

## Souhrn

Hladina exprese mRNA MMP-7, TIMP-1 a MMP-2 byla signifikantně vyšší v nádorové maligním tkáni kolorektálního karcinomu než v normální kolorektální tkáni. Pomocí vhodných protilátek by mohlo být možné aktivitu matrixových metaloproteináz inhibovat, což by mohlo mít na nádorovou tkáň a její okolí léčebný efekt. Klinicky se již některé preparáty testují (Bay 12-9566 /fa Bayer/, BB94 /fa British Biotechnologi/). Neprokázali jsme korelaci mezi expresí těchto genů a stádiem onemocnění a diagnózou. Podařilo se nám prokázat, že při dodržování chirurgických pravidel při resekci střeva pro kolorektální karcinom, nemá resekční linie známky přítomnosti nádorových buněk – chybí přítomnost mRNA pro CEA.

Hladina mRNA pro TIMP-1 je v resekční linii přítomna v nižší hladině než v nádorové tkáni, což však souvisí s úlohou, kterou TIMP-1 ve střevě hraje. Její hladina je zvýšená při všech nádorových, ale i zánětlivých onemocněních tlustého střeva. Zda je zvýšená exprese mRNA pro TIMP-1 i mimo resekční linii, jedná-li se tedy o reakci tlustého střeva jako orgánu bude předmětem dalšího výzkumu, stejně tak i možné srovnání se vzorky nádorem a zánětem nepostíženého tlustého střeva. Úloha TIMP-1 jako prognostického markeru je předmětem dalšího zkoumání, ze všech studií však vyplývá, že použití TIMP-1 při screeningu kolorektálního karcinomu je nevhodné vzhledem ke značné nespecifitě tohoto markeru.

Pro stanovení mRNA v periferní krvi jsme použili dvě odlišné metodiky. První metodikou ( izolace volné RNA z plazmy ) se nám nepodařilo mRNA pro CK 20 ani pro CEA detekovat. Druhou metodikou (izolace RNA z buněk zachycených na membráně Millipore) jsme mRNA CEA nedetekovali, ale podařilo se nám detekovat mRNA CK 20 u 13 vzorků 11 pacientů. Při hodnocení přítomnosti mRNA CK 20 v periferní krvi těchto pacientů a srovnání s vývojem jejich nádorového onemocnění ( progres x remise ) ani srovnáním s stadiem a gradingem primárního nádoru jsme žádnou souvislost nezaznamenali. Stanovení mRNA CK 20 a CEA v periferní krvi výše uvedenou metodikou se nám jeví pro klinické účely prakticky nevyužitelné. Přes veškerý optimismus řešitelského kolektivu stran novým metod se použití stávajících imunoanalytických metod stanovení nádorových markerů jeví jako nezastupitelné.

Porovnály jsme sérové hodnoty nádorových markerů u kontrolní skupiny zdravých osob a nemocných s akutním zánětlivým onemocněním a dále u nemocných s benigním onemocněním GIT (Crohnova choroba). Především u proliferativního markeru thymidinkinázy (TK) a cytokeratinů TPA a TPS byl zaznamenán statisticky významný rozdíl, u pacientů s benigním onemocněním GIT byly signifikantně vyšší hodnoty TK. Tento výsledek je v souladu s odbornou literaturou. Prognostický význam CEA byl prokázán u našeho souboru

nemocných, kde byl stanoven signifikantní vztah mezi elevací předoperačních hodnot CEA a celkovým přežitím a to jak při použití laboratorní, tak optimalizované cut off. V případě laboratorní cut off bylo pro celkové přežití významné stanovení TPA, v případě optimalizované cut off stanovení CA 19-9, což je opět v souladu s výsledky prací některých autorů. Pro posouzení významu těchto markerů však bude třeba delší follow up. V případě bezpříznakového přežití bylo nejlepšího výsledku opět dosaženo u předoperačních hodnot

CEA, jehož signifikance byla při použití laboratorních cut off potvrzena nejen univariační, ale také multivariační analýzou. Pacienti s předoperační elevací CEA měli 11x větší pravděpodobnost progresu, než pacienti s normálními hodnotami. V našem souboru pacientů nejlépe reagoval na resekční terapii pokles pooperačních hodnot CEA. V případě nádorového markeru CA 19-9 nedošlo k žádné změně mezi hladinami před a pooperačních hodnot, u nádorového markeru TPS, který byl v našem souboru pooperačně sledován došlo naopak k výraznému vzestupu pooperačních hodnot, což bylo nejspíše spojeno s reparačními pochody po provedené operaci. Lze konstatovat, že pro kontrolu úspěchu chirurgické léčby je nejvíce vhodné sledovat před- a pooperační hodnoty CEA. Při 95% specifitě bylo nejvyšších senzitivit bylo dosaženo u nádorového markeru TPS (83%), senzitivity klasických nádorových markerů CEA a CA 19-9 byly podstatně nižší (41% respektive 25%). Tyto hodnoty jsou poněkud překvapivé, především pro nízkou senzitivitu klasických nádorových markerů. Vysvětlením může být charakteristika souboru, kde do grantové studie vstupovali pacienti s lokálně pokročilým onemocněním střeva (stadia I-III., tzn. Maximálně s nádorovým postižením lokoregionálních uzlin), pouze u dvou pacientů byly perioperačně zjištěny distální metastázy do jater. Dále jde i o charakter recidiv, kde se ve více než v 50% jednalo o lokoregionální recidivu. Výsledky je třeba interpretovat opatrně pro malý počet relapsů

vzhledem ke krátkému follow up, nicméně se TPS zdá jako slibný marker pro follow up pacientů s kolorektálním karcinomem. Jako ideální se proto zdá kombinace CEA a TPS.