

Poločas ctDNA v plazmě je krátký (< 2 hodiny) a představuje jen malou část volně cirkulující DNA (někdy i méně než 0,01 %). ctDNA je nositelkou charakteristických znaků, které ji odlišují od normální cfDNA (mutace nukleotidů, methylace, tumor viral sequences...) (14).

Hlavní metodou detekce ctDNA zůstává kvantitativní polymerázová řetězová reakce (qPCR) a digitální polymerázová řetězová reakce (dPCR), které spočívají v kvantitativním stanovení kandidátních genů. Jedná se o poměrně rychlá, finančně dostupná a vysoce senzitivní a specifická vyšetření. Lze jimi monitorovat pouze předem jasně definované genomické změny. Překonat tento problém umožňuje využití sekvenování nové generace (NGS) resp. panelů celogenomového sekvenování (WGS), které detekují známé i neznámé mutace (14). Tyto metody jsou však mnohem časově i finančně náročnější a obtížnější je i interpretace získaných dat.

Vzestup ctDNA nastává dříve, než je zachycena radiologická progresie, dle některých studií dokonce o 101 dní dříve (16). Analýza předoperačních vzorků ukázala signifikantní asociaci mezi methylací ctDNA a methylací tumorsupresorových genů. Nejčastěji se jednalo o metylaci p16 DNA případně hypermethylaci APC, GSTP1, CDH13 genů (14). Hlavním limitem jsou opět nízké koncentrace. Nejsilnější data pro využití ctDNA pochází ze studií, které hodnotily prognostické využití ctDNA v časně detekci rekurence onemocnění po radikální cystektomii, což by umožnilo časnou systémovou léčbu. Detekce ctDNA byla signifikantně vyšší u pacientů s progresí onemocnění/generalizací než u pacientů bez relapsu (14). Zde jistě stojí za zmínku data publikovaná Powelsem et al. (2021), kde hodnotili 581 pacientů po radikální operaci v rámci studie fáze III. Pacientům byla monitorována hladina ctDNA a pacienti byli randomizováni do ramene s adjuvantním atezolizumabem, nebo pouze k observaci. Studie prokázala, že před zahájením léčby byla ctDNA detekována u 37 % pacientů, kteří měli tudíž horší prognózu. Pacienti s detekovatelnou ctDNA, kteří byli léčeni atezolizumabem, měli zlepšené přežití bez nemoci (disease-free survival, DFS) i celkové přežití (overall survival, OS) ve srovnání s těmi, kteří byli jen sledováni [DFS hazard ratio = 0,58 (95% confidence interval:

0,43–0,79); P = 0,0024, OS hazard ratio = 0,59 (95% confidence interval: 0,41–0,86)]. Tato studie nedosáhla svého cíle v léčené skupině pacientů (intention to treat population, ITT) (17). Benefit v neselektované populaci nebyl prokázán, ale na základě získaných dat se předpokládá benefit pro ctDNA pozitivní skupinu pacientů. Na tomto je postavena studie IMVIGOR 011. Do studie byli zařazeni pacienti s high risk karcinomem močového měchýře s invazí do svaloviny s pozitivitou ctDNA po radikální cystektomii. Pacienti byli opakovaně testováni na ctDNA každých 6 týdnů po dobu 36 týdnů, pak každých 12 týdnů po dobu 21 měsíců. Pokud byla v tomto období detekována ctDNA (≥ 2 mutacemi), pacienti v dobrém klinickém stavu PS ECOG 0–2 a bez známek rekurence na zobrazovacích metodách byli randomizováni v poměru 2:1 do ramene s atezolizumabem versus placebo à 28 dní po dobu 1 roku. Primárním cílem bylo DFS u pacientů s pozitivní detekcí ctDNA ≤ 20 týdnů po cystektomii. Sekundárním cílem bylo celkové přežití a DFS u pacientů s pozitivní detekcí ctDNA ≥ 20 týdnů po cystektomii (18). První výsledky byly prezentovány na ASCO 2024 – u 90,1 % (n = 154) pacientů s negativní ctDNA nedošlo během 2 let k relapsu onemocnění. Tyto výsledky byly bez ohledu na pokročilost onemocnění i expresi PDL1. Výsledky jsou slibné a je očekáváno finální zhodnocení studie s delším follow up.

Renální karcinom (C64)

Nádory ledvin bývají často diagnostikovány náhodně, při provedení UZ vyšetření břicha z jiné indikace. Zároveň se nádory ledvin neřídka vyznačují i velmi pozdními recidivami od primodiagnózy. Diagnostika se opírá zejména o zobrazovací vyšetření a následnou histologickou verifikaci (ve většině případů z resekcí tumoru či nefrektomie, případně z bioptické verifikace). U nádorů ledvin nejsou dosud k dispozici žádné sérové markery k potvrzení diagnózy nebo monitorování onemocnění. Řada studií ukázala, že u pacientů s renálním karcinomem jsou u cfDNA/ctDNA s vyšší frekvencí zastoupeny mutace VHL, TP53, BAP1 a PBRM1 (19). Stran využití detekce miRNA se ukazuje, že u renálního karcinomu bude efektivnější použití panelů miRNA (zatím nebyla nalezena jediná miRNA, která by samostatně měla dostatečnou

senzitivitu a specifitu) (19). I u nádorů ledvin se potvrdil vztah mezi zvýšenou hladinou CTC a pokročilostí onemocnění a horší prognózou. Zároveň stanovení CTC v kombinaci se stanovením exprese vimentinu na CTC bylo signifikantně asociováno s progresí renálního karcinomu (7).

Testikulární tumory (C62)

Na poli testikulárních tumorů stran diagnostiky a léčby nedochází již řadu let k většímu vývoji. Zcela převratným byl okamžik zavedení terapie platinovými deriváty, který dokázal snížit mortalitu z 50 % na necelých 5 %. Z toho vyplývá, že i značně pokročilé onemocnění může být v tomto případě vyléčitelné. V diagnostice a monitoraci onemocnění mají v tomto případě důležité postavení nádorové markery (AFP, LD, betaHCG) detekovatelné v krvi. Problémem může být, že tyto markery mohou být elevovány také z nenádorových příčin (20). Proto se i zde hledají nové možnosti a nejspíše vypadají výsledky s detekcí miRNA.

Studie J. Ellingera et al. byla zaměřena na hodnocení cfDNA u 74 pacientů s testikulárním nádorem (39 seminom, 35 nonseminom a 35 zdravých jedinců). Výsledkem byl signifikantní nárůst cfDNA u pacientů s nádorem ve srovnání se zdravými jedinci (87% senzitivita, 97% specifita). Výrazně vyšší hladiny byly prokázány u pacientů s pokročilým onemocněním, ve stadiu III ve srovnání s pacienty stadia I a II (21). Vysoká senzitivita cfDNA by mohla být nápomocná zejména u pacientů, kteří mají konvenční markery negativní (20).

V rámci projektu vedeného MUDr. Boublíkovou v rámci Fakultní Thomayerovy nemocnice a Fakultní nemocnice Motol byla v roce 2022 publikována data hodnotící koncentraci cfDNA u pacientů s germinálními tumory a zdravými kontrolami. Celkem bylo vyšetřeno 96 pacientů s germinálním tumorem a 31 kontrol. Celkové hladiny cfDNA byly u pacientů s nádorem signifikantně vyšší než u zdravých kontrol a byl zde zaznamenán také zvýšený výskyt dlouhých fragmentů cfDNA, a to zejména u pacientů s progresí onemocnění. To z nich činí potenciální nový marker k monitoraci pacientů s testikulárními nádory (22).

Pozornost se nyní soustředí zejména na clustery miRNA případně piRNAs (PIWI-