

مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
 دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
 دوره‌ی بیست و پنجم، شماره‌ی ۲، صفحه‌های ۱۸۴ - ۱۷۴ (خرداد - تیر ۱۴۰۲)

کاربرد نشانگرهای توموری در گردش در سرطان مدولاری تیروئید با تشخیص مولکولی و رویکرد درمانی

خدیجه سعیدی^۱، منیره موحدی^۲، دکتر مریم السادات دانشپور^۳، دکتر مهدی هدایتی^۲

۱) گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. ۲) گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران. ۳) مرکز تحقیقات غدد سلولی و مولکولی، پژوهشکده علوم غدد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، نشانی مکاتبه با نویسنده مسئول: تهران، ولنجک، خیابان یمن، خیابان شهید اعرابی، پلاک ۲۳، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دکتر مهدی هدایتی؛

e-mail: hedayati47@gmail.com
 e-mail: hedayati@endocrine.ac.ir

چکیده

مقدمه: سرطان مدولاری تیروئید (MTC) یک نوع نادر و تهاجمی از انواع سرطان تیروئید است که تشخیص و درمان دقیق و سریع و زودهنگام آن به‌عنوان یک چالش بزرگ در حوزه پزشکی مطرح می‌شود. به تازگی استفاده از نشانگرهای توموری در گردش، به‌عنوان یک روش نوین نمونه‌برداری مایع که می‌تواند تشخیص، پیش‌بینی و پایش دقیق‌تری از توسعه سرطان فراهم کند، مورد توجه قرار گرفته است. این مقاله مروری تلاش دارد تا به تحلیل و بررسی ویژگی‌ها و زیست‌شناسی سلول‌های توموری در گردش (CTCs) و نیز تشخیص DNA توموری در گردش (ctDNA) در MTC بپردازد. از جمله هدف‌های اصلی این مطالعه، شناخت نقش این نشانگرها در تشخیص دقیق‌تر، پیش‌بینی موثرتر و نیز ارائه مبانی بهتر برای رویکردهای درمانی در این نوع سرطان است. از آنجا که CTCs و ctDNA می‌توانند تغییرات مولکولی و ژنتیکی در تومورها را به‌صورت غیرتهاجمی نمایان کنند، این اطلاعات قابلیت بهبود تشخیص زودرس و تداخل دقیق‌تر در توسعه بیماری را دارند. به‌علاوه، استفاده از این نشانگرها با کمک به ابداع و پیشرفت روش‌های جدید در تشخیص و درمان سرطان MTC می‌تواند منجر به تحقق نیازهای بالینی شود. این پیشرفت‌ها احتمالاً تأثیر بالقوه‌ای بر کارایی تشخیصی و مداخله درمانی خواهند داشت و در نهایت به نتایج موثرتری در بهبود بیماران مبتلا به این بیماری می‌انجامد.

واژگان کلیدی: نمونه‌برداری مایع، MTC، ctDNA، CTC

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۲/۶ - دریافت اصلاحیه: ۱۴۰۲/۶/۲۶ - پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۷/۹

۱. مقدمه

(DTC)، تومورهایی با تمایز ضعیفⁱⁱⁱ (PDTTC) و تومورهای آناپلاستیک^{iv} (ATC) هستند. تومورهای تیروئید تمایز یافته، که معمولاً یک پیش‌آگهی مطلوب را نشان می‌دهند، غالباً به عنوان کارسینومای پاپیلاری^v (PTC) (۸۵-۹۰٪)، فولیکولی (FTC) (۱۰-۵۰٪) و سلول هارتل طبقه‌بندی می‌شوند (۳٪). انواع TC با تمایز ضعیف و آناپلاستیک نادرتر هستند و با تهاجم بیشتر و پیش‌آگهی ضعیف مشخص می‌شوند.^۱ در نهایت، بخش کوچکی از TCها از سلول‌های مولد کلسیتونین

سرطان تیروئیدⁱ (TC) شایع‌ترین سرطان غدد درون‌ریز است که در سال‌های گذشته به‌ویژه در بزرگسالان جوان افزایش چشمگیری داشته است. تخمین زده می‌شود که تا سال ۲۰۱۹، سرطان تیروئید سومین نوع شایع سرطان در زنان باشد. در سراسر جهان، بدلیل رواج غربالگری، تغییرات محیطی و سبک زندگی، میزان بروز آن در افراد بالای ۳۰ سال؛ نسبت به گذشته سه برابر شده است. تعداد زیادی از مبتلایان به سرطان تیروئید دارای تومورهای متمایزⁱⁱ

iii-Poorly Differentiated Thyroid Cancer
 iv-Anaplastic Thyroid Cancer
 v-Papillary Thyroid Cancer

i-Thyroid Cancer
 ii-Differentiated Thyroid Cancer

انبوهی از داده‌های جدید در مورد اسیدهای نوکلئیک در MTC را بوجود آورده است. شناسایی DNA خارج سلولی یا بدون سلول (cfDNA)^{xiii}، سلول‌های توموری در گردش^{xiv} (CTC) و میکرو RNA های در گردش (miRNA)، مبنای استفاده از نمونه برداری مایع در MTC را ایجاد کرد. این مولکول‌ها یک ابزار ویژه برای تشخیص زودهنگام متاستازها در اختیار قرار می‌دهند. یکی دیگر از کاربردهای نمونه برداری مایع در حیطه پزشکی شخصی است که در آن هدف ما بهبود مراقبت و مدیریت بیمار است و شامل شناسایی نشانگرهای زیستی برای تشخیص، پیش‌آگهی، تمایز MTC های تهاجمی از موارد اولیه و پاسخ به درمان می‌شود. با این‌که تنها داده‌های کمی در مورد cfDNA، ctCell و miRNA ها در MTC گزارش شده است، اما این داده‌ها امیدوارکننده هستند. بنابراین مطالعات بیشتری برای شناسایی نشانگرهای زیستی جدید و قوی که می‌توانند وارد حیطه بالینی شوند، ضروری است.

۲. ژنتیک مولکولی

تغییرات پروتئوآنکوژن RET از فرایندهای بسیار مهم برای بروز سرطان تیروئید است. سازوکارهای مختلف فعال‌سازی RET، نظیر جهش‌های نقطه‌ای و بازآرایی ژنی، می‌توانند میزان کارسینوم مدولاری و پاپیلاری تیروئید را مشخص کنند و یک عامل بسیار قوی برای پیش‌آگهی ضعیف در MTC هستند.^v این ژن در جایگاه 10q11.2 قرار دارد و گیرنده تیروزین کیناز را رمزگذاری می‌کند. گیرنده تیروزین کیناز در بسیاری از مسیرهای پیام‌رسان سلولی دخیل است و نقش کلیدی در توسعه و تکامل پاراتیروئیدها، دستگاه ادراری تناسلی و تاج عصبی از جمله مغز، آدرنال، بصل‌النخاع، گانگلیون روده و سلول‌های C تیروئید دارد. بیش از ۱۰۰ جهش افزایش عملکرد ژن RET در رابطه با بروز کارسینوم مدولاری تیروئید شناسایی شده است. این جهش‌ها در رده سلول‌های زایا (در بیماران مبتلا به کارسینوم مدولاری تیروئید ارثی) یا سلول‌های سوماتیک (در بیماران مبتلا به کارسینوم مدولاری تیروئید تک‌گیر)، برای ژن RET در بیماران مبتلا به گزارش شده است.^۱ نوع ارثی، که در ۲۰ تا ۳۰ درصد بیماران تشخیص داده می‌شود، با سندرم نئوپلازی غدد درون‌ریز متعدد نوع ۲ (MEN 2^{xv})

منشأ می‌گیرند و مشخصات هیستولوژی مدولاری را دارند.^{۲،۳}

تشخیص این بیماری با معاینه بالینی، سونوگرافی تیروئید، نمونه برداری با سوزن نازکⁱ (FNAB)، معاینات سرولوژیکی، سیتی گرافیⁱⁱ، سی‌تی‌اسکنⁱⁱⁱ، رزونانس مغناطیسی و PET-CT صورت می‌گیرد. اگرچه FNAB در حال حاضر استاندارد طلایی برای تشخیص اولیه TC می‌باشد، اما به دلیل میزان بالای عدم تشخیص، به ویژه در مورد ضایعات فولیکولی، محدودیت‌هایی را نشان می‌دهد. در فرآیندهای پس از جراحی DTC، نظارت بر سطوح تیروگلوبولین (Tg) یک فرآیند معمول است. با این حال، وجود آنتی‌بادی‌های ضد Tg (TgAb) ممکن است با اندازه‌گیری Tg تداخل داشته باشد، بنابراین کاربرد بالقوه آن به عنوان نشانگر تومور را مختل می‌کند.^۴ علاوه بر این، در حالی که اکثر DTC ها را می‌توان با جراحی و به دنبال آن استفاده از هورمون، درمان کرد، اما مدیریت موارد پیشرفته و PTC و TC های آناپلاستیک بسیار سخت‌تر می‌باشد. این تومورها را می‌توان با مهارکننده‌های تیروزین کیناز (TKIs)، مانند لنواتینیب^{iv} و سورافنیب^v برای DTC، دابرافنیب^{vi}، ترامتینیب^{vii}، و مورافنیب^{viii} برای PTC یا ATC جهش یافته BRAF، کابوزانتینیب^{ix} و واندتانیب^x برای MTC، یا سلپرکاپتینیب^{xi} در MTCs با ژن RET موتانت درمان کرد.^۵ اخیراً مشخص گردیده که نمونه برداری مایع می‌تواند منبع ارزشمندی برای کمک به مدیریت TC باشد، زیرا می‌توان از آن برای تعریف تشخیص صحیح، پیش‌بینی پیش‌آگهی تومور، نظارت بر تکامل بیماری و ایجاد رویکردهای دارویی استفاده کرد.^۶

جستجو برای نشانگرهای زیستی برای کمک به تشخیص، پیش‌آگهی و پاسخ به درمان در MTC هنوز در حال انجام است. در واقع، علاوه بر نشانگرهای تثبیت شده مانند CEA^{xii}، پیشرفت‌های فن‌آورانه اخیر امکان تولید

- i-Fine Needle Aspiration Biopsy
- ii-Scintigraphy
- iii-Computed Tomography Scan
- iv-Lenvatinib
- v-Sorafenib
- vi-Dabrafenib
- vii-Trametinib
- viii-Vemurafenib
- ix-Cabozantinib
- x-Vandetanib
- xi-Selpercatinib
- xii-Carcinoembryonic Antigen

xiii-Cell Free DNA

xiv-Circulating Tumor Cells

xv-Multiple Endocrine Neoplasia, Type 2

مهم به نظر می‌رسد. RET هم‌چنین می‌تواند نقش اپی ژنتیکی در پاتوژنز MTC داشته باشد. مطالعات اخیر درجه کمتری از متیلاسیون پروتو انکوژن RET را در سلول‌های MTC در مقایسه با بافت‌های تیروئید طبیعی نشان داده‌اند که نشان‌دهنده نقش بیماری‌زایی متیلاسیون غیر طبیعی MET در توسعه MTC است.^{۱۱}

۳. نمونه برداری مایع

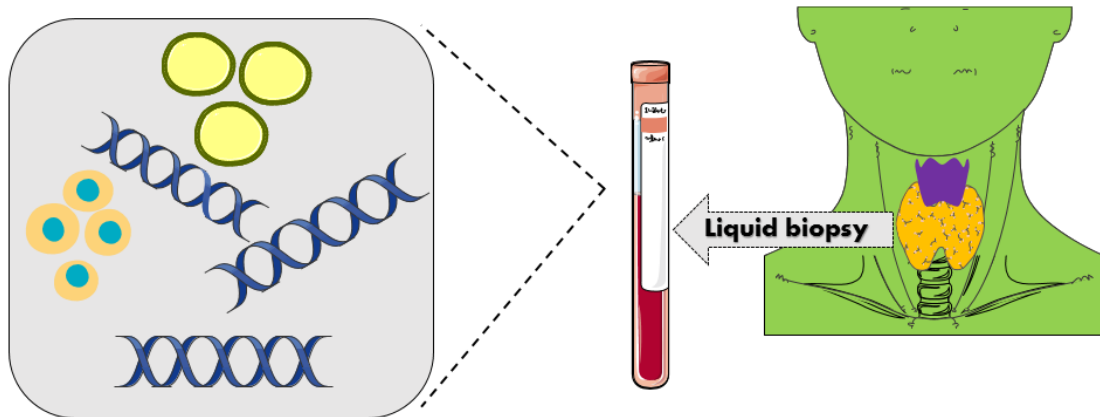
توسعه ابزار تشخیصی غیرتهاجمی، که به عنوان "نمونه برداری مایع" نیز شناخته می‌شود، بینش جدیدی را برای تشخیص و پیش‌آگهی سرطان به وجود آورده است. حدود ۱۵۰ سال پیش در ۱۸۶۹، آسب شناس استرالیایی؛ توماس اشورث^۱، شواهدی مبنی بر وجود سلول‌های تومور در گردش خون بیماران مبتلا به سرطان پروستات متاستاتیک ارائه کرد.^{۱۲} مشابه نمونه برداری بافت که به طور رایج استفاده می‌شود، این روش نه تنها یک روش برای تشخیص سرطان است، بلکه می‌تواند به طور مفیدی در طول درمان استفاده شود. این بدان معناست که نمونه برداری مایع می‌تواند به تشخیص کارآیی داروهای درمان سرطان، از طریق نمونه برداری‌های متعدد در طول درمان، و پیش‌بینی عود تومور کمک کند. علاوه بر این نمونه برداری مایع می‌تواند بینش‌های جدیدی را در مورد ناهمگنی درون توموری و تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی که مسئول آن هستند، به ارمغان بیاورد.^{۱۳} در حالی که نمونه برداری مایع توسط سازمان غذا و داروی آمریکا به عنوان یک روش پیش‌آگهی مفید برای انواع مختلف سرطان تایید شده است، کاربرد بالینی آن هنوز گسترده نیست. استفاده از نمونه برداری مایع در سرطان‌شناسی عمدتاً شامل DNA توموری در گردشⁱⁱ (ctDNA)، CTC، اگزوزومⁱⁱⁱ و DNA حلقوی خارج کروموزومی می‌باشد. در بدخیمی‌های تیروئید، نمونه برداری مایع می‌تواند برای تشخیص و پیش‌آگهی آن مهم باشد. این تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی می‌تواند در هر فرد متفاوت باشد و بدین صورت مفهوم نمونه برداری مایع می‌تواند رویکرد پزشکی شخصی‌سازی شده را نیز بهبود بخشد.^{۱۴}

همراه است که با الگوی توارثی اتوزومال غالب به ارث می‌رسد. با این حال، اکثریت قریب به اتفاق (۸۰٪) از MTC‌ها تک‌گیر هستند. تقریباً ۵۰٪ از آن‌ها دارای جهش‌های RET سوماتیک در سلول‌های تومور هستند. رایج‌ترین و شناخته‌شده‌ترین جهش RET در MTC تک‌گیر در محل کدون ۹۱۸ رخ می‌دهد و با شکل تهاجمی‌تر بیماری و شانس بقای کمتر بیمار همراه است.^۸ بیمارانی که حامل این جهش سوماتیک هستند، در مقایسه با بیماران فاقد آن یا حاملین سایر جهش‌ها، شانس بیشتری برای چند کانونی بودن و بزرگ تر بودن تومورهایشان دارند. هم‌چنین وجود جهش در کدون ۹۱۸ رابطه مستقیمی با افزایش احتمال تهاجم سلول‌های توموری به غدد لنفاوی یا سایر بافت‌های دوردست، و رسیدن بیماری به مرحله IV دارد. به عبارتی در شکل تک MTC، بیماران فاقد جهش RET سوماتیک بقای بیشتری نسبت به بیمارانی که دارای جهش RET در سلول‌های تومور بودند نشان دادند. ناهمگونی جهش RET در تومورهای تک‌گیر واجد جهش سوماتیک گزارش شده است. این بدان معناست که زیرمجموعه‌ای از سلول‌های تومور ممکن است دارای جهش RET باشند که در کل تومور وجود ندارد و ممکن است در برخی، اما نه همه متاستازها وجود داشته باشد.^۹ در MTC تک‌گیر، جهش‌های RET باعث ایجاد تومور نمی‌شوند، اما برای پیشرفت تومور مهم هستند. جهش دیگر با شیوع بالا در کدون ۸۸۳ واقع می‌شود و هم‌چون جهش ۹۱۸ با متاستازهای غدد لنفاوی و تداوم بیماری پس از عمل مرتبط است. اخیراً جهش‌های فعال‌کننده RAS نیز در ۶۸ درصد از MTC‌های تک‌گیر با RET طبیعی شناسایی شده است. بنابراین، ما با دو مسیر متمایز برای ایجاد MTC‌های تک‌گیر مواجهیم. این جهش‌ها ممکن است با تومورهای کمتر تهاجمی همراه باشد. نقاط داغ جهش شناخته شده در اگزون ۲، ۳، و ۴ می‌باشد و عمدتاً شامل HRAS و KRAS است و جهش‌ها به ندرت شامل NRAS می‌شوند. جهش‌های RAS همیشه با جهش‌های RET رخ نمی‌دهند و تقریباً در ۱۰ تا ۴۵ درصد از تومورهای تک‌گیر با RET طبیعی وجود دارند. بنابراین گروه کوچکی از تومورها با جهش منفی RET و RAS باقی می‌ماند که تغییرات ژنتیکی اصلی برای آن‌ها تعریف نشده است.^{۱۰} توجه به این نکته مهم است که مسیر RAS توسط گیرنده تیروزین کیناز RET فعال می‌شود. بنابراین، فعال شدن این مسیر با جهش RET یا RAS، هم در تومورهای ارثی و هم در تومورهای تک‌گیر

i-Thomas Ashworth

ii-Circulating Tumor DNA

iii-Exosomes



شکل ۱- اجزای اصلی نمونه برداری مایع

جا سلول‌های سرطانی بر اساس اندازه جدا می‌شوند (۲) روش‌های مبتنی بر فن آوری میکروفلوئیدیکⁱ در این روش‌ها جداسازی سلول‌های سرطانی بر اساس ویژگی‌های سلولی؛ نظیر اندازه، تحرک الکتروفورتیکی، و اتصالات سلولی صورت می‌گیرد (۳) روش اسکن آرایه فیبر نوریⁱⁱ؛ تمایز سلول‌های سرطانی از سلول‌های خونی بر اساس ریخت‌شناسی و ویژگی‌های دی الکتریک انجام می‌شود (۴) روش‌های مبتنی بر استفاده از آنتی‌بادی؛ در این روش‌ها اساس بر شناسایی نشانگرهای زیستی اختصاصی در سطح سلول‌های سرطانی است (۵) استفاده از آپتامرهاⁱⁱⁱ؛ این مولکول‌های نوکلئیک اسیدی با ساختار فضایی ثانویه یا ثالثیه، معادل شیمیایی آنتی‌بادی‌ها بوده و با میل ترکیبی بالایشان برای شناسایی نشانگرهای سطحی سلول سرطانی به کار می‌روند.^{۱۱}

۲-۴- نشانگرهای مولکولی CTC

مجموعه‌ای از نشانگرهای مولکولی برای تشخیص CTC در سرطان‌های مختلف استفاده شده است. از آنجایی که بیشتر سرطان‌ها منشا اپیتلیال دارند، شایع‌ترین نشانگر مورد استفاده برای CTC ها EpCAM^{iv} است، و به عنوان یک نشانگر اپیتلیال همگانی در سرطان‌ها محسوب می‌گردد. حضور این CTC های EpCAM مثبت، متاستاز زودرس و بقای ضعیف‌تر بیماران را پیش‌بینی می‌کند. با این حال، استفاده از EpCAM به عنوان نشانگر CTC دارای محدودیت‌هایی است چرا که نمی‌توان از آن برای شناسایی

۴. سلول‌های توموری در گردش (CTC)

یک تومور سرطانی معمولی حاوی میلیون‌ها یا حتی میلیاردها سلول است که دارای جهش‌های ژنتیکی هستند و آن‌ها را به رشد، تقسیم و حمله به بافتی که در آن قرار گرفته‌اند، هدایت می‌کند. با این حال، با تکثیر سلول‌ها، همه آن‌ها در مجاورت هم باقی نمی‌مانند و برخی از سلول‌ها از حاشیه تومور جدا می‌شوند و توسط جریان خون یا گردش لنفاوی به سایر نقاط بدن انتقال می‌یابند. به این سلول‌ها اصطلاحاً سلول‌های تومور در گردش می‌گویند که می‌توانند در گردش بمانند یا در بافت‌های جدید مستقر شوند. مسیرشان هرچه که باشد، بدین معنی است که CTC ها اطلاعاتی درباره یک تومور دارند، اطلاعاتی که محققان فکر می‌کنند می‌تواند برای تشخیص یا درمان سرطان از آن کمک بگیرند. بنابراین در دهه گذشته فناوری‌های نوظهور برای اولین بار اجازه داده‌اند تا CTC ها از نمونه‌های خونی جدا شوند. برخی از روش‌ها، از جمله اولین روش‌های ایجاد شده، بر ویژگی‌های فیزیکی سلول‌ها متکی هستند. هنگامی که یک نمونه خون در یک سانتریفیوژ قرار می‌گیرد، گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و سایر اجزای خون ته‌نشین می‌شود. بر اساس شناوری آن‌ها، CTC ها را می‌توان در بخش گلبول‌های سفید یافت. در ادامه چون CTC ها عموماً بزرگ‌تر از گلبول‌های سفید هستند، یک فیلتر مبتنی بر اندازه می‌تواند انواع سلول را جداسازی کند.^{۱۰}

۱-۴- افزایش حساسیت شناسایی CTC ها

روش‌های متعددی برای شناسایی CTC ها وجود دارد که عبارتند از: (۱) روش‌های مبتنی بر استفاده از فیلتر؛ در این

i-Microfluidic

ii-Fiber-optic Array Scanning Methods

iii-Optamers

iv-Epithelial Cell Adhesion Molecule

مدل‌های موشی مشاهده شده است که بیان نابجای Wnt5a اثرات یک مهارکننده گیرنده آندروژن را کاهش داده است و سرکوب Wnt5a می‌تواند تا حدی حساسیت به دارو را در سلول‌های سرطان پروستات مقاوم شده بازگرداند.^{۲۰}

۴-۴- سلول‌های تومور در گردش به عنوان نشانگر

زیستی در MTC

به عنوان نشانگرهای زیستی، CTCs جدا شده از تومورهای جامد می‌تواند در پیش‌بینی تهاجم و پیش‌آگهی‌ها بیماری و همچنین نظارت بر اثربخشی درمان کمک کند. در این رابطه مطالعه‌ای بر روی ۷۲ فرد بیمار انجام گرفت. میزان CTC ها در ۷/۵ میلی‌لیتر از نمونه خون محیطی، با استفاده از غنی‌سازی منفی - ایمونوفلورسانس و هیبریداسیون درجا^v اندازه‌گیری و نشان داده شد که میزان CTC ها در مبتلایان به سرطان تیروئید همراه با متاستاز به میزان قابل ملاحظه‌ای نسبت به مبتلایان به سرطان تیروئید بدون متاستاز و گروه شاهد بیشتر بود. علاوه بر این CTC برابر یا بیشتر از ۵ به میزان زیادی با سرطان تیروئید با متاستاز همراهی داشت و در صورتی که میزان آن برابر ۷ یا بیشتر بود، بیماران پاسخ ضعیفی به درمان با ¹³¹I نشان می‌دادند و پیش‌آگهی بیماری بد بود.^{۲۱} علاوه بر این، در مطالعه‌ای که اخیراً توسط اهلرز^{vi} و همکاران انجام شد، میزان فراوانی CTC ها در بیماران مبتلا به سرطان تیروئید سنجش و به ارتباط آن با نشانگرهای بالینی پرداخته شد. در این مطالعه مشخص شد که بیماران مبتلا به سرطان تیروئید به طور قابل توجهی دارای CTC بالاتری نسبت به گروه شاهد بودند و نیز میزان CTC ها با مرحله اولیه تومور مرتبط است.^{۲۲}

۵. DNA توموری در گردش (ctDNA)

در سال ۱۹۴۰ بود که برای اولین بار اسیدهای نوکلئیک خارج سلولی یا بدون سلول شناسایی شدند و پس از آن در پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان سطوح بالای DNA بدون سلول (ctDNA) تشخیص داده شد. ctDNA طولی معادل ۱۶۰ تا ۲۰۰ جفت باز دارد (که عمدتاً ۱۶۶ جفت باز است) و توسط سلول‌های تومور در جریان خون آزاد می‌شوند. این مولکول‌ها را می‌توان در سایر مایعات بدن از قبیل غدد لنفاوی، ادرار، مایع منی، بزاق و مایع مغزی نخاعی نیز

تومورهایی که EpCAM آن‌ها منفی است یا بیان اندکی دارد، مانند سرطان‌های نوروزئیک، استفاده کرد.^{۱۷} CTC ها می‌توانند تحت EMTⁱ قرار گیرند، و نشانگرهای اپیتلیال، از جمله EpCAM، در طول EMT کاهش می‌یابند، که بر میزان تشخیص CTC های EpCAM مثبت تأثیر می‌گذارد. با این حال CTC های EpCAM مثبت زیرگروه قابل توجهی از همه CTC ها هستند و همچنان این مولکول می‌تواند نشانگر زیستی قابل اعتمادی برای این زیرگروه باشد. نشانگرهای زیستی دیگری؛ مانند گیرنده ۲ فاکتور رشد اپیدرمی انسانیⁱⁱ (HER2)، گیرنده استروژن، آنتی‌ژن غشایی اختصاصی پروستات، گیرنده فولات و سروایوینⁱⁱⁱ) نیز به عنوان نشانگرهای CTCs در سرطان‌های مختلف با اهمیت بالینی متفاوت نیز توصیف شده‌اند.^{۱۸} در مورد MTC، نشانگرهایی از قبیل CEA و CA19-9^{iv} شناسایی شده است و مورد استفاده قرار می‌گیرد. تنوع نشانگرهای CTC ها نشان‌دهنده ناهمگنی CTC ها در بین انواع مختلف سرطان است. حتی در یک بیمار، CTC ها از نظر مکانی-زمانی ناهمگن هستند، که ممکن است نتیجه یک ریزمحیط مکانی متفاوت در خون و تغییرات زمانی در پاسخ درمانی باشد. بنابراین در حال حاضر، تعریف کل جمعیت CTC با استفاده از نشانگرهای مولکولی بسیار محدود دشوار است. علاوه بر این، نشانگرهای CTC نباید در مراحل مختلف سرطان و دوره‌های درمان ثابت باشند.^{۱۹}

۴-۳- تجزیه و تحلیل رونویسی CTC ها

توالی‌یابی تک سلولی در سال‌های اخیر به سرعت توسعه یافته است و برای بررسی رونوشت‌های CTC استفاده شده است. نیم‌رخ‌های بیانی تک سلولی می‌تواند CTC ها را از سلول‌های مزوتلیال و سلول‌های خونی در سرطان‌های مختلف متمایز کند. علاوه بر این تجزیه و تحلیل رونوشت مبتنی بر توالی‌یابی تک سلولی می‌تواند ناهمگونی را در زیرجمعیت CTC نشان دهند. همچنین توالی‌یابی تک سلولی CTC ها به کشف مسیرهای جدیدی که به نفع متاستاز و شکست هستند کمک زیادی کرد. تعیین توالی RNA استخراج شده از CTC سرطان پروستات نشان داده است که فعال شدن بیش از اندازه مسیر Wnt یکی از دلایل مقاومت به داروهای ضد آندروژن در بیماران است. علاوه بر این، در

i-Epithelial Mesenchymal Transition

ii-Human Epidermal Receptor 2

iii-Survivin

iv-Carbohydrate Antigen 19

v-Negative Enrichment (NE), Immunofluorescence and in Situ Hybridization (FISH)

vi-M Ehlers

گردش خون نمی کنند. به طور خاص، تومورهای با حجم کم معمولاً ctDNA کمتری نسبت به نمونه‌های بزرگتر آزاد می‌کنند. علاوه بر این، برخی از انواع تومورها مانند تومورهایی که در مغز ایجاد می‌شوند، در مقایسه با ضایعات روده، کبد یا ریه، سطوح کمتری از ctDNA را در خون آزاد می‌کنند. برای بیماران مبتلا به تومورهای مغزی که DNA قابل تشخیص اندکی را وارد جریان خون می‌کنند (یا اصلاً نمی‌کنند)، استفاده از مایع مغزی نخاعی برای تعیین دارایی ژنتیک سلول‌های توموری توصیه می‌شود. رویکردهای بالقوه برای افزایش حساسیت عبارتند از: برداشت حجم بیشتری از خون (همیشه امکان‌پذیر نیست)، استفاده از توالی‌یابی با حساسیت بسیار کم، ترکیب روش‌های شناسایی جهش و سنجش متیلاسیون، سنجش mRNA مربوطه و بالاخره استفاده از مایعات فیزیولوژیک غیر از خون (مثلاً ادرار برای سرطان‌های مثانه، CSF برای سرطان‌های مغز، بزاق برای سرطان‌های دهان) است.^{۲۷}

۵-۱- روش‌های شناسایی ctDNA موثبات

توسعه سریع روش‌های مختلف مشاهده شده در دو دهه اخیر، امکان تجزیه و تحلیل کل رونوشت‌های سلول توموری (روش مبتنی بر ریزآرایه)، کل اگزوم یا ژنوم (توالی‌یابی نسل بعدی) را برای شناسایی نشانگرهای مولکولی بالقوه فراهم می‌کند. توالی‌یابی سریع و نسبتاً ارزان DNA تومور در مقیاس وسیع، امکان شناسایی اهداف مولکولی بالقوه، تعیین زیرنوع سرطان و تعیین پیش‌آگهی بیمار را فراهم می‌کند. علاوه بر این با بینش‌هایی جدید در مورد زیست‌شناسی سرطان همراه است که می‌تواند مبنای تحقیقات بیشتر باشد. چنین طبقه‌بندی، بر اساس نشانگرهای مولکولی، با موفقیت در سرطان پستان انجام شده است. تست MammaPrint، توصیه شده توسط انجمن اروپایی سرطان‌شناسی پزشکی و تایید شده توسط سازمان غذا و دارو، بر اساس مشخصات بیان ژن، این اجازه را به ما می‌دهد تا بیماران را به عنوان خطر کم یا بالا در ایجاد متاستازهای دوردست طبقه‌بندی کنیم. به همین جهت، در ادامه به تعدادی از روش‌های مورد استفاده برای شناسایی جهش در ctDNA اشاره می‌کنیم. در حال حاضر، روش‌های تشخیص ctDNA عمدتاً حول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) و رویکردهای توالی‌یابی می‌چرخند. روش Allele-specific quantitative PCR با محدودیت تشخیص ۰/۰۱۴-۰/۰۰۴٪، از حساسیت بالایی برای شناسایی

مشاهده کرد و^{۲۳} همچنین ممکن است از CTC که در جریان خون تخریب شده‌اند، مشتق شوند.^{۲۴} ctDNA ممکن است عملکردهای فیزیولوژیکی داشته باشد که بر سلول‌های طبیعی، به ویژه آن‌هایی که در مجاورت تومور هستند، تأثیر گذارد. مولکول‌های تک رشته‌ای و دو رشته‌ای DNA به گیرنده‌های شبه تول TLRⁱ که بر روی سطح سلول‌های تومور و سلول‌های نفوذکننده تومور بیان می‌شوند، متصل می‌شوند. علاوه بر این ctDNAها می‌توانند به TLRهای موجود در سطح لکوسیت‌ها متصل شوند و مسیرهای پیام‌رسانی مختلف پاسخ ایمنی به سلول‌های توموری را در ریز محیط تغییر می‌دهند، فعال کنند. فعال‌سازی TLRها می‌تواند مسیرهای پیام‌رسان را راه‌اندازی کند که منجر به آزادسازی سیتوکین‌ها و سایر تغییرات عملکردی در سلول‌های هدف می‌شود. انتشار ctDNA ممکن است اثرات مستقیمی بر سلول‌های ایمنی ریزمحیط تومور و همچنین اندام دوردست داشته باشند. ctDNA همچنین ممکن است از طریق انتقال افقی ژن به سلول‌های طبیعی در ریزمحیط تومور عمل کنند.^{۲۵}

بسیاری از محدودیت‌های استفاده از بافت برای آزمایش نشانگرهای زیستی را می‌توان با اندازه‌گیری DNA آزاد شده از تومورها به خون دور زد. برای مثال زمانی که جراحی/نمونه‌برداری قابل اجرا نیست، یا بافت به دست آمده برای تجزیه و تحلیل کافی یا نامناسب نیست، استفاده از ctDNA در گردش یک منبع جایگزین کارآمد برای تهیه DNA توموری است. علاوه بر این، انتظار می‌رود که استفاده از ctDNA نمای کلی‌تری از جهش‌های موجود در مکان‌های مختلف تومور را نسبت به نمونه‌برداری از یک ناحیه تومور ارائه دهد. سایر مزایای کلیدی ctDNA نسبت به آزمایش بافت عبارتند از: زمان کمتر برای گزارش نتیجه، هزینه کمتر برای انجام و سهولت انجام اندازه‌گیری‌های متوالی. مزیت اخیر ممکن است در نظارت بر اثربخشی درمان‌های در حال انجام، شناسایی کلون‌های اولیه مقاوم به درمان و شناسایی سازوکارهایی درگیر در مقاومت کاربرد ویژه داشته باشد.^{۲۶} در حالی که استفاده از ctDNA در مقابل بافت دارای چندین مزیت برای سنجش پیش‌بینی درمان است، اما محدودیت‌های متعددی نیز دارد. یکی از محدودیت‌های اصلی این است که همه تومورها، حتی در حالت پیشرفته، ctDNA را وارد

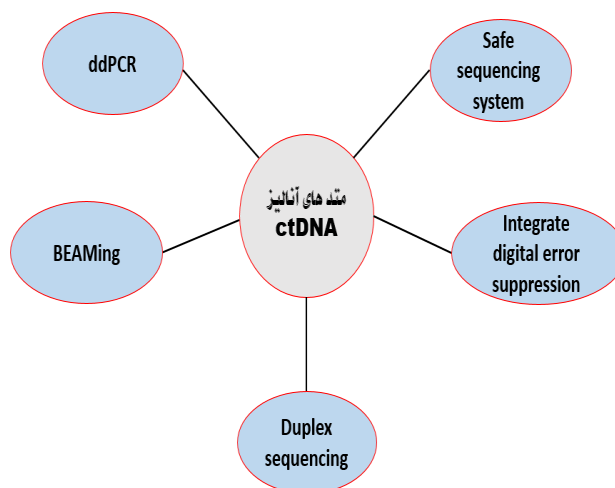
جدید تعیین توالی، برای آزمایش این فرضیه که آیا ctDNA یک نشانگر زیستی بالقوه در بیماران مبتلا به سرطان تیروئید پیشرفته است یا خیر کمک‌کننده بوده است. این مطالعه که شامل نمونه‌های MTC، DTC، و آناپلاستیک بود نشان داد که اکثر بیماران مبتلا به سرطان پیشرفته تیروئید دارای ctDNA قابل تشخیص بودند. اندازه‌گیری ctDNA نسبت به نشانگرهای معمولی، از چندین جهت داری برتری هستند: تشخیص زودهنگام پیشرفت بیماری در MTC، به عنوان یک نشانگر زیستی جایگزین زمانی که نشانگرهای معمولی در دسترس نیستند، ارزیابی سریع‌تر وضعیت بیماری در پاسخ به درمان‌های هدفمند، و در نتیجه به طور بالقوه امکان توقف سریع درمان‌های بیهوده را فراهم می‌کند. این نتایج اولیه از این فرضیه که ctDNA ممکن است یک نشانگر زیستی مفید بالینی در سرطان مدولاری تیروئید باشد را حمایت می‌کند. در نتیجه cfDNA می‌تواند به عنوان یک نشانگر اولیه برای پیشرفت MTC عمل کند.^{۲۹}

۶. استفاده از ردپای نوکلئوزومی^{iv} به عنوان

نشانگر زیستی

با توجه به این‌که ctDNA پس از آپوپتوز و نکروز سلولی از سلول‌های تومور آزاد می‌شود، طول ctDNA مطابق با نوکلئوزوم‌ها (۱۴۷ جفت باز) و کروماتوزوم (نوکلئوزوم به علاوه هیستون پیوندی با حدود ۱۶۷ جفت باز) است. در سلول‌های یوکاریوتی، پروتئین‌هایی به نام هیستون‌ها به عنوان خانواده‌ای از پروتئین‌های کوچک با بار مثبت به نام‌های H1، H2A، H2B، H3 و H4 وجود دارد. مولکول DNA به دلیل وجود گروه‌های فسفات در اسکلت فسفات-قند آن دارای بار منفی است، بنابراین هیستون‌ها به DNA ملحق شده و با ساخت نوکلئوزوم DNA می‌سازند. نوکلئوزوم یک واحد اساسی از بسته‌بندی DNA در یوکاریوت‌ها است که در آن مولکول DNA با تقریباً ۱۴۶ جفت باز حدود ۱/۶۷ چرخش مارپیچ چپ گرد به دور یک هسته ۸ تایی از هیستون‌ها پیچیده شده است. هیستون‌های پیونددهنده یا H1 و در تراکم بیشتر کروماتین نقش دارند و در قاعده نوکلئوزوم نزدیک ورودی و خروجی DNA، که به ناحیه پیونددهنده DNA متصل می‌شوند، قرار می‌گیرند. وضعیت قرار گرفتن نوکلئوزوم‌ها^v بر اساس چگونگی بیان ژن و تغییرات اپی‌ژنتیکی هیستون‌ها و DNA، در بین

ctDNA ها دارند. روش‌های امولسیون PCR مانند ddPCR، emulsion، bead و (ddPCR) و BEAMing) magnetics) از بالاترین حساسیت برخوردارند و از محدودیت تشخیص ۰/۰۱-۰/۰۱٪ برخوردار هستند. نقطه ضعف روش‌های بر پایه بر PCR آن است که تعداد محدودی از موارد را می‌توان ارزیابی کرد و عموماً به شناسایی اولیه تغییرات اختصاصی بافت سرطانی بیمار تکیه دارد. روش‌های توالی‌یابی از جمله توالی‌یابی نسل بعدیⁱ (NGS) پوشش ژنومی وسیع‌تری را امکان‌پذیر می‌کند. با این حال، این روش زمان‌بر و پرهزینه‌بر است و این امر تصمیم‌گیری بالینی را با مشکل مواجه می‌کند.^{۲۸}



شکل ۲- روش‌های مورد استفاده برای آنالیز ctDNA

۲-۵- استفاده از ctDNA/cfDNA در MTC

در مطالعه‌ای که اخیراً انجام گرفته است، سطح cfDNA حاوی جهش RET M918T در پلاسمای بیماران مبتلا به MTC از طریق ddPCRⁱⁱ اندازه‌گیری شد. تشخیص RET cfDNA M918T به شدت با بقای کلی کمتر بیمار همبستگی داشت و نسبت به زمان دو برابر شده مقدار کلسیتونینⁱⁱⁱ (به عنوان نشانگری برای پیش‌آگهی MTC) با دقت بیشتری سیر بیماری را پیش‌بینی می‌کند. به همین دلیل می‌توانیم از نسبت آلی DNA تومور در گردش حاوی جهش RET M918T برای بقای کلی و پاسخ به درمان استفاده کنیم. علاوه بر این، مطالعه چندجهشی cfDNA با استفاده از نسل

iv Nucleosome Footprinting
v-Nucleosome Positioning

i-Next Generation Sequencing
ii-Droplet Digital PCR
iii-Calcitonin Doubling Times

۷. استفاده از مولکول‌های RNA غیر کدکنندهⁱⁱ

میکروآر ان ای‌ها و یا miRNAs مولکول‌های RNA غیر کدکننده کوتاه با طول ۱۸ تا ۲۵ نوکلئوتید هستند که به عنوان تنظیم‌کننده‌های پس از رونویسی بیان ژن عمل می‌کنند. miRNA هایی که می‌توانند از سلول‌ها آزاد شوند و در جریان خون یافت شوند، به عنوان microRNA های در گردش شناخته می‌شوند. نیمرخ miRNA های در گردش در بیماری‌های مختلف و نیز پاسخ به درمان اختصاصی است.^{۳۳} مطالعات مختلفی بیان نابجای miRNA های خاص را در بافت‌های MTC گزارش نموده‌اند و نشان داده‌اند که این تغییرات miRNA ها، آن‌ها را به عنوان نشانگرهای زیستی پیشنهاد می‌کند^{۳۴} به عبارتی خلاف cfDNA یا CTC ها، تجزیه و تحلیل miRNA های در گردش به شناسایی جهش‌ها متکی نیست، بلکه بر بیان متفاوت miRNA ها در بیماران در مقایسه با گروه سالم، یا در میان زیرگروه‌های بیماران متکی می‌باشد. بنابراین برخی از محدودیت‌های CTC ها و cfDNA ها در مورد آن‌ها مطرح نمی‌باشد. MiR-375 یک RNA غیرکدکننده حفاظت‌شده است که در تکثیر سلول‌های سرطانی، مهاجرت و مقاومت دارویی نقش دارد. مطالعات قبلی نشان داده است که miR-375 از طریق برخی از فاکتورهای رونویسی کلیدی مانند YAP1ⁱⁱⁱ، SPI1^{iv} و مسیرهای پیام‌رسان Wnt و NF-κB^v بر انتقال اپیتلیال - مزانشیمی سلول‌های تومور انسانی تأثیر می‌گذارد و بدین‌صورت برای توسعه سرطان حیاتی است.^{۳۵} در مورد MTC، اخیراً مشخص شده که miR-375 از طریق مسیر پیام‌رسانی PI3K/Akt در بیماری‌های زیستی آن نقش دارد.^{۳۶} علاوه بر این نتایج مطالعه‌ای که اخیراً بر روی نمونه‌های پلاسما افراد مبتلا به MTC انجام شده نشان داده است که miR-375 به میزان قابل ملاحظه‌ای در این بیماران افزایش می‌یابد و با کاهش قابل توجه در بقا بیمار و پیش‌آگهی ضعیف بیماری همراه است. از این رو می‌توانیم از نیمرخ بیانی miR-375 به عنوان یک فاکتور پیش‌آگهی در بیماران مبتلا به MTC استفاده کنیم.^{۳۷} علاوه بر این در مطالعه‌ای دیگر میزان بیان miR-21 و LncRNA MALAT1 در MTC اندازه‌گیری شد. در این مطالعه مشخص شد که میزان بیان miR-21 و LncRNA MALAT1 در مبتلایان به MTC

سلول‌ها متفاوت است و «ردپای نوکلئوزومی» نامیده می‌شود. بنابراین ردپای نوکلئوزومی در سلول طبیعی با سلول سرطانی متفاوت خواهد بود. توالی‌یابی عمیق ctDNA جدا شده از پلاسما خون و ایجاد نقشه‌هایی از نوکلئوزوم در سراسر ژنوم، نشان داد که قطعات ctDNA، همچون نوکلئوزم‌ها، ردپای عوامل رونویسی را در خود جای داده‌اند. بنابراین ctDNA ها می‌توانند در تشخیص نوع سلول منشأ تومور کمک کنند. در واقع، ردپای نوکلئوزومی را می‌توان برای یافتن منشأ تومور و انواع سلولی که به بیماری‌های، مانند ایجاد سرطان تیروئید کمک می‌کند، استفاده کرد.^{۳۰}

جدول ۱ - بررسی اجمالی روش‌های مختلف به عنوان نشانگر زیستی

نمونه	مزایا	معایب	رفرنس
ctDNA	روش جداسازی آن ساده‌تر است	تمام جهش‌ها بیان نمی‌شوند	۳۱
	نسبت به سلول و RNA پایدارتر است	مرگ سلول‌های خونی می‌تواند نسبت آن را تغییر دهد	۳۱
	میزان آن با زنده ماندن بیمار ارتباط دارد	منبع آن کاملاً مشخص نیست	۳۱
	حساسیت بالایی دارد	در بیشتر موارد به دانش قبلی از هدف مورد نظر داریم	۳۱
	برای جداسازی ctDNA (کمتر از ۲ میلی‌لیتر) به خون اندکی نیاز داریم	نمی‌توانیم زمان تشخیص متاستاز را مشخص کنیم	
	ارزیابی ناهمگونی تومور آسان است	قدرت ضعیفی در شناسایی تومورهای مقاوم به درمان دارند	
CTCs	حساسیت و ویژگی بالایی دارند	روش‌های جداسازی آن می‌تواند چالش برانگیز باشد	۳۱
	تکرارپذیری بالایی دارند	تورش‌های موجود در هنگام نمونه‌برداری از سلول‌ها	۳۱
	در شناسایی اهداف سلولی جدید کارآیی بالاتری نسبت به ctDNA دارند	چالش‌های مربوط به توالی‌یابی تک سلولی	۳۲
	می‌توانیم زمان تشخیص متاستاز را مشخص کنیم	CTC ها بدون نشانگرهای اپی‌تلیالی قابل تشخیص نیستند	۳۲
	قدرت بالایی در شناسایی تومورهای مقاوم به درمان دارند	برای جداسازی ctDNA (۷ تا ۱۰ میلی‌لیتر) به خون بیشتری نیاز داریم	

ii-Non Coding RNA
 iii-Yes-associated Protein 1
 iv-Specific Protein 1
 v-Nuclear Factor Kappa Beta

تومورهای پانکراس مورد استفاده قرار می‌گیرد. سطوح سرمی آن در بیماری‌های بدخیم و خوش‌خیم دستگاه گوارش و تنفس افزایش می‌یابد و با برخی دیگر از موارد بالینی مانند سرطان پروستات و سرطان پاپیلاری تیروئید همراه با تبدیل آناپلاستیک نیز همراهی دارد. علاوه بر این، آن را به عنوان یک نشانگر بیماری عودکننده در سرطان ریه و سرطان پاپیلاری تیروئید نیز یاد می‌کنند. اخیراً بررسی که بر روی ۱۲۲ بیمار مبتلا به MTC انجام شد مشخص شد که میزان CA19-9 در بیمارانی MTC که پیش‌آگهی بدتری دارند، افزایش می‌یابد. علاوه بر این می‌توانیم در واقع این نشانگر را با سایر نشانگرها را برای پیش‌آگهی طولانی‌مدت دقیق‌تر و درمان اولیه و پی‌گیری ترکیب کنیم.^{۱۱}

۹. چشم‌انداز آینده نمونه برداری مایع در مدیریت

سرطان مدولاری تیروئید

با توجه به تحقیقات اخیر، رویکردهای جدیدی برای تشخیص سرطان مدولاری تیروئید بر اساس تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی سلول‌های تومور مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. استفاده از نمونه‌برداری مایع به همراه پیشرفت‌های اخیر روش‌های زیست‌شناسی مولکولی مانند NGS،^{iv} GWAS،^v EWAS و توالی‌یابی متیلوم DNA تک سلولی، توسط سرطان‌شناس برای تشخیص و ردیابی زودهنگام و کارایی درمان مورد استفاده قرار می‌گیرد. اطلاعات مربوط به ارتباط ctDNA با شاخص‌های پروتئینی تومور تیروئید، می‌تواند اطلاعاتی در مورد محل یافتن سرطان و محل منشاء تومور ارائه دهد. به تازگی، نمونه‌برداری مایع مبتنی بر خون نیز به عنوان جایگزین کم‌تهاجمی برای شناسایی ویژگی‌های سلولی و مولکولی که می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی برای تشخیص سرطان در مراحل اولیه، پیش‌بینی پیشرفت بیماری، نظارت پاسخ به داروهای شیمی‌درمانی و ارائه گزینه‌های درمانی شخصی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

افزایش می‌یابد و در پیشرفت این بیماری موثر است.^{۳۸} از این رو دلیل پایداری بالای miRNA ها می‌توانیم از آن‌ها به عنوان فاکتورهای تشخیصی و پیش‌آگهی در بیماران MTC کارسینوما استفاده کنیم.

۸. نشانگر زیستی‌های آنتی‌ژنیک

آنتی‌ژن کارسینوما مبریونیکⁱ (CEA): مجموعه‌ای از گلیکوپروتئین‌های درگیر در چسبندگی سلولی می‌باشند. CEA معمولاً در طول رشد جنین در بافت گوارشی تولید می‌شود، اما تولید آن قبل از تولد متوقف می‌شود. در نتیجه، CEA معمولاً در سطوح بسیار پایین در خون بزرگسالان سالم وجود دارد (حدود ۴-۲ نانوگرم در میلی‌لیتر). گلیکوفرم‌های سیالوفوکوزیله تخصصی آن‌ها به عنوان لیگاندهای L-سلکتین و E-سلکتین کارسینوما کولون عمل می‌کنند، که برای گسترش سرطان سلول‌های کارسینوم کولون حیاتی می‌باشد. اخیراً مطالعه‌ای بر روی CEA سرمی در مبتلایان به MTC و استفاده از آن به عنوان یک فاکتور پیش‌آگهی انجام گردید. مقدار CEA با مرحله آناتومیکال به عنوان نشانگر زیستی برای MTC همراهی دارد و می‌توان از آن برای پیش‌بینی پیش‌آگهی ضعیف استفاده کرد. با این حال، آزمایش CEA سرم نقش محدودی در تشخیص و پی‌گیری MTC بازی می‌کند، زیرا می‌تواند مقادیر طبیعی را حتی در مواردی که بیماری در حالت پیشرفته خود قرار دارد نشان دهد.^{۳۹}

پیش‌ساز پپتید آزادکننده گاسترینⁱⁱ (ProGRP): یک انتقال‌دهنده عصبی است که متعلق به خانواده neuromedine B/bombesine است. GRP باعث تحریک ترشح گاسترین به منظور افزایش اسیدیته اسید معده می‌شود. Pro-GRP یک پپتید متشکل از ۱۲۵ اسید آمینه است که در سیستم عصبی و دستگاه گوارش بیان می‌شود. سطوح ProGRP به طور قابل توجهی در مبتلایان به MTC در مقایسه با افراد سالم بالاتر است. علاوه بر این سطوح ProGRP به طور دقیق، بیماران فعال را از بیماران درمان شده و همچنین بیماران مبتلا به بیماری فعال موضعی را از افراد دارای متاستاز دوردست متمایز می‌کند.^{۴۰}

آنتی‌ژن کربوهیدرات ۱۹-۹ⁱⁱⁱ (CA19-9): از نشانگر توموری است که به صورت رایج برای بررسی و پی‌گیری

i-Carcinoembryonic Antigen

ii-Progastrin Releasing Peptide

iii-Carbohydrate Antigene 19

iv-Genome Wide Association

v-Epigenetic Wide Association

References

- Rajabi S, Dehghan MH, Dastmalchi R, Mashayekhi FJ, Salami S, Hedayati M. The roles and role-players in thyroid cancer angiogenesis. *Endocrine Journal* 2019; 66: 277-93.
- Roman BR, Morris LG, Davies L. The thyroid cancer epidemic, 2017 perspective. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2017; 24: 332-6.
- Hedayati M, Zarif Yeganeh M, Sheikholeslami S, Afsari F. Diversity of mutations in the RET proto-oncogene and its oncogenic mechanism in medullary thyroid cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2016; 53: 217-27.
- Nguyen QT, Lee EJ, Huang MG, Park YI, Khullar A, Plodkowski RA. Diagnosis and treatment of patients with thyroid cancer. *Am Health Drug Benefits* 2015; 8: 30-40.
- Cabanillas ME, Ryder M, Jimenez C. Targeted therapy for advanced thyroid cancer: kinase inhibitors and beyond. *Endocrine Reviews* 2019; 40: 1573-604.
- Khatami F, Tavangar SM. Liquid biopsy in thyroid cancer: new insight. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2018; 12: 235-48.
- Hedayati M, Yaghmaei P, Pooyamanesh Z, Zarif Yeganeh M, Hoghooghi Rad L. Leptin: a correlated peptide to papillary thyroid carcinoma? *Journal of Thyroid Research* 2011; 2011.
- Salvatore D, Santoro M, Schlumberger M. The importance of the RET gene in thyroid cancer and therapeutic implications. *Nature Reviews Endocrinology* 2021; 17: 296-306.
- Cote GJ, Evers C, Hu MI, Grubbs EG, Williams MD, Hai T, et al. Prognostic significance of circulating RET M918T mutated tumor DNA in patients with advanced medullary thyroid carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2017; 102: 3591-9.
- Fussey JM, Vaidya B, Kim D, Clark J, Ellard S, Smith JA. The role of molecular genetics in the clinical management of sporadic medullary thyroid carcinoma: A systematic review. *Clinical Endocrinology* 2019; 91: 697-707.
- Moura MM, Cavaco BM, Leite V. RAS proto-oncogene in medullary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer* 2015; 22: R235-52.
- Alix-Panabières C, Pantel K. Liquid biopsy: from discovery to clinical application. *Cancer discovery* 2021; 11: 858-73.
- Romano C, Martorana F, Pennisi MS, Stella S, Massimino M, Tirrò E, et al. Opportunities and challenges of liquid biopsy in thyroid cancer. *International Journal of Molecular Sciences* 2021; 22: 7707.
- Neumann MH, Bender S, Krahn T, Schlange T. ctDNA and CTCs in liquid biopsy—current status and where we need to progress. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 2018; 16: 190-5.
- Pantel K, Speicher M. The biology of circulating tumor cells. *Oncogene* 2016; 35: 1216-24.
- Dickey DD, Giangrande PH. Oligonucleotide aptamers: A next-generation technology for the capture and detection of circulating tumor cells. *Methods* 2016; 97: 94-103.
- Wit Sd, Dalum Gv, Lenferink A, Tibbe AG, Hiltermann TJN, Groen HJ, et al. The detection of EpCAM+ and EpCAM—circulating tumor cells. *Scientific Reports* 2015; 5: 1-10.
- Nini A, Hoffmann MJ, Lampignano R, große Siemer R, van Dalum G, Szarvas T, et al. Evaluation of HER2 expression in urothelial carcinoma cells as a biomarker for circulating tumor cells. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry* 2020; 98: 355-67.
- Alencar R, Kendler DB, Andrade F, Nava C, Bulzico D, de Noronha Pessoa CC, et al. CA19-9 as a predictor of worse clinical outcome in medullary thyroid carcinoma. *European Thyroid Journal* 2019; 8: 186-91.
- Lin D, Shen L, Luo M, Zhang K, Li J, Yang Q, et al. Circulating tumor cells: biology and clinical significance. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2021; 6: 1-24.
- Qiu Z-L, Wei W-J, Sun Z-K, Shen C-T, Song H-J, Zhang X-Y, et al. Circulating tumor cells correlate with clinicopathological features and outcomes in differentiated thyroid cancer. *Cellular Physiology and Biochemistry* 2018; 48: 718-30.
- Ehlers M, Allelein S, Schwarz F, Hautzel H, Kuebart A, Schmidt M, et al. Increased numbers of circulating tumor cells in thyroid cancer patients. *Hormone and Metabolic Research* 2018; 50: 602-8.
- Heitzer E, Ulz P, Geigl JB. Circulating tumor DNA as a liquid biopsy for cancer. *Clinical chemistry* 2015; 61: 112-23.
- Marotta V, Cennamo M, La Civita E, Vitale M, Terracciano D. Cell-Free DNA Analysis within the Challenges of Thyroid Cancer Management. *Cancers* 2022; 14: 5370.
- Calabuig-Farinas S, Jantus-Lewintre E, Herreros-Pomares A, Camps C. Circulating tumor cells versus circulating tumor DNA in lung cancer—which one will win? *Transl Lung Cancer Res* 2016; 5: 466-82.
- Leung F, Kulasingam V, Diamandis EP, Hoon DS, Kinzler K, Pantel K, et al. Circulating tumor DNA as a cancer biomarker: fact or fiction? *Clinical Chemistry* 2016; 62: 1054-60.
- Han X, Wang J, Sun Y. Circulating tumor DNA as biomarkers for cancer detection. *Genomics, proteomics & bioinformatics* 2017; 15: 59-72.
- Bach S, Sluiter NR, Beagan JJ, Mekke JM, Ket JC, van Grieken NC, et al. Circulating tumor DNA analysis: clinical implications for colorectal cancer patients. A systematic review. *JNCI Cancer Spectrum* 2019; 3: pkz042.
- Allin D, Shaikh R, Carter P, Thway K, Sharabiani M, Gonzales-de-Castro D, et al. Circulating tumour DNA is a potential biomarker for disease progression and response to targeted therapy in advanced thyroid cancer. *European Journal of Cancer* 2018; 103: 165-75.
- Keller L, Belloum Y, Wikman H, Pantel K. Clinical relevance of blood-based ctDNA analysis: Mutation detection and beyond. *British Journal of Cancer* 2021; 124: 345-58.
- Lang J. Advantages and Disadvantages of CtDNA vs CTC Assays: How to Move the Needle Forward towards Clinical Application. *Keck Medicine of USC: Los Angeles, CA, USA*. 2007.
- Lianidou E, Hoon D. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Principles and applications of molecular diagnostics: Elsevier*; 2018. p. 235-81.
- Chu Ying-Hsia, Hardin H, Schneider David F, Chen H, Lloyd RV. "MicroRNA-21 and long non-coding RNA MALAT1 are overexpressed markers in medullary thyroid carcinoma." *Experimental and Molecular Pathology* 2017; 103: 229-36.
- Chu Y-H, Lloyd RV. Medullary thyroid carcinoma: recent advances including microRNA expression. *Endocrine Pathology* 2016; 27: 312-24.

35. Wei J, Lu Y, Wang R, Xu X, Liu Q, He S, et al. MicroRNA-375: potential cancer suppressor and therapeutic drug. *Biosci Rep* 2021; 41: BSR20211494.
36. Shi L, Zhao S-m, Luo Y, Zhang A-w, Wei L-h, Xie Z-y, et al. MiR-375: A prospective regulator in medullary thyroid cancer based on microarray data and bioinformatics analyses. *Pathology-Research and Practice* 2017; 213: 1344-54.
37. Romeo P, Colombo C, Granata R, Calareso G, Gualeni AV, Dugo M, et al. Circulating miR-375 as a novel prognostic marker for metastatic medullary thyroid cancer patients. *Endocrine-related Cancer* 2018; 25: 217-31.
38. Chu Y-H, Hardin H, Schneider DF, Chen H, Lloyd RV. MicroRNA-21 and long non-coding RNA MALAT1 are overexpressed markers in medullary thyroid carcinoma. *Experimental and Molecular Pathology* 2017; 103: 229-36.
39. Kim J, Park H, Choi MS, Park J, Jang HW, Kim TH, et al. Serum Carcinoembryonic Antigen as a Biomarker for Medullary Thyroid Cancer. *Int J Thyroidol* 2021; 14: 143-51.
40. Giovanella L, Fontana M, Keller F, Ceriani L, Paone G. Circulating pro-gastrin releasing peptide (ProGRP) in patients with medullary thyroid carcinoma. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 2021; 59: 1569-73.

Review Article

Application of Circulating Tumor Markers in Medullary Thyroid Cancer with a Molecular Diagnostic, and Therapeutic Approach

Saeidi Kh¹ , Movahedi M² , Daneshpour MS³ , Hedayati M³ 

¹Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. ²Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran. ³Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran.

e-mail: hedayati47@gmail.com

e-mail: hedayati@endocrine.ac.ir

Received: 26/04/2023 Accepted: 01/10/2023

Abstract

Medullary Thyroid Cancer (MTC) is a rare, aggressive, and fatal subtype of thyroid cancer, presenting a significant medical challenge that necessitates prompt and accurate diagnosis and treatment. Recently, attention has shifted towards utilizing circulating tumor markers as a novel liquid biopsy technique, offering the potential for improved precision in diagnosis, outcome prediction, and cancer progression monitoring. Hence, this review aims to analyze the characteristics and biological aspects of Circulating Tumor Cells (CTCs) and Circulating Tumor DNA (ctDNA) in MTC. One of the main objectives is to understand how these markers can enhance diagnosis accuracy, provide better predictive insights, and establish a more substantial basis for treatment strategies tailored to this particular type of cancer. The non-invasive nature of CTCs and ctDNA enables them to reveal molecular and genetic changes in tumors. This information holds promise for enhancing early detection and providing more precise tracking of disease development. Moreover, using these markers could address clinical needs and drive advancements in MTC diagnosis and treatment. These progressions have the potential to significantly improve diagnostic precision and treatment effectiveness, ultimately leading to better outcomes for individuals dealing with this intricate condition.

Keywords: Liquid biopsy, MTC, ctDNA, CTC