

## Abstrakt

Renální karcinom (RCC) je třetí nejčastější urologická malignita, u které je zhruba u 30% v době diagnózy zjištěn metastatický proces. Vzhledem k rezistenci na ozáření a chemorezistenci je prognóza těchto pacientů špatná. Optimální léčbou je proto kompletní odstranění nádoru lokalizovaného onemocnění.

Ke zlepšení prognózy pacientů v posledních dekadách došlo díky zvýšení počtu náhodně zjištěných nádorů ledvin a též zavedením nových typů léčby. Vzhledem k obecnému trendu nárůstu náhodně zjištěných nádorů ledvin, jsme byli inspirováni k zhodnocení pacientů operovaných pro nádor ledvin s ohledem na typ záchytu onemocnění a metodu primárního vyšetření.

K vyšetřování cirkulujících nádorových buněk (CTC- z angl. Circulating tumor cells) nás vedl fakt, že pro sledování pacientů po operacích nádorů ledvin nemáme žádný biomarker odpovídající léčbě, případně rekurenci onemocnění. Vyšetření CTC patří do skupiny testů tekuté biopsie a jednou z jeho hlavních výhod je relativně minimální invazivita (odběr krve), která skutečně umožňuje sledování nádorové dynamiky. Primární otázkou bylo, zda CTC buňky mohou hrát nějakou roli při sledování pacientů po operační léčbě a event. při nastavení imunoterapeutické a antiangiogenní léčby díky molekulární CTC- analýze na úrovni genové exprese.

Do epidemiologické studie z období května 2011 do května 2016 bylo zařazeno 471 pacientů, kteří byli operováni pro RCC. Sběr dat probíhal retrospektivně. Hodnocen byl důvod vyšetření dle klinických obtíží a typ prvotního vyšetření (UZ, CT, MRI). Mezi vyšetřovanými bylo 304 (64,5 %) mužů. Průměrný věk pacientů byl 64 let (95% CI: 63-65) let. Průměrná hodnota BMI byla 28.5 (95% CI: 28-29).

V sledovaném souboru jsme pozorovali 347 (73,7 %) případů incidentálních, 77 (16,3 %) symptomatických. U 47 pacientů (9,9 %) nebylo možno rozlišit typ záchytu.

Rozložení jednotlivých stádií detekovaných nádorů je u mužů a žen stejné. Výskyt časných a pozdních stádií nebyl závislý na pohlaví, BMI ani na antihypertenzní terapii. Nižší stádium onemocnění bylo signifikantně více diagnostikováno pomocí UZ. Histologicky dominoval světlobuněčný RCC (80 %) následován papilárním renálním RCC (10 %). Výskyt jednotlivých karcinomů nebyl závislý na časném a pozdním stádiu.

V rámci testování CTC byla všem pacientům odebrána periferní krev (2x8 ml EDTA) v několika časových bodech (1. Před operací, 2. 4-10 dnů hod. po operaci, 3. cca 6 týdnů po operaci a 4. Za 6-12 měsíců po operaci). Celkem bylo odebráno 495 CTC testů.). Pro obohacení CTC byl použit separační protokol založený na velikosti buněk (MetaCell®). Po jednoduché filtraci krve přes porézní membránu jsou zachycené buňky (větší než 8 µm) inkubovány *in vitro* po krátkou dobu (3-5 dnů). Po inkubaci jsou buňky barveny vitálními fluorescenčními barvivy (NucBlue™, Celltracker™). Přítomnost CTC se vyhodnocuje ve dvou krocích: nejprve buněčnou cytomorfologií, za druhé molekulárním testováním (analýza qPCR). Analýza genové exprese následujících genů (ACTB, MUC1, KRT18, KRT19, VIM, CD24, CD44, CD68, CD45, PD-L1 (CD274), VEGF, VEGFR (FLT1), HIF1A, WT) byla provedena ve frakci zachycených buněk a bylo provedeno srovnání s frakcí bílých krvinek pro každého pacienta v různých časech odběru vzorků.

V naší studii jsme prokázali přítomnost CTC až u 86,7 % testovaných vzorků krve pacientů operovaných pro nádor ledviny. Pravděpodobnost detekce CTC se zvyšovala rostoucí velikostí nádoru zejména u světlobuněčného RCC. Analýza genové exprese odhalila zvýšenou expresi genů v obohacených CTC pro geny KRT18 a vimentin ve srovnání s frakcí bílých krvinek. Také se ukázalo, že charakter CTC se během sledovaného období mění. Z terapeutického hlediska byly nejvýznamnějšími zjištěnými změnami u pacientů, zvýšená VEGF (vaskulární endotelový růstový faktor a/nebo PD-L1 (Programmed death ligand 1, CD274) exprese na CTC.

