

## **Abstrakt:**

Cirkulujúca cell-free DNA (cfDNA) a jej frakcia, cirkulujúca tumorová DNA, pochádzajúca z nádoru, sú považované za inovatívny prognostický a prediktívny biomarker vo svete onkologickej diagnostiky. Mnohé štúdie preukázali pozmenené hladiny koncentrácie cfDNA a integrity - indikátora množstva ctDNA v rámci cfDNA, v telových tekutinách u pacientov s nádorovými ochoreniami v porovnaní so zdravými jedincami, čo poukazuje na ich potenciál ako efektívneho biomarkera na monitorovanie dynamiky týchto ochorení. Táto práca sa sústreďuje na optimalizáciu a validáciu kvantifikačných metód, ktoré sú následne použité na analýzu spomínaných parametrov cfDNA u vzoriek štyroch rôznych nádorov. Najskôr boli otestované dva rôzne komerčné kity na izoláciu cfDNA u vzoriek plazmy a séra. Metódy na kvantifikáciu, kvantitatívna real-time polymerázová reakcia (qPCR) a PicoGreen dsDNA assay, boli optimalizované na efektívne kvantifikovanie nízkych koncentrácií cfDNA, a následne porovnané medzi sebou a ku droplet digital PCR, ktorá bola použitá na vybraný počet vzoriek. Zároveň bola stanová koncentrácia a integrita cfDNA vzoriek karcinómu prsu, vaječníkov, kolorekta a pankreasu. Väčší výt'azok cfDNA bol získaný pomocou kitu QIAamp Circulating Nucleic Acid isolation kit (Qiagen) v porovnaní s kitom Plasma/Serum Cell-Free Circulating DNA Purification Mini Kit (Norgen). Koncentrácia cfDNA všetkých menovaných ochorení bola zvýšená v porovnaní so zdravými kontrolami. Hodnoty cfDNA integrity sa na druhej strane správali odlišne. Zatiaľ čo sa cfDNA integrita u karcinómu prsníka a pankreasu nelíšila od zdravých kontrol, u pacientov s karcinómom kolorekta a vaječníkov bola v porovnaní so zdravými jedincami znížená. Tieto výsledky podporujú hypotézu, že cfDNA pochádzajúca z nádoru je viac fragmentovaná ako cfDNA zo zdravých buniek a dokazujú, že cfDNA je vhodným kandidátom pre detailnejšie štúdiá zaoberajúce sa ich dynamikou u pacientov s nádorovými ochoreniami.

**Kľúčové slová:** cirkulujúce biomarkery, cell-free DNA, DNA integrita, DNA kvantifikačné metódy, optimalizácia