



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

**UNIVERZITA KARLOVA PRAHA**

**LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI**

# **BIOMARKERY U MALIGNÍHO MELANOMU**

**Autoři:**

**Inka Třešková, Jindra Windrichová**

**Ondřej Topolčan, Radek Kučera a kolektiv**

**Editor:**

**Doc. RNDr. Judita Kinkorová, Ph.D.**

*Sponsored by OP VK CZ.1.07/2.3.00/20.0040*

**Autoři:**

**MUDr. Inka Třešková, Ph.D.**

**Prof. MUDr. Ondřej Topolčan, Csc.**

**RNDr. Jindra Windrichová, Ph.D.**

**MUDr. Šárka Svobodová, Ph.D.**

**PharmDr. Radek Kučera, Ph.D.**

**Prof. MUDr. Karel Pizinger, CSc.**

**Prof. MUDr. Vladislav Třeška, Dr.Sc.**

**MUDr. Markéta Pražáková, PhD.**

**Prof. Vivien Barak**

*Vydalo nakladatelství Tribun 2014*

*ISBN 978-80-263-0815-7*

## ÚVOD

Maligní melanom je starý jako lidstvo samo. První písemné zmínky o černé rakovině a smrtelných černých nádorech s metastázami se datují do 5.století před naším letopočtem a zaznamenal je slavný řecký lékař Hippokrates.

Melanom je nádor, který se vyvíjí z melanocytů, které vznikají z neurální lišty a migrují do epidermis, uvey, mozkových plen a sliznic. Melanom postihuje relativně mladou populaci a má tendenci k metastazování v časných stádiích.

## Epidemiologie

V současné době představuje maligní melanom závažný medicínský problém na celém světě. V posledních desetiletích se výrazně zvýšila incidence maligního melanomu ve Spojených Státech, Austrálii a Evropě, v těchto oblastech se dokonce hovoří o epidemii maligního melanomu. Ačkoliv melanom představuje pouze 4% všech kožních nádorů, je ale zodpovědný za 80% úmrtí. Incidence maligního melanomu se za posledních 30 let postupně zvyšuje, naopak mortalita dramaticky nestoupá, a tudíž nekoreluje s křivkou rostoucí incidence.

Incidence maligního melanomu se každým rokem zvyšuje o 5%. Nejvyšší incidence je v oblastech s největší sluneční aktivitou (Austrálie, Nový Zéland, apod.). V České republice představuje melanom šestou nejčastější malignitu u mužů a pátou u žen. V roce 2008 byl melanom diagnostikován u 8420 mužů a u 10726 žen.

## Etiologie

Na vzniku maligního melanomu se podílí celá řada faktorů. Svoji roli hrají hlavně genotyp, fenotyp a vlivy zevního prostředí.

## Vliv slunečního záření

Největším rizikovým faktorem pro vznik maligního melanomu je UV záření. Expozice slunečnímu záření je jediným prokázaným faktorem zevního prostředí, který se významně podílí na vzniku maligního melanomu. Ačkoliv expozice UV záření v dětském věku hraje významnou roli při vzniku melanomu, neméně podstatným faktorem je i celková expozice UV záření v průběhu celého života. UV záření způsobuje genetické změny v kůži, porušuje kožní imunitní systém, zvyšuje lokální

produkci růstových faktorů, apod. Chronická či mírná expozice UV záření navozuje mechanismy, které chrání před poškozením DNA, naopak intermitentní intenzivní expozice způsobuje genetické změny.

### **Genetické faktory**

Dosud nebyl odhalen žádný specifický gen, který by byl přímo zodpovědný za vznik melanomu. Jak je známo, melanom se často vyskytuje v určitých rodinách. Nedávné studie identifikovaly několik genotypů, které mohou představovat riziko pro vznik maligního melanomu. Maligní melanom je spíše nahlížen jako genetická choroba. Pozitivní rodinná anamnéza dvojnásobně zvyšuje riziko rozvoje maligního melanomu. Dědičná forma melanomu je heterogenní. Byly identifikovány dva majoritní geny: CDKN2A a CDK4. CDKN2A kóduje dva různé proteiny - p16 (v retinoblastomové dráze) a p14ARF (v p53 apoptóza dráze). CDK4 je také začleněn v retinoblastomové dráze. Prevalence genových mutací se liší na jednotlivých kontinentech, nejméně časté jsou v Austrálii (20%), častější v Severní Americe (45%) a nejčastější v Evropě (57%). Objevení genů CDKN2A a CDK4 bylo významným krokem, tyto geny však vysvětlují méně než polovinu případů vzniku dědičných. Zatím nejvýznamnější mutace u sporadických melanomů postihuje BRAF ze skupiny RAF. Řada studií ukazuje na významnou genetickou heterogenitu ve skupině melanomů.

### **Fenotyp**

Typickým pacientem s melanomem je běloch se světlou kůží, se špatnou opalovací schopností, se světlými očima a vlasy, často s pihami. Atypické névy jsou považovány za ukazatele mírně zvýšeného rizika vzniku maligního melanomu.

### **Ženské pohlavní hormony**

Předchozí těhotenství, užívání hormonální antikoncepce či hormonální substituční léčby nebylo prokázáno jako rizikový faktor vzniku maligního.

### **Socioekonomický status**

Maligní melanom se více vyskytuje ve vrstvě obyvatel s vyššími příjmy, což souvisí s trávením volného času na dovolených u moře a tudíž větší expozici slunečnímu.

## Typy maligního melanomu

Melanom má dvě fáze růstu, radiální a vertikální. Během radiální fáze rostou maligní buňky v radiálním směru v epidermis. S postupujícím časem většina melanomů progreduje do vertikální fáze růstu, ve které maligní buňky invadují dermis a získávají schopnost metastazovat.

### Lentigo maligna melanoma = melanosis praecancerosa Dubreuilh

LMM vzniká z prekurzorové léze lentigo maligna, vyskytuje se hlavně u starších osob a typicky se nachází na slunci exponovaných oblastech. Počáteční fáze růstu je horizontální, ale může progredovat do nodulární fáze se schopností invazivního růstu a metastazování. Standardní excize s bezpečnostním lemem 5mm do zdravé tkáně je v 50% případů nedostatečná. Míra rekurence s tímto standardním lemem je až 20%.

### Superficiálně se šířící melanom

Jedná se o nejčastější typ maligního melanomu. Je charakterizován nejprve horizontální fází růstu, která vykazuje změny v tvaru, velikosti a barvě. Ve většině případů vzniká na zdravé kůži. Méně často se vyvíjí v prekurzorové lézi jako je například dysplastický névus. Tato radiální fáze růstu, ve které léze zůstává tenká, trvá poměrně dlouhou dobu, ale poté bývá následována vertikální fází růstu, kdy se léze ztlušťuje a stává se nodulární.

### **Obr. 1 Maligní melanom zad**



### Nodulární melanom

Jedná se o nejagresivnější formu maligního melanomu, která je charakterizována rychlou progresí a časným metastazováním. Prognóza je často

špatná. Chybí zde horizontální fáze růstu, léze je od počátku symetrická, pevná, často uniformně kolorovaná či bez přítomnosti pigmentu. Klinická i dermatoskopická diagnóza je obtížná.

**Obr. 2 Nodulární melanom zad**



#### Akrolentiginózní melanom

Objevuje se na akrálních částech dlaní a plosek a v subunguální lokalizaci. Je to nejčastější typ melanomu, který je diagnostikován u asijské a černošské populace. Často je diagnostikován pozdě, vzhledem k jeho snadné záměně za trofickou ulceraci, hyperkeratózu nebo subunguální hematoma, které mohou imitovat jeho vzhled.

**Obr. 3 Akrolentiginózní melanom**



#### Desmoplastický melanom

Je to vzácný typ melanomu, který imituje jizevnatou tkáň. Často se prezentuje jako nepigmentovaná papula. Je spojen s vysokým procentem lokálních recidiv. Diagnóza je velmi obtížná.

### Slizniční melanom

Jedná se o vzácný typ melanomu, který postihuje respirační, gastrointestinální a urogenitální sliznice. Při nálezů těchto lézí musíme vždy vyloučit metastatický původ těchto ložisek.

### **Stanovení diagnózy**

Kožní léze jsou snadno diagnostikovány pouhým pohledem. Toto by mohlo znamenat časné odhalení kožních tumorů, realita je ovšem odlišná. Zatím neexistuje screeningový program pro diagnostiku kožních tumorů. Přesná diagnostika a časné odhalení maligního melanomu zlepšuje 5-ti letý interval přežití.

V roce 1985 byla představena mnemotechnická pomůcka ABCD (později ABCDE) jako analytická metoda k posouzení vývoje melanomu. Tato pomůcka ovšem nedokáže rozlišit některé dysplastické névy od melanomu, ani nedokáže rozpoznat časná vývojová stadia melanomu.

- **A (asymmetry)** – léze s asymetrickým tvarem.
- **B (border)** – léze s asymetrickými okraji.
- **C (color)** – léze s tmavou barvou, často různé barvy pigmentace.
- **D (diameter)** – léze větší než 6mm.
- **E (evolving)** – vývoj v čase – změna velikosti, okrajů, tvaru, barvy, povrchu, subjektivní pocity.

Při klinickém vyšetření využíváme dermatoskopii či digitální dermatoskopii, fotografii, apod. Dermatoskopie je neinvazivní způsob vyšetřování, který využívá zvětšovací techniku. Tyto metody nejsou diagnostické, ale pouze významně zlepšují diagnostickou přesnost ve srovnání s pouhým vyšetřením pohledem. Přesná diagnóza je potom stanovena na základě histologického vyšetření.

**Obr. 4 Typický obraz maligního melanomu vykazující výše popsané charakteristiky**



**Prognóza**

Porozumění souvislostí mezi prognostickými faktory a biologickým chováním maligního melanomu je hlavní cíl výzkumu v oblasti maligního melanomu.

Věk

U starších pacientů se častěji vyskytuje tlustší a ulcerovaný nádor. Řada studií považuje věk za nezávislý prognostický faktor. Pacienti starší 65 let vykazují kratší bezpříznakové období a kratší období celkového přežití.

Pohlaví

Některé studie prezentují lepší prognózu u žen než u mužů. Riziko vzniku melanomu ale není spojeno s věkem v období menarché a menopauzy, s užíváním hormonální substituční léčby či hormonální antikoncepce, či s věkem při narození prvního dítěte.

Anatomická lokalita

Nádory s axiálním umístěním mají horší prognózu než nádory na končetinách.



### Floušťka nádoru dle Breslowa

V roce 1970 patolog Alexander Breslow popisuje hloubku invaze jako prognostický faktor u maligního melanomu. V současnosti je tato determinanta zahrnuta v „AJCC staging guidelines“ jako hlavní prognostický faktor v případě, že není vyšetřována sentinelová lymfatická uzlina. Hloubka tumoru je měřena v milimetrech směrem od granulární vrstvy epidermis k nejhluběji uložené nádorové buňce. V AJCC stagingovém systému se využívají hodnoty 1, 2 a 4mm k definování T kategorie nádoru. Se vzrůstající tloušťkou nádoru signifikantně klesá interval přežití.

### **Clarkova klasifikace**

Clarkova hodnota popisuje hloubku invaze. Řadu let tato hodnota sloužila jako prognostický faktor a byla zahrnuta v několika stagingových systémech. Bylo ovšem nakonec prokázáno, že její prediktivní význam je malý, špatně reprodukovatelný a hodnota může vykazovat subjektivní odchylku. Na základě 7. vydání AJCC stagingového systému byla Clarkova klasifikace nahrazena hodnotou mitotického indexu. Dnes se využívá pouze při hodnocení T1b nádorů a to ve vzácných případech, kdy mitotický index nemůže být popsán.

### Ulcerace

Ulceraci definoval Balch jako nepřítomnost intaktní epidermis ležící nad významnou částí tumoru. Tento faktor koreluje s tloušťkou tumoru. Četné studie dokazují, že přítomnost ulcerace představuje agresivnější typ nádorového fenotypu s větší tendencí k metastazování a horší prognózou. Pacienti s ulcerovaným melanomem mají nižší interval přežití ve srovnání s pacienty s neulcerovanými nádory rovnocenné tloušťky. Dokonce některé studie dokazují, že interval přežití pacientů s ulcerovanými tumory je shodný s tumory neulcerovanými ale vyšší T kategorie.

### **Obr. 5 Ulcerovaný maligní melanom trupu**



#### Regrese

Regredující melanom reaguje na imunitní systém těla zmenšováním své velikosti. Tento fakt poukazuje na melanom jako na imunogenní tumor. Regrese je považována za negativní prognostický faktor.

#### Mitotický index

Mitotický index je měřen jako počet mitóz na milimetr čtvereční. Zavedení této hodnoty představuje zásadní změnu ve stagingovém systému maligního melanomu. Salman a Rodgers jako první zhodnotili prognostický význam mitotického indexu primárního nádoru. Odhalili, že existuje spojitost mezi touto hodnotou a vyšší měrou metastazování u pacientů s tenkým melanomem. V současnosti se jedná o druhý nejdůležitější prediktor přežití, který je hlavně popisován u pacientů s T1 melanomem. 10-ti leté přežití je 95% u neulcerovaných T1 melanomů s mitotickým indexem  $< 1/\text{mm}^2$ , klesá na 88% pokud je mitotický index  $\geq 1/\text{mm}^2$ . Hodnota mitotického indexu je důležitá jako prognostická informace, ale slouží také k plánování rozsahu chirurgického zákroku.

#### Mikrosatelity

Mikrosatelity jsou malá hnízda nádorových buněk, která se oddělila od hlavní nádorové masy. Řada studií prokazuje roli mikrosatelitů jako prognostického faktoru u maligního melanomu.

### Tumor infiltrující lymfocyty

Tumor infiltrující lymfocyty (TILs) jsou krevní buňky bílé řady, které opustily cévní řečiště a migrovaly do nádorové masy. U melanomu jsou zodpovědné za smrt nádorových buněk a mohou navodit spontánní regresi nádoru. TILs u melanomu s vertikální fází růstu je silný, ovšem nezávislý prognostický faktor spojený s lepším přežíváním nemocných.

### Postižení lymfatických uzlin

Stav sentinelové lymfatické uzliny je nejdůležitějším prognostickým faktorem rekurence nádoru a celkového přežití nemocných. Melanom se šíří do regionálních lymfatických uzlin u 70% nemocných.

### **2010 AJCC staging**

Stagingový systém nádorů je nezbytný pro určení prognostické informace, strategii léčby a řízení a analyzování klinických studií.

Stagingový systém u maligního melanomu je neustále doplňován a upřesňován s pokračujícími znalostmi biologického chování této choroby. Podle Dicksona jsou nejvýznamnější změny v novém systému následující: a) lokalizovaný melanom, tloušťka nádoru, mitotický index a ulcerace jsou považovány za hlavní prognostické parametry, b) Clarkova hodnota invaze byla nahrazena mitotickým indexem u pacientů s tenkým melanomem, c) všichni pacienti s mikrometastázami jsou klasifikováni jako stadium III, d) u pacientů s metastázami v regionálních lymfatických uzlinách je nejdůležitějším nezávislým faktorem určující přežití počet postižených lymfatických uzlin, velikost tumoru, jeho ulcerace a tloušťka, e) u pacientů se vzdálenými metastázami je M kategorie definována hladinou tkáňové a sérové laktát dehydrogenázy.

### Stadium I a II

Prognóza nemocných s lokalizovanou formou melanomu je všeobecně příznivá. Tloušťka tumoru, mitotický index a přítomnost ulcerace jsou významnými a nezávislými prognostickými parametry co se týče celkového přežití nemocných této skupiny. Tyto parametry definují T kategorii maligního melanomu.

Multicentrická studie MSLT-1 (the first Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial) potvrdila prognostickou významnost stavu lymfatických uzlin u pacientů se stadiem I a II. Jedná se o statisticky nejdůležitější prediktor přežití u této skupiny.

### Stadium III

Nemocní s metastázami v regionálních lymfatických uzlinách představují heterogenní skupinu ve smyslu stagingu a prognózy. Regionální lymfatické uzliny představují nejčastější lokalitu šíření metastáz maligního melanomu. Počet lymfatických uzlin zasažených metastatickým procesem představuje nejdůležitější prediktivní faktor celkového přežití. Pacienti s jednou postiženou lymfatickou uzlinou jsou klasifikováni jako N1, se dvěma až třemi jako N2 a se čtyřmi a více postiženými uzlinami jako N3 kategorie. V rámci těchto kategorií ještě rozlišujeme podskupinu „a“ a „b“ na základě makroskopického či mikroskopického postižení lymfatických uzlin.

### Stadium IV

Prognóza nemocných se vzdálenými metastázami je obecně špatná. 5-ti leté přežití vykazuje méně než 10% těchto pacientů. Pacienti se zvýšenou sérovou hodnotou LDH jsou zařazeni do kategorie M1c bez ohledu na lokalitu vzdálených metastáz. Nemocní s metastázami do kůže, podkoží a/nebo do lymfatických uzlin (M1a) vykazují nejvyšší procento ročního přežití (62%) mezi pacienty se stadiem IV. Nemocní s plicními metastázami (M1b) mají procento ročního přežití 53%. A nakonec pacienti s viscerálními metastázami a/nebo zvýšenou sérovou hladinou LDH (M1c) mají nejhorší procento ročního přežití (33%) mezi pacienty se stadiem IV.

### **Sentinelová lymfatická uzlina**

Vyšetření sentinelové lymfatické uzliny je minimálně invazivní stagingová metoda, která se provádí v jedné době s excízi tumoru. Biopsie sentinelové uzliny slouží k identifikaci první postižené uzliny a je prováděna hlavně u pacientů se středním až vysokým rizikem lymfatických metastáz. Dokonce i pacienti s horší prognózou mohou benefitovat z dokončení nodální disekce či systémové adjuvantní terapie.

Ačkoliv se stala biopsie sentinelové uzliny standardní diagnostickou metodou, existuje celá řada otázek, na které je nutno zodpovědět. Jedním z otázek je, zda

provádět vyšetření sentinelové uzliny u pacientů s tenkým melanomem či nikoliv. Většina nově diagnostikovaných melanomů vykazuje Breslow skóre  $\leq 1$  mm a malá (ale jednoznačná) část těchto nemocných dospěje k rekurenci. Pro tyto nemocné s okultní lymfatickou metastázou představuje její identifikace zásadní prognostickou informaci. A tu můžeme získat pouze biopsií sentinelové uzliny. Nemocní s tenkým melanomem a negativní sentinelovou uzlinou mají extrémně nízké riziko rekurence. Nicméně jsou autoři, kteří odmítají biopsii sentinelové uzliny u maligního melanomu vzhledem k jeho metastatické nepředvídatelnosti. Nádorové buňky mohou rychle obejít lymfatický systém a vstoupit do krevního systému a tudíž budou nedetekovatelné biopsií sentinelové uzliny. Podle těchto autorů negativní sentinelová uzlina neznamena absenci vzdálených metastáz.

V roce 2006 byly publikovány výsledky multicentrické studie MSLT-1 (the first Multicenter Selective Lymphadenectomy trial). 5-ti letý bezpříznakový interval byl vyšší ve skupině, kde byla provedena biopsie sentinelové uzliny ve srovnání se skupinou, která byla pouze (73,1%) Data této studie potvrdila, že okamžitá disekce spádové lymfatické oblasti prodlužuje tento bezpříznakový interval. Důležitou otázkou zůstává, zda nemocní s nálezem pozitivní sentinelové uzliny benefitují z dokončené disekce spádové lymfatické oblasti a zda tedy tuto provádět. Současná data ukazují na benefit časného odstranění nodálních mikrometastáz. Na druhou stranu ale při dokončení disekce většina vzorků bude již bez nálezů patologických uzlin. Interval celkového přežití je srovnatelný u skupiny podstupující biopsii sentinelové uzliny a následnou lymfadenektomii při pozitivitě této uzliny a u skupiny, která podstoupila observaci a lymfadenektomii pouze v případě klinického nálezů patologických uzlin. V současnosti probíhá další velká multicentrická randomizovaná studie (MSLT-2), která má za cíl zhodnotit, zda dokončovat lymfadenektomii u pacientů s nálezem pozitivní sentinelové uzliny.

Ačkoliv v problematice sentinelové uzliny existuje celá řada sporů, vyšetření sentinelové uzliny je metoda přesná, minimálně invazivní a detekce metastázy v sentinelové uzlině zůstává nejdůležitějším prognostickým faktorem. Je zapotřebí dalším výzkumem zdokonalit systém, který nám pomůže identifikovat nemocné, kteří budou nejvíce benefitovat z biopsie sentinelové.

### **Biomarkery u maligního melanomu**

Nádorové markery jsou užitečným pomocníkem v dosažení úspěšné diagnózy a mohou zkvalitnit dispenzární péči onkologicky nemocných. U maligního melanomu

byla hodnocena celá řada biomarkerů, ovšem jejich klinická aplikace je minimální. Některé molekuly, které se účastní onkogeneze se vyskytují v séru onkologicky nemocných, ale jejich senzitivita či specifita je diskutabilní. Heterogenita studií komplikuje vyhodnocení užitečnosti biomarkerů u maligního melanomu. Byla studována řada různých potenciálních biomarkerů, ovšem s nepřesvědčivými výsledky.

S 100				
Thymdinkináza	TK			
Tkáňový polypeptidický antigen	TPS			
Vaskular endothelial growt faktor	VEGF			

- **S 100**
- **MIA** (melanoma inhibitory activity)
- **Tyrosináza**
- **Proangiogenní faktory:**  
(VEGF, bFGF, IL-8)
- **Molekuly účastníci se buněčné adheze a motility**
  - **sICAM-1** (soluble intracellular adhesion molecule 1)
  - **sVCAM** (soluble vascular adhesion molecule 1)
  - **matrix metalloproteinázy** (MMP 1-9)
  - **tkáňové inhibitory matrix metalloproteináz** (TIMP-1 and 2)
- **Cytokiny and cytokinové receptory** (IL-6,10, sIL-2R)
- **Jiné – CRP, integriny, atd.**

V současné době na poli problematiky maligního melanoma neexistuje žádný biomarker využitelná v rutinní klinické praxi. Sérová LDH (laktátdehydrogenáza) do současného staging a klasifikace maligního melanomu.

Probíhá celá řada studií, které hodnotí různé biomarkery jako je například protein S100A, thymidinkináza, tkáňový polypeptidový specifický antigen, vazebné proteiny pro insulinu podobný růstový factor, vaskulární endoteliální růstový factor, epidermální růstový faktor, interleukiny, osteoprotegerin či osteopontin.

## Protein S100A

S100 proteinová rodina se skládá z 20 členů (Ca<sup>2+</sup> vázajících proteinů). Tyto prvně izoloval B.W. Moore z hovězího mozku v roce 1965 a pojmenoval je jako skupinu S100 díky jejich rozpustnosti ve 100% fosforečnanu amonném. S100 proteiny jsou zahrnuty v celé řadě intracelulárních a extracelulárních dějů jako je buněčný růst a diferenciace, buněčný cyklus, transkripce, zánětlivá odpověď, atd. Existují popsané choroby, které jsou spojeny se změnou exprese hladiny proteinu S100 – nervové choroby (poranění mozku, asfyxie u novorozenců, chronické neurodegenerativní choroby, mozkový iktus), neoplastické procesy (makarcinom plic, karcinom žaludku, lymfom, renální tumory, karcinom štítné žlázy, karcinom prsu), kardiovaskulární choroby, zánětlivé procesy.

S100 proteiny se nachází ve tkáních neuroektodermálního původu, ale mohou být exprimovány v buňkách jako jsou chondrocyty, adipocyty nebo melanocyty. S100 protein byl zkoumán jako potenciální nádorový marker a v současné době se jedná o nejlépe probádaný melanomový biomarker, který poskytuje cenné informace v mnoha aspektech klinického managementu maligního melanoma.

## Thymidinkináza (TK)

Thymidinkináza je enzym pyridinového cyklu, který katalyzuje fosforylaci thymidinu na thymidinmonofosfát za přítomnosti adenosintrifosfátu (ATP). V buňkách savců je přítomna ve dvou formách – TK1 a TK2. Hladina TK1 vzrůstá na rozmezí G1/S fáze a dramaticky stoupá v pozdní S-fázi a časně G2-fázi v průběhu buněčného cyklu, je nepřítomna u buněk v G0 stadiu. Hladina TK1 enzymu je tedy značně závislá na fázi buněčného cyklu. Proto je TK1 užitečným biomarkerem buněčné proliferace a tudíž i maligního bujení. U zdravých jedinců je hladina TK v séru nebo plazmě velice nízká. Nádorové buňky ale uvolňují tento enzym do cirkulace a sérové hladiny TK potom slouží jako ukazatel maligní proliferace. Vyšší hladiny TK korelují s pokročilejším stadiem nádoru a pomáhají předpovědět budoucí recidivu nádoru již v době primární diagnózy. Nejvýraznější nárůst je u hematologických malignit, ale i solidní nádory jako je karcinom prostaty, kolorektální karcinom a karcinom prsu vykazují zvýšené hladiny.

### **Tkáňový polypeptidový specifický antigen (TPS)**

Všechny eukaryotické buňky obsahují cytoplasmatické cytoskeletální struktury označované jako intermediální filamenta. Mezi těmito jsou nejdůležitější cytokeratinové proteiny, které se nachází v epiteliálních buňkách.

Tkáňový polypeptidový specifický antigen je cirkulující komplex polypeptidových fragmentů cytokeratinů 8,18 a 19. Tyto cytokeratiny jsou charakteristické pro vnitřní epitel a jsou značně rozšířené v normálních tkáních a v nádorech z nich vznikajících. Sérové hladiny TPS korelují s rychlostí buněčného růstu a pokročilostí nádoru, jsou elevovány u metastatické a diseminované choroby. TPS je cenný prognostický marker a také se využívá k monitoraci terapie u různých nádorů, hlavně u karcinomu močového měchýře, karcinomu prsu a karcinomu plic.

### **Vazebné proteiny pro insulinu podobný růstový faktor (IGFBP 1,2,3)**

Aktivita IGF1 a IGF2 je regulována šesti IGF vazebnými proteiny, které tvoří IGF/IGFBP komplexy. IGF je z IGFBP uvolňován proteolytickým štěpením či disociací. IGFBP3 je nejvíce se vyskytující člen této skupiny, bylo zjištěno, že inhibuje buněčnou proliferaci u karcinomu prsu, plic a prostaty. IGFBP3 reguluje signalizaci IGF1 jako jeho kompetitivní inhibitor a zároveň má inhibující vliv na buněčný růst nezávisle na IGF. Overexprese IGFBP je spojena spíše se zvýšenou IGF aktivitou a je spojena s negativní prognózou nádorového bujení. Několik studií se zabývalo sérovým měřením hladin IGFBP3 jako potencionálního markeru progresu onemocnění.

### **Vaskulární endotheliální růstový faktor (VEGF)**

VEGF je cytokin, který zprostředkovává celou řadu funkcí endotheliálních buněk jako je proliferace, migrace, invaze, přežití a permeabilita. VEGF-A, -B, -C, -D, and -E jsou členy velké rodiny VEGF proteinů. Váží receptory tyrosin kinázy exprimované na povrchu endotheliálních buněk a receptorem pro vaskulární endotheliální růstový faktor (VEGFR 1,2 a 3). Nejvíce studovaným je VEGF-A. VEGF se přirozeně vyskytuje jako glykoprotein a je kritickým faktorem pro vaskulogenezi a angiogenezi. Angiogeneze významnou měrou ovlivňuje celou řadu onemocnění včetně nádorového bujení, kardiovaskulárních chorob, hojení ran a zánětu. Bylo prokázáno, že zvýšené hladiny VEGF korelují se stadiem nádoru, jeho progresí a celkovým přežitím nemocných.



## **Epidermální růstový faktor (EGF)**

Epidermální růstový faktor je růstový faktor, který stimuluje růst, proliferaci a diferenciaci. EGF se váže na receptor pro epidermální růstový faktor na buněčném povrchu. Podle několika studií je EGF vnímán jako faktor indikující nádorovou progresi či jako prognostický faktor u několika nádorů. Inhibice EGF receptoru snižuje riziko nádorového bujení. Mutace EGFR byla objevena u různých typů nádorů a představuje cíl působení skupiny protinádorové terapie. Léky tohoto typu jsou využívány v léčbě kolorektálního karcinomu či karcinomu plic.

## **Interleukiny (IL 2, 6 , 8 and 10)**

Interleukiny jsou skupinou cytokinů produkovanou leukocyty. Cytokiny mohou mít prozánětlivou či protizánětlivou aktivitu a aktivitu imunosupresivní. Interleukiny 2,6 a 10 zprostředkovávají prozánětlivou buněčnou imunitu. IL6 a 10 jsou cytokiny s přídavným protizánětlivým efektem. Porušení rovnováhy mezi mechanismy prozánětlivými a protizánětlivými vede k chronickému zánětu, který hraje významnou roli při vzniku a progresi nádorového bujení. Zvýšené hladiny cirkulujících cytokinů (nejčastěji studován IL6) byly zjištěny u maligních chorob. U různých druhů nádorů mají cytokiny prognostický význam. Zvýšené hladiny cytokinů mohou sloužit jako užitečné biomarkery pro časnou diagnózu a pro prognózu onemocnění, stejně tak jako pro monitoraci účinnosti terapie.

## **Osteoprotegerin (OPG)**

Osteoprotegerin je základní glykoprotein, který je u lidí kódován TNFRSF11B genem. Jedná se o cytokinový receptor a člen rodiny receptorů pro tumor nekrotizující factor. Osteoprotegerin / osteoprotegerin ligandová dráha je základním regulátorem kostního metabolismu na základě jeho účinku na vývoj a aktivaci osteoklastů. Reguluje přeměnu kosti na základě navázání a neutralizace ligandu pro receptor aktivátor pro NFκB (RANKL). OPG je klíčovým faktorem imunitního systému od účasti na regulaci vývoje lymfatických uzlin až po aktivaci T-lymfocytů a zprostředkování přežití dendritických buněk jako důležitá kostimulační molekula. OPG hraje roli i v cévním systému. Řada studií prokázala jeho účast u vaskulárních komplikací jako je např. tvorba aterosklerotického plátu, ischemický iktus nebo plicní arteriální hypertenze. OPG zvyšuje přežívání endotheliálních buněk, jejich proliferaci a migraci, stejně tak i formaci endotheliálních buněk při angiogenezi. Existuje řada dalších důkazů, že OPG podporuje buněčné přežívání na základě inhibice TNF-

related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). Byla provedena celá řada in vitro, in vivo a klinických studií, které poukazují na význam OPG při tumorigenezi. OPG funguje jako návnadový receptor vážící TRAIL a neutralizující jeho funkci. TRAIL je hlavní mediátor zevní apoptické dráhy, která se vyznačuje protinádorovou. OPG naopak brání apoptóze, slouží jako pozitivní regulátor vzniku cévního řečiště nádoru. OPG má zásadní roli v nádorové angiogenezi, což je klíčový proces při vzniku nádoru a jeho metastazování. Uvažuje se, že produkce OPG je součástí nádorové strategie pro přežívání nádorových buněk. U různých nádorů jako je karcinom prostaty, prsu či žaludku bylo prokázáno, že produkují OPG. Overexprese OPG u invazivního tumoru hraje klíčovou roli v inicializaci progresu tumoru a jeho metastazování.

### **Osteopontin (OPN)**

Osteopontin je fosfoglykoprotein extracelulární, který syntetizován celou řadou buněk jako jsou fibroblasty, preosteoblasty, osteoblasty, osteocyty, odontoblasty, některé buňky kostní dřeně, chondrocyty, dendritické buňky, makrofágy, myoblasty, endotheliální buňky, apod. Syntéza osteopontinu je stimulována kalcitriolem (1,25-dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub>). OPN je důležitým faktorem v remodelaci kosti tím, že vychytává osteoklasty do minerální matrix kosti. OPN je také imunitním modulátorem. OPN byl také popsán v souvislosti s celou řadou fyziologických procesů jako je chemotaxe, buněčná migrace, buněčná adheze, angiogeneze, apoptóza, interakce buněk a extracelulární matrix nebo metastazování. OPN aktivně podporuje tumorigenní fenotyp a přispívá k metastazování. Zvýšená exprese osteopontinu je spojena s agresivním chováním a metastazováním u karcinomu prsu, kolorekta, prostaty, plic, jater a ovarií. Zvýšené hladiny byly pozorovány u pacientů a pokročilou a metastatickou chorobou. Vysoké hladiny OPN u řady nádorů jsou indikátory špatné prognózy. Podle řady studií jsou intervaly celkového přežití a bezpříznakového období nepřímo spojeny s hladinou OPN.