doi: 10.48095/cctahd2022prolekare.cz9

Voľná nádorová DNA u pacientov s klasickým Hodgkinovým lymfómom

An update on circulating tumor DNA in patients with Hodgkin lymphoma

Kredátusová A., Procházka V., Papajík T.
Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

SÚHRN: Voľná cirkulujúca nádorová DNA (*circulating tumour DNA* – ctDNA) je typ extracelulárnej voľnej DNA (*circulating cell-free DNA* – cfDNA) uvoľňovaná do krvi pacientov s onkologickým ochorením apoptózou a nekrózou nádorových buniek. Predstavuje alternatívny biomarker, ktorého kvalitatívna i kvantitatívna analýza môže, doplňujúc zobrazovacie vyšetrenie, spresniť hodnotenie liečebnej odpovede u pacientov s Hodgkinovým lymfómom. Ako dynamický parameter by si svoje uplatnenie mohla nájsť pri upresňovaní diagnózy, v skríningu mutácií a pri vstupnej stratifikácii pacienta podľa rizika, v priebehu liečby a po jej ukončení pri hodnotení jej účinnosti aj v ďalšom sledovaní za účelom včasnej predikcie prípadného relapsu.

KĽÚČOVÉ SLOVÁ: Hodgkinov lymfóm – tekutá biopsia – cirkulujúca nádorová DNA – minimálna reziduálna choroba

SUMMARY: Circulating tumour DNA (ctDNA) is a type of extracellular circulating cell-free DNA (ccfDNA, cfDNA) released into the blood of cancer patients by apoptosis and necrosis of tumour cells. It represents an alternative biomarker for the qualitative and quantitative analysis that may together with PET/CT imaging refine the assessment of treatment response in patients with Hodgkin lymphoma. As a dynamic parameter, it could be applied for refining diagnosis, initial screening for mutations and patient risk stratification. During treatment and at its the end, it could be used to evaluate treatment efficacy and may also be useful for further monitoring and relapse prediction.

KEY WORDS: Hodgkin lymphoma – liquid biopsy – circulating tumor DNA – minimal residual disease

ÚVOD

Hodgkinov lymfóm (HL) je malígne nádorové ochorenie vychádzajúce z transformovaných B-lymfocytov. V populácii pozorujeme dva vrcholy, prvý v skupine mladých dospelých, druhý vrchol u pacientov vo veku nad 55 rokov. S incidenciou 260 nových pacientov za rok (2 na 100 000 obyvateľov) sa v Českej republike radí na 27. miesto z celkovo 34 v zozname onkologických diagnóz podľa Medzinárodnej agentúry pre výskum rakoviny. V skupine pacientov vo veku 15–29 rokov však patrí medzi päť najčastejších malignít [1]. Táto diagnóza zahŕňa dve podjednotky: nodulárny HL s lymfocytárnou predominanciou (NLPHL) a klasický Hodgkinov lymfóm (cHL). Známe sú 4 podtypy klasického Hodgkinovho lymfómu: cHL typu nodulárnej sklerózy (NSCHL), ktorý je najčastejším podtypom i v našej populácii (70 %), cHL so zmiešanou celularitou (MCCHL, 20–25 %), cHL bohatý na lymfocyty (LRCHL, 5 %) a cHL s lymfocytárnou depléciou (LDCHL, < 1 %). Napriek dlhodobo nemeniacej sa incidencii v českej populácii rastie jeho prevalencia. Tento fakt súvisí s vysokou kurabilitou tohto ochorenia. 5-ročné prežitie u pacientov sa za posledných 30 rokov zvýšilo takmer o 20 % (64,5 vs. 81,4 %) [2], pozorujeme však zreteľný rozdiel medzi vekovou skupinou mladších pacientov (18–59 rokov) a skupinou starších pacientov (60 rokov a viac). Dáta z českého registru Hodgkinovho lymfómu ukazujú, že prvá skupina pacientov dosahuje 5-ročné prežitie až 98,2 %, zatiaľ čo v skupine starších pacientov je 5-ročné celkové prežitie len 70,5 % [3]. Tento rozdiel je daný odlišnou biológiou ochorenia [4], horšou fyzickou kondíciou starších pacientov už pred zahájením liečby, častejšou prítomnosťou komorbidít a ich závažnejším charakterom, použitím nižších dávok chemoterapie a jej vyššou toxicitou. Zároveň je pre starších pacientov menej dostupných klinických štúdií [3]. Dôležité sú ale aj sociálne faktory (domáca starostlivosť, strata samostatnosti) a spolupráca pacienta (kognitívny deficit, hypomobilita).

Základnou liečebnou modalitou sú kombinované režimy polychemoterapie doplnené rádioterapiou postihnutej oblasti podľa medzinárodne rešpektovaných protokolov. Do klinickej praxe sa

prolékaře.cz | 20.12.2025

ďalej stále vo väčšom množstve predovšetkým u pacientov s relabujúcim/refraktérnym ochorením dostávajú liečivé prípravky fungujúce na báze imunoterapie a cielenej liečby (anti-CD30 protilátka konjugovaná s cytostatikom, inhibítory imunitných kontrolných bodov). Tento multimodálny intenzívny prístup však so sebou nesie nezanedbateľné riziko akútnej i neskorej toxicity. Vzhľadom na to, že často ide o mladých pacientov, to vedie k snahe hľadať optimálny liečebný prístup a priamo vyhľadávať pacientov ohrozených komplikáciami z nadmernej toxicity z intenzívnej liečby a zároveň tých s rizikom slabého účinku terapie a rozvoja rezistencie.

Zlatým štandardom pri vstupnom hodnotení rizikovosti pacienta a následne pri posudzovaní liečebnej odpovede u pacientov s HL zostáva vyšetrenie pozitrónovou emisnou tomografiou kombinovanou s výpočtovou tomografiou (PET/CT). Počas liečby sa sleduje jej efekt v rámci tzv. interim PET, iPET vyšetrenia, po jej absolvovaní sa hodnotí finálny PET, fPET. Výsledok PET/CT vyšetrenia hrá v každodennej praxi významnú úlohu vo všetkých štádiách cHL a rozhoduje o ďalšom osude pacienta v zmysle prípadnej intenzifikácie chemoterapie alebo využitia rádioterapie.

Nevýhodou PET/CT vyšetrenia je možná falošná pozitivita v dôsledku reaktívnych zmien v sledovanej oblasti. Samostatným typom falošnej pozitivity je fenomén tzv. pseudoprogresie, v zahraničnej literatúre známej aj pod názvom tumor flare, ktorý je často spojený s liečbou imunoterapiou a aj napriek existencii LYRIC [5] a RECIL kritérií [6], predstavuje výzvu pri individuálnom hodnotení liečebnej odpovede.

Problémom, s ktorým sa lekár ošetrujúci pacienta s Hodgkinovým lymfómom často potýka, je fakt, že v súčasnosti nie je známy žiadny štandardizovaný biomarker, ktorý by mohol spresniť manažment liečby tohto ochorenia. Ideálny biomarker by mal byť minimálne invazívny, s vysokou senzitivitou a špecifickosťou, výsledky by mali byť rýchlo dostupné a, samozrejme, dôležité je aj ekonomické hľadisko [7].

Veľký potenciál v tejto oblasti má práve metóda vyšetrenia cfDNA, označovaná aj ako tekutá biopsia. cfDNA je voľná extracelulárna DNA, u zdravých jedincov vo forme kratších fragmentov uvoľňovaná do krvného obehu fyziologicky apoptózou lymfocytov a iných buniek. Napriek pomerne nízkemu zastúpeniu neoplastických Hodgkinových a Reedovej-Sternbergových (HRS) buniek v celkovej mase lymfómu v porovnaní s difúznym veľkobunkovým B-lymfómom (DLBCL) pozorujeme u pacientov s cHL podobne vysoké hodnoty cfDNA [8]. Táto skutočnosť nasvedčuje, že cHL vykazuje vyššiu tendenciu uvoľňovať cfDNA, ukazuje nielen na časté nekrotické zmeny nádorových buniek aj okolitého zápalového infiltrátu, ale môže súvisieť aj s reštrukturalizáciou jadrovej DNA v priebehu vývoja HRS buniek [9,10]. Namerané hodnoty cfDNA u pacientov s cHL sú signifikantne vyššie ako u zdravých jedincov a zároveň je vyšší pomer dlhších fragmentov ku kratším (DNA integrity index, DII) [8,11]. Zvýšené hodnoty cfDNA u zdravého jedinca teda môžu predstavovať prvú známku prebiehajúceho doteraz nezachyteného lymfómu, celková senzitivita a špecifickosť však neprekračuje 75 %, preto prostá kvantifikácia cfDNA zrejme v budúcnosti nebude slúžiť ako samostatná diagnostická metóda pri podozrení na toto ochorenie [12].

Voľná extracelulárna DNA bola objavená v roku 1948 francúzskymi vedcami Mandelom a Métaisom [13], prvý dôkaz, že genetické zmeny HRS buniek je možné zachytiť v DNA cirkulujúcej v plazme pacienta, však pochádza až z roku 2015. Išlo o náhodný nález v rámci neinvazívneho prenatálneho testovania (NIPT) u asymptomatickej tehotnej. Mutácie zachytené v plazme pacientky pri tomto vyšetrení nekorešpondovali s normálnymi výsledkami amniocentézy. To následne viedlo k podozreniu na nádorové ochorenie tehotnej a celotelovému vyšetreniu magnetickou rezonanciou s nálezom masy v mediastine. Diagnostická biopsia neskôr potvrdila klasický Hodgkinov lymfóm typu nodulárnej sklerózy. Genetické zmeny chromozomálnych oblastí HRS buniek z biopsie získané pomocou vyšetrenia fluorescenčnou in situ hybridizáciou (FISH) zodpovedali nálezu pri NIPT, čo následne viedlo k hypotéze, že nádorové zmeny HRS buniek môžu byť detekované vo voľnej DNA [14]. Toto prelomové odhalenie podnietilo ďalší vývoj na poli genetického profilovania Hodgkinovho lymfómu využitím tekutej biopsie.

GENOTYPIZÁCIA HODGKINOVHO LYMFÓMU

cHL sa histologicky vyznačuje prítomnosťou nádorových HRS buniek na bohatom nenádorovom a zápalovom pozadí [15]. HRS bunky tvoria malú časť celkovej populácie, iba 0,1–2 % všetkých buniek v závislosti od bioptickej vzorky [16], čo predstavuje problém pri získavaní dostatočného materiálu ku genetickej analýze. Pôvodné štúdie venujúce sa genetickému profilovaniu cHL využívali ako zdroj materiálu práve bioptické vzorky fixované formalínom a ukotvené v parafínovom bločku, ktoré boli ďalej spracované metódou mikrodisekcie. Tento prístup so sebou spolu s možnými komplikáciami pri samotnej biopsii prináša ďalej i otázku reprezentatívnosti výsledku, ak berieme do úvahy možnú heterogenitu v rôznych častiach nádoru. Štúdie u dospelých aj detských pacientov prezrádzajú, že cfDNA odzrkadľuje mutačný profil HRS buniek bez nutnosti mikrodisekcie, „obchádza" problémy plynúce z biopsie a predstavuje tak vhodnejší zdroj genetického materiálu pre následnú analýzu [4,17].

Štúdie na pacientoch so solídnymi tumormi ďalej nasvedčujú, že cfDNA môže byť uvoľňovaná aj do ostatných telesných tekutín, ktoré sú v kontakte s primárnym nádorom. Takýmto zdrojom nukleových kyselín môže byť s ohľadom na základnú diagnózu napr. moč, sliny, pleurálny a peritoneálny výpotok, pankreatická šťava či dokonca komorová te-

proLékaře.cz | 20.12.2025

kutina [18]. Navzdory ich potenciálnemu využitiu v solídnej onkológii, u pacientov s cHL nie sú zatiaľ k dispozícii žiadne relevantné dáta podporujúce tento postup. Vzhľadom na rozdielnu lokalizáciu lymfómu u pacientov s cHL a charakter ochorenia však nad týmto materiálom do budúcna zrejme nemožno počítať ako s bežným univerzálnym zdrojom genetickej informácie.

Pri skúmaní možností využitia tekutej biopsie sa pozornosť sústreďuje aj na hľadanie ideálnej metódy ďalšieho spracovania získanej cfDNA za účelom zvýšenia jej senzitivity, špecifickosti a klinickej významnosti. Výzvu predstavuje jej relatívne malé množstvo vo vyšetrovanom materiáli, fragmentovaná povaha a prirodzená interindividuálna rôznorodosť alelických variant, vrátane známych riadiacich (*driver*) a sprievodných (*passenger*) génov klonálnej hematopoézy [19], čo môže viesť k falošnej pozitivite vyšetrenia.

Na analýzu cfDNA v klinických hodnoteniach sú využívané hlavne dva prístupy, vyšetrenie polymerázovou reťazovou reakciou (PCR) a sekvenačné metódy. Každá z týchto metód so sebou nesie svoje špecifiká a v súčasnosti nie je k dispozícii žiadny štandardizovaný laboratórny postup a komerčne dostupné riešenia. Výhodou PCR vyšetrenia, najčastejšie vo forme digitálnej PCR (dPCR) [10,20,21], je jeho dobrá dostupnosť, jednoduchá a rýchla realizovateľnosť a pomerne nízke nároky na množstvo materiálu. Pozitívom je aj vysoká senzitivita a nízka inteferencia šumu pozadia. Keďže ide o vyšetrenie založené na amplifikácii konkrétnych génových oblastí a ich kvantifikácii, neposkytuje nám pohľad na celkové molekulárne zloženie lymfómu daného pacienta. Sekvenovanie novej generácie (*next-generation sequencing* – NGS) na druhej strane umožňuje detekovať celé spektrum somatických mutácií v pacientovej cfDNA, teda je vhodnou metódou napr. vstupne pri hodnotení nádorovej nálože či sledovaní klonálneho vývoja ochorenia [10,11], prekážkou môže byť cena a potreba špecifickej prístrojovej a personálnej infraštruktúry. Vhodným postupom sa zdá byť kombinovanie viacerých nástrojov molekulárnej biológie, napr. využitie metódy NGS vo forme screeningu mutácií pred liečbou a následné použitie technicky jednoduchších metód, ako je digitálna PCR na ich ďalšie sledovanie v priebehu terapie.

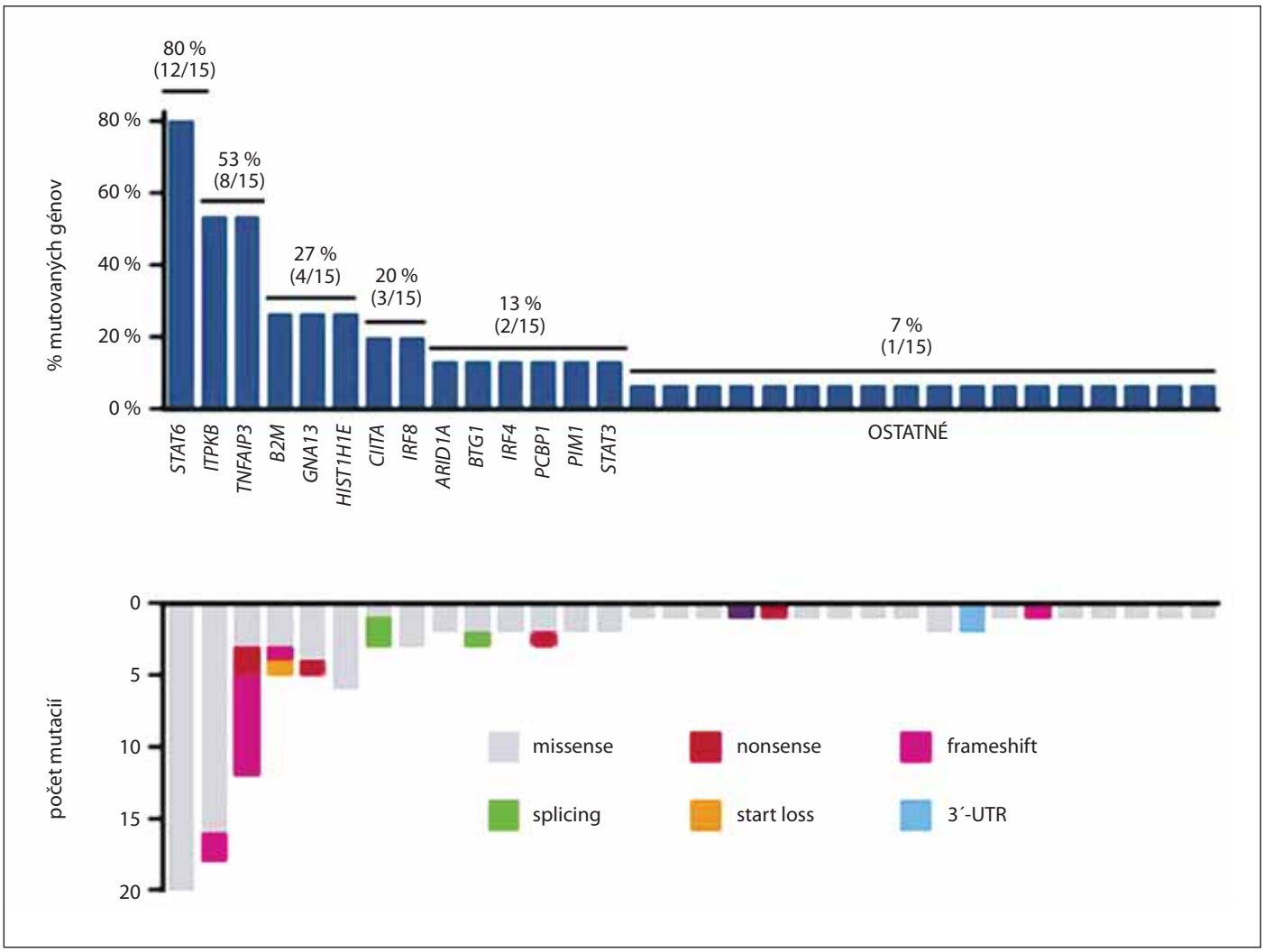
Najčastejšie mutovanými génmi sú podľa Spiny et al. STAT6 (*Signal Transducer and Activator of Transcription 6*), TNFAIP3 (*Tumour Necrosis Factor Alpha Induced Protein 3*), ITPKB (*Inositol-Triphosphate 3-Kinase B*), GNA13 (*Guanine Nucleotide-binding protein subunit Alpha-13*), B2M (*Beta-2-Microglobulin*), ATM (*Ataxia-Telangiectasia Mutated*), SPEN (*Split Ends*) a XPO1 (*Exportin 1*) postihujúce signálne dráhy NF-kB (*Nuclear Factor kappa-light chain-enhancer of activated B cells*), PI3K-Akt (*Phosphatidylinositol 3-Kinase – Protein Kinase B*), Notch a cytokínové dráhy, teda ovplyvňujú procesy súvisiace s intracelulárnym transportom a signalizáciou, apoptózou, bunkovým cyklom či imunitným dozorom (graf 1) [4]. Dôležitým zistením je, že jednotlivé subtypy cHL sa od seba geneticky líšia. Napr. u pacientov s NSCHL pozorujeme signifikantne vyššiu frekvenciu mutácií génu STAT6. Podobný úkaz pozorujeme aj v závislosti na veku pacienta (mladší pacienti do 60 rokov) a v súvislosti s pozitivitou vírusu Epsteina-Barrovej (EBV) [4]. Naopak, STAT6 nebýva mutovaný u NLPHL. Tieto genetické charakteristiky cHL môžu byť nápomocné aj v rámci diferenciálnej diagnostiky pri nejednoznačnom histologickom náleze, keďže klasický Hodgkinov lymfóm môže byť zameniteľný nielen s NLPHL, ale aj s non-Hodgkinovými lymfómami, ako je DLBCL, anaplastický veľkobunkový lymfóm (ALCL), primárny mediastinálny B lymfóm (PMBCL) či neklasifikovateľný B-bunkový lymfóm s črtami medzi DLBCL a cHL [10,11]. Zaujímavé je, že samotná koncentrácia cfDNA sa u jednotlivých podtypov cHL nelíši. Pestré spektrum genetických zmien u pacientov s Hodgkinovým lymfómom poukazuje na variabilitu tohto ochorenia, čo súvisí s jeho rozdielnym priebehom u jednotlivých pacientov.

Poznanie genetického profilu nádoru má význam pri rozvoji cielenej protinádorovej terapie a v budúcnosti bude dôležité pri voľbe správneho liečivého prípravku pre daného pacienta za účelom individualizácie liečby.

V súvislosti s rozvojom cielenej terapie sa táto liečba stala štandardom aj u pacientov s cHL. V súčasnej dobe sa využíva hlavne u pacientov s relabovaným/refraktérnym cHL (R/R cHL), eventuálne u pacientov nevhodných k intenzívnej liečbe chemoterapiou [2]. Jednou z možností liečby sú inhibítory imunitných kontrolných bodov (*immune checkpoint inhibitors* – ICI). Ide hlavne o protilátky proti receptoru PD-1 (programmed death) regulačných T-lymfocytov. Niektoré nádorové bunky, vrátane buniek cHL, exprimujú na svojom povrchu práve antigén PD-L1/PD-L2, ktorého väzba na PD-1 receptor lymfocytov vedie k útlmu ich proliferácie a k funkčnej anergii, teda inaktivácii efektívnej protinádorovej imunity. ICI väzbou na PD-1 receptor lymfocytov bránia tejto inaktivácii. Roemer a spol. poukázali na zvýšenú expresiu PD-1 a PD-2 ligandov HRS bunkami, čo vedie k uľahčeniu šírenia nádoru. Gén pre PD-L1 sa nachádza na chromozóme 9p24.1 a k tejto hyperexpresii dochádza najčastejšie ziskom génového materiálu (60 %) a amplifikáciou (27 %) [22]. Amplifikácia oblasti 9p24.1 sa vyskytuje často u pacientov v pokročilom štádiu ochorenia a zároveň je spojená s kratšou dobou prežitia bez progresie po liečbe prvej línie [23].

V kontexte využitia ICI v liečbe pacientov s relabovaným/refraktérnym Hodgkinovým lymfómom di Trani et al. poukázali na možnosť sledovania efektivity tejto liečby práve využitím tekutej biopsie. Vo svojej práci popísali dva rôzne typy klonálnej evolúcie: 1. klonálny reshaping značiaci senzitivitu, keď u pacientov, ktorí po liečbe nivolumabom dosiahli remisiu (kompletnú alebo parciálnu), došlo už po piatich cykloch k vy-

prolékaře.cz | 20.12.2025



Graf 1. Najčastejšie mutované gény u pacientov s cHL. Voľne upravené podľa [12].

miznutiu pôvodných mutácií v cfDNA a k ich nahradeniu novými a 2. klonálna perzistencia pôvodných klonov súvisiaca s rezistenciou na ICI [24]. Tento vzorec poukazuje na snahu nádoru uniknúť liečbe, môže teda svedčiť o jej účinnosti [4].

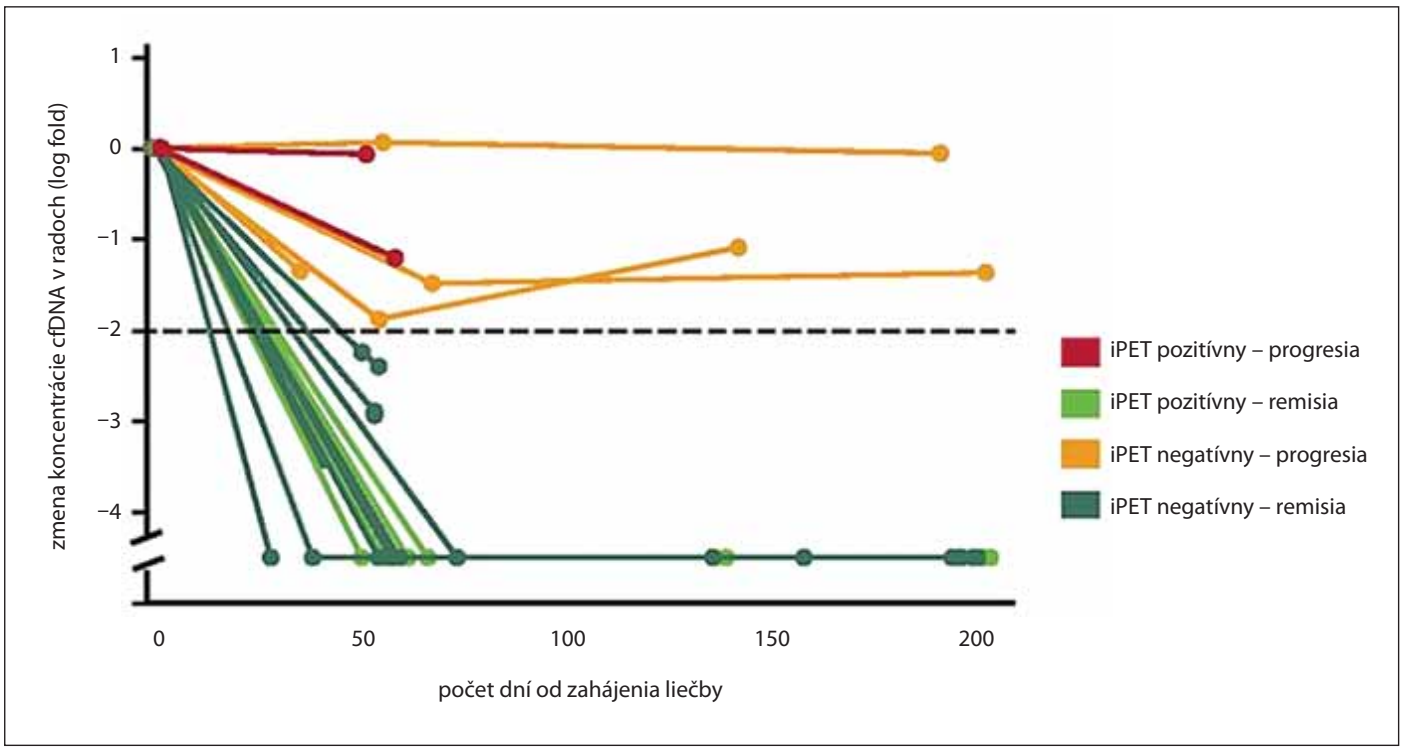
Otázkou ostáva aj prípadná onkogenita cfDNA. García-Olmo a spol. prišli s teóriou takzvaných genometastáz. Ide o hypotézu, že neoplastické bunky uvoľňujú do cirkulácie cfDNA s onkogennými vlastnosťami, teda DNA schopnú transformovať normálne bunky a podieľať sa na ďalšom šírení a progresii nádoru v rámci organizmu [25]. Teória genometastáz však zatiaľ nebola verifikovaná u cHL, čo necháva ďalší možný priestor pre budúci výskum venujúci sa danej problematike.

PROGNOSTICKÝ VÝZNAM CFDNA A JEJ VÝZNAM PRI HODNOTENÍ LIEČEBNEJ ODPOVEDE U CHL

V súčasnosti sa na hodnotenie rizikovosti ochorenia pri diagnóze a efektu následnej liečby využíva zobrazovacie vyšetrenie PET/CT. Stážovacia klasifikácia Ann Arbor však slabo reflektuje nádorovú nálož, vyšetrenie je preto doplnené zhodnotením prítomnosti ďalších rizikových faktorov (masívny mediastinálny tumor – ≥ 1/3 maximálneho priemeru hrudníka, extranodálne postihnutie, vysoká hodnota sedimentácie a postihnutie 3 a viacerých regiónov lymfatických uzlín). Podľa týchto kritérií sú definované tri rizikové skupiny: včasné, intermediárne a pokročilé štádium [2,26]. Záujem odbornej verejnosti sa orientuje aj na ďalšie kvantitatívne parametre PET. Významným prognostickým markerom sa javí byť celkový metabolický objem nádoru (*total metabolic tumor volume* – TMTV) [27,28], ktorý zároveň koreluje s výsledkami interim PET/CT. Slabou stránkou PET/CT vyšetrenia stále zostáva jeho možná falošná pozitivita v dôsledku reaktívnych zmien postihnutého lymfatického tkaniva. Určitou alternatívou môže byť využitie iných indikátorov, napr. ^{18}F-fluortymidinu (^{18}F-FLT), ktorý ako marker bunkovej proliferácie umožňuje lepšie odlíšiť nádorovú masu od reparačných zmien a zápalu. Nejde však o rutinne používanú metódu a nerieši technické limity PET/CT vyšetrenia ako takého [29].

Vhodným doplnkom zobrazovacích vyšetrení pri posudzovaní nejed-

proLékaře.cz | 20.12.2025



Graf 2. Pokles koncentrácie cfDNA v plazme pacientov po 2 cykloch chemoterapie o dva rady (2-log) je asociovaný s kompletnou remisiou bez ohľadu na prípadnú pozitivitu iPET2. Voľne upravené podľa [12].

noznačných nálezov môže byť práve voľná cirkulujúca nádorová DNA. Jej kvantitatívna analýza ponúka riešenie v prípadoch hraničnej pozitivity, keď významný pokles jej koncentrácie naznačuje citlivosť lymfómu na podávanú liečbu. Naopak, vysoká hladina cfDNA napriek negatívnemu PET/CT vyšetreniu by mala viesť klinika k ostražitosti a sledovaniu pacienta.

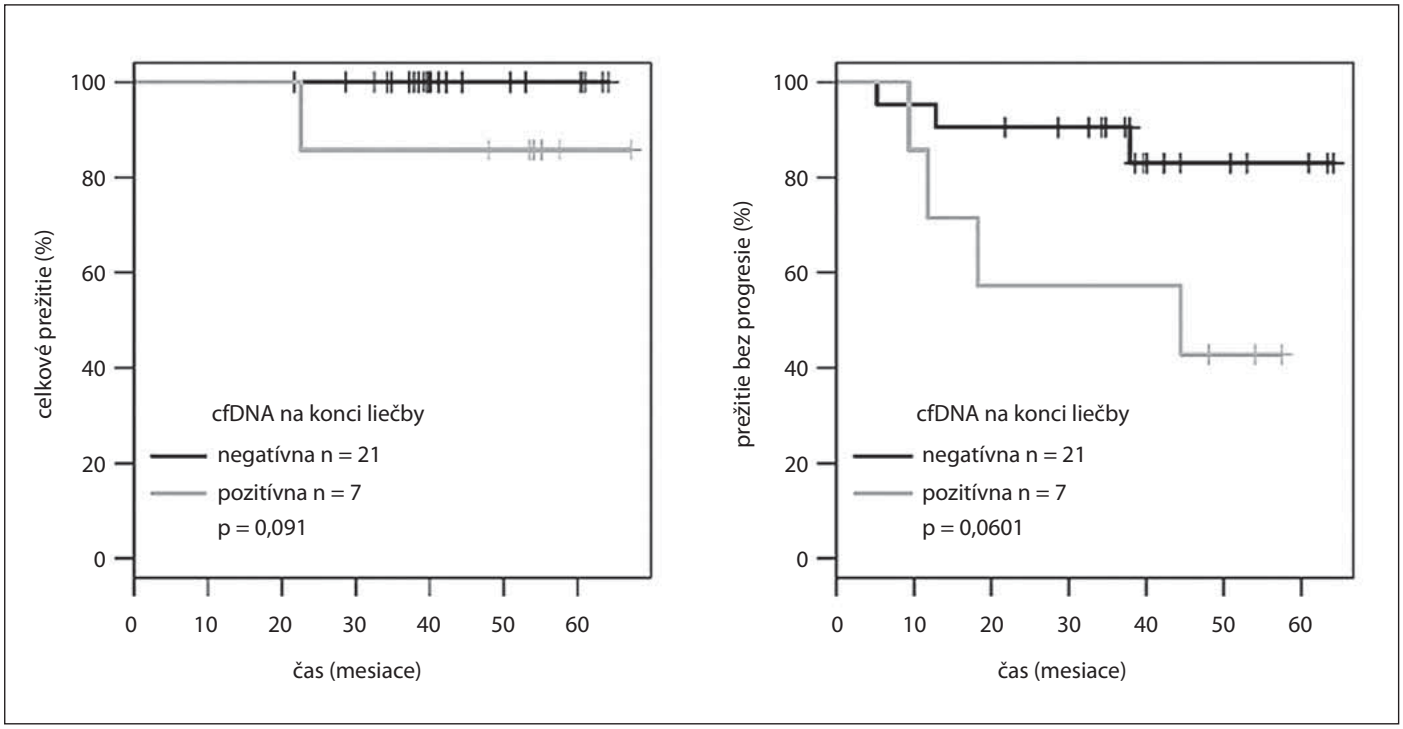
Veľký ohlas vyvolala štúdia Spiny a spol. z roku 2018, v ktorej sa posudzovala liečebná odpoveď u 24 pacientov s pokročilým cHL (NSCHL, MCCHL, LRCHL) po 2 cykloch chemoterapie ABVD (adriamycín, bleomycín, vinblastín, dakarbazín). V tejto štúdii sa autori venovali porovnávaniu výsledkov interim PET/CT vyšetrenia a dynamike koncentrácie cfDNA a hodnotil sa ich vplyv na celkovú odpoveď pacientov na liečbu. Zaujímavým zistením bolo, pokles koncentrácie cfDNA v plazme pacientov po 2 cykloch chemoterapie o dva rady (2-log) bol asociovaný s vyššou pravdepodobnosťou dosiahnutia kompletnej remisie bez ohľadu prípadnú pozitivitu iPET2. Naopak, pacienti, ktorí nedosiahli daný prah, boli vo väčšom riziku progresie ochorenia (graf 2) [4].

Význam hodnotenia plazmatickej koncentrácie cfDNA podporuje aj štúdia venujúca sa predikcii zlyhania liečby režimom BEGEV (bendamustín, gemcitabín, vinorelbin) u pacientov s R/R klasickým Hodgkinovým lymfómom. Di Trani et al. v tejto štúdii dokázali, že vysoká hladina cfDNA pred zahájením režimu BEGEV s vysokou presnosťou predpovedá vysoké riziko zlyhania tejto liečby a spolu s využitím výsledkov iPET2 je táto metóda vhodná na identifikáciu pacientov, ktorí by mohli mať prospech z iných foriem liečby, napr. na báze imunoterapie [30].

Úskalím výhradne kvantitatívnej analýzy voľnej cirkulujúcej DNA je však jej nádorový aj nenádorový pôvod. Vyskytuje sa aj v plazme zdravých darcov a jej množstvo môže byť zvýšené aj u pacientov s inými neonkologickými diagnózami, čo predstavuje úskalie hodnotenia jej koncentrácií u komorbidných pacientov. Štúdie ďalej zdôrazňujú dôležitosť preanalytickej fázy, dôležitým parametrom sa vo viacerých prácach zdá byť fyzická aktivita pred odberom, ktorá vedie k výrazne vyšším nameraným hladinám cfDNA. Istý význam sa prisudzuje aj ďalším biologickým faktorom, ako je vek, pohlavie či životný štýl, výsledky sa však v rôznych prácach významne líšia [31] a chýba ich štandardizácia.

K myšlienke, že tekutá biopsia je citlivejšou metódou vyhľadávania rizikových pacientov oproti štandardným rizikovým faktorom, sa prikláňa aj Camus et al., zameriava sa ale na kvalitatívnu analýzu izolovanej cfDNA. Už v roku 2016 vysledoval, že detekovateľné mutácie exportínového génu XPO-1 zachytené v plazme dospelých pacientov po skončení indukčnej liečby sú spojené s kratšou dobou prežitia bez progresie bez ohľadu výsledok fPET/CT. Stojí za to zmieniť, že len jeden pacient zo siedmich s preukázateľnými mutáciami mal v tom čase pozitívny PET/CT nález (graf 3) [20]. Táto práca bola impulzom pre vznik prospektívnej štúdie zameranej na monitorovanie ďalších špecifických mutácii v priebehu liečby pacientov s cHL, v ktorej opäť Camus a spol. potvrdili, že cfDNA je vhodným

prolékaře.cz | 20.12.2025



Graf 3. Perzistencia špecifických mutácií (pr. exportínový gén *XPO-1*) v plazme pacientov aj po skončení indukčnej liečby je spojená s kratšou dobou prežitia bez progresie bez ohľadu na výsledok fPET/CT. Voľne upravené podľa [23].

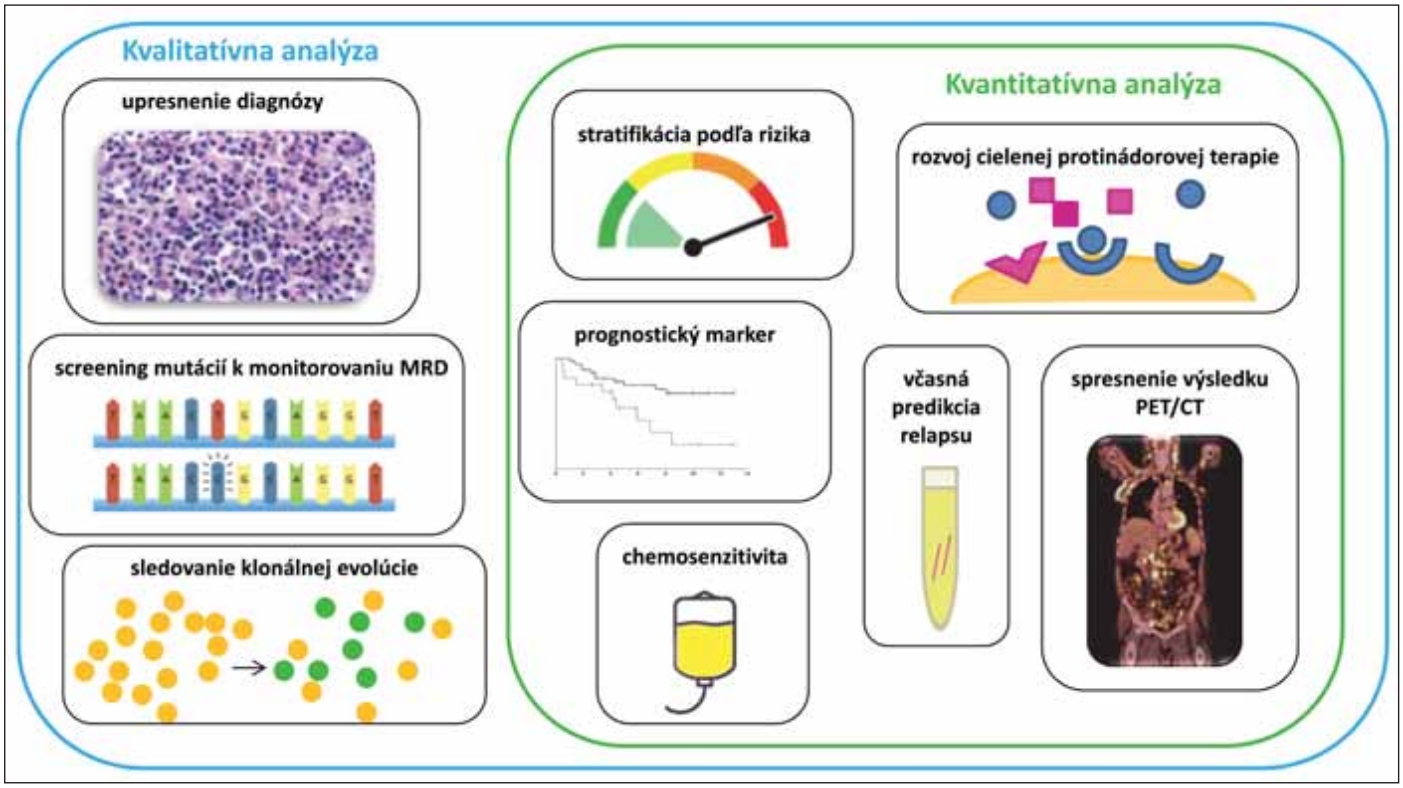


Schéma 1. Možnosti využitia voľnej nádorovej DNA u cHL.

doplnkom PET/CT pri hodnotení efektivity terapie. Dokázali, že s pomocou NGS je možné v cfDNA zachytiť aj ďalšie mutácie v génoch zapojených do patogenézy cHL a tieto kandidátne mutácie následne využiť v sledovaní ochorenia (štúdia na 60 novo diagnostikovaných pacientoch s cHL). Zaujímavým prípadom z tejto práce je pacient, u ktorého došlo po 2. cykle chemoterapie k vymiznutiu pôvodných mutácií, interim PET/CT však ukazovalo vysokú akumuláciu glukózy v lymfatickej uzline ľavej supraklavikulárnej oblasti. Tento pacient následne podstúpil diagnostickú bio-

psiu so záverom benígnych reaktívnych zmien [21]. Ide o prípad falošnej pozitivity, ktorá môže viesť k zbytočnej eskalácii liečby a vysokému riziku toxicity a ďalších komplikácií. Tekutá biopsia sa v tomto prípade zdá byť spoľahlivým doplnkom PET/CT a do budúcna jedným z nádejných markerov na sledovanie minimálnej reziduálnej choroby u pacientov s cHL.

Podobné dáta získali aj Buedts a spol., ktorí sa využitím sekvenačných metód zamerali na analýzu aberácií počtu kópií (*copy number aberrations* – CNAs) cfDNA v plazme pacientov s cHL pred zahájením liečby a v jej priebehu (177 pacientov s novo diagnostikovaným cHL). Sledovali, že pacienti, u ktorých po 2 cykloch liečby dôjde k vymiznutiu pôvodných CNAs, dosahujú lepšiu liečebnú odpoveď a zlyhanie liečby je v tejto skupine menej časté. V spojení s negatívnym iPET2 vyšetrením bola úspešnosť liečby správne predpokladaná u 99 % všetkých pacientov. Táto štúdia zároveň potvrdila aj význam kvantifikácie cfDNA a jej koreláciu s celkovou nádorovou náložou a priebehom liečby [11].

ZÁVER

Klasický Hodgkinov lymfóm je pomerne zriedkavou onkologickou diagnózou, v našej populácii je však najčastejšou hematoonkologickou diagnózou mladých dospelých [1]. Napriek rozvíjajúcim sa možnostiam imunoterapie a cielenej liečby zostávajú stále základnou liečebnou modalitou režimy polychemoterapie s prípadnou rádioterapiou. Tento prístup so sebou nesie významné riziko toxicity, čo môže mať za následok závažné sekundárne ochorenia a následne viesť k zníženej kvalite života pacientov aj napriek dosiahnutiu dlhodobej remisie lymfómu. Pre ošetrujúceho lekára je preto dôležitý správny výber stratégie a intenzity liečby [32]. Úvodná stratifikácia pacientov do rizikových skupín nie je dostatočne presná a aj napriek využitiu nových metabolických parametrov je pacient ohrozený rezistenciou na liečbu z dôvodu jej nedostatočnej intenzity, prípadne naopak, problémami plynúcimi z toxicity. Preto sa pri výskume cHL v súčasnosti kladie veľký dôraz na hľadanie ideálneho biomarkeru uľahčujúcemu rozhodovanie o intenzite a dĺžke terapie.

Nádejným markerom sa javí byť práve voľná cirkulujúca nádorová DNA, ktorej neinvazívna kvantitatívna i kvalitatívna analýza vo forme tzv. tekutej biopsie (liquid biopsy) má potenciálne využitie vo všetkých fázach liečby cHL od diagnózy až po sledovanie pacienta po ukončení terapie (schéma 1). Táto moderná a bezpečná metóda v posledných rokoch zažíva veľký vzostup na scéne svetovej aj českej hematológie a ponúka perspektívu budúceho praktického využitia v klinickej praxi.

Literatúra

1. Cancer Today. Global Cancer Observatory. International agency for research on cancer [online]. Dostupné na: https://gco.iarc.fr/today/home [cit. 2022-03-17].
2. Hodgkinův lymfom. In: Belada D, Trněný M a kolektív autorů Kooperativní lymfomové skupiny. Diagnostické a léčebné postupy u nemocných s maligními lymfomy. 12. vyd; publikováno elektronicky 6. ledna 2022; 158–168. Dostupné na: https://www.lymphoma.cz/_uploads/attachments/Lecebna_doporuceni_06-JAN-2022.pdf [cit. 2022-03-17].
3. Sýkorová A, Móciková H, Lukášová M, et al. Outcome of elderly patients with classical Hodgkin's lymphoma. Leuk Res. 2020;90:106311.
4. Spina V, Bruscaggin A, Cuccaro A, et al. Circulating tumor DNA reveals genetics, clonal evolution, and residual disease in classical Hodgkin lymphoma. Blood. 2018;131(22):2413–2425.
5. Cheson BD, Ansell S, et al. Refinement of the Lugano classification lymphoma response criteria in the era of immunomodulatory therapy. Blood. 2016;128(21):2489–2496.
6. Younes A, Hilden P, Coiffier B, et al. International Working Group consensus response evaluation criteria in lymphoma (RECIL 2017). Ann Oncol. 2017;28(7):1436–1447.
7. Cirillo M, Borchmann S. An update on disease biomarkers for Hodgkin lymphoma. Expert Rev Hematol. 2020;13(5):481–488.
8. Li M, Jia Y, Xu J, Cheng X, Xu C. Assessment of the circulating cell-free DNA marker association with diagnosis and prognostic prediction in patients with lymphoma: a single-center experience. Ann Hematol. 2017;96(8):1343–1351.
9. Righolt CH, Knecht H, Mai S. DNA Superresolution structure of Reed-Sternberg cells differs between long-lasting remission versus relapsing Hodgkin's lymphoma patients. J Cell Biochem. 2016;117(7):1633–1637.
10. Camus V, Jardin F. Cell-free DNA for the management of classical Hodgkin lymphoma. Pharmaceuticals (Basel). 2021;14(3):207.
11. Buedts L, Wlodarska I, Finalet-Ferreiro J, et al. The landscape of copy number variations in classical Hodgkin lymphoma: a joint KU Leuven and LYSA study on cell-free DNA. Blood Adv. 2021;5(7):1991–2002.
12. Hohaus S, Giachelia M, Massini G, et al. Cell-free circulating DNA in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas. Ann Oncol. 2009;20(8):1408–1413.
13. Mandel P, Métais P. Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'Homme. C R Seances Soc Biol Fil. 1948;142(3–4):241–243.
14. Vandenberghe P, Wlodarska I, Tousseyn T, et al. Non-invasive detection of genomic imbalances in Hodgkin/Reed-Sternberg cells in early and advanced stage Hodgkin's lymphoma by sequencing of circulating cell-free DNA: a technical proof-of-principle study. Lancet Haematol. 2015;2(2):55–65.
15. Jiang M, Bennani NN, Feldman AL. Lymphoma classification update: T-cell lymphomas, Hodgkin lymphomas, and histiocytic/dendritic cell neoplasms. Expert Rev Hematol. 2017;10(3):239–249.
16. Küppers R, Engert A, Hansmann M-L. Hodgkin lymphoma. J Clin Invest. 2012;122(10):3439–3447.
17. Desch A, Hartung K, Botzen A, et al. Genotyping circulating tumor DNA of pediatric Hodgkin lymphoma. Leukemia. 2020;34(1):151–166.
18. Pös Z, Pös O, Styk J, et al. Technical and methodological aspects of cell-free nucleic acids analyzes. Int J Mol Sci. 2020;21(22):8634.
19. Liu J, Chen X, Wang J, et al. Biological background of the genomic variations of cf-DNA in healthy individuals. Ann Oncol. 2019;30(3):464–470.
20. Camus V, Stamatoullas A, Mareschal S, et al. Detection and prognostic value of recurrent exportin 1 mutations in tumor and cell-free circulating DNA of patients with classical Hodgkin lymphoma. Haematologica. 2016;101(9):1094–101.
21. Camus V, Viennot M, Lequesne J, et al. Targeted genotyping of circulating tumor DNA for classical Hodgkin lymphoma monitoring: a prospective study. Haematologica. 2021;106(1):154–162.
22. Roemer MGM, Redd RA, Cader FZ, et al. Major histocompatibilty complex class II and programmed death ligand 1 expression predict outcome after programmed death 1 blockade in classic Hodgkin lymphoma. J Clin Oncol. 2018;36(10):942–950.
23. Roemer MGM, Advani RH, Ligon AH, et al. PD-L1 and PD-L2 Genetic alterations define classical Hodgkin lymphoma and predict outcome. J Clin Oncol. 2016;34(23):2690–2697.
24. Di Trani M, Rizzo E, Locatelli S, et al. Longitudinal assessment of circulating tumor mutational burden using a next-generation sequencing cancer gene panel: a potential biomarker of response to programmed cell death 1 (PD-1) bloc-

prolékaře.cz | 20.12.2025

kade in patients with relapsed/refractory classical Hodgkin lymphoma. Blood. 2019;134 (Suppl 1): 131.
25. García-Olmo DC, Domínguez C, García-Arranz M, et al. Cell-free nucleic acids circulating in the plasma of colorectal cancer patients induce the oncogenic transformation of susceptible cultured cells. Cancer Res. 2010;70(2):560–567.
26. Diehl V, Stein H, Hummel M, Zollinger R, Connors JM. Hodgkin's lymphoma: biology and treatment strategies for primary, refractory, and relapsed disease. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2003. 2003:225–247.
27. Procházka V, Gawande RS, Cayci Z, et al. Positron emission tomography-based assessment of metabolic tumor volume predicts survival after autologous hematopoietic cell transplantation for Hodgkin lymphoma. Biol Blood Marrow Transplant. 2018;24(1):64–70.
28. Prochazka V, Henzlova L, Lukasova M, et al. Metabolic tumor volume and soluble cytokines levels in newly diagnosed Hodgkin lymphoma: What it brings into the staging precision? Blood. 2018;132(Suppl 1):2933.
29. Akhtari M, Milgrom SA, Pinnix CC, et al. Reclassifying patients with early-stage Hodgkin lymphoma based on fuctional radiographic markers at presentation. Blood. 2018;131(1):84–94.
30. Di Trani M, Ricci F, Sollini M, et al. Circulating tumor DNA integrated with interim [18F]FDG PET is highly effective in predicting outcome of relapsed/refractory classical Hodgkin lymphoma treated with the Begev regimen. Blood. 2021;138(Suppl 1):3504.
31. Yuwono NL, Warton K, Ford CE. The influence of biological and lifestyle factors on circulating cell-free DNA in blood plasma. Elife; publikováno eletronicky 9. listopadu 2021. doi: 10.7554/eLife.69679.
32. Marková J. Hodgkinův lymfom – nekončící příběh. Transfuze Hematol Dnes. 2019;25(1):87–95.

ČESTNÉ PREHLÁSENIE

Autori prehlasujú, že vznik rukopisu nebol podporený žiadnou firmou a v súvislosti so vznikom a prípravou rukopisu nemajú žiaden konflikt záujmov.

PODIEL AUTOROV NA PRÍPRAVE RUKOPISU

AK – pripravila prvú verziu rukopisu a rukopis revidovala
VP – pripomienkoval prípravu a revíziu rukopisu
TP – pripomienkoval revíziu rukopisu

GRANTOVÁ PODPORA

Podporené grantom MZ ČR (RVO FNOL, 000 988 92), IGA_LF_2022_001 a AZV NU22-03-00 182.

Doručeno do redakce dne: 21. 2. 2022.
Přijato po recenzi dne: 26. 4. 2022.

prof. MUDr. Vít Procházka, Ph.D.
Hemato-onkologická klinika
FN Olomouc
I. P. Pavlova 6
779 00 Olomouc
e-mail: vit.prochazka@fnol.cz