Cell - free DNA: بیومارکر نوین تشخیص آزمایشگاهی

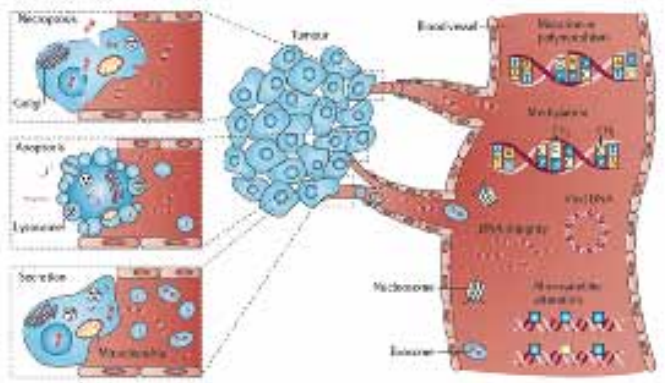
• دکتر محمد علی تخشید
دانشیار بیوشیمی بالینی
مرکز تحقیقات علوم و فن آوری تشخیص آزمایشگاهی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز
takhshidma@sums.ac.ir

• مرضیه علیزاده
دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی
مرکز تحقیقات علوم و فن آوری تشخیص آزمایشگاهی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

مقدمه

به انواع مختلف اسیدهای نوکلئیک آزاد در پلاسما شامل قطعات DNA ژنومی، DNA میتوکندریایی، DNA و mRNAهای ویروسی و همچنین انواع miRNA اصطلاحا Cell-free nucleic acid گفته می‌شود. بخش مهمی از این اسیدهای نوکلئیک آزاد در پلاسما را Cell-free DNA (cfDNA) تشکیل می‌دهد. cfDNA به صورت قطعاتی با وزن مولکولی حدود KB ۲۱-۰/۱۸ در سرم یا پلاسمای افراد سالم و افراد مبتلا به بسیاری از بیماری‌ها قابل تشخیص هستند. حضور cfDNA در پلاسمای انسانی برای اولین بار در سال ۱۹۴۸ توسط Metais و Mandel گزارش شد. در آن زمان این موضوع توجه کمی را در مجامع علمی به خود جلب کرد تا اینکه در سال ۱۹۹٤ با شناسایی قطعه جهش یافته ژن RAS در پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان اهمیت cfDNA به عنوان یک مارکر احتمالی سرطان آشکارگردید. در بین انواع DNA, cfDNA ژنومی و DNA میتوکندریایی کانون توجه بسیاری از مطالعات بوده و کاربرد تغییرات کمی و کیفی در این دو شاخص (شکل ۱) در تشخیص و پیگیری انواع سرطان‌ها، تشخیص‌های پیش از تولد، بیماری‌های قلبی- عروقی و پیوند اعضاء مورد توجه قرار گرفته است (۱). اگر چه مکانیسم‌هایی که منجر به حضور cfDNA در پلاسما می‌گردد به طور کامل شناخته نشده است. اما به نظر می‌رسد منشا cfDNA در پلاسمای افراد سالم عمدتا از آپوپتوز سلولی باشد. هر چند مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های زنده نیز ممکن است به صورت فعال قطعات DNA را به درون پلاسما آزاد کنند. در بیماران، فرآیندهای آپوپتوز و نکروز سلولی منشا cfDNA می‌باشند (۲). در این مقاله به بررسی کاربرد اندازه گیری کمی و بررسی کیفی cfDNA در تشخیص و پیگیری درمان برخی از بیماری‌ها پرداخته شده است.

کلمات کلیدی: Cell - free DNA



شکل ۱: انواع مختلف اسیدهای نوکلئیک آزاد در پلاسما به همراه منشا و تغییرات کمی و کیفی آن‌ها

سرطان

سرطان بعد از بیماری‌های قلبی- عروقی و بیماری‌های عفونی سومین علت مرگ و میر در جهان است. تشخیص زودرس و پس از آن بررسی میزان موفقیت یک روش درمانی از اهداف مهم در کنترل و مدیریت این بیماری

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-08-23]

می‌باشند. استفاده از بیو مارکرهای سرمی کمک شایانی در جهت نیل به این اهداف نموده است. در این راستا تاکنون بیو مارکرهای متعدد پروتئینی، گلیکوپروتئینی کشف و مورد بهره برداری قرار گرفته‌اند (۱). با این وجود، بسیاری از بیومارکرهایی که در حال حاضر مورد استفاده قرار می‌گیرند از حساسیت و اختصاصیت کافی برای کاربردهای بالینی برخوردار نیستند. علاوه بر آن دسترسی به نمونه سرطانی جهت ارزیابی پاتولوژیکی در بسیاری از سرطان‌ها از جمله سرطان سینه و ریه، نیازمند استفاده از روش‌های تهاجمی می‌باشند. از این رو تلاش‌های بسیاری جهت دستیابی به بیومارکرهای غیر تهاجمی جدید برای ارزیابی، غربالگری، طبقه بندی و پایش سرطان‌ها در حال انجام است (۱).

در سال‌های اخیر توجه محققان به استفاده از cfDNA به عنوان یک بیومارکر غیرتهاجمی جلب شده است (شکل ۲). بر اساس مطالعات انجام شده اولا میانگین غلظت cfDNA در پلاسمای بیماران سرطانی افزایش و به بیشتر از ۱۰ برابر افراد نرمال می‌رسد (۲). ثانیا بررسی‌های کیفی cfDNA از نظر موتاسیون در انکوژن‌ها و تومورساپرسورها، تغییر در میکروساتلیت‌ها و تغییرات اپی ژنتیکی مانند هایپرمتیلاسیون پروموتر نشان داده است که ویژگی‌های ژنتیکی و اپی ژنتیکی cfDNA، انعکاسی از ویژگی‌های ژنتیکی و اپی ژنتیکی DNA سلولی تومور است. این یافته‌ها از یک سو موید این مطلب است که cfDNA از بافت توموری منشا می‌گیرد و از سوی دیگر امکان استفاده از cfDNA به عنوان یک ابزار تشخیصی غیر تهاجمی سرطان را به اثبات می‌رساند (۱). با توجه به نکات گفته شده cfDNA می‌تواند از دو منظر تغییرات کمی و کیفی به عنوان بیومارکر سرطان مورد استفاده قرار گیرند.

نقش تغییرات کمی cfDNA به عنوان بیومارکر سرطان

به طور کلی مطالعات انجام شده غلظت بالاتری از cfDNA را در بیماران مبتلا به سرطان در مقایسه با گروه سالم گزارش کرده‌اند. این غلظت تحت تاثیر متغیرهای مرتبط همچون سایز تومور، stage بیماری، محل ایجاد تومور و فاکتورهای مرتبط با پیش آگهی بیماری می‌باشد و لذا اندازه گیری مقدار cfDNA از طریق روش‌های حساس مانند RT-PCR می‌تواند جهت بررسی شاخص‌های همانند سایز تومور، stage بیماری، محل ایجاد تومور و پیش آگهی بیماری مورد استفاده قرار گیرد (۳). در ادامه با ذکر برخی از مطالعات اخیر در مورد نقش تغییرات کمی cfDNA در تشخیص و پیگیری سرطان پرداخته می‌شود. در سرطان سلول غیر کوچک ریه نشان داده شده است که بیماران در مقایسه با افراد سالم دارای میزان بیشتری از cfDNA هستند و بعلاوه بین مقدار cfDNA و مرحله و درجه بیماری، درگیری گره‌های لنفاوی و متاستاز ارتباط وجود دارد (٤). همچنین در بیماران با سرطان معده نشان داده شده است که cfDNA بیومارکر مفیدی در پیگیری پیشرفت بیماری می‌باشد (۵). سرطان پانکراس از جمله خطرناک‌ترین و تهاجمی‌ترین سرطان‌ها است. در این بیماران سطح cfDNA با بقای بیمار ارتباط دارد به طوریکه میزان بالاتر از 62ng/ml از cfDNA با متاستاز و کوتاه شدن عمر بیمار همراه است (٦).

نقش تغییرات کیفی cfDNA در بیماران مبتلا به سرطان

الف- موتاسیون در انکوژن‌ها و ژن‌های متوقف کننده تومور

مطالعات اولیه هماهنگی بین موتاسیون در انکوژن‌ها و ژن‌های متوقف کننده تومور در DNA بافت توموری و cfDNA را مورد تایید قرار دادند. پس از آن مطالعات بسیاری جهت بررسی موتاسیون‌ها در cfDNA افراد مبتلا به انواع سرطان‌ها انجام شده و ارزش تشخیصی و پیش آگهی آن گزارش شد. بیشترین مطالعات در این زمینه در مورد موتاسیون ژن‌های k-ras و P53 در انواع سرطان‌ها شامل سرطان مثانه، سینه، کولون، ریه، کبد، پانکراس، اندومتر و تخمدان انجام شده است. نتایج این مطالعات درصد بالایی از هماهنگی بین موتاسیون این ژن‌ها را در بافت تومور و cfDNA نشان می‌دهند (۲). همچنین مطالعات مختلف ارزش اندازه گیری موتاسیون در ژن‌های مختلف را در نمونه cfDNA بیماران سرطانی جهت تعیین پیش آگهی، پایش پاسخ به درمان و مقاومت دارویی مورد ارزیابی قرار داده‌اند. به طور مثال، تعیین موتاسیون در ژن EGFR در

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-08-23]

نمونه پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان ریه به عنوان مارکری ارزشمند در پیش بینی پیشرفت بیماری، مقاومت دارویی و پیش بینی میزان بقاء بیماران گزارش شده است (۲). در یک مطالعه بر روی بیماران سرطان سلول غیر کوچک ریه نشان داده شده است که درجه بالایی از انطباق بین جهش گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR) در نمونه‌های بافتی و نمونه‌های cfDNA وجود دارد. از آنجائیکه داروی خط اول Gefitinib در بیماران دارای جهش در EGFR موثرتر است و به خوبی توسط بیمار تحمل می‌گردد لذا بررسی نمونه‌های cfDNA از لحاظ جهش EGFR در روند درمان این گروه از بیماران نقش تعیین کننده دارد (۷). با این حال مشکل اصلی در استفاده از موتاسیون به عنوان یک بیومارکر، فرکانس پایین بعضی از این جهش‌ها در بافت توموری است. همچنین حساسیت و اختصاصیت پایین بعضی از این جهش‌ها در تشخیص و تعیین پیش آگهی بیماری، استفاده از آن را به عنوان یک بیومارکر با مشکل مواجه ساخته است. بنابراین طراحی متدهایی که با دقت بالا بتوانند این جهش‌ها را تشخیص دهند یک نیاز اساسی به شمار می‌آید (۲).

ب- DNA integrity

همانطور که قبلا ذکر شد cfDNA از سلول‌های آپوپتوتیک و یا نکروتیک منشا می‌گیرند. شاخص DNA integrity به نسبت قطعات بزرگ‌تر DNA به قطعات کوچک‌تر گفته می‌شود که می‌تواند منبع cfDNA (آپوپتوز یا نکروز) را مشخص کند. از آنجایی که این قطعات در بیماران سرطانی سایز بزرگتری دارند، بنابراین در مطالعات مختلفی شاخص DNA integrity جهت تشخیص و تعیین پیش آگهی در انواع سرطان‌ها شامل سرطان سینه، مری، کولون و پروستات مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. این شاخص به عنوان مارکری جهت پیش بینی متاستاز به غدد لنفاوی قبل از عمل جراحی در بیماران مبتلا به سرطان سینه مطرح گردیده است که با فاکتورهایی همچون سایز تومور، مرحله بیماری و وضعیت رسپتورها مانند (Her2) همخوانی دارد. همچنین در بیماران مبتلا به سرطان نازوفارینکس که پس از رادیوتراپی شاخص integrity کمتری را نشان دادند، بقا بیشتری را نسبت به بیمارانی داشتند که این شاخص در آن‌ها بالاتر بود (۲). در یک مطالعه اخیر نشان داده شده است که DNA integrity در بیماران سرطان کولون بیش از افراد سالم است و این معیار می‌تواند با حساسیت ۷۱ درصد و اختصاصیت ۷۵ درصد سرطان کولون را تشخیص دهد (۸).

ج- تغییر در میکروستلایت‌ها

میکروستلایت‌ها مناطقی از کروموزوم هستند که شامل سکانس‌های DNA به طول ۶-۱ نوکلئوتید بوده و ۶۰-۱ بار به صورت پشت سر هم تکرار می‌شوند. تعداد موتیف‌های تکرار شده در آلل‌های مختلف متفاوت است. این تغییرات از طریق متدهایی همچون PCR و آنالیزهای پس از آن مانند الکتروفورز قابل تشخیص می‌باشد. تغییر در میکروستلایت‌ها شامل ناپایداری میکروستلایت‌ها (MSI)[1] و از دست دادن هتروزیگوسیتی (LOH)[2] می‌تواند به عنوان مارکری در DNA آزاد شده در سرم یا پلاسمای افراد مبتلا به سرطان مورد بررسی قرار گیرد. ناپایداری میکروستلایت‌ها که در اثر سیستم ترمیمی ناقص در سرطان‌ها ایجاد می‌شود و همچنین از دست دادن هتروزیگوسیتی که در آلل‌های مختلف در کروموزوم‌های خاص در انواع سرطان‌ها رخ می‌دهد در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته و ارزش تشخیصی و prognostic آن‌ها در بعضی از انواع سرطان‌ها شامل سرطان سینه، کولون، مثانه، سر و گردن، پانکراس و کلیه مورد تایید قرار گرفته است (۲).

د- تغییر در الگوی متیلاسیون ژن‌ها

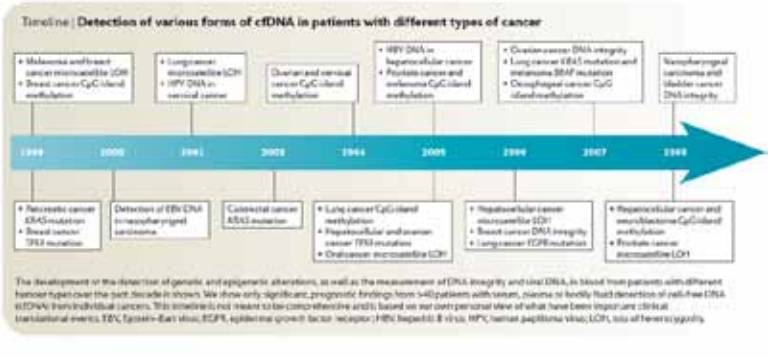
در میان تغییرات مولکولی و رخدادهای اپی ژنتیکی که در نئوپلازی‌های انسانی توصیف می‌شوند، تغییرات در متیلاسیون DNA یکی از رایج‌ترین آن‌ها است. در مراحل اولیه تومورزایی مناطقی از پروموتر تومورساپرسورها و ژن‌های مهم دیگر دچار هایپرمتیلاسیون می‌شوند. این فرآیند منجر به تغییر در رونویسی از ژن‌هایی می‌شود که مسیرهای سلولی منتهی به سرطان را تحت تاثیر قرار می‌دهند. بنابراین تشخیص چنین تغییراتی در نمونه cfDNA استخراج شده از سرم و یا پلاسمای بیماران سرطانی می‌تواند به عنوان ابزاری مناسب جهت تشخیص زودرس و پیشرفت بیماری

1. Microsatellite instability
2. Loss of heterozygosity

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-08-23]

مطرح باشد (۲).

متیلاسیون ژن‌های متعددی مانند APC، MGMT، P16، GSTP1 و RASSF1A در نمونه cfDNA بیماران مبتلا به انواع سرطان‌ها از جمله سرطان سینه، پروستات، ریه و مثانه مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. نتایج حاصل از این مطالعات حاکی از هماهنگی بین متیلاسیون این ژن‌ها در نمونه بافت تومور و cfDNA می‌باشند. همچنین ارزش تشخیصی این مارکرها در تعیین پیش آگهی و پاسخ به انواع رژیم‌های شیمی درمانی در این بیماران به اثبات رسیده است (۲).



شکل ۲: نتایج برخی از مطالعات کمی و بررسی‌های کیفی انجام شده بر روی cfDNA در برخی سرطان‌ها

کاربرد cfDNA در تشخیص غیر تهاجمی پیش از تولد (NIPD)[1]

تشخیص‌های متداول پیش از تولد بر پایه استفاده از تست‌های تشخیصی تهاجمی همچون نمونه گیری از پرزهای کوریونی (CVS)[2] و یا آمینوسنتز استوار است که می‌تواند خطر سقط جنین را افزایش دهد. در سال‌های اخیر مطالعات بسیاری بر کاربرد تست‌های تشخیص غیر تهاجمی در این زمینه متمرکز شده‌اند که بر پایه cfDNA آزاد شده از جنین به جریان خون مادر می‌باشد (۹). در حال حاضر NIPD در بسیاری از نقاط جهان به منظور تعیین جنسیت جنین به ویژه زمانی که ناقل اختلالات وابسته به X هستند مورد استفاده قرار می‌گیرد. کاربردهای دیگر NIPD شامل تشخیص اختلالات تک ژنی و ناهنجاری‌های کروموزومی در مطالعات متعددی در حال بررسی می‌باشند (۹).

کاربرد cfDNA در تعیین جنسیت جنین

تعیین جنسیت جنین با استفاده از cfDNA جنینی یکی از تست‌های تشخیص قبل از تولد است که به طور قابل اعتمادی از هفته هفتم بارداری با استفاده از Real-time quantitative PCR به منظور تعیین حضور و یا عدم حضور سکانس‌های مخصوص به کروموزوم Y در پلاسمای مادر قابل انجام است. بیشترین کاربرد کلینیکی در تعیین زودرس جنسیت جنین در ناقلین اختلالات ژنتیکی وابسته به X مانند دیستروفی عضلانی دوشن است. در زنانی که ناقل اختلالات وابسته به X هستند تعیین جنسیت جنین با استفاده از cfDNA جنینی می‌تواند لزوم استفاده از تست‌های تشخیص تهاجمی را آشکار سازد. در مواردی که جنسیت جنین، مذکر تشخیص داده می‌شود تشخیص قطعی اختلالات وابسته به X با استفاده از CVS در هفته یازدهم بارداری انجام می‌پذیرد. چنانچه جنسیت جنین، مونث باشد تست‌های تهاجمی مورد نیاز نمی‌باشد که این مسئله می‌تواند خطر سقط جنین را کاهش دهد (۹).

کاربرد cfDNA در تشخیص آنیوپلوئیدی (Anenplaidies)

تشخیص و غربالگری پیش از تولد به منظور تشخیص آنیوپلوئیدی جنین به صورت متداول برای تمام زنان باردار در انگلستان، آمریکا و بخش‌هایی از اروپا انجام می‌پذیرد. شایع‌ترین کاربرد این تست‌ها تشخیص تریزومی ۲۱، ۱۸ و ۱۳ می‌باشد (۱۰). در حال حاضر در بیشتر نقاط جهان تشخیص آنیوپلوئیدی جنین از طریق تجزیه و تحلیل مایع آمنیوتیک و پرزهای کوریونی صورت می‌پذیرد. در مطالعات

1. Non–Invasive prenatal diagnosis
2.Chorionic villus samping

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-08-23]

متعددی استفاده از روش‌های غیر تهاجمی و بر پایه بررسی cfDNA جنینی در پلاسمای مادر پیشنهاد گردیده است. اساس این روش‌ها در تشخیص تریزومی ۲۱، بررسی وجود و اندازه گیری تعداد کپی‌های توالی‌های خاصی از cfDNA مرتبط با کروموزوم ۲۱ در گردش خون مادران پر خطر و مقایسه آن با بارداری‌های طبیعی است. در صورت ابتلا جنین به تریزومی ۲۱، تعداد قطعات cfDNA مربوط به کروموزوم ۲۱ در خون مادرافزایش می‌یابد. از روش مشابهی در تشخیص تریزومی‌های ۱۸ و ۱۳ نیزاستفاده شده است (۱۱). همچنین در مطالعه دیگری که برروی زنان دارای جنین‌های مبتلا به آنیوپلوئیدی، نشان داده شده است که بررسی cfDNA موجود در مایع امنیوتیک از لحاظ توالی‌های تکراری کوتاه در کروموزوم ۲۱ به روش کمی PCR می‌تواند با حساسیت ۹۳ درصد و اختصاصیت ۱۰۰ آنیوپلوئیدی را تشخیص دهد (۱۲).

تشخیص ناهنجاری‌های تک ژنی

از جمله کاربردهای دیگر NIPD، تشخیص ناهنجاری‌های تک ژنی است. مطالعات اولیه در این زمینه تشخیص ناهنجاری‌های اتوزومال غالب که از طریق پدر و یا جهش‌های de novo به ارث می‌رسند را مورد ارزیابی قرار داده‌اند. اولین کاربرد cfDNA در تشخیص بیماری‌های اتوزومال غالب مربوط به بیماری دیستروفی میوتونیک می‌باشد. مطالعات بعدی تشخیص بیماری‌هایی همچون هانگتینتون و آکوندریاپلازی را با استفاده از cfDNA جنینی به اثبات رساندند (۱۳).

کاربرد cfDNA دربررسی بیماری‌های اتوایمیون

برای سال‌های متمادی سنجش میزان cfDNA در بیماری‌های خود ایمنی مانند آرتریت روماتوئید، لوپوس اریتماتوز سیستمیک[1](SLE)، اسکلروزیس سیستمیک[2](SS) و سندرم شوگرن (دومین بیماری خود ایمنی روماتیسمی شایع پس از آرتریت روماتوئید) کانون توجه بسیاری از مطالعات بوده است. در حال حاضر، ساختارهای DNA که مورد هدف اتوآنتی بادی‌ها قرار می‌گیرند و کمپلکس‌های DNA -آنتی بادی در جریان خون به عنوان یکی از ویژگی‌های عمده SLE به شمار می‌روند. درطی پنجاه سال گذشته تحقیقات در مورد تغییر در سطح DNA آزاد شده در پلاسما در بیماران مبتلا به SLE و ارتباط آن با شدت بیماری، هدف بسیاری از مطالعات بوده است. بر اساس نتایج بسیاری از این مطالعات اندازه گیری سطح cfDNA به عنوان ابزاری ارزان، ساده و سریع برای بررسی شدت بیماری در این بیماران مطرح می‌باشد (۱۶-۱۴).

در مطالعات انجام شده در مورد آرتریت روماتوئید، غلظت بالاتری از cfDNA در پلاسما و مایع مفصلی در بیماران نسبت به افراد سالم گزارش شده است به طوریکه شدت این افزایش غلظت مرتبط با شدت علائم بیماری و آسیب بافتی می‌باشد (۱۷). همچنین مطالعات انجام شده حاکی از تفاوت سطح cfDNA در بیماران مبتلا به نوع فعال و غیر فعال بیماری اسکلروزیس سیستمیک می‌باشد (۱۸).

از جمله کاربردهای مهم cfDNA در بیماری‌های خود ایمنی، تعیین الگوی DNA از طریق الکتروفورز cfDNA استخراج شده از این بیماران می‌باشد. از آنجائیکه الگوی DNA در بیماران مبتلا به SLE، SS متفاوت و منحصر به هر یک از این اختلالات می‌باشد، بنابراین تشخیص این تفاوت در الگوی DNA می‌تواند درک بهتری از پاتوفیزیولوژی این اختلالات فراهم آورد. به نظر می‌رسد که اندازه گیری cfDNA به عنوان ابزاری مفید و دقیق در روش‌های تشخیصی- در مقایسه با مارکرهای پروتئینی- در بیماری‌های اتوایمیون مطرح باشد (۱۹).

کاربرد cfDNA درتشخیص انفارکتوس میوکارد و سکته مغزی حاد

افزایش سطح cfDNA خون نشانه مرگ سلولی در اثر آسیب بافتی و یا واکنش‌های التهابی می‌باشد. از آنجایی که انفارکتوس میوکارد حاد[3](AMI) از طریق نکروز و آپوپتوز سلول‌های میوسیت رخ دهد، محققان فرضیه افزایش سطح cfDNA را در خون این بیماران مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از

1. systemic lupus erythematosus
2. systemic sclerosis
3. acute myocardial infarction

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-08-23]

این مطالعات نشان می‌دهد که سطح cfDNA در این بیماران به طور معناداری در مقایسه با افراد سالم بالاتر می‌باشد (۲۱-۲۰). همچنین نتایج این مطالعات حاکی از ارتباط بین سطح cfDNA و مارکرهای بیوشیمیایی متعارف مانند کراتین کیناز (CK) و تروپونین می‌باشد. به نظر می‌رسد که اندازه گیری cfDNA همراه با این مارکرهای بیوشیمیایی متعارف از ارزش تشخیصی بالایی در این بیماران برخوردار باشد.

برخلاف MI، که تعدادی از مارکرهای بیوشیمیایی روتین در تشخیص آن به کار گرفته می‌شود، در مورد سکته‌های مغزی حاد چنین مارکرهای شناخته شده‌ای در بررسی‌های بالینی وجود ندارد. از آنجایی که پاتوفیزیولوژی سکته مغزی شامل مرگ سلولی و اختلال در سدخونی- مغزی می‌باشد، محققان سطح cfDNA را در پلاسمای بیماران مبتلا به سکته مغزی حاد مورد ارزیابی قرار دادند. نمونه‌های جمع آوری شده در طی ۲٤ ساعت پس از بروز علائم مورد بررسی قرار گرفته و نتایج بدست آمده حاکی از ارتباط بین غلظت cfDNA در پلاسمای این بیماری و شدت سکته می‌باشد. همچنین غلظت cfDNA به عنوان یک مارکر پیش بینی کننده میزان مرگ و میر در بیمارانی که هیچ تغییر قابل مشاهده‌ای در تصویرداری‌های نورولوژیکی آن‌ها به چشم نمی‌خورد، مطرح است (۲۲).

کاربرد cfDNA در بررسی پیوند اعضا

در مطالعات مختلف حضور DNA فرد اهداء کننده عضو در cfDNA بیماران پذیرنده کبد، قلب و کلیه نشان داده شده است. پیوند کلیه مناسب‌ترین و در عین حال پر هزینه‌ترین روش درمانی برای بیماران مبتلا به اختلالات مزمن غیر قابل برگشت کلیه می‌باشد. دلایل پزشکی اختلالات اولیه پیوند شامل رد پیوند حاد، نکروزتوبولی، سمیت دارویی و عفونت پس از پیوند می‌باشد. از آنجایی که درمان بسیاری از این شرایط پاتولوژیک مشکل بوده و اشتباهات درمانی می‌تواند خطرات بالقوه‌ای را برای فرد پذیرنده عضو در پی داشته باشد، بنابراین تشخیص زودرس و مناسب این شرایط از اهمیت به سزایی برخوردار است (۲۳). با توجه به اینکه در پیوند کلیه پیش‌بینی نتایج حاصل از پیوند مشکل می‌باشد، محققان نوکلئیک اسیدهای فرد اهداء کننده عضو را به عنوان یک بیومارکر بالقوه در رد پیوند مطرح کرده‌اند. از روش‌های اولیه در این زمینه ردیابی کروموزوم Y در نمونه‌های ادرار زنان دریافت کننده کلیه از مردان اهداء کننده می‌باشد. نتایج حاصل از این مطالعات نشان می‌دهد که cfDNA مردان اهداء کننده در نمونه ادرار زنان دریافت کننده کلیه تا حد زیادی با رد پیوند حاد مرتبط بوده و می‌تواند به عنوان یک بیومارکر مکمل در تشخیص قبول یا رد پیوند در بیماران پذیرنده عضو مطرح بوده و همچنین در بهبود درمان‌های ایمنوساپرسیو و کاربرد انتخابی بیوپسی کلیه کمک کننده باشد (۲٤). در مورد پیوند کبد ارزیابی سلامت عضو پیوندی از اهمیت بالایی برخوردار است.

امروزه اندازه گیری cfDNA مربوط به گرافت که در خون فرد پذیرنده ظاهر می‌گردد به عنوان یک بیومارکر خوب در ارزیابی سلامت عضو پیوند زده شده مطرح شده است. ژن SRY ژنی موجود بر روی کروموزوم Y در مردان است. در مطالعه‌ای که اخیرا بر روی بیماران دریافت کننده پیوند کبد انجام گرفته است نشان داده شده است که در زنانی که از یک مرد کبد پیوندی دریافت می‌کنند اندازه گیری میزان ژن SRY در نمونه‌های cfDNA فرد دریافت کننده پیوند می‌تواند به عنوان یک مارکر اختصاصی جهت بررسی سلامت عضو پیوندی مورد استفاده قرار گیرد و می‌تواند جایگزین بیوپسی کبد گردد (۲۵).

بحث و نتیجه گیری

کشف cell-free DNA به عنوان یک بیومارکر نوظهور رویکردهای جدیدی را در تشخیص و درمان بیماری‌ها و شرایط پاتولوژیکی همچون انواع سرطان‌ها، تشخیص پیش از تولد، بیماری‌های خودایمنی، بیماری‌های قلبی- عروقی و پیوند اعضاء عرضه کرده است. با وجود اینکه بسیاری از مطالعات اهمیت cfDNA را به عنوان یک بیومارکر غیرتهاجمی که قادر به مرتفع ساختن بسیاری از مشکلات اساسی در روش‌های تشخیصی و درمانی است، به روشنی به اثبات رسانده‌اند، اما همچنان پیشرفت‌های بیشتر در تکنولوژی به منظور افزایش حساسیت و اختصاصیت بیشتر تست‌های مربوطه یک نیاز اساسی به شمار می‌رود. امید است در آینده‌ای نزدیک این بیومارکر غیر تهاجمی نوین بتواند با پتانسیل‌های بالقوه خود تحولی را در زمینه تشخیص و درمان بیماری‌ها ایجاد کند.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-08-23]

References

1- Gonzalez-Masia JA, Garcia-Olmo D, Garcia-Olomo DC. Circulating nucleic acids in plasma and serum (CNAPS): applications in oncology. OncoTarget and Therapy. 2013;6: 819-832.

2- Jung K, Fleshhacker M, Rabien A. Cell-free DNA in the blood as a solid tumor biomarkers –A critical appraisal of the literature. Clinical Chemiaca Acta. 2010; 411: 161116

3- Corina K, Barekati Z, Radpour R and YanN Zhong X. Cell-free DNA in the Circulation as a Potential Cancer Biomarker. Anticancer Research. 2011; 31: 2623-2628.

4- Hamakawa T, Kukita Y, Kurokawa Y, Miyazaki Y, Takahashi T, Yamasaki M, Miyata H, Nakajima K, Taniguchi K, Takiguchi S, Mori M, Doki Y, Kato K. Monitoring gastric cancer progression with circulating tumour DNA. Br J Cancer. 2015; 20: 352-6.

5- Nie K, Jia Y, Zhang X. Cell-free circulating tumor DNA in plasma/serum of non-small cell lung cancer. Tumour Biol. 2015; 36: 7-19.

6- Singh N, Gupta S, Pandey RM, Chauhan SS, Saraya A. High levels of cell-free circulating nucleic acids in pancreatic cancer are associated with vascular encasement, metastasis and poor survival. Cancer Invest. 2015; 33: 78-85.

7- Douillard JY, Ostoros G, Cobo M, Ciuleanu T, Cole R, McWalter G, Walker J, Dearden S, Webster A, Milenkova T, McCormack R. Gefitinib treatment in EGFR mutated caucasian NSCLC: circulating-free tumor DNA as a surrogate for determination of EGFR status. J Thorac Oncol. 2014 ; 9: 1345-53.

8- Leszinski G, Lehner J, Gezer U, Holdenrieder S. Increased DNA integrity in colorectal cancer. In Vivo. 2014 ; 28: 299-303.

9- Hill M, Barrett NA, White H and Chitty SL. Uses of cell free fetal DNA in maternal circulation. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2012; 26: 639–654.

10- Driscoll D & Gross S. Clinical practice. Prenatal screening for aneuploidy. N Engl J Med 2009; 360: 2556–2562.

11- Gekas J, Langlois S, Ravitsky V, Audibert F, van den Berg DG, Haidar H, Rousseau F. Identification of trisomy 18, trisomy 13, and Down syndrome from maternal plasma. Appl Clin Genet. 2014 ; 7: 127-31.

12-Wu D, Chi H, Shao M, Wu Y, Jin H, Wu B, Qiao J. Prenatal diagnosis of Down syndrome using cell-free fetal DNA in amniotic fluid by quantitative fluorescent polymersase chain reaction. Chin Med J (Engl). 2014; 127: 1897-901.

13- Saito H, Sekizawa A, Morimoto T et al. Prenatal DNA diagnosis of a single-gene disorder from maternal plasma. Lancet. 2000; 356: 1170.

14- van den Oever JM, Bijlsma EK, Feenstra I, Muntjewerff N, Mathijssen IB, Bakker E, van Belzen MJ, Boon EM. Noninvasive prenatal diagnosis of Huntington disease: detection of the paternally inherited expanded CAG repeat in maternal plasma. Prenat Diagn. 2015 ; 12.

15- Atamaniuk J, Hsiak YY, Mustak M, Bernhar, Erlacher L, Fodinger M. Analysing cell-free plasma DNA and SLE disease activity. Eur J Clin Invest 2011;41: 579-83

16- Barteloni E, Ludovini V, Alunno A, Pistola L, Bistoni O, Crino L, et al. Increased levels of circulating DNA in patients with systemic autoimmune diseases: A possible marker of disease activity in Sjogren· s syndrome. Lupus 2011;20: 928-35.

17-Tug S, Helmig S, Menke J, Zahn D, Kubiak T, Schwarting A, Simon P. Correlation between cell free DNA levels and medical evaluation of disease progression in systemic lupus erythematosus patients. Cell Immunol. 2014;292: 32-9.

18- Mosca M, Giuliano T, Cuomo G, Doveri M, Tani C, Curcio M, et al. Cell-free DNA in the plasma of patients with systemic sclerosis. Clin Rheumatol 2009;28: 1437-407.

19- Salamunic I. Laboratory diagnosis of autoimmune diseases – new technologies, old dilemmas. Biochem Med 2010;20: 45–5664.

20- Lou X, Hou Y, Liang D, Peng L, Chen H, Ma S, Zhang L. A novel Alu-based real-time PCR method for the quantitative detection of plasma circulating cell-free DNA: sensitivity and specificity for the diagnosis of myocardial infarction. Int J Mol Med. 2015;35: 72-80.

21- Destouni A, Vrettou C, Antonatos D, Chouliaras G, Traeger-Synodinos J, Patsilinakos S, et al. Cell-free DNA levels in acute myocardial infarction patients during hospitalization. Acta Cardiol 2009;64: 51-7.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-08-23]

22- Lam NY, Rainer TH, Wong LK, Lam W, Lo YM. Plasma DNA as a prognostic marker for stroke patients with negative neuroimaging within the first 24 h of symptom onset. Resuscitation 2006;68: 71-8.

23- Garcia Moreira V, Prieto Garcia B, Baltar Martin JM, Ortega Suarez F, Alvarez FV. Cell-Free DNA as a Noninvasive Acute Rejection Marker in Renal Transplantation. Clin Chem 2009;55: 1958-66.

24- Wanger J. free DNA-new potential analyte in clinical laboratory diagnosis؟ Biochemica Medica. 2012;22: 24-38

25- Macher HC, Suárez-Artacho G, Guerrero JM, Gómez-Bravo MA, Álvarez-Gómez S, Bernal-Bellido C, Dominguez-Pascual I, Rubio A. Monitoring of transplanted liver health by quantification of organ-specific genomic marker in circulating DNA from receptor. PLoS One. 2014; 9: (12)

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-08-23]