

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Nádorové markery

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc.

Odborný konzultant: Prof. RNDr. Miloš Tichý, CSc.

Hradec Králové, 2007

Simona Karmazínová

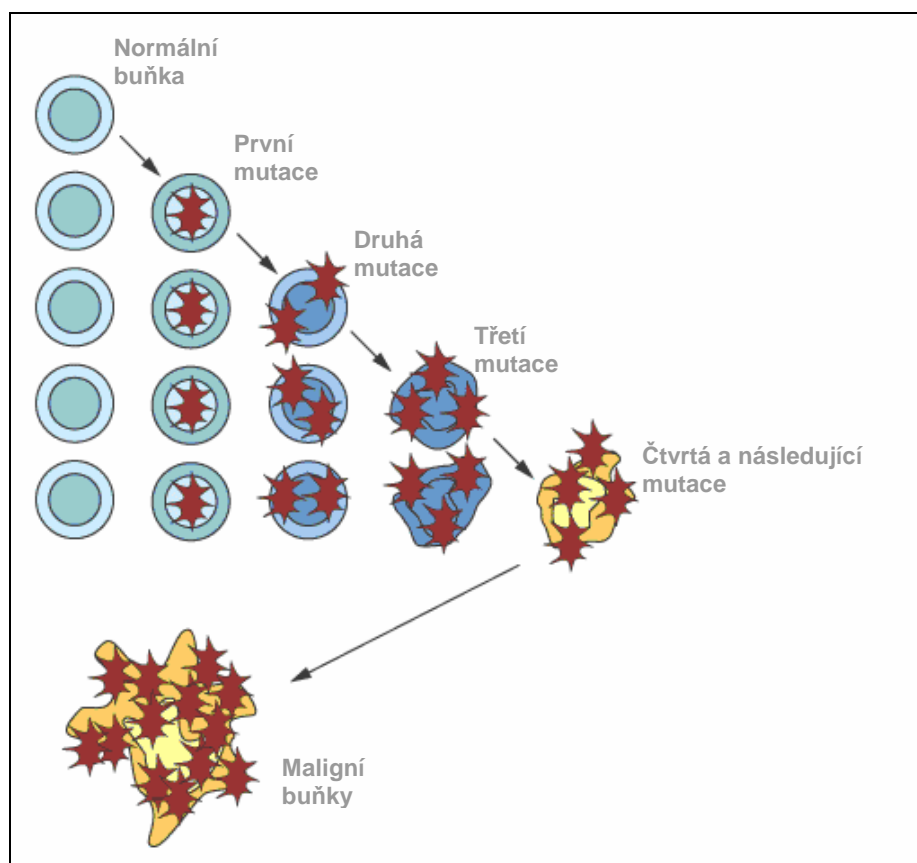
OBSAH

OBSAH.....	3
1. ÚVOD.....	4
2. NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ DNES.....	6
2.1 Šest nejčastějších nádorových onemocnění.....	8
2.1.1 Karcinom plic.....	8
2.1.2 Karcinom prsu.....	10
2.1.3 Karcinom žaludku.....	11
2.1.4 Kolorektální karcinom.....	14
2.1.5 Karcinom jater.....	16
2.1.6 Karcinom čípku děložního.....	16
3. NÁDOROVÉ MARKERY.....	19
3.1 Onkofetální antigeny.....	21
3.1.1 Alfa-fetoprotein (AFP).....	21
3.1.2 Karcinoembryonální antigen (CEA).....	25
3.1.3 Lidský choriogonadotropin (hCG).....	28
3.2 Tkáňově či orgánově specifické antigeny.....	30
3.2.1 Prostatický specifický antigen (PSA).....	30
3.2.2 Neuron specifická enoláza (NSE).....	31
3.2.3 CA 125.....	32
3.2.4 CA 15-3.....	34
3.2.5 CA 19-9.....	36
3.2.6 CA 72-4.....	37
3.3 Nespecifické antigeny a tumorové markery.....	38
3.3.1 Ferritin.....	38
3.3.2 Beta ₂ -mikroglobulin (β ₂ -M).....	40
4. METODY STANOVENÍ NÁDOROVÝCH MARKERŮ.....	41
5. ZÁVĚR.....	42
6. SEZNAM ZKRATEK.....	43
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	45

1. ÚVOD

Když byly v první polovině 20. století v Evropě a Severní Americe zvládnuty nejzávažnější infekční nemoci, objevila se další skupina onemocnění se zdánlivě epidemickým výskytem právě v těchto částech světa. Byla to nádorová onemocnění. V současné době jsou nádorová onemocnění na druhém místě mezi příčinami smrti v průmyslově vyspělých zemích. Na časté snahy řadit je k tzv. civilizačním nemocem lze hledět kriticky. Již delší dobu však existuje hypotéza, že zhoubné nádory jsou především nemocí průmyslových zemí, a že u primitivních národů se vyskytovaly vzácně [7].

Tělo produkuje celou řadu různých typů buněk. Normální zdravé buňky se dělí a rostou podle potřeb organismu. Někdy se však buňky začínají dělit za vzniku buněk nových i bez potřeby organismu (obr. č. 1). Vzniká tak masa nové tkáně, kterou nazýváme nádorem [16].



Obr. č. 1: Klasické schéma obecně uznávaného vzniku nádoru: Zdravá buňka – vznik první mutace – druhé mutace – třetí a další mutace až dojde ke vzniku zhoubných nádorových buněk (převzato z [18]).

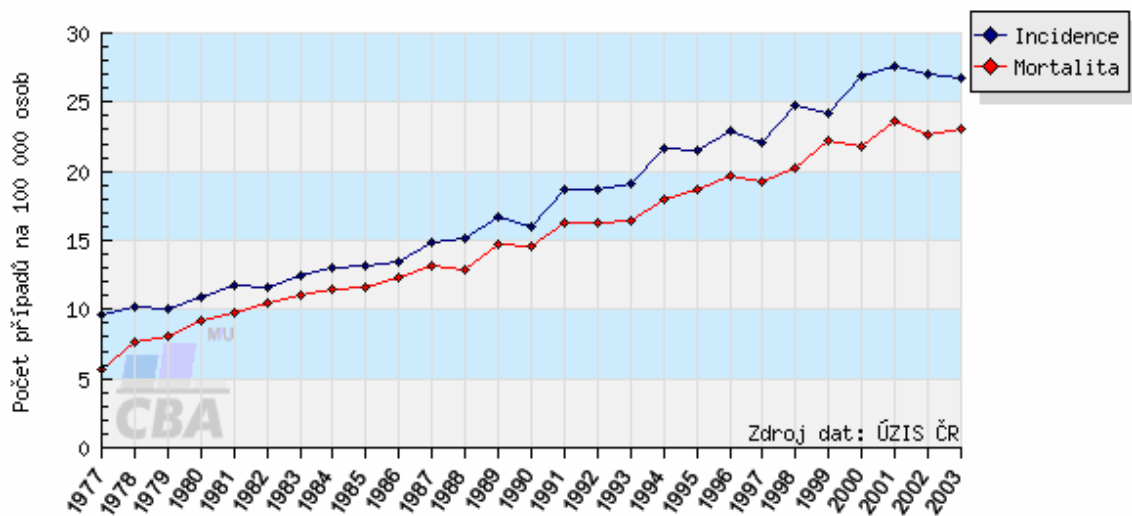
Výskyt jednotlivých typů nádorů je v různých částech světa a u různých etnik odlišný. To mohlo v počátcích výzkumu zavdat příčinu k předpokladu infekčního původu řady nádorů, zejména však jejich genetické determinace (tzv. nádorové rodiny - cancer families). Dnes víme, že hlavní příčinou většiny nádorů bývá kombinace nepříznivých vnitřních faktorů, tj. faktorů geneticky podmíněných a vnějších faktorů, v nichž podstatnou složku kromě expozice člověka karcinogenním látkám (zejména v pracovním prostředí) představuje životní styl. V této souvislosti je třeba připomenout, že jedním z nejdůležitějších rizikových faktorů je věk. S prodlužováním věku roste incidence některých nádorů, dochází ke kumulaci spontánních mutací, ke genetické nestabilitě, čímž se dále zvyšuje riziko výskytu jak spontánních, tak indukovaných mutací [7].

Široce vžitý a stále hojně užívaný pojem rakovina považují onkologové za nešťastný z několika důvodů. Odjakživa ho totiž obklopuje představa nevléčitelnosti a neodvratné smrti, které předcházejí kruté bolesti a všelijaká jiná utrpení. Ač tomu tak už delší dobu není, obestírá nádorová onemocnění mýtus, jehož vyvrácení je jedním z hlavních, přitom však velmi obtížně řešitelných úkolů onkologů na celém světě. Pojem v sobě navíc zahrnuje několik set onemocnění s rozdílnými vlastnostmi a dopadem na osudy nemocných [16].

2. NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ DNES

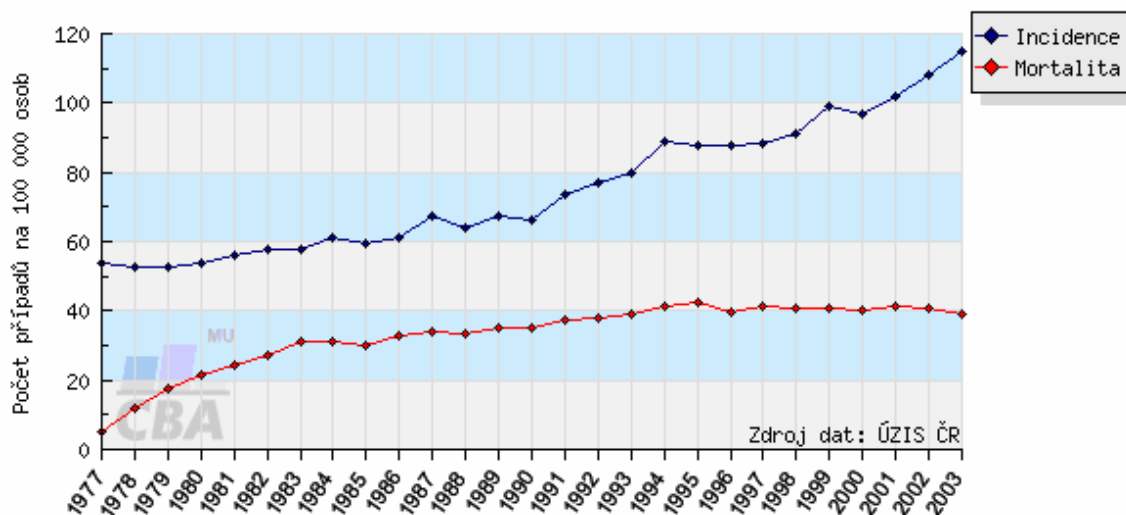
Ze statistik Světové zdravotnické organizace (WHO) vyplývá, že v roce 2000 zemřelo následkem nádorových onemocnění přes 6,2 miliónu osob na celém světě. Ve stejném roce bylo prokázáno přes 10 miliónů nových případů onkologického onemocnění. Na zemi tedy žije celkem 22,4 miliónu osob s různým typem nádorového onemocnění. Odhaduje se, že pokud nedojde k zásadním opatřením v oblasti prevence a léčby, bude kolem roku 2020 umírat deset miliónů lidí ročně na onkologická onemocnění [4]. Dle WHO bude ve vyspělých zemích každý 3. občan postižen onkologickým problémem [5].

Vyléčit se daří v České republice asi jen 47% (jinde ve světě až 63%) těchto pacientů. Jsme tedy až na 34. místě. Přes vzrůstající incidenci nádorových onemocnění však v rozvinutých zemích mortalita na nádorová onemocnění nestoupá. Výjimku tvoří karcinom plic žen (obr. č. 2).



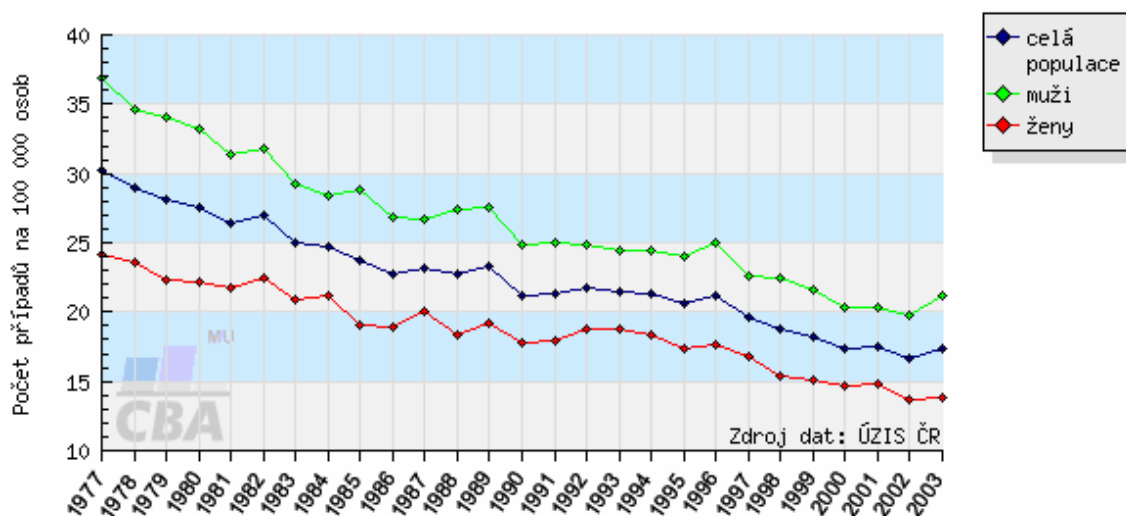
Obr. č. 2: Graf výskytu karcinomu průdušnice, průdušek a plic u žen v závislosti na čase (převzato z [6])

V ČR se zlepšilo přežívání u karcinomu prsu díky mamografickému vyšetřování (obr. č. 3). Bylo by třeba zavést screening kolorektálního karcinomu u lidí nad 50 let. V přepočtu na 1 obyvatele na onkologickou terapii připadá v EU asi 3x více financí než v ČR (zde v průměru 1950 Kč ročně). Onkologická terapie takto čerpá 6,5% financí, které jdou do zdravotnictví [5].



Obr. č. 3: Graf výskytu karcinomu prsu u žen v závislosti na čase (převzato z [6])

Maligní nádory zaujímají mezi ostatními nemocemi mimořádné postavení nejenom pro svůj stále rostoucí výskyt (incidenci), ale i pro náročnou zdravotní péči. V první polovině 90. let 20. století vzrostla v České republice statisticky významně incidence nádorů ledvin, kolorekta, melanomu, žlučníku, žlučových cest, štítné žlázy a močového měchýře; pouze u mužů navíc incidence karcinomu prostaty, jater, varlete a mnohočetného myelomu, jen u žen také hrtanu, průdušnice a plic, prsu, vaječníku a Hodgkinsoných lymfomů. U obou pohlaví signifikantně poklesla incidence nádoru žaludku (obr. č. 4) [1].



Obr. č. 4: Graf výskytu karcinomu žaludku u mužů a žen v závislosti na čase (převzato z [6]).

Znalosti o prevenci a léčbě onkologických onemocnění se v posledních letech podstatně prohloubily. S růstem počtu obyvatel této planety a prodlužující se délkou života se však zvyšuje i počet nádorových onemocnění, která jsou každoročně prokázána. Jsou tudíž na předním místě příčin úmrtí ve vyspělých i rozvojových zemích, což celosvětově představuje 12,6% úmrtí [4].

WHO uvádí, že mezi nejčastější celosvětově se vyskytující nádorová onemocnění patří nádory plic, prsu a tlustého střeva. Nejčastější nádorová onemocnění končící smrtí jsou pak nádory plic, žaludku a jater. Nejčastějšími nádory u mužů v rozvinutých zemích jsou nádory plic, prostaty a tlustého střeva, zatímco v rozvojových zemích následují po nádorech plic nádory žaludku a jater. U žen jsou ve vyspělých zemích nejčastějšími nádory prsu, tlustého střeva a plic, zatímco v rozvojových zemích jsou to nádory prsu, gynekologické nádory a nádory žaludku [4].

Za zvyšující se počet nádorových onemocnění si částečně můžeme sami. Kolem 43% úmrtí na nádorová onemocnění je podmíněno kouřením, nesprávnými stravovacími návyky a infekcemi [4].

2.1 Šest nejčastějších nádorových onemocnění

Šest nejčastějších nádorových onemocnění představuje téměř polovinu všech nově diagnostikovaných nádorů ve světě za rok.

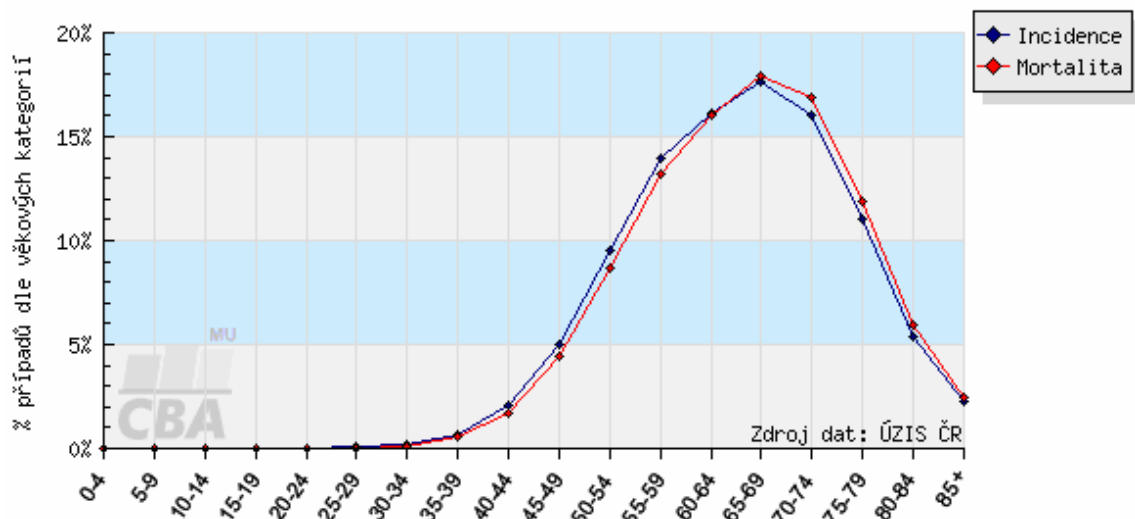
2.1.1 Karcinom plic

Celosvětově nejčastějším nádorem je karcinom plic, v minulosti typický nádor vyššího věku. Bohužel díky kouření se jeho výskyt posunuje do nižších věkových skupin. V roce 2000 se na výskytu nových nádorových onemocnění ve světě podílel 12,5% [8].

Je to nádor, který se nejčastěji vyskytuje v mužské populaci. Za posledních 50 let vzrostla jeho incidence ve vyspělých státech téměř 15x. V České republice pozorujeme u mužů výrazně vzestupný trend, na rozdíl od některých

jiných států, jako např. USA, kde se (patrně v souvislosti s omezováním spotřeby cigaret) růst jeho incidence zpomalil [7].

Vyskytuje se především ve věku mezi 50 – 80 lety (obr. č. 5) a jde o jednu z nejčastějších smrtících malignit osob západní civilizace. Dělí se na dvě hlavní kategorie – malobuněčný a non-malobuněčný. Později s rozvojem choroby nacházíme karcinom (Ca) ze squamozních buněk, adenokarcinom a Ca z nediferencovaných velkých buněk. Prognóza závisí na stupni choroby, věku, pohlaví. Kuřáci mají asi 8,8x častěji Ca plic než nekuřáci (u bývalých kuřáků klesá tento násobek asi na 5,5x) [9].



Obr. č. 5: Graf výskytu karcinomu průdušnice, průdušek a plic v závislosti na věkové struktuře populace (převzato z [6])

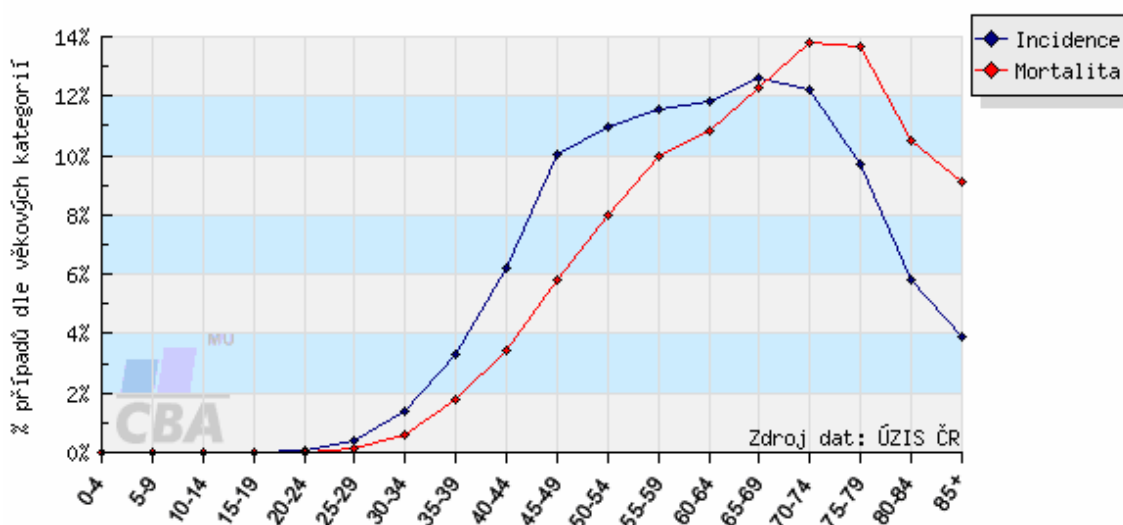
Až 90% všech nádorů plic nějak souvisí s tabákem, tedy nejenom s kouřením, ale i s tzv. pasivním kouřením, šňupáním nebo žvýkáním tabáku. V zemích s klesající spotřebou cigaret, se s určitým časovým posunem snížil i výskyt karcinomu plic [8].

Ačkoliv karcinom plic je absolutně nejčastějším nádorem na světě, neznáme způsob, jak spolehlivě odhalit časná a léčitelná stadia tohoto nádoru. S objevem zdravotních obtíží bývá nádor již rozsáhlý a léčba, především operativní, bývá nemožná nebo její efekt je relativně méně úspěšný. Časná stadia nádorů plic bývají spíše náhodným nálezem při RTG vyšetření plic [8].

V souvislosti s kouřením se hovoří i o dalších nádorech, především o rakovině pankreatu, nádoru dutiny ústní, jícnu, hltanu a hrtanu (u nichž se jako další rizikový faktor připojuje nadměrné požívání koncentrovaných alkoholických nápojů), karcinomu močového měchýře, ledvin a močovodů, prostaty a žlučníku [7].

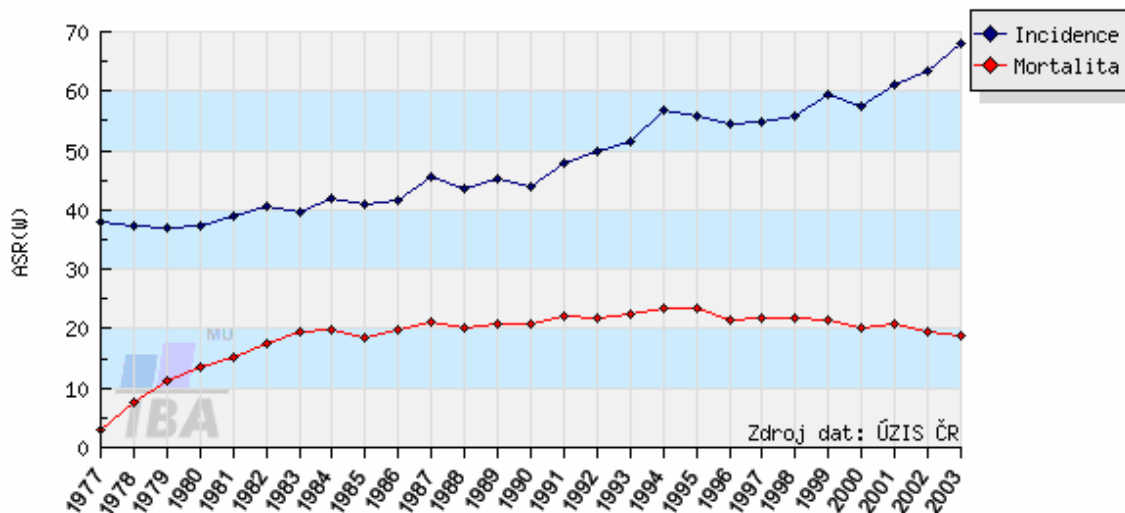
2.1.2 Karcinom prsu

Dalším v pořadí je karcinom prsu (10,1%) a když si uvědomíme, že se týká v podstatě jen jedné poloviny lidstva, je jeho výskyt ještě dramatičtější. Bohužel se tento nádor objevuje v relativně nízkém věku. Vzestup výskytu začíná už kolem 35. roku života, nicméně maximální strmosti křivka dosahuje po 40. resp. po 45. roku věku (obr. č. 6) [8].



Obr. č. 6: Graf výskytu karcinomu prsu v závislosti na věkové struktuře populace (převzato z [6])

Jde o karcinom, který vede nejvíce k úmrtí na malignity u žen. Mortalita u žen je asi 12,4/100 000, v různých regionech je jiná, nejvyšší je v severní Evropě – až 40/100 000. Incidence choroby se stále zvyšuje (o 25% za posledních 30 let) (obr. č. 7). Pokud se choroba podaří detekovat záhy, má velmi dobrou prognózu (až 95% osob, které mají pouze malý tumor bez zvětšení lymfatických uzlin přežívá více než deset let) [9].



Obr. č. 7: Graf výskytu karcinomu prsu u žen v závislosti na čase (převzato z [6])

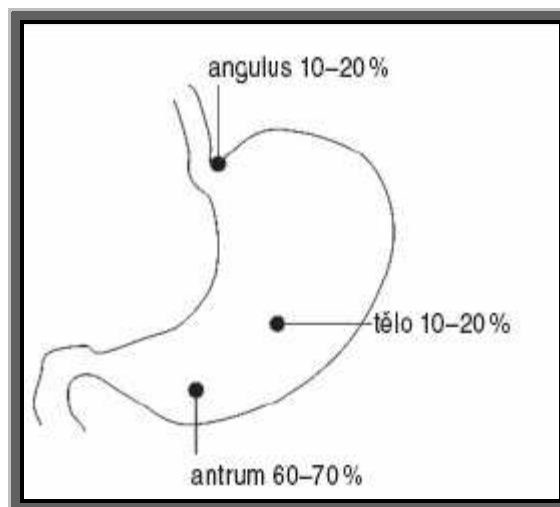
U nás se provádí screeningové vyšetření od 45 let věku ženy. Od tohoto věku má každá žena nárok na mamografické vyšetření prsou každé dva roky až do svých 69 let, kdy riziko již opět klesá. Ve vlastním zájmu by si každá žena měla toto hrazené vyšetření doplnit ještě o ultrazvukové vyšetření prsou. Navíc již od mládí by si ženy měly provádět samovyšetření prsou. O této technice by je měl poučit jejich ženský lékař. Pokud se v rodině vyskytl karcinom prsu opakovaně, žena by měla být pod kontrolou již mnohem dříve, protože některé karcinomy prsu se objevují dědičně, a většinou se v takovém případě objeví již v nižším věku [8].

Neznáme mnoho rizikových faktorů ovlivňujících výskyt karcinomu prsu. Nicméně je známo, že čím delší dobu žena kojí, tím nižší je riziko vzniku karcinomu prsu. Ženy, které mají první dítě až po třicítce, se vystavují poněkud vyššímu riziku vzniku tohoto karcinomu [7,8].

2.1.3 Karcinom žaludku

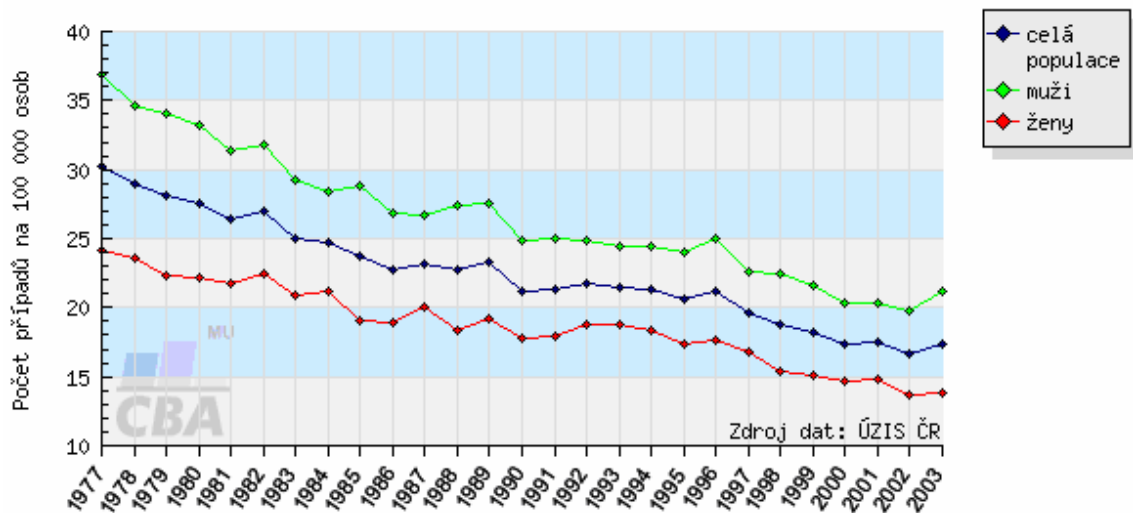
Nádorem, který celosvětově zaujímá místo třetí, je karcinom žaludku s 9,8%, nicméně ve většině rozvinutých zemí jeho výskyt postupně klesá již od počátku 20. století [10]. Stále však zůstává problémem některých zemí světa jako je například Japonsko nebo státy bývalého Sovětského svazu [8].

Jeho výskyt pravděpodobně souvisí se složením stravy, hlavně s její nedostatečnou tepelnou úpravou, resp. s konzumací syrové stravy a s tím spojeným výskytem chronických infekčních onemocnění trávicího traktu, především vlastního žaludku (obr. č. 8) [8]. Nesporný vliv na vznik karcinomu žaludku mají kancerogeny přijímané ve stravě. Vysoká incidence těchto nádorů v Japonsku je přičítána vysokému obsahu nitrosaminů a nitrosamidů v potravě z ryb, konzervované nakládáním do soli a uzením. Zvýšená expozice kancerogenů se týká také některých profesí, horníků, pracovníků v niklových hutích, dělníků v gumárenských závodech a pracujících s asbestem. Nadměrné požívání koncentrovaných forem alkoholu a stejně i kouření se pokládají za další významné faktory žaludeční kancerogeneze. Polypy žaludeční sliznice nejsou pokládány za přímé prekancerózy pokud nemají vilózní struktury. Za rizikové stavy z hlediska vývoje karcinomu nutno pokládat také stavy po předchozích resekcích žaludku, zvláště v oblasti anastomóz [11].



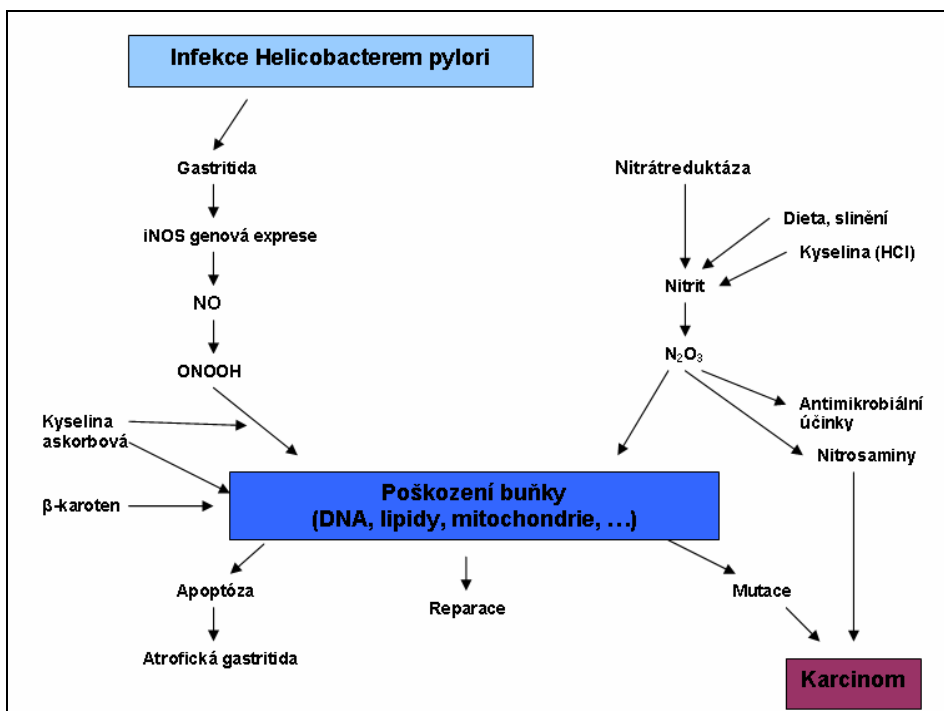
Obr. č. 8: Typická lokalizace karcinomu žaludku (převzato z [10]).

U nás se jeho výskyt pohybuje na relativně nízké úrovni (obr. č. 9), nicméně vzhledem k tomu, že stejně jako u karcinomu plic nemáme žádné signály nebo možnosti screeningových vyšetření, které by upozornily na časná stadia nádoru, je jeho perspektiva dosti nepříznivá, protože když se objeví obtíže, často nádor již prorůstá do svého okolí a ani operační zákrok nebývá úspěšný na dlouho [8].



Obr. č. 9: Graf výskytu karcinomu žaludku u mužů a žen v závislosti na čase (převzato z [6])

Specifická prevence karcinomu žaludku neexistuje. Za onkologicky prospěšnou je pokládána eradikace *Helicobacter pylori* (obr. č. 10), včasná léčba chronické gastritidy a vředové choroby žaludku. Časté požívání koncentrovaného alkoholu, kouření, nadměrně solených či uzených výrobků jsou další rizikové faktory, které mají být zdůrazňovány v onkologické prevenci. Nesporným civilizačním přínosem pro prevenci karcinomu žaludku je zvýšené užívání konzervace zmrazením a celoroční dostupnost čerstvé stravy [11].

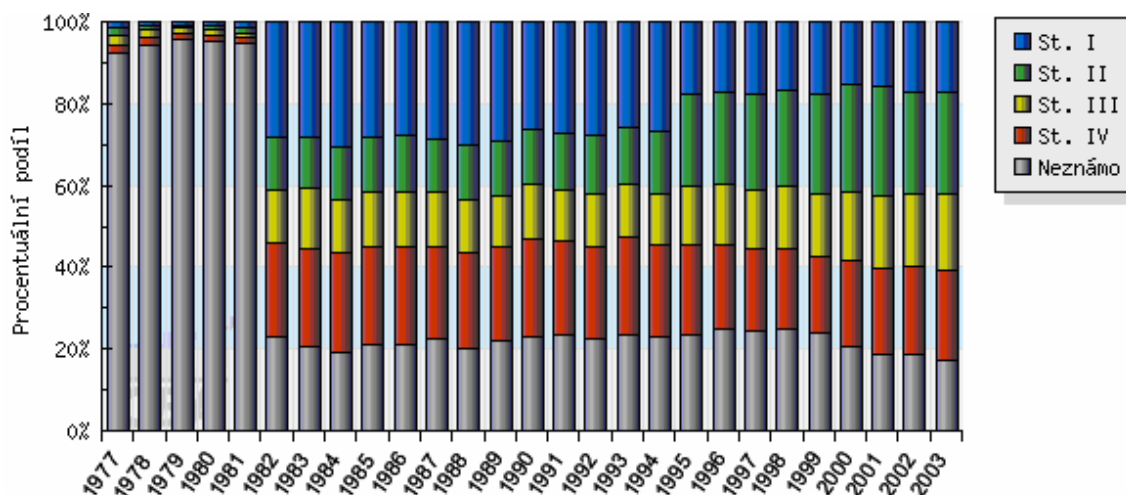


Obr. č. 10: Role *Helicobacter pylori* při vzniku karcinomu žaludku (převzato z [50]).

2.1.4 Kolorektální karcinom

Na čtvrtém místě se z hlediska častosti umístil kolorektální karcinom s 9,5%. V podstatě jsou to dva nádory, v některých přehledech se uvádějí odděleně jako karcinom konečníku a karcinom tlustého střeva. U mužů je u nás výskyt obou těchto nádorů prakticky shodný, u žen mírně převažuje karcinom tlustého střeva. U mužů i u žen jsou u nás tyto nádory na druhém místě co do častosti výskytu. (U mužů dominuje karcinom plic, u žen karcinom prsu.) [8].

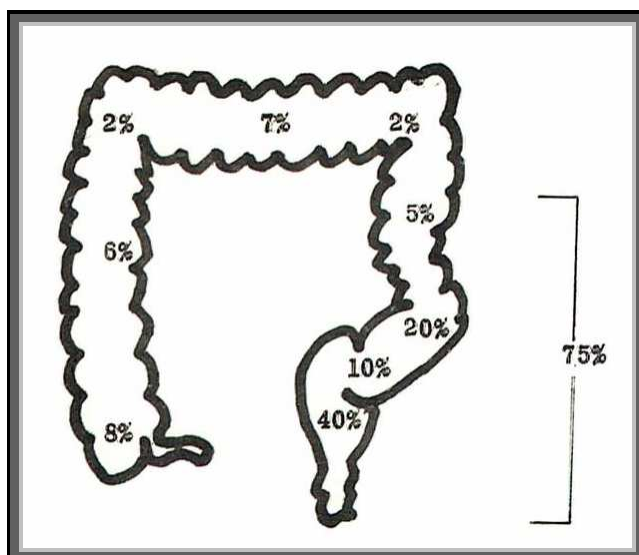
Je to další z nádorů, který je na vzestupu především v rozvinutých státech Evropy a v USA. Naopak v asijských státech je jeho výskyt dosud relativně nízký [7]. Celosvětová mortalita na toto onemocnění se pohybuje mezi 8,6 – 100 000, v některých částech Evropy však stoupá až na 30 a více/100 000. Přežití závisí na stavu onemocnění, ve kterém je choroba detekována (I. fáze 85 – 100%, II. fáze 70%, III. fáze 30 -60%) (obr. č. 11) [9].



Obr. č. 11: Vývoj zastoupení klinických stadií karcinomu tlustého střeva a konečníku (převzato z [6]).

Tyto nádory dolní části trávicího ústrojí mají při včasném záchytu relativně dobré vyhlídky na vyléčení. Proto se také u nás přistoupilo k zavedení screeningové metody, která by měla odhalit již počáteční stadia nádoru. Principem je odhalit tzv. okultní krvácení, stopy krve ve stolici, což může být právě první známkou přítomnosti nádoru. Na toto vyšetření má jednou za dva roky nárok každý občan naší republiky starší 50 let. Odběr si provede každý sám doma, odběrovou soupravu poskytuje praktický lékař i s náležitým poučením. Bohužel zdrojů krvácení je ve střevech hodně, takže toto vyšetření dává často falešně pozitivní výsledky. Je tedy třeba vyšetření opakovat, popřípadě následně ověřit endoskopickým vyšetřením [8].

I u tohoto nádoru známe jen některé rizikové faktory, či spíše faktory, které snižují riziko vzniku nádoru dolní části trávicí trubice (obr. č. 12). Na základě epidemiologických studií byla za rozhodující rizikový faktor u tohoto nádoru označena výživa. Jedná se především o nízký obsah vlákniny a nadměrný podíl tuků ve stravě populace rozvinutých zemí Evropy a Ameriky. V současné době je předmětem zájmu možný podíl pití piva (především vzhledem k obsahu nitrosaminů) v porovnání s pitím vína [7]. Jedním z nejvýznamnějších ochranných faktorů je normální váha a dostatek tělesného pohybu. Naopak riziko vzniku těchto nádorů výrazně stoupá u lidí obézních a u lidí, kteří mají nedostatek tělesného pohybu [8].



Obr. č. 12: Distribuce karcinomů v různých částech tlustého střeva a rekta (převzato z [12]).

2.1.5 Karcinom jater

U nás patří opět ke vzácnějším nádorům na rozdíl od rozvojových zemí, kde především v jihovýchodní Asii patří k jednomu z nejčastějších nádorů [8].

Toto onemocnění má vysokou mortalitu (až 13/100 000 u mužů a 6/100 000 u žen). Karcinom jater bývá často sdružen s jiným jaterním onemocněním (poškození virové, alkoholem, chemické atd.) Je-li však jaterní funkce alespoň částečně zachována, má tato choroba dobrou prognózu (při operačním řešení je 5-leté přežití kolem 30% [9].

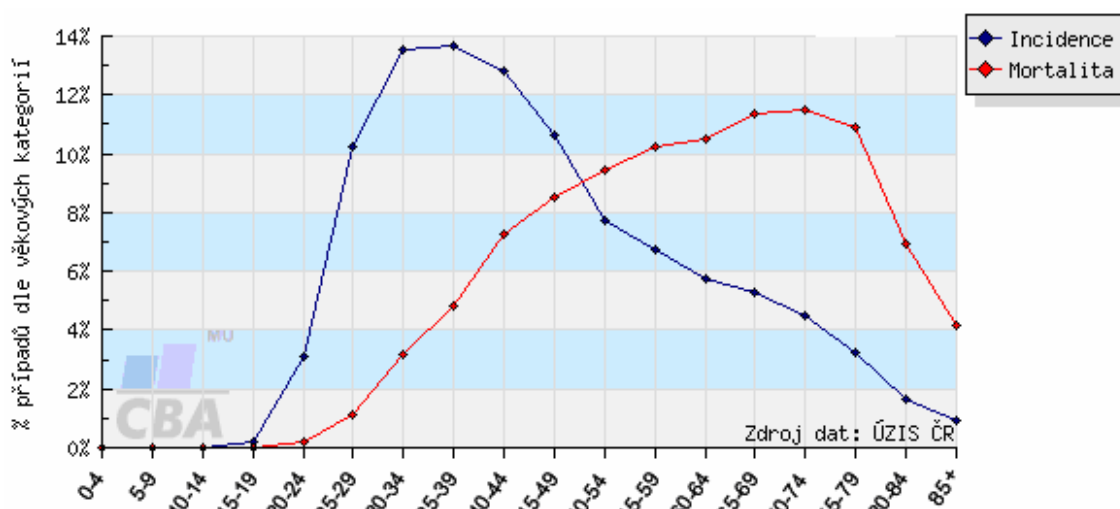
U nás se nevyskytují nejvýznamnější rizikové faktory pro vznik tohoto nádoru, chronická infekční žloutenka B a C, jaterní parazité a konzumace potravin kontaminovaných plísněmi, konkrétně produktem jedné z plísní – aflatoxinem [8].

Na přítomnost počínajícího nádoru může poukazovat zvýšená hladina AFP a ferritinu.

2.1.6 Karcinom čípku děložního

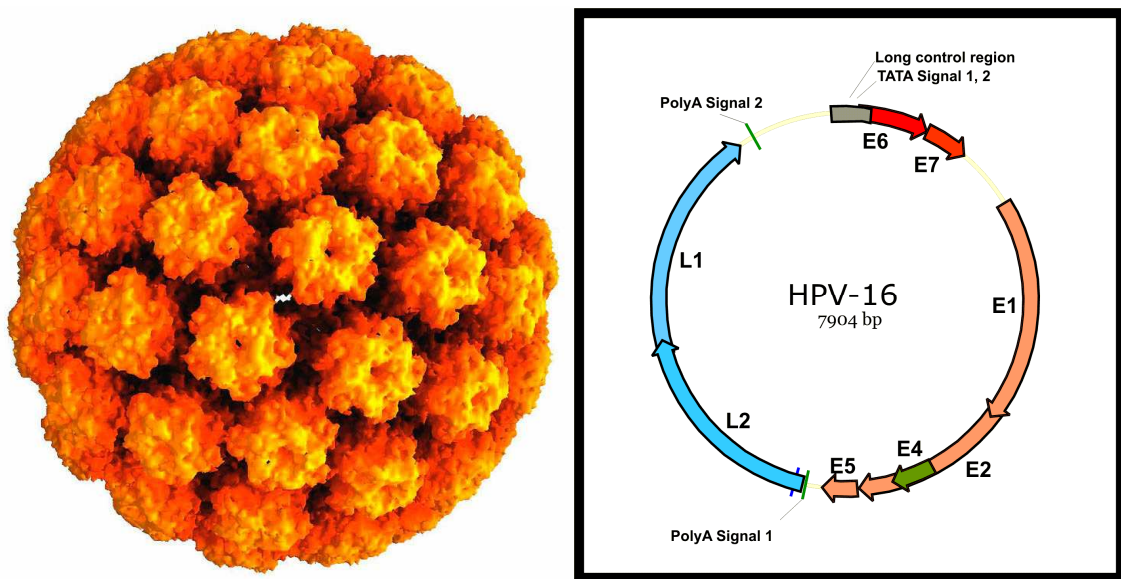
Naopak poslední z této skupiny nádorů se u nás vyskytuje, i když by tomu tak nemuselo být. Karcinom děložního čípku je spojován s chronickými infekcemi ženského pohlavního ústrojí, které souvisí zejména s častým střídáním partnerů, zvláště pokud se objeví u žen, které ještě nerodily. V tomto případě se nejedná o známé pohlavní choroby, ale o choroby, jejichž projevy nejsou většinou nijak nápadné, a proto nepřivedou "nositelku" k lékaři. Často jsou způsobovány viry, což znesnadňuje jejich stanovení i léčbu. Vzhledem k tomuto nejvýznamnějšímu rizikovému faktoru se onemocnění může objevit již po 20. roce věku. Nicméně toto onemocnění má rovněž velmi dobrou prognózu, neboť lze odhalit již stadium před vznikem nádoru, tzv. prekancerózu. Následný zákrok je velmi šetrný a nijak radikální, takže ženu nijak neomezuje v jejím dalším životě [8].

Incidencí okolo 20 žen na 100 000 obyvatel (19,8 v r. 2000) je rakovina děložního čípku druhým nejčastějším gynekologickým nádorovým onemocněním. Incidence je zhruba o 50% vyšší než v evropských zemích (nejnižší např. Finsko 5,7, Izrael 6,4). Mortalita je okolo 7/ 100 000 žen, což představuje úmrtí přibližně 360 žen ročně. Průměrný věk postižených žen je 49 let s maximem prvního vrcholu okolo 35 až 45 let a druhého vrcholu kolem 65 – 75 let (obr. č. 13). Vyšší incidence je u sociálně a ekonomicky slabší skupiny žen [12].



Obr. č. 13: Věková struktura populace pacientek s nádorem hrdla děložního za období 1977 – 2003 (převzato z [6]).

Za rizikový faktor je považována infekce papillomavirem (HPV - human papillomavirus, zejména typy 16, 18, 45 a 56) (obr. č. 14), které působí jako promotor nebo kokarcinogen a spolu s dalšími faktory (kouření, nedostatek A vitamínu, imunodeficience) indukuje maligní transformaci buněk epitelu čípku. Pětileté přežití je u této diagnózy udáváno kolem 65% nemocných, pro klinické stadium I = 90% [13].



Obr. č. 14: Lidský papillomavirus a jeho genom – červené geny E6 a E7 dokáží nastartovat nádorové bujení v hostiteli (převzato z [14]).

3. NÁDOROVÉ MARKERY

Nádorové markery jsou v současné době středem pozornosti při diagnostice, léčbě a dlouhodobém sledování nemocných s maligním onemocněním [15]. Jsou to molekuly převážně proteinového charakteru, které jsou přítomny v organismu v důsledku vzniku a vývoje maligního procesu [1]. Často vznikají v souvislosti se změněným metabolismem nádorově transformované buňky, a proto jejich hladiny v přítomnosti malignity výrazně stoupají (tab. č. 1). Lze je prokázat jednak histochemicky přímo v nádorové tkáni (celulární nádorové markery) a jednak v tělních tekutinách (humorální nádorové markery) [15]. Mohou být tedy produkovány přímo nádorovými buňkami (s nádorem asociované antigeny) nebo jinými tkáněmi jako jejich odpověď na maligní proces v organismu (indukované nádorové markery, např. proteiny akutní fáze) [1,2].

Vlastnosti tumorových markerů umožňují jejich využití v diagnostice a vyhledávání maligních onemocnění a zejména pak při stanovení prognózy a při monitorování pacientů v průběhu léčby [3]. Vzhledem k širokému spektru nádorových onemocnění však dosud neexistuje univerzální nádorový marker a ani senzitivita (správný záchyt nemocných) při dostatečné specifitě (správná negativita u lidí bez nádorového onemocnění) nedosahuje ideálních 100%. Proto tedy nezvýšená koncentrace nádorového markeru není ještě důkazem nepřítomnosti maligního onemocnění a naopak pozitivní výsledek nemusí nutně znamenat zhoubný nádor. Snahou je nalézt takové markery, které by byly orgánově specifické, detekovatelné v co nejčasnějším stadiu maligní transformace a které by korelovaly s růstem nádoru, stadiem, prognózou a účinností terapie. Diagnostický práh nádorových markerů umožňuje v příznivých případech odhalit nádor o velikosti asi 10^6 maligních buněk, zatímco klinická diagnóza bývá určena většinou až u nádoru, který obsahuje asi 10^9 buněk [1].

Tab. č. 1: Vlastnosti a použití tumorových markerů (převzato z [17]).

	<i>Biochemické vlastnosti</i>	<i>Mol. hmotnost (kDa)</i>	<i>Primární klinická aplikace</i>
<i>Alfa-fetoprotein (AFP)</i>	<i>Glykoprotein se 4% sacharidů, homologie s albuminem</i>	<i>~ 70</i>	<i>Hepatoocelulární karcinom a nádory zárodečných buněk (diagnóza a monitorování), prognóza nádorů ze zárodečných buněk</i>
<i>CA 125</i>	<i>Mucin identifikovaný monoklonálními protilátkami</i>	<i>~ 200</i>	<i>Ovariální ca (monitorování, prognóza po chemoterapii)</i>
<i>CA 15-3 (BR.27.29)</i>	<i>Mucin identifikovaný monoklonálními protilátkami</i>	<i>> 250</i>	<i>Karcinom prsu (monitorování)</i>
<i>CA 72-4</i>	<i>Glykoprotein identifikovaný monoklonálními protilátkami</i>	<i>~ 48</i>	<i>Karcinom žaludku (monitorování)</i>
<i>CA 19-9</i>	<i>Glykolipid nesoucí Lewisa determinantu</i>	<i>~ 1 000</i>	<i>Karcinom slinivky (monitorování)</i>
<i>Karcinoembryonální antigen (CEA)</i>	<i>Glykoproteinová rodina, 45-60% sacharidů</i>	<i>~ 180</i>	<i>GIT a další karcinomy (monitorování)</i>
<i>CYFRA 21-1</i>	<i>Fragmenty cytokeratinu 19</i>	<i>~ 30</i>	<i>Ca plic a močového měchýře (monitorování)</i>
<i>Estrogenový receptor</i>	<i>Nukleární transkripční faktor</i>	<i>65</i>	<i>Ca prsu (predikce odpovědi na endokrinní terapii)</i>
<i>Lidský choriový gonadotropin (hCG)</i>	<i>Glykoproteinový hormon, α a β-podjednotka</i>	<i>~ 36</i>	<i>Neseminomy, chorio-ca, hydatidiformní mola (diagnóza, monitorování), nádory zárodečných buněk (prognóza)</i>
<i>Neuron-specifická enoláza (NSE)</i>	<i>Dimer enzymu enolázy</i>	<i>~ 87</i>	<i>Malobuněčný ca plic, neuroblastom, apudom (monitorování)</i>
<i>Placentární alkalická fosfatáza (PLAP)</i>	<i>Termostabilní izoenzym alkalické fosfatázy</i>	<i>~ 86</i>	<i>Seminomy (monitorování) *</i>
<i>Progesteronový receptor</i>	<i>Nukleární transkripční faktor</i>	<i>A forma: ~ 94 B forma: ~ 120</i>	<i>Ca prsu (predikce odpovědi na endokrinní terapii)</i>
<i>Prostatický specifický antigen (PSA)</i>	<i>Glykoprotein, serinová proteináza</i>	<i>~ 36</i>	<i>Ca prostaty (diagnóza, screening, monitorování)</i>
<i>Antigen skvamózních buněk (SCC)</i>	<i>Glykoproteinová subfrakce antigenu T4</i>	<i>~ 48</i>	<i>Karcinomyskvamózních buněk (monitorování)</i>
<i>Tkáňový polypeptidový antigen (TPA)</i>	<i>Fragment cytokeratinu 8,18,19</i>	<i>~ 22</i>	<i>Ca plic a močového měchýře (monitorování)</i>
<i>Tkáňový polypeptidový specifický antigen (TPS)</i>	<i>Fragment cytokeratinu 18</i>	<i>~ 22</i>	<i>Metastatický ca prsu (monitorování)</i>

Novodobá historie nádorových markerů má počátky již v roce 1845 objevením Bence – Jonesovy bílkoviny. Dalším důležitým mezníkem bylo objevení molekuly lidského choriogonadotropinu (hCG) a její souvislosti s choriokarcinomem v roce 1928. Stanovení hCG se od té doby užívá jak pro diagnostiku, tak i pro kontrolu léčby tohoto nádoru. V pozdější době bylo zjištěno, že hladina hCG se mění i u dalších trofoblastických nádorů a lze ji využít pro jejich dlouhodobé sledování. Každé desetiletí a v posledních letech každý rok přibývá několik nových „slibných“ nádorových markerů tak, jako přibývají i naše znalosti o mechanismech nádorového bujení [15].

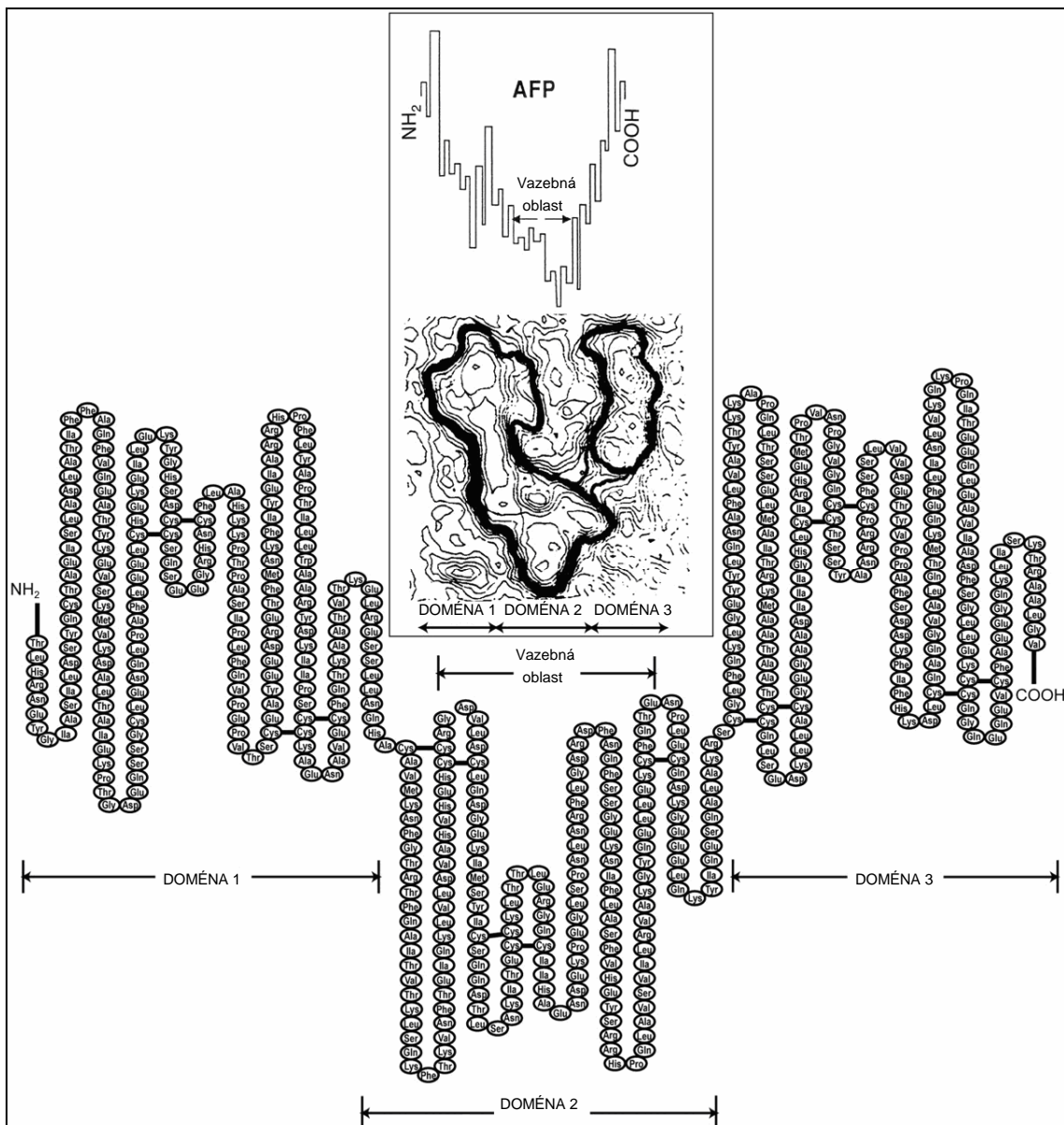
Nádorové markery můžeme rozdělit do tří skupin, mezi kterými však neexistuje vždy ostré rozhraní. Jsou to onkofetální antigeny, tkáňově či orgánově specifické antigeny a nespecifické antigeny a tumor markery [3].

3.1 Onkofetální antigeny

Jsou to látky, které mají důležité funkce během vývoje plodu. Produkce těchto látek se ve zdravých tkáních po narození snižuje až zastavuje, přesto však lze nízké koncentrace i u zdravých osob zachytit [1,3]. Při maligním procesu dochází prostřednictvím aktivace určitých genů k obnovení jejich produkce [3].

3.1.1 Alfa-fetoprotein (AFP)

AFP je glykoprotein o molekulové hmotnosti přibližně 67–72 kDa. Na jednoduchý polypeptidový řetězec (590 aminokyselin) propojený disulfidickými můstky jsou navázány sacharidy, jejichž obsah je 3–5% (obr. č. 15). Jeho struktura (3 hlavní domény) je podobná albuminu, v molekule AFP je však výrazněji zastoupeno několik aminokyselin (např. glycin, serin a izoleucin). Vzhledem k pohyblivosti na elektroforéze byl nazván svým objevitelem Abelevem (1963) alfa-fetoprotein. Na epitopové mapě AFP je dosud rozlišeno 16 epitopů, z nichž 3 jsou markerem konformačního stavu molekuly. AFP molekula z různých materiálů (séra z různých nádorů, amniová tekutina atd.) obsahuje různé varianty těchto epitopů [19].

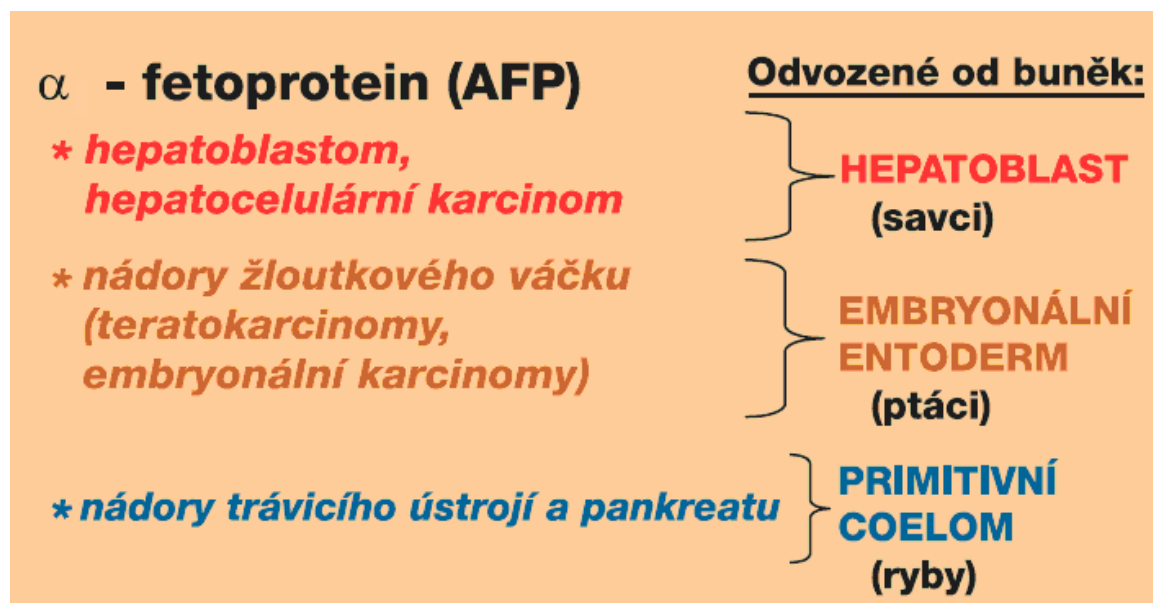


Obr. č. 15: Primární a sekundární struktura lidského AFP. Molekula je složena ze tří domén uspořádaných do tvaru písmene U. Lidský AFP patří do albuminoidní rodiny, která je charakterizována uspořádáním cysteinových zbytků, jež jsou složeny do vrstev vytvářejících smyčky předepisované disulfidickými vazbami. Třetí doména je umístěna těsně u navržené vazebné oblasti. Představa vazby se vyvinula ze zjištění, že lidský AFP má o dva disulfidické můstky méně než lidský albumin. Na vloženém obrázku je v horní části znázorněn dvourozměrný pohled na doménové uspořádání molekuly lidského AFP, ve spodní části elektronová bodová vrstevnicová mapa molekuly lidského AFP (převzato z [20]).

U embryí tvoří v krevní plasmě největší frakci, ve fetálním období je pak druhá za albuminem; po narození se velmi rychle snižuje a koncem 1. roku života je prokazatelná jen citlivými metodami (do 10 mg/l oproti 3 g/l u 14. týdenního fétu) [21]. Fyziologicky je produkován nejdříve žloutkovým váčkem, později fetálními játry. V koncentracích, ve kterých se nachází v první polovině těhotenství v plodu, má středně silné imunopresivní účinky [3].

Zvýšená produkce nastupuje zejména u primárních nádorů jater (hepatoblastom, hepatocelulární karcinom), u některých embryonálních nádorů (teratoblastomy resp. nádory žloutkového váčku jako jsou některé germinální tumory, vzácně pak některé karcinomy pankreatu a gastrointestinálního traktu). Jde o nádory, které vznikly maligní transformací buněk produkujících v určité fázi fetoprotein fyziologicky, tj. buňky primitivního coelomu, buňky žloutkového váčku a hepatoblasty. Odráží se to i ve fylogenezi: játra jsou hlavním producentem AFP u savců; u ptáků je to žloutkový váček a u ryb střevo (tab. č. 2) [21].

Tab. č. 2: Hlavní místa tvorby alfa-fetoproteinu v průběhu ontogeneze a fylogeneze ve vztahu k AFP-pozitivním nádorům (převzato z [21]).



Fetoprotein z hepatoblastů a fetoprotein z buněk žloutkového váčku se liší ve složení postranního sacharidového řetězce. Projevuje se to různou afinitou k některým lektinům (konkanavalin A), což je možno použít i v diferenciální

diagnostice. AFP se však může objevit ve zvýšené koncentraci i u nenádorových onemocnění. Značné zvýšení provází virovou hepatitidu kojenců (hodnoty přes 1000 µg/l nejsou vzácností). Vysvětluje se to tím, že hepatotropní viry nabudí zvýšenou syntézu fetoproteinu v ostrůvcích hepatoblastů, které přetrvávají v „dospělé“ jaterní tkáni ještě krátce po narození. Rovněž regenerující se jaterní tkáň se vyznačuje vyšší produkcí fetoproteinu. Zvýšená hladina u těhotných žen má svůj původ ve fetálních játrech. Vyšetření AFP jako rizikového faktoru pro sekundární prevenci hepatocelulárního karcinomu má význam u pacientů s chronickou hepatitidou B nebo C a dále v některých populacích Afriky a Asie [21].

V séru dospělých zdravých osob se koncentrace sérového AFP obvykle pohybuje pod koncentrací 10 µg/l. Koncentrace u novorozenců postupně klesá, až ve druhém roce dosahuje hodnot dospělých osob. Cirkulující "volný AFP" je hlavní imunoreaktivní formou AFP. Je známa i forma vázaná, která však není imunochemicky detekovatelná z důvodu zamaskování antigenních determinant vysokomolekulárními proteiny cytoskeletárního typu a dalších proteinů [22].

U maligních onemocnění se provádí screening AFP v séru pouze u symptomatických nemocných, a to s jaterní cirhózou, u nemocných s podezřením na germinativní nádory varlat (nesestouplé varle, nádor testes u sourozence - dvojčete) [23].

Monitorování průběhu onemocnění patří k základním využitím AFP. Pro hepatocelulární karcinom a hepatoblastom je AFP markerem první volby. Jeho senzitivita u neléčeného onemocnění patří k nejvyšším ve srovnání s dalšími markery u různých lokalizací tumoru - pohybuje se až kolem 80% při 90% specificitě. Senzitivita je poměrně vysoká i u germinativních nádorů ovariálních i testikulárních. Senzitivita pro čisté embryonální nádory dosahuje hodnot až 80%, u teratomu 20% [23].

Nespecifické zvýšení pozorujeme u akutní virové i chronické hepatitidy, u cirhózy i nekrózy jater. Při dlouhodobém sledování jaterních cirhóz, kde je pravděpodobnost vzniku karcinomu jater až 40x vyšší, lze nalézt hodnoty až do 200 µg/l (zcela ojediněle až 500 µg/l). Nad 200 µg/l je již podezření na malignitu, důležitý je však trend hodnot [22].

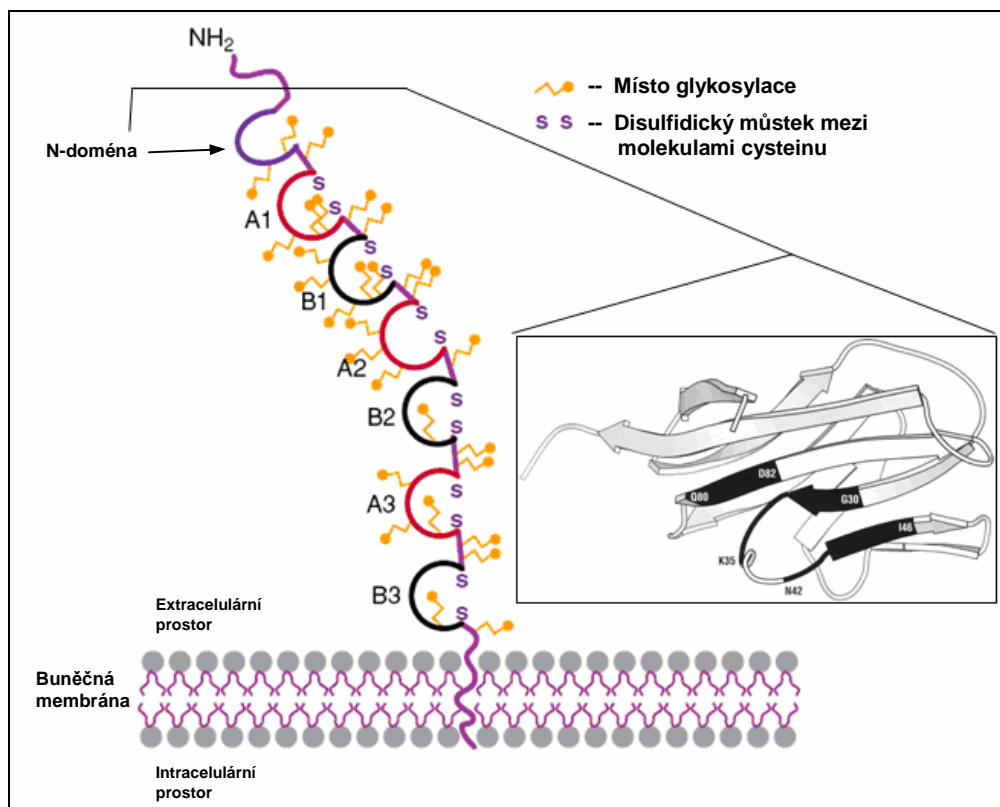
Zvýšení AFP je ve fyziologickém a patologickém těhotenství. Spolu s dalšími analyty (hCG, volný estriol a další) se využívá pro průkaz defektu neurální trubice, Downova syndromu a dalších vrozených vývojových poruch.

3.1.2 Karcinoembryonální antigen (CEA)

CEA, popsáný r. 1965, patří k nejdéle stanovovaným nádorovým markerům. Je to onkofetální protein s pravděpodobnou rolí v procesu buněčné adheze. CEA patří do imunoglobulinové supergenové rodiny, jejíž produkty jsou jak komplexní molekuly vyskytující se na buněčné membráně, tak i extracelulární molekuly s velice rozdílnými funkcemi. Kromě vlastního CEA, nespecifického cross-reaktivního antigenu (NCA) a "CEA-Gene family Member-2" (CGM-2) lze do této skupiny proteinů kódovaných geny této rodiny zařadit také biliární glykoprotein (BGP), který je vázán transmembránově a jehož hladiny jsou v maligním procesu obvykle sníženy [24].

CEA je onkofetální glykoprotein s vysokým obsahem sacharidů (asi 55 %) [25]. Molekulová hmotnost je 180 – 200 kDa. Na polypeptidový řetězec, který je tvořen sedmi Ig doménami zakotvenými na povrchu buňky fosfatidylinositolovou vazbou, jsou navázány sacharidové řetězce vazbou N-acetylglukosaminu na asparagin (obr. č. 16)[26].

Mechanismus působení CEA je dosud nejasný. Předpokládá se, že funkcí CEA je především působit jako repulzní molekula zabraňující kontaktu mezi buňkami. Exprese těchto molekul na povrchu nádorových buněk, která může vést k narušení nádorové struktury, pak může usnadňovat jejich migraci a motilitu, tj. tvorbu metastáz [27].



Obr. č. 16: **Struktura CEA.** Protein CEA se skládá z vedoucí sekvence a tří vysoce zachovaných opakujících se domén (1 - 3), z nichž každá obsahuje 178 aminokyselin. Každá ze tří opakujících se domén může být dále rozdělena na dvě sub-domény (A a B), které mají společnou charakteristickou sekvenci. Každá doména obsahuje čtyři cysteinové zbytky na obdobných pozicích, které se párují a tvoří tak A a B „smyčky“ stabilizované disulfidickými můstky mezi cysteiny. CEA je složen z 668 aminokyselin a jeho uspořádání je podobné uspořádání dalších členů imunoglobulinové supergenové rodiny. CEA vyčnívá z buněčné membrány do extracelulárního prostoru. K membráně je připevněn přes hydrofobní C-terminální část (M doména) (převzato z [28,29]).

Za fyziologických podmínek je CEA produkce pozorována ve vyvíjejícím se embryu, kde je syntetizovaný v epiteliálních buňkách, a to především na jejich membránách. Ve fetálním séru je prokazatelný od 8. týdne těhotenství. Jeho produkce je nejvyšší v období kolem 22. týdne gravidity. V dospělém věku je syntetizován v minimálním množství epiteliálními buňkami střevní sliznice, žaludku a bronchu [26].

Z benigních onemocnění je zvýšená koncentrace CEA v séru (a produkce příslušnou tkání) detekována především u nemocných s jaterní cirhózou, s hepatitidou, zánětlivým onemocněním pankreatu, s Crohnovou chorobou a ulcerózní kolitidou. Rovněž některá benigní onemocnění mléčné žlázy mohou syntetizovat tento antigen (fibroadenomy, fibrocystická choroba) [24].

CEA se nachází především ve tkáni nádoru karcinomu tlustého střeva a konečníku [25]. Z dalších nádorů gastrointestinálního traktu (GIT) je CEA produkován nádory žaludku, pankreatu, jícnu a žlučových cest. I v těchto lokalizacích se nachází především u nádorů dobře a středně diferencovaných [27].

Hladiny tohoto markeru u karcinomu plic predurčuje histologický typ tohoto onemocnění, CEA se vyskytuje především u adenokarcinomu. Pro karcinom mléčné žlázy je CEA markerem druhé volby (po CA 15-3). Většina méně agresivních nádorů tento protein produkuje [26].

Z gynekologických nádorů je CEA charakteristický pro keratinizující epidermoidní nádory cervixu i pro určitou populaci endometriálních nádorů i nádoru děložního těla [24,27].

Karcinom močového měchýře, ledvin, diferencovaný karcinom prostaty a testikulární teratomy patří rovněž k nádorům pozitivním na CEA. Syntéza CEA v medulárních karcinomech štítné žlázy je dána přítomností neuroendokrinních C-buněk. Podobně i maligní nádory vycházející z neuroendokrinních struktur CNS vykazují jeho expresi (glioblastomy, meduloblastomy, malobuněčné karcinomy plic) [26].

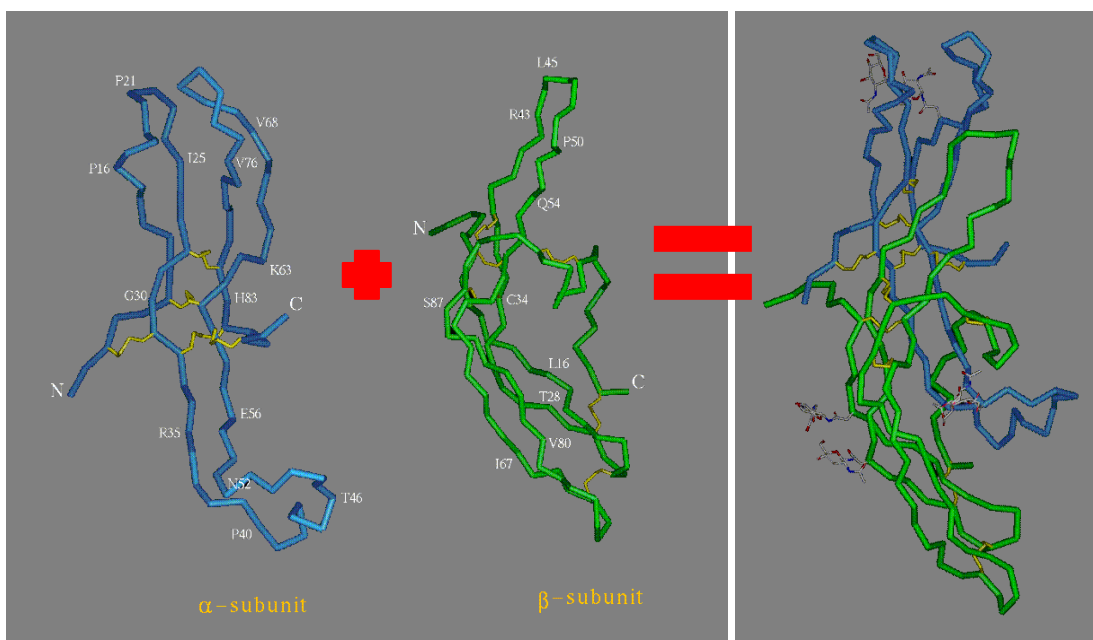
V séru dospělých zdravých osob se hladina CEA obvykle pohybuje pod koncentrací 5 µg/l (v závislosti na typu diagnostické soupravy). Výrazné zvýšení (až do 10 µg/l) je možno pozorovat u kuřáků (v závislosti na počtu vykouřených cigaret), ev. u alkoholiků. V extraktech primárních nádorů se obvykle nevyšetřuje. Význam však má stanovení v moči, pleurálním punktátu, ascitu i dalších tělních tekutinách u vybraných typů nádorů [30].

Monitorování průběhu onemocnění (detekce relapsu či rozsevu onemocnění a odpovědi na léčbu) patří k základním využitím CEA. Hodnoty vyšší než 10 µg/l znamenají obvykle progresi maligního procesu. Koncentrace vyšší než 50 µg/l svědčí s vysokou pravděpodobností o jaterních nebo kostních metastázách. Senzitivita a specificita CEA stanovení kolísá podle typu sledovaného nádoru a stadia onemocnění [31]. U benigních onemocnění obvykle hodnoty nepřesahují hranici 10 µg/l.

3.1.3 Lidský choriogonadotropin (hCG)

Lidský choriogonadotropin (hCG) patří do skupiny hormonů, které mají vztah k nádorovému onemocnění germinativního původu a gestačním trofoblastickým chorobám. Byl popsán v moči těhotných žen již před více než 70 lety, v těhotenství má význam spolu s AFP pro charakterizaci patologického těhotenství (Downův syndrom, trisomie 21). Je to glykoprotein o molekulové hmotnosti 36,7 kDa, vznikající v trofoblastických buňkách placenty. Je tvořen dvěma rozdílnými podjednotkami: alfa (14,5 kDa) a beta (22,2 kDa) (obr. č. 17). S dalšími glykoproteinovými hormony lutropinem (LH), folitropinem (FSH) a thyreotropinem (TSH), které jsou adenohipofyzárního původu, má podobnou strukturu alfa-podjednotky. Biologickou specifitu těchto hormonů podmiňuje především beta-podjednotka [32].

Je známa sekundární a terciární struktura hormonu: intercysteinové vazby vytvářejí na alfa- i beta-podjednotce můstky, které se podílejí na jejich interakci, event. vazbě k receptorům (obr. č. 17). Je známa vazba sacharidů prostřednictvím N- i O-glykosidické vazby [33].



Obr. č. 17: Struktura hCG (převzato z [34])

V prvních 6 týdnech gravidity udržuje hCG žluté tělísko, podporuje produkci progesteronu a dále estrogenu. Význam produkce hCG v těhotenství je dosud

nejasný, pravděpodobně se účastní i na vzniku imunotolerance plod - matka. Fyziologicky je hCG syntetizován placentou ihned po početí. Hladiny v mateřské krvi dosahují hodnot 10, 60 a 140 IU/l v 6., 8. a 12. týdnu těhotenství. Mezi 14. - 18. týdnem se jeho koncentrace ustalují na hodnotě 10 - 50 IU/l a přetrvávají až do porodu. Po porodu hodnoty klesají na koncentrace do 5 IU/l. Podíl volné beta-podjednotky v séru klesá v průběhu těhotenství ze 3 na asi 1 %. Zdrojem hCG u zdravých osob je pravděpodobně hypofýza. Citlivými technikami bylo prokázáno, že beta-hCG je přítomen na membránách většiny buněk maligních nádorů. Z toho lze předpokládat, že by mohl být universálním tumorovým markerem [32].

Nejvyšší hladiny hCG byly nalezeny u postmenopauzálních žen, koncentrace v séru zdravých mužů jsou asi třetinové. Referenční rozmezí závisí na použité metodě, obvykle se za diskriminační hranici považuje 5 IU/l. Koncentrace hCG v séru mohou být ovlivněny především v těhotenství (mnohočetná gravidita, hrozící potrat, mimoděložní těhotenství). Zdrojem zvýšených koncentrací hCG mohou být dále nádory germinativního a trofoblastického původu [33].

Metodiky vyšetření hCG mohou být ovlivněny rozdíly v imunochemickém systému, značení, senzitivitě a aviditě protilátek proti hCG, které mohou detekovat rozdílné epitopy na různých formách molekuly hCG a tím způsobovat nesouměřitelnost vyšetření provedených soupravami různých výrobců [35].

Screening hCG v séru lze použít pouze k monitorování symptomatických osob podobně jako AFP - tj. u osob s podezřením na germinativní nádory varlat. Koncentrace hCG mají význam pro zhodnocení stadia onemocnění, ev. postižení mízních uzlin před terapií. Mohou být použity také pro potvrzení histologické charakterizace nádorů testes (především neseminomů) a choriokarcinomů, ev. hydatidózní nebo invazivní moly [33].

Koncentrace hCG má velký význam pro sledování nemocných s nádory testes za účelem průkazu relapsu či ověření účinnosti terapie. Senzitivita hCG pro neseminomy se pohybuje kolem 50%, pro seminomy 10 - 20%. Téměř 100% senzitivitu lze nalézt pro choriokarcinomy. Senzitivita pro další lokalizace nádorů (pankreas, GIT, plíce, mamma, ledviny, močový měchýř) se pohybuje obvykle kolem 10 - 20% [32].

3.2 Tkáňově či orgánově specifické antigeny

Jsou to látky, které se normálně nacházejí ve zdravé tkáni či orgánu a mimo něj pronikají jen v minimálním množství. Teprve při onemocnění, nejčastěji nádorovém (ale v menší míře i při zánětech či traumatizaci), dochází k jejich uvolnění [3].

3.2.1 Prostatický specifický antigen (PSA)

PSA byl poprvé identifikován Harou a kol. v roce 1969 [36]. Stanovení jeho hladin v séru se pro klinické účely začalo využívat počátkem 80. let 20. století [37].

PSA je serinová proteináza složená ze 240 aminokyselin v jednoduchém polypeptidovém řetězci. Molekulová hmotnost PSA je 34 kDa, obsahuje asi 10% sacharidů. PSA má chymotrypsinu podobnou aktivitu, katalyzuje hydrolýzu peptidových vazeb v místě tyrosinu a leucinu. V seminální plasmě se nachází v pěti formách. V séru je PSA vázán především na alfa1-anti-chymotrypsin (tvoří 95% celkového PSA), v menší míře na alfa2-makroglobulin. Určitý podíl PSA v séru se vyskytuje ve volné podobě - tj. volný PSA, nevázaný na bílkoviny [38,39].

PSA je produktem především prostatické tkáně, jak zdravé, tak i zhoubné. Je secernovaný do seminální tekutiny a umožňuje za fyziologických podmínek zkapalnění seminální plasmy štěpením seminogelinu a fibronektinu, čímž je usnadněn pohyb spermatozoí. PSA přítomný v séru nemá pravděpodobně významnou funkci, především z důvodu blokování velké části tohoto proteinu vazbou na alfa1-antichymotrypsin [40].

V séru dospělých zdravých mužů se hladina celkového PSA pohybuje v závislosti na věku od hodnot 2,5 µg/l (muži do 50 let) do 6,5 µg/l (nejstarší věková skupina). Detekovatelné množství PSA bylo nalezeno i v séru žen [41]. Koncentrace PSA v séru je však ovlivněna procesy, které mohou porušit různé stupně bariéry bránící volnému přechodu PSA z duktálních luminu do séra. K základním mechanismům zvyšujícím jeho hladiny patří trauma, zánět, hypertrofie prostaty nebo maligní proces v této tkáni [31].

Sérový PSA vzrůstá nad diskriminační hranici po ejakulaci (o 0,8 µg/l v době 1 hod po ejakulaci), po digitálním rektálním vyšetření nebo po transrektálním ultrazvukovém vyšetření, podobně i po mechanickém dráždění prostaty (např. po jízdě na kole atd.). Výraznější a déle trvající zvýšení PSA (až do 20 dní) lze pozorovat po biopsii prostaty či po transuretrální resekci [38].

Přes velké nadnárodní studie prokazující význam stanovení PSA (spolu s digitálním rektálním vyšetřením) pro detekci maligního onemocnění prostaty u symptomatických mužů (jedenkrát ročně od 50 let) nejsou dosud definitivní doporučení uzavřena. Je však výhodné provádět screening u starších mužů se symptomy poruch močového traktu, event. u mužů s rodinnou zátěží tohoto onemocnění. Význam screeningu je limitován malou možností odlišit karcinom agresivní od benignější formy, která může mnohdy existovat v latentní podobě [41].

Význam má především stanovení poměru volného a vázaného PSA pro odlišení benigní hyperplazie prostaty od karcinomu: sérum nemocných s hyperplasií má obvykle poměr volného ku celkovému PSA vyšší, obvykle nad 15%. Naopak, pacienti s karcinomy mají tento poměr výrazně nižší. Dosud není důvod této difference objasněn [37].

PSA je vhodný pro potvrzení stadia choroby. Zvýšené hodnoty se objevují u 95% metastatických nádorů, 82% stadií III nebo IV. Není pravděpodobné metastazování do kostí při hodnotě PSA nižší než 20 µg/l. Je prokázáno, že paradoxně PSA v nádoru mléčné žlázy může být výhodný prognostický ukazatel [41].

PSA se využívá rovněž u monitorování nemocných v remisi. Zvýšené hodnoty PSA po radikální prostatektomii značí buď zbytkovou chorobu (70%) či lokální návrat (30%). Monitorování má význam rovněž při léčbě radioterapií, ev. hormonoterapií. Velikost poklesu PSA po úspěšné hormonoterapii je v korelaci s délkou přežití [37].

3.2.2 Neuron specifická enoláza (NSE)

NSE je glykolytický enzym katalyzující přeměnu 2-fosfoglycerátu na fosfoenolpyruvát, přítomný ve tkáních neuroektodermálního původu,

ve zdravém organismu především v neuronech. NSE, solubilní izoenzym enolázy, je obsažený v cytoplasmě buněk, vyskytuje se jako dimer tvořený podjednotkami alfa-gama nebo gama-gama. V podobě těchto homo- či heterodimerů se vyskytuje rovněž v tělesných tekutinách [42].

Za fyziologického stavu jej produkuje nervová a plicní tkáň plodu, v dospělosti je jeho výskyt v normálním stavu vázán především na neurony. Zvýšená exprese byla prokázána v neuroblastomech, meduloblastomech, malobuněčných karcinomech plic (SCLC), v apudomech, karcinomech ledvin a seminomech, proto je stanovení hladiny NSE využíváno k monitorování průběhu těchto malignit [43]. Vzhledem k obsahu NSE v erytrocytech a krevních destičkách je třeba provést oddělení krevních elementů nejpozději do jedné hodiny od odběru, jinak jsou naměřené hodnoty NSE falešně pozitivní - hemolýza vzorku tedy výrazně interferuje [31].

Referenční hodnoty NSE stanovené imunochemicky závisí na typu soupravy, obvykle leží diskriminační hranice pro obě pohlaví na hladině 12-15 µg/l.

Screening NSE se neuvádí (snad jen pro určení neznámého primárního nádoru). Pro pacienty s neuroblastomy a SCLC má stanovení NSE prognostický význam [31,44].

Nejvyšší hodnoty bývají popisovány u dobře diferencovaných ganglioneuroblastomů a ganglioneuromů [31]. Zvýšená hladina NSE v séru může být pozorována také u nemaligních plicních onemocnění nebo jaterních chorob [44].

3.2.3 CA 125

CA 125 patří do skupiny nádorových markerů, které byly detekovány již začátkem 80. let na podkladě specifických protilátek [3]. Je to důležitý nádorový marker vhodný především pro monitorování karcinomu ovarii.

Přestože poznatky o molekule CA 125 jsou stále ještě neúplné, je zřejmé, že je to glykoprotein s vysokým obsahem sacharidů (24%) navázaných O-glykosidickou vazbou. Základní molekula má molekulovou hmotnost asi 200 kDa, je značně heterogenní jak co do velikosti, tak i do náboje [45].

Funkce CA 125 může být vázána s proteázovou aktivitou. Jeho detekce v reprodukčních orgánech naznačuje možnou roli při reprodukci. Jeho možná patofyziologická role snad souvisí s růstem a šířením nádoru [46].

CA 125 patří k diferenciačním antigenům, které jsou produkovány fetálními epiteliálními tkáněmi coelomového původu. V dospělém věku může být omezeně syntetizován v epitelu normální tkáně vejcovodů, bronchů, endometriu, cervixu, ale i v mezotelu pleury, perikardu a peritonea. Není prokazatelný v epitelu normálních ovarií [45].

Z nemaligních onemocnění je koncentrace CA 125 zvýšena obvykle u benigních ovariálních nádorů, endometriózy a chorob jater a pankreatu.

Expresí CA 125 je pozorována především v epiteliálních buňkách karcinomů ovarií. Syntéza v dalších gynekologických nádorech nevykazuje již takovou senzitivitu, např. u karcinomů cervixu, endometria apod. [48].

Produkce CA 125 u dalších nádorů (karcinomy mléčné žlázy, pankreatu, plic, žlučových cest) zřejmě reflektuje především postižení pleury a peritonea z důvodu infiltrace nádorovými strukturami. Byla prokázána rovněž zvýšená hladina CA 125 u nemocných s hepatocelulárním karcinomem [46].

Sérový CA 125 je vyšetřován v rámci screeningu, stagingu (určení stadia onemocnění) a monitorování onemocnění karcinomu ovarií, u dalších gynekologických tumorů (těla děložního), u nádorů plic a prsu, speciálně v případě infiltrace pleury či peritonea nádorem, a u hepatocelulárního karcinomu. Rychlý pokles k normálním hladinám během chemoterapie je prediktorem delšího přežití nemocných s Ca ovarií [49].

Hodnoty sérové koncentrace CA 125 u normální zdravé populace se pohybují do 35 kU/l (99%) [48]. V procesu chronického onemocnění jater nebo peritonitidy může hladina CA 125 dosáhnout hodnot i vyšších než 65 kU/l. Zvýšení sérového CA 125 je možno pozorovat i v dalších benigních procesech, dále i u gravidity, během menstruace nebo při endometrióze. V přítomnosti maligního procesu koreluje jeho hladina obvykle s nádorovou hmotou [49].

Vzhledem k nízké senzitivě (obzvláště u stadia I) a nízké specificitě není vhodné provádět screening u nesyptomatické populace. V případě genetické zátěže (alespoň jeden příbuzný) syndromem ovariálního karcinomu je doporučeno stanovit CA 125 (spolu s vaginálním ultrazvukovým vyšetřením)

každoročně. Ke stanovení diagnózy lze CA 125 použít pouze v situaci, kde není známa lokalizace primárního nádoru [31].

Hladina CA 125 je vhodným ukazatelem pro potvrzení stadia choroby. Vysoké hodnoty, které se po primární terapii nesníží, jsou indikací k „second look“ operaci. Senzitivita a specifická stanovení kolísá podle typu sledovaného nádoru a stadia onemocnění [31].

Vyšetření CA 125 bývá nejčastěji užito k monitorování průběhu onemocnění (detekce relapsu či rozsevu onemocnění a odpovědi na léčbu). Serózní typ karcinomu ovarií, kde je CA 125 markerem první volby, vykazuje senzitivitu až 90% (cut-off 65 kU/l). Je vhodné vyšetřovat CA 125 u dalších gynekologických tumorů (Ca těla děložního), u nádorů plic a prsu, speciálně v případě infiltrace pleury či peritonea nádorem, u hepatocelulárního karcinomu a u nádorů pankreatu [49].

Zvýšené hodnoty při benigní etiologii onemocnění mohou rovněž vykazovat tyto choroby: benigní onemocnění ovarií a endometria, leiomyom, selhání ledvin. Zvýšení CA 125 je možno pozorovat u těhotenství, při menstruaci a endometrióze [48,49].

3.2.4 CA 15-3

CA 15-3 je marker diferenciačního typu definovaný na podkladě monoklonálních protilátek. Je to glykoprotein, který je produkován především karcinomy mammy, ev. dalšími adenokarcinomy. Jeho stanovení komerčními soupravami je možné od r. 1985. Patří k základním markerům pro sledování vývoje onemocnění pacientek s karcinomem prsu [31].

Fyziologická role CA 15-3 pravděpodobně souvisí s ochranou epiteliálních struktur (lubrikace). V patologických podmínkách (ve tkáni karcinomu prsu) se pravděpodobně účastní vazby na adhezivní molekuly [51].

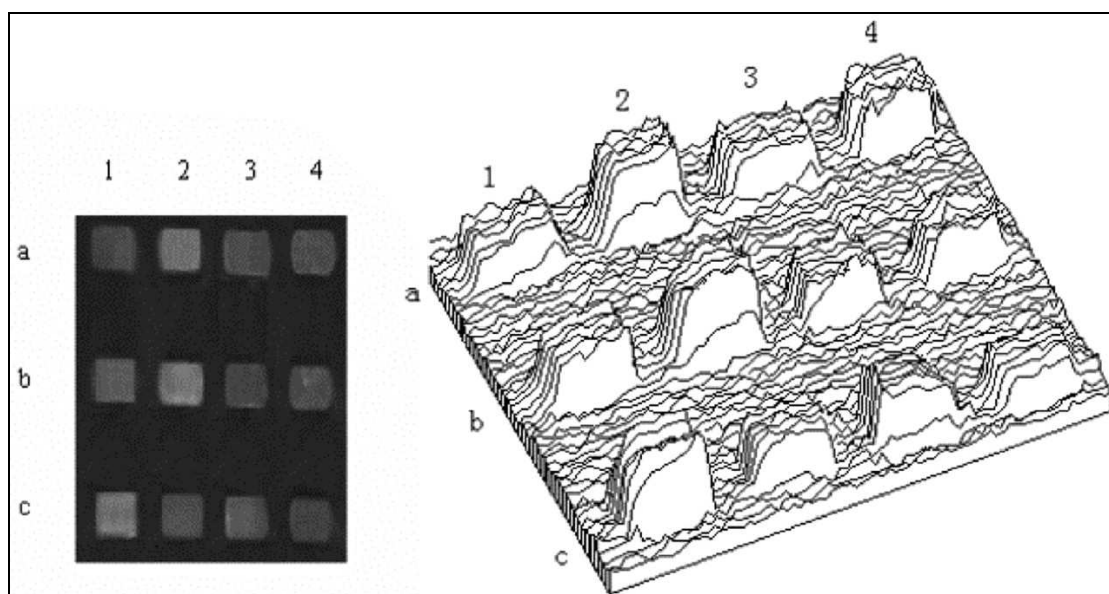
CA 15-3 vyšetření v séru patří k základní technice pro monitorování nemocných s karcinomem prsu. Jeho metodická "robustnost" umožňuje sledovat a matematicky hodnotit dynamiku změn jeho koncentrací pro odhad vývoje onemocnění. Zvýšení koncentrace tohoto markeru v procesu metastazování často předchází průkazu rozsevu diagnostikovaného

zobrazovacími metodami. Jeho hladina obvykle koreluje s hmotou nádoru. Je zvýšen i v séru některých benigních onemocnění [51].

Koncentrace CA 15-3 je zvýšena především z důvodu exprese tohoto antigenu u benigních onemocnění prsu, z důvodu poškození jater a ledvin, u zánětu plic, u revmatického onemocnění, rovněž fyziologicky v těhotenství. Hlavním zdrojem zvýšení CA 15-3 je však maligní proces v mléčné žláze [31].

Diskriminační hranice CA 15-3 zdravých žen je obvykle 30 kU/l, u nemocných s nádorem mammae s parciální remisí je možno pozorovat i přetrvávající vyšší hodnoty.

Metody stanovení CA 15-3 lze rozdělit do dvou kategorií podle užitých monoklonálních protilátek (obr. č. 18) [51].



Obr. č. 18: Optický proteinový čip pro detekci CA 15-3 v séru. Anti-Ca 15-3 protilátky imobilizované po reakci se sérem pacienta obsahujícím CA 15-3 antigen (převzato z [53]).

Určitý přínos má hladina CA 15-3 při stanovení diagnózy pouze u nádorů s neznámým primárním nádorem. Diference mezi časem průkazného nárůstu markerů a časem průkazu progresu („lead time“) umožňuje předpovědět návrat onemocnění s předstihem několika měsíců [52].

Zvýšené hladiny CA 15-3 v séru je možno pozorovat rovněž u benigního onemocnění prsu, benigního onemocnění trávicího ústrojí, jaterní cirhózy,

akutní a chronické hepatitidy, chronické renální insuficience, chronické bronchitidy a pneumonie [52].

3.2.5 CA 19-9

CA 19-9 patří k tumor-asociovaným antigenům definovaným na podkladě monoklonálních protilátek. Specifická protilátka odpovídá modifikované determinantě krevních skupin typu Lewis. Jeho výskyt je charakteristický pro adenokarcinomy pankreatu, žaludku, tlustého střeva, jater a vybraných gynekologických nádorů. Stanovuje se často v kombinaci s CEA [31].

Molekula CA 19-9 odpovídá haptenu determinanty lidské Lewis^(a+) krevní skupiny. Vyskytuje se jako glykolipid ve tkáni nebo mucin v séru, molekulová hmotnost asi 36 kDa (lipid), event. výrazně vyšší (mucin) [54].

Úloha CA 19-9 je dosud neznámá. Patří k onkofetálním antigenům, vyvíjející se plod jej syntetizuje v epiteliálních strukturách pankreatu, žlučových cest, v žaludku. Produkci CA 19-9 ve stopových množstvích je možno pozorovat i v dospělosti, především ve žlázových strukturách pankreatu, žlučníku, bronchů a některých gynekologických nádorů. Kolem 5% populace tento antigen vůbec netvoří [54,55].

Benigní onemocnění jsou zdrojem koncentrací zvýšených většinou do hodnoty až 100 kU/l. Při maligních onemocněních dosahuje koncentrace CA 19-9 v séru mnohonásobku hodnoty diskriminační hranice (až 10⁶ kU/l) [56,57]. Referenční intervaly jsou definovány podle výrobce metody, obvykle leží diskriminační hranice CA 19-9 do 37 kU/l.

Stanovení CA 19-9 je založeno na reakci antigenu s monoklonální protilátkou. Je možno vyšetřovat sérum, ascites a tekutinu benigních ovariálních cyst. Při stanovení mohou interferovat HAMA protilátky. Falešnou pozitivitu může působit rovněž kontaminace vzorku slinami, ev. potem [31].

I přes vysokou senzitivitu především pro nádory pankreatu není možno užít tento marker pro časnou primární diagnostiku tohoto onemocnění. Koncentrace CA 19-9 obvykle výrazně nekoreluje s nádorovou hmotou, avšak dobře koreluje s hodnocením efektu terapie. Výrazně zvýšené hladiny s často exponenciálním nárůstem (nad 10 000 kU/l) jsou však průkazem vzdálených metastáz [57].

I mírná cholestáza může způsobit výrazné zvýšení CA 19-9 koncentrace v séru. Z dalších onemocnění jsou zvýšené hladiny nalézány u benigních a zánětlivých onemocněních žaludku, střeva, pankreatu a jater. V benigních pankreatických cystách se pohybují hladiny CA 19-9 obvykle do 100 kU/l, výjimečně až do 2000 kU/l [57].

3.2.6 CA 72-4

Stanovení CA 72-4 je založeno na detekci antigenu TAG 72 (mucinového komplexu o molekulové hmotnosti větší než 10^3 kDa) glykoproteinového typu determinovaného monoklonálními protilátkami (1981). U plodu je jeho produkce typická pro epitelální buňky žaludku a pankreatu. V dospělosti je prokazatelný především u maligních nádorů žaludku, střeva, pankreatu, mléčné žlázy a některých nádorů ovaria [58]. Stopové množství CA 72-4 bylo prokázáno rovněž v dospělých tkáních plic, v gastrointestinálních a reprodukčních orgánech zdravých jedinců [58,59]. Koncentraci CA 72-4 v séru mohou ovlivnit i některá benigní onemocnění patřící do skupiny postižení jater, ledvin a zánětlivých onemocnění GIT [57].

Referenční hodnoty jsou závislé na typu soupravy, obvykle leží diskriminační hranice CA 72-4 na hladině 4,6 až 6,7 kU/l. Metoda stanovení je založena na sendvičové reakci dvou specifických monoklonálních protilátek. Kromě séra je vyšetřován rovněž ascites, ev. tekutina pankreatických cyst [31].

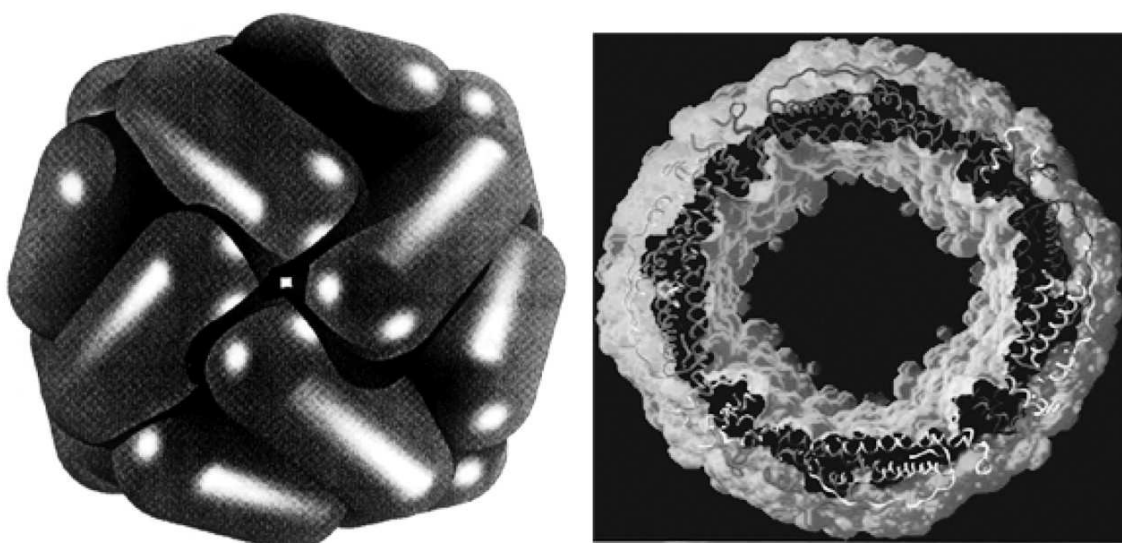
Screening se nepoužívá. V kombinaci s CEA může odlišit benigní a maligní proces pankreatu vyšetřením tekutiny cyst. Odhad závažnosti onemocnění koreluje s přítomností vzdálených metastáz. Hladina CA 72-4 v séru se používá k monitorování průběhu onemocnění především u karcinomu žaludku. Vhodně doplňuje sledování u nemocných s nádory kolorekta, neprodukující CEA nebo CA 19-9. Vykazuje rovněž dostatečnou senzitivitu pro monitorování nemocných s metastázami uvedených nádorů do jater [57].

3.3 Nespecifické antigeny a tumorové markery

Tyto látky mohou vykazovat ektopickou produkci, tj. syntézu ve tkáni, v níž za fyziologického stavu nejsou produkovány [1].

3.3.1 Ferritin

Ferritin je vysokomolekulární bílkovina o molekulové hmotnosti kolem 450 kDa, specializovaná na uskladnění železa ve tkáních. Základem molekuly ferritinu je apoprotein – apoferritin - složený z 24 podjednotek uspořádaných do tvaru duté koule s prostorem uvnitř pro železité ionty (obr. č. 19) [3]. Uvnitř tohoto útvaru se shromažďuje relativně velké množství železa ve formě hydroxyfosfátu železitého. Každá molekula ferritinu může obsahovat až 4500 atomů železa, které udržuje v rozpustné, pro organismus netoxické a biologicky využitelné formě [61].



Obr. č. 19: Struktura ferritinu (převzato z [62]).

Podjednotky se vyskytují ve dvou velikostech: těžké (heavy, H-typ), které jsou kyselé a vyskytují se hlavně v srdci, a lehké (light, L-typ), jež jsou slabě bazické a vyskytují se v játrech. Ferritin je tedy tvořen směsí dvou imunologických podtypů H a L. Tyto strukturálně odlišné molekuly nazýváme

izoferritiny, jejich poměr závisí na tkáni, ze které pochází, a liší se svými imunologickými vlastnostmi a izoelektrickými body [3,61].

Ferritin se potenciálně vyskytuje ve všech buňkách těla a v tělesných tekutinách, ale nejvíce je soustředěn v játrech, slezině, kostní dřeni a v kosterním a srdečním svalstvu. V těhotenství se vyskytuje též v placentě. Hladiny ferritinu v séru jsou poměrně nízké. Velmi dobře korelují s celkovým množstvím zásob železa v organismu [61]. U zdravých jedinců se sérové koncentrace liší u mužů a u žen v produktivním věku. U žen v menopauze se pak tyto koncentrace blíží hodnotám nacházeným u mužů. U dětí jsou hladiny ferritinu obecně nižší než u dospělých [3].

Ferritin může vázat in vitro hemové skupiny protoporfyrinu IX za vzniku hemoferritinu. Vazba hemu ovlivňuje vychytávání železa ferritinem [63].

Ferritin cirkulující v krvi je směsí sérového ferritinu (glykosylovaný ferritin, považuje se za normální sekreční produkt buněk, delší poločas) a tkáňového ferritinu, který se uvolňuje z poškozených buněk. V krvi může ferritin vytvářet komplexy s jinými proteiny, např. alfa2-makroglobulinem [61]. Při stanovení koncentrace ferritinu neinterferuje bilirubin, hemoglobin, cholesterol, triglyceridy, heparin (testované koncentrace uvádí výrobce).

K vyšetření hladiny ferritinu v séru se přistupuje při detekci deficitu Fe, posouzení odpovědi na perorální léčbu železem, diferenciální diagnostice anemií, monitorování zásob Fe u chronického renálního selhání (včetně dialyzovaných pacientů), detekci stavů akumulace Fe a odpovědi na léčbu, posouzení procesů v CNS (odlišení arteficiálního od skutečného krvácení, odhad intenzity agresivních procesů v CNS - zánětů a nádorů) [64,65].

Mezi příčiny zvýšení hladiny ferritinu v séru řadíme alkoholismus, reakce akutní fáze (záněty, nádory, AIM, hyperthyreóza, M. Gaucher), poškození jater, hemochromatózu, hemosiderózu, některé anemie při chronických stavech a maligní onemocnění (a. systémová neoplazie (akutní myeloblastické leukemie, M. Hodgkin, mnohočetný myelom, nehodgkinovské lymfomy), b. nespecifická produkce (primární hepatom, germinální tumory testis, karcinom plic, karcinom prsu)) [60].

Mezi příčiny snížení hladiny ferritinu v séru řadíme opakované dárčovství a odběry krve z diagnostických důvodů, bezmasou stravu, zejména u žen, mikrocytární anemii z nedostatku železa, krvácení do GIT, menstruační ztráty,

některé malabsorpce (obvykle kombinovaná porucha rezorpce Fe, B12 a folátu) [60,61].

3.3.2 Beta₂-mikroglobulin (β₂-M)

β₂-M je glykoprotein o poměrně nízké molekulové hmotnosti, a proto prochází glomerulárním filtrem. Je sekvenčně homologický s konstantními částmi H – řetězců lidských imunoglobulinů, což naznačuje jejich společný původ. Váže se na membrány buněk s HLA antigeny. Syntéza β₂-M není vázána na B – lymfocyty, produkují jej i jiné typy tkáňových buněk. Nachází se ve všech tělních tekutinách a ve všech buňkách kromě erytrocytů a trofoblastických buněk. Tvoří součást antigenního systému HLA. Fyziologické rozmezí je 0 – 2,5 mg/l.

Eliminace z organismu se děje prostřednictvím ledvin, velký podíl je reabsorbován v proximálních tubulech. Porucha v glomerulární filtraci vede ke zvýšení jeho koncentrace v séru. Poškození tubulů je naopak provázeno zvýšenou koncentrací v moči. Zvýšení jeho sérových hladin je pozorováno i u chronických zánětlivých onemocnění, masivních buněčných nekróz (při chemoterapii a aktinoterapii nádorů), u chronických onemocnění jater a ledvin, u ledvinného selhání, především při léčbě hemodialýzou.

Ve skupině maligních chorob má β₂-M význam především pro sledování průběhu mnohočetného myelomu, chronické lymfatické leukémie a lymfomů. Při interpretaci výsledků je třeba vždy mít na paměti funkční stav ledvin [1,15,47].

4. METODY STANOVENÍ NÁDOROVÝCH MARKERŮ

V současné době jsou pro vyšetření koncentrace nádorových markerů obvykle používány metody imunochemické analýzy. Principem těchto reakcí je vazba mezi antigenem (nádorovým markerem) a k němu specifickou protilátkou. Detekci vytvořeného imunochemického komplexu umožňuje značení radionuklidem (radioimunoanalýza, RIA, nebo imunoradiometrické stanovení, IRMA), enzymem (enzymoimunoanalýza, EIA, ELISA), fluorescenčním nebo chemiluminiscenčním indikátorem (FIA, CLIA). Pro kvantifikaci nádorových markerů mohou být použity i další metody – metoda vazby látky na sérové proteiny apod. [1,2].

Koncentrace markerů v séru se pohybuje ve velice nízkých hodnotách (podle typu parametru řádově v $\mu\text{g/l}$, event. v ng/l). Kalibrační materiál může být v různých komerčních soupravách rozdílný podle stupně purifikace (neexistují obvykle mezinárodní standardy). Koncentrace nádorových markerů je pak vyjadřována v konvenčních jednotkách (U/l, kU/l atd.). Výběr optimální metody stanovení je ovlivněn především parametry spolehlivosti vlastního metodického postupu (přesnost, správnost, detekční limit, použitelné koncentrační rozmezí, specifita protilátek). Je však třeba brát v úvahu také další faktory: možnost automatizace, nutné přístrojové vybavení, stabilitu reagensů, možnost co nejjednodušší kalibrace, čas nutný k vyšetření, a v neposlední řadě i cenu vyšetření. Dodržování pravidel správné laboratorní práce při vyšetřování nádorových markerů je obzvláště důležité vzhledem ke značné finanční náročnosti vyšetření [1].

5. ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo podat stručný přehled o nejčastěji vyšetřovaných nádorových markerech, jejich orgánové specifitě a metodách stanovení.

Nádorová onemocnění jsou narůstajícím problémem morbidity a mortality ve vyspělých zemích na celém světě. Proto jsou nádorové markery v současné době středem pozornosti při diagnostice, léčbě a dlouhodobém sledování nemocných s maligním onemocněním.

Každé desetiletí a v poslední době každým rokem přibývá několik nových „slibných“ nádorových markerů, tak jako přibývají naše znalosti o mechanismech nádorového bujení. Ideální nádorový marker by měl splňovat tato kritéria: být produkován pouze u maligních onemocnění, být orgánově specifický, vyskytovat se ve vyšších koncentracích v biologických tekutinách, jeho hladina by měla korelovat s velikostí nádoru, se stadiem onemocnění, s prognózou a efektem léčby a umožnit průkaz zbytkové nádorové tkáně. Marker splňující veškeré výše uvedené požadavky v současné době neexistuje. Užívané markery však splňují alespoň některé z těchto kritérií. Optimální interpretace výsledků vyžaduje znalost jak metodických problémů, tak i znalost průběhu onemocnění u konkrétního nemocného.

Nádorové markery umožňují v moderní medicíně zcela nové přístupy v léčbě onkologicky nemocných pacientů. Mohou přispět k rozlišení mezi benigním a maligním nádorem, k určení stadia onemocnění a především jsou vhodné pro včasný záchyt recidivy onemocnění. Proto indikované použití vhodného markeru může rozhodujícím způsobem přispět k výsledku léčby a tím zlepšit dobu přežití nemocného.

6. SEZNAM ZKRATEK

AFP	alfa-fetoprotein
AIM	akutní infarkt myokardu
BGP	biliární glykoprotein
Ca	karcinom
CEA	karcinoembryonální antigen
CGM-2	CEA-Gene Family Member 2
CLIA	chemiluminiscenční analýza
CNS	centrální nervový systém
CYFRA 21-1	fragment cytokeratinu 19
EIA	enzymoimunoanalýza
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FIA	fluoroimunoanalýza
FSH	folitropin
GIT	gastrointestinální trakt
HAMA	heterofilní lidské anti-myší protilátky
hCG	human (lidský) choriogonadotropin
HLA	Human Leukocyte Antigen
HPV	human (lidský) papillomavirus
IRMA	imunoradiometrická analýza
LH	lutropin
M. Gaucher	Morbus Gaucher
M. Hodgkin	Morbus Hodgkin
NCA	nespecifický cross-reaktivní antigen
NSE	neuron-specifická enoláza
PLAP	placentární alkalická fosfatáza
PSA	prostatický specifický antigen
RIA	radioimunoanalýza
SCC	antigen squamózních buněk
SCLC	malobuněčný karcinom plic
TAG 72	mucinový komplex
TPA	tkáňový polypeptidový antigen

TPS	tkáňový polypeptidový specifický antigen
TSH	thyreotropin
WHO	World Health Organisation
β_2 M	beta2-mikroglobulin

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] SCHNEIDERKA P. A KOL.: *Kapitoly z klinické biochemie*, Karolinum, Praha 2004, ISBN 80-246-0678-x, 234 – 264.

[2] RACEK J. A KOL.: *Klinická biochemie*, Galén 2006, ISBN 80 – 7262 – 324 – 9, 247 – 257.

[3] ZIMA T.: *Laboratorní diagnostika*, Galén, Praha, ISBN 80 – 7262 – 201 – 3, 331 – 340.

[4] KOCUR I.: Zprávy z WHO - Ke Světovému dni boje proti rakovině, *Zdravotnické noviny - Lékařské listy* 9, 2004, 4 – 7.

[5] NEKULOVÁ M., Kdy a proč vyšetřovat nádorové markery, *Sborník Biolab 2006*, 28 – 29.

[6] <<http://www.svod.cz>> [cit. 2006-12-07]

[7] <<http://ucebnice.euromise.cz/index.php?conn=0§ion=epidem&node=node153>> [cit. 2006-11-27]

[8] <http://sz.ordinace.cz/lekce_uvod.php?lekce=8> [cit. 2006-11-27]

[9] <<http://www.nemstbk.cz/olm/soubsys/onkomark.htm>> [cit.2006-06-02]

[10] HEGYI P., WILHELM Z.: Onemocnění žaludku, *Praktické lékárenství* 3, 2006, 152 – 154.

[11] ŽALOUDÍK J.: Karcinom žaludku, Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Doporučené postupy pro praktické lékaře, Projekt MZ ČR zpracovaný ČLS JEP za podpory grantu IGA MZ ČR 5390-3, Reg. č. a/030/103, 2001.

[12] <http://www.mou.cz/mou/upload/Rubriky/pro_odborniky/protokoly/053.pdf>
[cit. 2006-12-17]

[13] NEKULOVÁ M.: Nádory děložního čípku, jejich terapie a vyšetření nádorových markerů, *Labor. Aktuell* 3-4, 2003, 4 - 6.

[14] <<http://www.osel.cz/index.php?clanek=1998>> [cit. 2006-12-17]

[15] Nádorové markery a jejich stanovení, Immunotech, Praha 1999.

[16] <http://www.mou.cz/mou/section_show.jsp?s=901%7C905%7C927&selldoc=112> [cit. 2006-11-27]

[17] STURGEON C., ARONSSON A. C., DUFFY M. J., HANSSON L. O., KLAPDORF R., VAN DALEN A. ET AL. (volně přeložila RNDr. Marta Šimíčková): Doporučení pro vyšetřování nádorových markerů: European Group on Tumor Markers (EGTM) 1999, *We Innovate Healthcare*, ROCHE, 4 - 7.

[18] <<http://www.osel.cz/index.php?clanek=1610>> [cit. 2006-12-01]

[19] <<http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD/hypertext/MSAAB.htm>> [cit. 2006-12-05]

[20] MIZEJEWSKI G. J.: Biological Roles of Alpha-Fetoprotein During Pregnancy and Perinatal Development, *Experimental Biology and Medicine* 229, 2004, 439 - 463.

[21] MASOPUST J.: Nádorové markery včera, dnes a zítra (1.část), *Labor Aktuell* 2, 2004, 4 – 8.

[22] <<http://www.mzcr.cz/l1.xml/data/c764/lib/msaac.htm>> [cit. 2007-02-04]

[23] JOHNSON P. J.: Role of Alpha-fetoprotein in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma, *J.Gastroenterol.Hepatol.* 14 (Suppl.), 1999, 32 - 36.

[24] <<http://www.mou.cz/mou/upload/jednotl.html>> [cit. 2007-02-03]

[25] KLEIST S.: Introduction to the CEA family, *Int.J.Biol. Marker* 7, 1992, 132 - 136.

[26] <<http://www.mzcr.cz/cgi-bin/toCP852/data/c764/lib/mzady.htm>>
[cit. 2007-02-03]

[27] KLEIST S., MIGULE I., HALLA B.: Possible function of CEA as cell-contact inhibitory molekule, *Anticancer Res.* 15, 1995, 1889 - 1894.

[28] HÖRIG H., MEDINA F. A., CONKRIGHT W. A., KAUFMAN H. L.: Strategies for cancer therapy using carcinoembryonic antigen vaccines, *Expert Reviews in Molecular Medicine*, Cambridge University Press ISSN 1462 - 3994, 2000.

[29] TAHERI M., SARAGOVI U., FUKS A., MAKKERH J., MORT J., STANNERS C. P.: Self Recognition in the Ig Superfamily, Identification of precise subdomains in carcinoembryonic antigen required for intercellular adhesion, *J. Biol. Chem.* 275 (35), 2000, 26935 - 26943.

[30] BAST R.C. ET ASCO TUMOR MARKER EXPERT PANEL: Clinical praktice quidelines for the use of tumor marker in breast and colorectal cancor, *J.Clin. Oncol.* 14 (10), 1996, 2843 - 2877.

[31] FATEH-MOGHADAM A., STIEBER P.: Sensible use of tumor markers, *J. Hartmann Verlag GBMH*, 1993.

[32] <<http://www.mzcr.cz/data/c764/lib/msaad.htm>> [cit. 2007-02-04]

[33] TYREY L.: Human chorionic gonadotropin: Properties and assay methods, *Seminars in Oncol.* 22, 1995, 121 - 129.

[34] <<http://www.chem.gla.ac.uk/protein/glyco/GPH.html>> [cit. 2007-01-30]

[35] ACEVEDO H. F.: Human chorionic gonadotropin (hCG), the hormone of life and death: a review, *Journal of Experimental Therapeutics and Oncology* 2, 2002, 133.

[36] HARA M., INOUE T., KOYANAGI Y. ET AL.: Immuno-electrophoretic studies of the protein components in human seminal plasma (especially its specific component), *Nippon Hoigaku Zasshi* 26, 1972, 78 – 80.

[37] PEŠL M., ZÁMEČNÍK L., SOUKUP V., DVOŘÁČEK J.: Prostatický specifický antigen a odvozené parametry, *Urologie pro praxi* 2, 2004, 59 – 63.

[38] <<http://www.mzcr.cz/l1.xml/data/c764/lib/msaai.htm>> [cit. 2007-02-04]

[39] ŠTERN P., VRANOVSKÝ K.: Imunochemické markery benigní hyperplazie a karcinomu prostaty, ÚKBLD VFN a 1.LF UK, KKB IPVZ Praha, Olympus C&S, FONS 2006.

[40] DOHERTY A., CRISTMAS T., EPSTEIN R.: Molecular and clinical aspects of prostate-specific antigen, *Tumor Marker Update* 9, 1997, 33 - 38.

[41] BRAWER M. K.: Prostate specific antigen, *Seminars in Surg.Oncol.* 18, 2000, 3 - 9.

[42] <<http://www.mzd.cz/data/c764/lib/msaar.htm>> [cit. 2007-01-31]

[43] COOPER E.H.: Neuron-specific enolase, *Int.J. Biol.Markers* 9, 1994, 205 - 210.

[44] BAUDIN E., GIGLIOTTI A., DUCREUX M., ROPERS J., COMOY E., SABOURIN J. C., BID J. M.,CAILLEUX A. F., BONACCI R., RUFFIE P., SCHLUMBERGER M.: Neuron-specific enolase and chromogranin A as markers of neuroendocrine tumours, *Br.J.Cancer* 78,1998, 1102 -1107.

[45] O'BRIEN TJ., TANIMOTO H., KONISHI I., GEE M.: More than 15 years of CA 125: What is known about the antigen, its structure and function, *Int.J.Biol.Markers* 13, 1998, 188 -195.

[46] Special Issue: CA 125 fifteen years later, *Int. J. Biol. Markers* 13, 1998, 177 - 245.

[47] ŠIMÍČKOVÁ M., NEKULOVÁ M., ČERNOCH M., VALÍK D.: *Nádorové markery* 2001, Roche, Praha 2001.

[48] <http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS3/hypertext/MSAAR.htm> [cit. 2007-01-31]

[49] MEYER T., RUSTIN G. J. S.: Role of tumor markers in monitoring epithelial ovarian cancer, *Br.J.Cancer* 82, 2000, 1535 - 1538.

[50] <<http://ustavpatologie.upol.cz/csVyuka.html>> [cit. 2006-12-05]

[51] BAST R.C. ET ASCO TUMOR MARKER EXPERT PANEL: Clinical practice guidelines for the use of tumor marker in breast and colorectal cancer, *J.Clin. Oncol.* 14, 1996, 2843 - 2877.

[52] <<http://www.mzcr.cz/l1.xml/data/c764/lib/msaae.htm>> [cit. 2007-03-04]

[53] ZHANG H. G., QI C., WANG Z. H., JIN G. AND XIU R. J.: Evaluation of a New CA15-3 Protein Assay Method: Optical Protein-Chip System for Clinical Application, *Clinical Chemistry* 51, 2005, 1038 - 1040.

[54] NECHTĚL B., WAND A. J., WROBLEWSKI K., KOPROWSKI H., THURIN J.: Conformational Analysis of the Tumor-associated Carbohydrate Antigen 19-9 and Its Le^a Blood Group Antigen Component as Related to the Specificity of Monoclonal Antibody CO19-9, *The Journal of Biological Chemistry* 265 (4), 1990, 2028 - 2037.

[55] FABRIS C., FALETTI E., PIRISI M., SOARDO G., TONIUTO P., VITULI D., BERTOLOTTI N., GONANO F., BARTOLI E.: Non-specific increase of serum carbohydrate antigen CA 19-9 in patients with liver disease associated with increased circulating levels of adhesion molecules, *Clin. Chim. Acta* 243, 1995, 25 - 33.

[56] FUJITA J., DOBASHI N., OHTSUJI Y., UEDA Z., BANDO S., YAMADORI I., TAKAHARA J.: Detection of large molecular weight cytokeratin 8 as a carrier protein of CA 19-9 in non-small-cell-lung cancer, *Br.J.Cancer* 81, 1999, 769 - 773.

[57] GREM J.: The prognostic significance of tumor markers in adenocarcinomas of the gastrointestinal tract, *Curr. Opin. Oncol.* 9, 1997, 380 - 387.

[58] KATARI R.S., FERNSTEN P.D., SCHLOM J.: Characterization of the shed form of the human tumor-associated glycoprotein (TAG-72) from serous effusions of patients with different types of carcinomas, *Cancer Res.* 50, 1990, 4885 - 4890.

[59] GUADANI F., ROSELLI M., FERRONI P., SPILA A., CAVALIERE F., CASALDI V., WAPNER G., ABBOLITO M. R., GREINER J. W. ET AL.: CA 72-4 serum marker - a new tool in the management of carcinoma patients, *Cancer Invest.* 13, 1995, 227 - 238.

[60] JACOBS A., PATH F. R., WOORWOOD M.: Ferritin in serum clinical and biochemical implications, *N Engl J Med* 292, 1975, 951 - 956.

[61] <<http://www.mzcr.cz/tolSO-8859-2/data/c764/lib/ajaow.htm>> [cit. 2007-03-17]

[62] THEIL E. C.: Ferritin: At the Crossroads of Iron and Oxygen Metabolism, *The American Society for Nutritional Sciences J. Nutr.* 133, 2003, 1549 - 1553.

[63] MOORE G. R., CHEESMAN M. R., KADIR F. H. A., THOMSON A. J., YEWDALL S. J., HARRISON P. M.: Spectroscopic identification of the haem axial ligands of haemoferritin and location of possible haem-binding sites in ferritin by molecular modelling, *Biochem. J.* 287, 1992, 457 - 460.

[64] KEIR G., TASDEMIR N., THOMPSON E. J.: Cerebrospinal fluid ferritin in brain necrosis: evidence for local synthesis, *Clin Chim Acta.* 216 (1-2), 1993, 153 - 166.

[65] Herbert V., Jayatilleke E., Shaw S., Rosman A. S., Gardina P., Grady R. W., Bowman B., Gunter E. W.: Serum Ferritin Iron, a New Test, Measures Human Body Iron Stores Unconfounded by Inflammation, *Stem Cells* 15, 1997, 291 - 296.

