

UNIVERZITA KARLOVA PRAHA

LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI

**BIOLOGICKÁ AKTIVITA NÁDORU
ANEB PROČ STANOVOVAT
BIOMARKERY V ONKOLOGII**

Autoři:

Milena Roušarová, Šárka Svobodová,

Ondřej Topolčan, Radek Kučera

Editor:

Doc. RNDr. Judita Kinkorová, Ph.D.

Sponsored by OP VK CZ.1.07/2.3.00/20.0040

Autoři:

MUDr. Milena Roušarová

MUDr. Šárka Svobodová, Ph.D.

Prof. MUDr. Ondřej Topolčan, CSc Doc.

PharmDr. Radek Kučera

RNDr. Martin Pešta, Ph.D.

RNDr. Marie Karlíková, Ph.D.

Doc. RNDr. Judita Kinkorová, Ph.D.

Doc. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc.

Vydalo nakladatelsví Tribun 2014

ISBN 978-80-263-0814-0

KANCEROGENEZE

Kancerogeneze je proces přeměny normálních buněk v buňky nádorové. Je to mnohastupňový proces postupné akumulace genetických a epigenetických událostí, které umožňují nádorovým buňkám selekční růstovou výhodu a vrcholí invazivním růstem a metastazováním.

STÁDIA KANCEROGENEZE:

Iniciační stadium, tj. prvotní genetická událost, kdy dochází k mutaci kritického genu. Je to období časově velmi krátké, ale nevratné. Buňka tím získává potenciál maligní transformace. V tomto stádiu se může proces ještě zastavit.

Promoční stadium, které trvá léta až desetiletí. Klon postižených buněk je stimulován k intenzivní proliferaci promočními faktory Ty nejsou samy o sobě schopny vyvolat nádorovou transformaci, jen ji podpořit event. urychlit . Intenzita promočních mechanismů musí dosáhnout určitého stupně, aby byl iniciovaný klon stimulován. V této fázi se opět může proces karcenogeneze zpomalit nebo zastavit, ve většině případů však dojde k nástupu dalšího stadia.

Stádium progresu, dochází dalšímu postupnému nahromadění genetických změn. Nádor zpočátku zůstává v místě svého vzniku, pak vlivem aktivace dalších faktorů dochází k dalšímu šíření nádoru do okolí i do vzdálených míst (metastazování).

Proliferace buněk je velmi pečlivě řízena tak, aby odpovídala potřebám celého organismu. V časných stádiích života jedince kapacita množení buněk převažuje nad jejich zanikáním, v dospělosti je v dynamické rovnováze a ve stáří začíná převažovat involuce. Pro různé typy buněk je proces množení odlišný: např. buňky sliznice tenkého střeva nebo leukocyty se obnovují během několika dnů, erytrocyty mají životaschopnost 120 dnů. Hepatocyty či nervové buňky zanikají zřídka a nemají regenerační schopnosti vůbec. Pokud se však buňky vymknou kontrole replikace (tj. neodpovídají na vnější signály kontrolující proces dělení), změní se v buňky nádorové. Pokud si i přesto tyto buňky zachovají svůj vzhled i funkci a zůstávají na místě, kde vznikly, jsou to buňky benigní a dávají vznik benigním tumorům. Buňky, které ztratily většinu svých původních vlastností (ztráta diferenciací) a mají snahu

pronikat dále do svého okolí (invazivita) i na vzdálená místa (metastazování), jsou buňkami maligními a dávají vznik maligním nádorům. Přeměna tkáně organismu do stavu invazivní nádorové choroby trvá v průměru 5 – 10 let a je ovlivněna hereditárními genetickými faktory a somatickými epigenetickými faktory.

Tabulka č. 1. Průběh kancerogeneze

Průběh kancerogeneze

- Inciační stádium
- Promoční stádium
- Stádium progresu
 - Lokální růst
 - Invaze do okolí
 - Metastazování

Vzhledem k tomu, že příčinou nádorových onemocnění bývá akumulace genetických změn v buněčných genech, zvyšuje se incidence těchto onemocnění především s přibývajícím věkem. Dochází (až na výjimky) k exponenciálnímu růstu incidence nádorového onemocnění v závislosti na věku ^(Pecun 2000).

METASTAZOVÁNÍ:

Pouze vysoce maligní buňky se vyznačují metastazujícím potenciálem. Aby mohly dále metastazovat, musí získat další invazivní vlastnosti, které jsou důsledkem dalších genových mutací, aktivace či inaktivace většího počtu genů. Proces metastazování je složitý mnohastupňový proces probíhající v následujících etapách (Viz Tabulka níže). V tabulce jsou uvedeny faktory, které se na jednotlivých etapách metastatického procesu podílejí.

Tabulka č. 2. Etapy metastatického procesu a faktory, které se na něm podílejí

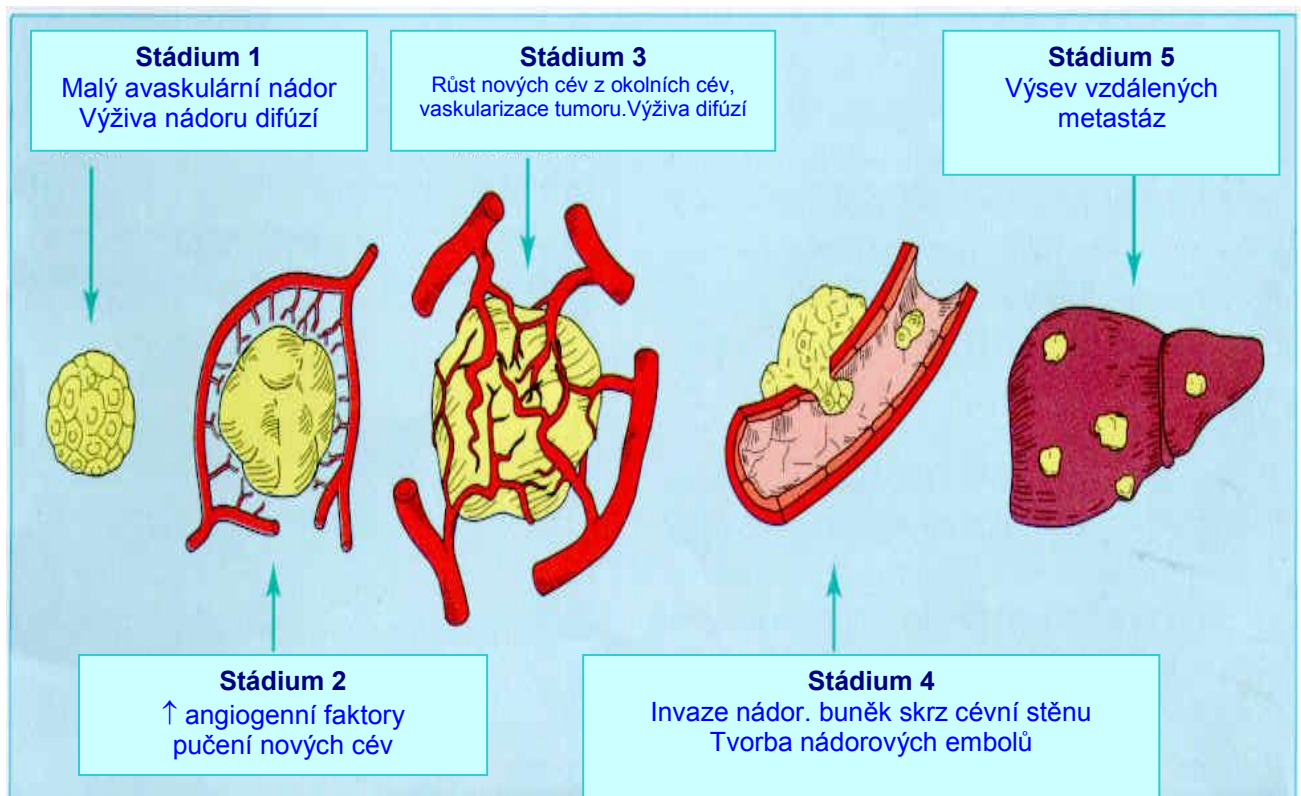
| Etapa metastatického procesu: | Faktory: |
|--------------------------------------|--|
| Invaze nádoru do okolí | <ul style="list-style-type: none"> • Matrix metaloproteinázy • Angiogenetické faktory • Adhezivní molekuly |
| Intravazální invaze | <ul style="list-style-type: none"> • Matrix metaloproteinázy • Cysteinové a serinové proteázy • Angiogenetické faktory • Adhezivní molekuly • Hemokoagulační faktory |
| Transport nádorových buněk | <ul style="list-style-type: none"> • Pasivní transport. • Hemokoagulační faktory |
| Extravazální invaze | <ul style="list-style-type: none"> • Matrix metaloproteinázy • Cysteinové a setinové proteázy • Angiogenetické faktory • Adhezivní molekuly • Hemokoagulační faktory |
| Nidace nádorových buněk | <ul style="list-style-type: none"> • Hemokoagulační faktory • Adhezivní molekuly. • Proliferační faktory • Angiogenetické faktory • Adhezivní molekuly • Apoptotické faktory |
| Růst metastáz v nové tkáni | |

INVAZE NÁDORU DO OKOLÍ

Průnik nádorových buněk bazální membránou do extracelulární matrix vede k narušení její integrity a tím mechanickou cestou při zvýšeném hydrostatickém tlaku uvnitř rostoucího nádoru invazi nádorových buněk do okolí. Na disrupci bazální membrány se podílí především proteolytické enzymy – matrix metaloproteinázy (Neslon 2000, Stevenson 1999). Svým proteolytickým účinkem působí nejen na bazální membránu

extracelulární matrix, ale i na bazální membránu endotelií, čímž usnadňují angiogenézi (novotvorbu cév) ^(Stevenson 1999) – viz Obr. č. 7, která je nezbytným faktorem invaze primárního nádorového ložiska a současně hraje roli i při vzniku vzdálených metastáz .

Obrázek č. 1. Proces angiogeneze u nádorů ^(Harris 1997)



INTRAVAZÁLNÍ INVASE

Po průniku do extravazálního prostoru následuje další stupeň invazivity nádoru - intravazální invaze, na které se kromě metaloproteináz podílejí i další proteázy. Po průniku cévní stěnou dochází k aktivaci cytokininů ^(Banks 1993, Holubec 2002-2, Witting 1996) a k agregaci nádorových buněk s krevními elementy. Vznik těchto agregátů – mikrotrombů jednak usnadňuje transport buněk a jednak aktivuje hemokoagulační faktory, které jsou nezbytné pro extravazální invazi nádorových buněk.

TRANSPORT NÁDOROVÝCH BUNĚK

Transport nádorových buněk v cévním řečišti je především pasivní děj, ale aktivací hemokoagulačních faktorů se připravuje extravazální invaze. (Duffy 2004-1, Duffy 2004-3)

EXTRAVAZÁLNÍ INVAZE

Extravazální invaze je zahájena hemokoagulačními faktory aktivujícími cytokininy, které aktivují adhezivní molekuly (Alexiou 2001), které zajistí adhezi na cévní stěnu. Z adherovaného agregátu krevních destiček a metastatických buněk se z trombocytů uvolňuje tromboxan A, který je zodpovědný za ireverzibilní agregaci, a tím definitivní adhezi mikrotrombu s nádorovými buňkami na cévní stěnu. Po ireverzibilní adhezi mikrotrombu následuje pochod obdobný první etapě metastatické kaskády, na které se podílejí matrix metaloproteinázy, faktory angiogeneze a další tkáňové působky. V této fázi metastatického procesu se připisuje významná úloha růstovému faktoru z trombocytů (PDGF), který stimuluje proliferaci buněk mikrometastázy. Větší odolnost mikroembolu je způsobena i tím, že se mikroembolus záhy obaluje fibrinem, který vzniká jako produkt plazmatické koagulace aktivované při agregaci destiček a indukované tromboplastickými substancemi z nádorových buněk. Fibrinový obal chrání buňky mikrometastáz proti mechanické traumatizaci a maskuje nádorové buňky před imunokompetentními lymfocyty.

NIDACE NÁDOROVÝCH BUNĚK A RŮST

METASTÁZ V NOVÉM MIKROPROSTŘEDÍ

Po průniku nádorových buněk cévní stěnou růst metastáz v novém mikroprostředí neprobíhá uniformně (Alexiou 2001, Amaya 1997, Aotake 1999). Buňky v metastáze se mohou diferencovat, jindy mohou zůstat dlouhou dobu v klidovém stavu, aniž ztratí svůj proliferační potenciál. Proliferace buněk v metastáze je závislá na přítomnosti rozmanitých růstových (proliferačních) faktorů a jejich vzájemném poměru s faktory, které proliferaci inhibují. Rovněž inhibice apoptózy (programové smrti buněk) má za následek intenzivnější proliferaci (Aotake 1999).

Kromě již zmíněného PDGF se na proliferaci mikrometastáz mohou podílet též humorální faktory produkované vlastními nádorovými buňkami (tzv. autokrinní stimulace). Uplatňují se též různé produkty onkogenů, zejména c-myc, c-erb a c-sis, které mají aktivitu růstových faktorů (FGF, TGF α , EGF) ^(Dirix 1999).

Předpokladem růstu metastázy je též plynulý přísun živin a kyslíku, a proto je pro růst metastázy opět nezbytná novotvorba cév ^(Carmeliet 2000). Pro vlastní cévní zásobení metastáz je též nezbytná produkce fibrinu, který vytváří matici, jež je oporou novotvořeným cévám, na které metastatické ložisko dále roste.

Určení biologické aktivity nádoru má velký význam pro:

- stanovení etiopatogeneze nádoru
- diagnostiku nádorového onemocnění
- monitoraci průběhu nádorového onemocnění, volbu a monitoraci léčby a vývoj nových terapeutických postupů ^(ASCO 2000, Duffy 2003).

Trendem současného výzkumu je nejen snaha o komplexní charakteristiku příčin vzniku nádorového bujení, ale především podrobná charakteristika agresivity nádorového procesu a s úzce související i mnohastupňové kaskády metastatického procesu ^(Ghesani 2003). Podrobný popis efektorových genů a jejich proteinových produktů ^(Kment 1999, Krause 2001, Vogelstein 1988), které ovlivňují jednotlivé pochody metastatické kaskády má nejen velký význam pro včasnou diagnostiku možné invaze nádoru do okolí a tvorbu distančních metastáz, ale především pro vývoj nových terapeutických postupů, které v budoucnu umožní přechod od léčby empirické k léčbě kauzální. V praxi to znamená přechod od léčebných postupů, které vedou k pouhému zastavení buněčného dělení či buněčného růstu, k ovlivnění jednotlivých fází nádorového vývoje (korekce genetického defektu nádorových buněk, inhibice metastatické kaskády, inhibice angiogeneze, apod.). Cílem podrobného poznávání charakteristiky jednotlivých nádorových onemocnění je snaha o individualizaci přístupu, zlepšování kvality života a prodloužení přežívání onkologicky nemocných. Za účelem pochopení významu nádorových markerů ve vývoji a diagnostice nádorového bujení je v této kapitole rozebírán nádorový proces v širších souvislostech.

Vznik nádoru je předurčen vznikem prvé nádorově transformované buňky v jinak zdravé tkáni. Ta vzniká v důsledku mutace nebo strukturálních změn genetické výbavy buňky. Výsledkem je nekontrolovatelná aktivita onkogenů a porucha regulačního vlivu onkosupresorických genů. Tak dochází ke klonální proliferaci, kdy z jedné nádorové buňky vzniká nádorové ložisko. Pokud nádorové buňky nemají schopnost invazivního růstu a metastazování, pak vede klonální proliferace primárně transformované buňky ke vzniku benigního nádoru. Teprve genetické a fenotypické změny, které dále mění vlastnosti již existujících a množících se nádorových buněk tak, že jsou schopné invazivně prorůst do okolní tkáně nebo do cévního řečiště, umožní vznik skutečně zhoubného nádoru. Jedním z typických podrobně prozkoumaných a většinou často používaných příkladů je vznik kolorektálního karcinomu.

MODELOVÝ PŘÍKLAD KANCEROÉGENEZE

Vznik kolorektálního karcinomu –

Nádory tlustého střeva a rekta můžeme rozdělit na sporadické a familiární (hereditární) formy. **Sporadická forma** (asi 80 % všech nádorů kolorekta) se vyznačuje kompletním vyřazením obou alel důležitého genu z funkce, nicméně k této změně je třeba ještě vzniku *dvou mutací v somatické buňce*. Pravděpodobnost tohoto jevu je poměrně malá a takto způsobené nádory vznikají ve vyšším věku. Naproti tomu při **familiární formě** (20 % všech nádorů kolorekta) je zárodečná mutace přítomna ve všech buňkách jedince ^(Witting 1996). Druhá alela genu má normální funkci a rozvoj nádorového bujení se projeví až tehdy, když je vyřazena somatickou mutací i druhá kopie identického genu a dojde k poruše regulace buněčného cyklu či opravě chyb deoxyribonukleové kyseliny (DNA). U hereditární formy nádorového onemocnění tedy stačí k vyřazení genu pouze jediná mutace somatické buňky. Pravděpodobnost takové mutace je vysoká. Vznik nádorů se tak posouvá se do mladého věku.

Genetický model vzniku kolorektálního karcinomu byl detailně vypracován Vogelsteinem v roce 1988 ^(Vogelstein 1988) a je uváděn jako typický příklad vzniku a vývoje nádorového onemocnění. Pro vznik nádorového onemocnění musí dojít ke kumulaci následujících změn ^(Kaušitz 2003, Masopust 2003, Vogelstein 1988). Ke genetickým změnám (mutacím) vedou mutageny, kterými mohou být rozličné exogenní faktory.

Mutací pozměněné geny jsou navíc citlivější na změny zevního prostředí.

Protoonkogeny jsou normální geny, které mohou být aktivovány mutací jedné alely. Takto aktivované protoonkogeny se nazývají **onkogeny**. Narušují normální buněčný růst a celulární diferenciaci. U kolorektálního karcinomu svědčí řada údajů o velkém významu mutace **K ras genu** při vzniku dysplázií a v kancerogenezi. *K ras gen* je nejčastějším onkogenem. **Tumorsupresorové geny** (*antionkogeny*), respektive jejich proteinové produkty, kontrolují normální buněčnou proliferaci a diferenciaci. Při selhání této kontroly přejde diferenciaci normálních kolonocytů do nádorové transformace. Ztráta funkce (inaktivace) při velké chromozomální aberaci obou kopií supresorových genů (otcovské a mateřské) má závažný význam v kancerogenezi kolorektálního karcinomu. Jde především o **gen p 53** (na *p 17*), **APC gen** (na *q 5*) a **DCC gen** (na *q 18*). Ztráta heterozygosity (mutace a delece) těchto genů se zásadně podílí na přeměně adenomu v karcinom a na vývoji malignity. Tyto změny jsou zjištěné až u 70 – 80 % kolorektálních nádorů. Sekvenci jednotlivých změn vedoucích ke vzniku kolorektálního karcinomu znázorňuje Vogelsteinův model tumorigeneze lidského kolorektálního karcinomu ^(Vogelstein 1988) na obrázku níže.

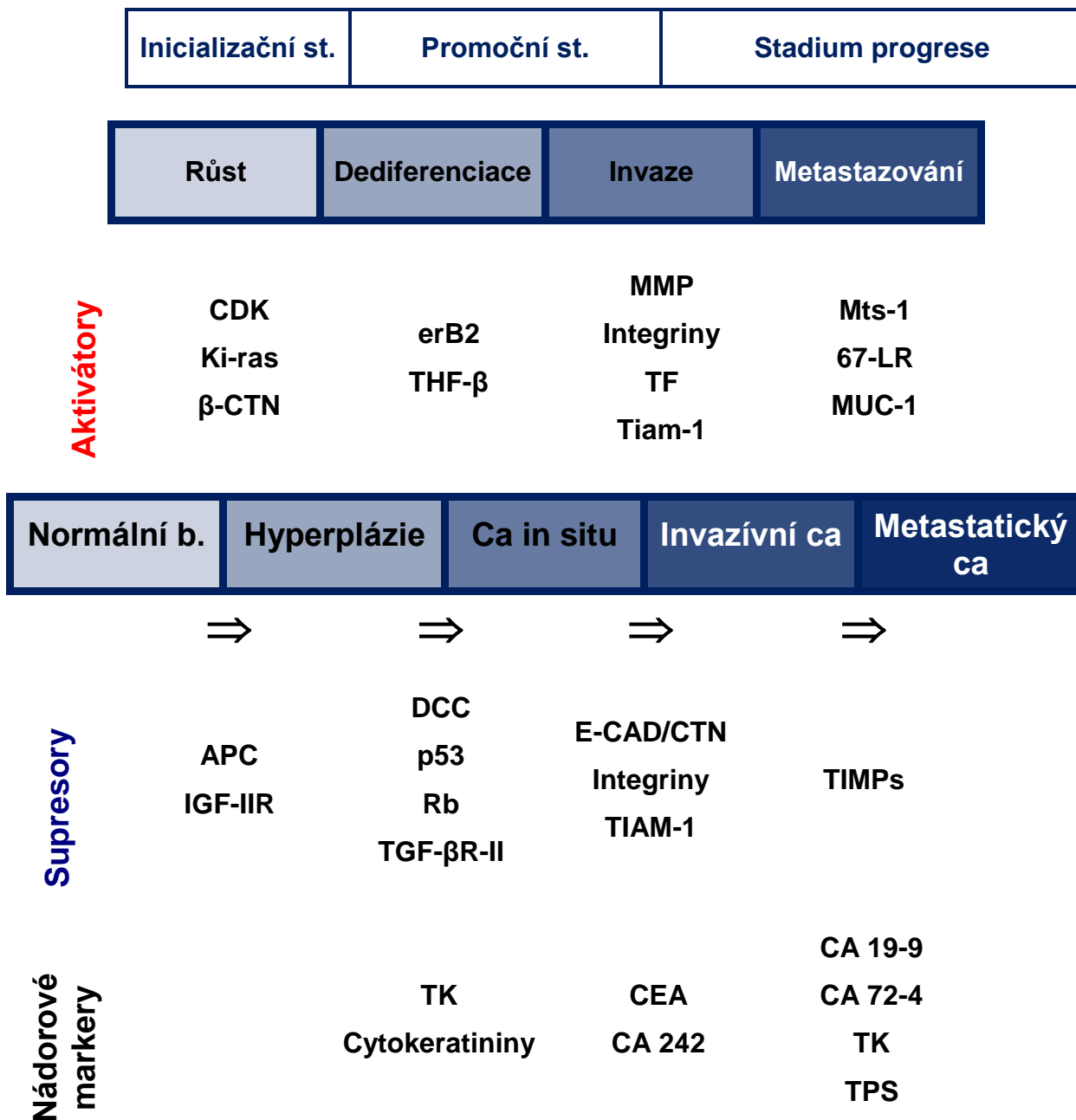
Obrázek č.2. Vogelsteinův model tumorigeneze kolorektálního karcinomu

| | | |
|--|---|-----------------------------------|
| | | Normální epitel |
| Mutace APC genu (Chromozom 5q, 9q) | ⇒ | ⇓ |
| | | Aberantní kryptový fokus |
| Hypomethylace DNA | ⇒ | ⇓ |
| | | Adenom – lehká dysplázie |
| Mutace K ras (Chromozom 12p) | ⇒ | ⇓ |
| | | Adenom – střední dysplázie |
| Ztráta DCC (Chromozom 18q) | ⇒ | ⇓ |
| | | Adenom – těžká dysplázie |
| Ztráta p53 (Chromozom 17p) | ⇒ | ⇓ |
| | | Karcinom |
| Jiné alterace (delece 1p) | ⇒ | ⇓ |
| | | Metastázy |

MALIGNÍ TRANSFORMACE BUŇKY

Množení buněk je velmi pečlivě řízeno tak, aby odpovídalo potřebám celého organismu. V časných stádiích života jedince kapacita množení buněk převažuje nad jejich zanikáním, v dospělosti je v dynamické rovnováze a ve stáří začíná převažovat involuce. Pro různé typy buněk je proces množení odlišný: např. buňky sliznice tenkého střeva nebo leukocyty se obnovují během několika dnů, erytrocyty mají životaschopnost 120 dnů. Hepatocyty či nervové buňky zanikají zřídka a nemají regenerační schopnosti vůbec. Pokud se však buňky vymknou kontrole replikace (tj. neodpovídají na vnější signály kontrolující proces dělení), změní se v buňky nádorové. Pokud si i přesto tyto buňky zachovají svůj vzhled i funkci a zůstávají na místě, kde vznikly, jsou to buňky benigní a dávají vznik benigním tumorům. Buňky, které ztratily většinu svých původních vlastností (ztráta diferenciace) a mají snahu pronikat dále do svého okolí (invazivita) i na vzdálená místa (metastazování), jsou buňkami maligními a dávají vznik maligním nádorům. Maligní nádor je v podstatě genetické onemocnění, jeho exprese začíná v jediné buňce. Jde o několikastupňový proces, kdy na úrovni chromozomů dochází k postupnému nahromadění mutací (alterací) genů, kontrolujících proliferaci (buněčné dělení), diferenciaci a zánik buněk. Přeměna tkáně organismu do stavu invazivní nádorové choroby trvá v průměru 5 – 10 let. Ovlivňují to hereditární genetické faktory a somatické faktory epigenetické.

Obrázek 4. Schématické znázornění jednotlivých etap kancerogeneze a produkce nádorových markerů v jednotlivých etapách kolorektálního karcinomu.



Vysvětlivky: CDK = cyklin dependentní kinázy; Ki-ras = onkogen Kirstenova sarkomového viru; β-CTN = β catenin, erB2 = onkogenní tyroxin kináza (ze skupiny EGFR); THF-β = transforming growth factor β; MMP = metaloproteinázy; TF = tkáňový faktor – aktivátor invazivity; Tiam-1 = aktivátor invazivity u lymfomových buněk a inhibitor invazivity u epiteliálních buněk; mts1 = gen kódující proteiny vázající kalcium; LR67 = lamininový receptor; MUC-1 = mucin stimulující adhezi nádorových buněk k endoteliálním buňkám; APC = protein adenomatózní polypózy tlustého střeva, IGF-IIR = inzulin-like growth factor II receptor; DCC = deleted in colorectal cancer, kódující transmembránový glykoprotein imunoglobulinů; p53 = jaderný protein tlumící replikaci poškozené DNA; Rb = retinoblastoma protein kódující fosfoprotein, který se podílí na regulaci buněčného cyklu; TGF-βR-II = typ II receptor pro TGF-β; E-CAD/CTN = E-cadherin/cateninový komplex.

VYUŽITÍ STANOVENÍ UKAZATELŮ BIOLOGICKÉ AKTIVITY NÁDORU PRO KLINICKOU PRAXI A VÝZKUM

Diagnostické využití stanovení ukazatelů biologické aktivity *in vitro*

Rozdělení a obecná charakteristika parametrů biologické aktivity

Nádorové markery lze charakterizovat jako látky produkované maligními buňkami či organismem jako odpověď na nádorové bujení. Může se jednat o antigeny lokalizované na povrchu buněčných membrán, obsažené v cytoplazmě, solubilní antigeny obsažené v biologických tekutinách, enzymy metabolických drah či fragmenty cytoplazmatických struktur uvolňované do okolí při zániku buněk. Celulární nádorové markery lze detekovat imunohistochemicky či v cytozolu nádorové buňky, humorální nádorové markery cirkulující v krvi či v jiných biologických tekutinách a lze je prokázat pomocí imunoanalytických metod.

Přestože diagnostický práh nádorových markerů umožňuje v příznivých případech detekovat nádor o hmotnosti 1mg (10^6 nádorových buněk), zatímco klinická diagnóza je určena většinou až u nádoru, který obsahuje asi 10^9 buněk, neexistuje dosud vzhledem k širokému spektru nádorových onemocnění univerzální nádorový marker.

Požadavky kladené na ideální nádorový marker jsou následující:

- je produkován pouze u maligních onemocnění
- je orgánově specifický
- vyskytuje se ve vysokých koncentracích v biologických tekutinách
- koreluje s velikostí nádoru
- koreluje se stádiem onemocnění
- koreluje s prognózou
- koreluje s účinností terapie

V klinické praxi neexistuje v současné době žádný nádorový marker, který by tato kritéria splňoval. Je proto nutné si vždy uvědomit optimální indikace a současně i limitace těchto vyšetření. Správně indikované vyšetření nádorových markerů může přispět především k včasnému zachytu recidivy či progresu onemocnění a tím i k rychlejšímu terapeutickému zákroku, který může prodloužit život

nemocného. Orgánová specifita při vyšetřování nádorových markerů je nízká, a proto je nezbytně nutné jejich dynamické sledování v pravidelných intervalech.

Indikace vyšetření nádorových markerů u karcinomu tlustého střeva mají své limity. Jedná se o doplňkovou diagnostickou metodu. Pro správnou interpretaci výsledků je proto nezbytná nejen správná volba nádorových markerů, ale především způsob jejich klinického vyhodnocení, které vyžaduje úzkou interdisciplinární spolupráci mezi klinikem a laboratorním pracovníkem.

U nádorů tlustého střeva a konečníku je hlavním stanovovaným markerem karcinoembryonální antigen (CEA). Jako marker druhé volby je doporučován CA 19-9. Jako optimální se jeví kombinace těchto dvou markerů. K dalším markerům, které jsou studovány v souvislosti s kolorektálním karcinomem patří CA 72-4, dále pak další nádorové markery CA typu (CA 242, CA 195), markery cytokeratinu (TPA, TPS) a řada dalších. V přehledné Tabulce č. 5 jsme se zaměřili na nejčastěji vyšetřované nádorové markery v klinické praxi obecně.

Tabulka č. 3. Rozdělení nádorových markerů podle funkce:

| Skupina markerů: | | Jednotlivé markery. |
|-------------------------------------|---------------------------------|---|
| Onkofetální a mucinózní antigeny | Mající funkci u plodu | <ul style="list-style-type: none"> • CEA • AFP • hCG • SP1 |
| | Karbohydrátové(cancer) antigeny | <ul style="list-style-type: none"> • CA 125 • CA 15-3 • CA 19-9 • CA 50 • CA 72-4 |
| Cytokeratinové nádorové markery | | <ul style="list-style-type: none"> • TPA • TPS • CYFRA 21.1 • SCC |
| Enzymy | Proliferační | <ul style="list-style-type: none"> • Neuronspecifická enoláza • Thymidinkináza |
| | Ostatní | <ul style="list-style-type: none"> • Prostatický specifický antigen • Kyselá prostatická fosfatáza • Laktátdehydrogenáza |
| Hormony | Ektopická sekrece | <ul style="list-style-type: none"> • Adrenokortikotropní hormon • Antidiuretický hormon • Kortizon • Parathormon • Prolaktin |
| | Produkované nádorem | <ul style="list-style-type: none"> • Placentární laktogen • Kalcitonin • Parathormon • Prolaktin |
| Receptory | | <ul style="list-style-type: none"> • Estrogenové • Progesteronové |
| Ostatní blíže nespecifikované látky | | <ul style="list-style-type: none"> • Feritin • β_2-mikroglobulin • Imunoglobuliny |

Většina nádorových markerů patří mezi **onkofetální antigeny**. Jde o látky, které nacházíme v poměrně vysokých koncentracích u plodu, kde se vyskytují na povrchu diferencujících se buněk (diferenciační antigeny) a hrají významnou roli ve vývoji plodu. U zdravých dospělých osob je jejich hladina velice nízká a přesná biologická funkce není známa. Při většině nádorových onemocnění se jejich aktivita výrazně zvyšuje. Typické pro ně je, že se vyskytují především u dobře diferencovaných nádorů a jejich hladina většinou koreluje s velikostí nádorové masy. Jejich stanovení má význam zejména pro určení prognózy nádorového onemocnění a kontrolu terapie.

Cytokeratinové nádorové markery jsou markery vzniklé narušením nebo nekontrolovaným růstem cytoskeletu buňky. Vyskytují se jako o cirkulující fragmenty nebo komplexy fragmentů cytokeratinů 8, 18, 19 normálního epitelu. Souvisejí výrazně s buněčnou proliferací a mnozí autoři je řadí mezi proliferační nádorové markery.

Enzymatické nádorové markery jsou po onkofetálních antigenech druhým nejčastěji užívanou skupinou nádorových markerů. Můžeme je rozdělit na dvě podskupiny. První podskupinu tvoří enzymy mající biologickou funkci především při buněčném dělení, (např. thymidinkináza a neuron-specifická enoláza). Tyto markery jsou značně zvýšené u všech stavů charakterizovaných především výraznou buněčnou proliferací. Proto se uplatňují při určování prognózy a stadia onemocnění. Markery druhé podskupiny jsou enzymy, které se vyskytují i ve zdravých tkáních, kde plní své biologické funkce. Tyto markery jsou vysoce orgánově či tkáňově specifické, ale neposkytují jakoukoliv informaci o typu poškození daného orgánu či tkáně. Dají se použít k určení primární lokalizace nádoru.

Dalším typem nádorových markerů jsou **hormóny**. Jsou produkovány buď přímo samotnými endokrinními buňkami (např. kalcitonin medulárním karcinomem štítné žlázy nebo tyreoglobulin při typu folikulárním) nebo jsou produkovány ektopicky (např. látka podobná ACTH nebo hCG při bronchogenním karcinomu). Tyto nádorové markery jsou nečastěji využívány ke kontrole efektu ať již operační či medikamentózní léčby.

U nádorů hormonálně aktivních se stanovují i počty **receptorů**. Na rozdíl od předchozích markerů, které se převážně stanovují v séru, jde o markery tkáňové, které se stanovují v biotickém materiálu. Mají jednak význam pro určení prognózy nádoru, ale rozhodující význam mají pro volbu a kontrolu terapie (jako např. u nádorů prsu).

Poslední skupinu nádorových markerů tvoří nejrůznější tkáněmi produkované **blíže nespecifikované látky**, které se nedají zařadit do žádné z předchozích skupin, ale při nádorovém bujení se jejich hladiny v krvi zvyšují jako nespecifická reakce organismu na přítomnost nádorového onemocnění (ferritin, β_2 -mikroglobulin, imunoglobuliny).

PŘEHLED LITERATURY

- Alexiou, D., Karayiannakis, A.J., Syrigos, K.N., Zbar, A., Kremmyda, A., Bramis, I., Tsigris, C. Serum levels of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal cancer patients: correlations with clinicopathological features, patient survival and tumour surgery. *Eur J Cancer*, 2001, Dec, 37(18), p. 2392-2397.
- Amaya, H., Tanigawa, A., Lu, C., Matsumura, M., Shimomatsuya, T., Horiuchi, T., Muroaka, T. Asociacion of vascular endothelial growth factor expression with tumor angiogenesis, survival and thymidin phosphorylase/plateled derived endothelial cell growth factor expression in human colorectal cancer. *Cancer Lett* 1997, 119, s. 227-235.
- Aotake, T., Cai De, L., Chiba, Y. Changes of Angiogenesis and Tumor Cell Apoptosis during Colorectal Carcinogenesis. *Clin Cancer Research* 1999, 5, p. 135-142.
- ASCO special articel: 2000 Uptade of Recommendations for the Use of Tumor Markers in Breast and Colorectal Cancer. Clinical practice guidelines of the American society of clinical oncology.
- Banks, R.E., Gearie, A.J.H., Heringeay, I.K., Norfolk, D.R., Perren, T.J., Selby, P.J. Circulating intercellular adhesion molecul-1 (ICAM-1), E-selectin and vascular cell adhesion molecul-1 (VCAM-1) in human malignancies. *Br J Cancer* 1993, 68, p. 122-124.
- Carmeliet, P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000; 6: 389-395.
- Dirix, L. Y., Vermeulen, p. b., Hubens, G. et al. Serum basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor and tumour growth kinetic in advanced colorectal cancer. *Ann. Oncol.*, 1999, 7, p. 843-848.
- Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Klapdor R, Lamerz R, Nilsson O, Sturgeon C, Topolcan O. Clinical utility of biochemical markers in colorectal

- cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines Eur J Cancer. 2003 Apr;39(6):718-27. Review.
- Duffy MJ. The urokinase plasminogen activator system: role in malignancy. Curr Pharm Des. 2004;10(1):39-49. Review
Sep;41(Pt 5):370-7.
- Duffy MJ, Duggan C. The urokinase plasminogen activator system: a rich source of tumour markers for the individualised management of patients with cancer Clin Biochem. 2004 Jul;37(7):541-
- Ghesani M, Belgrai A, Hasni S. Carcinoembryonic antigen (CEA) scan in the diagnosis of recurrent colorectal carcinoma in a patient with increasing CEA levels and inconclusive computed tomographic findings. Clin Nucl Med. 2003 Jul;28(7):608-9.
- Holubec, L.jr, Topolčan, O., Fínek, J., Pikner, R., Pecen, L., Lipská, L., Holubec, L.sen., Visokai, V. The role of VCAM, ICAM, Selectin E and Selectin P in detection of liver metastases of colorectal carcinoma. Tumor Biology 23(S1): 51, 2002
- Kaušitz, J. et al.: Onkológia. Veda, 2003.
- Kim JCh., Hwang DY. et al.: Changes of Serum CEA in Patients with Colorectal cancer. Journal of Korean Cancer Ass., 1992, 880-885.
- Kment, M., Hajer, J. Genetika. Postgraduální medicína 1999, 2, 75-78.
- Krause, WF., DuBois, RN. The molecular basis for prevention of colorectal cancer. Clin Colorectal Cancer. 2001, May;1(1), p. 47-54.
- Masopust J. et al.: Patobiochemie buňky. 2003. ISBN: 80-239-1011-0.
- Nelson, AR., Fingleton, B., Rothenberg, LM., Matrisian, LM. Matrix Metalloproteases: Biologic Activity and Clinical Implications. J Clin Oncology 2000, 18(5), p. 1135-1149.
- Pecen, L., Topolčan, O., Koukalová, H., Novák, J., Šíroký, P., Roušarová, M., Holubec L.jr., Pikner, R., Svobodová Š. Epidemiology of colorectal carcinoma in the Czech Republic. J Tumor Marker Oncology, 2000, 15(1), p. 55-56.
- Stevenson, SGW. Matrix metalloproteinases in angiogenesis: a moving target for therapeutic intervention. J of Clin Investig 1999, 103, p. 1237-1241.
- Vogelstein, B., Fearon, ER, Hamilton, srov. et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. A Engl J Med 1988, 319, p. 525-32.
- Witting, BM., Kaulen, R., Thees, R., Schmitt, P., Knolle, P., Stock, J., Meyer, KH., Dippold, W. Elevated Serum E-selectin in Patients with Liver Metastases of Colorectal Cancer. European J Cancer 1996, 32(7), p. 1215-1218.