

*Osmangazi Journal of Medicine**e-ISSN: 2587-1579***Diyabet ve Kanser Biyobelirteçleri: Hücre Dışı DNA ve RNA**

Diabetes and Cancer Biomarkers: Cell-Free DNA and RNA

Sema Bolkent 

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilimdalı, İstanbul,Türkiye

Correspondence / Sorumlu yazar:

Sema BOLKENT

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp
Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilimdalı,
İstanbul,Türkiye**e-mail:** bolkent@iuc.edu.tr**Received :** 24.09.2025**Accepted :** 05.02.2026

Abstract: This review focuses on cell-free (cf)DNA and cfRNA biomarkers, describing the latest developments in their application to diabetes and various cancers. Both diabetes and cancer involve several shared pathophysiological pathways, including chronic inflammation, oxidative stress, and epigenetic changes. These changes can be detected in blood or other bodily fluids, which are referred to as liquid biopsies. cfDNA reflects the various molecular characteristics e.g., methylation of the origin tissue. cfRNA biomarkers such as messenger(m)RNA, micro(mi)RNA, circular RNA, long non-coding RNA, indicate the post-transcriptional modifications and expression characteristics of RNAs. In recent years, circulating cf- DNA methylation, mRNA, and miRNAs have been identified as potential cancer biomarkers. cfDNA analysis studies utilize technologies and a variety of methods including polymerase chain reaction-based single-locus tests as well as genome-wide next-generation sequencing. The isolation of circulating tumor (t)DNA from blood or urine is a proposed non-invasive molecular diagnostic method for understanding tumor biology and monitoring treatment response. Circulating unmethylated insulin DNA is considered a diabetes biomarker as it is associated with human beta cell death. Liquid biopsies show promise in the non-invasive detection of tissue-specific pathologies and offer a variety of potential clinical applications. As technology advances and more evidence emerges, cell-free nucleic acids may become the preferred method for diagnosing and personalizing treatment of cancer and diabetes innovatively.

Keywords: Cell-free DNA and RNA, liquid biopsy, biomarkers, diabetes, cancer

Etik Bilgiler Etik Kurul Onayı: Bu makale bir derleme yazısı olduğu için Etik Kurul Onayı alınmasına gerek yoktur.

Telif Hakkı Devir Formu: Yazar tarafından Telif Hakkı Devir Formu imzalanmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Hakem değerlendirmesinden geçmiştir.

Yazar Katkı Oranları: Bu derleme tamamen yazarın kendi eseri olup başka hiçbir yazar katkısı alınmamıştır

Çıkar Çatışması Bildirimi: Yazar çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir

Destek ve Teşekkür Beyanı: Yazar bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir.

Özet: Bu derleme, hücre dışı (hd) DNA ve hdRNA biyobelirteçlerine odaklanarak bunların diyabet ve çeşitli kanserlerde kullanımına ilişkin gelişmeleri açıklamaktadır. Diyabet ve kanser hastalıklarının ortak patofizyolojik yolları olarak kronik inflamasyon, oksidatif stres ve epigenetik değişiklikler sayılabilir. Bu değişikliklerin saptanmasında yaygın olarak kullanılan kan ve diğer vücut sıvıları sıvı biyopsi olarak adlandırılmıştır. hdDNA, köken dokunun çeşitli moleküler özelliklerini örneğin, metilasyonunu yansıtır. hdRNA biyobelirteçleri olarak haberci(m)RNA, mikro(mi)RNA, dairesel RNA, uzun kodlamayan RNA gibi moleküller RNA'ların transkripsiyon sonrası değişikliklerini ve ekspresyon özelliklerini gösterir. Son yıllarda dolaşımdaki hdDNA metilasyonu, mRNA ve miRNA'lar potansiyel kanser biyobelirteçleri olarak tanımlanmaktadır. hdDNA inceleme çalışmalarında, polimeraz zincir reaksiyonu temelli tek lokus analizleri yanı sıra genom çapında yeni nesil dizileme gibi çeşitli yöntemler ve teknolojiler de kullanılmaktadır. Kan veya idrardan izole edilen dolaşımdaki tümör (t)DNA'sı, tümörün biyolojik davranışını anlamak ve tedaviye yanıtı izlemek için invaziv olmayan moleküler tanı yöntemi olarak önerilmektedir. Dolaşımdaki metillenmemiş insülin DNA'sı insan β hücre ölümü ile ilişkili olduğundan diyabet hastalığının biyobelirteci olarak düşünülmektedir. Sıvı biyopsiler, dokuya özgü patolojilerin minimal invaziv tespiti konusunda umut vaat etmekte ve çeşitli potansiyel klinik uygulamalar sunmaktadır. Teknoloji ilerledikçe ve daha fazla kanıt ortaya çıktıkça, serbest nükleik asitler kanser ve diyabetin yenilikçi bir şekilde teşhis ve kişisel tedavisi için tercih edilen yöntemler haline gelebilir.

Anahtar Kelimeler: Hücre dışı DNA ve RNA, sıvı biyopsi, biyobelirteç, diyabet, kanser

How to cite/ Atıf için: Bolkent S, Diyabet ve Kanser Biyobelirteçleri: Hücre Dışı DNA ve RNA, Osmangazi Journal of Medicine, 2026;48(2):408-415

1. Dolaşımdaki hücre dışı DNA ve RNA biyolojisi

Dolaşımdaki serbest hücre dışı (hd)DNA ve hdRNA kan (serum veya plazma), tükürük, idrar, plevral ve beyin-omurilik sıvıları içeren sıvı biyopsi ile hastalıkların teşhis ve tedavinin izlenmesinde hastaya kolaylık sağlayan nükleik asitlerdir. hdDNA konsantrasyonu normal fizyolojik koşullarda ~3.6 ila 5 ng/ml arasında değişir. hdDNA'nın çoğunluğu, ilişkili histon ve bağlayıcı protein ile birlikte ~180 baz çifti uzunluğunda çift sarmallı DNA parçaları olarak bulunur (1). Dolaşımdaki tümör hücreleri ilk kez sıvı-otopsi ile mikroskopta tanımlanmıştır. Kanda, metastatik cilt lezyonlarındaki tümör hücreleriyle aynı olan tümör hücreleri bulunmuştur (2). Günümüzde dolaşımdaki az sayıdaki tümör hücresini izole etmek için farklı teknikler kullanmak yerine vücuttaki çeşitli dokulardan salınan ve farklı uzunluklarda parçalanmış DNA moleküllerinin bir karışımından oluşan hdDNA'nın klinik kullanımının avantajlı olduğu ön görülmektedir. Ayrıca dolaşımdaki RNA'lar çeşitli biyolojik sıvılarda tespit edilebildiği için invaziv olmayan tanı amacıyla kullanılabilir. Dolaşımdaki RNA'yı hdDNA'dan ayıran en önemli farklardan biri RNA molekülünün yarılanma ömrünün kısa olmasıdır. Araştırmalar çevrilmemiş bölgelerdeki cis-düzenleyici unsurların, UA bakımından zengin dizilerin RNA dayanıklılığının önemli bir belirleyicisi olduğunu göstermiştir (3). Dolaşımdaki RNA'ların ana kaynağının apoptoz, nekroz gibi hücre ölümleri ve aktif salgılanma olduğu ileri sürülmektedir (4). Ortak biyobelirtecini tanımlama, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) - Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH) tarafından normal biyolojik ve patojenik süreçlerin veya terapötik müdahaleye verilen yanıtların bir göstergesi olarak ölçülebilen bir özellik şeklinde ifade edilmektedir (5). RNA biyobelirteçleri sadece anlık ekspresyon analizini ifade etmez aynı zamanda dokuya özgü transkriptleri ve transkripsiyon sonrası değişiklikleri içeren RNA moleküllerini de kapsar (6). hdDNA, apoptotik veya nekrotik hücrelerden dolaşıma, diğer vücut sıvılarına salınır ve köken dokusunun çeşitli moleküler özelliklerini korur. Bu nedenle köken dokunun nükleozomal organizasyonu ve nukleaz içeriği, plazma DNA moleküllerinin parçalanma boyutunu etkiler. Ayrıca bu moleküllerin metilasyonu üzerinden başlangıç doku hakkında fikir de edinilebilir (7). Diabetes mellitus (DM), β hücrelerinin insülin salgılayıcı kapasitesinin önemli ölçüde azalması veya insülini kullanamaması ile ortaya çıkar. Akirav ve arkadaşları tarafından demetilasyon indeksinin tip I diyabet hastalarında anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca demetile insülin1 DNA'sının, STZ-diyabetik

farelerin serumunda arttığı saptanmıştır (8). Plazma hdDNA'sındaki 5-hidroksimetilsitozin profillerinin diyabetik böbrek hastalığının moleküler özelliklerini yansıttığı bildirilmiştir (9). Kanseri epigenetiği alanındaki çalışmalar, metilasyon gibi DNA histon değişiklikleri, nükleozom yapısı ve kodlamayan RNA'lardan özellikle mikro(mi)RNA ekspresyonu ile yeniden bir programlama olduğunu göstermiştir. DNA metilasyonu, CpG dinükleotidleri içindeki sitozin halkasının 5. karbonunda gerçekleşir. Son çalışmalarda DNA metilasyonu tümörün erken evre teşhisi, prognozu ve takibi için umut verici bir belirteç olarak tanımlanmaktadır (10). RNA metilasyonu ile ilişkili genlerin analizinin mesane kanseri prognozunda ve immünoterapiye yanıtın izlenmesinde önemli olduğu gösterilmiştir (11). Son yıllarda dolaşımdaki hücre dışı ribonükleik asitler örneğin; mRNA ve miRNA'lar potansiyel kanser biyobelirteçleri olarak tanımlanmaktadır (12,13). miRNA'lar hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması ve hücre ölümü gibi süreçlerde önemli düzenleyiciler olarak rol oynarlar. Diffüz büyük B hücreli lenfoma hastalarının serumunda kontrollere göre miRNA seviyesinin yüksek olduğu saptanmıştır (14). Uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar), 200 nükleotidi aşan uzunlukta, protein kodlamayan ve hücre içinde apoptoz, tümör mikro çevresi gibi birçok biyolojik olayda iş gören RNA molekülleridir. lncRNA *H19*, çeşitli kanser türlerinde farklı şekilde ifade edilmektedir. Genetik değişiklik analizleri, *H19*'daki değişiklikler ile tiroit karsinom hastalarının genel sağkalımı arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu göstermiştir (15). lncRNA *H19* aynı zamanda diyabet patogeneğinde glukoz metabolizması ile ilişkilendirilmiştir (16). Kodlamayan RNA'lar sınıfından olan dairesel RNA'lar hayvanlarda ve insanlarda yaygın olarak bulunur. Diyabet hastalığında adacık hücrelerinde miR7 ekspresyonunu düzenleyen dairesel RNA olarak Cdr1as bildirilmiştir. Adacık hücrelerinde Cdr1as'ın aşırı ekspresyonunun hem insülin içeriğini hem de salgılanmasını önemli ölçüde artırdığı saptanmıştır (17). Özofagus kanser hücrelerinde ağ analizi ile iki potansiyel dairesel RNA-001059 ve -000167/miRNA ilişkisi bulunmuştur (18). Kolorektal kanserde hücre çoğalması ve invazyonunda hsa-dairesel RNA-001569 yeni bir biyobelirteç olarak ileri sürülmüştür (19). Akciğer kanseri hücre hatlarında (A549 ve NIC-H460) dairesel RNA-ITCH'nin miR-7 ve miR-214 ekspresyonunu artırdığı ve böylece Wnt/ β -katenin sinyalini baskılayarak kanser hücrelerinin çoğalmasını düzenlediği bildirilmiştir (20). Kantitatif gerçek zamanlı (qRT)-polimeraz zincir reaksiyon (PZR) analizi ile dolaşımdaki miR-126

düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla tip I diyabetik hastalarda önemli ölçüde düşük olduğu saptanmıştır. Tip 1 diyabetli hastaların miR-126 düzeylerinin diyabetin özellikle vasküler komplikasyonları ile ilişkili olduğu bulunmuştur (21). Pankreas β hücrelerindeki miR-29 ekspresyonunun, insülin salgısında meydana gelen bozukluklar nedeniyle diyabete neden olduğu bildirilmiştir. β hücrelerinin aşırı besin yüküne cevap olarak miR-29 aracılığıyla sistemik inflamasyon seviyesini ve glikoz homeostazını düzenleyebileceği gösterilmiştir (22).

2. Diyabet ve kanser tedavisinde sıvı biyopsiler

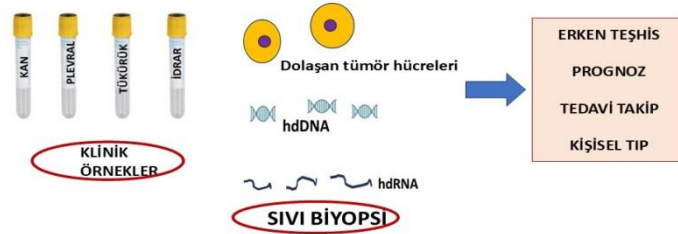
Sıvı biyopsiler doku biyopsilerinden daha hızlı ve kolay tekrarlanabilirler, ayrıca kanserle ilgili gerçek zamanlı bilgi sağlayarak alternatif tedavi seçenekleri sunabilirler. Kan, idrar ve diğer sıvılardan elde edilen sağlıklı kişilere ait hdDNA ve tümör kaynaklı DNA (tdDNA) farklılıklar göstermektedir (Şekil.1). Leon ve arkadaşları (1977), kanser hastalarının serumunda sağlıklı bireylere göre daha yüksek hdDNA konsantrasyonları saptamışlardır (23). Underhill ve arkadaşları tdDNA'sının dolaşımdaki hdDNA'dan daha kısa olduğunu göstermişlerdir. tdDNA'sının invaziv olmayan kanser taramasında klinik kullanım için uygun olabileceği belirtilmiştir (24). Sıvı biyopsi uygulaması 2016 yılında FDA tarafından, doku biyopsisi yapılamayan küçük hücreli dışı akciğer kanseri vakalarında epidermal büyüme faktörü reseptörü hedefli tedaviden fayda sağlayacak hastaları belirlemek için onaylanmış ve klinik uygulamaya geçirilmiştir (25). Kandan hdDNA'nın izolasyonu ve miktarının belirlenmesi için PZR temelli tek lokus testlerinden genom çapında yaklaşımlara kadar çeşitli yöntemler ve teknolojiler mevcuttur. hdDNA numunesinde farklı mutasyon tespit yöntemleri olarak örneğin; Sanger dizileme, tüm ekzom/genom dizileme, kantitatif PZR, dijital PZR, dijital damlacık PZR, yeni nesil dizileme kullanılmaktadır (26). Dolaşımdaki kanser hücrelerinin genetik değişimlerini içeren tdDNA'sı ileri evre pankreas, ovaryum, kolorektal, mesane, meme, melanom, hepatosellüler, baş-boyun ve gastroözofajiyal kanserli hastaların %75'inden fazlasında dijital PZR temelli teknolojiler ile saptanmıştır (27). Sıvı biyopsiler tdDNA mutasyon yükünü uzun süre izlemek ve hastalık nüksünü bildirmek için çok fazla test örneğine imkan sağlar. Mazel ve arkadaşları dolaşımdaki tümör hücrelerinde immün kontrol noktası düzenleyicilerinden PD-L1 ekspresyonunu Western blot, immünositokimya ve akım sitometri yöntemleri ile göstererek immün kontrol noktası blokajı uygulanan kanser hastalarının izlenmesinde sıvı biyopsi yönteminin uygun olacağını belirtmişlerdir (28). Bu nedenle, sıvı biyopsisi tümörün biyolojik

davranışını anlamak ve tedaviye yanıtını öngörmek için önemli bir araçtır. Kan veya idrardan izole edilen dolaşımdaki tdDNA'sı, özellikle biyopsi sonuçları kesin olmayan hastalarda tümörle ilişkili epidermal büyüme faktör reseptör mutasyonlarını güvenilir bir şekilde tanımlayabilen invaziv olmayan moleküler bir tanı yöntemi olarak önerilmiştir (29). Kolorektal kanserin erken teşhisi için dışkı testleri yerine kan biyobelirteçleri üzerine yapılan araştırmalar, organa spesifik tümör belirteci olarak kanda yüksek seviyede metillenmiş septin9 tespit edilebildiğini göstermektedir (30). Plazma hdDNA'sının uç parçalanma kalıpları biyobelirteç olarak kullanılarak, kanser teşhisini mümkün kılan tanı modelleri makine öğrenimi temelli bir sistem ile geliştirilmiştir (31,32). Mathios ve arkadaşları da (2025), makine öğrenme temelli bir model oluşturmuş ve hastalık riski yüksek bireylerin beyin tümörü tespitinde invaziv olmayan yöntemle genom çapında hdDNA parçalanma analizlerinin kullanılabileceğini bildirmişlerdir (33).

Tip 1 ve tip 2 diyabet gelişiminde interlökinler, immün sistem düzensizliği ile metabolik bozukluk arasında işlev gören moleküllerdir. Interlökin (IL)-1 β , IL-6 ve IL-17 gibi proinflamatuvar sitokinler diyabet gelişiminde adacık iltihabına ve mikrovasküler hasara katkıda bulunur (34). IL-10, TGF- β ve IL-33 gibi düzenleyici fonksiyonlara sahip sitokinlerin β hücre hasarını önlediği ileri sürülmüştür (35). miRNA-29/TNF-reseptör ilişkili faktör 3 (TRAF3) ile düşük dereceli inflamasyonun diyabet gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (22). İnsülin benzeri büyüme faktör bağlayıcı protein (IGFBP)-1 veya IGFBP-2 hipermetilasyonunun tip 2 diyabet (T2DM) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, hipermetile IGFBP-1 ve IGFBP-2 biyobelirteçleri annenin dolaşımında tespit edilerek metilasyon seviyesi yanı sıra parça uzunluk analizleri ile fetüste T2DM'nin epigenetik değişikliklerini belirlemek mümkün olabilir (36). β hücreleriyle ilişkili belirli genlerin metilasyon verileri makine öğrenme modeli kullanılarak değerlendirildiğinde glukokinaz, adacık amiloid polipeptidi ve Kir6.2 kanal proteinini kodlayan *KCNJ11* düzeylerinin, T2DM hastaları ile sağlıklı kontrol grupları arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiği tespit edilmiş ve bunların klinik biyobelirteçler olma olasılığı vurgulanmıştır (37). Nefropati gelişmiş ve gelişmemiş diyabet hastalarının plazma hdDNA profilleri incelendiğinde, diyabetik nefropati vakalarında hdDNA'ların sonlanma bölgelerinin "CC" ile başlayan belirgin bir parçalanma kalıbı gösterdiği bunun yanı sıra farklı boyutlarda profil ve artmış konsantrasyon özelliklerine sahip olduğu ve klinik biyobelirteç değeri taşıdıkları ileri sürülmüştür (38).

Dolaşımdaki metillenmemiş insülin DNA'sı insan β hücre ölümü ile ilişkili olduğundan DM biyobelirteci olarak veya pankreas nakli geçiren bireylerin izlenmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir (39,40). Aday biyobelirteçlerin etkinliklerinin yeni

çalışmalarla kesinleştirilmesi ile diyabet erken tanısında ve kişiye yönelik diyabet yönetiminde ihtiyaç duyulan minimal invaziv yöntem ihtiyacını karşılayabileceği düşünülmektedir.



Şekil 1. Hücre dışı nükleik asitlerin diyabet ve kanser uygulamaları

3. Kan ve diğer materyallerden hdDNA ve RNA eldesi

hdDNA ve hdRNA analizinde örneklerin alınması ve hazırlanmasının standart bir yöntemle olması kritik bir öneme sahiptir. Kandan serbest nükleik asitlerin ve küçük kodlamayan RNA'ların izolasyon yöntemleri arasında farklılıklar bulunmaktadır. Araştırmacılar plazma örneklerinde hdDNA miktarını etkileyen çeşitli değişkenler arasında üç farklı saflaştırma kitini, tam kanın işlenmesinden önceki saklama süresini, EDTA ve Streck kan alma tüplerini ve santrifüj şekillerini karşılaştırmışlar. Ortalama saklama süresi dokuz yıl olan arşiv plazma örneklerinde hdDNA tespiti yapabildiklerini bildirmişlerdir (41). Kandan hdDNA elde etmek için örnek dört saat kadar bekletilecekse EDTA'lı tüplerin, oda ısısında daha uzun süre örneğin, dört güne kadar bekletilmesi için koruyucu tüplerin kullanılması önerilmektedir (42). Streck ve CellSave tüpleri, 48 saatte EDTA tüplerine göre tDNA'yı daha iyi bir şekilde stabilize etmektedir (43). Diefenbach ve arkadaşları ticari kitleri karşılaştırdıklarında, spin kolon temelli kitlerin manyetik boncuk ticari kitlere göre daha iyi hdDNA eldesi sağladığını bildirmişlerdir (44). Page ve arkadaşları ise biyobankada uzun süre saklanan (>12 yıl, -80 °C) plazma örneklerinden miRNA analizi için ticari kit kullandıklarında tekrarlanabilir sonuçlar aldıklarını belirtmişlerdir (45). MEDLINE® taraması ile preanalitik değişkenler ve hasta faktörleri kapsamında sistematik bir araştırma sonucu dolaşımdaki hdDNA analizine yönelik kılavuz

hazırlanmıştır. Kanın içerdiği farklı hücreler ve serbest makromoleküller nedeniyle heterojen bir yapıya sahip olduğuna ve kan hücrelerinden kaynaklanan DNA'nın hdDNA'yı kontamine edebileceğine dikkat çekilmiştir (46). Ayrıca organ nakli sonrasında, toplam hdDNA'nın çok küçük bir kısmı alıcının kanında dolaşan donör kaynaklı (dd)hdDNA'yı da içerdiğinden allogreft hasarı durumunda, dolaşıma daha yüksek miktarlarda dd-hdDNA salınabilir (47). İnsan papillomavirus kaynaklı kanserlerin tespiti için tDNA kan testi olan NavDx® kullanımı onaylanmıştır (48). RARE-seq (sekanslama yoluyla zenginleştirme analizi için hdRNA parçalarına rastgele bağlanma ve afinite yakalama) yönteminin dolaşımdaki tDNA'sı analizine göre daha hassas olduğu ve tümör kaynaklı RNA'yı (tRNA) saptayabildiği bildirilmiştir (49).

4. Tümör ve diyabet dinamiklerini değerlendirmek için dolaşımdaki DNA ve RNA

Sıvı biyopside hdDNA incelemeleri tek nükleotit değişiklikleri, indeller, DNA kopya sayısı değişiklikleri ve anormal DNA hipermetilasyonu gibi kanserle ilişkili genetik değişikliklerin tespit edilmesini sağlar. Bunun için PZR temelli mutasyonlara özgü hassas teknikler örneğin, damlacık dijital PZR yöntemi ile hdDNA'da %0.001 alel sıklığında bulunan değişiklikler tespit edilebilir (50). hdDNA'nın yarı ömrü bir saat veya daha az olduğundan, ameliyattan sonra hasta plazmasındaki

hdDNA hastanın çıkarılan tümöründe var olduğu bilinen kalıcı mutasyonlar veya diğer değişiklikler açısından analiz edilebilir. Bu analiz ile elde edilen moleküler bilgiler tedavi direncine yol açan genetik değişiklikleri saptamada önemli rol oynar (51). Dolaşımdaki tDNA'sının yeni nesil dizilemeye dayalı bir yöntem kullanılarak metastatik meme kanserinde doğru bir şekilde tespit edildiği ve hastalara tDNA sonuçlarına göre hedefli tedavi uygulandığı bildirilmiştir (52). tDNA örneklerinde KRAS gen mutasyonlarının saptanması için metastatik kolorektal kanserli hastalardan hazırlanan panelde %99 özgüllük olduğu bildirilmiştir. Ayrıca hastaların plazma ve tümör dokusundaki KRAS gen mutasyonlarının %95 anlamlı uyumluluk gösterdiği bulunmuştur (27). Huang ve arkadaşları (2017), beyin tümörü olan çocuklardan alınan beyin-omurilik sıvısına ait tDNA'sında histon H3 gen mutasyonunu ilk kez Sanger dizileme ve mutasyona özgü primerler kullanarak nested-PZR teknikleri ile tespit ettiler. Sıvı biyopsinin mutasyon durumunu küçük doku örneklerine göre daha doğru bir şekilde yansıttığını gösterdiler (53). tDNA tespiti genellikle serum karsinoembriyonik antijen yükselmesinden ve radyografik değişikliklerden önce gerçekleşmektedir. Sui ve arkadaşları, 8 hücre dışı miRNA ile 9 eksozomal miRNA'nın birlikte tespitinin erken evre mide kanseri tanısında başarıyı artırdığını saptamışlardır. Araştırmacılar ameliyat sonrası serum örneklerinde miRNA ekspresyon düzeylerinde saptanan azalma ile panelin klinik uygulama için özgün olduğunu bildirmişlerdir (54). Bir başka çalışma mide kanserini teşhis etmede yedi panelin sonuçlarına göre, hdRNA belirteçlerinin hdDNA belirteçlerinin aksine yüksek duyarlılık ve düşük özgüllük gösterdiğine işaret etmektedir. Bu çalışmada miR-421'in teşhis etkinliğinin geleneksel tümör belirteçlerinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir (55). Atamni ve arkadaşları çalışmalarında dolaşımdaki miRNA'ları glisemik kontrolün ve diyabetle ilişkili vasküler süreçlerin düzenlenmesinde aday moleküler sinyaller olarak vurgulamışlardır. Prediyabetik ve kontrol grubu bireyler arasında miRNA'ların farklı ekspresyon sonuçlarına göre prediyabete geçişle ilişkili erken düzenleyici değişiklikleri yansıtabilecek miRNA panelini önermişlerdir (56). Transpozonlardan ve diğer tekrarlayan elemanlardan kaynaklanan RNA'ların kanser hastalarının hücre dışı transkriptomunda zenginleştiğini ve bu RNA'ların hastalığın doğru sınıflandırılması için imza görevi gördüğü ileri sürülmüştür. RNA sıvı biyopsileri için COMPLETE-seq teknolojisi kullanarak hücre dışı RNA transkriptomu geniş bir şekilde tanımlanmıştır (57). Mutant KRAS (G12C) sinyalinin belirli kodlamayan RNA'lar, transpozon eleman RNA'lar ve mRNA'ların salgılanmasına yol açtığı ve bunların

bazılarının akciğer adenokarsinomlu hastalarının sağkalımı için prognostik bir faktör olduğu gösterilmiştir (58). Plazma hdDNA ve hdRNA'daki değişiklikleri eş zamanlı tespit edebilen yeni bir sıvı biyopsi testi ile metastatik prostat kanseri direnç mekanizmaları hakkında detaylı bilgiler sağlanabileceği bildirilmiştir (59). Son yıllarda araştırmacılar mesane kanserinin göstergesi olan fibroblast büyüme faktörü reseptör 3 mutasyonu ve DNA metilasyon testlerini birleştiren, Urodiag® adlı yüksek doğrulukta idrar bazlı yeni bir test geliştirmişlerdir. Bu test kas dokusuna invazyonu olmayan mesane kanserli hastalarda nüks izleme için önerilmektedir (60).

5. Kanser ve diyabet teşhisinde hdDNA ve RNA'nın klinik uygulamaları

Diyabet hastalığı aynı zamanda birçok kanser türü için risk faktörüdür. İnsülin, hücre çoğalmasını destekleyen doğrudan veya insülin benzeri büyüme faktörü-1 yoluyla kansere neden olan güçlü büyüme faktörlerinden biridir (61). Diyabet ve kanser için benzer patofizyolojik mekanizmalar arasında hücresel hasar, inflamasyon ve genetik değişikliklerin rolü büyüktür (62-64). Biyoinformatik analiz kullanarak diyabet ve kanser hastalarında anlamlı biyobelirteç olarak 10 kritik gen yeni terapötik hedef olarak gösterilmiştir (65). hdDNA'nın kanser tespiti için yüksek duyarlılığa (%93-98) ve özgüllüğe (%94-100) sahip olduğu bilinmektedir (36). Kanser hastaları genellikle sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek hdDNA seviyeleri içerirler. Sıvı biyopsiler akciğer, kolorektal, mide, meme ve beyin kanserleri dahil olmak üzere birçok kanserin taranmasına ve erken evrede teşhisine yardımcı olabilir. Özellikle akciğer kanserinde tedavi seçimi için maliyet bakımından etkin bir yaklaşım sağlayabilir (66). Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde sıvı biyopsinin onaylanmasıyla klinik uygulamaya geçilmiştir (25). hdDNA hastalıkların teşhisi yanı sıra tedavinin takibi ve özellikle hastalığın minimal kalıntı tespitinde klinik uygulamalarda tercih edilir (67). mSEPT9 (Epi proColon) testi, FDA tarafından kolorektal kanser taraması için 2016'da onaylanan ilk kan testidir (68). Daha sonra FoundationOne®Liquid CDx testi FDA tarafından onaylanan, tüm kanser türlerini kapsayan hdDNA kullanılan kapsamlı bir genomik profil oluşturma testidir (69). Solid kökenli kanserlerde bu testin mikrosatellit instabilitesi ve kan tümör mutasyon yükü gibi genomik değişiklikleri doğru ve tekrarlanabilir bir şekilde tespit ettiği gösterilmiştir (70). Fakat bu testler geniş popülasyonlarda araştırılmadıkları için henüz rutin uygulamalarda yaygın olarak kullanılmamaktadırlar. hdDNA

analizinin doğruluğunda yüksek yanlış pozitif oranlarının büyük bir sorun teşkil ettiği bildirilmiştir. Bu durum sağlıklı bireylerde kanserle ilişkili sinyallerin yanlış yorumlanması, az miktarda kararsız hdDNA veya örneklem zamanlamasından kaynaklanabilir. Bu nedenle optimal örneklem zamanlarını saptamak için çok sayıda testin yapılması, hem deneysel hem de hesaplamalı yöntemlerle plazmadaki tümör sinyallerinin doğruluğunun artırılması önemlidir (71).

RNA profilleri hastalığın patofizyolojisinde rol oynayan biyolojik süreçlerle bağlantılı gen özelliklerini içerir. Dolaşımdaki hdRNA profillerini incelemek için sağlıklı ve kanser hastalarının plazma örneklerinde RNA dizileme analizi yapıldığında, özellikle miR-125a-5p ve miR-1343-3p'nin belirgin olarak azalmasının kolon, prostat ve pankreatik kanser tipleriyle ilişkisi olduğunu göstermiştir (72). Epigenetik faktörlerin özellikle 5-hidroksimetilsitozin (5hmC)'lerin diyabetik komplikasyonların gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir. Dolaşımdaki hdDNA'da epigenetik belirteçlerin 5hmC-Seal testi ile klinik olarak hedeflenmesi T2DM yönetimine uygun destek olarak önerilmektedir (73). Nazofarenks karsinomu (NPC) Epstein-Barr virüs (EBV) enfeksiyonu ile yakından ilişkilidir. Plazmadaki EBV kopya sayısı, NPC hastalarında viral reaktivasyonun ve tümör

yükünün boyutunu yansıtır. Bu karsinom tanısı ve takibi için sıvı biyopsi aracılığıyla plazmada ölçülen EBV DNA ve RNA'sının klinik olarak değerli bir biyobelirteç olduğu kanıtlanmıştır (74). İnsan papilloma virüs (HPV) kaynaklı orofaringeal kanser biyobelirteci olarak kan testi kullanılmaktadır (48). Sıvı biyopside hdRNA ile hdDNA'nın birlikte analizinin hem neoplazmların tanısında hem de tümör biyolojisinin anlaşılmasında yararlı bilgiler sağlayabileceği ileri sürülmüştür (75). Plazmadaki hdDNA'nın parçalanma şekilleri, sıvı biyopside potansiyel biyobelirteç olarak düşünülmektedir. hdDNA ve hdRNA profilleri, semptomlardan önce sinyal verebildiği için diyabet ve çeşitli kanserlerin teşhisinde ayrıca tedaviye yanıtın izlenmesinde minimal invaziv biyopsi yöntemi olarak önemini korumaktadır.

2. Sonuç

Sıvı biyopsiler, doku biyopsilerine alternatif olarak çeşitli klinik uygulamalarda hala ciddi umut vaat etmektedir. hdDNA ve hdRNA analizlerinin klinikte uygulanabilmesi için tüm biyobelirteçler için daha fazla standardizasyona ihtiyaç vardır. Ayrıca hücre dışı nükleik asitlerin diyabet ve kanserlerin klinik belirtileriyle ilişkilerini yorumlamak için, hdDNA ile hdRNA'nın temel biyolojisi üzerine daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Suzuki N, Kamataki A, Yamaki J, Homma Y. Characterization of circulating DNA in healthy human plasma. *Clin Chim Acta*. 2008;387(1-2):55-8.
2. Eibl RH, Schneemann M. Cell-free DNA as a biomarker in cancer. *Extracell Vesicles Circ Nucl Acids*. 2022;3:195-215.
3. Su JY, Wang YL, Hsieh YT, Chang YC, Yang CH, Kang Y, et al. Multiplexed assays of human disease-relevant mutations reveal UTR dinucleotide composition as a major determinant of RNA stability. *Elife*. 2025;13:RP97682.
4. De Sota RE, Quake SR, Sninsky JJ, Toden S. Decoding bioactive signals of the RNA secretome: the cell-free messenger RNA catalogue. *Expert Rev Mol Med*. 2024;26:e12.
5. <https://health.uconn.edu/pepper-center/wp-content/uploads/sites/272/2023/12/BEST-Biomarkers-EndpointS-and-other-Tools-Resource.pdf>
6. Guo CJ, Xu G, Chen LL. Mechanisms of long noncoding RNA nuclear retention. *Trends Biochem Sci*. 2020;45(11):947-960.
7. Dennis Lo YM, Diana S, Jiang P, Chiu WK. Epigenetics, fragmentomics, and topology of cell-free DNA in liquid biopsies. *Science*. 2021;372(6538).
8. Akirav EM, Lebastchi J, Galvan EM, Henegariu O, Akirav M, Ablamunits V, et al. Detection of β cell death in diabetes using differentially methylated circulating DNA. 2011; 108 (47) 19018-19023.
9. Chu JL, Bi SH, He Y, Ma RY, Wan XY, Wang ZH, et al. 5-Hydroxymethylcytosine profiles in plasma cell-free DNA reflect molecular characteristics of diabetic kidney disease. *Front Endocrinol*. 2022;13:910907.
10. Jiang Y, Sun J, Chen Y, Cheng L, Feng S, Wang Y, et al. NSUN2-mediated RNA m5C modification drives multiple myeloma progression by enhancing the stability of HIP1 mRNA. *Sci Rep*. 2025; 15: 27888.
11. Li B, Gan J, Li T, Chen J, Kuanh Y, Li J, et al. Comprehensive analysis of RNA methylation-related genes to identify molecular cluster for predicting prognosis and immune profiles in bladder cancer. *Sci Rep*. 2025;15, 9147.
12. Zaporozhchenko IA, Ponomaryova AA, Rykova EY, Laktionov PP. The potential of circulating cell-free RNA as a cancer biomarker: challenges and opportunities. *Expert Rev Mol Diagn*. 2018;18(2):133-145.
13. Jin N, Kan CM, Pei XM, Cheung WL, Ng SSM, Wong HT, et al. Cell-free circulating tumor RNAs in plasma as the potential prognostic biomarkers in colorectal cancer. *Front Oncol*. 2023;13:1134445.
14. Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of

- patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2008;141(5):672-5.
15. Sahin Y. LncRNA H19 is a potential biomarker and correlated with immune infiltration in thyroid carcinoma. *Clin Exp Med.* 2023 Jul;23(3):841-851.
 16. Zhang N, Geng T, Wang Z, Zhang R, Cao T, Camporez JP, et al. Elevated hepatic expression of H19 long noncoding RNA contributes to diabetic hyperglycemia. *JCI Insight.* 2018 ;3(10):e120304.
 17. Xu H, Guo S, Li W, Yu P. The circular RNA Cdr1as, via miR-7 and its targets, regulates insulin transcription and secretion in islet cells. *Sci Rep.* 2015;27;5:12453.
 18. Su H, Lin F, Deng X, Shen L, Fang Y, Fei Z, et al. Profiling and bioinformatics analyses reveal differential circular RNA expression in radioresistant esophageal cancer cells. *J Transl Med.* 2016; 28;14(1):225.
 19. Xie H, Ren X, Xin S, Lan X, Lu G, Lin Y, et al. Emerging roles of circRNA_001569 targeting miR-145 in the proliferation and invasion of colorectal cancer. *Oncotarget.* 2016; 3;7(18):26680-91.
 20. Wan L, Zhang L, Fan K, Cheng ZX, Sun QC, Wang JJ. Circular RNA-ITCH suppresses lung cancer proliferation via inhibiting the Wnt/ β -catenin pathway. *Biomed Res Int.* 2016; 1579490.
 21. Barutta F, Bruno G, Matullo G, Chaturvedi N, Grimaldi S, Schalkwijk C, et al. MicroRNA-126 and micro-/macrovascular complications of type 1 diabetes in the EURODIAB Prospective Complications Study. *Acta Diabetol.* 2017;54(2):133-139.
 22. Sun Y, Zhou Y, Shi Y, Zhang Y, Liu K, Liang R, et al. Expression of miRNA-29 in pancreatic β cells promotes inflammation and diabetes via TRAF3. *Cell Rep.* 2021;34(1):108576.
 23. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res.* 1977;37(3):646-50.
 24. Underhill HR, Kitzman JO, Hellwig S, Welker NC, Daza R, Baker DN, et al. Fragment length of circulating tumor DNA. *PLoS Genet.* 2016;12(7):e1006162.
 25. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/cobas-egfr-mutation-test-v2> (Accessed on 12 January 2026).
 26. Volckmar AL, Sltmann H, Riediger A, Fioretos T, Schirmacher P, Endris V, et al. A field guide for cancer diagnostics using cell-free DNA: From principles to practice and clinical applications. *Genes Chromosomes Cancer.* 2018;57(3):123-139.
 27. Bettgowda C, Sausen M, Leary RC, Kinde I, Wang Y, Agrawal N et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med.* 2014 19;6(224):224ra24.
 28. Mazel M, Jacot W, Pantel K, Bartkowiak K, Topart D, Cayrefourcq L, et al. Frequent expression of PD-L1 on circulating breast cancer cells. *Mol Oncol.* 2015;9(9):1773-82.
 29. Tchekmedyian N, Mudad R, Blanco FF, Raymond VM, Garst J, Erlander MG, et al. Longitudinal monitoring of ctDNA EGFR mutation burden from urine correlates with patient response to EGFR TKIs: A case series. *Lung Cancer.* 2017;108:22-28.
 30. Sun Q, Long L. Diagnostic performances of methylated septin9 gene, CEA, CA19-9 and platelet-to-lymphocyte ratio in colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2024;24(1):906.
 31. Ju J, Zhao X, An Y, Yang M, Zhang Z, Liu X, et al. Cell-free DNA end characteristics enable accurate and sensitive cancer diagnosis. *Cell Rep Methods.* 2024;4(10):100877.
 32. Hou Y, Meng XY, Zhou X. Systematically evaluating cell-free DNA fragmentation patterns for cancer diagnosis and enhanced cancer detection via integrating multiple fragmentation patterns. *Adv Sci (Weinh).* 2024;11(30):e2308243.
 33. Mathios D, Niknafs N, Annapragada AV, Bobeff EJ, Chiao EJ, Boyapati K, et al. Detection of brain cancer using genome-wide cell-free DNA fragmentomes. *Cancer Discov.* 2025 ;15(8):1593-1608.
 34. Asif R, Khalid A, Mercantepe T, Klisic A, Rafaqat S, Rafaqat S, et al. Role of interleukins in type 1 and type 2 diabetes. *Diagnostics (Basel).* 2025;15(15):1906.
 35. Lu J, Liu J, Li L, Lan Y, Liang Y. Cytokines in type 1 diabetes: mechanisms of action and immunotherapeutic targets. *Clin Transl Immunology.* 2020;9(3):e1122.
 36. Belinda A, Humardani FM, Dwi Putra SE, Widyadhana B. The potential of circulating free DNA of methylated IGFBP as a biomarker for type 2 diabetes mellitus: A Comprehensive review. *Clin Chim Acta.* 2025;567:120104.
 37. Karaglanı M, Panagopoulou M, Cheimonidi C, Tsamardinos I, Maltezos E, Papanas N, et al. Liquid biopsy in type 2 diabetes mellitus management: Building specific biosignatures via machine learning. *J Clin Med.* 2022;11(4):1045.
 38. Yu C, Lin Y, Luo Y, Guo Y, Ye Z, Ou R, et al. The fragmentomic property of plasma cell-free DNA enables the non-invasive detection of diabetic nephropathy in patients with diabetes mellitus. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023;14:1164822.
 39. Speake C, Ylescupidez A, Neiman D, Shemer R, Glaser B, Tersey SA, et al. Circulating unmethylated insulin DNA as a biomarker of human beta cell death: A multi-laboratory assay comparison. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(3):781–91.
 40. Syed F, Tersey S A, Turatsinze J V, Felton J L, Kang N J, Nelson J B, et al. Circulating unmethylated CHTOP and INS DNA fragments provide evidence of possible islet cell death in youth with obesity and diabetes. In: Fekadu Gadissa, editor. *Prime Archives in Genetics: 2nd Edition.* Hyderabad, India: Vide Leaf. 2021.
 41. Nesic M, Bdker JS, Terp SK, Dybkær K. Optimization of preanalytical variables for cfDNA processing and detection of ctDNA in archival plasma samples. *Biomed Res Int.* 2021; 2021:5585148.
 42. Rothwell DG, Smith N, Morris D, Leong HS, Li Y, Hollebecque A, et al. Genetic profiling of tumours using both circulating free DNA and circulating tumour cells isolated from the same preserved whole blood sample. *Mol Oncol.* 2016;10(4):566-74.
 43. Kang Q, Henry NL, Paoletti C, Jiang H, Vats P, Chinnaiyan AM, et al. Comparative analysis of circulating tumor DNA stability In K3EDTA, Streck, and CellSave blood collection tubes. *Clin Biochem.* 2016;49(18):1354-1360.
 44. Diefenbach RJ, Lee JH, Kefford RF, Rizos H. Evaluation of commercial kits for purification of circulating free DNA. *Cancer Genet.* 2018;228-229:21-27.

45. Page K, Guttery DS, Zahra N, Primrose L, Elshaw SR, Pringle JH, et al. Influence of plasma processing on recovery and analysis of circulating nucleic acids. *PLoS ONE* 2013; 8(10): e77963.
46. Meddeb R, Pisareva E, Thierry AR. Guidelines for the preanalytical conditions for analyzing circulating cell-free DNA. *Clin Chem*. 2019;65(5):623-633.
47. Oellerich M, Christenson RH, Beck J, Schütz E, Sherwood K, Price CP, et al. Donor-derived cell-free DNA testing in solid organ transplantation: A value proposition. *J Appl Lab Med*. 2020;5(5):993-1004.
48. Gunning A, Kumar S, Williams CK, Berger BM, Naber SP, Gupta PB, et al. Analytical validation of NavDx, a cfDNA-based fragmentomic profiling assay for HPV-driven cancers. *Diagnostics (Basel)*. 2023;13(4):725.
49. Nesselbush MC, Luca BA, Jeon YJ, Jabara I, Meador CB, Garofalo A, et al. An ultrasensitive method for detection of cell-free RNA. *Nature*. 2025;641(8063):759-768.
50. Hindson BJ, Ness KD, Masquelier DA, Belgrader P, Heredia NJ, Makarewicz AJ, et al. High-throughput droplet digital PCR system for absolute quantitation of DNA copy number. *Anal Chem*. 2011;83(22):8604-10.
51. Corcoran RB, Chabner BA. Application of cell-free DNA analysis to cancer treatment. *N Engl J Med*. 2018;379(18):1754-1765.
52. Rossi G, Mu Z, Rademaker AW, Austin LK, Strickland KS, Costa RLB, et al. Cell-free DNA and circulating tumor cells: Comprehensive liquid biopsy analysis in advanced breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2018;24(3):560-568.
53. Huang TY, Piunti A, Lulla RR, Qi J, Horbinski CM, Tomita T, et al. Detection of histone H3 mutations in cerebrospinal fluid-derived tumor DNA from children with diffuse midline glioma. *Acta Neuropathol Commun*. 2017;5(1):28.
54. Sui S, Xu C, Kanda M, Okugawa Y, Toiyama Y, Park JO, et al. Exosomal liquid biopsy for the early detection of gastric cancer: The DESTINEX multicenter study. *JAMA Surg*. 2025; Jul 30:e252493.
55. Zhang Q, Du Z, Wang X, Li F, Liu Y, Sun J, et al. Cell-free nucleic acid as promising diagnostic biomarkers for gastric cancer: a systematic review. *J Cancer*. 2024;15(10):2900-2912.
56. Abu-Toamih Atamni HJ, Shapira G, Ortenberg R, Sultan M, Twito O, Yoseph-Barzilay L, Shomron N, Rashid G. Circulating microRNA signatures as potential biomarkers differentiating diabetic, prediabetic, and healthy individuals. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2025;16:1699100.
57. Reggiardo RE, Maroli SV, Peddu V, Davidson AE, Hill A, LaMontagne E, et al. Profiling of repetitive RNA sequences in the blood plasma of patients with cancer. *Nat Biomed Eng*. 2023;7(12):1627-1635.
58. Khojah R, Reggiardo RE, Ozen M, Maroli SV, Carrillo D, Demirci U, et al. Extracellular RNA signatures of mutant KRAS(G12C) lung adenocarcinoma cells. *BioRxiv* Feb 24, 2022.
59. Fettke H, Kwan EM, Docanto MM, Bukczynska P, Ng N, Graham LK, et al. Combined cell-free DNA and RNA profiling of the androgen receptor: Clinical utility of a novel multianalyte liquid biopsy assay for metastatic prostate cancer. *Eur Urol*. 2020;78(2):173-180.
60. Roperch JP, Hennion C. A novel ultra-sensitive method for the detection of FGFR3 mutations in urine of bladder cancer patients -Design of the Urodiag® PCR kit for surveillance of patients with non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC). *BMC Med Genet*. 2020;21(1):112.
61. Ahmad I, Suhail M, Ahmad A, Alhosin M, Tabrez S. Interlinking of diabetes mellitus and cancer: An overview. *Cell Biochem Funct*. 2023;41(5):506-516.
62. García-Jiménez C, García-Martínez JM, Chocarro-Calvo A, De la Vieja A. A new link between diabetes and cancer: enhanced WNT/ β -catenin signaling by high glucose. *J Mol Endocrinol*. 2013 Dec 19;52(1):R51-66.
63. Gurney J, Stanley J, Teng A, Krebs J, Koea J, Lao C, et al. Cancer and diabetes co-occurrence: A national study with 44 million person-years of follow-up. *PLoS One*. 2022;17(11):e0276913.
64. Zhu B, Qu S. The relationship between diabetes mellitus and cancers and its underlying mechanisms. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:800995.
65. Li Y, Gu S, Li X, Huang Q. To identify biomarkers associated with the transfer of diabetes combined with cancer in human genes using bioinformatics analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2023;102(37):e35080.
66. Fagery M, Khorshidi HA, Wong SQ, Vu M, IJerman M. Health economic evidence and modeling challenges for liquid biopsy assays in cancer management: A systematic literature review. *Pharmacoeconomics*. 2023;41(10):1229-1248.
67. Phuong LN, Salas S, Benzekry S. Computational modeling for circulating cell-free DNA in clinical oncology. *JCO Clin Cancer Inform*. 2025;9:e2400224.
68. https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf13/P130001C.pdf (Accessed on 12 January 2026).
69. https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf19/P190032C.pdf (Accessed on 12 January 2026).
70. Woodhouse R, Li M, Hughes J, Delfosse D, Skoletsky J, Ma P, et al. Clinical and analytical validation of FoundationOne Liquid CDx, a novel 324-Gene cfDNA-based comprehensive genomic profiling assay for cancers of solid tumor origin. *PLoS One*. 2020;15(9):e0237802.
71. Zhang X, Li J, Zhuang Z, Wang J, Bu Z, Lan X. Challenges and prospects of cell-free DNA in precision oncology. *Medicine Plus*. 2024;1:4.100059.
72. Yuan T, Huang X, Woodcock M, Du M, Dittmar R, Wang Y, et al. Plasma extracellular RNA profiles in healthy and cancer patients. *Sci Rep*. 2016;6:19413.
73. Yang Y, Zeng C, Lu X, Song Y, Nie J, Ran R, et al. 5-Hydroxymethylcytosines in circulating cell-free DNA reveal vascular complications of type 2 diabetes. *Clin Chem*. 2019;65(11):1414-1425.
74. Hsu CL, Chang YS, Li HP. Molecular diagnosis of nasopharyngeal carcinoma: Past and future. *Biomed J*. 2025;48(1):100748.
75. Albitar M, Zhang H, Charifa A, Ip A, Ma W, McCloskey J, et al. Combining cell-free RNA with cell-free DNA in liquid biopsy for hematologic and solid tumors. *Heliyon*. 2023;9(5):e16261.