

## **Огляд літератури:**

УДК 616-006.04-076:616.15-076-033.2

### **РІДИННА БІОПСІЯ: ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ В ОНКОЛОГІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)**

Винниченко І.О., Привалова А.О., Смородська О.М., Винниченко О.І., Москаленко Ю.В.

*Сумський державний університет, Медичний інститут, кафедра хірургії та онкології,  
м. Суми, Україна, e-mail: smorodina@meta.ua*

**Резюме.** Рідинна біопсія знаходиться під прицілом уваги, завдяки своєму клінічному значенню для персоналізованої медицини. Цей діагностичний метод направлений на виявлення та аналіз таких біомаркерів крові, як циркулюючі пухлинні клітини (ЦПК), позаклітинна циркулююча пухлинна ДНК (цпДНК), циркулюючі РНК та екзосоми, які вивільняються з первинних пухлин та їх метастатичних вогнищ. Переваги рідинної біопсії над класичною тканинною є очевидними. Неінвазивність методу, гетерогенність дають можливість виявити всі можливі типи пухлинних клітин, що дозволяє підійти до лікування персоналізовано. Новітні техніки аналізу ЦПК і цпДНК направлені на виявлення злоякісних захворювань та визначення прогнозу у пацієнтів з курабельним захворюванням, моніторинг системної терапії і стратифікацію хворих, базовану на виявленні терапевтичних мішеней або механізмів резистентності.

**Ключові слова:** рідинна біопсія, онкологія, циркулюючі пухлинні клітини, циркулююча пухлинна ДНК, циркулююча пухлинна РНК.

**Вступ.** Проблема пошуку новітніх методів діагностики в онкології на сьогодні постає досить гостро [1]. Це пояснюється зростанням потреби у персоналізації лікування пацієнтів зі злоякісними захворюваннями, заснованій на молекулярних змінах в пухлині конкретного хворого. Не дивлячись на те, що класична тканинна біопсія дає змогу відповісти на значну кількість діагностичних запитань, отримані результати висвітлюють дані лише по одній невеликій ділянці первинної пухлини або метастазу, часто взятій ще до початку лікування. Від виконання повторних біопсій, як правило, пацієнти відмовляються. У клініці трапляються випадки, коли якість морфологічного матеріалу або його неправильне зберігання не дозволяють виконати генетичне дослідження,

та й виконання самої біопсії не завжди є можливим, оскільки доступ до пухлини може бути значно утрудненим або навіть небезпечним для пацієнта. Все це визначило розвиток альтернативних шляхів вивчення пухлинного матеріалу в онкологічних хворих [2].

Одним із найперспективніших методів, які використовуються, є рідинна біопсія. Вона отримала величезну увагу в онкології, завдяки своєму очевидному клінічному значенню для персоналізованої медицини [3]. Цей діагностичний метод являє собою інноваційне дослідження крові з метою виявити та проаналізувати біомаркери, що циркулюють в крові. До таких відносяться: циркулюючі пухлинні клітини (ЦПК), позаклітинна циркулююча пухлинна ДНК (цпДНК) в крові, циркулюючі РНК та екзосоми, які вивільняються з первинних пухлин та їх метастатичних вогнищ. Основною перевагою рідинної біопсії над класичною є її неінвазивність, що дозволяє вільно використовувати її за будь-якої нагальної потреби. Ще однією вагомою перевагою рідинної біопсії є її гетерогенність, яка полягає в можливості виявлення всіх можливих типів пухлинних клітин, навіть при мінімальній їх концентрації в крові. Ця особливість дозволяє підійти до лікування персоналізовано, а також підібрати найбільш оптимальну схему лікування з метою попередження рецидиву пухлинного процесу. Особливий інтерес рідинна біопсія представляє у хворих, яким було проведено оперативне лікування, оскільки в них існує нагальна потреба оцінити результат проведеного лікування у різні періоди, відповідь організму на проведене лікування, а також з метою моніторингу ефективності проведених додаткових методів лікування, зокрема, неоад'ювантної терапії. У прооперованих хворих рідинна біопсія може бути предиктором рецидиву, а також дати відповідь щодо результатів лікування у віддалені терміни [4]. Отже, ключовими областями клінічного застосування рідинної біопсії є вияв-

лення раку, визначення прогнозу у пацієнтів з курабельним захворюванням, моніторинг системної терапії і стратифікація хворих, базована на виявленні терапевтичних мішеней або механізмів резистентності [3].

**Циркулюючі пухлинні клітини (ЦПК).** Вперше опис ЦПК в крові хворих на рак пацієнтів був задокументований 1869 року [5]. Добре відомо, що гематогенна дисемінація пухлинних клітин (як поодиноких, так і у вигляді кластерів) є одним із провідних шляхів в утворенні та формуванні метастазів, оскільки пухлинні клітини вже на початку захворювання можуть вивільнятися з первинних вогнищ. Проте їх кількість є дуже малою, в порівнянні з мільйонами лейкоцитів та трильйонами еритроцитів, і варіює у межах 1-10 клітин в 1 мл периферичної крові. Період їх напіврозпаду також незначний, і складає 1-2,4 години. Було вивчено, що від кількості ЦПК залежить кількість метастазів, проте достеменно відомо, що ЦПК можуть також вивільнятися у кровотік з вторинних метастатичних вогнищ навіть через роки після резекції первинної пухлини [1]. Чи

є викид ЦПК у кровотік випадковим процесом або він зумовлений специфічною біологічною програмою, все ще залишається предметом дискусій [3, 6].

З метою визначення кількості ЦПК використовуються різні методики. В основі одних лежать біологічні властивості клітин, інших – фізичні властивості, які дають можливість відрізнити ЦПК від інших клітин периферичної крові: клітинна густина, розмір, електричний заряд на поверхні клітинних мембран, здатність клітин до деформації. Основні методи, які використовують на цей час, показано в (таб. 1).

Фізичні властивості досліджують переважно методами ізоляції, в основі яких лежить принцип фільтрації, який є найбільш обіцяючим в плані прогнозу та скринінгу.

Кількість ЦПК є прогностичним фактором, який дозволяє визначити виживаність без прогресування та загальну виживаність, особливо у хворих на недрібноклітинний рак легень, рак молочної залози, колоректальний рак та рак передміхурової залози.

**Таблиця 1**

**Огляд наразі існуючих методів для визначення ЦПК**

Збагачуючий прилад/ метод	Техніка	Властивості та переваги	Обмеження
Методи, засновані на біологічних властивостях			
CellSearch	Сортування клітин за допомогою магнітної активації	Затверджено Food and Drug Administration (FDA)	Низька варіабельність для дослідних цілей
AdnaTest, AdnaGen	Заснований на імуномагнетизмі	Виявлення ЦПК та подальший аналіз їх транскрипту	Лише «+» -адгезивні молекули епітеліальних клітин можуть бути визначені
CNC-chip	Мікрорідинні	Загальне збагачення ЦПК, як наслідок висока життєздатність	Повільний; лише невеликий об'єм крові може бути дослідженим
HB-chip			
CTC-iChip			
Graphene oxide-Chip			
CellCollector	Дослідження in vivo, засноване на захопленні адгезивних молекул епітеліальних клітин	In vivo виявлення, як наслідок у великому об'ємі крові	Зображення на CellCollector ЦПК складне
EPISPOT	Аналіз для виявлення секретованих білків	Життєздатні ЦПК можуть бути виявлені	Непряме дослідження, оскільки оцінюється лише за секретованим білком
Методи, засновані на фізичних властивостях (розмір, густина/щільність)			
Ficoll, Ocoquick	Конфігурація градієнту щільності	Заснований на щільності	Неспецифічні клітини втрачаються
RosetteSep	Негативне збагачення	Простий; може захопити життєздатні ЦПК	Неспецифічні клітини втрачаються
ScreenCell	Виключення засноване на фільтрації за розміром	Простий, не потребує додаткового обладнання	Ухилення за розміром, оскільки малі ЦПК можуть бути втрачені
ISET	Виключення засноване на фільтрації за розміром	Простий та швидкий	Ухилення за розміром, оскільки малі ЦПК можуть бути втрачені. Потребує додаткового устаткування.

Використання ЦПК є дещо лімітованим через низьку кількість клітин та дороговартість методик. Проте їх клінічну значимість вперше було доведено 2004 року, а чисельні проведені мета-аналізи підтверджують прогностичну значимість ЦПК [1].

**Циркулююча пухлинна ДНК (цпДНК).** В 60-ті роки ХХ сторіччя групою вчених на чолі з Stroun була продемонстрована присутність пухлинно-асоційованих аберацій та наявність циркулюючих фрагментів пухлинних ДНК [1]. ЦпДНК являють собою фрагменти ДНК загинуваних пухлинних клітин, які потрапили в системний кровотік. Більшість фрагментів цпДНК складаються з 180-200 пар основ, що свідчить про те, що вони частіше виникають в процесі апоптозу, проте деяка частина цпДНК виділяється з некротизованих клітин [4, 7]. На сьогодні вже відомо про мутації в пухлинних супресорах та онкогенах, втрату гетерозиготності, мікросателітну нестабільність, ДНК метилювання, проте існує мала кількість даних, які б пояснювали походження, механізми та кінетику появи або кліренсу таких ДНК. За рахунок низької кількості таких фрагментів в циркулюючій крові існують певні труднощі в аналізі, однак новітні розробки в молекулярних технологіях допомогли досягти необхідної чутливості та специфічності у виявленні малих кількостей цпДНК. З цією метою радять використовувати сироватку, замість плазми [1].

За принципом, технології для визначення цпДНК можна розділити на таргетні методи, покликані виявити мутації в наборі заздалегідь визначених генів (наприклад, KRAS в контексті блокування EGFR антитілами) або нетаргетні методи (наприклад, матрична порівняльна геномна гібридизація (array comparative genomic hybridization (array-CGH), повногеномне секвенування або секвенування екзому), які спрямовані на аналіз генома і виявлення нових геномних аберацій, наприклад, таких, що забезпечують стійкість до конкретної таргетної терапії [3, 8]. Загалом, таргетні методи мають вищу аналітичну чутливість, ніж нетаргетні методи, незважаючи на значні зусилля вдосконалити поріг чутливості [3, 9]. Нещодавно спостерігалась поява високочутливих технологій, здатних виявити найменшу кількість цпДНК в "морі" нормальної позаклітинної ДНК, які необхідні для раннього виявлення раку або мінімального залишкового захворювання [3, 10].

З моменту першого цілеспрямованого виділення мутацій в 1990 році [1] було розроблено високочутливі та специфічні методи для

виявлення цпДНК: BEAMing, plasma Safe-Sequencing (Safe-SeqS), tagged-amplicon deep sequencing (TAm-Seq), цифрова ПЛР, які дозволяють виявити одноклеотидні мутації у цпДНК, повногеномне секвенування (whole-genome sequencing) – встановлює зміни числа копій генів [3, 8].

Особливо високими показниками чутливості вирізняється PARE (personalized analysis of rearranged ends), яка дозволяє виявити цпДНК вже при 0,001% його наявності в циркулюючому руслі. Newman запропонував метод CAPP-Seq (CAnCER Personalized Profiling by deep Sequencing), як надчутливий до визначення цпДНК, а Forshev зі співавторами розробили TAm-Seq (Tagged-amplicon deep sequencing) метод. Метод TAm-Seq дозволяє визначити ракові мутації в алелях з частотою нижчою за 2%, маючи при цьому чутливість та специфічність вищу за 97%. Вищеперелічені методи дозволяють виявити не тільки точкові мутації в цпДНК, але й комплекс аберацій зі змінами кількості (ампліфікація, делеція, анеуплоїдія) або послідовності (транслокації, інверсії) великих фрагментів ДНК. Перспективним є визначення рівня метилювання пухлинного геному, проте значним недоліком його використання є низька специфічність, оскільки метилювання не є пухлинно-специфічним процесом і може спостерігатись в нормальних тканинах. Однак навіть враховуючи ці недоліки, визначення рівня метилювання цпДНК може виявитись корисним маркером для визначення динамічних змін, що відбуваються в пухлині, та бути однією з основних скринінгових методик [7].

Виявлення раку шляхом моніторингу цпДНК привертає значну увагу [3, 11, 12]. Найбільший технологічний виклик – це виявлення дуже низької кількості цпДНК у зразках крові з різною кількістю позаклітинної ДНК та вибір вірної панелі геномних аберацій, специфічних для раку. Нещодавно команда Джона Хопкінса використала технології на основі цифрової полімеразної ланцюгової реакції для оцінки можливості виявлення пухлин за допомогою визначення цпДНК у 640 пацієнтів з різними формами раку. ЦпДНК була розпізнана лише у 48-73% пацієнтів з локалізованими формами раку: колоректальний рак, кардіоезофагальний рак, рак підшлункової залози та аденокарцинома молочної залози. Хоча ці показники вагомі, проте вони не є достатніми для раннього виявлення раку. ЦпДНК часто була присутня у пацієнтів без виявлених ЦПК [3, 13]. Інші дослідники показали, що у 100% пацієнтів з II – IV та у 50% з I стадією недрібно-

клітинного раку легень визначалась цпДНК [1,7]. Однак було також показано, що з віком можливе виникнення так званих ракоасоційованих мутацій, які ніколи не призведуть до виникнення раку протягом життя. Не дивлячись на великі сподівання, покладені на вищеперелічені методи, їм і досі не вистачає достатньої чутливості, і тому вони потребують певної кількості цпДНК, які ще можуть бути відсутніми у хворих на початкових стадіях [1]. Таким чином, виявлення пов'язаних з раком мутацій на позаклітинній ДНК може не вказувати на те, що обстежувана особа вже має рак або у неї розвинеться рак протягом життя, але це може бути приводом значного занепокоєння та проведення розширених діагностичних процедур з такими побічними явищами, як опромінення [3].

Кількість цпДНК залежить від пухлинної маси в організмі людини, одночасно зростає при збільшенні об'єму пухлини, оскільки збільшується кількість клітин, які підлягають апоптозу і некрозу. Додатковими факторами, що впливають на кількість цпДНК, є гістологічний тип пухлинних клітин, розмір пухлинних вогнищ та їх васкуляризація. Збільшенню кількості цпДНК сприяє спосіб утилізації загиблих клітин: при фізіологічній загибелі нормальних клітин організму продукти їх розпаду поглинаються та перетравлюються фагоцитами, тоді як процес фагоцитування пухлинних клітин менш ефективний, що сприяє накопиченню клітинного детриту, який здатен виділяти пухлинну ДНК в циркулюючий кровотік, в результаті чого частка цпДНК може складати від 0,01 до 90% від загальної кількості циркулюючих ДНК. Невелике дослідження Murtaza et al. показало принципову можливість використання цпДНК для повного секвенування пухлинного екзома та спостереження за його еволюцією протягом лікування раку молочної залози, яєчників, легень [4]. Ще одною перевагою визначення цпДНК є відносно короткий час напіврозпаду в циркулюючій крові (близько 2 годин), що дозволяє оцінити динаміку пухлинної маси через кілька годин після її реальних змін.

Основною проблемою у використанні цпДНК є відсутність чітких стандартів і невелика кількість проведених клінічних досліджень. Тож визначення рівня цпДНК може бути також використане як прогностичний маркер у хворих після хірургічного лікування з метою визначення необхідності додаткової ад'ювантної терапії, визначення групи ризику виникнення нових вогнищ, рецидиву (оскільки методики враховують пухлинні клітини та

цпДНК, які рознесені по організму, але не утворюють вогнищ), призначення таргетної терапії або з метою швидкої модифікації терапії хворим, за умови неефективності попередньої [1].

**Циркулююча пухлинна РНК та екзосоми.** Додатково до основних методів рідинної біопсії – визначення цпДНК та ЦПК, маленьким, але дуже перспективним розділом є визначення циркулюючої пухлинної РНК. Популярність циркулюючих РНК значно зросла в останні 10 років. Так, протягом 2005 року було опубліковано лише 85 робіт, тоді як протягом 2015 року їх кількість склала 3680. Перспективність їх широкого використання полягає у можливості їх визначення у більшості біологічних рідин: плазмі, сироватці крові, цереброспинальній рідині, слині та сечі, що є значною перевагою. З метою визначення РНК використовуються RT-qPCR (Reverse Transcription quantitative PCR) методи, які засновані на гібридизації, та методи, в основі яких лежить секвенування. Важливим є те, що залежно від виду біологічної рідини та способу екстракції РНК варіюють також і діагностичні рівні. Перспективною є можливість використовувати циркулюючі РНК з прогностичною метою для раку молочної залози, колоректального раку і особливо плоскоклітинного раку легень. Основною проблемою для їх широкого використання є відсутність стандартизації, а також висока залежність отриманих результатів від умов, які передували аналізу, зокрема, температура та використовувані консерванти, діста пацієнта, стиль його життя та вживання ліків. Однак за рахунок можливості виділення РНК з різних біологічних рідин організму у клініцистів з'являється можливість проведення рутинних досліджень не тільки з метою виявлення хвороби та її прогресії, але й з метою виявлення невідомого походження пухлин та метастазів [1].

**Висновки та перспективи.** Рідинна біопсія, сфокусована на аналізі ЦПК та цпДНК у крові хворих на рак, отримала величезну увагу, завдяки своєму очевидному клінічному значенню для персоналізованої медицини. Визначення ЦПК та цпДНК проклало нові діагностичні шляхи і, на сьогоднішній день, є наріжним каменем рідинної біопсії. Наскільки вони зможуть замінити тканинну біопсію в майбутньому, залишається предметом дискусій. Для первинної діагностики пухлин, для яких утруднене проведення тканинної біопсії, а також для рестадіювання та молекулярного аналізу метастатичних вогнищ, рідинна біопсія може стати альтернативою. Крім того, вона

може допомогти направити сучасні методи діагностики раку на осіб з підвищеним ризиком, що в перспективі дозволило б зменшити побічні ефекти (наприклад, опромінення при проведенні мамографії) та витрати на медичне обслуговування. Однак, незважаючи на декілька перспективних перших результатів та величезний інтерес діагностичних компаній та публічної преси ("виявлення раку з краплі крові"), раннє виявлення раку стикається з такими серйозними проблемами, як чутливість та специфічність. Натомість, моніторинг ЦПК та цпДНК під час системної терапії у онкологічних хворих може стати тим напрямком застосування, який буде простішим та ближчим щодо впровадження до клінічної практики. Аналізи ЦПК та цпДНК для мутацій, що дають відповідь на лікування або є стійкими до таргетної терапії, вже продемонстровані в ряді досліджень. Більше тестів на мутації в генах, які кодують терапевтичні мішені та відповідні гени резистентності, очікуються найближчим часом [3, 14].

#### Література:

1. Haybaeck J. Mechanism of molecular Carcinogenesis, Volume 2 / Johannes Haybaeck. – Springer, 2017. – 343 p.
2. Федянин М.Ю. Роль циркулирующей в крови опухолевой ДНК при раке толстой кишки / М.Ю. Федянин, Е.М. Полянская, С.А. Тюляндин // Онкологическая колопроктология. – 2016. – Т. 6, № 3. – С. 43-52.
3. Alix-Panabieres C. Clinical Applications of Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA as Liquid Biopsy / C. Alix-Panabieres, K. Pantel // Cancer Discovery. – 2016. – 6(5). – P. 479-491.
4. Жуков Н.В. Исследование циркулирующей опухолевой ДНК (жидкая биопсия). Перспективы использования в онкологии / Н.В.Жуков, А.Р. Зарецкий, С.А. Лукьянов // Онкогематология. – 2014. – №4. – С.28-36
5. Alamgeer M. Novel therapeutic targets in non-small cell lung cancer / M. Alamgeer, V. Ganju, D.N. Watkins // Curr. Opin. Pharmacol. – 2013. – 13. – P. 394–401.
6. Kang Y. Tumor cell dissemination: emerging biological insights from animal models and cancer patients / Y. Kang, K. Pantel // Cancer Cell. – 2013. – 23. – P. 573–581.
7. Sorber L. et al. Circulating cell-free nucleic acids and platelets as a liquid biopsy in the provision of personalized therapy for lung cancer patients. Lung Cancer. – 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lungcan.2016.04.026>
8. Murtaza M. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA / M. Murtaza, S.J. Dawson, D.W. Tsui, D. Gale, T. Forshew, A.M. Piskorz, et al. // Nature. – 2013. – 497. – P. 108–112.
9. Heitzer E. Circulating tumor DNA as a liquid biopsy for cancer / E. Heitzer, P. Ulz, J.B. Geigl // Clin Chem. – 2015. – 61. – P. 112–123.
10. Newman A.M. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage / A.M. Newman, S.V. Bratman, J. To, J.F. Wynne, N.C. Eclov, L.A. Modlin, et al. // Nat Med. – 2014. – 20: 548–54.
11. Yong E. Cancer biomarkers: written in blood / E. Yong // Nature. – 2014. – 511. – P. 524–6.
12. Spellman P.T. Detecting cancer by monitoring circulating tumor DNA / P.T. Spellman, J.W. Gray // Nat Med. – 2014. – 20. – P. 474–5.
13. Bettegowda C. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies / C. Bettegowda, M. Sausen, R.J. Leary, I. Kinde, Y. Wang, N. Agrawal, et al. // Sci Transl Med. – 2014. – 6. – P. 224.
14. Korpanty G.J. Biomarkers That Currently Affect Clinical Practice in Lung Cancer: EGFR, ALK, MET, ROS-1, and KRAS / G.J. Korpanty, D.M. Graham, M.D. Vincent, N.B. Leighl // Frontiers in oncology. – 2014. – 4. – P. 204.

УДК 616-006.04-076:616.15-076-033.2

## ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ: ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В ОНКОЛОГИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Винниченко И.А., Привалова А.А., Смородская О.Н., Винниченко А.И., Москаленко Ю.В.

*Сумский государственный университет, Медицинский институт, кафедра хирургии и онкологии, г. Сумы, Украина  
e-mail: smorodina@meta.ua*

**Резюме.** Жидкостная биопсия находится под прицелом внимания, благодаря своему клиническому значению для персонализированной медицины. Этот диагностический метод направлен на выявление и анализ таких биомаркеров крови, как циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), внеклеточная циркулирующая опухолевая ДНК (цпДНК), циркулирующие РНК и экзосомы, которые высвобождаются из первичных опухолей и их метастатических очагов. Преимущества жидкост-

ной биопсии над классической тканевой очевидны. Неинвазивность метода, гетерогенность дают возможность выявить все возможные типы опухолевых клеток, что позволяет подойти к лечению персонализовано. Новейшие техники анализа ЦОК и цоДНК направлены на выявление злокачественных заболеваний и определение прогноза у пациентов с курабельным заболеванием, мониторинг системной терапии и стратификацию больных, основанную на выявлении терапевтических мишеней или механизмов резистентности.

UDK 616-006.04-076:616.15-076-033.2

## LIQUID BIOPSY: PERSPECTIVES OF APPLICATION IN ONCOLOGY (LITERATURE REVIEW)

I.O. Vynnychenko, A.O. Pryvalova,  
O.M. Smorodska, O.I. Vynnychenko,  
Y.V. Moskalenko

*Sumy State University, Medical Institute, Surgery and Oncology Department Sumy, Ukraine, e-mail: smorodina@meta.ua*

**Abstract.** Nowadays liquid biopsy is under the focus of attention due to its clinical implications for personalized medicine. This diagnostic method focuses on detection and analysis of blood biomarkers such as circulating tumor cells (CTC), cell-free circulating tumor DNA (ctDNA), circulating RNA and exosomes that are released from primary tumors and their metastatic foci. Benefits of liquid biopsy over classic tissue biopsy are obvious. Non-invasiveness and heterogeneity of the method makes it possible to detect all variants of tumor cells types. Detection of different tumor cells types allow oncologists to approach the personalized treatment.

Calculation of CTC can be used as a prognostic factor that allows to determinate survival rate without progression and overall survival, especially in patients with non-small cell lung cancer, breast cancer, colorectal cancer, and prostate cancer. Different techniques have been used to calculate number of CTC. Some techniques are

based on biological properties of cells, while others - on physical properties. It has been shown that the number of metastases depends on the amount of CTC. It is also known that the CTC could also be released into the bloodstream from secondary metastatic foci, even if resection of the primary tumor was made many years ago.

ctDNA are DNA fragments of lysed tumor cells that could be found in systemic circulation. Due to the low number of such fragments in the circulating blood, there are some difficulties in the analysis. The latest elaborations in molecular technologies made possible to achieve necessary sensitivity and specificity in detecting of ctDNA in low rates. In principle, methods for detecting ctDNA can be divided into targeted approaches that aim to detect mutations in a set of predefined genes or untargeted approaches that aim to screen the genome and discover new genomic aberrations.

A small but very promising section of the liquid biopsy is the definition of tumor circulating RNA. Prospect of its widespread use is associated with ability to detect them in most biological fluids, such as plasma, serum, cerebrospinal fluid, saliva and urine, which could be referred to its' significant advantage. The main problems for its widespread use are lack of standardization as well as high dependence of obtained results on the conditions that preceded the analysis. In particular temperature, preservatives that are used, patient's diet, lifestyle and received drugs could affect obtained results.

Analyses of CTCs and ctDNA have paved new diagnostic ways of liquid biopsy. Key areas of clinical applications of liquid biopsy are cancer detection, prediction of prognosis in patients with curable disease, monitoring systemic therapies and stratification of patients based on the detection of therapeutic targets or resistant mechanisms; but to what extent they might replace tissue biopsy in the future is still the subject to be discussed.

**Key words:** liquid biopsy, oncology, circulating tumor cells, circulating tumor DNA, circulating tumor RNA.

Стаття надійшла до редакції 14.02.2018 р.