میترا رحیمی فرد، دکتر طاهره ناجی
Mitra.rahimifard@gmail.com

# گردش سلول سرطانی و سلول های آزاد DNA تومور در سرطان ریه

**سلول های سرطانی در گردش یا (CTCs (Circulating tumor cells سلول های سرطانی است که از جایگاه نخست خود جدا شده و در خون به گردش در می آیند. CTC ها بخشی از فرایند بلند متاستاز سرطان پنداشته می شود. بررسی مولکولی CTC به با بیوپسی مایع و بررسی سلول های سرطانی مجزا، فرصت خوبی را برای درک بیولوژی سرطان و پروسه متاستاز فراهم کرده است. در دهه ی گذشته پیشرفت زیادی در شناسایی نقش CTC ها در زمینه های تشخیص، تعیین و شناخت تغییرات ژنومی، درمان و پیش بینی پیش آگهی در سرطان ریه انجام شده است. هدف این بازنگری این است که ویژگی بیولوژی نخستین این سلول ها شناسایی شود. همچنین روش های شناسایی CTC ها برای گونه های گواگون تومورها بازبینی شوند. افرون بر این ما کاربردهای کلینیکی را نیز بررسی کردیم. در این میان: پایش درمان برای پیش بینی مقاومت به درمان و همچنین کاوش نشانگرهای زیستی در پیوند با تومور ریه. همچنین توان کاربرد چرخه سلول های آزاد در DNA تومور (ctDNA) را در کاوش تغییر ژنوم سرطان ریه بررسی کردیم.**

سرطان ریه بالاترین عامل مرگ و میر بیماران سرطانی سراسر جهان است. تلاش های زیادی شده است که با استفاده از اسکن توموگرافی کامپیوتری (CT) سینه، واکاوی سیتولوژی خلط سینه، کاوش نشانگرهای زیستی، شناسایی سلول سرطانی در گردش (CTC)، شناسایی گردش سلول آزاد DNA تومور تا آنجایی که امکان دارد سرطان ریه در مراحل اولیه شناسایی شود. یک تومور جامد متوسط می تواند یک میلیون سلول را روزانه در جریان خون رها نماید و گرچه بیشتر این سلول ها زنده نمی مانند اما با این حال همان مقدار باقی مانده به روشنی هراس بزرگی برای میزبان به شمار می آید.

شناسایی، پایش و بررسی مولکولی سلول های CTC و ctDNA یک روش معنی دار و غیرتهاجمی برای شناسایی اولیه بیماری، پیش بینی پیش آگهی و پیش بینی نوع پاسخ به درمان در بیماران مبتلا به سرطان ریه فراهم می کند. عمل به اصطلاح بیوپسی مایع، بررسی سلول سرطانی مجزا و بررسی ctDNA درک خوبی را در رابطه با بیوپسی سرطان ریه و فرآیند پخش سرطان ایجاد می کند. تا به امروز به شدت بر روی خصوصیات و شمارش CTC ها در سرطان هایی مثل سرطان کولورکتال، سرطان پروستات، سرطان سینه، سرطان رحم، کارسینومای سر و گردن، سرطان مغز، سرطان معده، کارسینومای هپاتوسلولار، کارسینومای سلول کلیوی، مزوتلیوما و سرطان ریه مطالعه شده است. در کل هدف مطالعاتی که در زمینه CTC در تومورجامد می شود شامل : ۱-پیش بینی ریسک پیشرفت متاستاز ۲- مرحله بندی نحوه درمان و مشاهده زمان واقعی پاسخ به درمان ۳- تعیین مکان هایی که باید تحت درمان قرار گیرند و مکانیسم های مقاومت ٤- درک فرآیند متاستاز در بیمارانی که تومور جامد دارند.

ctDNA رامی توان در بیماران با سرطان ریه با تست واکنش زنجیره پلیمراز (PCR) شناسایی کرد و همچنین سطوح بالای DNA پلاسما می‌تواند در غربالگری، بیماران با ریسک بالا برای سرطان ریه را شناسایی نماید. علاوه بر این ctDNA در بیمارانی که سرطان ریه دارند تفاوت های ژنتیکی و اپی ژنیک متفاوتی از آنهایی که معمولا در تومورها شایع است نشان می دهد مواردی مثل فعال سازی انکوژنیک، از دست دادن کروموزوم و غیرفعال شدن ژن سرکوبگر تومور با استفاده از متیلاسیون متفاوت است.

مطالعات نشان داده اند که سطوح ctDNA با گرید تومور، مرحله ای که تومور در آن است، منتشرشدگی گره های لنفاوی، تعداد مکان های متاستاز، پاسخ تومور به درمان و بقاء در بیماران مبتلا به سرطان سلول غیر کوچک (NSCLC) مرتبط است.

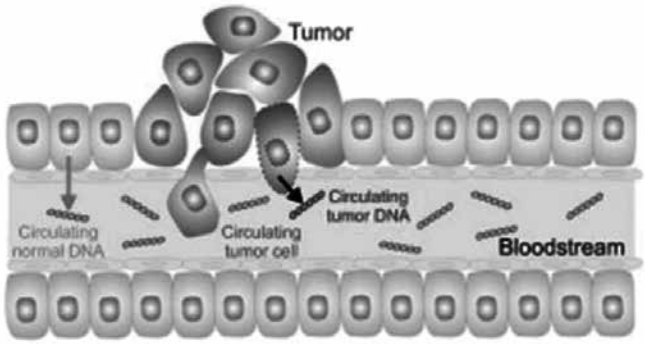
## روش ها

هدف این بازنگری این است که مفاهیم و متدهای اولیه برای شناسایی CTC ها و ctDNA در تومورهای جامد مورد بحث

قرار گیرد. ما همچنین بر آنیم که ببینیم چطور از این پیشرفت دانش برای کمک به بیماران با سرطان ریه- چه در بیماران با سرطان ریه سلول غیر کوچک (NSCLC) کوچک و چه در سرطان ریه سلول های کوچک (SCLC)- استفاده می شود. یک بازنگری از گزارش های منتشر شده از بازنگری های مشابه قبلی در پایگاه داده مدلاین تا اکتبر ۲۰۱۵ انجام شد.

## تعاریف

CTC ها با یک طیفی از یک سلول تا جمعی با ۲ تا ۵ سلول، سلول های سرطانی است که از یک زخم اولیه یا محل متاستاز اولیه جدا شده و به مانند دانه های سلولی متاستاز در جریان سطحی خون منتشر می شود.




**شکل ۱) سلول های سرطانی در گردش (CTC) و تومور در گردش بدون سلول (ctDNA) که از تومور اولیه یا زخم متاستاتیک منشا می گیرد و در خون به گردش در می آید.**

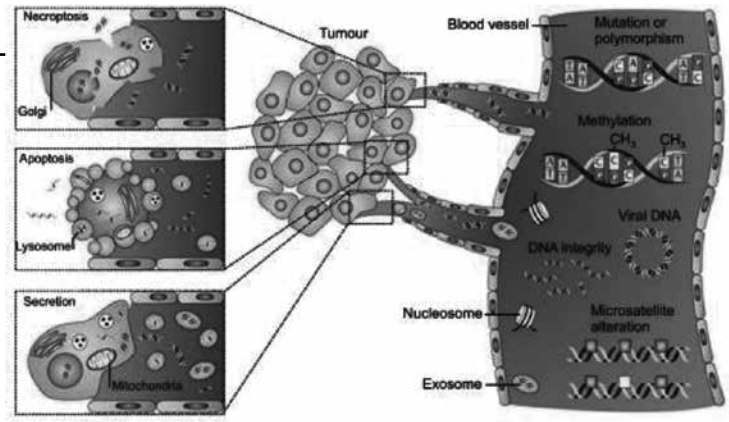
یک گرم از بافت سرطانی می تواند روزانه در حدود یک میلیون سلول سرطانی را در جریان خون وارد کند. CTC ها در جریان خون از تومورهای جامد مشتق می شود. آنها عامل انتشار متاستاتیک به ارکان های دور است که در نهایت باعث می شود که یک محل ثانویه ای برای بیماری شکل گیرد. با این حال تومور میکروآمبولی تومور کوچک (CTM) یک تومورجمعی است که در خون به گردش در می آید. واژه دیگر سلول های سرطانی منتشره (DTC) است که به صورت یک جایگاهی از CTC ها در ارکان های ثانویه تعریف می شود که ممکن است در یک وضعیت خاموش بمانند یا باعث متاستاز مشهود شود. CTC ها وDTC ها در خون و مغز استخوان به عنوان سلول های بالقوه القاء کننده متاستاز در نظر گرفته می شود و در ۲۶ بیمار مبتلا به سرطان ریه سلول غیر کوچک که مورد مطالعه قرار گرفتند، حداقل یک CTC به ازای ۳ میلی لیتر خون در ۱۷ مورد (یعنی ۶۵٪) گزارش شده است و یک CTM در هر ۳ میلی لیتر خون در ۱۵ نفر ( ۵۸٪) گزارش شد.

ctDNA ممکن است که از تومور اولیه یا تومور متاستاتیک به وجود آمده باشد و در واقع منبع خوبی برای شناسایی پیش ماده متاستاز است. تعیین و شناسایی ژنوتیپ ctDNA مزیت هایی بر ژنوتایپینگ CTC دارد. زیرا ۱- لازم است که CTC ها از مقدار خیلی زیادی سلول های هماتولوژیک درخون جدا شود و این یعنی اینکه نیاز به تسهیلات آزمایشگاهی مجهزی است تا بتوان مقدار کافی CTC برای مطالعه به دست آورد. ۲-CTCها در جریان گردش در خون متحمل آپوپتوز (خزان یاخته ای) و شکنندگی می شوند و این باعث می شود که در مطالعات مختلف تفاوت هایی در میزان CTC داشته باشیم. ۳- بیشتر متدهای تعیین ژنوتیپ ctDNA با حداقل میزان انجام می شود و نیاز به تجهیزات ویژه و خاص ندارد.٤ - ctDNA را می توان همزمان با DNA پلاسمای سلول های معمولی که همیشه در جریان خون وجود دارند انجام داد.

## شکل گیری CTCs و ctDNA

CTC در فرآیند طولانی متاستاز تومور مشارکت دارد. این باور وجود دارد که متاستاز با گروه فرعی CTC های دیده شده در خون بیمار شروع می شود. متاستاز شامل دو مرحله است: مرحله اول، جابجایی و رفتن یک سلول سرطانی به منطقه دیگر است در حالی که مرحله دوم مربوط می شود به توانایی و قابلیت آن سلول سرطانی برای ایجاد کانون های متاستاتیک در آن منطقه جدید. برای اینکه سلول های سرطانی از تومور اولیه جدا شود لازم است که تحت یک پروسه سلولی به نام انتقال اپیتلیال - مزونشیمال (EMT) قرار گیرد. EMT به سلول های سرطانی این اجازه را می دهد که قابلیت حرکت و جنبش پیدا کنند که این باعث می شود تا این سلول ها بتوانند تحت عنوان CTC به جریان خون نفوذ کنند و به گردش درآیند.

رها سازی DNA به داخل جریان خون یک پدیده معمول در بیماران سرطانی است زیرا در این بیماران عمل آپوپتوز و نکروز سلول های سرطانی اتفاق می افتد. متیلاسیون ، متاسیون، تغییرات میکروساتلایت، ادغام DNA و DNA وایرال را می توان درctDNA مطالعه کرد وهمین طور می توان فاکتورهای مشارکت کننده با تومور DNA آزاد شده در جریان خون مثل بارتومور و پرولیفراسیون سلول سرطانی را مورد مطالعه قرار داد. DNA سلول آزاد که در بیماران مبتلا به سرطان ریه پیدا می شود از سلول های بدخیم نکروتیک و سلول های سرطانی توسعه یافته که توسط ماکروفاژ ها آورده می شوند منشا می گیرد و منتج از پاسخ التهابی مزمن نیست.




شکل۲) سلول های آزاد در DNA تومور به شکل های گوناگون در خون وجود دارد ومی تواند اطلاعاتی مثل موتاسیون، ادغام DNA، متیلاسیون وایرال DNA و تغییرات میکروساتیلات فراهم کند.

## روش های شناسایی

شناسایی، شمارش و بررسی مولکولی CTC خیلی متفاوت است، زیرا CTC ها با یک توالی ۱ به ازای هر لکوسیت اتفاق می افتد و مقدار نمونه موجود بسیار محدود است. چندین متد شناسایی و مشخص کردن خصوصیات CTC ها در بیماران مبتلا به سرطان ریه مورد بررسی و آزمایش قرار گرفته اند. بیشتر استراتژی های فعلی شمارش CTC ها اساسا بر اساس نشانگرها و سایز CTC است.

در مورد استراتژی مبتنی بر نشانگر، شناسایی CTC بر اساس نشانگر مولکول چسبنده سطح سلول های اپیتلیال (EpCAM) و نشانگرکراتین است. یکی از متدهایی که به طور شایع مورد استفاده قرار می گیرد آزمون جستجوی سلول CTC است که نشان داده شده است که به خوبی CTC ها را پیدا و گیر می اندازد. تا به امروز FDA تنها سیستم جستجوی سلول را برای شناسایی CTC های خون و ارزیابی پیش آگهی مورد تایید قرار داده است. جستجوی سلول، CTC ها را با استفاده از تکنیک غنی سازی مبتنی بر Ep-CAM جدا می‌کند. همچنین روش نانوتکنولوژی نیز در شناسایی CTC ها مورد مطالعه قرار گرفته است. کازولی و همکارانش مطالعه ای را انجام دادند که در آن مهره های مغناطیسی به همراه آنتی بادی های EpCAM و CK19 و همین طور شناساگر فلوئورسانسی نقاط کوانتومی را برای شناسایی CTC هایی کمتر از ۱۰ CTC در هر میلی لیتر خون با هم ترکیب کردند. هرچند به دلیل اینکه در سرطان ریه، CTC ها اغلب خصوصیات غیر اپیتلیالی دارد و در طی فرآیند EMT نشانگرهای اپیتلیالی خود را از دست می دهد، این شیوه شناسایی غیرموثر است و نتایج ضعیفی را به همراه دارد.

برای فایق آمدن بر محدودیت های استراتژی های مبتنی بر EpCAM، تلاش های زیادی برای طبقه بندی CTC ها بر اساس نشانگرهای EMT آنها و روشن کردن ناهمگونی در CTC ها انجام شده است. اخیرا از متد غنی سازی CTC با CanPatrol استفاده شده است تا با استفاده از نشانگرهای EMT در انواع مختلف بدخیمی ها، CTC ها شناسایی شود. این تکنیک ممکن است که راه حلی را برای این موضوع فراهم نماید زیرا متدهای مبتنی بر EpCAM باعث می شوند که به دلیل از دست رفتن EpCAM در طی فرآیند EMT باعث نقص در شناسایی CTC شوند.

در استراتژی های مربوط به سایز عموما از تراشه های میکروفوئیدی استفاده می شود که در واقع میکرو کانال ها را فیلتر می کند تا CTC های بزرگ تررا ازدیگر مولفه های خونی جدانماید. یک مطالعه گزارش کرد که یک وسیله زیست تراشه میکرو فلوئیدیک مارپیچی قوی می تواند با زمان پردازش سریع ( ۷.۵ میلی لیتر در ۱۰ دقیقه ) و نرخ شناسایی ۱۰۰ ٪ نمونه های جمع آوری شده از بیماران مبتلا به سرطان ریه و سینه که در مراحل پیشرفته هستند (۱۰/۱۰) شناسایی CTC را تقویت کند و قادر است که از ۲۰ تا ۱۳۵ CTC را به ازای یک میلی لیتر جدا کند .

متد دیگر شناسای CTC مبتنی بر سایز یک سیستم microcavity array (سیستم آرایه حفره کوچک) یا MCA است که سیستمی است برای شناسایی CTC ها مستقل از EpCAM.

گزارش شده است که این سیستم در جداسازی CTC از نمونه خون بیمارانی که با سیستم جستجوی سلول به عنوان CTC منفی شناسایی شده بود، موفق بوده است. سیستم MCA یک فیلتر نیکلی ریزساختار با یک MCA مستطیلی(۱۰(٤) حفره ها/ فیلتر) است و شکل و تخلخل MCA طوری است که به طور موثربتواند دریک شرایط با مقاومت جریان پایین سلول های کوچک سرطانی را درحفره های کوچک ( میکروکاویتی ها) شناسایی نماید و همزمان اجازه دهد که دیگر سلول های خون عبور کنند.

سیستم PCR با هدف گذاری بر لیگاند (LT–PCR) سیستمی است که در آن CTC هایی که حاوی اریتروسیت و لکوسیت هستند با یک کونژوگه ای از لیگاند ویژه تومور و یک الیگونوکلوئید سنتز شده بعد از بررسی کمی PCR نشان گذاری شوند. LT–PCR با حساسیت بیشتری کمیت CTCها را در بیماران با سرطان ریه سلول غیرکوچک نشان می دهد. این حساسیت در بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول غیرکوچک در مرحله ۱و ۲ در حدود ۸۰٪، در بیماران در مرحله ۳ در حدود ٦٧٪، و در بیماران در مرحله ٤ در حدود ۹۳ ٪ است. یک مطالعه با استفاده از پروب آدنوویروسی که افزایش فعالیت تلومراز موجود در همه سلول های سرطانی را تشخیص می دهد(اما در سلول های سالم این توانایی را ندارد) سلول های زنده ای را شناسایی کرد که این می تواند CTC را در ٦٥ ٪ از بیماران مبتلا به سرطان ریه شناسایی نماید.

ISET یک تکنولوژی است که بر روی نشانگرهای تومور

اتکا نمی کند و در آن CTC ها به دلیل اندازه بزرگ ترشان در مقایسه با گلبول های سفید در گردش با رو ش فیلتراسیون مستقل از نشانگرهای وابسته به تومور به دام می افتند. فیلتراسیون با استفاده از سیستم ISET می تواند تعداد بیشتری از CTC ها را به دام بیاندازد. محدودیتی که در این زمینه وجود دارد فقط مربوط به شناسایی نمی شود بلکه به کشت نیز مرتبط می شود. اگر ما بتوانیم CTC ها را در محیط آزمایشگاهی کشت و گسترش بدهیم، این فرصت را خواهیم داشت که ژنوتیپ و فنوتیپ سلول های سرطانی را بررسی کنیم. در این رابطه سیستم حساس به حرارت نانوولکرو برای اصلاح CTC برای کشت CTC بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول غیرکوچک مورد مطالعه قرار گرفت. نانوولکر حساس به حرارت در واقع نسل سوم نانوولکرها است که در آن سطوح نانوی پوشیده شده با عامل ضمن اینکه موجودیت و یکپارچگی سلول ها را حفظ می کند باعث بی تحرک شدن CTC ها می شود.

جمع آوری ctDNA به اقدامات درمانی، شناسایی کلینیکی بیماری و ارائه یک روش غیر تهاجمی برای تعیین ژنوتیپ تومور کمک می کند. مقدار ctDNA پلاسما را می توان با استفاده از PCR کمی زمان واقعی (ریل تایم پی سی آر) تعیین کرد. نشان داده شده است که به سطح ۱۲.۵ ng/ml رسیده است. متدهای جدیدی با نام CAPP–Seq (پروفایل کردن شخصی سرطان با توالی عمیق) برای تعیین کمیت ctDNA می توانند ctDNA را در همه بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول غیر کوچکی که در مرحله ۲ تا ٤ هستند و همینطور نیمی از بیمارانی که در مرحله ۱ هستند شناسایی کرد.

## کاربردهای بالینی

در آینده کاربردهای CTC ها تنها محدود به شمارش نخواهد بود .با استفاده ازروش محتوای بالا که بیان پروتئین، مرفومتریک ها، ژنوتیپ و پیش بینی متاستاز را مورد بررسی قرار می دهد می توان به خصوصیات روزانه دسترسی پیدا کرد. سلول های سرطانی در گردش می توانند نشانگر های قابلی در پروسیجرهای تشخیصی ضایعات ریوی باشند. حتی اگر ندول های مشهود از تومور وجود نداشته باشد، می توان CTC ها را در بیماران مبتلا به COPD و بدخیمی های ریوی غیرقابل شناسایی به دست آورد. در کل نرخ شناسایی CTC با مرحله ای که یک بیمار با مشکل NSCLC در آن است و وضعیت متاستاز همبستگی دارد.

نشان داده‌اند که بررسی CTC ازطریق نمونه گیری سریالی از خون می تواند به دارودرمانی مختص به فرد در بیمار مبتلا به سرطان ریه سلول کوچک (SCLC) کمک کند. سلول های سرطانی در گردش قبل از شروع شیمی درمانی، پیش بینی کننده های خوبی برای بقاء در بیماران مبتلا به SCLC که در مرحله ۳ است می باشد. همچنین می توان از شمارش CTC ها برای پیش بینی بقاء کلی (OS) و PFS استفاده کرد. نشان داده اند که بیمارانی که قبل از درمان هیچ CTC در آنها شناسایی نشده است به نسبت بیمارانی که ۱–۳ CTC یا بیش از ۳ تا CTC دارند PFS و OS طولانی تری دارد. در رابطه با ارزیابی بعد از درمان، بیمارانی که بعد از درمان در آنها CTC شناسایی شده است پاسخ ضعیف تری به پروسه های درمانی نشان می دهند.

## بررسی نشانگرهای زیستی CTC

PCR زمان واقعی و بررسی منحنی ذوب برای پیدا کردن جهش های EGFR حساس کننده در سلول های خون موجود در CTC استفاده شدند. بررسی EGFR را همچنین می توان با CTC های گرفته شده با لکه گذاری ایمونوفلوئورسنس انجام داد. بررسی جهش EGFR در DNA گرفته شده از CTC ها نشان از حساسیت بالا از جمله در شناسایی جهش ثانویه در T790M است که نشان از مقاومت به دارو است . با استفاده از نمونه های ctDNA معلوم شد که پیگیری جهش های EGFR در جریان خون باعث می شود که تا ۳٤٤ روز قبل از اینکه بیمار علائم پیشرفت بیماری را نشان دهد جهش T790M شناسایی کرد. نرخ شناسایی جهش T790 در میان بیمارانی که بعد از درمان EGFR–TKI همچنان پیشرفت در بیماری را نشان می دادند در حدود ٤۳.۵٪ بوده است. برای جهش KRAS، گزارش شده است که یک تکنیک آرایه غشاء کلورومتریک می‌تواند جهش KRAS را از CTC در انواع مختلف سرطان ها شناسایی کند. بعد از این یافته ها یک تکنیک آرایه کمی لومینسانس دیگر به نام WCHMA ایجاد شد که قادر است با یک حساسیت ۹۳٪ جهش KRAS را در حداقل ۳ CTC به ازای یک میلی لیتر خون شناسایی نماید. هرچند مدارک جدید دلیل بر این هستند که ctDNA برای بررسی جهش KRAS در بدخیمی های ریه بر CTC DNA ارجحیت دارد زیرا می تواند به نسبت CTC ها باعث شناسایی بیشتر جهش شود.

همچنین ازCTC ها به طور کلینیکی برای شناسایی تنظیم مجدد ژن EML4-ALK در بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول غیرکوچک استفاده شده است تابتوان بیمارانی که مناسب برای دریافت مهارکننده ALK هستند انتخاب شوند. تنظیم مجدد ALK رامی توان در CTC های بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول کوچک با ALK مثبت به وسیله یک تکنیک فیلتراسیون و فیلتر همراه با هیبریداسیون فلوئورسانس درجا(FA–FISH) تعیین کرد. تکنیک FA–FISH شامل یک فیلتر برای شناسایی CTC هایی است که قبلا تحت فیلتراسیون خونی قرار گرفته اند و به دنبال

آن آماده سازی یک منطقه فیلتری برای فیکس سازی سلول ها انجام می شود و با استفاده از تکنیک FISH بررسی سلولی انجام می شود. علاوه بر این می توان با استفاده از ایمونوسایتوشیمی بیان پروتئین ALK را درهر CTC های گرفته شده از بیماران مبتلا به سرطان ریه مشاهده کرد . بررسی FISH فرصتی را فراهم کرد که بتوان از CLC ۱۵۳۵-۱۰ به ازای یک میلی لیتر خون ژن EML٤- ALK را شناسایی کرد و این تنها نیاز به ۷.۵ میلی لیتر از نمونه خون بیمار دارد.

همه این موارد با همدیگر نشان می دهد که می توان خصوصیات اصلاحات ژنتیکی در سرطان های جامد را با تزریق ctDNA از سلول های سرطانی به پلاسما تعیین کرد . به دلیل تهاجمی بودن بیوپسی و اینکه ممکن است ماهیت ناهمگونی در داخل تومور را به هم بریزد نمی توان از بیوپسی های مکرر برای بررسی تغییرات ژنومی به عنوان پیامدی از درمان استفاده کرد. توانایی استفاده از ctDNA به عنوان جایگزینی برای بیوپسی تومورمتاستاتیک روشن تر شده است زیرا بررسی بیان جهش از بیوپسی های زخم متاستاتیک به دلیل اندازه نا کافی بیوپسی با شکست مواجهه شده است اما این بررسی در همه نمونه های ctDNA پلاسما موفق بوده است. هرچند علارغم کاربرد نوید بخش و کارآیی این تکنولوژی ها برای به کارگیری CTC ها برای تشخیص تغییرات ژنومی و پایش پاسخ به درمان در سرطان ریه (مانند یک بیوپسی مایع )، موانعی مثل سیستم های پیچیده ای که نیاز به ظرفیت های آزمایشگاهی سطح بالا دارند، سلول های خونی آلوده و متد استاندارد طلایی تعریف نشده باعث می شود که محدودیت هایی برای این تکنولوژی ها ایجاد شود.

## نتیجه گیری

CTC ها سلول های سرطانی هستند که از طریق بیوپسی مایع خون به دام می افتد و شناسایی می شود و می توان آنها را از نظر ژنتیک و فنوتیپ مورد مطالعه قرار دارد تا داده های خوبی برای درمان سرطان به دست بیاوریم. مقادیر بالینی CTC ها به عنوان نشانگرهای زیستی برای غربالگری سرطان ها در فازهای اولیه، تشخیص و پیش بینی پاسخ به درمان، پیش آگهی و طبقه بندی به طور گسترده ای در سال های اخیر مطالعه شده اند. انتظار می رود که درک درست از بیولوژی CTC و کاربردهای آن در موارد بالینی به پزشکان کمک خواهد کرد تا به درمان هایی برای سرطان ریه دست یابند. مسائل تکنولوژیکی علارغم حساسیت و ویژگی بالا باعث شده اند که کاربرد بالینی متد محدود شود. سال ها طول خواهد کشید تا شناسایی CTC به عنوان روتین در تشخیص سرطان اعمال شود. واضح است که لازم است تحقیقات بیشتری برای ایجاد تکنیک های استاندارد برای جمع آوری نمونه، پردازش و بررسی نمونه ها انجام شود.

## منابع:


1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer2015;136:E359-8

2. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal

A. Global cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin 2015;65:87-108.

3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. CA Cancer J Clin 2015;65:5-29.

4. Kanodra NM, Silvestri GA, Tanner NT. Screening and early de- tection efforts in lung cancer. Cancer 2015;121:1347-56.

5. Infante M, Cavuto S, Lutman FR, Passera E, Chiarenza M, Chiesa G, et al. Long-term follow-up results of the DANTE trial, a randomized study of lung cancer screening with spiral computed tomography. Am J Respir Crit Care Med 2015;191:1166-75.

6. Shlomi D, Ben-Avi R, Balmor GR, Onn A, Peled N. Screening for lung cancer: time for large-scale screening by chest computed tomography. Eur Respir J 2014;44:217-38.

7. Sagawa M, Kobayashi T, Uotani C, Kibe Y, Tanaka M, MachidaY, et al. A survey about further work-up for cases with positive sputum cytology during lung cancer mass screening in Ishikawa Prefecture, Japan: a retrospective analysis about quality assur- ance of lung cancer screening. Jpn J Clin Oncol 2015;45:297-302.

8. Yu L, Shen J, Mannoor K, Guarnera M, Jiang F. Identification of ENO1 as a potential sputum biomarker for early-stage lung can- cer by shotgun proteomics. Clin Lung Cancer 2014;15:372-8.e1.

9. Kim Y, Kim DH. CpG island hypermethylation as a biomarker for the early detection of lung cancer. Methods Mol Biol2015;1238:141-71.

10. Hirales Casillas CE, Flores Fernández JM, Padilla Camberos E, Herrera López EJ, Leal Pacheco G, Martínez Velázquez M. Current status of circulating protein biomarkers to aid the early detection of lung cancer. Future Oncol 2014;10:1501-13.

11. Yu N, Zhou J, Cui F, Tang X. Circulating tumor cells in lung cancer:

detection methods and clinical applications. Lung 2015;193: 157-71.

12. Paci M, Maramotti S, Bellesia E, Formisano D, Albertazzi L, Ricchetti T, et al. Circulating plasma DNA as diagnostic bio- marker in non-small cell lung cancer. Lung Cancer 2009;64:92-7