proLékaře.cz | 22.9.2026

Volné DNA v plazmě a kardiovaskulární medicína – potenciál jejich využití

Cell-free DNAs in plasma and cardiovascular medicine – their potential

Jaroslav A. Hubáček[1,2]

[1]Centrum experimentální medicíny IKEM, Praha
[2]III. interní klinika – endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze

✉ **doc. Ing. J. A. Hubáček, CSc., DSc.** | jahb@ikem.cz | www.ikem.cz

Doručeno do redakce | Doručené do redakcie | Received 10. 4. 2024
Přijato po recenzi | Prijaté po recenzii | Accepted 11. 6. 2024

Abstrakt
Výskyt krátkých fragmentů volných DNA (cell-free DNA – cfDNA) jaderného či mitochondriálního původu v tělesných tekutinách je fyziologický. Jejich koncentrace násobně narůstá následkem zranění, zánětu či intenzivní fyzické námahy. Zvýšené koncentrace se rychle vracejí na původní hladiny díky masivní degradaci restrikčními endonukleázami a extenzivnímu katabolizmu v játrech, slezině a částečně i díky vylučování ledvinami. Vyšší koncentrace cfDNA byly popsány v souvislosti s přítomností většiny rizikových faktorů aterosklerózy. Existuje silná korelace mezi cfDNA a koncentracemi kreatinkinázy a troponinu. cfDNA může být použita jako marker cévní mozkové příhody či k rozlišení STEMI a nonSTEMI infarktu myokardu. Mitochondriální cfDNA pak stimuluje zánětlivé procesy. Přestože řada nálezů potřebuje ověřit na rozsáhlejších souborech, cfDNA se mohou v budoucnu stát novými slibnými markery onemocnění a zdravotních prognóz i v kardiologii.

Klíčová slova: buněčné jádro – kardiovaskulární onemocnění – koncentrace – mitochondrie – plazma – volná DNA

Abstract
The presence of short fragments of cell-free DNA (cfDNA), of nuclear or mitochondrial origin, in body fluids is physiological. Their concentration increases manifold as a result of injury, inflammation or intensive physical exercise. Increased concentrations quickly return to their baseline levels due to intense degradation by restriction endonucleases and extensive catabolism in the liver, spleen and partly excretion by the kidneys. Higher cfDNA concentrations have been described in association with the presence of majority atherosclerosis risk factors. There is a strong correlation between cfDNA and creatine kinase and troponin concentrations. CfDNA can be used as a marker of stroke or to differentiate between STEMI and non-STEMI myocardial infarction. Mitochondrial cfDNA then stimulates inflammatory processes. Although many of the findings need validation on larger datasets, cfDNAs may become new promising markers of disease and health prognosis in the future also in cardiology.

Key words: cardiovascular disease – cell-free DNA – concentration – mitochondria – nucleus – plasma

Úvod

S expanzí metodologických možností narůstá i spektrum plazmatických biochemických parametrů, které nacházejí své využití v medicínských aplikacích.

Mezi nové markery lze zahrnout i analýzy volných nukleových kyselin, ať už se jedná o fragmenty DNA nebo o regulační krátké (mikro) RNA. Problematika a potenciál analýz mikroRNA ve výzkumu a v diagnostice patofyziologie aterosklerózy byly v časopise AtheroReview již představeny [1]. V poslední době pak narůstá snaha využít i další nabízející se možnosti, konkrétně analýzy volných jaderných a/nebo mitochondriálních DNA.

Co jsou volné DNA?

Pod pojem volné (extracelulární) cirkulující DNA jsou zahrnuty krátké fragmenty DNA vyskytující se volně v tělesných tekutinách (plazma, moč, sliny aj), a to i za normálních fyziologických podmínek. Nejčastěji jsou analyzovány plazmatické, tzv. cell-free (cfDNA). Ty mohou mít buď jaderný (cell-free nuclear DNA – cfnDNA) nebo mitochondriální (tzv. cell-free mi-

proLékaře.cz | 22.9.2026

tochondrial DNA – cfmtDNA) původ [2]. Jejich koncentrace se zvyšují např. s věkem, jako odpověď na fyzickou námahu či zranění, a je známo, že jsou ovlivněny i patologickými stavy organizmu [2,3].

Zatímco funkce RNA v plazmě jsou celkem dobře popsány [4]; jedná se především o regulaci genové exprese, aktivní funkce (pokud existuje) cfmtDNA a cfnDNA v plazmě je v detailech neznámá. Předpokládá se, že volné DNA, které jsou aktivně sekretované, hrají roli v mezibuněčné komunikaci.

Meta/katabolizmus cfDNA

Původ a přesný metabolizmus cfDNA ještě nebyl do detailů objasněn. Nicméně, hlavní zdroje cfDNA v organizmu jsou dva [5,6], schéma 1:

- 1. buňky poškozené nekrózou nebo apoptózou
- 2. buněčná aktivní sekrece krátkých DNA-fragmentů

DNA-fragmenty sekretované v rámci apoptotických procesů (50–300 kb) nebo následkem akutních zranění či septických stavů (10 kb) jsou řádově delší než při aktivní „běžné“ sekreci. Nicméně, i tyto fragmenty jsou relativně rychle štěpeny endonukleázami a v plazmě se vyskytují především krátké DNA-fragmenty o délce 80–200 párů bazí [4,6]. Jejich biologický poločas je (bohužel) velice krátký, uvádí se v rozmezí 15 až 150 minut [7].

Při analýzách a interpretaci je nutné brát v úvahu, že cfDNA se v plazmě vyskytuje ve 3 základních formách [4]: jako volná (často shlukovaná do di- nebo trimerů), navázaná na extracelulární membránové vezikuly, nebo může být součástí velkých makromolekulárních komplexů. DNA-fragmenty vázané na proteiny jsou touto vazbou chráněny před rychlou degradací endonukleázami.

Koncentrace cfDNA v plazmě je značně variabilní v závislosti na podmínkách a údaje v literatuře se velmi rozcházejí. Za kvalifikovaný odhad lze považovat hodnotu 0,1–100 ng/ml [5], což zhruba odpovídá desítkám až tisícům kopií v mililitru pro jadernou cfDNA a desítkám až stovkám tisíc kopií v mililitru pro mitochondriální cfDNA.

Výhodou analýz cfDNA je snadnost získání vzorku z žilní krve (atraktivně nazývaná jako liquid biopsy) [3] a rychlost a heterogenita možných analýz primárně založených na aplikacích využívajících řetězovou polymerázovou reakci [3]. Nevýhodou pak je nutnost vzorky zpracovat relativně rychle po odběru, aby se zamezilo uvolňování DNA z jaderných krevních buněk a případnému zkreslení výsledku.

Jak již bylo zmíněno výše, plazmatická DNA je velice rychle degradována restrikčními endonukleázami. Krátké fragmenty cfDNA jsou z plazmy odstraňovány primárně v játrech (přibližně z 80 %), ve slezině a méně významnou cestou clearance cfDNA jsou i ledviny [8].

cfDNA v oblastech mimo kardiologii

Analýza cfDNA je využívána v řadě medicínských oborů (schéma 2). Výrazně se rozšířila v onkologických aplikacích, a to především díky skutečnosti, že nádorová tkáň uvolňuje do oběhu tumor-specifickou DNA [9,10] a kvalitativní analýza cfDNA je mnohem snadnější a přesnější než analýza kvantitativní.

Vysoké koncentrace cfDNA jsou spojeny s horší prognózou u septických stavů [11] i u pacientů s těžkými traumaty [12].

V transplantologii je intenzivně zkoumáno potenciální využití detekce dárcovské (uvolněné z tkáně transplantovaného orgánu) cfnDNA a cfmtDNA v plazmě příjemce jako markeru akutní rejekce štěpu [13–15]. Prenatální diagnostika pak využívá fetální cfDNA k včasné diagnóze genetických onemocnění a preeklampsie [16,17] a ve sportovní medicíně jsou cfDNA markerem adaptace na zátěž, případně přetrénovanosti [18].

Konečně, je nutné zmínit i výskyt bakteriální či virové cfDNA/RNA v plazmě, která může být využita pro detekci a diagnostiku probíhajícího infekčního onemocnění [19]. Analýza cfDNA nachází uplatnění i v tak zdánlivě vzdálených oblastech lidského zdraví, jako je kosmonautika [20].

cfDNA v kardiologii

V posledních letech bylo publikováno několik prací ukazujících, že analýza cfDNA může být užitečným markerem i v kardiologii. „Módnost“ tématu se ale odráží ve faktu, že počet publikovaných „review“ a „opinion papers“ je výrazně vyšší než počet klinických výsledkových publikací. Ty navíc, bohužel, ne vždy zahrnují dostatečně vysoké počty vyšetře-

Schéma 1 | Základní zdroje volných DNA v organizmu

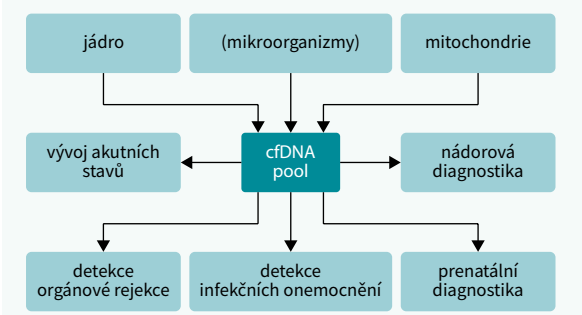
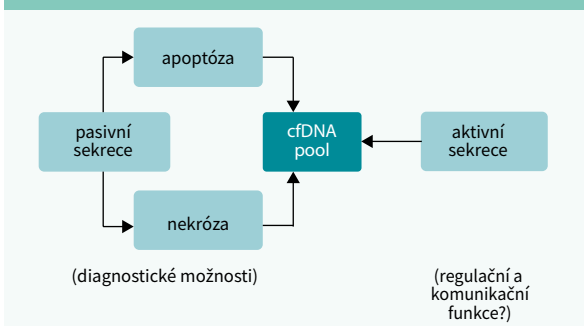


Schéma 2 | Medicínské obory využívající analýzy cfDNA



proLékaře.cz | 22.9.2026

ných jedinců, a k přímému klinickému využití analýz cfDNA tak zbývá ještě dlouhá cesta.

Byly popsány korelace mezi koncentrací cfDNA a několika rizikovými faktory aterosklerózou podmíněného kardiovaskulárního onemocnění (ASKVO), někdy s překvapivými závěry. Je zajímavé, že kuřáci s onkologickým onemocněním mají oproti očekávání nižší hladiny cfDNA na rozdíl od stejně nemocných nekuřáků [21]. U zdravých osob platí obrácený vztah – kouření zvyšuje hladiny jak cfnDNA, tak cfmtDNA [22]. V případě ostatních rizikových faktorů jsou s jejich přítomností spojeny zvýšené hladiny cfDNA.

Výsledky studie The Health 2000 Survey [23] ukázaly na relativně slabé, ale významné pozitivní korelace mezi koncentrací cfDNA a systolickým krevním tlakem, triglyceridy a zánětlivými parametry (CRP a IL6), a to jak u mužů, tak u žen. Za zmínku stojí, že koncentrace cfDNA byly o necelých 10 % nižší u žen užívajících hormonální substituční terapii oproti ženám bez této terapie.

U pacientů s plicní hypertenzí byla popsána zvýšená koncentrace cfnDNA [24], ta navíc výrazně korelovala s přežitím pacientů bez nutnosti transplantace plic.

Již v roce 2006 [25] byla prokázána silná korelace mezi koncentracemi kreatinkinázy a troponinu a cfDNA. Koncentrace cfDNA byly asi o 50 % vyšší u pacientů s akutním infarktem myokardu než u kontrol a byly spojeny s horší prognózou onemocnění. Později bylo prokázáno (pomocí analýzy metylačního statusu cfDNA), že tato cfDNA má zdroj (nikoli však výhradní) v apoptózou postižených kardiomyocytech [26,27], a je tedy uvolňována po infarktu. Analýza metylačního statusu byla dokonce použita pro charakteristiku odlišných typů akutního koronárního syndromu (primárně akutní infarkt myokardu s elevacemi ST-úseku – STEMI vs non-STEMI) [28]. Je zajímavé, že v tomto případě měla nejvyšší vypovídající úlohu cfDNA pocházející z ledvin. Konečně, analýza přežívání u pacientů se srdečním selháváním popsala nadprůměrné hladiny cfDNA jako nejsilnější faktor predikující mortalitu [29].

U pacientů s cévní mozkovou příhodou byly rovněž popsány zvýšené koncentrace cfDNA, ty navíc korelovaly i s rozsahem tkáňového poškození [30].

Volná DNA ale nemusí být pouze markerem cévních onemocnění. Bylo prokázáno, že především cfmtDNA má i prozánětlivé účinky [31].

Závěr

Volné extracelulární DNA se mohou stát novými slibnými markery onemocnění a najít využití v diagnostice a monitoringu progrese onemocnění i v kardiologii. Nelze ale vyloučit, že cfDNA jsou podobně jako miRNA i molekulami aktivně zasahujícími do různých patologických procesů. Jejich širšímu diagnostickému využití poněkud brání především intra– i interindividuální variabilita jejich koncentrací a rychlost jejich katabolizmu.

Podpořeno projektem MZ ČR č. NU21-01-00146. Všechna práva vyhrazena.

Literatura

1. Novák J, Souček M. Význam mikroRNA v patofyziologii aterosklerózy a jejich možné klinické využití. AtheroRev 2016; 1(3): 144–150.

2. Szilágyi M, Pös O, Márton É et al. Circulating cell-free nucleic acids: main characteristics and clinical application. Int J Mol Sci 2020; 21(18): 6827. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21186827>.

3. Nikanjam M, Kato S, Kurzrock R. Liquid biopsy: current technology and clinical applications. J Hematol Oncol 2022; 15(1): 131. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s13045-022-01351-y>.

4. Pös O, Biró O, Szemes T et al. Circulating cell-free nucleic acids: characteristics and applications. Eur J Hum Genet 2018; 26(7): 937–945. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41431-018-0132-4>.

5. de Miranda FS, Barauna VG, Dos Santos L et al. Properties and application of cell-free DNA as a clinical biomarker. Int J Mol Sci 2021; 22(17): 9110. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22179110>.

6. Hu Z, Chen H, Long Y et al. The main sources of circulating cell-free DNA: Apoptosis, necrosis and active secretion. Crit Rev Oncol Hematol 2021; 157: 103166. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2020.103166>.

7. Bryzgunova OE, Skvortsova TE, Kolesnikova EV et al. Isolation and comparative study of cell-free nucleic acids from human urine. Ann N Y Acad Sci 2006; 1075: 334–340. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1368.045>.

8. Kustanovich A, Schwartz R, Peretz T et al. Life and death of circulating cell-free DNA. Cancer Biol Ther 2019; 20(8): 1057–1067. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/15384047.2019.1598759>.

9. Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. Nat Rev Cancer 2017; 17(4): 223–238. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc.2017.7>.

10. Kubaczkova V, Sedlaříková L, Bešše L et al. Potenciál volné cirkulující DNA v diagnostice nádorových onemocnění. Klin Onkol 2015; 28(4): 251–259. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.14735/amko2015251

11. Xu F, Tan X, Wang J et al. Cell-free DNA predicts all-cause mortality of sepsis-induced acute kidney injury. Ren Fail 2024; 46(1): 2273422. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/0886022X.2023.2273422>.

12. Trulson I, Stahl J, Margraf S et al. Cell-free DNA in plasma and serum indicates disease severity and prognosis in blunt trauma patients. Diagnostics (Basel) 2023; 13(6): 1150. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/diagnostics13061150>.

13. Sherwood K, Weimer ET. Characteristics, properties, and potential applications of circulating cell-free DNA in clinical diagnostics: a focus on transplantation. J Immunol Methods 2018; 463: 27–38. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jim.2018.09.011>.

14. Goldberg JF, Truby LK, Agbor-Enoh S et al. Selection and interpretation of molecular diagnostics in heart transplantation. Circulation 2023; 148(8): 679–694. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.123.062847>.

15. Knight SR, Thorne A, Lo Faro ML. Donor-specific cell-free DNA as a biomarker in solid organ transplantation. A systematic review. Transplantation 2019; 103(2): 273–283. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000002482>.

16. Breveglieri G, D'Aversa E, Finotti A et al. Non-invasive prenatal testing using fetal DNA. Mol Diagn Ther 2019; 23(2): 291–299. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s40291-019-00385-2>.

17. Sifakis S, Koukou Z, Spandidos DA. Cell-free fetal DNA and pregnancy-related complications (review). Mol Med Rep 2015; 11(4): 2367–2372. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2014.3118>.

18. Breitbach S, Tug S, Simon P. Circulating cell-free DNA: an up-coming molecular marker in exercise physiology. Sports Med 2012; 42(7): 565–586. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.2165/11631380-000000000-00000>.

proLékaře.cz | 22.9.2026

19. Han D, Li R, Shi J et al. Liquid biopsy for infectious diseases: a focus on microbial cell-free DNA sequencing. Theranostics 2020; 10(12): 5501–5513. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.7150/thno.45554>.

20. Bisserier M, Shanmughapriya S, Rai AK et al. Cell-free mitochondrial DNA as a potential biomarker for astronauts' health. J Am Heart Assoc 2021; 10(21): e022055. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/JAHA.121.022055>.

21. Oversoe SK, Sorensen BS, Tabaksblat EM et al. Cell-free DNA and clinical characteristics in patients with small intestinal or pancreatic neuroendocrine tumors. Neuroendocrinology 2022; 112(1): 43–50. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000514457>.

22. Ueda K, Sakai C, Ishida T et al. Cigarette smoke induces mitochondrial DNA damage and activates cGAS-STING pathway: application to a biomarker for atherosclerosis. Clin Sci (Lond) 2023; 137(2): 163–180. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1042/CS20220525. Erratum in: Clin Sci (Lond) 2023; 137(5): 353.

23. Jylhävä J, Lehtimäki T, Jula A et al. Circulating cell-free DNA is associated with cardiometabolic risk factors: the Health 2000 Survey. Atherosclerosis 2014; 233(1): 268–271. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.022>.

24. Brusca SB, Elinoff JM, Zou Y et al. Plasma cell-free DNA predicts survival and maps specific sources of injury in pulmonary arterial hypertension. Circulation 2022; 146(14): 1033–1045. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.121.056719>.

25. Antonatos D, Patsilinakos S, Spanodimos S et al. Cell-free DNA levels as a prognostic marker in acute myocardial infarction. Ann NY Acad Sci 2006; 1075: 278–281. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1368.037>.

26. Zemmour H, Planer D, Magenheim J et al. Non-invasive detection of human cardiomyocyte death using methylation patterns of circulating DNA. Nat Commun 2018; 9(1): 1443. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-03961-y>.

27. Liu Q, Ma J, Deng H et al. Cardiac-specific methylation patterns of circulating DNA for identification of cardiomyocyte death. BMC Cardiovasc Disord 2020; 20(1): 310. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12872-020-01587-x>.

28. Cuadrat RRC, Kratzer A, Arnal HG et al. Cardiovascular disease biomarkers derived from circulating cell-free DNA methylation. NAR Genom Bioinform 2023; 5(2): lqad061. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/nargab/lqad061>.

29. Salzano A, Israr MZ, Garcia DF et al. Circulating cell-free DNA levels are associated with adverse outcomes in heart failure: testing liquid biopsy in heart failure. Eur J Prev Cardiol 2021; 28(9): e28-e31. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/2047487320912375>.

30. O'Connell GC, Petrone AB, Tennant CS et al. Circulating extracellular DNA levels are acutely elevated in ischaemic stroke and associated with innate immune system activation. Brain Inj 2017; 31(10): 1369–1375. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/02699052.2017.1312018>.

31. Nie S, Lu J, Wang L et al. Pro-inflammatory role of cell-free mitochondrial DNA in cardiovascular diseases. IUBMB Life 2020; 72(9): 1879–1890. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/iub.2339.

Základní doporučená literatura

Glebova KV, Veiko NN, Nikonov AA et al. Cell-free DNA as a biomarker in stroke: Current status, problems and perspectives. Crit Rev Clin Lab Sci 2018; 55(1): 55–70. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/10408363.2017.1420032>.

Polina IA, Ilatovskaya DV, DeLeon-Pennell KY. Cell free DNA as a diagnostic and prognostic marker for cardiovascular diseases. Clin Chim Acta 2020; 503: 145–150. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2020.01.013>.

Thorsen SU, Moseholm KF, Clausen FB. Circulating cell-free DNA and its association with cardiovascular disease: what we know and future perspectives. Curr Opin Lipidol 2024; 35(1): 14–19. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/MOL.0000000000000907>.