

# Možnosti využitia cirkulujúcej nádorovej DNA v adjuvantnej liečbe kolorektálneho karcinómu

MUDr. Marína Kizeková, MUDr. Matej Hrnčár, PhD., MBA, MUDr. Alexander Savka

Onkologická klinika SZU a Fakultná nemocnica s poliklinikou F. D. Roosevelta, Banská Bystrica

Cirkulujúca nádorová DNA (ctDNA) predstavuje významný biomarker v personalizovanej adjuvantnej liečbe kolorektálneho karcinómu (CRC). Využitie ctDNA umožňuje skorú detekciu minimálne reziduálneho ochorenia, ktoré je spojené so zvýšeným rizikom recidívy. Štúdie ako BESPOKE a GALAXY demonštrovali, že pozitívna detekcia ctDNA po chirurgickom zákroku je silným prediktorom recidívy CRC a môže slúžiť na rozhodovanie o podávaní adjuvantnej chemoterapie. Napriek sľubným výsledkom štúdia COBRA ukázala, že využitie ctDNA ako jedinečného kritéria na indikáciu adjuvantnej liečby môže byť limitované. V súčasnosti nie je vyšetrenie ctDNA zahrnuté v rutinných odporúčaní Amerického združenia klinickej onkológie (ASCO) ani Európskej spoločnosti pre lekársku onkológiu (ESMO). V budúcnosti sa očakáva, že výskum sa zameria na integráciu ctDNA do klinickej praxe s cieľom minimalizovať nadmernú liečbu a zároveň zabezpečiť adekvátnu terapiu pre pacientov so zvýšeným rizikom relapsu.

**Kľúčové slová:** cirkulujúca nádorová DNA, biomarker, kolorektálny karcinóm, adjuvantná liečba

## Possibilities of using circulating tumor DNA in the adjuvant treatment of colorectal cancer

Circulating tumor DNA (ctDNA) is a significant biomarker in personalized adjuvant treatment of colorectal cancer. The use of ctDNA enables the early detection of minimal residual disease, which is associated with an increased risk of recurrence. Studies such as BESPOKE and GALAXY have demonstrated that positive ctDNA detection after surgery is a strong predictor of CRC recurrence and can serve as a guide for decision-making regarding adjuvant chemotherapy administration. Despite promising results, the COBRA study has shown that using ctDNA as the sole criterion for adjuvant treatment indication may be limited. Currently, ctDNA testing is not included in the routine recommendations of the American Society of Clinical Oncology (ASCO) or the European Society for Medical Oncology (ESMO). In the future, research is expected to focus on integrating ctDNA into clinical practice to minimize overtreatment while ensuring appropriate therapy for patients at increased risk of relapse.

**Key words:** circulating tumor DNA, biomarker, colorectal cancer, adjuvant treatment

Onkológia (Bratisl.), 2025;20(1):14-19

## Úvod

Kolorektálny karcinóm (CRC) patrí k najčastejším malignitám na celom svete a predstavuje významnú záťaž pre verejné zdravotníctvo. Z epidemiologického hľadiska ide o tretí najčastejšie diagnostikovaný typ nádorového ochorenia, pričom jeho incidencia a mortalita narastajú s vekom. Vysoký výskyt CRC súvisí s komplexnou etiológiou zahŕňajúcou genetické predispozície, životný štýl a diétne návyky. Napriek tomu, že chirurgická resekcia je základom kuratívnej liečby CRC, recidíva ochorenia zostáva významným problémom, najmä ak ide o štádium II s vysokorizikovými faktormi alebo štádium III. Včasné a presné určenie rizika recidívy, a teda aj rozhodnutie, ktorí pacienti budú profitovať z adjuvantnej chemoterapie, sú kľúčové. Adjuvantnú liečbu nechceme indikovať paušálne, pretože so sebou nesie nielen krátkodobé riziká toxicity, ale aj dlhodobé komplikácie, ako sú polyneuropatia (PNP), zhoršenie kvality života či iné neskoré nežiaduce účinky. Preto je snaha identifikovať pacientov, ktorí z ne-

budú jednoznačne profitovať a zároveň minimalizovať expozíciu tým, ktorí by z nej mali iba obmedzený alebo žiadny prínos. V tomto kontexte sa čoraz častejšie diskutuje koncept minimálneho reziduálneho ochorenia (MRD), ktoré predstavuje malý počet nádorových buniek pretrvávajúcich v organizme po chirurgickom odstránení makroskopického nádoru. Odhalenie MRD by mohlo pomôcť znížiť počet nadmerne liečených pacientov a zároveň zvýšiť šancu na skoré zachytenie potenciálnej recidívy. Za sľubný biomarker na sledovanie MRD v reálnom čase sa v posledných rokoch ukazuje cirkulujúca nádorová DNA (ctDNA) – fragmenty genetického materiálu uvoľňované nádorovými bunkami pri apoptóze do krvného obehu. Cieľom tohto článku je preskúmanie aktuálnych poznatkov o ctDNA pri personalizácii adjuvantnej liečby CRC (1–3).

## Epidemiologické aspekty kolorektálneho karcinómu

CRC je tretie najčastejšie diagnostikované nádorové ochorenie a dru-

há najčastejšia príčina úmrtí súvisiacich s malignitou. Častejšie postihuje mužské pohlavie, pričom afroamerická populácia má v porovnaní s bielou rasou o 20 % vyšší výskyt tohto ochorenia. Celosvetovo sa odhaduje, že CRC ročne spôsobí viac ako 600 000 úmrtí. V rámci Európskej únie sa úmrtnosť na CRC pohybuje v rozmedzí 15 – 20 prípadov na 100 000 mužov a 9 – 14 prípadov na 100 000 žien, pričom časom došlo k poklesu mortality, najmä u žien. Päťročné prežívanie pacientov sa medzi krajinami EÚ výrazne líši, pričom podstatnú úlohu zohráva dostupnosť zdravotnej starostlivosti, skriningové programy, životný štýl a genetické faktory. Priemerne dosahuje päťročné prežívanie v krajinách EÚ približne 46,8 % u mužov a 48,4 % u žien (obrázok) (3, 4).

## Etiológia a biologická variabilita kolorektálneho karcinómu

Kolorektálny karcinóm je multifaktorové ochorenie, ktorého presná príčina zostáva nejasná. Na jeho vzniku sa podieľa

viacero rizikových faktorov. Medzi najvýznamnejšie rizikové faktory patrí vek, pričom až 70 % prípadov sa diagnostikuje u ľudí starších ako 65 rokov. Dôležitú úlohu zohráva aj genetická predispozícia, najmä pri familiárnej adenomatóznej polypóze (FAP) a Lynchovom syndróme, ktoré súvisia s mutáciami génov zodpovedných za opravu DNA (tzv. mismatch repair gény). Výrazný vplyv na rozvoj CRC majú aj environmentálne faktory a životný štýl. Nadmerná konzumácia tukov zvyšuje produkciu žlčových kyselín, ktoré sa v čreve môžu meniť na karcinogénne látky, zatiaľ čo nízky príjem vlákniny spomaľuje motilitu čreva a predlžuje expozíciu sliznice karcinogénom. Dlhodobý sedavý spôsob života, nadváha, fajčenie, konzumácia alkoholu či vystavenie ionizujúcemu žiareniu zaraďujú človeka do vyššieho rizika vzniku ochorenia. Ako prekancerózy sa považujú aj zápalové ochorenia čreva, ako sú ulcerózna kolitída alebo Crohnova choroba. V neposlednom rade sa ukazuje, že črevný mikrobióm tvorený širokým spektrom komensálnych i patogénnych baktérií (najmä z rodov *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* a *Proteobacteria*) zohráva kľúčovú úlohu pri karcinogéze CRC. Nádorovo asociovaná mikroflóra sa líši od zdravej – častý je napríklad výskyt *Fusobacterium nucleatum*, *Escherichia coli* a *Bacteroides fragilis*. Niektoré genotoxické kmene *E. coli* s ostrovom patogenity pks (polyketide synthase), produkujúci kolibaktín, ktorý alkyluje DNA a spôsobuje dvojvláknové zlomy, čo môže viesť k vzniku špecifických mutácií prítomných v CRC (6–8).

Okrem týchto rizikových faktorov a etiologických mechanizmov je dôležitým aspektom aj anatomická lokalizácia nádoru. Pravostranné a ľavostranné nádory vykazujú odlišnú histológiu, molekulárne charakteristiky a rôzne terapeutické odpovede. Pacienti s pravostrannými nádormi profitujú viac z imunoterapie, zatiaľ čo pacienti s ľavostrannými nádormi vykazujú lepšie výsledky pri chemoterapiách a cieľených terapiách. Pri pravostranných CRC, ktoré vznikajú v proximálnej časti hrubého čreva (po dve tretiny *colon transversum*), sa často vyskytuje vysoká mikrosatelitová nestabilita (MSI-H), mutácie v géne *BRAF* a epigenetické zmeny (napr. hypermetylácia CpG ostrovov). Ide zväčša o ploché

**Obrázok.** Odhadovaná vekom štandardizovaná incidencia kolorektálneho karcinómu, 2020 (5)



lézie, ktoré rastú laterálne, histologicky ide o mucinózne adenokarcinómy. Vykazujú zvýšenú prítomnosť imunitných buniek v nádorových tkanivách, čo môže zlepšiť účinnosť imunoterapie. Naopak, ľavostranné CRC (distálna časť hrubého čreva a konečník) sú zväčša spojené s chromozomálnou nestabilitou (CIN) a mutáciami v génoch *p53*, *RAS* a *APC*. Rastú exofyticky, vďaka čomu sa ľahšie zisťujú pri kolonoskopii. Z hľadiska histológie väčšinou ide o tubulárne alebo vilózne adenokarcinómy, ktoré sa často vyskytujú u mladších jedincov a u mužov. V pokročilých štádiách (III a IV) reagujú o niečo lepšie na chemoterapiu a biologickú liečbu v porovnaní s pravostrannými karcinómami (7, 9).

### TNM a liečba lokálne pokročilého kolorektálneho karcinómu

Súčasná TNM klasifikácia CRC vychádza z troch hlavných parametrov: prienik nádoru cez stenu čreva (T), počet postihnutých (pozitívnych) lymfatických uzlín (N) a prítomnosť vzdialených metastáz (M). Hoci ide o univerzálne používaný stagingový systém, pri hodnotení rizika recidívy (najmä v II. štádiu) môže byť nedostatočný. Preto sa v klinickej praxi hľadajú a posudzujú aj ďalšie faktory, ktoré pomáhajú lepšie odhadnúť prognózu ochorenia a potrebu adjuvantnej liečby (10, 11).

### Liečba v II. štádiu

V tomto štádiu (T3–T4, N0, M0) nádor prerastá celou hrúbkou črevnej steny, avšak bez postihnutia regionálnych lymfatických uzlín. Voľba liečby závisí od vyhodnotenia individuálneho rizika recidívy, na ktoré vplyvajú viaceré klinicko-patologické

ukazovatele. Medzi najdôležitejšie rizikové faktory patrí prítomnosť T4 nádoru a/alebo menej ako 12 vyšetrených lymfatických uzlín, prípadne ich kombinácia s ďalšími menšími rizikovými faktormi, ako sú vysoký grade, vaskulárna či lymfatická invázia, perforácia, obštrukcia alebo zvýšené hladiny CEA. Na základe prítomnosti rizikových faktorov pacientov rozdelujeme do troch skupín:

- **pacienti s nízkym rizikom** (napr. T3 N0, dostatočné množstvo vyšetrených lymfatických uzlín, bez iných rizikových faktorov) – odporúčané je len sledovanie bez adjuvantnej chemoterapie.
- **pacienti so stredným rizikom a MSS** – indikovaná adjuvantná chemoterapia fluórpyrimidínovou monoterapiou (5-FU/LV alebo kapecitabín) počas 6 mesiacov.
- **pacienti s vysokým rizikom** (T4, < 12 vyšetrených uzlín, prípadne viacero menších rizikových faktorov) – odporúčaná adjuvantná chemoterapia FOLFOX (6 mesiacov) alebo CAPOX (3 – 6 mesiacov podľa rizika a tolerancie). Pri rozhodovaní treba dôkladne zvážiť toxicitu (najmä neurotoxicitu oxaliplatiny) a celkový stav pacienta.

U starších pacientov je potrebné zvážiť nielen riziko recidívy, ale aj toleranciu liečby a komorbidity. Výsledky štúdií naznačujú, že pacienti nad 70 rokov nemusia mať prínos z oxaliplatiny pre zvýšené riziko neurotoxicity a hematologických komplikácií. Pre túto skupinu sa odporúča fluórpyrimidínová monoterapia (5-FU/LV alebo kapecitabín) počas 6 mesiacov, oxaliplatina sa neodporúča.

Na základe údajov z metaanalýz a populačných štúdií sa odporúča začať

**Tabuľka.** TNM klasifikácia kolorektálneho karcinómu podľa AJCC, 8. vydanie

| Štádium AJCC | TNM                   | Opis kolorektálneho karcinómu                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0            | TisN0M0               | V tomto štádiu zostalo ochorenie obmedzené na sliznicu hrubého čreva alebo konečníka                                                                                                                                                                                                                                                     |
| IA           | T1/T2N0M0             | Tumor prenikol do submukózy (T1) a v niektorých prípadoch sa mohol rozšíriť do muscularis propria (T2). Nemetastázoval však do susedných lymfatických uzlín (N0) ani do vzdialených orgánov (M0).                                                                                                                                        |
| IIA          | T3N0M0                | Tumor infiltroval vonkajšie vrstvy hrubého čreva alebo konečníka bez toho, aby infiltroval okolité tkanivá (T3).                                                                                                                                                                                                                         |
| IIB          | T4aN0M0               | Tumor infiltroval celú stenu hrubého čreva alebo konečníka, ale neinfiltroval okolité tkanivá alebo orgány (T4a).                                                                                                                                                                                                                        |
| IIC          | T4bN0M0               | Tumor infiltroval celú stenu hrubého čreva alebo konečníka a infiltroval susedné tkanivá alebo orgány (T4b). Nemetastázoval však do susedných lymfatických uzlín (N0) ani do vzdialených orgánov (M0).                                                                                                                                   |
|              | T1 alebo T2 N1/N1c M0 | Tumor prenikol zo sliznice do submukózy (T1) alebo do muscularis propria (T2). Okrem toho metastázoval do 1 až 3 regionálnych lymfatických uzlín (N1) alebo do tukových oblastí obklopujúcich lymfatické uzliny, ale nie do samotných uzlín (N1c).                                                                                       |
| IIIA         | T1N2aM0               | Tumor prenikol zo sliznice do submukózy (T1). Okrem toho metastázoval do 4 až 6 regionálnych lymfatických uzlín (N2a).                                                                                                                                                                                                                   |
| IIIB         | T3/T4a N1 M0          | Tumor infiltroval vonkajšie vrstvy hrubého čreva, ale nezasiahol blízke orgány. Okrem toho metastázoval do 1 až 3 blízkych lymfatických uzlín (N1a alebo N1b), ale nerozšíril sa do vzdialených lokalít (M0).                                                                                                                            |
|              | T2-T3N2aM0            | Tumor infiltroval muscularis propria (T2) alebo celú stenu hrubého čreva T3. Okrem toho metastázoval do 4 až 6 blízkych lymfatických uzlín (N2a). Do vzdialených lokalít sa však nerozšíril (M0).                                                                                                                                        |
|              | T1-T2N2M0             | Tumor infiltroval submukózu (T1), alebo muscularis propria (T2). Okrem toho metastázoval do 7 alebo viacerých blízkych lymfatických uzlín (N2b). Do vzdialených lokalít sa však nerozšíril (M0).                                                                                                                                         |
| IIIC         | T4N1-2M0              | Tumor infiltroval celú stenu hrubého čreva alebo konečníka a infiltroval susedné tkanivá alebo orgány (T4b). Okrem toho metastázoval aspoň do jednej regionálnej lymfatickej uzliny. Do vzdialených lokalít sa však nerozšíril (M0).                                                                                                     |
| IVA          | Akékkoľvek T-NM1a     | Rast rakoviny za stenou hrubého čreva alebo konečníka bol prítomný alebo chýbal (akýkoľvek T). Jeho postihnutie blízkymi lymfatickými uzlinami bolo tiež prítomné alebo chýbalo (akýkoľvek N). Metastázoval do jedného vzdialeného orgánu, ako sú pečeň alebo pľúca, alebo do vzdialených lymfatických uzlín. Bez postihnutia peritonea. |
| IV B         | Akékkoľvek T-NM1b     | Metastázoval do viacerých vzdialených orgánov, ako sú pečeň alebo pľúca, alebo do vzdialených lymfatických uzlín. Bez postihnutia peritonea.                                                                                                                                                                                             |
| IV C         | Akékkoľvek T-NM1c     | Metastatické postihnutie peritonea                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

AJCC – American Joint Committee on Cancer

chemoterapiu čo najskôr, ideálne do 8 týždňov po chirurgickom zákroku. Ak sa liečba odloží o viac ako 5 – 6 mesiacov, jej účinnosť postupne klesá a po 6 mesiacoch benefit prakticky zaniká (3).

### Liečba v III. štádiu

Tretie štádium (akékkoľvek T, N1–N2, M0) znamená postihnutie regionálnych lymfatických uzlín bez prítomnosti vzdialených metastáz. Štandardná súčasť liečby v tomto štádiu je adjuvantná chemoterapia, ktorá znižuje riziko recidívy o 20 – 30 %. Kombinácia fluórpyrimidínu s oxaliplatinou priniesla výrazné zlepšenie prežívania bez príznakov ochorenia (DFS) i celkového prežívania (OS) v porovnaní s monoterapiou fluórpyrimidínmi. Tento prínos bol potvrdený v troch kľúčových štúdiách (MOSAIC, NSABP C-07 a XELOXA), v ktorých

pridaním oxaliplatiny došlo k 20 – 23 % zníženiu rizika relapsu a zlepšeniu OS až o 12 – 17 %. V klinickej praxi sa najčastejšie využívajú režimy FOLFOX (infúzny 5-fluorouracil/leukovorín + oxaliplatin) a CAPOX (perorálny kapecitabín + oxaliplatin). Štúdia IDEA skúmala, či trojmesačná kombinovaná liečba dokáže pri určitých pacientoch poskytnúť porovnateľné výsledky ako doterajší šesťmesačný štandard. Pri režime CAPOX sa kratší čas terapie ukázal ako non-inferiorný, predovšetkým pri menej pokročilých nálezoch (T1–3 N1). Pri pokročilejšom ochorení (T4, N2) alebo pri použití FOLFOX režimu sa stále preferuje 6-mesačné trvanie liečby. Skrátenie terapie môže pomôcť znížiť kumulatívnu neurotoxicitu oxaliplatiny, preto sa pri prvých známkach neuropatie odporúča promptné prehodnotenie liečebného plánu (3).

Kľúčovou otázkou pri liečbe CRC zostáva, ako spoľahlivo určiť pacientov s vysokým rizikom recidívy, ktorí by mohli profitovať z intenzívnejšieho terapeutického prístupu. V II. štádiu ochorenia dosahuje päťročná miera relapsu približne 10 %, pričom väčšina recidív sa objaví počas prvých dvoch rokov od operácie. Významným prognostickým faktorom je hĺbka invázie (T). V III. štádiu CRC dosahuje päťročná miera recidívy približne 30 %, pričom rozhodujúcu úlohu zohráva počet postihnutých lymfatických uzlín a použitie adjuvantnej liečby. Počet postihnutých uzlín priamo koreluje s prognózou: napríklad pacienti s N0 (žiadne postihnuté uzliny) mali v jednej štúdii päťročné prežívanie 86 %, zatiaľ čo pri N2 (viac ako tri pozitívne uzliny) kleslo na 69 %. Retrospektívna skupinová analýza (Tsikitis et al. 2014) navyše potvrdila, že adjuvantná chemoterapia v III. štádiu zlepšuje päťročné prežívanie bez ochorenia, čo zodpovedá výsledkom randomizovaných klinických štúdií. Napriek tomu, že TNM klasifikácia spolu s klinicko-patologickými ukazovateľmi poskytuje cenné informácie, pri predikcii recidívy – predovšetkým v II. štádiu – má svoje limity. Z tohto dôvodu sa začali hľadať nové metódy, ktoré by umožnili lepšiu stratifikáciu pacientov a presnejšiu identifikáciu tých, ktorí by mohli profitovať z adjuvantnej liečby (11, 12). Sľubným markerom týchto výskumov sa stala cirkulujúca nádorová DNA.

### Nové poznatky o cirkulujúcej nádorovej DNA v adjuvantnej liečbe kolorektálneho karcinómu

ctDNA predstavuje krátke fragmenty DNA pochádzajúce z nádorových buniek, ktoré sa uvoľňujú do krvného obehu. Najmä pri pokročilých CRC dochádza k zvýšenej sekrécii týchto fragmentov, ktoré môžu niesť rôzne genetické zmeny (napr. bodové mutácie). V praxi sa odobierajú pri tzv. tekutej biopsii, pričom vďaka rýchlemu polčasu rozpadu ctDNA dokážu aktuálne odrážať stav nádoru podstatne presnejšie ako onkomarkery. Zmeny v hladinách ctDNA (vzostup či pokles) môžu navyše signalizovať terapeutickú odpoveď alebo progresiu ochorenia skôr, než ju zachytia zobrazovacie metódy.



V porovnaní s tradičným odberom nádorového tkaniva prináša tekutá biopsia niekoľko kľúčových výhod. V prvom rade ide o minimálne invazívny výkon v podobe odberu periférnej krvi, ktorý je pre pacienta menej zaťažujúci a spojený s nižším rizikom komplikácií než klasické biopsie. Ďalšou prednosťou je možnosť opakovaného monitorovania – vzorky krvi sa dajú bez väčších ťažkostí odobrať v rôznych fázach liečby, čo umožňuje kontinuálne sledovanie dynamiky genetických zmien nádoru. Tekutá biopsia zároveň prekonáva nádorovú heterogenitu, keďže zachytáva fragmenty DNA z celej nádorovej záťaže vrátane rôznych ložísk či metastáz. V porovnaní s tkanivovou biopsiou, ktorá prináša informácie iba z jednej konkrétnej časti nádoru, sa tak znižuje riziko prehliadnutia potenciálne dôležitých mutácií. A napokon, vzorky ctDNA nie sú poškodené konzervačnými metódami (napr. formalínovou fixáciou), vďaka čomu ostávajú zachované pre pokročilé molekulárne analýzy a odstraňujú sa technické obmedzenia spojené so zmenami vo fixovanom tkanive.

Hoci tkanivová biopsia zostáva zlatým štandardom (najmä pri stanovení primárnej diagnózy), stáva sa čoraz zrejmejšie, že tekutá biopsia dokáže cenným spôsobom doplniť, či dokonca nahradiť niektoré invazívne odbery tkaniva (13, 14).

### Význam ctDNA pri manažmente lokálne pokročilého CRC

Jedným z najdôležitejších prístupov k personalizácii adjuvantnej terapie pri CRC je využitie ctDNA na detekciu MRD, ktorá je charakterizovaná prítomnosťou malého počtu nádorových buniek pretrvávajúcich v organizme po chirurgickom odstránení makroskopického nádoru. Ako bolo už uvedené, doteraz sa riziko recidívy a indikácie adjuvantnej chemoterapie opierali predovšetkým o klinicko-patologické kritériá (ako je TNM štádium). Takýto prístup však môže viesť k situácii, keď mnohí pacienti adjuvantnú liečbu nepotrebujú, zatiaľ čo iní by z nej mohli profitovať viac. Prínos ctDNA spočíva v tom, že krátko (6 – 8 týždňov) po operácii možno zmerať jej hladinu v obehu a zistiť, či v organizme zostali nádorové bunky a tým roz-

hodnúť, či pacient bude mať benefit zo systémovej liečby alebo nie (13, 15 – 17). Význam ctDNA pri liečbe lokálne pokročilého CRC bol predmetom viacerých výskumných štúdií, medzi ktoré patria: BESPOKE, GALAXY či COBRA.

### Štúdia BESPOKE

Ide o multicentrickú prospektívnu observačnú štúdiu, ktorá skúma využitie ctDNA pri rozhodovaní o indikácii adjuvantnej chemoterapie u pacientov v štádiu II a III CRC. Z celkového počtu 1 792 zaradených pacientov sa analýza ctDNA vykonala u 350 jedincov, pričom na detekciu a kvantifikáciu ctDNA bol použitý personalizovaný test Signatera (Natera, Inc.) Po operácii sa vykonávala analýza ctDNA, pričom pozitívna detekcia ctDNA znamenala prítomnosť MRD. Zo sledovanej populácie dostalo 232 pacientov adjuvantnú chemoterapiu, zatiaľ čo 118 pacientov bolo zaradených do pozorovacej skupiny bez liečby. Ďalšie vzorky boli odobraté počas observácie, aby sa sledovala dynamika ctDNA a jej vzťah k riziku recidívy.

Hlavné výsledky štúdie:

1. Prediktívny a prognostický význam MRD+  
Pozitívny nález ctDNA (MRD+) sa spájal s 18-násobne vyšším rizikom recidívy (HR = 20,8;  $p < 0,0001$ ).
2. Prínos adjuvantnej chemoterapie  
U MRD+ pacientov viedla adjuvantná chemoterapia k významnému predĺženiu času do progresie (18,7 vs. 6,7 mesiaca, HR = 3,9;  $p = 0,01$ ). U MRD-negatívnych pacientov však nebol zaznamenaný výrazný benefit (HR = 1,1;  $p = 0,89$ ).
3. Negativizácia ctDNA  
Dvanásť týždňov po operácii došlo k negativizácii ctDNA u 39 % MRD+ pacientov. Títo jedinci dosiahli lepšie prežívanie než pacienti, ktorí zostali MRD+ (24,2 vs. 13,8 mesiaca; HR = 0,4;  $p = 0,045$ ), ale zároveň mali vyššie riziko recidívy než tí, ktorí boli stále MRD-negatívni.
4. Dynamika ctDNA počas sledovania  
U 8,3 % pacientov sa počas sledovania opäť objavila pozitívna ctDNA, ktorá predchádzala rádiologicky potvrdenej recidíve a výrazne zhoršila DFS (HR = 124,3;  $p < 0,0001$ ).

BESPOKE zdôrazňuje prediktívny a prognostický potenciál ctDNA pri kolo- rektálnom karcinóme v skorých štádiách.

Štúdia potvrdila, že ctDNA môže včasne identifikovať pacientov s vyšším rizikom recidívy a tých, ktorí môžu ťažiť z adjuvantnej chemoterapie (16).

### Štúdia GALAXY

GALAXY je prospektívna observačná štúdia sledujúca vplyv pooperačnej ctDNA na prognózu u pacientov so štádiom II–IV CRC po radikálnej resekcii. Do štúdie bolo zaradených 3 034 pacientov, z ktorých 2 518 spĺňalo zaraďovacie kritériá. Medián sledovania bol 16,3 mesiaca. ctDNA bola detegovaná a kvantifikovaná pomocou personalizovaného testu Signatera (Natera, Inc.) v sériových plazmatických vzorkách odobratých v intervaloch 1, 3, 6, 9, 12, 18 a 24 mesiacov po operácii až do detekcie recidívy. Pacienti podstúpili CT staging každých 6 mesiacov. Po kuratívnej resekcii pacienti buď podstúpili adjuvantnú chemoterapiu ( $n = 1 000$ ), alebo boli pozorovaní ( $n = 1 518$ ). Hlavným koncovým ukazovateľom bolo prežívanie bez ochorenia (DFS).

Hlavné výsledky:

- Pooperačná pozitivita ctDNA (MRD+) Z 2 093 dostupných vzoriek bola ctDNA pozitívna u 309 pacientov (14,8 %) (MRD+), a 1 784 pacientov (85,2 %) malo negatívny nález na ctDNA (MRD-). Výsledky ukázali, že pacienti s pozitívnym nálezom ctDNA v pooperačnom období mali signifikantne horšie DFS v porovnaní s pacientmi, u ktorých sa ctDNA nepreukázala (HR: 15,75, 95 %,  $p < 0,0001$ ).
- Dynamika ctDNA Ďalšia analýza dynamiky ctDNA ukázala, že pacienti, ktorí zostali ctDNA pozitívni po troch mesiacoch, mali viac ako päťnásobne vyššie riziko recidívy ochorenia v porovnaní s pacientmi, u ktorých došlo k negativizácii ctDNA (HR: 5,4,  $p < 0,0001$ ). Tieto výsledky naznačujú, že perzistujúca prítomnosť ctDNA po resekcii nádoru je silným prediktorom rizika recidívy, pričom negativizácia ctDNA v pooperačnom období môže naznačovať nižšie riziko budúcej recidívy.
- Vplyv adjuvantnej chemoterapie na dynamiku ctDNA Z 309 MRD+ pacientov podstúpilo adjuvantnú chemoterapiu 181 jedincov, pričom 72,9 % z nich dosiahlo negativizáciu ctDNA do 12 týždňov. V tejto sku-

pine pacientov sa následne 54 % udržalo v stave trvalého vymiznutia ctDNA, zatiaľ čo 46 % pacientov malo opätovnú pozitivitu ctDNA v neskorších fázach sledovania. Pacienti s trvalým vymiznutím ctDNA mali výrazne lepšie výsledky v porovnaní s pacientmi, u ktorých došlo k prechodnej negativizácii (HR: 32,57,  $p < 0,0001$ ).

- **Kvantitatívny pokles ctDNA**

Posledná analýza preukázala, že MRD+ pacienti s adjuvantnou liečbou a poklesom hladiny ctDNA o viac než 50 % počas 6 mesiacov mali lepšie DFS v porovnaní s pacientmi, u ktorých došlo k menšiemu poklesu alebo zvýšeniu hladín ctDNA (HR: 2,39,  $p = 0,004$ ).

Výsledky opäť potvrdzujú prognostickú hodnotu pooperačnej detekcie ctDNA a ukazujú, že dynamika ctDNA počas adjuvantnej chemoterapie je silným ukazovateľom možnej recidívy ochorenia. Tieto zistenia zdôrazňujú potenciál personalizovanej liečby riadenej ctDNA u pacientov po kuratívnej resekcii CRC. Ďalšie randomizované štúdie (VEGA, ALTAIR) majú za cieľ definitívne určiť, ako najlepšie využiť ctDNA pri rozhodovaní o adjuvantnej terapii (18).

### Štúdia COBRA

Prospektívna, randomizovaná štúdia fázy II zameraná na hodnotenie či detekciu ctDNA zlepšuje indikáciu adjuvantnej chemoterapie u pacientov s nízkorizikovým štádiom II CRC, ktorí by inak boli len sledovaní. Do štúdie boli zaradení nízkorizikoví pacienti s pozitívnou ctDNA v štádiu II po resekcii CRC. Pacienti sa rozdelili do dvoch ramien – kontrolné rameno (A) pacientov bolo v pozorovaní a experimentálne rameno (B) s pacientami, ktorí dostávali 6 mesiacov CAPOX alebo FOLFOX, ak bola pooperačne zistená pozitívna ctDNA. Celkovo bolo randomizovaných 635 pacientov (rameno A: 318, rameno B: 317). Pooperačné plazmatické vzorky s ctDNA sa analyzovali pomocou testu Guardant Reveal. V rámci primárnej analýzy bolo hodnotených prvých 16 pacientov zo štúdie s pozitívnym nálezom ctDNA, pričom sa sledovala jej negativizácia po 6 mesiacoch. V kontrolnej skupine (rameno A) došlo k vymiznutiu ctDNA u 3 zo 7 pacientov (43 %), zatiaľ čo v experimentálnej skupine (rameno B) s chemoterapiou

iba u 1 z 9 pacientov (11 %). Tento rozdiel nebol štatisticky významný ( $p = 0,98$ ). Primárny cieľ fázy II štúdie sa týmto nespĺnil, a preto sa nepokračovalo do fázy III. Adjuvantná chemoterapia založená na pozitívnej ctDNA neposkytla očakávaný benefit u pacientov s pooperačne zisteným nálezom ctDNA v nízkorizikovom štádiu II CRC. Tieto zistenia zdôrazňujú dôležitosť zohľadnenia špecifickosti testu a biologických charakteristík nádoru v budúcich štúdiách, ktoré budú hodnotiť využitie ctDNA ako súčasti personalizovaného rozhodovania o adjuvantnej liečbe (19).

Vzhľadom na sľubné výsledky štúdií, ako sú BESPOKE či GALAXY, ktoré pri lokálne pokročilom CRC preukázali schopnosť ctDNA predikovať riziko recidívy, sa začali objavovať otázky, či je bežné vyšetrenie ctDNA aj nákladovo efektívne. Schneider et al. (20) vyvinuli model porovnávajúci dve terapeutické stratégie pri lokálne pokročilom CRC:

1. tradičnú – založenú iba na klinicko-patologických (CP) rizikových faktoroch,
2. inovatívnu – využívajúcu CP faktory v kombinácii s detekciou ctDNA.

Na základe dvojročných údajov z pozorovacej časti štúdie GALAXY a analýzy nákladov v USA autori zistili, že zapojenie ctDNA do rozhodovacieho procesu prispieva k predĺženiu života o 0,8 roka, k zvýšeniu kvality života o 0,7 a k ekonomickej úspore približne 9 771 amerických dolárov na pacienta.

### Post hoc analýza štúdií PRODIGE-GERCOR IDEA-Francúzsko/HORG-IDEA-Grécko

Štúdia PRODIGE-GERCOR IDEA-France/HORG-IDEA-Grécko bola post hoc analýzou randomizovaných štúdií fázy III, ktorá skúmala prognostickú hodnotu ctDNA a Immunoscore (IS) u pacientov so štádiom III CRC po kuratívnej resekcii. Cieľom analýzy bolo overiť, či kombinácia týchto dvoch biomarkerov môže zlepšiť stratifikáciu rizika a pomôcť personalizovať adjuvantnú liečbu. Do analýzy bolo zahrnutých 554 pacientov, ktorí podstúpili chirurgickú resekcii a boli následne zaradení do randomizovaných štúdií IDEA-France a HORG. Vzorky periférnej plazmy sa odobrali po operácii a pred začiatkom adjuvantnej chemoterapie. Analýza ctDNA prebiehala pomocou kli-

nicky validovaného personalizovaného 16-plex PCR testu špecifického pre nádor, zatiaľ čo Immunoscore hodnotil imunitnú odpoveď nádoru na základe prítomnosti a distribúcie imunitných buniek v resekovanom tkanive. Štúdia sa zamerala na čas do recidívy (TTR) a celkové prežitie (OS), pričom výsledky boli analyzované v multivariabilných modeloch spolu s dĺžkou adjuvantnej liečby a stratifikáciou podľa rizikových faktorov ochorenia.

#### Hlavné výsledky

- Pooperačná pozitivita ctDNA bola prítomná u 19,7 % pacientov, pričom títo pacienti mali vyšší podiel T4/N2 ochorenia a vyšší výskyt vaskulárnej/lymfatickej/perineurálnej invázie.
- Dvojročný TTR bol výrazne nižší u ctDNA-pozitívnych pacientov (43,5 % vs. 88,1 %,  $p < 0,0001$ ).
- Multivariabilná analýza potvrdila, že pozitivita ctDNA bola najsilnejším nezávislým prognostickým faktorom pre:
  - čas do recidívy (TTR): HR 5,21  $p < 0,001$
  - celkové prežitie (OS): HR 4,84  $p < 0,001$
- Význam ctDNA nezávisel od štádia ochorenia, trvania adjuvantnej liečby alebo výsledkov IS.
- IS nemal prognostickú hodnotu u ctDNA-pozitívnych pacientov, ale poskytol dodatočné prognostické informácie u ctDNA-negatívnych pacientov (80,3 % skupiny).

Táto analýza potvrdila, že ctDNA je kľúčovým nezávislým prognostickým biomarkerom v štádiu III CRC. Pozitivita ctDNA je spojená s vysokým rizikom recidívy, zatiaľ čo IS pomáha stratifikovať pacientov iba v prípade negatívnej ctDNA. Výsledky podporujú využitie ctDNA na identifikáciu pacientov, ktorí môžu profitovať z intenzifikácie adjuvantnej liečby, a zároveň umožňujú selekciu pacientov, u ktorých možno zväžiť deeskaláciu terapie (21).

### Záver

Cirkulujúca nádorová DNA predstavuje prelomový biomarker s vysokým potenciálom pre personalizáciu adjuvantnej liečby kolorektálneho karcinómu. Vďaka schopnosti detegovať minimálne reziduálne ochorenie a monitorovať od-

poved' na liečbu umožňuje ctDNA presnejšiu stratifikáciu pacientov. Na základe súčasných poznatkov dokáže identifikovať pacientov s vysokým rizikom recidívy, ktorí môžu profitovať z adjuvantnej chemoterapie, a zároveň pomáha znížiť nadmernú liečbu u MRD-negatívnych pacientov. Napriek tomu, že štúdie ako BESPOKE a GALAXY demonštrovali silnú prognostickú a prediktívnu hodnotu ctDNA, obmedzenia vo využití tejto metódy v určitých klinických scenároch, ako ukázala štúdia COBRA, podčiarkujú potrebu ďalšieho výskumu. V budúcnosti by zavedenie ctDNA do klinickej praxe mohlo významne prispieť k optimalizácii manažmentu pacientov s CRC.

*Autori vyhlasujú, že nemajú žiadny potenciálny konflikt záujmov*

#### Literatúra

1. Pleguezuelos-Manzano C, Puschhof J, Rosendahl Huber A, et al. Mutational signature in colorectal cancer caused by genotoxic pks+ E. coli. *Nature*. 2020;580(7802):269-73.
2. Peptiko.Colorectal Cancer Staging (AJCC 8th Edition) [online]. 2023 [cit 12. január 2025]. Available at: <<https://peptiko.gr/en/colorectal-cancer-staging-ajcc-8th-edition/>>.
3. Argilés G, Tabernero J, Labianca R, et al. Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2020;31(10):1291-305.
4. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut*. 2017;66(4):683-91.
5. Roshandel G, Ghasemi-Kebria F, Malekzadeh R. Colorectal Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and Prevention. *Cancers*. 2024;16(8):1530.
6. Ep W. The Etiology and Pathogenesis of Colorectal Cancer. *Clinics in Oncology*. 2024;9.
7. Kasi A, Handa S, Bhatti S, et al. Molecular Pathogenesis and Classification of Colorectal Carcinoma. *Curr Colorectal Cancer Rep*. 2020;16(5):97-106.
8. Rebersek M. Gut microbiome and its role in colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2021;21(1):1325.
9. Baran B, Mert Ozupek N, Yerli Tetik N, et al. Difference Between Left-Sided and Right-Sided Colorectal Cancer: A Focused Review of Literature. *Gastroenterology Res*. 2018;11(4):264-73.
10. André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, et al. Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment for Colon Cancer. *N Engl J Med*. 2004;350(23):2343-51.
11. Tsikitis VL, Larson DW, Huebner M, et al. Predictors of recurrence free survival for patients with stage II and III colon cancer. *BMC Cancer*. 2014;14:336.
12. Elferink MAG, Visser O, Wiggers T, et al. Prognostic Factors for Locoregional Recurrences in Colon Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(7):2203-11.
13. Diaz LA, Bardelli A. Liquid Biopsies: Genotyping Circulating Tumor DNA. *J Clin Oncol*. 2014;32(6):579-86.
14. Tie J, Cohen JD, Lahouel K, et al. Circulating Tumor DNA Analysis Guiding Adjuvant Therapy in Stage II Colon Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2022;386(24):2261-72.
15. Cirkulujúci nádorová dna: využití v klinické praxi. *Linkos.cz* [Internet]. [cit 26. január 2025]. Available at: <<https://www.linkos.cz/>>.
16. Kasi PM, Aushev VN, Ensor J, et al. Circulating tumor DNA (ctDNA) for informing adjuvant chemotherapy (ACT) in stage II/III colorectal cancer (CRC): Interim analysis of BESPOKE CRC study. *JCO*. 2024;42(3\_suppl):9-9.
17. Blood Test May Help Guide Colorectal Cancer Treatment - NCI [Internet]. 2024 [cit 26. január 2025]. Available at: <<https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2024/colorectal-cancer-ctdna-may-guide-adjuvant-therapy>>.
18. Yukami H, Nakamura Y, Mishima S, et al. Circulating tumor DNA (ctDNA) dynamics in patients with colorectal cancer (CRC) with molecular residual disease: Updated analysis from GALAXY study in the CIRCULATE-JAPAN. *JCO*. 2024;42(3\_suppl):6-6.
19. Morris VK, Yothers G, Kopetz S, et al. Phase II results of circulating tumor DNA as a predictive biomarker in adjuvant chemotherapy in patients with stage II colon cancer: NRG-GI005 (COBRA) phase II/III study. *JCO*. 2024;42(3\_suppl):5-5.
20. Schneider J, Bresnahan R, Chami N, et al. Cost-effectiveness analysis of a circulating tumor DNA-based molecular residual disease assay to guide adjuvant chemotherapy decisions in patients with resectable early stage colorectal cancer. *JCO*. 2023;41(16\_suppl):e18929-e18929.
21. Taieb J, Souglakos J, Boukovinas I, et al. Combined Analyses of Circulating Tumor DNA and Immunoscore in Patients With Stage III Colon Cancer: A Post Hoc Analysis of the PRODIGE-GERCOR IDEA-France/HORG-IDEA-Greece Trials. *JCO*. 2025;00648.

#### MUDr. Marína Kizeková

Onkologická klinika SZU a FNŠP FDR  
Nám. L. Svobodu 1, 975 17 Banská Bystrica  
[marinakizekova60@gmail.com](mailto:marinakizekova60@gmail.com)