Statusartikel

Ugeskr Læger 2021;183:V02210154

Cirkulerende tumor-DNA ved behandling af kræft

Cecilie Riis Iden*[1], Amanda Frydendahl Boll Johansen*[2, 3], Nadia Øgaard[2, 3], Iben Boutrup Kongsfelt[2, 3], Kristian Egebjerg[1], Claus Lindbjerg Andersen[2, 3] & Morten Mau-Sørensen[1]

1) Afdeling for Kræftbehandling, Københavns Universitetshospital – Rigshospitalet, 2) Molekylær Medicinsk Afdeling, Aarhus Universitetshospital, 3) Institut for Klinisk Medicin, Health, Aarhus Universitet

Ugeskr Læger 2021;183:V02210154

HOVEDBUDSKABER

- Cirkulerende tumor-DNA (ctDNA) kan påvises i blodbanen hos patienter med kræft.
- ctDNA i blodbanen efter en kræftoperation er forbundet med markant forøget risiko for tilbagefald.
- Brug af ctDNA-måling har potentiale til at forberede udredning, behandling og opfølgning hos patienter med kræft.

Cirkulerende tumor-DNA (ctDNA) frigives fra kræftceller til blodbanen og udgør en fraktion af den totale mængde cirkulerende cellefrit DNA (cfDNA) hos patienter med kræft. Teknologiske fremskridt har muliggjort detektion af små mængder ctDNA, hvilket har placeret ctDNA-analyse som en lovende strategi til behandling og monitorering af kræft.

Sammenlignet med histopatologisk undersøgelse af tumorvæv er blodbaseret ctDNA-analyse en betydeligt mindre invasiv undersøgelse og med minimal gene for patienterne. ctDNA analyse kan gentages flere gange under et kræftforløb – også på tidspunkter, hvor tumoren ikke kan verificeres ved billeddiagnostik eller biopsi. Desuden kan blodbaseret ctDNA-analyse give et mere fyldestgørende billede af tumorers mutationsprofil, da DNA potentielt frigives fra alle kræftceller, hvorimod blot en del af tumoren undersøges ved histopatologisk undersøgelse.

Udviklingen af sensitive metoder til detektion af ctDNA i blodet åbner nye muligheder for klinisk anvendelse med vidtrækkende potentiale; herunder monitorering af behandling samt detektion af minimal restsygdom efter operation og påvisning af recidiv.

I denne artikel beskrives et udvalg af metoder til detektion og analyse af ctDNA, og der gives indblik i den tilgængelige evidens for anvendelighed af ctDNA i dansk kræftbehandling.

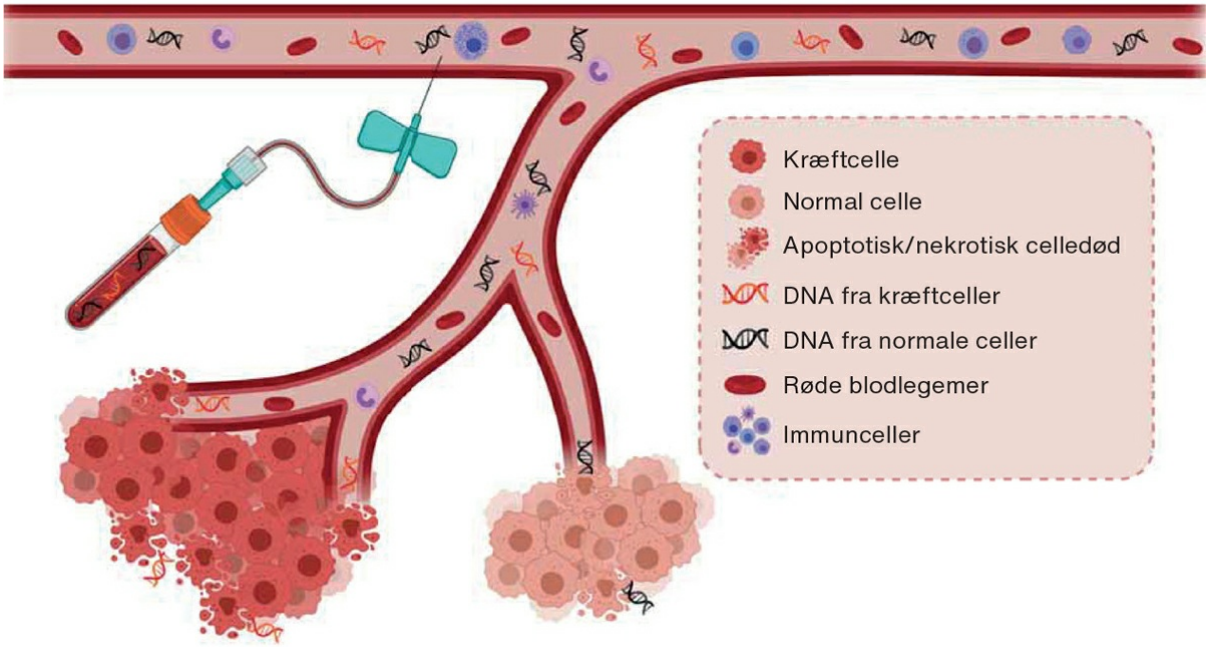
CIRKULERENDE TUMOR-DNA-BIOGENESE

Frigivelse af cirkulerende tumor-DNA

cfDNA frigives til blodbanen som korte DNA-fragmenter ved apoptotisk eller nekrotisk celledød (**Figur 1**). Et forhøjet cfDNA-niveau er hos både raske og patienter med kræft forbundet med forringet overlevelse [1]. Halveringstiden af cfDNA i blodet estimeres at være under to timer [2], hvorved tilstedeværelse af ctDNA giver et

godt øjebliksbillede af tumorbyrden og derfor er et velegnet redskab til monitorering af kræft. Mængden af ctDNA korrelerer ofte med patientens tumorbyrde, og ved avanceret sygdom er tumorbyrden og dermed ctDNA-niveauet ofte så højt, at ctDNA-analyse potentielt kan erstatte genomisk profilering af tumoren [3, 4]. Dog findes der også tilfælde, hvor det ikke er muligt at detektere ctDNA på trods af en høj tumorbyrde. Niveauet af ctDNA i blodet afhænger i høj grad af parametre som tumortype og -volumen, lokalisering, graden af apoptose og nekrose i tumorvævet samt vaskularisering omkring tumoren.

FIGUR 1 Skematisk illustration af frigivelse af DNA til blodbanen fra raske celler og tumorceller. En blodprøve muliggør isolation og analyse af cirkulerende frit DNA (cfDNA) med det formål at identificere eventuel cirkulerende tumor-DNA (ctDNA) hos patienten. Forholdet mellem ctDNA og cfDNA kan variere meget mellem patienter, kræfttyper og tidspunkt i forløbet. Figuren er lavet vha. Biorender.com.



Cirkulerende tumor-DNA i blodet

Ved kurativt intenderet resektion vil der efter 24 timer ikke længere frigives ctDNA til cirkulationen. I tilfælde af restsygdom efter onkologisk behandling vil der derimod forsat frigives ctDNA til cirkulationen. Pga. den ofte minimale mængde restsygdom vil mængden af ctDNA dog ofte være meget begrænset. Mængden af normalt DNA i cirkulationen er ofte forholdsvis stabil, men forskellige påvirkninger, såsom sygdom og traumer, kan medføre periodisk øget frigivelse af normalt DNA [5]. Dette kan vanskeliggøre ctDNA-detektionen, idet ctDNA'et risikerer at blive fortyndet til et niveau, som er under detektionsgrænsen for den anvendte ctDNA-test. I forbindelse med detektion af minimal restsygdom efter resektion af en tumor er tidspunktet for blodprøvetagning derfor essentielt, idet det kirurgiske traume medfører kraftig, men midlertidig (~ 4 uger) stigning i frigivelsen af normalt cfDNA [6].

Detektion af cirkulerende tumor-DNA

Fælles for alle metoder til ctDNA-analyse er identifikation af signaturer, som kan adskille ctDNA fra normalt cfDNA – typisk i form af genetiske eller epigenetiske ændringer. Mange detektionsmetoder kræver information

om primærtumorens mutationsprofil, hvorfor genetisk analyse af tumorvæv ofte er nødvendig.

ANALYSEMETODER

Detektion af ctDNA kan være baseret på polymerasekædereaktion (PCR) og omfatter bl.a. kvantitativ PCR og digital droplet PCR. Disse teknologier er simple at udføre til en relativt lav pris (~ 200-500 kr. pr. prøve). En begrænsning ved PCR er dog, at få (ofte kun en enkelt) kendte genmutationer kan undersøges. Derfor er denne tilgang ikke optimal i tilfælde, hvor man ikke kender tumorens mutationsprofil (ved fravær af en biopsi), eller hvis man ønsker at studere kræftens evolutionære udvikling.

I de seneste år har der været fokus på next-generation sequencing (NGS) til ctDNA-detektion. Dette er sket i takt med, at priserne er faldet (~ 500-3.000 kr. pr. prøve), og metoden er blevet lettere tilgængelig. NGS muliggør undersøgelse af mange genmutationer samtidigt og stiller derfor ikke nødvendigvis krav til, at man kender tumorens mutationsprofil på forhånd. Der findes forskellige sekventeringsmetoder til ctDNA-detektion. Ved targeteret sekventering og ultra deep sequencing fokuseres analysen på bestemte regioner af genomet og er tilpasset den kræfttype, man ønsker at undersøge. Ved helgenomsekventering undersøges der for kræftrelaterede signaturer over hele genomet. Dette kan være i form af enten patientspecifikke punktmutationer [7], større ændringer i kromosomstruktur og antal [8] eller en analyse af fragmentstørrelsen af cfDNA'et [9].

Selvom det er mest udbredt at anvendte genetiske ændringer til ctDNA-detektion, kan epigenetiske signaturer være attraktive markører. F.eks. er DNA-metylering ofte fælles inden for en given kræftform og kan derfor anvendes uden forudgående analyse af patientens tumor. Desuden ses afvigende DNA-metylering ofte allerede i præmaligne forandringer. Metyleringssignaturer har således, som sensitive markører, potentiale til tidlig påvisning af kræft [10].

Generelt varierer sensitiviteten og specificiteten for ctDNA-detektion på tværs af analysemetoder. Analysemetoden bør derfor vælges med omhu, så sensitivitet og specificitet passer til den kliniske problemstilling, der ønskes adresseret.

ANALYTISKE UDFORDRINGER

Den største udfordring for ctDNA-analyse er de tilfælde, hvor mængden af ctDNA er meget lav, hvilket kan skyldes et lille tumorvolumen eller lav frigivelse af ctDNA fra tumoren. Derudover kan mængden af normalt cfDNA være højt pga. infektion, vævsskade efter operation eller kontaminering som følge af præanalytisk håndtering [11, 12]. Ovennævnte forhold resulterer i en relativt lavere fraktion end normalt af ctDNA i blodet. Hvis det er muligt, er det en fordel at benytte et større blodvolumen til ctDNA-analyse for at øge sandsynligheden for, at der er ctDNA i blodprøven.

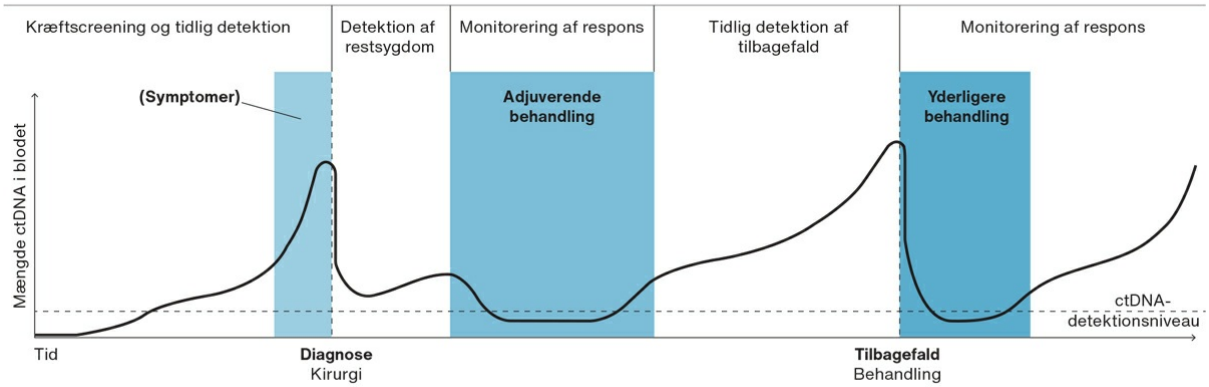
I takt med stigende alder erhverves somatiske mutationer i hæmatopoietiske celler (clonal haematopoiesis of indeterminate potential (CHIP)), som umiddelbart vurderes ikke at have klinisk betydning [13]. Eftersom hæmatopoietiske celler leverer et betydeligt bidrag til cfDNA-mængden, er det nødvendigt at kunne adskille CHIP-mutationer fra reelle kræftmutationer. Dette gøres ved at analysere DNA fra patientens perifere blodceller. De somatiske mutationer, som identificeres her, kan efterfølgende frafiltreres de mutationer, der identificeres i patientens cfDNA.

National og international validering ved hjælp af standardiserede kontrolprøver praktiseres ikke endnu, men kan ved implementering give bedre sammenlignelighed og kvalitetssikring på tværs af analysemetoder og laboratorier. I Danmark blev der i januar 2020 etableret et national ctDNA-forskningscenter [14] med henblik på at indføre nationale standardiserede kontrolprøver samt validering på tværs af metoder og laboratorier.

KLINISK ANVENDELIGHED AF CIRKULERENDE TUMOR-DNA

ctDNA-analyse er et relativt nyt felt, som har stort potentiale inden for kræftdiagnostik og -behandling (**Figur 2**). Allerede på nuværende tidspunkt benyttes ctDNA-analyse som guide i nationale og internationale interventionsstudier (**Tabel 1**). Målet med disse studier er at skabe dokumentation for de kliniske fordele ved implementering af ctDNA-baseret beslutningstagen. I takt med gennemførelsen af de nævnte studier forventes det, at ctDNA-analyse bliver trinvist implementeret i klinisk praksis. Vi forventer, at ctDNA inden for en tidsramme på 3-5 år vil blive brugt til detektion af minimal restsygdom og recidiv samt ved monitorering af sygdom og resistensudvikling. I de følgende afsnit vil vi fokusere på disse anvendelsesmuligheder.

FIGUR 2 Skematisk illustration, der viser eksempel på cirkulerende tumor-DNA (ctDNA)-niveauet (sort kurve) hos en hypotetisk kræftpatient over tid. Dette er et illustrativt eksempel for at fremme forståelsen af potentielle anvendelsesmuligheder. Ikke alle patienter vil følge dette forløb. Her modtager patienten kirurgi, adjuverende behandling og behandling ved tilbagefald. Potentielle anvendelsesmuligheder af ctDNA-analyse gennem forløbet er angivet øverst. Den nedre grænse for ctDNA-detektionsniveauet (stiplet sort linje) afhænger bl.a. af analysemetoden. Figuren er lavet vha. Biorender.com.



TABEL 1 Nationale og internationale interventionsstudier om cirkulerende tumor-DNA (ctDNA)-analyse.

Navn	Studietype	Formål	Patientpopulation	Ansvarlig institution
Kræftscreening				
DETECT-DK: Early detection of lung cancer by blood samples – a prospective national observational study [15]	Observationsstudie	Undersøge om påvisning af proteinbiomarkører og ctDNA-metylering i bronkialskylleveæske kan benyttes som diagnostisk værktøj	Patienter under udredning for lungecancer henvist fra almen praksis	Vejle Sygehus
Endoscopy III-IV [16]	Observationsstudie	Undersøge om påvisning af ctDNA kan medvirke i vurderingen af hvilke patienter der bør tilbydes en diagnostisk koloskopi	Deltagere i tarmkræftscreening samt patienter under udredning for kolorektalkræft	Nordsjællands Hospital, Hillerød
Behandlingsintervention				
IMPROVE-IT: Trial implementing non-invasive circulating tumor DNA analysis to optimize the operative and postoperative treatment for patients with colorectal cancer [17]	Randomiseret kontrolleret studie	Undersøge om adjuverende standardkemo-terapi kan forbedre den sygdomsfri overlevelse for patienter der har detekterbar ctDNA efter kræftkirurgi	Patienter med stadie I- eller stadie II-kolorektalkræft	Aarhus Universitetshospital
TOMBOLA: Treatment of metastatic bladder cancer at the time of biochemical relapse following radical cystectomy [18]	Fase II-interventionsstudie	Undersøge den kliniske relevans af ctDNA som guide i behandling med immunterapi efter radikal cystektomi samt tidlig detektion af molekylær recidiv	Patienter med muskelinvasiv blærekræft	Aarhus Universitetshospital
Behandlingsovervågning og påvisning af recidiv				
IMPROVE-IT2: Circulating tumor DNA analysis to optimize the operative and postoperative treatment for patients with colorectal cancer - intervention trial 2 [19]	Randomiseret kontrolleret studie	Tidlig identifikation af recidiv og dermed øget andel af patienter der tilbydes helbredende behandling Studiet sammenligner ctDNA-guidet opfølgning med standard-of-care radiologisk opfølgning	Stadie III-kolorektal-kræft-patienter der har afsluttet adjuverende kemoterapi	Aarhus Universitetshospital
OPTIMISE: Optimization of treatment selection and follow up in oligometastatic colorectal cancer [20]	Randomiseret fase II-studie	Benytte ctDNA som guide i valg af adjuverende kemoterapi Patienter tilbydes standardbehandling, behandlingseskalering eller behandlingsdeeskalering på baggrund af ctDNA-målinger	Patienter med metastaserende kolorektalkræft	Aarhus Universitetshospital
CURE: Clinical utility of circulating tumor DNA in gastro-esophageal cancer [21]	Prospektivt observationsstudie	Undersøge om ctDNA i blod efter behandling med kurativt sigte[a] øger risikoen for tilbagefald	Patienter med kræft i ventrikel og gastro-øsofageal overgang	Rigshospitalet
IMPROVE: Implementing non-invasive circulating tumor DNA analysis to optimize the operative and postoperative treatment for patients with colorectal cancer [22]	Prospektivt observationsstudie	Undersøge om påvisning af ctDNA i blod efter behandling[b] er et udtryk for restsygdom og høj risiko for tilbagefald	Patienter med kolorektalkræft	Aarhus Universitetshospital
LIFE-LUNG: Close monitoring of treatment response of patients with metastatic non-small cell lung cancer using liquid biopsy with focus on ctDNA methylation and ctRNA PD-L1 status [23]	Prospektivt observationsstudie	Undersøge om ctDNA-metyleringsprofilen ændres under behandling	Patienter med lungekræft	Sjællands Universitetshospital
Circulating tumour DNA for early detection of recurrence and risk-stratification in melanom [24]	Prospektivt observationsstudie	Undersøge om måling af ctDNA hos patienter med modermærkekræft kan give information om risiko for tilbagefald samt muliggøre tidligere opsporing af tilbagefald	Patienter med modermærkekræft	Herlev og Gentofte Hospital

a) Operation + kemoterapi eller kemoradioterapi.
b) Operation eller operation + kemoterapi.

MINIMAL RESTSYGDOM

ctDNA-analysens anvendelighed til detektion af minimal restsygdom efter kurativt intenderet kirurgi har potentiale til at ændre, hvordan vi vurderer risiko for recidiv og udvælger patienter til adjuverende behandling. F.eks. har man i studier af ikkemetastatisk kolorektalkræft dokumenteret, at den prognostiske styrke af ctDNA-analyse er markant højere end standardrisikofaktorerne [25, 26]. Dette åbner mulighed for individualisering af den adjuverende behandling ved brug af ctDNA som risikomarkør. I øjeblikket undersøges det i flere randomiserede studier, om ctDNA-guidet eskalering/deeskalering af adjuverende systemisk behandling kan øge andelen af patienter, der helbredes, og samtidig reducere den behandlingsmæssige toksicitet [17]. Derudover er der i Danmark, som det første sted i verden, påbegyndt et nationalt randomiseret studie, hvor man undersøger fordelene ved ctDNA-guidet opfølgning hos patienter, der er behandlet for stadie 3-kolorektalkræft [19].

MONITORERING AF SYGDOM OG RESISTENSUDVIKLING

Eftersom ctDNA typisk detekteres flere måneder, før progression konstateres radiologisk, kan påvisning af ctDNA under og efter behandling anvendes til monitorering af sygdom og som indikation af behandlingssvigt. Analyse af ctDNA er velegnet til kortlægning af resistensudvikling og klonal selektion under behandling. Det kan f.eks. benyttes til påvisning af resistens i colonkræft og ikke-småcellet lungekræft over for epidermal vækstfaktorreceptor (EGFR)-hæmmere [27], i colon- og modermærkekræft over for BRAF hæmmere [28] samt over for endokrin behandling af brystkræft [29].

IMPLEMENTERING AF CIRKULERENDE TUMOR-DNA-ANALYSE I KLINIKKEN

Som nævnt benyttes ctDNA-analyse som guide i en række kliniske studier, men rutinemæssig brug af ctDNA i klinikken er dog på nuværende tidspunkt begrænset til få anvendelsesområder. Et vigtig fremskridt i implementering af ctDNA på kræftafdelinger i Danmark er en nylig FDA-godkendt PCR-baseret metode [30], der anvendes som ledsagende diagnostisk test ved lungekræft. Ved hjælp af metoden påvises mutationer i ctDNA, der er lokaliseret i EGFR-genet og er prædikative for effekt af tyrosinkinasehæmmere.

PERSPEKTIVERING

Der er et stort potentiale for klinisk beslutningstagning guidet af ctDNA-analyse inden for selektion af patienter til adjuverende behandling, recidivopsporing efter kurativt intenderet behandling samt monitorering af behandlingsrespons og resistensudvikling.

De igangværende ctDNA-baserede randomiserede studier forventes at give afgørende resultater over de næste år, hvilket vil have stor betydning for den kliniske implementering af ctDNA-analyse. Der er dog stadig behov for studier, som kan adressere en række spørgsmål og udfordringer, der endnu ikke er klarhed om. Som eksempel er der behov for mere viden om de biologiske processer, der er afgørende for, hvornår og i hvilket omfang en tumor frigiver DNA til cirkulation. Hvad betyder mængden af ctDNA for patientens prognose og følsomhed over for kemoterapi? Hvilket plasmavolumen er nødvendigt for en tilstrækkelig sensitivitet? Hvilket tidspunkt er optimalt for prøvetagning? Det er også relevant at afklare, hvordan ctDNA-monitorering påvirker patienternes livskvalitet, f.eks. i tilfælde hvor der detekteres ctDNA, men restsygdommen ikke kan identificeres billeddiagnostisk. De nødvendige studier er krævende og udføres bedst i tværfagligt og nationalt/internationalt regi. Derfor er det glædeligt, at Kræftens Bekæmpelse har bevilliget ressourcer til etablering af et nationalt forskningscenter for ctDNA-guidet kræftbehandling [14]. Centeret blev etableret i januar 2020 og har allerede skabt en platform for hurtig og effektiv iværksættelse af nationale ctDNA-studier, hvilket er afgørende for den videre færd mod implementering af ctDNA i den kliniske hverdag.

Korrespondance *Morten Mau-Sørensen*. E-mail: mms@rh.regionh.dk

Antaget 3. juni 2021

Publiceret på ugeskriftet.dk 9. august 2021

Interessekonflikter ingen. Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på ugeskriftet.dk

Referencer findes i artiklen publiceret på ugeskriftet.dk

Artikelreference Ugeskr Læger 2021;183:V02210154

*) Delt førsteforfatterskab

SUMMARY

Circulating tumour DNA in the treatment of cancer

Cecilie Riis Iden, Amanda Frydendahl Boll Johansen, Nadia Øgaard, Iben Boutrup Kongsfelt, Kristian Egebjerg, Claus Lindbjerg Andersen & Morten Mau-Sørensen

Ugeskr Læger 2021;183:V02210154

Circulating tumour DNA analysis has a potential to improve multiple aspects of cancer management. This includes: a) early cancer detection in asymptomatic individuals, b) identification of patients with residual disease after curative intended treatment, c) patient stratification in relation to treatment decisions like adjuvant therapy and intensity of radiological surveillance, d) monitoring treatment effect for optimised adaptive therapy, e) identification of actionable targets, and f) early recurrence detection. These points are summarised in this review.

REFERENCER

1. Ørntoft MW, Jensen SØ, Øgaard N et al. Age-stratified reference intervals unlock the clinical potential of circulating cell-free DNA as a biomarker of poor outcome for healthy individuals and patients with colorectal cancer. Int J Cancer 2021;148:1665-75.
2. Diehl F, Schmidt K, Choti MA et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. Nat Med 2008;14:985-90.
3. Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. Sci Transl Med 2014;6:224ra24.
4. Ahlborn LB, Rohrberg KS, Gabrielaite M et al. Application of cell-free DNA for genomic tumor profiling: a feasibility study. Oncotarget 2019;10:1388-98.
5. Hummel EM, Hessas E, Müller S et al. Cell-free DNA release under psychosocial and physical stress conditions. Transl Psychiatry 2018;8:236.
6. Henriksen TV, Reinert T, Christensen E et al. The effect of surgical trauma on circulating free DNA levels in cancer patients-implications for studies of circulating tumor DNA. Mol Oncol 2020;14:1670-9.
7. Zviran A, Schulman RC, Shah M et al. Genome-wide cell-free DNA mutational integration enables ultra-sensitive cancer monitoring. Nat Med 2020;26:1114-24.
8. Freeman SS, Adalsteinsson VA, Ha G et al. Scalable whole-exome sequencing of cell-free DNA reveals high concordance with metastatic tumors. Nat Commun 2017;8:1324.
9. Cristiano S, Leal A, Phallen J et al. Genome-wide cell-free DNA fragmentation in patients with cancer. Nature 2019;570:385-9.
10. Shen SY, Singhania R, Fehringer G et al. Sensitive tumour detection and classification using plasma cell-free DNA methylomes. Nature 2018;563:579-83.
11. Dasari A, Morris VK, Allegra CJ et al. ctDNA applications and integration in colorectal cancer: an NCI Colon and Rectal-Anal Task Forces whitepaper. Nat Rev Clin Oncol 2020;17:757-70.
12. Henriksen TV, Reinert T, Christensen E et al. The effect of surgical trauma on circulating free DNA levels in cancer patients-implications for studies of circulating tumor DNA. Mol Oncol 2020;14:1670-9.
13. Phallen J, Sausen M, Adleff V, et al. Direct detection of early-stage cancers using circulating tumor DNA. Sci Transl Med 2017;9:eaan2415.
14. The Danish National Center for Circulating tumor DNA guided Cancer Treatment, 2020. https://ctdna.dk/ (21. jun 2021).
15. Christensen SW, Thomsen CB, Hansen T et al. Validation of tumor DNA in bronchial lavage as diagnostic tool in lung cancer. J Clin Oncol 2020;35(suppl 15):9020.
16. Colorectal Cancer Research. Validation of triage in selection to diagnostic colonoscopy among subjects with symptoms attributable to colorectal cancer (ENDOSCOPY IV). https://www.colorectalcancer.dk/en/triage-diagnostic-colonoscopy/ (21. jun 2021).
17. Spindler KLG. Implementing non-invasive circulating tumor DNA analysis to optimize the operative and postoperative treatment for patients with colorectal cancer (IMPROVE-IT). 2018. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03748680 (21. jun

2021).

18. Jensen JB. Treatment of metastatic bladder cancer at the time of biochemical relapse following radical cystectomy (TOMBOLA). 2019. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04138628 (21 jun 2021).
19. Andersen CL. Circulating tumor DNA analysis to optimize the operative and postoperative treatment for patients with colorectal cancer – intervention trial 2 (IMPROVE-IT2). 2019. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04084249 (21. jun 2021).
20. Spindelr KLG. Optimization of treatment selection and follow up in oligometastatic colorectal cancer (OPTIMISE). 2020. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04680260 (21. jun 2021).
21. Mau-Sørensen M. Clinical utility of circulating tumor DNA in gastro-esophageal cancer (CURE). 2020. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04576858 (21. jun 2021).
22. Aarhus Universitet. Circulating tumor DNA analysis to optimize treatment for patients with colorectal cancer (IMPROVE). 2018. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03637686 (21. jun 2021).
23. Andersen SAA. Close monitoring of treatment response of patients with metastatic non-small cell lung cancer using liquid biopsy with focus on ctDNA methylation and ctRNA PD-L1 status. ctDNA Research center. 2020 https://ctdna.dk/projekter/projects/funded-projects/treatment-response-in-nsclc-patients-using-liquid-biopsy (21. jun 2021).
24. Obinah MPB. Circulating tumor DNA for early detection of recurrence and risk-stratification in melanoma. ctDNA Research center. 2020 https://ctdna.dk/projekter/projects/funded-projects/ctdna-for-early-detection-of-melanoma (21. jun 2021).
25. Tie J, Wang Y, Tomasetti C et al. Circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer. Sci Transl Med 2016;8:346ra92.
26. Garcia-Murillas I, Schiavon G, Weigelt B et al. Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer. Sci Transl Med 2015;7:302ra133.
27. Oxnard GR, Hu Y, Mileham KF et al. Assessment of resistance mechanisms and clinical implications in patients with EGFR T790M-positive lung cancer and acquired resistance to osimertinib. JAMA Oncol 2018;4:1527-34.
28. Schreuer M, Meersseman G, van den Herrewegen S et al. Quantitative assessment of BRAF V600 mutant circulating cell-free tumor DNA as a tool for therapeutic monitoring in metastatic melanoma patients treated with BRAF/MEK inhibitors. J Transl Med 2016;14:95.
29. Fribbens C, Garcia Murillas I, Beaney M et al. Tracking evolution of aromatase inhibitor resistance with circulating tumour DNA analysis in metastatic breast cancer. Ann Oncol 2018;29:145-53.
30. EGFR Mutation Test v2. 2016. https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/cobas-egfr-mutation-test-v2 (21. jun 2021).