

## Abstrakt

- *Úvod*

Maligní melanom je jedním z nejagresivnějších kožních nádorů s nepříznivou prognózou a vysokou mortalitou, která je spojena především s pokročilými stádii této choroby. Incidence v posledních deseti letech zaznamenala nárůst o 50 %. Pro dobrou prognózu pacientů je zcela zásadní odhalení nádoru v počátečním stádiu a jeho včasné chirurgické odstranění. V posledních letech byl prokázán přínos cílené léčby a imunoterapie (adjuvantní léčba) u pacientů s lokálně pokročilým stádiem maligního melanomu po resekci primárního nádoru a uzlinových metastáz.

- *Cíle*

Cílem projektu je detekce pacientů s vysokým rizikem recidivy pomocí biomarkerů z fluidní biopsie (volná cirkulující DNA), kteří jsou po operaci s kurativním záměrem, a pro které by byla vhodná finančně nákladná adjuvantní terapie. Dalším cílem je využití uvedených biomarkerů k časnému odhalení vlastní recidivy onemocnění a reziduální choroby po excizi primárního ložiska tumoru.

- *Metodika*

U pacientů, s časným stádiem melanomu, podstupujících kurativní chirurgický zákrok, byly nabírány vzorky plné krve v pravidelných časových odstupech. Z nabrané plné krve byla nejdříve dvoufázovou centrifugací separována plazma. Cell-free DNA (cfDNA) byla izolována v MD Anderson Cancer Center v Houstonu v USA. Využitím kapkové digitální polymerázové řetězové reakce (ddPCR) byla stanovena přítomnost BRAF V600E mutace ve tkáňových i plazmatických vzorcích pacientů. Pacienti následně podstoupili pravidelné kontroly v ambulanci Oddělení plastické chirurgie a Dermatovenerologické kliniky ve Fakultní nemocnici v Plzni. Jednotlivé výsledky jsme následně statisticky zpracovali. K analýze dat byl využit software IBM SPSS Statistics (v.26.0, IBM Corp.). Za statisticky významné jsme brali hodnoty  $P < 0.05$ .

- *Výsledky*

Z osmdesáti pacientů, zařazených do naší studie, pouze v 52 případech byly k dispozici vzorky primárního tumoru pro stanovení BRAF V600E mutace. Co se týče RR (recurrence rate), DFI (disease free interval) a OS (overall survival), nebyl prokázán vliv BRAF V600E mutace ve vzorku tumoru. V souboru předoperačních náběrů se zjistilo, že přítomnost BRAF mutace v předoperačním náběru je spojena s vysokým rizikem recidivy i úmrtí oproti BRAF V600E WT. V náběrech, které byly provedeny jednu hodinu po chirurgickém výkonu u 76

pacientů, byla nalezena mutace BRAF V600E ve 26.3 % případů (n = 20). Pacienti s BRAF V600E mutací v ctDNA mají oproti pacientům s BRAF V600E WT ctDNA vyšší celkový výskyt recidivy, RR do 6 měsíců od výkonu, RR do 2 let. Pacienti s BRAF V600E mutací také vykazovali kratší DFI i OS. V náběrech provedených druhý pooperační den vychází opět BRAF mutace ctDNA s vyšším rizikem recidivy. Ve všech dalších kontrolních náběrech již mezi BRAF mutantní ctDNA a BRAF WT ctDNA nebyl signifikantní rozdíl v RR, DFI ani OS.

- *Shrnutí*

Naše výsledky poukazují na skutečnost, že stanovením ctDNA jednu hodinu po chirurgickém výkonu je možné identifikovat vysoce rizikové nemocné, kteří by z adjuvantní terapie výrazně profitovali. Ačkoli je tuto studii ještě nutné potvrdit na širším vzorku nemocných, testování ctDNA je možné zvažovat jako budoucí parametr indikace adjuvantní terapie u pacientů s časným stadiem maligního melanomu.