):17-21.

28. Chatterjee DK, Wolfe T, Lee J, Brown AP, Singh PK, Bhattarai SR, Diagaradjane P, Krishnan S. Convergence of nanotechnology with radiation therapy-insights and implications for clinical translation. Transl Cancer Res. 2013;2(4):256-68.

29. Dechet CB, Sebo T, Farrow G, Blute ML, Engen DE, Zincke H. Prospective analysis of intraoperative frozen needle biopsy of solid renal masses in adults. J Urol. 1999;162(4):1282-4; discussion 4-5.

30. Al-Leswas D, O'Reilly DA, Poston GJ. Biopsy of solid liver tumors: adverse consequences. Hepatobiliary Pancreat Dis Int. 2008;7(3):325-7.

31. Yang Y, Li L, Qu C, Liang S, Zeng B, Luo Z. Endoscopic ultrasound-guided fine needle core biopsy for the diagnosis of pancreatic malignant lesions: a systematic review and Meta-Analysis. Sci Rep. 2016;6:22978.

32. Hompes D, Ruers T. Review: incidence and clinical significance of Bevacizumab-related non-surgical and surgical serious adverse events in metastatic colorectal cancer. Eur J Surg Oncol. 2011;37(9):737-46.

33. Mazzucchelli R, Colanzi P, Pomante R, Muzzonigro G, Montironi R. Prostate tissue and serum markers. Adv Clin Path. 2000;4(3):111-20.

34. Ruibal Morell A. CEA serum levels in non-neoplastic disease. Int J Biol Markers. 1992;7(3):160-6.

35. Sikaris KA. CA125--a test with a change of heart. Heart Lung Circ. 2011;20(10):634-40.

36. Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Bardelli A. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. Nat Rev Clin Oncol. 2013;10(8):472-84.

37. Alix-Panabières C, Pantel K. Clinical Applications of Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA as Liquid Biopsy. Cancer Discov. 2016;6(5):479-91.

38. Heitzer E, Auer M, Ulz P, Geigl JB, Speicher MR. Circulating tumor cells and DNA as liquid biopsies. Genome Med. 2013;5(8):73.

39. Heitzer E, Ulz P, Geigl JB. Circulating tumor DNA as a liquid biopsy for cancer. Clin Chem. 2015;61(1):112-23.

40. Wang Y, Gu J, Roth JA, Hildebrandt MA, Lippman SM, Ye Y, Minna JD, Wu X. Pathway-based serum microRNA profiling and survival in patients with advanced stage non-small cell lung cancer. Cancer Res. 2013;73(15):4801-9.

41. Giovannetti E, van der Velde A, Funel N, Vasile E ,Perrone V, Leon LG, De Lio N, Avan A, Caponi S, Pollina LE, Gallá V, Sudo H, Falcone A, Campani D, Boggi U, Peters GJ. High-throughput microRNA (miRNAs) arrays unravel the prognostic role of MiR-211 in pancreatic cancer. PLoS One. 2012;7(11):e49145.

42. Vickers KC, Palmisano BT, Shoucri BM, Shamburek RD, Remaley AT. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. Nat Cell Biol. 2011;13(4):423-33.

43. Thakur BK, Zhang H, Becker A, Matei I, Huang Y, Costa-Silva B, Zheng Y, Hoshino A, Brazier H, Xiang J, Williams C, Rodriguez-Barrueco R, Silva JM, Zhang W, Hearn S, Elemento O, Paknejad N, Manova-Todorova K, Welte K, Bromberg J, Peinado H, Lyden D. Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection. Cell Res. 2014;24(6):766-9.

44. Bang C, Thum T. Exosomes: new players in cell-cell communication. Int J Biochem Cell Biol. 2012;44(11):2060-4.

45. Mencel J, Slater S, Cartwright E, Starling N. The Role of ctDNA in Gastric Cancer. Cancers (Basel). 2022;14(20):5105.

46. Chin RI, Chen K, Usmani A, Chua C, Harris PK, Binkley MS, Azad TD, Dudley JC, Chaudhuri AA. Detection of Solid Tumor Molecular Residual

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

Disease (MRD) Using Circulating Tumor DNA (ctDNA). Mol Diagn Ther. 2019;23(3):311-31.

47. Diehl F ,Li M, Dressman D, He Y, Shen D, Szabo S, Diaz LA, Jr., Goodman SN, David KA, Juhl H, Kinzler KW, Vogelstein B. Detection and quantification of mutations in the plasma of patients with colorectal tumors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(45):16368-73.

48. Bendich A, Wilczok T, Borenfreund E. CIRCULATING DNA AS A POSSIBLE FACTOR IN ONCOGENESIS. Science. 1965;148(3668):374-6.

49. Stroun M, Anker P, Maurice P, Lyautey J, Lederrey C, Beljanski M. Neoplastic characteristics of the DNA found in the plasma of cancer patients. Oncology. 1989;46(5):318-22.

50. Fujiwara K, Fujimoto N, Tabata M, Nishii K, Matsuo K, Hotta K, Kozuki T, Aoe M, Kiura K, Ueoka H, Tanimoto M. Identification of epigenetic aberrant promoter methylation in serum DNA is useful for early detection of lung cancer. Clin Cancer Res. 2005;11(3):1219-25.

51. Sant M, Bernat-Peguera A, Felip E, Margelí M. Role of ctDNA in Breast Cancer. Cancers (Basel). 2022;14(2):310.

52. Clatot F. Review ctDNA and Breast Cancer. Recent Results Cancer Res. 2020;231-52.

53. Papakonstantinou A, Gonzalez NS, Pimentel I, Suñol A, Zamora E, Ortiz C, Espinosa-Bravo M, Peg V, Vivancos A, Saura C, Villacampa G, Oliveira M. Prognostic value of ctDNA detection in patients with early breast cancer undergoing neoadjuvant therapy: A systematic review and meta-analysis. Cancer Treat Rev. 2022;104:102362.

54. Berger F, Marce M, Delaloge S, Hardy-Bessard AC, Bachelot T, Bièche I, Pradines A, De La Motte Rouge T, Canon JL, André F, Arnould L, Clatot F, Lemonnier J, Marques S, Bidard FC. Randomised, open-label, multicentric phase III trial to evaluate the safety and efficacy of palbociclib in combination with endocrine therapy, guided by ESR1 mutation monitoring in oestrogen receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer patients: study design of PADA-1. BMJ Open. 2022;12(3):e055821.

55. Malla M, Loree JM, Kasi PM, Parikh AR. Using Circulating Tumor DNA in Colorectal Cancer: Current and Evolving Practices. J Clin Oncol. 2022;40(24):2846-57.

56. Dasari A, Morris VK, Allegra CJ, Atreya C, Benson AB, 3rd, Boland P, Chung K, Copur MS, Corcoran RB, Deming DA, Dwyer A, Diehn M, Eng C, George TJ, Gollub MJ, Goodwin RA, Hamilton SR, Hechtman JF, Hochster H, Hong TS, Innocenti F, Iqbal A, Jacobs SA, Kennecke HF, Lee JJ, Lieu CH, Lenz HJ, Lindwasser OW, Montagut C, Odisio B, Ou FS, Porter L, Raghav K, Schrag D, Scott AJ, Shi Q, Strickler JH, Venook A, Yaeger R, Yothers G, You YN, Zell JA, Kopetz S. ctDNA applications and integration in colorectal cancer: an NCI Colon and Rectal-Anal Task Forces whitepaper. Nat Rev Clin Oncol. 2020;17(12):757-70.

57. Zhou H, Zhu L, Song J, Wang G, Li P, Li W, Luo P, Sun X, Wu J, Liu Y, Zhu S, Zhang Y. Liquid biopsy at the frontier of detection, prognosis and progression monitoring in colorectal cancer. Mol Cancer. 2022;21(1):86.

58. Crocetto F, Russo G, Di Zazzo E, Pisapia P, Mirto BF, Palmieri A, Pepe F, Bellevicine C, Russo A, La Civita E, Terracciano D, Malapelle U, Troncone G, Barone B. Liquid Biopsy in Prostate Cancer Management-Current Challenges and Future Perspectives. Cancers (Basel). 2022;14(13):3272.

59. Herberts C, Annala M, Sipola J, Ng SWS, Chen XE, Nurminen A, Korhonen OV, Munzur AD, Beja K, Schönlau E, Bernales CQ, Ritch E, Bacon JVW, Lack NA, Nykter M, Aggarwal R, Small EJ, Gleave ME, Quigley DA, Feng FY, Chi KN, Wyatt AW. Deep whole-genome ctDNA chronology of treatment-resistant prostate cancer. Nature. 2022;608(7921):199-208.

60. Yu W, Hurley J, Roberts D, Chakrabortty SK, Enderle D, Noerholm M, Breakefield XO, Skog JK. Exosome-based liquid biopsies in cancer: opportunities and challenges. Ann Oncol. 2021;32(4):466-77.

61. Shields MD, Chen K, Dutcher G, Patel I, Pellini B. Making the Rounds: Exploring the Role of Circulating Tumor DNA (ctDNA) in Non-Small Cell Lung Cancer. Int J Mol Sci. 2022 ;23(16):9006.

62. Sorenson GD, Pribish DM, Valone FH, Memoli VA, Bzik DJ, Yao SL. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1994;3(1):67-71.

63. Papadopoulos N. Pathophysiology of ctDNA Release into the Circulation and Its Characteristics: What Is Important for Clinical Applications. Recent Results Cancer Res. 2020;215:163-80.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

64. Lin C, Liu X, Zheng B, Ke R, Tzeng CM. Liquid Biopsy, ctDNA Diagnosis through NGS. Life (Basel). 2021;11(9):890.

65. El Messaoudi S, Rolet F, Mouliere F, Thierry AR. Circulating cell free DNA: Preanalytical considerations. Clin Chim Acta. 2013;424:222-30.

66. Wang WY, Barratt BJ, Clayton DG, Todd JA. Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. Nat Rev Genet. 2005;6(2):109-18.

67. Forshew T, Murtaza M, Parkinson C, Gale D, Tsui DW, Kaper F, Dawson SJ, Piskorz AM, Jimenez-Linan M, Bentley D, Hadfield J, May AP, Caldas C, Brenton JD, Rosenfeld N. Noninvasive identification and monitoring of cancer mutations by targeted deep sequencing of plasma DNA. Sci Transl Med. 2012;4(136):136ra68.

68. Leary RJ, Sausen M, Kinde I, Papadopoulos N, Carpten JD, Craig D, O'Shaughnessy J, Kinzler KW, Parmigiani G, Vogelstein B, Diaz LA, Jr., Velculescu VE .Detection of chromosomal alterations in the circulation of cancer patients with whole-genome sequencing. Sci Transl Med. 2012;4(162):162ra54.

69. Chan KC, Jiang P, Zheng YW, Liao GJ, Sun H, Wong J, Siu SS, Chan WC, Chan SL, Chan AT, Lai PB, Chiu RW, Lo YM .Cancer genome scanning in plasma: detection of tumor-associated copy number aberrations, single-nucleotide variants, and tumoral heterogeneity by massively parallel sequencing. Clin Chem. 2013;59(1):211-24.

70. Ashida A, Sakaizawa K, Mikoshiba A, Uhara H, Okuyama R. Quantitative analysis of the BRAF (V600E) mutation in circulating tumor-derived DNA in melanoma patients using competitive allele-specific TaqMan PCR. Int J Clin Oncol. 2016;21(5):981-8.

71. Hindson CM, Chevillet JR, Briggs HA, Gallichotte EN, Ruf IK, Hindson BJ, Vessella RL, Tewari M. Absolute quantification by droplet digital PCR versus analog real-time PCR. Nat Methods. 2013;10(10):1003-5.

72. Heitzer E, Ulz P, Belic J, Gutschi S, Quehenberger F, Fischereder K, Benezeder T, Auer M, Pischler C, Mannweiler S, Pichler M, Eisner F, Haeusler M, Riethdorf S, Pantel K, Samonigg H, Hoefler G, Augustin H, Geigl JB, Speicher MR. Tumor-associated copy number changes in the circulation of patients with prostate cancer identified through whole-genome sequencing. Genome Med. 2013;5(4):30.

73. Newman AM, Bratman SV, To J, Wynne JF, Eclov NC, Modlin LA, Liu CL, Neal JW, Wakelee HA, Merritt RE, Shrager JB, Loo BW, Jr., Alizadeh AA, Diehn M. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage. Nat Med. 2014;20(5):548-54.

74. Bratman SV, Newman AM, Alizadeh AA, Diehn M. Potential clinical utility of ultrasensitive circulating tumor DNA detection with CAPP-Seq. Expert Rev Mol Diagn. 2015;15(6):715-9.

75. Newman AM, Lovejoy AF, Klass DM, Kurtz DM, Chabon JJ, Scherer F, Stehr H, Liu CL, Bratman SV, Say C, Zhou L, Carter JN, West RB, Sledge GW, Shrager JB, Loo BW, Jr., Neal JW, Wakelee HA, Diehn M, Alizadeh AA. Integrated digital error suppression for improved detection of circulating tumor DNA. Nat Biotechnol. 2016;34(5):547-55.

76. Vogelstein B, Kinzler KW. Digital PCR. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999;96(16):9236-41.

77. Huang A, Zhang X, Zhou SL, Cao Y, Huang XW, Fan J, Yang XR, Zhou J. Detecting Circulating Tumor DNA in Hepatocellular Carcinoma Patients Using Droplet Digital PCR Is Feasible and Reflects Intratumoral Heterogeneity. J Cancer. 2016;7(13):1907-14.

78. Denis JA, Patroni A, Guillerm E, Pépin D, Benali-Furet N, Wechsler J, Manceau G, Bernard M, Coulet F, Larsen AK, Karoui M, Lacorte JM. Droplet digital PCR of circulating tumor cells from colorectal cancer patients can predict KRAS mutations before surgery. Mol Oncol. 2016;10(8):1221-31.

79. Laurent-Puig P, Pekin D, Normand C, Kotsopoulos SK, Nizard P, Perez-Toralla K, Rowell R, Olson J, Srinivasan P, Le Corre D, Hor T, El Harrak Z, Li X, Link DR, Bouché O, Emile JF, Landi B, Boige V, Hutchison JB, Taly V. Clinical relevance of KRAS-mutated subclones detected with picodroplet digital PCR in advanced colorectal cancer treated with anti-EGFR therapy. Clin Cancer Res. 2015;21(5):1087-97.

80. Rahmani T, Azad M, Chahardouli B, Nasiri H, Vatanmakanian M, Kaviani S. Patterns of DNMT1 Promoter Methylation in Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res. 2017;11(3):172-7.

81. Hojjatipour T, Sohani M, Maali A, Rostami S, Azad M. Aberrant DNA Methylation Status and mRNA Expression Level of SMG1 Gene in Chronic

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

Myeloid Leukemia: A Case-Control Study. Cell J. 2022;24(12):757-63.

82. Balgkouranidou I, Chimonidou M, Milaki G, Tsaroucha E, Kakolyris S, Georgoulias V, Lianidou E. SOX17 promoter methylation in plasma circulating tumor DNA of patients with non-small cell lung cancer. Clin Chem Lab Med. 2016;54(8):1385-93.

83. Mishima C, Kagara N ,Matsui S, Tanei T, Naoi Y, Shimoda M, Shimomura A, Shimazu K, Kim SJ, Noguchi S. Promoter methylation of TRIM9 as a marker for detection of circulating tumor DNA in breast cancer patients. Springerplus. 2015;4:635.

84. Warton K, Mahon KL, Samimi G. Methylated circulating tumor DNA in blood: power in cancer prognosis and response. Endocr Relat Cancer. 2016;23(3):R157-71.

85. Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. Proc Natl Acad Sci U S A. 1996;93(18):9821-6.

86. Licchesi JD, Herman JG. Methylation-specific PCR. Methods Mol Biol. 2009;507:305-23.

87. Bailey VJ, Zhang Y, Keeley BP, Yin C, Pelosky KL, Brock M, Baylin SB, Herman JG, Wang TH. Single-tube analysis of DNA methylation with silica superparamagnetic beads. Clin Chem. 2010;56(6):1022-5.

88. Feehery GR, Yigit E, Oyola SO, Langhorst BW, Schmidt VT, Stewart FJ, Dimalanta ET, Amaral-Zettler LA, Davis T, Quail MA, Pradhan S. A method for selectively enriching microbial DNA from contaminating vertebrate host DNA. PLoS One. 2013;8(10):e76096.

89. Wong IH, Lo YM, Zhang J, Liew CT, Ng MH, Wong N, Lai PB, Lau WY, Hjelm NM, Johnson PJ. Detection of aberrant p16 methylation in the plasma and serum of liver cancer patients. Cancer Res. 1999;59(1):71-3.

90. Eads CA, Danenberg KD, Kawakami K, Saltz LB, Blake C, Shibata D, Danenberg PV, Laird PW. MethyLight: a high-throughput assay to measure DNA methylation. Nucleic Acids Res. 2000;28(8):E32.

91. Bailey VJ, Keeley BP ,Zhang Y, Ho YP, Easwaran H, Brock MV, Pelosky KL, Carraway HE, Baylin SB, Herman JG, Wang TH. Enzymatic incorporation of multiple dyes for increased sensitivity in QD-FRET sensing for DNA methylation detection. Chembiochem. 2010;11(1):71-4.

92. Guzzetta AA, Pisanic Ii TR, Sharma P, Yi JM, Stark A, Wang TH, Ahuja N. The promise of methylation on beads for cancer detection and treatment. Expert Rev Mol Diagn. 2014;14(7):845-52.

93. Fackler MJ, Lopez Bujanda Z, Umbricht C, Teo WW, Cho S, Zhang Z, Visvanathan K, Jeter S, Argani P, Wang C, Lyman JP, de Brot M, Ingle JN, Boughey J, McGuire K, King TA, Carey LA, Cope L, Wolff AC, Sukumar S. Novel methylated biomarkers and a robust assay to detect circulating tumor DNA in metastatic breast cancer. Cancer Res. 2014 ;74(8):2160-70.

94. Li Y, Zhu J, Tian G, Li N, Li Q, Ye M, Zheng H, Yu J, Wu H, Sun J, Zhang H, Chen Q, Luo R, Chen M, He Y, Jin X, Zhang Q, Yu C, Zhou G, Sun J, Huang Y, Zheng H, Cao H, Zhou X, Guo S, Hu X, Li X, Kristiansen K, Bolund L, Xu J, Wang W ,Yang H, Wang J, Li R, Beck S, Wang J, Zhang X. The DNA methylome of human peripheral blood mononuclear cells. PLoS Biol. 2010;8(11):e1000533.

95. Smith ZD, Gu H, Bock C, Gnirke A, Meissner A. High-throughput bisulfite sequencing in mammalian genomes. Methods. 2009;48(3):226-32.

96. Chan KC, Jiang P, Chan CW, Sun K, Wong J, Hui EP, Chan SL, Chan WC, Hui DS, Ng SS, Chan HL, Wong CS, Ma BB, Chan AT, Lai PB, Sun H, Chiu RW, Lo YM. Noninvasive detection of cancer-associated genome-wide hypomethylation and copy number aberrations by plasma DNA bisulfite sequencing. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(47):18761-8.

97. Wen L, Li J, Guo H, Liu X, Zheng S, Zhang D, Zhu W, Qu J, Guo L, Du D, Jin X, Zhang Y, Gao Y, Shen J, Ge H, Tang F, Huang Y, Peng J. Genome-scale detection of hypermethylated CpG islands in circulating cell-free DNA of hepatocellular carcinoma patients. Cell Res. 2015;25(11):1250-64.

98. Rand K, Qu W, Ho T, Clark SJ, Molloy P. Conversion-specific detection of DNA methylation using real-time polymerase chain reaction (ConLight-MSP) to avoid false positives. Methods. 2002;27(2):114-20.

99. Urich MA, Nery JR, Lister R, Schmitz RJ, Ecker JR. MethylC-seq library preparation for base-resolution whole-genome bisulfite sequencing. Nat Protoc. 2015;10(3): 475-83.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

100. Taiwo O, Wilson GA, Morris T, Seisenberger S, Reik W, Pearce D, Beck S, Butcher LM. Methylome analysis using MeDIP-seq with low DNA concentrations. Nat Protoc. 2012;7(4):617-36.

101. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer. 2010;127(12):2893-917.

102. Shaw JA, Page K, Blighe K, Hava N, Guttery D, Ward B, Brown J, Ruangpratheep C, Stebbing J, Payne R, Palmieri C, Cleator S, Walker RA, Coombes RC. Genomic analysis of circulating cell-free DNA infers breast cancer dormancy. Genome Res. 2012;22(2):220-31.

103. Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ, Kinde I, Wang Y, Agrawal N, Bartlett BR, Wang H, Luber B, Alani RM, Antonarakis ES, Azad NS, Bardelli A, Brem H ,Cameron JL, Lee CC, Fecher LA, Gallia GL, Gibbs P, Le D, Giuntoli RL, Goggins M, Hogarty MD, Holdhoff M, Hong SM, Jiao Y, Juhl HH, Kim JJ, Siravegna G, Laheru DA, Lauricella C, Lim M, Lipson EJ, Marie SK, Netto GJ, Oliner KS, Olivi A, Olsson L, Riggins GJ, Sartore-Bianchi A, Schmidt K, Shih l M, Oba-Shinjo SM, Siena S, Theodorescu D, Tie J, Harkins TT, Veronese S, Wang TL, Weingart JD, Wolfgang CL, Wood LD, Xing D, Hruban RH, Wu J, Allen PJ, Schmidt CM, Choti MA, Velculescu VE, Kinzler KW, Vogelstein B ,Papadopoulos N, Diaz LA, Jr. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. Sci Transl Med. 2014;6(224):224ra24.

104. Shah SS, Ketterling RP, Goetz MP, Ingle JN, Reynolds CA, Perez EA, Chen B. Impact of American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations on HER2 interpretation in breast cancer. Hum Pathol. 2010;41(1):103-6.

105. Higgins MJ, Jelovac D, Barnathan E, Blair B, Slater S, Powers P, Zorzi J, Jeter SC, Oliver GR, Fetting J, Emens L, Riley C, Stearns V, Diehl F, Angenendt P, Huang P, Cope L, Argani P, Murphy KM, Bachman KE, Greshock J, Wolff AC, Park BH. Detection of tumor PIK3CA status in metastatic breast cancer using peripheral blood. Clin Cancer Res. 2012 ;18(12):3462-9.

106. Dawson SJ, Tsui DW, Murtaza M, Biggs H, Rueda OM, Chin SF, Dunning MJ, Gale D, Forshew T, Mahler-Araujo B, Rajan S, Humphray S, Becq J, Halsall D, Wallis M, Bentley D, Caldas C, Rosenfeld N. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. N Engl J Med. 2013;368(13):1199-209.

107. Beaver JA, Jelovac D, Balukrishna S, Cochran R, Croessmann S, Zabransky DJ, Wong HY, Toro PV, Cidado J, Blair BG, Chu D, Burns T, Higgins MJ, Stearns V, Jacobs L, Habibi M, Lange J, Hurley PJ, Lauring J, VanDenBerg D, Kessler J, Jeter S, Samuels ML, Maar D, Cope L, Cimino-Mathews A, Argani P, Wolff AC, Park BH. Detection of cancer DNA in plasma of patients with early-stage breast cancer. Clin Cancer Res. 2014;20(10):2643-50.

108. Chu D, Paoletti C ,Gersch C, VanDenBerg DA, Zabransky DJ, Cochran RL, Wong HY, Toro PV, Cidado J, Croessmann S, Erlanger B, Cravero K, Kyker-Snowman K, Button B, Parsons HA, Dalton WB, Gillani R, Medford A, Aung K, Tokudome N, Chinnaiyan AM, Schott A, Robinson D, Jacks KS , Lauring J, Hurley PJ, Hayes DF, Rae JM, Park BH. ESR1 Mutations in Circulating Plasma Tumor DNA from Metastatic Breast Cancer Patients. Clin Cancer Res. 2016;22(4):993-9.

109. Kamel AM, Teama S, Fawzy A, El Deftar M. Plasma DNA integrity index as a potential molecular diagnostic marker for breast cancer. Tumour Biol. 2016;37(6):7565-72.

110. Olsson E, Winter C, George A, Chen Y, Howlin J, Tang MH, Dahlgren M, Schulz R, Grabau D, van Westen D, Fernö M, Ingvar C, Rose C, Bendahl PO, Rydén L, Borg Å, Gruvberger-Saal SK, Jernström H, Saal LH. Serial monitoring of circulating tumor DNA in patients with primary breast cancer for detection of occult metastatic disease. EMBO Mol Med. 2015;7(8):1034-47.

111. Madic J, Kiialainen A, Bidard FC, Birzele F, Ramey G, Leroy Q, Rio Frio T, Vaucher I, Raynal V, Bernard V, Lermine A, Clausen I, Giroud N, Schmucki R, Milder M, Horn C, Spleiss O, Lantz O, Stern MH, Pierga JY, Weisser M, Lebofsky R. Circulating tumor DNA and circulating tumor cells in metastatic triple negative breast cancer patients. Int J Cancer. 2015;136(9):2158-65.

112. Liggett TE, Melnikov AA, Marks JR, Levenson VV. Methylation patterns in cell-free plasma DNA reflect removal of the primary tumor and drug treatment of breast cancer patients. Int J Cancer. 2011;128(2):492-9.

113. Fiegl H, Millinger S, Mueller-Holzner E, Marth C, Ensinger C, Berger A, Klocker H, Goebel G, Widschwendter M. Circulating tumor-specific DNA: a

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

marker for monitoring efficacy of adjuvant therapy in cancer patients. Cancer Res. 2005;65(4):1141-5.

114. Fu D, Ren C, Tan H, Wei J, Zhu Y, He C, Shao W, Zhang J. Sox17 promoter methylation in plasma DNA is associated with poor survival and can be used as a prognostic factor in breast cancer. Medicine (Baltimore). 2015;94(11):e637.

115. Wittenberger T, Sleigh S, Reisel D, Zikan M, Wahl B, Alunni-Fabbroni M, Jones A, Evans I, Koch J, Paprotka T, Lempiäinen H, Rujan T, Rack B, Cibula D, Widschwendter M. DNA methylation markers for early detection of women's cancer: promise and challenges .Epigenomics. 2014;6(3):311-27.

116. Avraham A, Uhlmann R, Shperber A, Birnbaum M, Sandbank J, Sella A, Sukumar S, Evron E. Serum DNA methylation for monitoring response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. Int J Cancer. 2012;131(7): E1166-72.

117. Yamamoto N, Nakayama T, Kajita M, Miyake T, Iwamoto T, Kim SJ, Sakai A, Ishihara H, Tamaki Y, Noguchi S. Detection of aberrant promoter methylation of GSTP1, RASSF1A, and RARβ2 in serum DNA of patients with breast cancer by a newly established one-step methylation-specific PCR assay. Breast Cancer Res Treat. 2012;132(1):165-73.

118. Mirza S, Sharma G, Parshad R, Srivastava A, Gupta SD, Ralhan R. Clinical significance of promoter hypermethylation of ERβ and RARβ2 in tumor and serum DNA in Indian breast cancer patients. Ann Surg Oncol. 2012;19(9):3107-15.

119. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin. 2015;65(2):87-108.

120. Shen MM, Abate-Shen C. Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. Genes Dev. 2010;24(18):1967-2000.

121. Body JJ, Casimiro S, Costa L. Targeting bone metastases in prostate cancer: improving clinical outcome. Nat Rev Urol. 2015;12(6):340-56.

122. Barbieri CE, Baca SC, Lawrence MS, Demichelis F, Blattner M, Theurillat JP, White TA, Stojanov P, Van Allen E, Stransky N, Nickerson E, Chae SS, Boysen G, Auclair D, Onofrio RC, Park K, Kitabayashi N, MacDonald TY, Sheikh K, Vuong T, Guiducci C, Cibulskis K, Sivachenko A, Carter SL , Saksena G, Voet D, Hussain WM, Ramos AH, Winckler W, Redman MC, Ardlie K, Tewari AK, Mosquera JM, Rupp N, Wild PJ, Moch H, Morrissey C, Nelson PS, Kantoff PW, Gabriel SB, Golub TR, Meyerson M, Lander ES, Getz G, Rubin MA, Garraway LA. Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. Nat Genet. 2012;44(6):685-9.

123. Wang G, Zhao D, Spring DJ, DePinho RA. Genetics and biology of prostate cancer. Genes Dev. 2018;32(17-18):1105-40.

124. Geng C, He B, Xu L, Barbieri CE, Eedunuri VK, Chew SA, Zimmermann M, Bond R, Shou J, Li C, Blattner M, Lonard DM, Demichelis F, Coarfa C, Rubin MA, Zhou P, O'Malley BW, Mitsiades N. Prostate cancer-associated mutations in speckle-type POZ protein (SPOP) regulate steroid receptor coactivator 3 protein turnover. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(17):6997-7002.

125. Theurillat JP, Udeshi ND, Errington WJ, Svinkina T, Baca SC, Pop M, Wild PJ, Blattner M, Groner AC, Rubin MA, Moch H, Prive GG, Carr SA, Garraway LA. Prostate cancer. Ubiquitylome analysis identifies dysregulation of effector substrates in SPOP-mutant prostate cancer. Science. 2014;346(6205):85-9.

126. Blattner M, Liu D, Robinson BD, Huang D, Poliakov A, Gao D, Nataraj S, Deonarine LD, Augello MA, Sailer V, Ponnala L, Ittmann M, Chinnaiyan AM, Sboner A, Chen Y, Rubin MA, Barbieri CE. SPOP Mutation Drives Prostate Tumorigenesis In Vivo through Coordinate Regulation of PI3K/mTOR and AR Signaling. Cancer Cell. 2017;31(3):436-51.

127. The Molecular Taxonomy of Primary Prostate Cancer. Cell. 2015;163(4):1011-25.

128. Siegel R, Desantis C, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2014. CA Cancer J Clin. 2014;64(2):104-17.

129. Diaz LA, Jr., Williams RT, Wu J, Kinde I, Hecht JR, Berlin J, Allen B, Bozic I, Reiter JG, Nowak MA, Kinzler KW, Oliner KS, Vogelstein B. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. Nature. 2012;486(7404):537-40.

130. Siravegna G, Bardelli A. Blood circulating tumor DNA for non-invasive genotyping of colon cancer patients. Mol Oncol. 2016;10(3):475-80.

131. Spindler KL, Pallisgaard N, Vogelius I, Jakobsen A. Quantitative cell-free DNA, KRAS, and BRAF mutations in plasma from patients with metastatic colorectal cancer during treatment with cetuximab and irinotecan. Clin Cancer Res. 2012;18(4):1177-85.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

132. Spindler KL, Sorensen MM, Pallisgaard N, Andersen RF, Havelund BM, Ploen J, Lassen U, Jakobsen AK. Phase II trial of temsirolimus alone and in combination with irinotecan for KRAS mutant metastatic colorectal cancer: outcome and results of KRAS mutational analysis in plasma. Acta Oncol. 2013;52(5):963-70.

133. Wang JY, Hsieh JS, Chang MY, Huang TJ, Chen FM, Cheng TL, Alexandersen K, Huang YS, Tzou WS, Lin SR. Molecular detection of APC, K- ras, and p53 mutations in the serum of colorectal cancer patients as circulating biomarkers. World J Surg. 2004;28(7):721-6.

134. Tie J, Kinde I, Wang Y, Wong HL, Roebert J, Christie M, Tacey M, Wong R, Singh M, Karapetis CS, Desai J, Tran B, Strausberg RL, Diaz LA, Jr ,. Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Gibbs P. Circulating tumor DNA as an early marker of therapeutic response in patients with metastatic colorectal cancer. Ann Oncol. 2015;26(8):1715-22.

135. Kidess E, Heirich K, Wiggin M, Vysotskaia V, Visser BC ,Marziali A, Wiedenmann B, Norton JA, Lee M, Jeffrey SS, Poultsides GA. Mutation profiling of tumor DNA from plasma and tumor tissue of colorectal cancer patients with a novel, high-sensitivity multiplexed mutation detection platform. Oncotarget. 2015;6(4):2549.

136. Misale S, Arena S, Lamba S, Siravegna G, Lallo A, Hobor S, Russo M, Buscarino M, Lazzari L, Sartore-Bianchi A, Bencardino K, Amatu A, Lauricella C, Valtorta E, Siena S, Di Nicolantonio F, Bardelli A. Blockade of EGFR and MEK intercepts heterogeneous mechanisms of acquired resistance to anti-EGFR therapies in colorectal cancer. Sci Transl Med. 2014;6(224):224ra26.

137. Mohan S, Heitzer E, Ulz P, Lafer I, Lax S, Auer M, Pichler M, Gerger A, Eisner F, Hoefler G, Bauernhofer T, Geigl JB, Speicher MR. Changes in colorectal carcinoma genomes under anti-EGFR therapy identified by whole-genome plasma DNA sequencing. PLoS Genet. 2014;10(3):e1004271.

138. Misale S, Yaeger R, Hobor S, Scala E, Janakiraman M, Liska D, Valtorta E, Schiavo R, Buscarino M ,Siravegna G, Bencardino K, Cercek A, Chen CT, Veronese S, Zanon C, Sartore-Bianchi A, Gambacorta M, Gallicchio M, Vakiani E, Boscaro V, Medico E, Weiser M, Siena S, Di Nicolantonio F, Solit D, Bardelli A. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. Nature. 2012;486(7404):532-6.

139. Bardelli A, Corso S, Bertotti A, Hobor S, Valtorta E, Siravegna G, Sartore-Bianchi A, Scala E, Cassingena A, Zecchin D, Apicella M, Migliardi G, Galimi F, Lauricella C, Zanon C, Perera T, Veronese S, Corti G, Amatu A, Gambacorta M, Diaz LA, Jr., Sausen M, Velculescu VE, Comoglio P, Trusolino L, Di Nicolantonio F, Giordano S, Siena S. Amplification of the MET receptor drives resistance to anti-EGFR therapies in colorectal cancer. Cancer Discov. 2013;3(6):658-73.

140. Pack SC, Kim HR, Lim SW, Kim HY, Ko JY, Lee KS, Hwang D, Park SI, Kang H, Park SW, Hong GY, Hwang SM, Shin MG, Lee S. Usefulness of plasma epigenetic changes of five major genes involved in the pathogenesis of colorectal cancer. Int J Colorectal Dis. 2013;28(1):139-47.

141. Grawenda AM, O'Neill E. Clinical utility of RASSF1A methylation in human malignancies. Br J Cancer. 2015;113(3):372-81.

142. Walters S, Benitez-Majano S, Muller P, Coleman MP, Allemani C, Butler J, Peake M, Guren MG, Glimelius B, Bergström S, Påhlman L, Rachet B. Is England closing the international gap in cancer survival? Br J Cancer. 2015;113(5):848-60.

143. Jones GS, Baldwin DR. Recent advances in the management of lung cancer. Clin Med (Lond). 2018;18(Suppl 2):s41-s6.

144. Powrózek T, Krawczyk P, Kucharczyk T, Milanowski J. Septin 9 promoter region methylation in free circulating DNA-potential role in noninvasive diagnosis of lung cancer: preliminary report. Med Oncol. 2014;31(4):917.

145. Narayan A, Carriero NJ, Gettinger SN, Kluytenaar J, Kozak KR, Yock TI, Muscato NE, Ugarelli P, Decker RH, Patel AA. Ultrasensitive measurement of hotspot mutations in tumor DNA in blood using error-suppressed multiplexed deep sequencing. Cancer Res. 2012;72(14):3492-8.

146. Grady WM, Rajput A, Lutterbaugh JD, Markowitz SD. Detection of aberrantly methylated hMLH1 promoter DNA in the serum of patients with microsatellite unstable colon cancer. Cancer Res. 2001;61(3):900-2.

147. Zou H, Yu B, Zhao R, Wang Z ,Cang H, Li D, Feng G, Yi J. Detection of aberrant p16 methylation in

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

the serum of colorectal cancer patients. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi. 2002;36(7):499-501.

148. Lecomte T, Berger A, Zinzindohoué F, Micard S, Landi B, Blons H, Beaune P, Cugnenc PH ,Laurent-Puig P. Detection of free-circulating tumor-associated DNA in plasma of colorectal cancer patients and its association with prognosis. Int J Cancer. 2002;100(5):542-8.

149. Ebert MP, Model F, Mooney S, Hale K, Lograsso J, Tonnes-Priddy L, Hoffmann J, Csepregi A, Röcken C, Molnar B, Schulz HU, Malfertheiner P, Lofton-Day C. Aristaless-like homeobox-4 gene methylation is a potential marker for colorectal adenocarcinomas. Gastroenterology. 2006;131(5):1418-30.

150. Miotto E, Sabbioni S, Veronese A ,Calin GA, Gullini S, Liboni A, Gramantieri L, Bolondi L, Ferrazzi E, Gafà R, Lanza G, Negrini M. Frequent aberrant methylation of the CDH4 gene promoter in human colorectal and gastric cancer. Cancer Res. 2004;64(22):8156-9.

151. Warren JD, Xiong W, Bunker AM, Vaughn CP, Furtado LV, Roberts WL, Fang JC, Samowitz WS, Heichman KA. Septin 9 methylated DNA is a sensitive and specific blood test for colorectal cancer. BMC Med. 2011;9:133.

152. Lofton-Day C, Model F, Devos T, Tetzner R, Distler J, Schuster M, Song X, Lesche R, Liebenberg V, Ebert M, Molnar B, Grützmann R, Pilarsky C, Sledziewski A. DNA methylation biomarkers for blood-based colorectal cancer screening. Clin Chem. 2008;54(2):414-23.

153. Silva JM, Dominguez G, Villanueva MJ, Gonzalez R, Garcia JM, Corbacho C, Provencio M, España P, Bonilla F. Aberrant DNA methylation of the p16INK4a gene in plasma DNA of breast cancer patients. Br J Cancer. 1999;80(8):1262-4.

154. Esteller M, Sanchez-Cespedes M, Rosell R, Sidransky D, Baylin SB, Herman JG. Detection of aberrant promoter hypermethylation of tumor suppressor genes in serum DNA from non-small cell lung cancer patients. Cancer Res. 1999;59(1):67-70.

155. Sun K, Jiang P, Chan KC, Wong J, Cheng YK, Liang RH, Chan WK, Ma ES, Chan SL, Cheng SH, Chan RW ,Tong YK, Ng SS, Wong RS, Hui DS, Leung TN, Leung TY, Lai PB, Chiu RW, Lo YM. Plasma DNA tissue mapping by genome-wide methylation sequencing for noninvasive prenatal, cancer, and transplantation assessments. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015;112(40):E5503-12.

156. Jiao L, Zhu J, Hassan MM, Evans DB, Abbruzzese JL, Li D. K-ras mutation and p16 and preproenkephalin promoter hypermethylation in plasma DNA of pancreatic cancer patients: in relation to cigarette smoking. Pancreas. 2007;34(1):55-62.

157. Akca H ,Demiray A, Yaren A, Bir F, Koseler A, Iwakawa R, Bagci G, Yokota J. Utility of serum DNA and pyrosequencing for the detection of EGFR mutations in non-small cell lung cancer. Cancer Genet. 2013;206(3):73-80.

158. Ilie M, Hofman V, Long E, Bordone O, Selva E, Washetine K, Marquette CH, Hofman P. Current challenges for detection of circulating tumor cells and cell-free circulating nucleic acids, and their characterization in non-small cell lung carcinoma patients. What is the best blood substrate for personalized medicine? Ann Transl Med. 2014;2(11):107.

159. Kwee S, Song MA, Cheng I, Loo L, Tiirikainen M. Measurement of circulating cell-free DNA in relation to 18F-fluorocholine PET/CT imaging in chemotherapy-treated advanced prostate cancer. Clin Transl Sci. 2012;5(1):65-70.

160. Iriyama C, Tomita A, Hoshino H, Adachi-Shirahata M, Furukawa-Hibi Y, Yamada K, Kiyoi H, Naoe T. Using peripheral blood circulating DNAs to detect CpG global methylation status and genetic mutations in patients with myelodysplastic syndrome. Biochem Biophys Res Commun. 2012;419(4):662-9.

161. Huang CH, Tsai MS, Hsu CY, Chen HW, Wang TD, Chang WT, Ma MH, Chien KL, Chen SC, Chen WJ. Circulating cell-free DNA levels correlate with postresuscitation survival rates in out-of-hospital cardiac arrest patients. Resuscitation. 2012;83(2):213-8.

162. Ha TT, Huy NT, Murao LA, Lan NT, Thuy TT, Tuan HM, Nga CT, Tuong VV, Dat TV, Kikuchi M, Yasunami M, Morita K, Huong VT, Hirayama K. Elevated levels of cell-free circulating DNA in patients with acute dengue virus infection. PLoS One. 2011;6(10):e25969.

163. Chaudhuri AA, Binkley MS, Osmundson EC, Alizadeh AA, Diehn M. Predicting Radiotherapy Responses and Treatment Outcomes Through Analysis of Circulating Tumor DNA. Semin Radiat Oncol. 2015;25(4):305-12.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]