کاربردهای آنالیز بیومارکرهای مولکولی در خون مبتلایان به سرطان

● دکتر شهرام نعمتی
دکتری علوم آزمایشگاهی، دکتری تخصصی (Ph.D) ژنتیک پزشکی
shahnemati@yahoo.com

چکیده

امروزه استفاده از آنالیز مولکولی مایعات یا بیوپسی مایعات[1] در بیماران سرطانی به اشکال متفاوت و در مراحل مختلف بیماری، به طور گسترده‌ای در حال توسعه می‌باشد. استفاده از روش‌هایی که دارای اعتبار تکنیکی[2] و بالینی[3] بوده و می‌توان از آن‌ها به جهت تعیین مسیر درمانی استفاده گردد[4]، در مراحل پیشرفته بیماری[5] مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از آنالیزهای مبتنی بر بافت[6] علیرغم محدویت های ذاتی از جمله تهاجمی بودن و محدویت های فضایی،[7] در بسیاری از سرطان‌ها همچنان یک روش استاندارد و مرجع می‌باشد. با این حال در مواقعی که امکان انجام بیوپسی وجود نداشته و یا نمونه با کیفیت مناسب تهیه نشده و همچنین در مواردی که تعیین پروفایل مولکولی بیماری در کوتاه‌ترین زمان نقش بسیار مهمی را در فرآیند درمان بیماری به خود اختصاص دهد، استفاده از آنالیز مایعات با رویکرد و تمرکز بر ارزیابی DNA توموری در گردش[8] در مراجع انکولوژی همچون ESMO[9] و NCCN[10] توصیه شده است. در این مقاله با مروری بر کاربردهای DNA در گردش به بررسی نقطه نظرات و توصیه‌های مرتبط انجمن سرطان بالینی اروپا خواهیم پرداخت.

کلمات کلیدی: بیوپسی مایعات، DNA توموری در گردش

مقدمه

آنالیز مایعات مبتنی بر بررسی و ارزیابی اجزاء آزاد شده از توده‌های سرطانی مشتمل بر DNA توموری در گردش، سلول‌های سرطانی در گردش[11]، اگزوزوم ها[12] و سایر موارد می‌باشد. لازم به ذکر است که علاوه بر خون از مایع مغزی - نخاعی، بزاق و ادرار نیز به جهت بررسی استفاده می‌گردد. با این حال غالباً مطالعات بر روی نمونه‌های خونی انجام شده و تمرکز این مقاله نیز بر روی DNA آزاد در جریان خون می‌باشد.

1- Liquid Biopsy
2- Analytical validity
3- Clinical Validity
4- Clinical Utility
5- Advanced Disease
6- Tissue-based Analysis
7- Spatial
8- Circulating Tumor DNA (ctDNA)
9- European Society of Medical Oncology(ESMO)
10- National Comprehensive Cancer Network
11- Circulating Tumor Cells (CTC)
12- Exosomes

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-03]

DNA آزاد در جریان خون

در افراد سالم منشأ DNA موجود در جریان خون به طور عمده از سلول‌های رده‌های خونساز[13] بوده (۱،۲) که می‌توانند از مقادیر غیر قابل اندازه گیری تا ۱۰۰ نانوگرم بر میلی لیتر متغیر باشد. محتوای سلولی با مکانیسم‌های مختلف همچون آپوپتوز و نکروز وارد جریان خون می‌شوند. در بیماران سرطانی بخشی از این DNA آزاد جریان خون (حدود ۰/۰۱ درصد) مربوط به سلول‌های سرطانی می‌باشد[14] که میزان آن به اندازه توده توموری، وسعت بیماری، میزان تکثیر و مرگ سلولی، جایگاه تومور، وسعت نکروز و التهاب مرتبط بوده که بایستی به هنگام درخواست و تفسیر تست‌های آزمایشگاهی مورد نظر قرار گیرند. در مبتلایان به سرطان، ctDNA نیز به طور عمده با مکانیزم آپوپتوز و نکروز از سلول‌های توده سرطانی مشتق شده و وارد جریان خون می‌شوند با این حال بخشی از آن نیز به شکل فعال از سلول‌های توده سرطانی آزاد شده و بخشی دیگر از CTC ها منشأ می‌گیرند. (۳)

به لحاظ تئوری DNA توموری آزاد در جریان خون مشتمل از مجموعه ناهمگنی[15] است که از ساب کلون‌های[16] سلول‌های توده سرطانی (اولیه و متاستاتیک)، که در طی فرآیند تکامل ایجاد شده‌اند، مشتق گردیده است. بنابراین در قیاس با مطالعات مبتنی بر بافت می‌تواند تصویر دقیق‌تری از پروفایل مولکولی توده سرطانی را در زمان واقعی فراهم سازد. لازم به ذکر است به واسطه اندازه، مارکرهای اپی ژنتیکی (مانند الگوی متیلاسیون DNA) و سایر شاخص‌ها، می‌توان علاوه بر تشخیص DNA توموری، منشأ بافتی آن را نیز شناسایی نمود.

نیمه عمر DNA آزاد جریان خون کوتاه بوده و مطالعات حاکی از وجود دو فاز سریع (که در مدت ۱۰ دقیقه تا یک ساعت اول به طول می‌انجامد) و آهسته (با نیمه عمر ۱۳ ساعت) در فرآیند برداشت آن از جریان خون دخیل می‌باشند. محل اصلی برداشت DNA به طور عمده در کبد می‌باشد. (۴) از طرف دیگر نیمه عمر ctDNA در خون کمتر از ۲ ساعت می‌باشد.

آنالیز ctDNA به جهت یافتن انواع مختلف جهش‌ها مشتمل بر جهش‌های تک نوکلئوتیدی، حذف‌ها، نوترکیبی‌ها، تکرارها و سایر موارد می‌باشد. برای این منظور از روش‌های متفاوتی مبتنی بر PCR استفاده می‌شود. از مهم‌ترین این روش‌ها می‌توان به Real-Time PCR،Droplet Digital PCR و NGS[17] اشاره نمود. در مقایسه با روش رایج بیوپسی، این روش‌ها دارای تفاوت‌هایی به شرح ذیل می‌باشند.

روش بیوپسی

۱- تهاجمی می‌باشد. ۲- امکان انجام آن در همه موارد به دلیل عدم دسترسی به تومور اولیه و یا کانون‌های متاستاتیک، ممکن نیست. ۳- کیفیت نامناسب نمونه اخذ شده می‌تواند باعث ایجاد خطا در نتیجه آزمایش گردد. ۴- نمونه اخذ شده از توده تنها مربوط به یک ناحیه از تومور و در یک زمان معین می‌باشد. در حالی که سلول‌های بافت توموری شدیداً ناهمگن بوده و با گذشت زمان پروفایل مولکولی آن‌ها تغییر می‌یابد. (۵) ۶- در مواردی که نیاز به جواب فوری می‌باشد، انتخاب این روش مناسب نبوده و حتی می‌تواند باعث محدودیت در انتخاب مسیر درمانی گردد. (۶)

روش آنالیز ctDNA

۱- به راحتی و به دفعات می‌توان از آن برای همه توده‌های سرطانی (به جز مواردی معدود) استفاده نمود. ۲- تصویری

13- Haematopoietic Lineage
14- ctDNA fraction
15- Heterogeneous
16- subcloes
17- Next Generation Sequencing

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-03]

از اثرهای مولکولی[18] توده‌های اولیه و متاستاتیک در زمان واقعی و بدون محدویت های مکانی فراهم می‌سازد . ۳- در مواقعی که نیازمند پاسخ سریع باشیم تنها امکان، بررسی پروفایل ژنومی خواهد بود.

نکته مهم در تفسیر نتایج آنالیز در نظر گرفتن موارد منفی و مثبت کاذب می‌باشد، که در ادامه به آن‌ها اشاره می‌گردد.

❑ ۱- موارد منفی کاذب

در مواردی به دلیل کم بودن سهم ctDNA[19] در خون و یا حساسیت پایین روش‌های مورد استفاده، نتیجه آنالیز منفی اعلام می‌گردد. میزان ctDNA در خون محیطی به مرحله بیماری و اندازه تومور مرتبط می‌باشد. (۷،۸) برای مثال در NSCLC[20] میزان DNA توموری در جریان خون در انواعی با هیستولوژی اسکوآموس بیش از موارد آدنوما کارسینوما می‌باشد. مضافاً اشکالی از بیماری با میزان بالای تکثیر سلولی و نکروز بالا حاوی مقادیر بیشتری از DNA توموری در جریان خون می‌باشد. علاوه بر این جایگاه آناتومیکی تومور نیز در این خصوص تعین کننده می‌باشد. تومورهای مغزی حاوی مقادیر کمتر از DNA توموری در جریان خون می‌باشند.

❑ ۲- موارد مثبت کاذب

در حالت طبیعی DNA آزاد خون محیطی از سلول‌های خونساز[21] طی فرآیند آپوپتوز آزاد شده و وارد جریان خون می‌شود. (۹) فراوانی جهش‌های موجود در DNA گلبول‌های سفید خون با گذشت زمان تغییر نموده و وابسته به سن و شیوه زندگی افراد همچون استعمال دخانیات متفاوت می‌باشد. به این جهش‌ها جهش‌های کلونال با اثرات نامعلوم یا CHIP[22] گفته می‌شود. جهش‌ها در ژن‌های این گروه در بخشی با جهش‌های ژن‌های پیش برنده تومورهای سخت[23] همپوشانی دارند. لذا می‌توان چنین در نظر گرفت که وجود چنین جهش‌هایی در DNA گلبول‌های سفید خون محیطی می‌توانند منجر به نتایج مثبت کاذب در آنالیز ctDNA بعضی از سرطان‌ها همچون پروستات، سینه و ریه که دارای جهش‌های همپوشان با CHIP می‌باشند، گردند. (۱۰) البته در این گونه موارد با تعیین توالی همزمان DNA گلبول‌های سفید خون محیطی می‌توان میزان موارد مثبت کاذب را به حداقل تقلیل داد. مقالات جدید فهرستی از ژن‌هایی که در قالب CHIP قرار می‌گیرند را معرفی نموده‌اند. (۱۱) با این حال بایستی توجه نمود که بسیاری از جهش‌های پیشرو در سرطان‌ها به شکل اختصاصی بوده و مختص به بافت می‌باشند. مثلاً جهش‌های ژن‌های VHL، SPOP، EGFR، PIK3CA که به ترتیب در سرطان کلیه، پروستات، ریه و سینه گزارش شده در فهرست ژن‌های CHIP قرار نمی‌گیرند. در حالی که این احتمال هر چند به میزان کم در مورد جهش‌های ژن KRAS که در سرطان‌های ریه و کولورکتال گزارش شده و در فهرست ژن‌های CHIP نیز با فروانی کمتر قرار دارد، وجود داشته که می‌تواند باعث ایجاد نتایج مثبت کاذب گردد. لذا به هر میزان که فراوانی جهش‌های مورد ارزیابی در ctDNA در ژن‌های CHIP بالاتر باشد احتمال مثبت کاذب بودن نیز بیشتر می‌شود که در این گونه موارد با انجام آنالیز همزمان ctDNA و گلبول‌های سفید و یا سایر روش‌ها می‌توان تا حد زیادی منشأ DNA را تعیین نمود.

❑ کاربردهای بالینی ارزیابی ctDNA

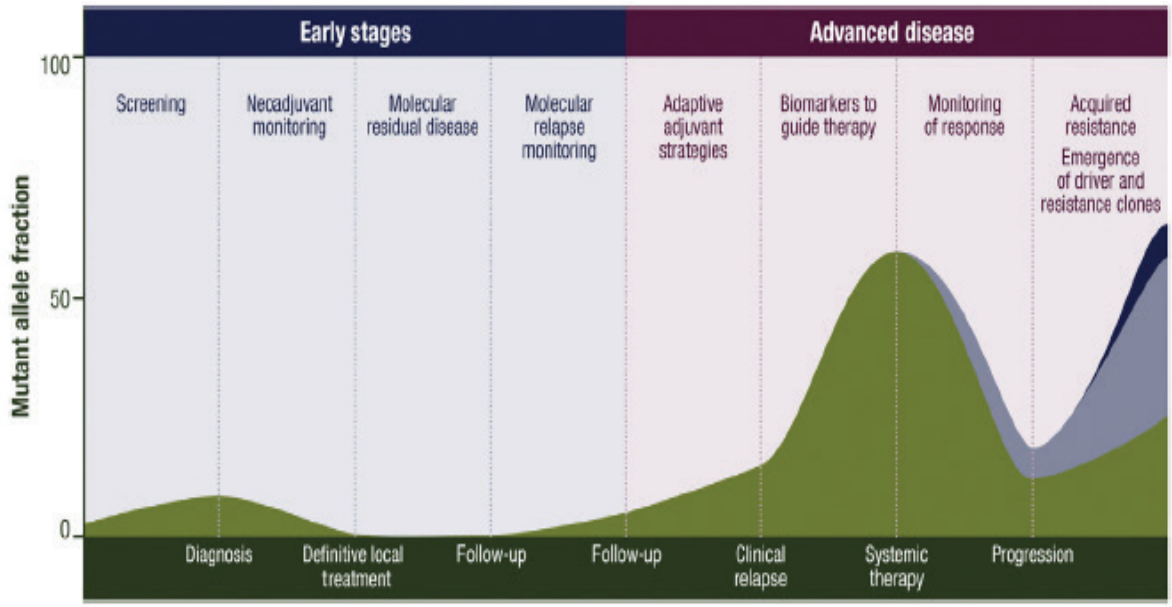
از ارزیابی ctDNA می‌توان به شکل بالقوه در مراحل

18- Molecular Signatures
19- ctDNA Fraction
20- Non Small Cell Lung Cancer
21- Haematopoietic Cells
22- Clonal Haematopoiesis of Indeterminate Potential
23- Solid tumour driver Genes

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-03]

متفاوت سیر بیماری سرطان مشتمل بر تشخیص اولیه، شناسایی MRD[24]، تعیین MR[25]، تعیین موتاسیون های سرطان‌های پیشرفته، ارزیابی پاسخ به درمان و بررسی ظهور مقاومت به درمان استفاده نمود. (۱۲) (شکل ۱). مطالعات حاکی از آن است که اندازه گیری مقادیر کمی ctDNA قبل از درمان و مقایسه آن پس از درمان می‌تواند در ارزیابی اثر بخش بودن روش درمانی انتخاب شده مؤثر باشد. برای مثال کاهش معنی دار میزان ctDNA در مبتلایان به اشکال NSCLC[26] سرطان ریه که تحت درمان با ایمونوتراپی قرار گرفته‌اند موید اثر بخشی این روش خواهد بود لذا از این بیومارکر مولکولی (ctDNA) می‌توان بالقوه به جهت پیش بینی روش درمانی[27] و هچنین پیش آگهی[28] بیماری استفاده نمود.

شکل ۱. کاربردهای بالینی ctDNA در مراحل مختلف بیماری سرطان و مقادیر پیش بینی شده DNA برگرفته از مرجع شماره ۱۲ همین مقاله



24-Molecular Residual Disease
25-Molecular Relaps
26-Non Small Cell Lung Cancer
27-Prediction
28-Prognostication

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-03]

کاربرد آنالیز بیومارکرهای مولکولی در بالین

۱- تعیین جهش‌ها در انواع پیشرفته سرطان

از آنجایی که نیروی محرکه رشد و تکامل سلول‌های سرطانی مبتنی بر کسب قابلیت‌های مرتبط با تکثیر و بقا سلول بوده که خود نیز وابسته به جهش‌های پیش برنده[۲۹]می‌باشند، شناسایی این نوع از جهش‌ها که بتوان بر اساس آن درمان هدفمند را تعیین نمود[۳۰] اساس پزشکی فرد محور را تشکیل می‌دهد.

مطالعات آینده نگر و گذشته نگر بسیاری حاکی از همخوانی آنالیز ctDNA با آنالیز DNA بافت توموری با PPV[۳۱] و اختصاصیت بالا (۹۹-۹۵درصد) در سرطان‌های پیشرفته می‌باشد. (۱۳،۱۴) علاوه بر این مطالعات آینده نگر بسیاری نیز حاکی از صحت بالای آنالیز ctDNA در قیاس با روش‌های مبتنی بر بیوپسی بافتی در ارزیابی جهش‌های تک نوکلئوتیدی[۳۲]سرطان‌های دستگاه گوارش (۱۵)، سینه (۱۶) و ریه (۱۳) می‌باشد. هر چند که اغلب داروی های هدفمند بر اساس بررسی‌های مبتنی بر بیوپسی بافتی طراحی شده است چنانچه اشاره شد به دلیل PPV بالای آنالیزهای ctDNA، می‌توان از کاربرد بالینی[۳۳] این روش‌ها نیز اطمینان حاصل نموده و از یافته‌های آن‌ها در مسیر درمان استفاده نمود.

از طرف دیگر اعتبار بالینی[۳۴] آزمایش‌های ctDNA برای تعیین پروفایل مولکولی سرطان‌های پیشرفته در سطح مطلوبی قرار داشته و از آن‌ها می‌توان در بالین و به شکل روتین، با در نظر گرفتن محدودیت‌های روش، استفاده نمود. بر اساس مستندات علمی چنین می‌توان در نظر گرفت که از کلیه روش‌هایی که دارای اعتبار بالینی (اختصاصیت و حساسیت بالینی[۳۵]) بوده می‌توان به شکل روتین در خصوص جهش‌هایی پیشرو که در گروه یک مقیاس ESCAT[۳۶] قرار می‌گیرند به جهت هدایت درمان استفاده نمود. (۱۷) (شکل ۱).

در این جدول به شرح انواع سرطان‌ها و جهش‌هایی که می‌توانند بر سیر بیماری تأثیر داشته و همچنین توصیه‌های مرتبط با انجمن انکولوژی پزشکی اروپا (ESMO) اشاره شده است. علاوه بر این جایگاه جهش‌ها در مقیاس ESCAT نیز تعیین شده است. در این مقیاس بیومارکرهای مورد ارزیابی شده بر اساس نفع بالینی و اهمیتشان در درمان طبقه بندی می‌شوند به طوریکه Tier یا ردیف IA در بالاترین و ردیف VI در نازل‌ترین جایگاه قرار می‌گیرد. همانطوری که در شکل ۱ دیده می‌شود استفاده از روش آنالیز مایعات تنها برای آن دسته از بیومارکرهای مولکولی (ctDNA) توصیه شده که در ردیف I قرار می‌گیرند. به عبارت دیگر ارزیابی و سنجش آن‌ها برای بیمار نفع بالینی به دنبال داشته باشد.

در ادامه بر اساس شکل ۲ به شرح بعضی از این مارکرها خواهیم پرداخت.

۱- سرطان ریه: در حال حاضر در گایدلاین هایی همچون ESMO به انجام ژنوتایپینگ تمامی موارد سرطان متاستاتیک NSCLC ریه با هیستولوژی سنگفرشی[۳۷] (با شرایط خاص بالینی همچون مواردی که هرگز دخانیات استعمال نمی‌کنند) و غیر سنگفرشی توصیه شده است. استفاده از آنالیز ctDNA در بیمارانی که در ابتدای مرحله درمانی قرار گرفته‌اند[۳۸] به خصوص زمانی که انجام تکنیک بیوپسی در بیمار پرخطر بوده و یا تهیه آن با تأخیر همراه می‌شود، توصیه شده است. لذا از این تکنیک می‌توان به

29- Driver Mutations
30- Druggable mutations
31- Positive Predictive Value
32- Single Nucleotide Variant
33- Clinical Utility
34- Clinical Validity
35- Clinical Sensitivity &Specificity
36- ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets
37- Squamous
38- Treartment-Naïve Patients

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-03]

عنوان روش تکمیلی و جایگزین استفاده نمود.

۲- سرطان سینه: انجام آزمایش‌های PIC3CA و ESR1 در بیمارانی که ER مثبت HER2 منفی می‌باشند توصیه شده است. ارزیابی HER2 با روش ctDNA به جهت ارزیابی آمپیلیفیکاسیون زمانی که انجام آن از طریق بیوپسی ممکن نباشد توصیه می‌شود. تعیین جهش‌های ESR1 از طریق آنالیز مایعات حساس‌تر از روش بیوپسی بافت می‌باشد. بررسی جهش‌های BRCA1/2 در ctDNA توصیه شده و در مواردی که نتیجه منفی باشد، به دلیل اهمیت این جهش‌ها در روند درمان، آزمایش بایستی بر روی جرم لاین[39] (ماده ژنتیکی که در همه سلول‌ها مشترک بوده و به راحتی می‌توان از هسته گلبول‌های سفید خون استخراج نمود) انجام شود.

۳- سرطان‌های بخش فوقانی دستگاه گوارش: با توجه به شیوع و امکان درمانی موجود انجام آنالیز مایعات ERBB2 در سرطان معده و LDH1 و FGFR2 در کلانژیوکارسینوما[40] در مواقعی که امکان انجام بیوپسی نبوده و نیاز به تشخیص سریع می‌باشد، توصیه می‌شود.

۴- سرطان کولورکتال: انجام اولیه آنالیز مایعات برای جهش‌های KRAS/NRAS/BRAFV600E/MSI در مواقعی که امکان انجام بیوپسی وجود نداشته و یا نیاز به تشخیص سریع باشد، توصیه می‌شود.

❑ توصیه‌های انجمن انکولوژی اروپا (ESMO) در خصوص انجام آنالیز مایعات برای سرطان‌های پیشرفته

۱- با توجه به تأثیر گذاری نتایج آنالیز مایعات در درمان، ممکن است از این تکنیک با روش‌های معتبر (اعتبار بالینی و آنالیتیکی) در بالین استفاده گردد. البته محدودیت‌های آن نیز بایستی در نظر گرفته شود.

۲- با توجه به سرعت روش آنالیز مایعات و عدم نیاز این روش به مداخلات تصویر برداری، استفاده از این روش به عنوان روش جایگزین بیوپسی بافت در مواردی که نیاز به تشخیص سریع بوده، همانند NSCLC پیشرفته، امکان دسترسی به بافت وجود نداشته و یا کیفیت نمونه به دست آمده مناسب نباشد، توصیه می‌شود.

۳- نمونه خون بیماران به جهت ارزیابی بایستی در ابتدای درمان و یا مراحل اولیه آن جمع آوری گردد. جمع آوری نمونه از تومورهایی که به درمان پاسخ می‌دهند دارای حساسیت مناسب نمی‌باشند.

۴- تفسیر نمونه‌های خونی با جهش‌های پر نفوذ و مهم همچون PALB2, BARCA1/2 بایستی با احتیاط انجام گردد. چرا که بایستی معین شود منشأ جهش از جرم لاین است و یا در تومور (سوماتیک) می‌باشد. بدین معنی که آیا جهش از ابتدا در ژنوم کلیه سلول‌های تشکیل دهنده فرد وجود داشته و یا در فرآیند تکاملی سرطان تنها در سلول‌های توموری ایجاد شده است. اهمیت این موضوع در ارزیابی خطر در بیمار و خانواده وی می‌باشد.

39- Germline
40- Cholangiocarcinoma

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-03]

شکل ۲. معیارهای تعیین شده ESMO برای ارزیابی جهش‌های پیشرو از طریق آنالیز مایعات بر گرفته از مرجع شماره ۱۲ همین مقاله

Tumour type	Indications	ESCAT tier and level of evidence	Recommendation
Non-small-cell lung cancer	*EGFR* (for common, uncommon, exon 20 insertions, T790M and other resistance mutations e.g. C797X).	IA[120]	ctDNA genotyping recommended in treatment-naive cancer patients and resistance upon prior TKIs. Caution should be kept as ctDNA assays will miss histological trans-differentiation. ctDNA testing may not have adequate sensitivity to detect *MET* true high copy number gain as resistance mechanism to osimertinib or lorlatinib. Amplification and fusion detection is suboptimal with ctDNA assays, and should be repeated in tissue where possible.
	ALK (for fusions and acquired resistance kinase domain mutations).	IA[121-125]	
	MET (for exon 14 splice site mutations, and acquired resistance mutations)	IB[126,127]	
	KRAS (for G12C and non-tier 1 other *KRAS* mutations)	IB[128]	
	BRAF (for V600E)	IB[129,130]	
	RET (for fusions and acquired resistance kinase domain mutations)	IB[131]	
	ROS1 (for fusions and acquired resistance kinase domain mutations)	IB[132,133]	
	NTRK 1/2/3 (for fusions and acquired resistance mutations)	IC[134]	
	MET (for high-level copy number gain/amplification)	IIA[135]	
	ERBB2 (for exon 20 insertions and transmembrane mutations, and amplification)	IIB[136-138]	
	BRAF (for non-V600E class I-III mutations)	IIB[139]	
Breast cancer	*PIK3CA* mutations	IA[140]	*ESR1* mutations should preferentially be tested in ctDNA. *ERBB2* amplification and *NTRK* fusions only when advanced tissue biopsy not available.
	ERBB2 amplification	IA[141,142]	
	*BRCA*1/2 mutations	IA[143,144]	
	ESR1 mutations	IB[145,146]	
	MSI-H	IC[147]	
	NTRK 1/2/3 fusions	IC[134]	
Gastric cancer	*ERBB2* amplification	IA[148]	ctDNA testing if tissue not available or when fast turnaround time is needed for urgent therapeutic decision making.
	MSI-H	IC[147]	
	NTRK 1/2/3 fusions	IC[134]	
Pancreatic cancer	*NTRK* 1/2/3 fusions	IC[134]	ctDNA testing if tissue not available.
	MSI-H	IC[147]	
Hepatocellular cancer	MSI-H	IC[147]	ctDNA testing if tissue not available.
	NTRK 1/2/3 fusions	IC[134]	
Cholangiocarcinoma	*IDH1* mutations	IA[149]	ctDNA testing if tissue not available or when fast turnaround time is needed for urgent therapeutic decision making.
	FGFR2 fusions	IA[150]	
	MSI-H	IC[147]	
	NTRK 1/2/3 fusions	IC[134]	
Colorectal cancer	*BRAF* (for V600E mutation)	IA[151]	*KRAS/NRAS/BRAF*^{V600E}/MSI for chemotherapy-naive metastatic colorectal cancer is recommended when tissue testing is not feasible or urgent therapeutic decision making. *KRAS/NRAS/BRAF/EGFR*-ECD for pretreated patients if EGFR rechallenge is planned.
	MSI-H	IA[147,152]	
	NTRK 1/2/3 fusions	IC[134]	
	KRAS/NRAS mutations (exon 2,3,4)	N/A (resistance biomarker)	
	ERBB2 amplification	IB[57,153,154]	
	EGFR-ECD (for mutations in the extracellular domain S492, G465, S464, V441)	IB[73]	
Ovarian cancer	*BRCA*1/2 mutations	IA[155]	In women with no germline pathogenic *BRCA1/2* variant found, testing for *BRCA1/2* pathogenic or likely pathogenic somatic variants may be carried out if tissue not available.
	MSI-H	IC[147]	
Endometrial cancer	MSI-H	IC[147]	ctDNA testing if tissue not available.
Prostate cancer	*BRCA*1/2 mutations	IA[156]	*BRCA1/BRCA2/ATM* for potential PARPi therapy. Caution is needed when interpreting results of ctDNA assays due to false-positive CHIP mutations in DNA repair genes.
	MSI-H	IC[147]	
	ATM mutations	IIA[156]	
	PTEN mutations/deletions	IIA[157]	
	PALB2 mutations	IIB[156,158]	
Urothelial cancers	*FGFR* mutations	IB[159]	ctDNA testing if tissue not available.
	FGFR3 (FGFR3-TACC3) fusions	IB[159]	
	NTRK 1/2/3 fusions	IC[134]	
Thyroid cancer	*BRAF* mutations	IB[160,161]	ctDNA testing if tissue not available.
	RET mutations	IB[162,163]	
	NTRK 1/2/3 fusions	IC[134]	
Soft tissue sarcoma	*NTRK* 1/2/3 fusions	IC[134]	ctDNA testing if tissue not available.

ESCAT tier I refers to evidence for tissue target-drug match resulting in improvement of meaningful clinical outcomes (synonymous to clinical utility). ESCAT tier II refers to investigational targets that likely define a patient population that benefits from a targeted drug, but additional data are needed. Readers are directed to individual ESMO practice guidelines for detailed discussion of individual tumour types.CHIP, clonal haematopoiesis of indeterminate potential; ctDNA, circulating tumour DNA; EGFR, epidermal growth factor receptor; ESCAT, ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets; MSI, microsatellite instability; PARPi, poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor; TKI, tyrosine kinase inhibitor.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-03]

❑ ۲- استفاده از تغییرات کمی ctDNA در مانیتورینگ سرطان‌های پیشرفته

به دلیل نیمه عمر پایین ctDNA و همچنین امکان انجام مکرر آنالیز نمونه‌های خون، چنین به نظر می‌رسد که با مانیتورینگ DNA توموری در خون بتوان در لحظه[41] پاسخ به درمان را مورد ارزیابی قرار داد. مطالعات انجام شده حاکی از ارتباط بین میزان ctDNA و پاسخ به درمان می‌باشد که می‌تواند مراحل اولیه اثرات درمانی دارو را زودتر از یافته‌های تصویر برداری و بالینی آشکار سازد. (۱۸،۱۹) وابسته به نوع توده توموری و نوع درمان (کمیوتراپی، درمان هدفمند و یا ایمونوتراپی) میزان DNA توموری در عرض چند هفته پس از پاسخ به درمان کاهش می‌یابد. با این حال در مورد داروهای سیتوتوکسیک در روزهای اول به دلیل آزاد شدن DNA از سلول‌ها، مقادیر ctDNAدر خون بالا می‌رود. (۲۰) همچنین مطالعات آینده نگر در سرطان کولورکتال متاستاتیک بیانگر این مطلب بوده که کاهش ۱۰ برابر در میزان ctDNA بعد از سیکل دوم از خط درمانی اول با داروهای کیموتراپی، با پاسخ به درمان و PFS[42] همراه می‌باشد. (۲۱) مضافاً مطالعات دیگر موید این است که بررسی متوالی میزان ctDNA در سرطان‌های متاستاتیک که تحت درمان با داروهای مهار کننده پاسخ ایمنی[43] هستند، می‌تواند پزشک را در ارزیابی پاسخ به درمان و تعیین پیش آگهی بیماری کمک نماید. (۲۲) از این روش می‌توان مقاومت‌های دارویی ناشی از جهش را که به دنبال درمان هدفمند ایجاد گردیده، زودتر از سایر علایم و نشانه‌ها شناسایی نمود. برای مثال در بیمارانی که مبتلا به سرطان کولورکتال بوده و تحت درمان با آنتی بادی مونوکلونال ضدEGFR می‌باشند، ظهور جهش‌ها در ژن‌های RAS و EGFR-ECD ده ماه زودتر از نشانه‌های رادیولوژیکی توسط ctDNA قابل شناسایی می‌باشد. (۲۳،۲۴)

❑ توصیه‌های انجمن انکولوژی اروپا (ESMO) در خصوص مانیتورینگ سرطان‌های پیشرفته

هر چند ارزیابی تغییرات کمی و کیفی ctDNA در طی مراحل درمان بیماری ارتباط محکمی با نتیجه درمان (Outcome) دارد ولی مطالعات بیشتری لازم است تا پاسخ دقیق‌تری به بعضی از سؤالات مطرح شده در این خصوص همچون تعیین زمان نمونه گیری بعد از اقدام درمانی و آستانه تغییرات ctDNA که بتوان بر اساس آن اثرات دارو را تفسیر نمود، داده شود.

❑ ۳- تعیین زود هنگام[44] MRD و عدد مولکولی[45]

نتیجه مطالعات انجام شده بر روی سرطان‌های سینه (۲۵)، کولورکتال (۲۶)، ریه (۲۷) و بسیاری دیگر موید داشتن اعتبار بالینی[46] آنالیز ctDNA در یافتن آثار مولکولی سلول‌های سرطانی بلافاصله بعد از شروع درمان اولیه و یا بهنگام پایش بیماری می‌باشد. اختصاصیت بالینی[47] این روش برای بیماری بیش از ۹۰ درصد است ولی حساسیت بالینی[48] این روش وابسته به تکنیک بکار گرفته شده متغیر خواهد بود. به جهت ارتقاء حساسیت بایستی روش‌هایی مورد استفاده قرار گیرند که بتوانند یک مولکول DNA مربوط به سلول‌های سرطانی را مابین ۱۰۰۰۰ مولکول DNA طبیعی شناسایی نمایند.

41- Real Time
42- Progression Free Survival
43- Immune Checkpoint Inhibitor
44- Minimal Residual Disease
45- Molecular Relapse
46- Clinical Validity
47- Clinical Specificty
48- Clinical Sensitivity

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-03]

❑ توصیه‌های انجمن انکولوژی اروپا(ESMO) در خصوص MRD/MR

از آنجایی که آنالیز ctDNA به جهت ارزیابی MRD/MR از اعتبار بالینی مناسبی برخوردار می‌باشد، لذا مثبت بودن این تست نشان دهنده بالا بودن خطر عود مجدد می‌باشد. ولی کاربرد بالینی[۴۹] این تست، نیازمند انجام مطالعات بیشتر است.

❑ ۴- کمک به تشخیص در مراحل اولیه و پیشرفته بیماری سرطان

از آنالیز ctDNA ممکن است در فرآیند تشخیص سرطان در بیمارانی که در مطالعات رادیولوژیکی ظن داشتن توده سرطانی در آن‌ها وجود دارد، استفاده شود. در افرادی که تومور داشته ولی انجام بیوپسی در آن‌ها مشکل می‌باشد، یافتن جهش پاتوژنیک از طریق آنالیز ctDNA ممکن است به تشخیص و تأیید سرطان کمک نماید. علاوه بر این در افرادی با سرطان‌های پیشرونده، دسترسی به پاسخ سریع در قیاس با بیوپسی بافت، می‌تواند منجر به درمان سریع‌تر و نتایج بهتری گردد.

❑ نتیجه گیری

امروزه به شکل فزاینده‌ای از آنالیز مایعات به ویژه با رویکرد بررسی DNA توموری در جریان خون (ctDNA) در تشخیص انواع پیشرونده سرطان استفاده می‌شود. این امر به خصوص زمانی اهمیت خود را آشکار می‌سازد که به دلیل داشتن اعتبار و کاربرد بالینی به استفاده از آن به عنوان روش جایگزین و مناسب در مواقعی که نیازمند به پاسخ سریع بوده، امکان انجام بیوپسی به دلیل مخاطرات آن وجود نداشته و یا کیفیت نمونه به دست آمده مناسب نمی‌باشد، در گایدلاین های انکولوژی همچون ESMO و NCCN توصیه شده است. با توجه به ماهیت این تست چنین در نظر گرفته می‌شود که این روش به مراتب بهتر از روش بیوپسی در تعیین جهش‌ها، بر محدودیت‌های زمانی و مکانی که ناشی از فرآیند تکاملی توده سرطانی بوده، فائق آید. با این حال در تفسیر نتایج آن بایستی پاسخ‌های منفی و مثبت کاذب را نیز در نظر داشت.

علاوه بر این بسیاری از مطالعات حاکی از اهمیت و اعتبار بالینی این روش در ارزیابی پاسخ به درمان، شناسایی ظهور جهش‌های ایجاد کننده مقاومت دارویی، تعیین MRD و عود مولکولی می‌باشند با این حال مطالعات بسیاری با استفاده از روش‌های نوین در حال انجام می‌باشد تا بتوان پس از تأیید کاربرد بالینی از تمامی قابلیت‌های بالقوه این روش در حوزه تشخیص و درمان استفاده نمود.

49- Clinical Utility

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-03]

References:

1- Moss J, M. J., Neiman D, et al. Comprehensive human celltype methylation atlas reveals origins of circulating cell-free DNA in health and disease. Nat Commun 9 (2018).

2- Lam WKJ, G. W., Sun K, et al. DNA of erythroid origin is present in human plasma and informs the types of anemia. Clin Chem 63, 1614-1623 (2017)

3- Stroun M, L. J., Lederrey C, Olson-Sand A, Anker P. About the possible origin and mechanism of circulating DNA apoptosis and active DNA release. Clin Chim Acta 313, 139–142, doi:10.1016/S000. (2001)9-00665(01)8981-9.

4- Yu SC, L. S., Jiang P, et al. High-resolution profiling of fetal DNA clearance from maternal plasma by massively parallel sequencing. Clin Chem. 59, 1228-1237 (2013).

5- Keller L, P. K. Unravelling tumour heterogeneity by single-cell profiling of circulating tumour cells. Nat Rev Cancer 19, 553-567 (2019)

6- Nakamura Y, T. H., Ikeda M, et al. Clinical utility of circulating tumor DNA sequencing in advanced gastrointestinal cancer: SCRUMJapan GI-SCREEN and GOZILA studies. Nat Med 26, 1859-1864 (2020).

7- Abbosh C, B. N., Wilson GA, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution. Nature. 545,:446-451 (2017)

8- Reck M, H. K., Han B, et al.. J Thorac Oncol. ctDNA determination of EGFR mutation status in European and Japanese patients with advanced NSCLC: the ASSESS study. 11, 1682-1689 (2016).

9- Lui YY, C. K., Chiu RW, et al. Predominant hematopoietic origin of cell-free DNA in plasma and serum after sex-mismatched bone marrow transplantation. Clin Chem 48, 421-427 (2002)

10- Razavi P, L. B., Brown DN, et al. High-intensity sequencing reveals the sources of plasma circulating cell-free DNA variants. Nat Med 25, 1928-1937 (2019).

11- Niroula A, S. A., Murakami MA, et al. . Distinction of lymphoid and myeloid clonal hematopoiesis. Nat Med;27, 1921-1927 (2021).

12- J. Pascual, G. A., F.-C. Bidard, et al. ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. Annals of oncology 33, 750-768, doi:10.1016/j.annonc.2022.05.520 (2022).

13- Leighl NB, P. R., Raymond VM, et al. Clinical utility of comprehensive cell-free DNA analysis to identify genomic biomarkers in patients with newly diagnosed metastatic non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 25, 4691-4700 (2019).

14- Mack PC, B. K., Espenschied CR, et al & . Spectrum of driver mutations and clinical impact of circulating tumor DNA analysis in nonsmall cell lung cancer: Analysis of over 8000 cases. . Cancer biomarkers : section A of Disease markers 126, 3219-3228 (2020).

15- Nakamura Y, T. H., Ikeda M, et al. Clinical utility of circulating tumor DNA sequencing in advanced gastrointestinal cancer: SCRUMJapan GI-SCREEN and GOZILA studies. Nat Med 26, 1859-1864. (2020).

16- Turner NC, K. B., Kilburn LS, et al. Circulating tumour DNA analysis to direct therapy in advanced breast cancer (plasmaMATCH a multicentre, multicohort, phase 2a, platform trial. Lancet Oncol(2020)1308-1296,21.

17- Rolfo C, M. P., Scagliotti GV, et al. Liquid biopsy for advanced NSCLC: a consensus statement from the international association for the study of lung cancer. J Thorac Oncol 16, 1647-1662 (2021).

18- Diehl F, S. K., Choti MA, et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. Nat Med 14, 985-990 (2008).

19- Forshew T, M. M., Parkinson C, et al. Noninvasive identification and monitoring of cancer mutations by targeted deep sequencing of plasma DNA. Sci Transl Med. 4 (2012).

20- Hrebien S, C. V., Garcia-Murillas I, et al. Early ctDNA dynamics as a surrogate for progression-free survival in advanced breast cancer in the BEECH trial. Ann Oncol 30, 945-952 (2019).

21- Tie J, K. I., Wang Y, et al. Circulating tumor DNA as an early marker of therapeutic response in patients with metastatic colorectal cancer. Ann Oncol 26, 1715-1722 (2015).

22- Cabel L, R. F., Servois V, et al. Circulating tumor DNA changes for early monitoring of anti-PD1 immunotherapy: a proof-of-concept study. . Ann Oncol 28, :1996-2001 (2017).

23- Montagut C, A. G., Ciardiello F, et al. Efficacy of Sym004 in patients with metastatic colorectal cancer with acquired resistance to anti-EGFR therapy and molecularly selected by circulating tumor DNA analyses: a phase 2 randomized clinical trial. JAMA Oncol 4 (2018).

24- Siravegna G, M. B., Buscarino M, et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. Nat Med 21, 795-801 (2015).

25- Garcia-Murillas I, C. N., Comino-Méndez I, et al. Assessment of molecular relapse detection in early-stage breast cancer. JAMA Oncol 5, 1473-1478 (2019).

26- Tie J, C. J., Wang Y, et al. Circulating tumor DNA analyses as markers of recurrence risk and benefit of adjuvant therapy for stage III colon cancer. JAMA Oncol 5, 1710-1717 (2019).

27- Chaudhuri AA, C. J., Lovejoy AF, et al. Early detection of molecular residual disease in localized lung cancer by circulating tumor DNA profiling. Cancer Discov 7, 1394-1403 (2017).

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-03]