

**Abstrakt:**

Vyšetření cirkulující nádorové DNA (ctDNA) v periferní krvi onkologických pacientů nachází v dnešní době stále širší uplatnění, a to napříč různými nádorovými onemocněními. Jedná se o krátké fragmenty DNA pocházející z nádorové tkáně, které se volně vyskytují v periferní krvi těchto pacientů (převážně v pokročilých stádiích). Díky minimální invazivitě, téměř 100 % specificitě a poměrně vysoké sensitivitě u pacientů ve IV. stádiu onemocnění má toto vyšetření potencionální klinický význam zejména v časném záchytu návratu či progresi onemocnění po resekci tumoru (tzv. pooperační follow-up), predikci a sledování odpovědi na léčbu a odhadu prognózy onemocnění. Vzhledem však k velmi limitním hladinám ctDNA na pozadí vysoké koncentrace ostatních nenádorových fragmentů v plazmě pacientů je pro správnou diagnostiku tohoto markeru zcela klíčová použitá metodika vykazující co nejvyšší záchyt. Ta je zpravidla založena na nalezení mutace v tumorové tkáni a jejím následném průkazu v plazmě.

Tato práce je zaměřena na optimalizaci izolace ctDNA a metodiky její detekce na principu PCR s následnou analýzou heteroduplexů pomocí denaturační kapilární elektroforézy (DCE) s cílem dosáhnout co nejvyšší záchyt mutované frakce ve vzorku plazmy. Optimalizovanou metodou jsem vyšetřila přítomnost ctDNA u tří typů nádorových onemocnění, kterými byly kolorektální karcinom (122 vzorků plazmy), nemalobuněčný karcinom plic (30 vzorků plazmy) a adenokarcinom slinivky břišní (45 vzorků plazmy). Na základě získaných výsledků jsem u pacientů s kolorektálním karcinomem sledovala vztah mezi hladinami ctDNA a radikalitou resekce, návratem nebo progresí onemocnění a dále jsem pozitivitu ctDNA porovnávala s výsledky zobrazovacích metod a tumorových markerů. U pacientů s adenokarcinomem pankreatu jsem zjišťovala význam přítomnosti ctDNA ve vztahu k prognóze onemocnění a u pacientů s nemalobuněčným karcinomem plic jsem ověřovala možnost detekce mutací v genu EGFR v plazmě pro účely indikace cílené biologické léčby.

**Klíčová slova:**

cirkulující nádorová DNA (ctDNA), nádorové onemocnění, mutace, izolace DNA, PCR, denaturační kapilární elektroforéza (DCE), heteroduplexy, kolorektální karcinom, nemalobuněčný karcinom plic, adenokarcinom slinivky břišní, radikalita resekce, zobrazovací metody, tumorové markery, prognóza onemocnění, protoonkogen, tumor supresorový gen, KRAS, TP53, cílená biologická léčba