

## Souhrn

Práce se zabývá studiem karbonické anhydrázy IX, která je přítomna na membránách buněk v kterých urologických nádorů , jako možného nádorového markeru.

Cílem studie bylo především: 1) vytvořit uvolněnou solubilní formy karbonické anhydrázy IX z buněk stabilních nádorových linií a z krátkodobých kultur lidských nádorů do kultivačního média, 2) stanovit koncentrace s-CA IX v tělních tekutinách u nemocných s RCC a UC, 3) zhodnotit vliv velikosti nádoru nebo gradeu na koncentrace s-CA IX a 4) pokusit se zhodnotit možnost využití stanovení s-CA IX jako možného markeru těchto nádorů .

Vytvořili jsme dvě skupiny: 1. nemocní s RCC, 2. nemocní s UC vývodných močových cest. V obou skupinách byly kromě pacientů s příslušnými nádory testovány kontrolní skupiny zdravých dobrovolníků a nemocných s nenádorovými onemocněními urogenitálního traktu a non-RCC nádory. U všech nemocných byla hodnocena velikost nádoru rtg zobrazovacími metodami (sono, CT, NMR), endoskopicky nebo změřením tumoru při patologickém vyšetření preparátu. K prokázání CA IX antigenu ve vzorcích nádorů jsme použili imunohistochemické barvení pomocí monoklonální protilátky MAb M75. V extraktech z nádorů a tělních tekutinách jsme koncentraci CA IX a s-CA IX stanovovali metodou western blot nebo ELISA.

Výsledky: V 1. skupině jsme v séru zjistili s-CA IX pouze v podskupině s prokázaným RCC. Z 35 vzorků jich bylo 26 (74,3 %) pozitivních. V množství v podskupině s RCC byl s-CA IX protein prokázán u 19 (63,3 %) z 30 vzorků . V kontrolní skupině byly všechny vzorky s-CA IX negativní.

Ve 2. skupině byl UC histologicky prokázán u 23 nemocných. Pozitivní nález s-CA IX v množství byl u 16 z nich (69,6%). Falešně negativní nález s-CA IX byl u 7 (30,4%) nemocných. Sérové koncentrace s-CA IX byly u všech UC pozitivních negativní. V kontrolní skupině byly všechny vzorky ať na jeden negativní. Vliv velikosti nádoru nebo jeho gradeu na koncentrace s-CA IX jsme neprokázali.

Zhodnocením dosažených výsledků jsme zjistili, že:

- 1) Dochází k uvolnění s-CA IX do média během kultivace CA IX pozitivních nádorových buněk v experimentálních kulturách. Tato solubilní forma CA IX je menší o intracytoplasmatický úsek a transmembránovou oblast. Na Western

blotu se zobrazuje jako dva proušky o molekulové hmotnosti 54 a 50 kDa proti CA IX, která má molekulovou hmotnost 58 a 54 kDa.

- 2) Koncentrace s-CA IX v kultivačním médiu experimentálních kultur se pohybují mezi 20-50 ng/ml.
- 3) Krátkodobě přeflívající kultury lidských RCC uvolňují CA IX jako s-CA IX do kultivačního média ve stejné koncentraci jako experimentální kultury.
- 4) Solubilní CA IX je stanovitelná v RCC souboru v séru u 74,3 %, v moči u 63,3 % pacientů a v UC skupině v moči u 69,6 % pacientů. V séru jsou u této skupiny koncentrace s-CA IX negativní.
- 5) Po chirurgickém odstranění nádoru ledviny dochází k rychlému poklesu koncentrace s-CA IX v séru s polosebou 1-2 dny.
- 6) U RCC velikost nádoru a grade statisticky významně neovlivňuje koncentraci s-CA IX v tkáňových tekutinách. U UC mnohem menší nádory (ve srovnání s RCC) produkují do moči prokazatelné množství s-CA IX, nebo antigen se neztrácí v krevním oběhu ani při filtraci ledvinami. Velikost a grade opět významně neovlivňují koncentraci s-CA IX v moči. Bohužel z výše citovaných technických důvodů je hodnocení zatíženo chybou malých souborů.
- 7) s-CA IX není detekovatelná v krvi nebo séru zdravých dobrovolníků.
- 8) K vhodnosti s-CA IX jako markeru RCC a UC se nelze z této práce vyjádřit. K nalezení odpovědi je nutné modifikovat vhodnou kvantitativní rutinní metodu ke stanovení s-CA IX a statisticky vyhodnotit v těchto souborech nemocných.