

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni



Význam stanovení nádorových markerů a
markerů angiogeneze pro prognózu
kolorektálního karcinomu

Dizertační práce

MUDr. Miroslav Levý

Obor: Vnitřní nemoci

Školitel: odb. as. MUDr. Ludmila Lipská, PhD.

SEZNAM ZKRATEK:	5
ÚVOD:	7
SOUČASNÝ STAV PROBLEMATIKY	10
Kolorektální karcinom	11
Epidemiologie.....	11
Kancerogeneze.....	16
Faktory podílející se na vzniku kolorektálního karcinomu	16
Predisponující změny	17
Imunologie KRC:	21
Rizikové faktory.....	22
Chemoprevence	22
Prognostické faktory.....	22
Léčba kolorektálního karcinomu	24
Chirurgická léčba – zásady	25
Chirurgický standard léčby nádorů kolon.....	26
Chirurgický standard léčby karcinomu rekta.....	26
Chirurgická léčba pokročilého kolorektálního karcinomu	26
Lokálně pokročilý kolorektální karcinom.....	27
Pokročilý kolorektální karcinom – stadium IV.....	27
Chirurgická léčba karcinomatózy peritonea.....	29
Adjuvantní a neoadjuvantní terapie	30
Paliativní léčba	31
Sledování pacientů po operaci pro KRC.....	33
Nádorové markery	37
Definice	37
Klinicko- biochemické rozdělení nádorových markerů.....	39
Markery nesledované u kolorektálního karcinomu:.....	40
Charakteristika nádorových markerů používaných či zkoumaných u KRC	41
Karcinoembryonální antigen (CEA)	41
CA 19-9	42
CA 242.....	43
TPA , TPS, CYFRA 21-1	43
ICAM, VCAM	43
TK- thymidinkináza	44
Insulin-like growth factor	44
Leptin	45
Adiponektin	45
VEGF	46
Klinické využití nádorových markerů	46
Diagnóza, screening a prognóza.....	46
Monitorace onemocnění	46
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	48
Cíl práce:	49
Metodika:	50
Soubor pacientů:.....	50
Soubor pacientů s kolorektálním karcinomem.	50
Kontrolní skupina pacientů	52
Laboratorní analýzy.....	55
Preanalytika	55

Interpretace výsledků a faktory ovlivňující výsledky nádorových markerů	57
Statistické vyhodnocení	57
Výsledky:	60
Diskuze	74
Závěr:	79
Závěry vyplývající ze studie	79
Závěry pro rutinní praxi	80
Perspektivy:	82
SOUHRN	83
SUMMARY	85
SEZNAM TABULEK, GRAFŮ A OBRÁZKŮ	87
LITERATURA	89
PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA	95

Seznam zkratk:

ACRP	adipocyte compliment related protein
ACTH	adrenokortikotropní hormon
ADH	antidiuretický hormon
AFP	alfa fetoprotein, nádorový marker
APC	supresorový gen
ASCO	American Society for Clinical Oncology
AUC	area under curve - plocha pod ROC křivkou
B2M	nádorový marker - beta 2 mikroglobulin
BGP	biliární glykoprotein
CA 125	nádorový marker
CA 15-3	nádorový marker - bílkovinný produkt MUC1 genu
CA 19-9	nádorový marker - onkofetální antigen
CA 50	nádorový marker - uhlohydrátový antigen
CA 72-4	nádorový marker glykoproteinového typu
CEA	karcinoembrionální antigen
CT	computerová tomografie
CYFRA 21-1	nádorový marker - fragment cytokeratinu
DCC	supresorový gen
DFI	disease free interval
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EBM	evidence based medicine
EGF	epidermální růstový faktor
EGTM	European Group on Tumor Markers
ESMO	European Society for Medical Oncology
FSH	folikulostimulační hormon
FTNsP	Fakultní Thomayerova nemocnice s poliklinikou
Gy	gray - jednotka záření
HNPCC	hereditární nepolypózní kolorektální karcinom
ICAM	adhezivní molekula
IGF-1	inzulinu podobný růstový faktor
IGFBP	Insulin-like Growth Factor Binding Protein
IL- x	interleukiny
IORT	intraoperační radioterapie
K-ras	supresorový gen
KRC	kolorektální karcinom
LASA	s lipidy asociovaná kyselina sialová
LDH	laktátdehydrogenáza
LH	luteinizační hormon
LiTT	laserová hypertermie
LOH	ztráta heterozygoty
Mab	myší protilátka
MCT	mikrovlákná koagulační terapie
MMP	matrixmetaloproteázy
MSI	mikrosatelitní nestabilita
MVD	kapilární hustota
NCA	nespecifický cross-reaktivní antigen
NO	oxid dusnatý
NSAID	nesteroidní protizánětlivé léky
NSE	nádorový marker -neuron specifická enoláza
OS	absolutní přežití
p53	supresorový gen
PDGF	destičkový růstový faktor

PEI	perkutánní injekce ethanolu
PET	pozitronová emisní tomografie
PF-4	destičkový faktor 4
PLAP	placentární alkalická fosfatáza
PSA	nádorový marker - prostatický specifický antigen
RA	revmatoidní artritida
RFA	radiofrekvenční ablace
ROC	Receiver Operating Characteristic curve
RR	response rate
RS	roztroušená skleróza
	nádorový marker - antigen asociovaný se skvamózními buňkami
SCC	
SLE	systemový lupus erythematoses
SN	senzitivita nádorového markeru
SP	specifita nádorového markeru
TACE	transarteriální chemoembolizace
TG	thyreoglobulin
TGF- β	nádorový růstový faktor β
TIMP	tkáňový inhibitor matrixmetaloproteáz
TK	thimidinkináza
TNF	tumor necrosis faktor
TNM	mezinárodní nádorová klasifikace
TPA	tkáňový aktivátor plazminogenu
TSH	thyreostimulační hormon
UICC	international union against cancer
UZ	abdominální ultrasonografie
VCAM	adhezivní molekula
VEGF	vaskulární endoteliální růstový faktor
β -hCG	nádorový marker - lidský choriový gonadotropin

Úvod:

Přes rozsáhlé pokroky v poznání molekulární podstaty vzniku maligního nádoru, rozmach chemoterapie i posouvání hranic chirurgické léčby zůstává kolorektální karcinom na předním místě jako příčina úmrtí na celém světě.

Ve snaze snížit mortalitu na tento druh rakoviny se vyhledávají nejrozličnější markery kolorektálního karcinomu. Ty by měly vést k časnější diagnóze, určení agresivity nádorového růstu a schopnosti metastazovat, předpovědění citlivosti na různé druhy chemoterapie (přesun ke kauzální léčbě) či eventuelní rezistence na radioterapii a také k monitoraci průběhu onemocnění u pacientů po kurativní chirurgické intervenci. Chirurgická léčba samotná již dosahuje z hledisek onkoradikality svých mezí, a proto se i chirurgové obracejí k molekulárním základům nádorového bujení ve snaze nalézt markery, které umožní rozlišit nádory podle jejich biologického chování a tomu přizpůsobit extenzivitu chirurgické léčby, a také markery, které po úspěšné operaci umožní sledovat průběh onemocnění pacienta a odhalí případnou recidivu onemocnění včas, aby chirurg mohl opět kurativně zasáhnout.

Dizertační práce „Význam stanovení nádorových markerů a markerů angiogeneze pro prognózu kolorektálního karcinomu.“ vznikla na základě dlouholeté spolupráce mateřského pracoviště autora (Chirurgická klinika 1.LF UK a fakultní Thomayerovy nemocnice s poliklinikou Praha 4, přednosta doc. MUDr. Vladimír Visokai, PhD.) a Oddělení nukleární medicíny, úsek imunodiagnostiky Fakultní nemocnice Plzeň (Přednosta: prof. MUDr. Ondřej Topolčan, CSc.). Práce vznikla s přispěním grantu GAAV IAA500200917.

Práce je rozčleněna do následujících základních kapitol:

V kapitole „Přehled současného stavu problematiky“ je uveden základní přehled o epidemiologii, karcinogenezi, procesu metastazování a léčbě kolorektálního karcinomu. Je zde rozebrán proces maligní transformace buňky a charakteristika parametrů biologické aktivity nádoru – nádorových markerů.

Ve vlastní experimentální části jsou vytyčeny cíle, je uvedena charakteristika sledovaného souboru nemocných s kolorektálním karcinomem a kontrolního souboru zdravých jedinců. Jsou zde podrobně rozebrány metodiky laboratorního stanovení jednotlivých parametrů biologické aktivity nádorů,

způsob jejich klinického vyhodnocení a metody použité ke statistickému vyhodnocení jednotlivých parametrů.

V kapitole „Výsledky“ a „Diskuze“ jsou analyzovány výsledky z období let 2001 – 2008, které jsou komentovány a porovnávány s literárními údaji.

V kapitole „Závěry“ je diskutován význam stanovení jednotlivých parametrů v léčbě kolorektálního karcinomu.

V poslední části práce je souhrn v českém a anglickém jazyce, seznam použité literatury a dále přehled publikační činnosti autora.

Poděkování

Jakákoliv práce jak v klinické tak v experimentální medicíně vyžaduje spolupráci kolektivu pracovníků jak při získávání a zpracování vzorků, tak při vlastní léčbě a sledování pacientů. Při zpracovávání vlastní dizertační práce je dále zapotřebí obrátit se k vědecky zkušenějším kolegům o radu a pomoc při formulování hypotéz, předkládání a hodnocení výsledků a také při sestavování vlastní práce. Mnoha mým spolupracovníkům patří poděkování, jmenovitě musím poděkovat především:

Doc. MUDr. Vladimíru Visokaiovi, PhD., přednostovi Chirurgické kliniky 1. LF UK a fakultní Thomayerovy nemocnice, který mne provází klinickou medicínou od mého nástupu na kliniku v roce 1997 a díky jehož podpoře vědecké práci mé postgraduální studium mohlo úspěšně proběhnout,

prof. MUDr. Ondřeji Topolčanovi, CSc., který nás přivedl ke zkoumání biologické aktivity nádoru, všechna vyšetření navrhl, posléze na jeho pracovišti realizoval a v neposlední řadě vyhodnotil,

odb. as. MUDr. Ludmile Lipské, PhD., za neutuchající nové podněty k další práci, dále v neposlední řadě za to že v průběhu mého postgraduálního studia převzala roli mého školitele a dovedla mne až k obhajobě,

doc. MUDr. Luboši Holubcovi, PhD., který mne jako školitel vedl v počátku mého studia a spolupracoval dále při zpracování a vyhodnocení materiálu,

doc. RNDr. Ladislavu Pecnovi, CSc., který zpracoval statistickou analýzu této práce,

MUDr. Šárce Svobodové, PhD., která významně přispěla k kolekci dat a jejich zpracování a prezentaci,

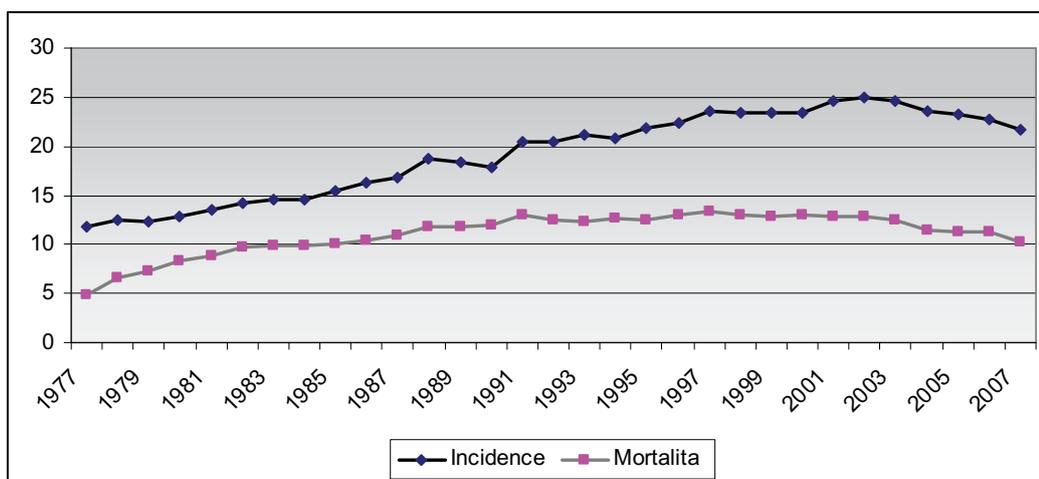
a v neposlední řadě všem kolegům a mým blízkým, kteří mi umožnili na dizertační práci pracovat.

Současný stav problematiky

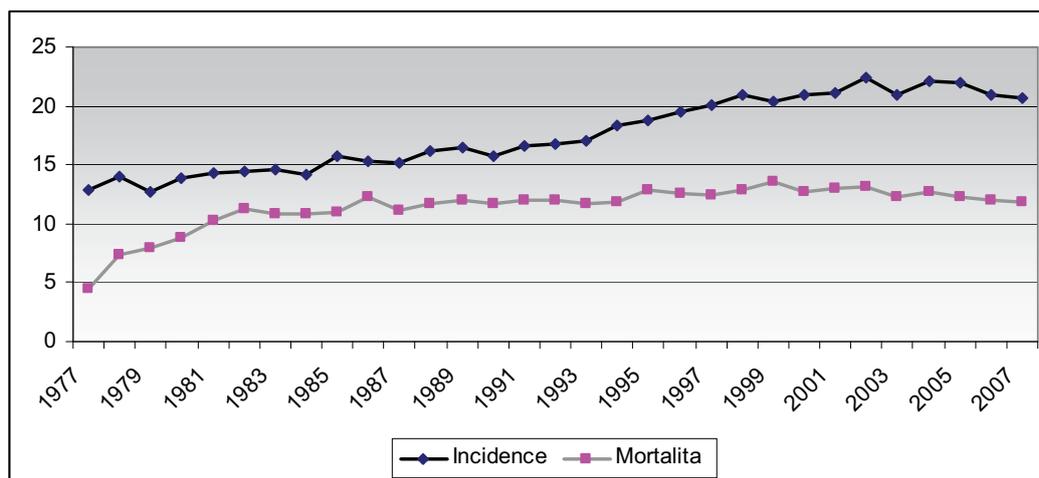
Kolorektální karcinom

Epidemiologie

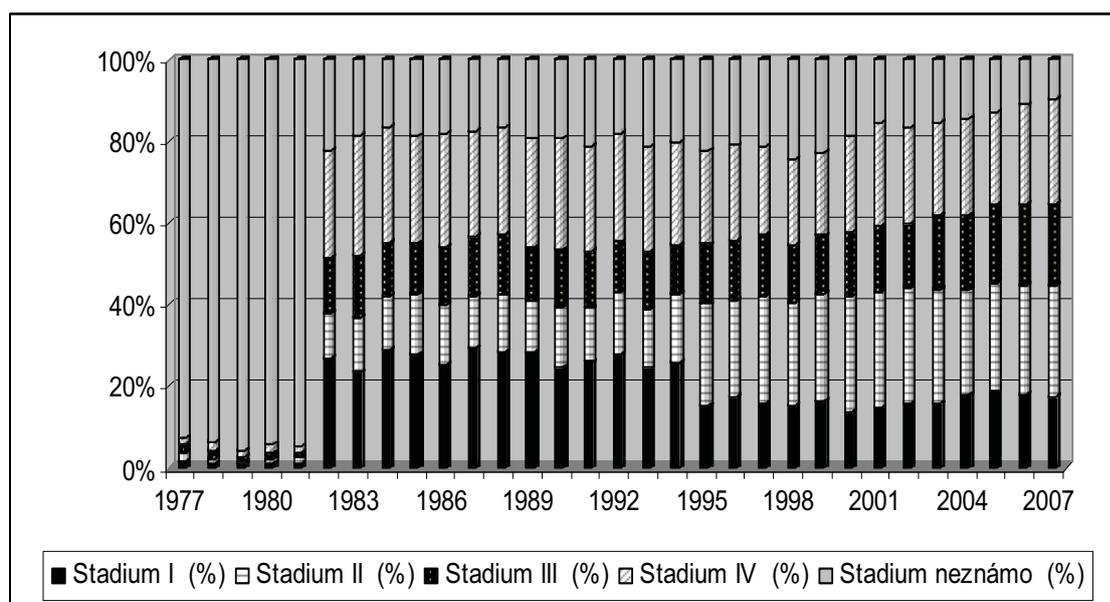
Kolorektální karcinom (KRC) se řadí ve vyspělých zemích na první místo jako příčina úmrtí u malignit orgánů dutiny břišní a na druhé místo jako příčina smrti u všech nádorových onemocnění. V České republice se na všech zhoubných nádorových onemocněních podílí cca 15%. Postihuje především věkové skupiny nad 50 let, s mírnou převahou mužů. Ročně u nás nově onemocní kolorektálním karcinomem kolem 7000 osob, přes 4000 lidí ročně na toto onemocnění zemírá a drtivá většina z nich s metastatickým postižením jater. Někteří autoři udávají výskyt jaterních metastáz u kolorektálního karcinomu až v 60%¹. V roce 2004 byl u KRC zaznamenán mírný pokles incidence a mortality. Z mezinárodního hlediska se jedná o malé změny a incidence a mortalita KRC je v ČR hodnocena stále jako velmi vysoká². Grafy č. 1 – 7, tabulka č. 1.



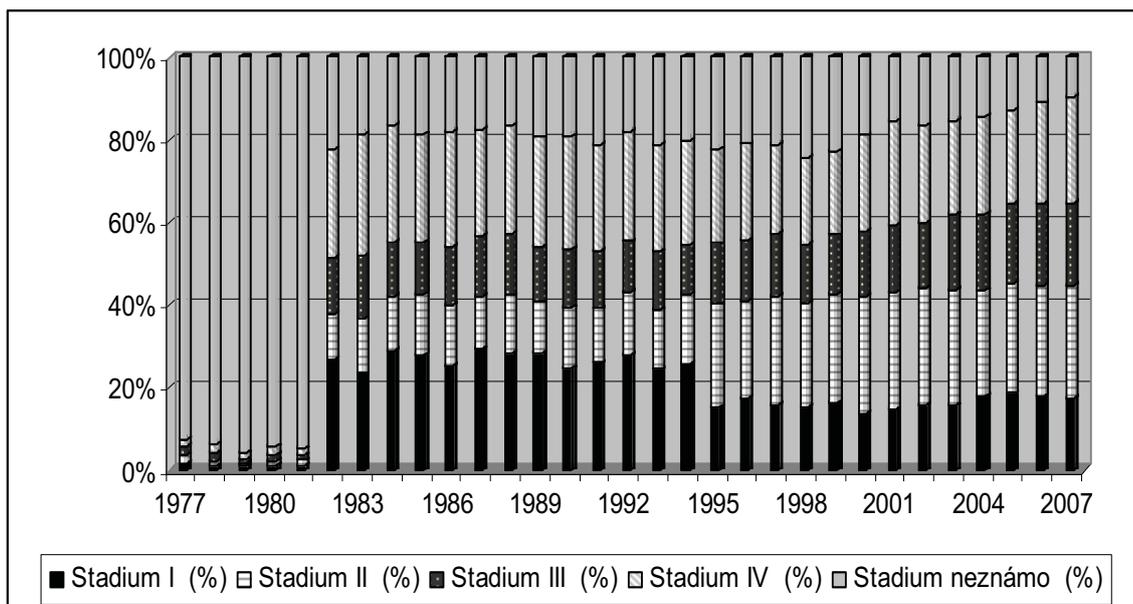
Graf č. 1: Incidence a mortalita karcinomu kolon /100 000 obyvatel, zdroj ÚZIS



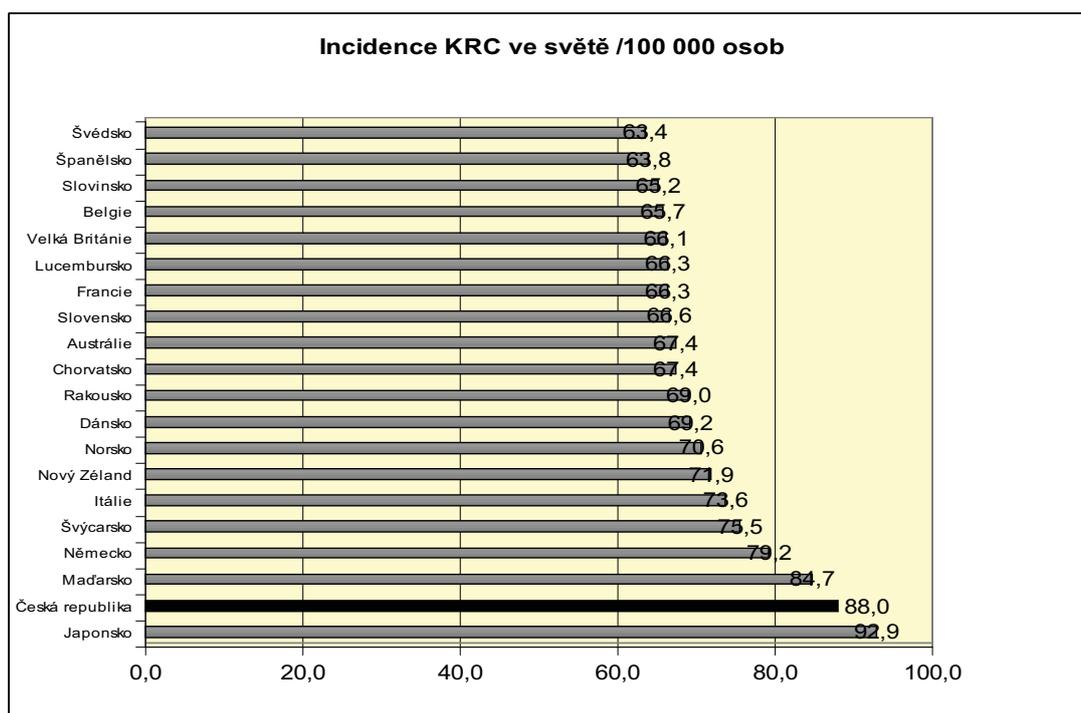
Graf č. 2: Incidence a mortalita karcinomu rekta /100 000 obyvatel, zdroj ÚZIS



Graf č. 3: Vývoj zastoupení klinických stádií u karcinomu kolon, zdroj dat ÚZIS



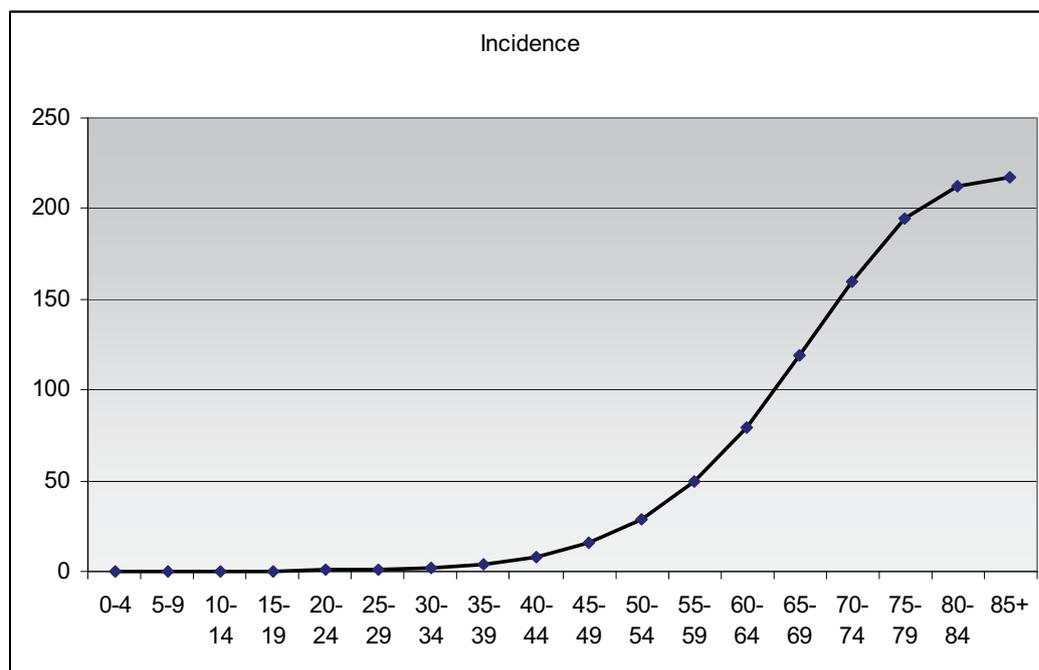
Graf č. 4: Vývoj zastoupení klinických stádií karcinomu rekta, zdroj dat ÚZIS



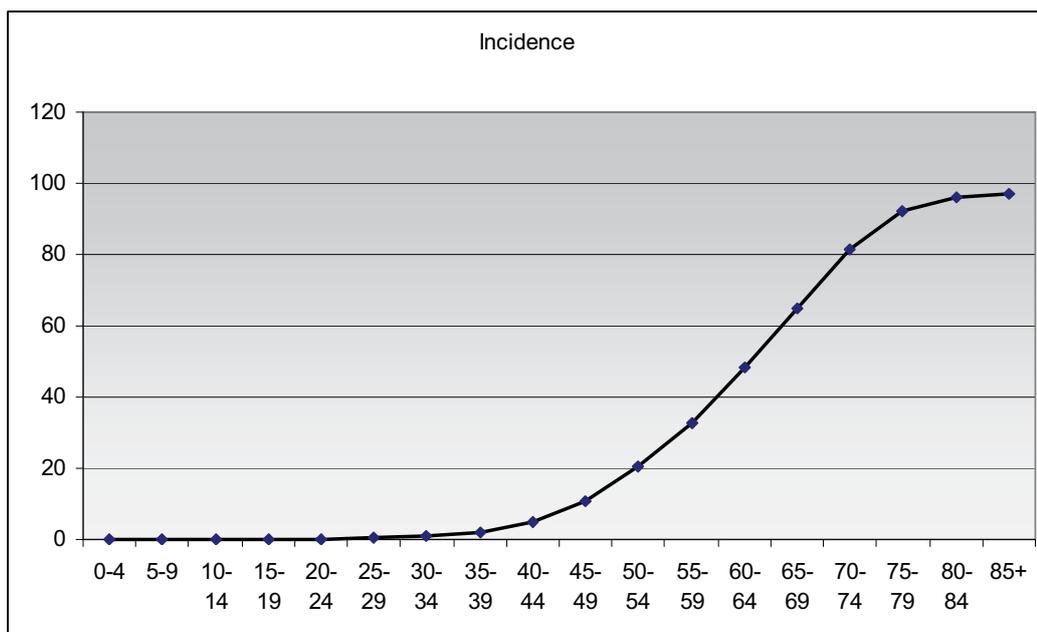
Graf č. 5: Srovnání incidence kolorektálního karcinomu v ČR se světem, zdroj Globocan 2002

	Věk	Pořadí KRC v závislosti na incidenci
ŽENY	31-40	5. (za nádory cervixu, prsu, ovaria, melanom)
	41-50	4. (za Ca prsu, cervixu, ovaria)
	51-60	3. (za Ca prsu, dělohy)
	61-70	2. (za nádory prsu)
	Nad 70	1. v pořadí
MUŽI	31-40	2. (za nádory testes)
	41-50	2. (za nádory plic)
	51-60	2. (za nádory plic)
	61-70	2. (za nádory plic)
	Nad 70	2. (za nádory plic)

Tabulka č.1: Incidence kolorektálního karcinomu v jednotlivých věkových kategoriích ve srovnání s ostatními nádorovými lokalizacemi³.



Graf č. 6: Incidence karcinomu kolon, počet případů na 100 000 osob ve věkové kategorii, zdroj ÚZIS



Graf č. 7: Incidence karcinomu rekta, počet případů na 100 000 osob ve věkové kategorii, zdroj ÚZIS

Kancerogeneze

Kolorektální tumory typicky začínají na základě DNA mutace, případně více mutací, postihující jedinou epitelální buňku. Jejím následným dělením dochází k hromadění dalších genetických variací v důsledku poruch přirozených opravných a kontrolních systémů replikace DNA. Dochází ke genetické nestabilitě, jejímž projevem je ztráta funkcí regulujících buněčný cyklus a nekontrolovatelné dělení buněk s vysokou invazivitou a schopností metastazování⁴.

Faktory podílející se na vzniku kolorektálního karcinomu

Na vzniku kolorektálního karcinomu se podílejí jednak faktory hereditární a dále faktory exogenní. Faktory exogenní odpovídají především za výskyt nádorů v sestupném tračníku, sigmoideu a konečniku. Faktory hereditární odpovídají především za familiární výskyt karcinomů v oblasti céka a vzestupného tračníku.

Exogenní faktory:

- nadbytek tuků v potravě
- nedostatek vlákniny v potravě
- nevhodná tepelná úprava stravy
- nedostatek vápníku v potravě (snížená schopnost detoxikace žlučových kyselin ve střevě), nedostatek vitamínů A, C, E a selenu (snížená ochrana před toxickým efektem volných kyslíkových radikálů)
- kouření a alkohol (významné pro oblast konečniku)

Hereditární faktory:

- Syndromy mnohotné adenomatózní polypky
 - o familiární adenomatózní polypóza
 - o Gardnerův syndrom - familiární autozomálně dominantní onemocnění způsobené mutací *APC genu - 5 q*; riziko maligního zvratu je až 100 %
 - o Peutz – Jeghersův syndrom
 - o Turcotův syndrom

syndromy familiárního výskytu nepolypózních karcinomů tlustého střeva

hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC) (Lynchův syndrom I, II - mutace alel genu hMSH2 – 2 q, hMLH1 – 3 q popř. hPMS1, hPMS2; Lynchův syndrom I je familiární výskyt kolorektálního karcinomu bez polypózy, Lynchův syndrom II je sdružený s výskytem nádorů v dalších lokalizacích⁵

Epidemiologické studie prokazují, že přírodní příbuzní nemocných mají 3 až 4x vyšší pravděpodobnost onemocnět kolorektálním karcinomem⁶. Více než 85 % případů kolorektálních nádorů je však sporadických, vznikajících primárně na základě působení vnějších faktorů⁷.

Predisponující změny

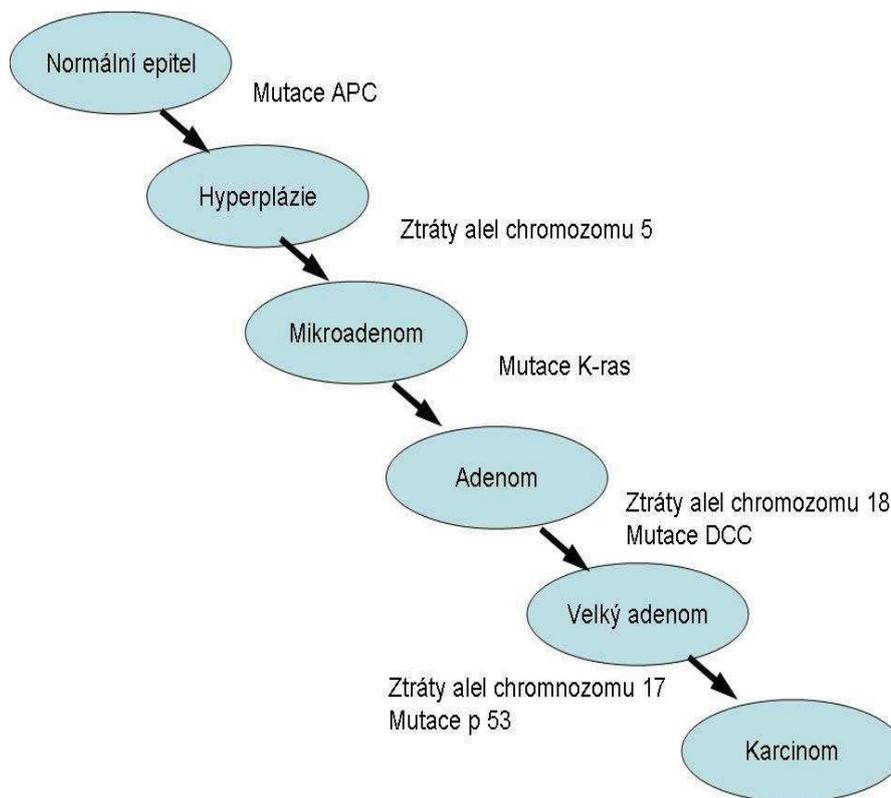
Adenomatózní polypy: riziko maligního zvratu závisí na velikosti a histologické skladbě polypů, stoupá od tubulárních, přes tubulovilózní a vilózní adenomy, maligní zvrat se uvádí ve 30 – 50 %, přibližně 80% KRC vzniká z adenomatózních polypů⁸.

Ulcerózní kolitida: častý maligní zvrat, pravděpodobnost stoupá s délkou trvání kolitidy - 5 % po 20 letech, 12 % po 25 letech; při zánětlivém postižení celého střeva je pravděpodobnost vzniku karcinomu až 35 %.

Crohnova choroba: maligní zvrat méně častý než u ulcerózní kolitidy, karcinomy vznikají obvykle v postižené části střeva.

Předcházející karcinom tlustého střeva znamená zvýšené riziko vzniku nového karcinomu.

Vogelsteinův model⁹ vývoje kolorektálního karcinomu z adenomových polypů popisuje výskyt somatických mutací u několika onkogenů a tumor supresorových genů (APC, K-ras, DCC, p53), Obr. č.1.



Obr. č. 1: Vogelsteinův model kancerogeneze

Kromě tohoto modelu existují i jiné dráhy vzniku KRC. Mezi ně patří dráhy zahrnující poruchy přirozené buněčné smrti - apoptózy. Další geny, u kterých byla také vysledována souvislost s kolorektálním karcinomem jsou hMSH2 (2p16), hPMSI (2q31-33), hMLHI (3p21), APC (5q21), MCC (5q21), hPMS2 (7p22), DRA (7q22-q31), Rb-1 (13q14), TP53 (17p13), nm23 (17q22), DCC (18q21), Ras-K (12p), N(1p), H(11p) a c-myc (8q24).

Vznik nádoru je předurčen vznikem první nádorově transformované buňky v důsledku mutace nebo strukturálních změn genetické výbavy buňky. Výsledkem je nekontrolovatelná aktivita onkogenů a porucha regulačního vlivu onkosupresorických genů. Pokud existující a množící se nádorové buňky jsou schopné invazivně prorůst do okolní tkáně nebo do cévního řečiště, spolu se schopností angiogeneze, dochází k růstu skutečně zhoubného nádoru. Pokud nádorové buňky nemají schopnost invazivního růstu a metastazování, důsledkem klonální proliferace transformované buňky je vznik benigního nádoru. S růstem intenzity angiogeneze se zhoršuje prognóza nádorového onemocnění a zvyšuje se riziko vzniku metastáz. Předpokladem metastazování je metastatická kapacita nádoru čili jeho pohotovost

k metastazování (propensity to metastasis). Metastazování nádorů je proces vyžadující specifické vlastnosti nádorové populace spočívající v uvolnění nádorových buněk z mezibuněčných kontaktů, zvětšení masy nádoru, proteolytické invazi přes cévní stěnu do krevního nebo lymfatického systému – intravazaci, schopnosti přežít odlišné podmínky, vytvoření mikrotrombů, aktivaci hemokoagulačních mechanismů a transport v krevním oběhu, schopnosti uchycení v kapilárách cílového orgánu s optimálními podmínkami pro růst nové kolonie buněk, invazi cévní stěnou do cílové tkáně - extravazaci a díky schopnosti angiogeneze i růst nového nádoru ve vzdáleném orgánu – distanční metastázy.

Matrixmetaloproteázy

Jedná se o skupinu proteolytických enzymů, které působí svým proteolytickým účinkem na bazální membránu endotelií a extracelulární matrix¹⁰. V současné době je klasifikováno přes 20 matrix metaloproteáz (MMP). Matrix metaloproteázy ovlivňují nejen invazi nádoru do bezprostředního okolí, ale ovlivňují také migraci buněk v místě tvorby vzdálených metastáz a vytvářejí také prostor pro nově vznikající cévy.

Antagonisticky působí jejich tkáňové inhibitory TIMP (tissue inhibitor of metalloprotease). Ty stabilizují bazální membrány, které se pod vlivem TIMP stávají odolné vůči účinku proteolytických enzymů. Právě proto jsou předmětem intenzivního zkoumání směřujícího k možnosti jejich léčebného využití k stabilizaci bazálních membrán a tím i ke kauzální léčbě metastáz.

Angiogeneze

Rostoucí nádorové ložisko může bez cévního zásobení, kdy přívod kyslíku a živin je zajištěn prostou difúzí, dosáhnout nejvýše rozměrů 1 - 2 mm³. Nádor zůstává vitální, proliferace je určitou dobu v rovnováze s apoptózou. Hypoxický nádor je však geneticky nestabilní, vznikají v něm četné mutace, např. mutace genu p 53, aktivace genu Ki-ras, která vedou k potlačení produkce antiangiogenního trombospondinu, zvyšuje se produkce VEGF a dalších angiogenních faktorů. Tato změna fenotypu nádorových buněk, označovaná též jako "angiogenní switch", zahájí skokem proces angiogeneze¹¹.

Angiogeneze je stimulována nádorovými buňkami zejména těmi, které podněcují výdej VEGF, klíčového angiogenního faktoru. Nejvýznamnějším podnětem pro výdej VEGF je hypoxie, při níž vzniká specifický stimulátor exprese VEGF nazývaný hif-1 (hypoxia inducible factor). Vysoká aktivita NO

syntetázy v nádorové tkáni působí vzestup koncentrace NO, který zvyšuje mitogenní účinky VEGF.

Kromě angiogenetických faktorů se při angiogenezi uplatňují již výše zmíněné matrix metaloproteázy s jejich působením na bazální membránu. Rozrušení bazální membrány usnadňuje migraci endotelií (ale také migraci nádorových buněk a jejich metastazování). Migrující endotelie produkují specifické integríny zajišťující jejich životnost. Porušenou membránou uniká z cév fibrinogen a plazminogen, vznikají extravaskulární depozita fibrinu, která vytvářejí podpůrnou matrici pro růst novotvořené cévy. Vaskularizace nádorového ložiska umožní perfúzi nádoru a jeho další růst. Jakmile dosáhnou cévy k nádorovému ložisku, uplatní se v dalších interakcích též parakrinní mechanismy, jimiž se obě populace (nádorové buňky a endotelie) vzájemně ovlivňují. Endoteliální mitogeny (bFGF, PDGF, IGF-1, G-CSF, IL-6, IL-8) stimulují nádorové buňky a mitogeny uvolňované nádorovými buňkami (bFGF, VEGF, PD-, ECGF) stimulují proliferaci endotelií. Úměrně intenzitě angiogeneze se zhoršuje prognóza nádorového onemocnění a zvyšuje se riziko vzniku metastáz. Intenzitu angiogeneze lze určit morfologickými metodami v histologických vyšetřeních, zejména na okraji nádoru, kde bývá angiogeneze nejintenzivnější (tzv. MVD = microvessel density)

Oblasti intenzivní angiogeneze (tzv. „hot spots“) lze odhalit monoklonálními protilátkami proti endoteliím nebo protilátkami proti adhezním molekulám CD32 a CD34, event. protilátkami proti von Willebrandovu faktoru.

Kromě faktorů, které angiogenezi podporují, existují i faktory s antiangiogenními účinky. Mezi nejvýznamnější a spolehlivě identifikované faktory patří Trombospodin, Angiostatin, Endostatin, PF-4, TGF- β , IL-12, IL-18, TIMP 2. Inhibice angiogeneze je již v současnosti léčebně využívána¹⁹ a bude v budoucnu nepochybně výrazným přínosem v terapii nádorového onemocnění.

Apoptóza

Buňka potřebuje určitý impuls k tomu, zda bude proliferovat, či nastoupí cestu programové smrti. Blokáda přirozené smrti nádorové buňky prodlouží její životnost a může vést k progresi nádorového onemocnění. Naopak indukce této programové smrti buňky vede ke snížení četnosti nádorové populace a z klinického hlediska k regresi nádoru. Apoptotický zánik buňky se jednoznačně odlišuje od zániku buňky nekrózou. Programová smrt buňky, nebo-li apoptóza je geneticky podmíněný proces. Dochází k expresi specifických genů (tzv. geny buněčné smrti), které aktivují endonukleázy. Endonukleázy pak za

přítomnosti Ca^{2+} a Mg^{2+} štěpí DNA na četné oligonukleozomální fragmenty a působí rozpad buněčného jádra a zánik buňky. Při apoptóze na rozdíl od nekrózy, dochází k poškození buňky z jejího nitra. Dochází ke kondenzaci jaderného chromatinu, k agregaci organel a ke svrašťování buňky. Na buněčné membráně se objevují puchýřky, z buňky se postupně uvolňují tzv. apoptotická tělíška - fragmenty s intaktními zbytky buněčných organel, a ta jsou postupně fagocytována. Při nekróze dochází naopak k poškození buňky vlivy působícími z vnějšího prostředí (hypoxií, toxiny, tepelnými změnami apod.). Nejdříve dochází k porušení membrány a obsah buňky se uvolňuje do okolí a tím se prostřednictvím různých mediátorů a cytokinů indukuje zánětlivá reakce. Mezi inhibitory apoptózy patří různé růstové faktory, pohlavní hormony a produkty onkogenů. V současné době jsou induktory a inhibitory apoptózy předmětem intenzivního výzkumu. K nejvíce zkoumaným patří mutace tumor supresorového genu p53 a mutovaného proteinového produktu p53¹². Výsledky prováděných studií však zatím nevedly ke zcela jednoznačným závěrům a mnohé z nich jsou rozporuplné. Studie zabývající se významem ostatních výše zmiňovaných faktorů (ras genu, proteinu bcl-2, bax, p21, p16 apod.) nejsou zatím zcela jednoznačné a musí být ověřeny prospektivně ve srovnání s markery, které jsou v diagnostice kolorektálního karcinomu běžně používány¹³. Perspektivní se zdá využití možnosti ovlivnění procesu apoptózy k léčebným účelům. Již dnes je popisován účinek některých chemoterapeutik či antihormonální terapie právě indukci apoptózy. Opačná cesta, tj. potlačení inhibitorů apoptózy je předmětem výzkumu. Ke sledování účinnosti protinádorové chemoterapie se zdá být výhodné sledování cirkulujících nukleozomů v krvi, jejichž zvýšené hodnoty korelují s indukci apoptózy.

Imunologie KRC:

Pacienti s kolorektálním karcinomem jsou imunosuprimovaní kvůli řadě faktorů včetně stáří a nutričního stavu. Kolorektální karcinom má přímý imunosupresivní účinek jak ukazují studie vykazující normalizaci imunologických funkcí po úspěšné chirurgické léčbě. Imunitní suprese nastává postupně na molekulární a buněčné úrovni tolerancí nádoru, následně se šíří po celém organismu.

Rizikové faktory

Zvýšené riziko KRC je spojováno s obezitou, nízkou fyzickou aktivitou, vysokou konzumací masa (zejména tzv. červeného), konzumací konzervovaného masa a masných výrobků zejména uzenin a také kuchyňskou přípravou s využitím vysokých teplot jako grilování, rožnění, smažení⁸. Na možný vliv nutriční na vznik KRC poukazuje studie, kdy restriktce potravy na 1/3 po dobu 12 týdnů vedla u obezných pacientů k 39 % snížení proliferace střevních krypt¹⁴. K dalším rizikovým faktorům patří kouření a konzumace alkoholických nápojů.

Chemoprevence

Základní podmínkou prevence karcinogeneze je minimalizovat expozici karcinogenů na organismus. Přídatným opatřením je možnost blokády účinku kancerogenů během latentní doby karcinogeneze. Blokádou poškození DNA volnými radikály tak mohou působit antioxidanty (vit C, E, β -karoten, N acetyl cystein)¹⁵. Redukcí endogenní tvorby prostaglandinů mohou podobně působit nesteroidní protizánětlivé léky (NSAID) ¹⁶.

Kurkumin je polyfenolový derivát kurkumy. Ukazuje se že může inhibovat řadu buněčných signálních cest, mít antioxidační účinek, může modifikovat angiogenezi a buněčnou adhezi a modifikovat expresi a aktivitu některých enzymů jako je cyklooxygenáza a glutathion S-transferáza. Může indukovat apoptózu a tím mít roli v chemoprevenci karcinogeneze¹⁷.

Prognostické faktory

College of American Pathologists v roce 2000 publikovala rozbor potenciálních prognostických faktorů pro KRC dle EBM kritérií¹⁸. Nejlépe ověřenými prognostickými faktory jsou faktory v kategorii I.

Kategorie I (dle EBM)

- rozsah nádoru (pT klasifikace dle TNM)
- rozsah postižení lymfatického systému (pN klasifikace dle TNM)
- přítomnost cévní či lymfatické invaze tumoru
- residuální tumor po kurativní operaci (R klasifikace dle TNM)
- pooperační elevace CEA

Kategorie IIA

- Grading tumoru

- Vzdálenost tumoru od okraje resekce (na neperitonealizovaných resekátech)
- Reziduální tumor v resekátu po neoadjuvantní terapii (ypTNM klasifikace TNM)

Kategorie IIB

- Histologický typ tumoru
- Histologické rysy související s mikrosatelitní instabilitou (lymfocytární odpověď organismu na tumor, medulární či mucinózní histologický typ)
- Vysoký stupeň mikrosatelitní instability (MSI-H)
- Ztráta heterozyzity 18q
- Konfigurace okraje tumoru (infiltrující vers. expanzivní)

Kategorie III

- ostatní molekulární markery
- Perineurální invaze
- Hustota vlásečnic
- Perinádorová fibróza
- Zánětlivá odpověď organismu
- Fokální neuroendokrinní diferenciace

Kategorie IV

- Faktory zahrnující velikost tumoru

Nejnovější studie přiřazují k významným prognostickým faktorům i detekci nádorových buněk v periferní krvi po 7 dnech od kurativní operace^{19, 20}. Předoperační diagnostika cirkulujících nádorových buněk přitom s ohledem na prognostický význam je sporná^{21, 22}.

Léčba kolorektálního karcinomu

Léčba KRC je multidisciplinární. Přestože chápání mechanismů patofyziologie vzniku a metastazování kolorektálního karcinomu se v posledních letech rozvíjí vysokou rychlostí, možnosti jeho využití v léčbě jsou zatím velmi skromné. Bohužel i v současnosti jedinou zatím známou léčebnou metodou, která dává pacientovi naději na dlouhodobé přežití zůstává i nadále radikální chirurgické odstranění všech známých ložisek nádoru v kombinaci s adjuvantní a neoadjuvantní chemo/radio-terapií.

Doporučovaný postup léčby²³:

Stadium 0 (Tis, N0, M0)

Lokální excize nebo polypektomie do zdravé tkáně

Stadium I (pT1, N0, M0, pT2, N0, M0, Dukes´ A)

Široká resekce s anastomózou

Adjuvantní léčba není indikována

Stadium II (pT3, N0, M0, pT4, N0, M0, Dukes´ B)

Široká resekce s anastomózou

pT3N0M0 - sledování, nebo adjuvantní chemoterapie v rámci klinických hodnocení

pT4N0M0 a pT3N0M0 (high risk podskupina) - adjuvantní chemoterapie

Stadium III (jakékoliv T, N1 nebo N2, M0, Dukes´ C)

Široká resekce s anastomózou

Adjuvantní chemoterapie

Chirurgická léčba samotná je však dostatečná pouze v časných stadiích onemocnění a má stále velmi daleko ke kauzální terapii a proto nemůžeme zejména u pokročilejších stadií onemocnění očekávat významné zlepšování dosahovaných dlouhodobých výsledků. Optimální výběr pacientů k terapeutické intervenci směřuje k individualizaci přístupu využívaje jak prognostických faktorů tak prediktory odpovědi organismu na léčbu, rezistence a toxicity.

Chirurgická léčba – zásady

Principem chirurgické léčby s kurativním záměrem u kolorektálního karcinomu je úmysl chirurga odstranit veškerou známou nádorovou tkáň bez ohledu na stadium onemocnění. Paliativní léčba není předmětem tohoto sdělení.

Písmenem „R“ značíme rozsah radikality chirurgické léčby:

- R0 operace, kdy makro ani mikroskopicky není žádný reziduální nádor
- R1 operace s mikroskopicky verifikovaným reziduálním nádorem v linii resekce
- R2 operace s makroskopicky ponechaným reziduálním nádorem

Značné topografické, anatomické, i funkční rozdíly mezi tračníkem a rektum vyžadují rozdílnou operační techniku i strategii a proto jsou charakterizovány odděleně. Součástí operace pro kolorektální karcinom je vždy explorace celé dutiny břišní. Cílem operace je dosáhnout R0 radikality, kdy s resekci střeva je prováděna en bloc radikální lymfadenektomie do úrovně apikálních uzlin, t.j. ke kořeni artérie zásobující příslušnou část střeva (apikální uzliny).

Názory na rozsah radikality v chirurgické léčbě KRC nejsou jednotné.

Kontroverzní jsou názory na rozsah lymfadenektomie a její přínos v léčbě KRC. Obecně platí, že rozsah resekce je daný rozsahem lymfadenektomie. Zastánci, ale ani odpůrci extenzivních lymfadenektomií nemají prospektivní randomizovanou studii která by objektivizovala jejich tvrzení. Všeobecně akceptovaná kritéria strategie chirurgické léčby kolorektálního karcinomu²⁴,²⁵.

- dostatečná onkoradikalita s lokoregionální lymfadenektomií,
- přijatelná mortalita i morbidita,
- přijatelná kvalita života,

Indikace: k operaci s kurativním záměrem pro pokročilý KRC je indikován každý pacient, u něhož je před operací předpoklad odstranění veškeré známé nádorové tkáně ať již v jedné době, nebo ve dvou, s přispěním ostatních léčebných postupů, nebo jen prostou chirurgickou léčbou.

Kontraindikace: kromě obecných kontraindikací většího nebo velkého chirurgického výkonu je to zejména evidentní nemožnost být multimodálním způsobem dosáhnout R0 výkonu. To znamená jednak četnost a difúznost postižení, které není chirurgicky ovlivnitelné, dále infiltrace takové struktury,

jejíž odstranění není slučitelné s dalším přežitím pacienta a v neposlední řadě je kontraindikací neznalost nebo nezkušenost operujícího chirurga.

Chirurgický standard léčby nádorů kolon

- radikální odstranění postiženého úseku střeva s úplným odstraněním přilehlého mezokolon
- cévy zásobující postižený úsek střeva ligujeme a protínáme v místě jejich odstupu z hlavních tepen (z a.mesent. sup., resp. aorta) a s odstraněním uzlin této oblasti, které nazýváme vrcholové, apikální, neboli etáž N 3 - dle General Rules for Clinical and Pathological Studies of Cancer of the Colon, Rectum and Anus²⁸.
- u tumorů lokalizovaných na rozhraní povodí dvou nutričních tepen jsou indikovány rozšířené resekce až subtotální kolektomie opět se systematickou lymfadenektomií do úrovně N 3. U nádorů kolon by aborální vzdálenost resekční linie neměla být menší než 5 cm od tumoru.

Chirurgický standard léčby karcinomu rekta

- sfinkter zachovávající resekce splňují onkoradikalitu v léčbě RC
- abdominoperineální amputace rekta nevykazují vyšší onkoradikalitu operace
- minimální vzdálenost resekční linie od dolního okraje tumoru je 1- 2 cm
- resekce mezorekta nejméně 5 cm od dolního okraje u tumorů horního rekta
- TME u tumorů středního a dolního rekta nízkých předních resekcí je nezbytná²⁶
- výplach rekta na operačním sále

Chirurgická léčba pokročilého kolorektálního karcinomu

Jako pokročilý kolorektální karcinom označujeme nádory splňující tato kritéria dle TNM klasifikace:

Tumor	T4 u nádorů tračnicku, T3, T4 u nádorů rekta
Nodi	N1, N2 postižení lymfatických uzlin dle TNM
Metastázy	M 1 přítomnost metastáz v době stanovení diagnózy primárního nádoru

Lokálně pokročilý kolorektální karcinom

Dosažení radikality vyžaduje extenzivní, multiorgánové en bloc resekce tračníku (rozšířené hemikolektomie až subtotální kolektomie současně s en bloc resekci dalších orgánů (žaludek, tenké střevo, bránice, pankreas, játra, ledviny, gynekologické orgány, atd.)), nebo pelvické exenterace. Karcinom rekta často prorůstá do prostaty, močového měchýře. Asi 60% lokálně pokročilých (ale potenciálně kurabilních) karcinomů postihuje esovitou kličku a rektum, druhou nejčastější lokalizací je cékum a pravý tračník²⁷. Vnitřní rodidla tvoří asi polovinu současně odstraněných orgánů, asi ve 35% to jsou močový měchýř, tenké střevo, stěna břišní, z dalších orgánů ledviny, ureter, slezina, žaludek, duodenum, pankreas a játra.^{55, 28}.

Výsledky po radikální R0 resekci jsou srovnatelné s výsledky dosahovanými u pacientů, kde tumor neinvaduje okolní orgány²⁹. Výsledky jsou však daleko nepříznivější po resekci s porušením hranic tumoru, kdy 5 leté přežití je pouze kolem 15 %⁵⁸.

Pokročilý kolorektální karcinom – stadium IV

Zhruba 40% pacientů, kteří onemocní kolorektálním karcinomem se dříve nebo později dočká jaterních metastáz, přibližně 20 % má metastázy synchronní tzn. metastázy v době diagnózy primárního nádoru a u dalších 20 % nemocných dojde k vytvoření metastáz s odstupem od primární léčby, nejčastěji do dvou let. To jsou metastázy metachronní¹⁰.

Zatímco chápání mechanismů metastazování kolorektálního karcinomu se v posledních letech rozvíjí vysokou rychlostí, možnosti jeho využití v léčbě jsou zatím velmi skromné a jedinou zatím známou léčebnou metodou, která dává pacientovi naději na dlouhodobé přežití, zůstává i nadále radikální chirurgické odstranění všech známých ložisek nádoru³⁰. Tento způsob léčby má nicméně stále velmi daleko ke kauzální terapii a proto nemůžeme očekávat významné zlepšování dosahovaných dlouhodobých výsledků. Přesto lze zavedením určitých principů a postupů do chirurgické léčby jaterních metastáz zvýšit procento nemocných, kteří přežijí více než pět let, což je doba, kterou jinak léčení pacienti přežijí velmi výjimečně.

V posledních letech nastává dvojitý pohyb vpřed v léčbě metastatického onemocnění jater u nemocných s kolorektálním karcinomem - jednak v oblasti chemoterapie, ale i chirurgie a zejména v případě spolupráce obou oborů.

Chirurgická strategie v léčbě jaterních metastáz a rozsah jaterních resekcí závisí na :

- počtu metastatických ložisek
- jejich lokalizaci (postihují jeden nebo oba laloky jater)
- jejich velikosti a vztahu k jaterním a portálním žílám a k dolní duté žíle
- funkční zdatnosti jaterního parenchymu (současně cirhóza, steatóza)
- celkovém stavu nemocného (komorbidita)

Kontraindikace resekce jaterních metastáz u KRC :

- karcinóza peritonea
- nádorové postižení lymfatických uzlin které nelze chirurgicky odstranit
- multisystémový metastatický rozsev, který nelze kurativně řešit

Osud nemocných po rozsáhlých jaterních resekcích je závislý na funkční zdatnosti zbylých segmentů. Výsledkem nedostatečné funkční kapacity zbylých segmentů je jaterní selhání do 30 dnů po operaci. To je hlavním limitujícím faktorem těchto resekcí, zejména u přidružených jaterních onemocnění (Ci hepatis) .

Chirurgická léčba plicních metastáz

Stejně jako u metastáz do jater i v případě metastáz do plic není příliš daleko doba, kdy bylo toto stadium onemocnění považováno za neovlivnitelné a byla indikována pouze symptomatická léčba.

Principy indikace k resekci plicních metastáz obecně a při primárním kolorektálním karcinomem jsou:

1. primární nádor musí být odstraněn a resekce musí být R0
2. žádné metastázy v jiných orgánech
3. plicní resekce má být R0
4. nemá být jiná alternativa léčby se stejným výsledkem³¹

V současnosti je chirurgická resekce základní potenciálně léčebnou metodou pro pacienty s metastázami do plic.

V indikacích a kontraindikacích k resekci plic pro metastázy stejně jako u resekcí jater hraje roli nejen celkový stav pacienta, ale takéž objektivně hodnotitelné parametry funkčního vyšetření plic.

Resekční výkony na plicích pro odstranění plicních metastáz – metastazektomie, jsou resekce anatomické či neanatomické.

Chirurgická léčba karcinomatózy peritonea

Do dnešní doby je karcinomatózní peritoneální rozsev u KRC považován za neovlivitelné stadium nemoci. Chirurgie je obvykle limitována na paliativní řešení střevní obstrukce³². Poslední studie s použitím kombinace chirurgického odstranění (cytoredukce) – peritonektomie a peroperační intraperitoneální hypertermické chemoterapie tento názor mění³³.

Při této metodě se po kompletním odstranění makroskopických nádorových útvarů provede peroperačně laváž dutiny břišní cytostatikem zahřátým na 42°C. Teplota lavážní tekutiny je udržována speciálně vyvinutým přístrojem, který kontinuálně přivádí do dočasně uzavřené dutiny břišní tekutinu s cytostatikem (Mitomycin C) přívodným drénem a zároveň jí odsává a znovu ohřívá po dobu 1,5 hodiny. Intraperitoneální chemoterapie pak obvykle pokračuje v dalších 5 pooperačních dnech (Fluorouracyl), již bez hypertermie³⁴.

Kombinací těchto dvou metod lze u vybraných pacientů v tomto stadiu nemoci dosáhnout celkového 5-letého přežití až 50 %³⁵ oproti udávanému mediánu přežití 6 měsíců u takto neléčených pacientů³⁶.

Cílem operátora musí být dosažení kompletní cytoredukce (odstranění viscerálního i parietálního peritonea) a zákrok může v některých případech v závislosti na rozsahu diseminace trvat i 8-12 hodin³⁷. Invaze do viscerálního peritonea způsobená většími noduly vyžaduje resekci části postiženého orgánu³⁸.

Intraperitoneální chemoterapie má vysokou účinnost vzhledem k tomu že obchází plazma-peritoneální bariéru³⁹.

Adjuvantní a neoadjuvantní terapie

Do roku 1985 byl 5-fluorouracil jedinou používanou látkou v chemoterapii kolorektálního karcinomu, kdy „response rate“ (RR) byl kolem 10% . Od roku 2000 po zavedení Irinotecanu a Oxaliplatiny se RR zvýšil až na 50% ⁴⁰. V posledních letech se do léčby zapojily i monoklonální protilátky, zejména Avastin a Erbitux. Bevacizumab neboli Avastin je cílený na VEGF, což je vaskulární endoteliální růstový faktor, který je klíčovým mediátorem angiogeneze. Podobně Erbitux neboli Cetuximab se s vysokou afinitou váže na receptor buněčného růstového faktoru - EGF, který tak blokuje. Tento typ léků se tak nejspíše blíží zužitkování poznatků o biologickém chování nádorů v praktické medicíně. V léčbě pacientů s kolorektálním karcinomem jsou využívány dva cíle, proces vývoje nových cév, angiogeneze a blokování receptoru epidermálního růstového faktoru ⁴¹ .

Každý pacient s kolorektálním karcinomem má být konzultován s onkologem. Předoperační radioterapie je indikována pro tumory rekta T3-T4 bez známek extrapelvické diseminace. U nádorů s metastázami je volena nejdříve operace. Předoperační radioterapie ve srovnání s pooperační, díky vyšší přítomnosti kyslíku v ještě chirurgem neovlivněné tkáni, má při stejné dávce vyšší účinnost. Předoperační radioterapie zvyšuje resekabilitu i zmenšováním masy tumoru (downstaging). I komplikace po předoperační radioterapii jsou popisovány menší. V případě pooperační radioterapie může být vznikem adhezí mezi kličkami tenkého střeva a jejich fixací v místě záření tenké střevo více postiženo. Ačkoliv celková dávka za použití zevního zářiče je limitována mezi 50 – 55 Gy, využitím brachyterapie či intraoperativní radioterapie (IORT) můžeme dávku i účinek radioterapie potencovat. Předoperační chemoterapie je prováděna pouze u zvlášť vybraných pacientů. Pooperační chemoterapie je indikována u pacientů ve stadiu pTNM II, III a IV a u pTNM II stadia při T3 a T4 a nebo při NX jakéhokoliv stadia. Nejčastějším doporučeným režimem adjuvantní chemoterapie je Mayo režim (5-FU/FA) – 5-fluorouracil 425 mg/m² + leukovorin 20 mg/m² v 6 cyklech, v případě metastatického postižení (játra, plíce) v kombinaci s irinotekanem. Další používané režimy: Machover, Roswell Park, DeGrammont, Lokich, A/O, FOLFOX (5-FU + oxaliplatina).

Imunoterapie, léčba monoklonálními protilátkami či genová terapie jsou nyní stále ještě spíše ve stádiu klinických zkoušek než standardního používání.

Paliativní léčba

Paliativní péče je terapie která má vést k úlevě symptomů, zlepšení kvality života. Prvotním úkolem paliativní léčby není trvalé vyléčení. Hlavním jejím zájmem je úleva od bolesti a dalších, pacientem negativně vnímaných symptomů, ale také podpora psychická a eventuelně duchovní (American Academy of Hospice and Palliative Medicine). V případě kolorektálního karcinomu bývá chirurg ten, kdo rozhoduje, který pacient je vhodný k radikálnímu, kurativnímu řešení či „pouze“ k paliativní léčbě. To ovšem neznamená, že paliativní řešení nezahrnuje radikální chirurgický výkon. Plán léčby musí vycházet z diskuze s pacientem a jeho rodinou, zhodnocení symptomů onemocnění, přání pacienta a v neposlední řadě z možností chirurga. Paliativní péče vyžaduje multidisciplinární přístup, uplatňují se zde různé modalities – podávání léků, radiační terapie, chirurgická paliace, psychosociální podpora.

Paliativní chirurgie zaměřená na tumor střeva

Radikální chirurgické řešení (R0 resekce) je jediným potenciálně kurativním řešením kolorektálního karcinomu ve všech stadiích onemocnění. Bohužel, vzhledem k biologickým vlastnostem nádoru, jeho tendenci k lokálnímu i systémovému šíření a pochopitelně vzhledem ke komorbiditám nemocných, není vždy radikální chirurgické řešení proveditelné.

Operační řešení může znamenat provedení stomie, střevního bypassu, rekanalizace stentem či použitím laseru nebo radikální odstranění tumoru.

Paliativní chirurgie kolorektálního karcinomu – metastázy do jater

V případě neresekabilních jaterních metastáz a absenci dalšího systémového postižení je možno použít regionální chemoterapii. Ta spočívá v zavedení portkatetru (ať již chirurgicky cestou a. gastroduodnalis do a. hepatica, tak pomocí intervenční radiologie Seldingterovou metodou). Předpokladem pro efektivní působení takto podané chemoterapie je skutečnost že tumory jater jsou z 95% zásobeny arteriální krví, přičemž normální jaterní parenchym je z 50% zásobován portální krví. Vzhledem k těmto poměrům je dosahováno vysoké koncentrace cytostatika v tumoru a současně nízké koncentrace ve

zdravé jaterní tkáni. Většina cytostatika je extrahována játry, metabolizována a do oběhu se dostává jen jeho malé množství.

K lokálně destrukčním technikám patří perkutánní injekce ethanolu (PEI), transarteriální chemoembolizace (TACE), kryochirurgie, laserová hypertermie(LiTT), mikrovlná koagulační terapie (MCT) a radiofrekvenční ablace (RFA).

Radiofrekvenční ablace je alternativou pro pacienty, kteří nejsou indikováni k resekci jaterních metastáz KRC pro extenzivitu jaterního postižení, limitovanou jaterní rezervu, či konkomitantní onemocnění. RFA také umožní části pacientů, podstoupit resekci kombinováním resekčního a RFA výkonu ⁴². RFA lze použít i k paliativní terapii metastáz KRC v jiných lokalizacích, především v plicích ⁴³.

Sledování pacientů po operaci pro KRC

Cílem všech programů sledování pacientů po kurativní resekci KRC je zlepšení dlouhodobého přežívání⁴⁴. S cílem dalšího eventuelního kurativního chirurgického zákroku jsou pacienti sledováni pro včasné zjištění recidivy KRC či metachronního výskytu KRC a i eventuelní nádorové multiplicity.

Ačkoliv většina pacientů s relapsem kolorektálního karcinomu je v době diagnózy v chirurgicky velmi obtížně řešitelném stádiu, třetina pacientů s izolovanými lokoregionálními či vzdálenými metastázami přežívá 5 let⁴⁵. Počet resekovaných pacientů pro relaps onemocnění se zvyšuje, cca 20 % pacientů s jaterními metastázami je indikován k operaci⁴⁶. Další pacienti jsou operováni po downstagingu nebo downsizingu po chemoterapii. Dlouhodobé přežívání je také dosahováno po resekci plicních metastáz i v případě kombinace resekce jaterních a plicních metastáz⁴⁷. Je prokázáno, že riziková pacienti (TNM II, III stádia) s relapsem diagnostikovaným pomocí zobrazovacích či endoskopických metod mají lepší přežití, než pacienti, u nichž se již relaps klinicky projevuje⁴⁸. I u pacientů, kteří jsou v době stanovení diagnózy relapsu inoperabilní, se přežití zlepšuje díky novým paliativním chemoterapeutickým režimům a i kvalita života je, i přes nežádoucí účinky chemoterapie, lepší⁴⁹.

Vzhledem k rozdílné lokalizaci možné recidivy není možno užít jeden diagnostický nástroj, je potřeba kombinace různých zobrazovacích i laboratorních metod. V prvních dvou až třech letech po resekci primárního tumoru roste incidence relapsu onemocnění exponenciálně, následně přechází do plateau^{50,51}. Proto i frekvence vyšetření musí být tomu uzpůsobena. Sledování k vyloučení metachronního postižení KRC musí být naproti tomu pravidelné, jeho incidence stoupá každých 6 let o 3%⁵².

V neposlední řadě má pooperační sledování pacientů po kurativní resekci karcinomu psychologický efekt. Ten může být pozitivní i negativní. Pozitivní zahrnuje uklidnění pacienta a podporu v další léčbě. Negativní efekt zahrnuje pocit falešné jistoty při nedetekované recidivě nebo naopak pocit beznaděje při časně diagnóze recidivy v inkurabilním stádiu. Neopominutelné je i psychologické působení falešně pozitivních výsledků vyšetření a také možnost komplikací s vyšetřeními spojených. Žádná z provedených studií však neprokázala zhoršení kvality života s intenzivním follow-up spojeným.

Každý systém follow-up kombinuje množství vyšetření ať již klinických, laboratorních a zobrazovacích a také se mění jejich frekvence.

Výsledky metaanalýz prováděných studií se kloní k závěru že intenzivní follow-up vykazuje statisticky signifikantní rozdíl v celkovém 5-letém přežití pacientů po kurativní operaci pro KRC^{53,54} a může diagnostikovat relaps onemocnění v kurabilním stádiu, především při lokalizaci v játrech a plicích a při lokální recidivě onemocnění. V případě relapsu u karcinomu rekta nejsou všechny provedené studie přesvědčivé, či ukazují na menší význam intenzivního follow up⁵⁵. Analýzy neukazují signifikantní rozdíl v incidenci relapsu mezi pacienty ve skupinách s intenzivním versus minimálním systémem sledování, nicméně ve skupině intenzivně sledovaných je signifikantně vyšší počet chirurgických intervencí pro recidivu, který je nejspíše dán časnější diagnózou a tím i vyšší resekalibilitou recidivy. Prováděné studie i jejich metaanalýzy však mohou být problematické z důvodu nestandardnosti vyšetření a jejich frekvence. Intenzivní follow-up v jedné studii je velmi podobný jiným, které jsou v jiných studiích považovány za méně intenzivní⁵⁶.

Doporučení z metaanalýz vyplývající jsou následující:

- pro pacienty s vysokým rizikem relapsu (stadia IIb a III)
 - klinické vyšetření, CEA, RTG plic, sonografie či CT jater každých 6 měsíců po dobu 3 let, další 3 roky s frekvencí 1 rok
 - při zjištění recidivy onemocnění diskuze v multidisciplinárním onkologickém teamu (chirurg, radiolog, onkolog) ke zvážení nejlepšího léčebného postupu
- pro pacienty s vysokým rizikem relapsu s komorbiditami či jinými překážkami znemožňujícími časté vyšetřování
 - klinické vyšetření každý rok
- pro všechny pacienty s resekováním KRC
 - koloskopie s event. polypektomií 1 x ročně, pokud nejsou přítomny polypy jednou za 3-5 let
- doporučit pacientům účastnit se studií zkoumajících různé screeningové metody

Doporučení ASCO 2006⁵⁷: Na základě výsledků tří nezávisle publikovaných meta-analýz randomizovaných studií porovnání intenzivních a méně intenzivních programů sledování pacientů a na základě posledních analýz velkých klinických studií v KRC ASCO doporučuje provádět:

- CT hrudníku a břicha 3 roky po primární operaci u pacientů s vyšším rizikem relapsu onemocnění a u pacientů, kteří by mohli být kandidáty další kurativní operace
- CT pánve ve sledování rektálního karcinomu, zvláště u pacientů s horšími prognostickými faktory včetně pacientů nepodstoupivších radioterapii
- koloskopii 3 roky po operaci a pokud je normální dále po 5 letech
- flexibilní sigmoideoskopii u karcinomu rekta každých 6 měsíců po dobu 5 let u pacientů bez předchozí radioterapie
- odběr anamnézy a fyzické vyšetření každých 3-6 měsíců první 3 roky po operaci, každých 6 měsíců ve 4. a 5. roce a dále dle úvahy lékaře
- CEA odebírat pravidelně po 3 měsících po 3 roky od diagnózy
- na základě dostupných údajů a zkušeností není doporučováno RTG plic, měření jaterních testů ani dalších molekulárních a buněčných markerů

Zařazení dalších vyšetřovacích metod do protokolu sledování je ve stadiích zkoumání, slibné je využití PET, zvláště kombinace PET/CT vykazuje nejvyšší senzitivitu a specifitu pro recidivu KRC^{58,59}. Je schopno detekovat nejenom recidivní tumor či metastázu v časném stádiu ale také mnoho dalších lézí s abnormálním metabolismem po celém těle.

Využití magnetické rezonance je omezené. MR je sice jednou z nejpřesnějších metod pro diagnózu relapsu onemocnění v oblasti pánve, bohužel není schopná diferenciací mezi relapsem a pooperačními změnami (v provedené studii 14% falešně pozitivních výsledků)⁶⁰. Proto není doporučována k rutinnímu využití v rámci follow-up ale je rezervována pro selektivní skupinu pacientů s kolonoskopicky či jinak získaným podezřením na relaps.

Intenzivní follow-up vykazuje statisticky signifikantní rozdíl v celkovém 5-letém přežití pacientů po kurativní operaci pro KRC⁶¹. Může diagnostikovat relaps onemocnění v kurabilním stádiu.

V současnosti probíhají velké studie, které by měly potvrdit užitečnost intenzivního systému sledování. Patří sem skupina GILDA (Gruppo Italiano di Lavoro per la Diagnosi Anticipata) z Itálie probíhající od roku 1998. Sleduje celkové přežití, mortalitu, kvalitu života a dobu stanovení diagnózy recidivy od operace. Cílem je zahrnutí 2920 pacientů ze 45 center.

Ve Velké Británii probíhá studie FACS, kde cílový počet zahrnutých pacientů je 4890, vyšetřování jsou pomocí CEA, UZ a CT, sledováno je celkové přežití, kvalita života, náklady na sledování a náklady na „záchranu“ života.

Studie COLOFOL probíhá v Dánsku, Švédsku, Polsku, Velké Británii, Holandsku a Uruguayi. Předpokládaný počet pacientů je 2500 a sledováno je CEA, CT plic a břicha ve dvou režimech – s nízkou a vyšší frekvencí.

Pacienti s elevací CEA, u kterých není korelát na ostatních vyšetřeních jsou vyšetřeni PET scanem, pokud ani tento neodhalí příčinu elevace CEA jsou vyšetření opakována po 3 měsících.

Pokud budou tyto studie úspěšně dokončeny mohou významně přispět k diskusi o efektivitě systému follow-up jak vzhledem k přežití pacientů a kvalitě života, tak u GILDA a FACS studií i k nákladům se systémy sledování spojených.

Nádorové markery

Definice

Nádorové markery jsou látky, které často vznikají v souvislosti se změněným metabolismem nádorově transformované buňky, a proto jejich hladiny v přítomnosti malignity výrazně stoupají. Jsou to látky pocházející z nádorových buněk, které jsou secernovány do tělesných tekutin, ve kterých je lze kvantifikovat neinvazivními postupy. Vzhledem ke korelaci mezi koncentrací markeru a aktivní hmotou nádoru jsou nádorové markery užitečným nástrojem v péči o nemocné s nádorovým onemocněním. Markery, dostupné pro většinu případů nádorů, jsou pomocné a hodnotné nástroje pro hodnocení prognózy pacientů, depistáž a monitorování léčby, zatímco pro screening jen výjimečně. Při měření koncentrací markerů je nutné zohledňovat relativní trendy místo absolutních hodnot a hodnot cut-off (definice nádorových markerů, podle 5th International Conference on Human Tumor Markers, Stockholm, Sweden, 1988).

Sérové nádorové markery představují důležité parametry, které mohou usnadnit predikci vývoje onemocnění, jeho progresi nebo regresi (remisi) u onkologických nemocných. Racionální využití nádorových markerů předpokládá znalost správné indikace vyšetření, jejich diagnostické hodnoty, metod rozhodovací analýzy (diagnostické senzitivity, diagnostické specifčnosti, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty, relativního rizika, poměru šancí), analytických možností, faktorů ovlivňujících vyšetření a interpretace výsledků. Nádorové markery se klinicky využívají pro screening, primární diagnostiku, staging, prognózu, především však pro predikci rekurence choroby, monitorování terapie, je možné uvažovat i o algoritmech pro hledání lokalizace neznámého primárního tumoru.

Ideální nádorový marker by měl splňovat kriteria:

- je produkován pouze u nádorových onemocnění,
- je orgánově specifický,
- v biologických tekutinách je přítomen ve vysokých koncentracích (dostatečná senzitivita),
- jeho hladina koreluje s velikostí tumoru, se stadiem choroby, s prognózou, s efektem léčby,
- umožňuje průkaz zbytkové nádorové tkáně.

V současné době není takový ideální nádorový marker znám.

U každého nádorového onemocnění rozlišujeme markery hlavní, vedlejší a doplňkové.

Hlavní marker — je to marker první volby s vysokou senzitivitou a specificitou pro daný druh nádoru.

Vedlejší marker — je to marker druhé volby, který se stanovuje zpravidla paralelně s markerem první volby. Má menší senzitivitu a specificitu pro daný nádor, ale v kombinaci s hlavním markerem zvýší záchyt příslušného tumoru.

Doplňkový marker — má většinou poměrně nízkou senzitivitu a specificitu pro detekci maligního onemocnění, ale bývá specifický pro konkrétní orgán (tedy může mít vysokou orgánovou specifitu). Kromě toho jeho pozitivita bývá signálem generalizace tumoru. Možné kombinace nádorových markerů jsou uvedeny v tabulce 2.

Lokalizace nádoru	M a r k e r		
	Hlavní	Vedlejší	Doplňkový
Ca žaludku	CA 72-4, CEA	TK nebo TPA	
Kolorektální Ca	CEA, CA 19-9	TPA	TK
Ca pankreatu	CA 19-9, CA 50	CEA	AFP
Ca žlučníku a žl. cest	CA 19-9	AFP	TK nebo TPA
Metastázy do jater	CA 19-9, CEA, AFP	TK	
Malobuněčný Ca plic	NSE	TK nebo TPA	
Ostatní Ca plic	CYFRA 21-1, SCC, CEA	TK nebo TPA	
Ca prsu	CA 15-3, TPA, TK	CEA	
Chorioepiteliom	β-hCG	TK	
Mola hydatidóza	β-hCG		
Teratom	AFP, β-hCG		
Ca vaječníku	CA 125, CA 72-4		
Ca těla dělohy	CA 125, CYFRA 21-1		
Ca děložního čípku	SCC, CYFRA 21-1		
Ca prostaty	PSA, fPSA	TK	
Ca varlete	AFP, β-hCG	NSE, TK	
Ca moč. měchýře	TPA v moči, CEA, CYFRA 21-1	TK	
Neuroblastom	NSE		
Maligní melanom	NSE, TK		
Feochromocytom	NSE		
Karcinoid	NSE		
Leukémie	B2M, TK		
Maligní lymfom	B2M, TK		

Tab. č.2 : Nádorové markery u maligních onemocnění⁶²

Klinicko- biochemické rozdělení nádorových markerů

- Onkofetální antigeny
- Tkáňově a orgánově specifické antigeny
- Nespecifické antigeny

Onkofetální antigeny jsou látky produkované organismem ve fetálním období nebo placentou, po narození jsou produkovány jen v souvislosti s zpravidla nádorovým onemocněním. Antigeny, které se objevují průběhu ontogeneze, jsou postnatálně charakteristické pro méně diferencované (tj. malignější) nádory. Do této skupiny patří α 1-fetoprotein (AFP), lidský choriový gonadotropin (hCG), karcinoembryonální antigen (CEA), placentární alkalická fosfatáza (PLAP).

Tkáňově a orgánově specifické antigeny jsou látky, které se fyziologicky nacházejí ve zdravé tkáni či orgánu a mimo něj pronikají jen v minimálním množství. Za patologických stavů (nádorové onemocnění, zánět, trauma) dochází k jejich zvýšenému uvolňování. Do této skupiny patří prostatický specifický antigen (PSA), neuron specifická enoláza (NSE), protein S-100, rozpustné fragmenty cytokeratinů (TPA, TPS, CYFRA 21-1), většina CA-antigenů definovaných pomocí monoklonálních protilátek (Mab), antigen karcinomů ze skvamózních buněk (SCC), thyreoglobulin (TG), hormony a jejich prekursory u nádorů žláz, které je fyziologicky produkují (C-peptid u insulinomu, kyselina vanilmandlová feochromocytomu).

Nespecifické antigeny jsou enzymy a hormony produkované nádory. Do této skupiny patří feritin, laktátdehydrogenáza (LDH), thymidinkináza (TK), β 2-mikroglobulin, některé reaktanty akutní fáze, s lipidy asociovaná kyselina sialová (LASA); hormony produkované nádory, které je fyziologicky neprodukuje, např. plicní nádory – ACTH, ADH, parathormon a další.

Markery nesledované u kolorektálního karcinomu:

AFP (AFP (α 1-fetoprotein fetoprotein) –glykoprotein podobný albuminu, fyziologicky produkován žlutkovým vakem, později fetálními játry. Používán pro diagnostiku a monitorování hepatocelulárního karcinomu a germinálních nádorů varlat a vaječníků. Používán v prenatálním screeningu vrozených vývojových vad v 2.trimestru.

Lidský choriový gonadotropin (hCG) –glykoprotein, molekulární hmotnost 36 kDa, α a β podjednotky nekovalentně vázané, α podjednotka téměř identická s LH, FSH a TSH. Indikace vyšetření: diagnostika těhotenství, screening vrozených vývojových vad, pro monitorování a prognózu germinálních nádorů, trofoblastické nemoci.

CA 125 –mucin identifikovaný Mab, molekulová hmotnost 200 kDa, pro monitorování ovariálních karcinomů (negerminálních).

CA 15-3 –mucin identifikovaný Mab, molekulová hmotnost 48 kDa, pro monitorování nádorů prsu.

CA 72-4 – glykoprotein identifikovaný Mab, mh48 kDa, pro monitorování Ca žaludku.

CA 19-9 – glykolipid nesoucí determinant krevní skupiny Lewis a, molekulová hmotnost 1000 kDa, pro monitorování CA pankreatu (a žlučových cest).

NSE neuron specifická enoláza – dimer, molekulová hmotnost 87 kDa, pro monitorování malobuněčného plicního karcinomu, neuroblastomu, apudomu.

PLAP – termostabilní izoenzym alkalické fosfatázy, molekulová hmotnost 86 kDa, pro monitorování seminomů u nekuřáků.

PSA – sérová proteáza glykoproteinového charakteru, molekulová hmotnost 36 kDa, pro monitorování CA prostaty.

SCC(A) – antigen karcinomu skvamózních buněk, glykoproteinová subfrakce nádorového antigenu T4, molekulová hmotnost 48 kDa, pro monitorování nádorů oblasti hlavy a krku, některých gynekologických nádorů, nádorů zevního genitálu u obou pohlaví a nádorů jícnu.

β 2-mikroglobulin – monitorování pacientů s nehodgkinskými lymfomy a dalšími hematologickými malignitami.

Feritin – hematologické malignity.

Estrogenní receptor – nukleární transkripční faktor, molekulová hmotnost 65 kDa, slouží k predikci odpovědi na hormonální terapii u karcinomu prsu.

Progesteronový receptor – nukleární transkripční faktor, molekulová hmotnost forma A 94 kDa, forma B 120 kDa, predikce odpovědi na hormonální léčbu u karcinomu prsu.

Charakteristika nádorových markerů používaných či zkoumaných u KRC

(v práci zkoumané markery jsou podrobněji popsány v diskuzi)

Karcinoembryonální antigen (CEA)

Karcinoembryonální antigen (CEA) je protein nacházející se v buňkách mnoha tumorů. Je to komplexní glykoproteid s molekulární váhou 20 000, je uvolňován do krve z plazmatické membrány nádorových buněk. Jeho zvýšená plazmatická hladina může být způsobena řadou nádorových i nenádorových příčin – viz. tab. č. 3.

Maligní choroby	Benigní choroby
<ul style="list-style-type: none"> • GIT <ul style="list-style-type: none"> ○ ca žaludku ○ KRC • ca plic • ca prsu • gynekologické ca <ul style="list-style-type: none"> ○ ca ovarií ○ ca endometria • ca prostaty • ca štítné žlázy 	<ul style="list-style-type: none"> • kuřáci (nad 5 ng/ml) • chronická renální insuficience • choroby GIT a jater <ul style="list-style-type: none"> ○ IBD ○ střevní polypóza ○ chronická hepatitis ○ jaterní cirhóza ○ chronická pankreatitis • zánětlivá plicní onemocnění <ul style="list-style-type: none"> ○ pneumonie ○ chronická bronchitis ○ TBC • mukoviscidóza • autoimunitní choroby • benigní tumory prsu • cysty ovarií a prsu • v kloubní synovii u revmatických chorob

Tab. č. 3: Elevace CEA u maligních a benigních chorob

Ve zvýšené míře je vylučován v pokročilejších stádiích onemocnění a je považován za jeden z prognostických faktorů KRC. Je používán k monitoraci onemocnění KRC v 3-měsíčních intervalech. Po kurativní operaci KRC se obvykle normalizuje do 2 měsíců.

CA 19-9

CA 19-9 je sialylovaný pentasacharid a patří k tumor-asociovaným antigenům definovaným na podkladě monoklonálních protilátek. Specifická protilátka odpovídá modifikované determinantě krevních skupin typu Lewis. Kolem 5 % populace tento antigen vůbec netvoří, osoby se skupinou Lewis a- a Lewis b- nemají pro jeho syntézu nutný enzym fukozyltransferázu. Vzhledem k asociaci mezi nespecifickým zvýšením některých adhezních molekul a CA 19-9 v séru není vyloučena jeho možná vazba jako ligand např. na E-selektin. Je eliminován především žlučí. Biologický poločas v cirkulaci je asi 5 dní. Jeho zvýšená sérová hladina může být způsobena nádorovými i nenádorovými onemocněními – viz tab. č. 4.

Maligní choroby	Benigní choroby
<ul style="list-style-type: none"> • GIT <ul style="list-style-type: none"> ○ ca pankreatu ○ ca žlučových cest a žlučníku ○ HCC ○ ca žaludku ○ KRC • ca prsu • ca ovarií (zvláště mucinózní) • ca endometrií • metastázy ca výše zmiňovaných 	<ul style="list-style-type: none"> • choroby jater a žlučových cest <ul style="list-style-type: none"> ○ jaterní cirhóza ○ primární biliární cirhóza ○ akutní hepatitis ○ toxická hepatitis ○ chronická hepatitis ○ cholecystitis ○ cholangitis ○ obstrukce žlučových cest • akutní a chronická pankreatitis • zánětlivá střevní onemocnění

Tab. č. 4: Elevace CA 19-9 u maligních a benigních chorob

CA 242

CA - 242 je sialylovaný karbohydrátový antigen přítomný na mucinózním typu glykoproteinů četných karcinomů. CA - 242 je produkován nádorem a může být proto detekován v séru nemocných. U zdravých jedinců i u jedinců s benigními nemocemi je hladina CA - 242 nízká, u nemocných s malignitami GIT je zvýšení jeho hladiny častým nálezem. U nemocných s KRC je ke stanovení prognózy onemocnění monitorace CEA široce využívána, ale u časných stadií KRC vzhledem k jeho nízké senzitivitě je jeho klinické využití limitované. CEA vykazuje vyšší senzitivitu pro karcinom rekta než pro karcinom kolon, zatímco u CA - 242 je to obráceně. Takže kombinací CA - 242 a CEA lze zlepšit senzitivitu jak u karcinomu kolon tak i rekta. U karcinomu pankreatu má CA - 242 vyšší specifitu než CA -19-9 a může být proto užitečný pro screening ohraničených, nebo resektabilních nádorů.

TPA , TPS, CYFRA 21-1

TPA je polypeptid, jehož struktura odpovídá směsi fragmentů cytokeratinů. Byl prokázán ve většině karcinomů, v klidové zdravé tkáni (obzvláště neepiteliální) jej ve větší míře nedetekujeme. Antigen s velice podobnou charakteristikou, definovaný na podkladě další monoklonální protilátky, byl nazván TPS (tkáňový polypeptidový specifický antigen). TPS je polypeptid, který odpovídá solubilním fragmentům cytokeratinů.

CYFRA 21-1 je solubilní fragment cytokeratinu 19. Vzhledem ke specifickému výskytu tohoto cytokeratinu v epitelálních buňkách skvamózního (epidermoidního) typu má CYFRA vyšší orgánovou specifitu než TPA nebo TPS.

Cytokeratiny jsou indikátorem buněčné proliferace. Jsou elevovány u mnoha tumorů a výška elevace koreluje s progresí tumoru. Pro široký záběr cytokeratinů k nádorovým onemocněním je doporučováno mnoha autory kombinace cytokeratinů s taktéž široce záběrovým CEA.

Adhezivní molekuly

ICAM, VCAM

Molekuly buněčné adheze byly detekovány pro jejich schopnost umožňovat buňkám vzájemnou adhezi, dále umožňují komunikaci mezi buňkami a regulovat tím proliferaci, genovou expresi, diferenciaci, apoptózu a migraci. Rozeznáváme 5 skupin adhezních molekul: integrity, selektiny, adhezní molekuly z imunoglobulinové rodiny, cadheriny a skupinu CD 44. Viz tab. č. 5.

Adhezivní molekuly	
Skupina	Molekula
Integriny	β_1 - β_8
Selektiny	E-selektin, P-selektin, L-selektin
Imunoglobuliny	Intercellular adhesion molecules: ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3 Vascular cell adhesion molecules: VCAM-1
Kadheriny	E-kadherin, P-kadherin, N-kadherin
Molekula CD 44	

Tabulka č.5 : Adhezivní molekuly

TK- thymidinkináza

TK patří k enzymům syntézy DNA, které jsou charakteristické pro proliferující tkáň a která existuje v eukaryotických buňkách ve dvou izoenzymech: TK1 (fetální TK) a TK2 („dospělá“ TK). Fetální izoenzym je vázán na proces buněčného dělení (je zvýšen v S a M fázi buněčného cyklu a lehce v G1 fázi) a je lokalizován v cytoplasmě. Izoenzym TK2 je naopak přítomen v mitochondriích a jeho aktivita je stabilní v průběhu celého buněčného cyklu. TK je nazývána jako enzym záchranné (náhradní) cesty syntézy DNA.

Insulin-like growth factor

Inzulínu podobné růstové faktory (IGFs) jsou polypeptidy s vysokou podobností sekvencí k inzulínu. IGFs jsou částí komplexního systému který buňky užívají ke komunikaci s okolním prostředím. Ukazuje se že IGF hraje roli v úvodu buněčné proliferace a inhibici apoptózy. IGF II je považovaný za primární růstový faktor potřebný pro časný vývoj zatímco IGF-I se objevuje pozdějším životě buňky. IGF signální systém hraje centrální roli v buněčném růstu, diferenciaci a množení. IGFBP 3 je v lidském séru nejvíce zastoupená vazebná bílkovina z IGF rodiny, která inhibuje růst a indukuje apoptózu. Inzulín podobný růstový faktor 1 (IGF 1) je vylučovaný játry následkem stimulace růstovým hormonem. IGF1 hraje důležitou roli v anabolických pochodech u dospělých. Téměř každá buňka v lidském tělu je ovlivňována IGF- 1, zvláště svalové buňky, buňky chrupavky, kosti, jater, ledvin, nervů, kůže a plic.

V posledních letech, bylo provedeno několik klinických studií které předpokládají u jedinců s hladinou IGFBP-3 na horní mezi normálu možné snížení rizika pro vznik rakoviny. Poukazují na ochranný účinek proti rakovině prsu, prostaty, kolorektálnímu karcinomu a rakovině plic. In vitro studie a pokusy na zvířatech ukazují na důležitou roli pro IGFBP-3 v regulaci růstu buňky a apoptózy. Několik epidemiologických studií zjistilo, že vysoké hodnoty IGF a nízká úroveň IGFBP-3 souvisí se zvětšeným rizikem kolorektálního karcinomu nebo pokročilých adenomů.

Různé typy nádorů včetně rakoviny tlustého střeva vykazují změnu exprese IGF-I a IGF-II a jejich základního receptoru IGF-IR. Kolorektální karcinom vykazuje v porovnání s okolní zdravou sliznicí 10–50 x vyšší hladinu IGF-I a IGF-II⁶³.

Leptin

Leptin je 16 kDa proteinový hormon hrající klíčovou roli v regulaci energetickém příjmu a výdeje. Ob(Lep) gen je umístěný na 7. chromozómu. Leptin je produkován tukovou tkání a reaguje se šesti druhy receptorů (LepRf). Ačkoli leptin redukuje chuť, obézní pacienti mají neobvykle vysokou koncentraci leptinu. Tyto pacienti jsou rezistentní vůči působení leptinu, podobně jako jsou diabetici II. typu rezistentní vůči působení insulinu. Leptin je také silně spojený s angiogenezí, zvyšuje hladinu VEGF.

Obézní pacienti mají mnoho tukových buněk, a ty produkují velké množství leptinu. Proto obezita vyplývá častěji z anergie na leptin než z nepřítomnosti leptinu.

Adiponektin

Adiponektin je nový člen rostoucí rodiny adipocytokinů a je také označován jako ACRP-30 (adipocyte compliment related protein-30), Adipo-Q, a APM-1 (adipose tissue most abundant gene transcript-1). Adiponektin je převládajícím proteinem vylučovaným z tukové tkáně a cirkuluje v množství mikrogram/ml. Je strukturálně podobný s kolagenem VIII a hybernačním specifickým proteinem C1q. Na rozdíl od většiny proteinů vylučovaných z tukové tkáně, které jsou zvýšené v obezitě, hladina adiponektinu se zdá být buď snížená nebo nezměněná s mírou tloušťky. Je zajímavé, že vyšší hladina adiponektinu se zdá být pozitivním faktorem obezity na rozdíl od jiných tukovou tkání vylučovaných proteinů které přispívají k zdravotním rizikům sdruženým s obezitou. Adiponektin má také senzibilizující účinek na inzulín. Hladina cirkulujícího adiponektinu se zdá být vynikajícím biochemickým ukazatelem pro zlepšení inzulínové rezistence u obézních a diabetiků.

Nízká sérová hladina adiponektinu by mohla představovat podpůrný nástroj v předpovědi rizika relapsu KRC ⁶⁴.

VEGF

Vaskulární endoteliální růstový faktor C (VEGF C) je první identifikovaný angiogenní faktor. Nicméně jeho přesná úloha v procesu karcinogeneze KRC není ještě dostatečně definovaná.. Někteří autoři popisují vztah exprese VEGF a špatné prognózy onemocnění ⁶⁵, ⁶⁶. Imunohistochemicky byl VEGF-C detekován u asi 50% pokročilých KRC nádorů.

Klinické využití nádorových markerů

Doporučení European Group on Tumour Markers (EGTM)⁶⁷ a American Society of Clinical Oncology (ASCO)⁶⁸ k užívání nádorových markerů u KRC.

Diagnóza, screening a prognóza

Nejčastěji užívaným a nejvíce prostudovaným markerem je CEA.

CEA není doporučován jako screeningový test, předoperačně má jeho měření význam pro stanovení rozsahu onemocnění – vyšší hladiny korelují s horší prognózou. CEA může být nápomocno při stagingu a plánování chirurgické léčby, samotná hladina CEA ale nemůže být indikací k adjuvantní terapii. Pro počáteční stadia onemocnění má nízkou senzitivitu. Dalším problémem je specifická kolem 90%, mnoho benigních onemocnění může elevovat hladinu CEA (viz tab.č 3). Ze stejných důvodů nemůže být CEA použit samotný pro diagnózu KRC.

Žádné další markery nejsou doporučovány ani diskutovány pro diagnózu a screening KRC.

Monitorace onemocnění

Všeobecně uznávaným a používaným markerem pro kolorektální karcinom je CEA. Pro diagnostiku relapsu onemocnění má CEA udávanou senzitivitu kolem 80% (19-89%) a specifitu kolem 70% (34-91%)⁶⁹. Pravidelné měření CEA (interval cca 3 měsíce) může odhalit relaps onemocnění 4-10 měsíců před jeho klinickou manifestací. CEA je senzitivní pro diagnózu jaterních metastáz a postižení retroperitoneálních uzlin, méně pro plicní a peritoneální metastázy⁷⁰. Někteří autoři popisují pozvolný nárůst CEA v souvislosti s lokální recidivou

nádoru a prudký vzestup u jaterních metastáz⁷¹. Kombinace CEA s CT vyšetřením je prospěšná ve follow-up zvláště pokud je proveditelná agresivní resekce případných metastáz⁷².

Pro monitoraci léčby metastáz KRC během systémové terapie je opět užíván CEA v intervalech 3 měsíce. Narůstající hodnoty CEA znamenají progresi onemocnění i bez radiologického potvrzení progresu. V prvních 4 týdnech ale vzestup CEA může být způsoben chemoterapií, zvláště při použití oxaliplatin⁷³.

V rámci monitorace onemocnění jsou studovány další markery – CA 19-9, CA 242, TPA, TPS, p53, ras onkogen, DNA index, ztráta heterozygosity (LOH) dlouhého raménka 18 chromozomu (18q) či jeho dalece (DCC) -, provedené studie jsou zatím nejednoznačné a nedostatečné, zatím nebylo ustanoveno doporučení jejich používání.

Předběžné výsledky ve zkoumání mikrosatelitní instability (MSI) ukazují, že MSI status může předpovídat účinnost adjuvantní terapie⁷⁴. Imunohistochemické hodnocení hMSH2 a hMLH1 proteinu u KRC je čím dál tím více používanou metodou. S MSI je spojen syndrom hereditární nepolypózní formy KRC (HNPCC) – je často způsoben mutací hMSH2 či hMLH1 genu.

European Society for Medical Oncology (ESMO) ve svých doporučeních ohledně sledování nemocných po operaci pro karcinom rekta žádné markery nedoporučuje. Po operacích pro karcinom tračníku ESMO doporučuje z markerů sledovat pouze CEA.

Experimentální část

Cíl práce:

Tato práce si klade za cíl shrnout současné poznatky o markerech KRC, nastínit další možný vývoj a ve své části experimentální prezentovat vlastní výsledky autora při sledování vztahu hladin již ověřených a především zatím neověřených možných markerů k prognóze onemocnění u pacientů podstupujících kurativní chirurgickou intervenci.

Na vybraném vzorku pacientů s kolorektálním karcinomem stanovit předoperační hladiny vybraných parametrů a stanovit jejich diskriminační hodnoty (cut-off), porovnat sérové hladiny všech parametrů u pacientů s kolorektálním karcinomem se sérovými hladinami osob kontrolní skupiny, stanovit jejich senzitivity při optimálních specifitách.

Stanovit vzájemné korelace jednotlivých parametrů.

Posoudit význam použití parametrů na základě zjištěných senzitivit.

Posoudit možnost využití sledovaných parametrů pro rutinní praxi:

- pro screening
- pro primární diagnostiku
- pro prognózu
- pro monitoraci léčby

Metodika:

Soubor pacientů:

Soubor pacientů s kolorektálním karcinomem.

Do souboru byly zařazeni pacienti, kteří byli operováni na Chirurgické klinice FTNsP v Praze 4 (přednosta doc. MUDr. Vladimír Visokai, Ph.D.) a na Chirurgické klinice FN Plzeň (přednosta prof. MUDr. Vladimír Třeška, DrSc.). Pacienti byli operováni v letech 2001 – 2006.

Zařazovacími kritérii pro studii bylo:

- klinické stadium I.-III. (dle UICC).
- provedená resekce R0 - tedy kdy není prokázán žádný reziduální nádor makroskopicky ani mikroskopicky.

Vyřazovací kritéria:

- klinické stádium IV.
- nižší klinické stádium, pokud se nepodařila R0 resekce
- patologické parametry jaterních a renálních funkcí (tj. pokud přesahovaly o 200% referenční rozmezí sledovaných parametrů)

Do studie byli v letech 2001 až 2006 postupně zařazováni pacienti kteří splnili kritéria k zařazení, celkem bylo zařazeno 174 pacientů. Tab. č.: 6 - 8. Před ukončením vyhodnocení bylo ověřeno, v jakém stádiu onemocnění se právě nacházejí, či zda-li ještě žijí. Z celého souboru zatím zemřelo 36 nemocných a u 24 nemocných došlo k progresi či recidivě onemocnění.

			Počet	%
Základní údaje pacienta	Pohlaví	Muž	111	63,79
		Žena	63	36,21

Tabulka č. 6. Základní epidemiologická charakteristika souboru pacientů s kolorektálním karcinomem (N = 174)

Kolorektální karcinom	Lokalizace	Kolon	81	47,65
		Rektum + sigma	89	52,35
		N/A	6	
	Histologie	Adenokarcinom	166	96,4
		Mucinózní	5	2,87
		N/A	3	1,72
Adjuvantní/neoadjuvantní léčba	Druh léčby	Chemoterapie	52	34,21
		Radioterapie	18	11,64
		Chemoradioterapie	18	11,84
		Žádná	64	42,11
		N/A	22	
	Typ léčby	Adjuvantní	68	44,74
		Neoadjuvantní	21	13,82
		Žádná	63	41,45
		N/A	22	
	Pooperační komplikace	Ano	Závažná	7
Nezávažná			39	22,41
Ne			128	73,56
		N/A	0	
Výskyt duplicity nádoru	C 34	Karcinom plic	1	0,57
	C 50	Karcinom prsu	1	0,57
	C 53	Karcinom děl. hrdla	1	0,57
	C 61	Karcinom prostaty	1	0,57
	Žádná		170	97,7
Příčina úmrtí		Nádor	15	8,62
		Jiná příčina	20	11,49
		Pacient žije	139	79,89

Tabulka č. 7. Základní onkologická charakteristika souboru pacientů s kolorektálním karcinomem (N = 174)

	Jednotka	Průměr	Směrodatná odchylka	Medián	Minimum	Maximum
Věk	roky	65,95	± 10,36	66,00	39,00	89,00
Výška	m	1,71	± 0,09	1,71	1,50	1,97
Váha	kg	80,78	± 13,19	80,00	52,00	120,00
BMI	kg . m ⁻²	27,74	± 4,14	27,08	18,55	41,52

Tabulka č. 8. Základní demografická data pacientů s kolorektálním karcinomem (N = 174)

Kontrolní skupina pacientů

Kontrolní skupinu tvořilo 50 pacientů, kteří byli podrobně vyšetřeni na odd. preventivní kardiologie FN Plzeň a u nichž v době odběru kontrolního vzorku séra nebyla klinicky prokázána přítomnost nádorového onemocnění. Tab. č.: 9, 10.

			Počet	%
Základní údaje pacienta	Pohlaví	Žena	23	46
		Muž	27	54

Tabulka č. 9. Základní epidemiologická charakteristika kontrolního souboru (N=50)

	Jednotka	Průměr	Směrodatná odchylna	Medián	Minimum	Maximum
Věk	roky	48,26	± 10,74	50,00	27,00	64,00
Výška	m	173,99	± 9,25	173,25	157	198,00
Váha	kg	82,09	± 17,49	84,15	51,10	115,00
BMI	kg · m ⁻²	26,92	± 4,27	28,48	17,17	34,33

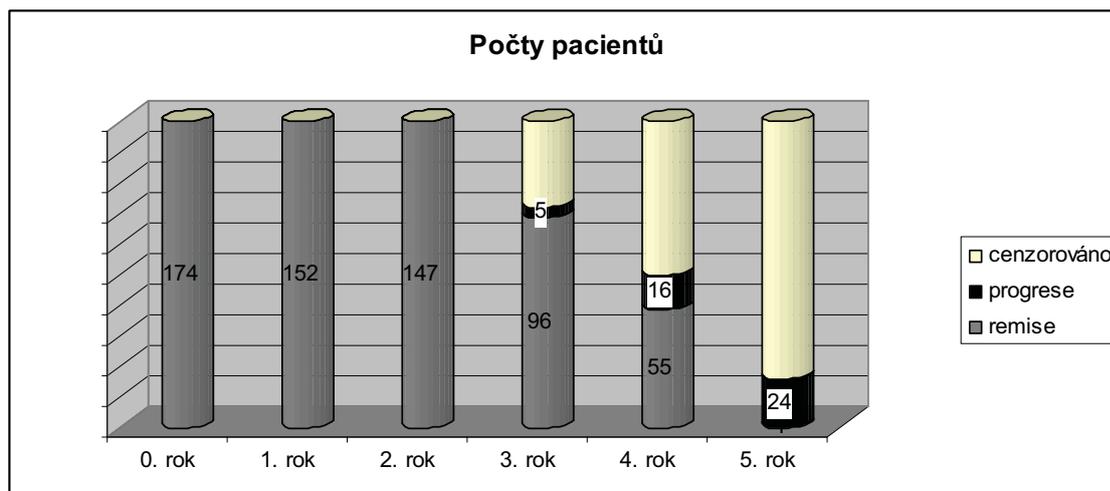
Tabulka č. 10. Základní demografická data kontrolní skupiny (N = 50)

Pacienti byli zařazováni a sledováni v průběhu 5 let. Tab. č.: 11, graf č. 8. Jako „cenzorováno“ jsou označeni pacienti, kteří ještě ve studii tohoto období nedosáhli.

Tento soubor byl podrobně analyzován, byly provedeny odběry séra před operací. Byla provedena i potřebná vyšetření k vyloučení známých faktorů, které by mohly ovlivňovat výsledky laboratorních stanovení parametrů biologické aktivity (závažné jaterní či renální insuficience).

174 celkem	Počet úmrtí nově/celkem	Počet pacientů v remisi	Počet pacientů s progresí nově /celkem	Počet cenzorovaných pacientů
1- leté sledování	22/22	152	0	0
2- leté sledování	5/27	147	0	0
3- leté sledování	7/34	68	5/5	39
4- leté sledování	1/35	55	11/16	71
5- leté sledování	1/36	1	8/24	129

Tabulka č. 11. Počty pacientů zařazených v jednotlivých obdobích



Graf č.8. Grafické znázornění podskupin v jednotlivých letech

Laboratorní analýzy

Preanalytika

Krev na stanovení základních biochemických parametrů i specifických parametrů biologické aktivity nádorového onemocnění byla odebírána z loketní žíly vždy v ranních hodinách (mezi 6-8 hodinou ranní) po minimálně 8-hodinovém nočním lačnění. Sérum získané centrifugací bylo rozděleno na minimálně 3 aliquoty a bylo skladováno až do analytického stanovení při teplotě -70°C. Všechny parametry biologické aktivity nádoru byly stanoveny na Oddělení nukleární medicíny, Úsek imunoanalýzy (vedoucí prof. MUDr. Ondřej Topolčan, CSc.) pomocí komerčních diagnostických souprav dle doporučení jednotlivých výrobců. Přehled jednotlivých použitých laboratorních analýz a jejich charakteristika je uvedena v tabulce č. 12. Kontrola stanovení byla prováděna jednak pomocí kontrolních sér, které jsou součástí diagnostických souprav a jednak pomocí kontrolních sér určených k externí mezilaboratorní kontrole SEKK (Systém externí kontroly kvality).

Skupina	Parametr	Výrobce	Metoda	Jednotky:
Onkofetální markery	CEA	Beckman Coulter	CLIA	ng/ml
Mucinové markery	CA 19-9	Beckman Coulter	CLIA	IU/ml
Proliferativní markery	TK	Beckman Coulter	REA	IU/l
Cytokeratinové markery	TPA	DiaSorin	IRMA	IU/l
	TPS	IDL Sweden	IRMA	IU/l
Adhezivní molekuly	I-CAM	Linco-Millipore	xMAP	ng/ml
	V-CAM	Linco-Millipore	xMAP	ng/ml
Interleukiny	IL 6	Linco-Millipore	xMAP	pg/ml
	IL 10	Linco-Millipore	xMAP	pg/ml
Inhibitor MMP	TIMP-1	R&D Systems	EIA	ng/ml
Metaloproteináza	MMP 9	Linco-Millipore	xMAP	ng/ml
Angiogenní faktory	VEGF	Linco-Millipore	xMAP	pg/ml
Parametry metabolismu	Adiponektin	Linco-Millipore	xMAP	Mg/ml
	Leptin	Linco-Millipore	xMAP	pM

Tabulka č. 12: Metody stanovení sledování parametrů biologické aktivity.

Interpretace výsledků a faktory ovlivňující výsledky nádorových markerů

Při interpretaci výsledků si je nutno uvědomit, že může být ovlivněn řadou faktorů. Tím můžeme dostat výsledek falešně pozitivní i falešně negativní. Nejčastější obecné příčiny těchto falešných výsledků jsou uvedeny v následující tabulce č. 13.

Falešně pozitivní výsledek	Falešně negativní výsledek
<ul style="list-style-type: none"> • Zánětlivá onemocnění • Autoimunitní onemocnění • Cholestáza • Renální insuficience • Kouření • Zanedbání biologického poločasu nádorového markeru 	<ul style="list-style-type: none"> • nesprávně zvolený druh markeru <ul style="list-style-type: none"> ○ orgán ○ histologie ○ stupeň zralosti • opožděný přestup z tkáně do tělních tekutin • málo citlivá metodika

Tabulka č.13: Přehled obecných faktorů, které mohou mít vliv na interpretaci výsledku parametru biologické aktivity nádoru.

Statistické vyhodnocení

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí software S.A.S. (Statistical Analysis Software) release 8.02 a programu STATISTICA release 5.1. Pro měřené parametry v celém souboru byly počítány základní statistické údaje jako průměr, směrodatná odchylka, rozptyl, medián, minimum a maximum. Vybrané statistické údaje byly též zpracovány graficky do histogramů. Na porovnání distribucí jednotlivých parametrů v různých skupinách a podskupinách, vzhledem k distribucím těchto proměnných, byly použity neparametrické testy a to dvouvýběrový Wilcoxonův test. Pro zjištění závislostí zkoumaných znaků s ohledem k negausovskému rozdělení těchto

proměnných byl použit Spearmanův pořadový korelační koeficient. Pomocí specificit a senzitivit dané metody byly stanoveny optimální referenční meze (cut-off) mezi skupinami pro danou metodu a dále byla vypočtena celá ROC křivka. Délka přežití a DFI (disease free interval) byly spočteny užitím Kaplan-Meierovy metody odhadu. Pro zjištění vlivu daných proměnných na délku přežívání a DFI byl pak užit Coxův regresní model.

Při statistickém vyhodnocení výsledků byly použity následující pojmy:

Cut- off (diskriminační hladina): představuje hranici hodnoty nádorového markeru, která odděluje zdravé jedince od nemocných. Neexistují přesná pravidla, jak se cut-off hodnota vypočítává. Obecně se stanovuje jako průměrná hodnota markeru u kontrolní skupiny zdravých jedinců zvýšená o dvě standardní odchylky nebo se používá 95. percentil. Je však velmi důležité správně zařadit jedince do této kontrolní skupiny. Tato skupina může zahrnovat pouze zdravé jedince anebo i jedince s benigním onemocněním. Hodnota cut-off se zvyšuje za účelem odlišení benigního a maligního onemocnění. Naopak nízko stanovená hodnota cut-off znamená vyšší senzitivitu markeru na úkor významně nižší specificity. U nádorových markerů se proto hodnota cut-off určuje v závislosti na tom, za jakým účelem se nádorový marker stanovuje. Při primární diagnostice je definována jako hladina markeru, pod kterou je 95 % hladin zdravých lidí event. pacientů s benigním onemocněním při follow-up nádoru nebo monitoraci léčby je definována jako hladina markeru, pod kterou leží 95 % hodnot pacientů v kompletní remisi.

Specificita nádorového markeru (SP): pravděpodobnost, s jakou má pacient/subjekt (kontrola) bez diagnostikovaného maligního onemocnění negativní výsledek. Tj. vyjadřuje možnost odlišení benigní léze od maligní.

Senzitivita nádorového markeru (SN): pravděpodobnost, že pacient s hledaným nádorovým onemocněním má pozitivní výsledek.tj. vyjadřuje možnost časnosti záchytu onemocnění.

Přežití se zabývá časovým intervalem od určitého okamžiku (např. operace/primární terapie) do výskytu očekávané události (úmrť, progrese, apod.). Jednou nejpoužívanějších metod analýzy přežití je metoda Kaplan-Meierové, jež je maximálně věrohodným bodovým odhadem funkce přežití $S(t)$ definované vztahem $S(t) = P(T \geq t)$, kde t je čas (ve stanovených jednotkách – měsících, letech, atd.), T je délka přežití pacienta, P je označení pro pravděpodobnost. Přežití je nejčastěji popsáno funkcí přežití, tj. pravděpodobnost, že délka života pacienta bude větší nebo rovna času „ t “, tj., že pacient přežije alespoň „ t “ let od stanovení diagnózy.

Absolutní přežití (OS) (absolute, observed, overall survival) se zabývá dobou mezi diagnózou onemocnění a očekávanou událostí, tedy úmrtím na jakékoliv onemocnění. **Bezpříznakový interval (DFI)** (disease free interval) se zabývá intervalem od okamžiku dosažení kompletní remise do prvních známek relapsu. Prognóza vyjadřuje odhad perspektivy dalšího průběhu nádorového onemocnění. Nejčastěji je prognóza vyjadřována jako tříleté, pětileté (nejčastěji) a desetileté přežití. To znamená, jaké procento nemocných přežije 3, 5 nebo 10 let od stanovení primární diagnózy. Nebo je charakterizována dobou do vzniku relapsu, tj pomocí bezpříznakového období (DFI). Prognóza se stanovuje v klinické praxi za pomoci tzv. prognostických parametrů odvozených na základně univariantní, častěji multivariantní analýzy. Prognostické parametry jsou klinicko-patologické faktory, které bezprostředně souvisejí s nádorovým onemocněním. Může jít o parametry klinického stavu, výsledky zobrazovacích technik, parametry určené patologem, laboratorní, atd. Určení prognostických markerů je důležité pro individualizaci péče o onkologického nemocného. Lze například optimalizovat dispenzární péči – jak z hlediska frekvence, kontrol, ale i jejich náplně nebo volit a optimalizovat terapii. Mnohdy je prognóza nesprávně jen zužovaná na prognostické markery určované imunoanalytickými metodami, imunohistochemickými metodami nebo pomocí metod molekulární biologie.

ROC křivka (Receiver Operating Characteristic curve) křivka znázorňuje jako vztah mezi senzitivitou a specificitou (resp. 100-specificitou při vyjádření v procentech).

Chí-kvadrát je v této studii prezentován pro Coxův model proporcionálních rizik model, kde Waldova testová statistika má toto rozdělení. Tj. čím vyšší číslo testové statistiky, tím je test významnější.

Výsledky:

Laboratorní výsledky jsou prezentovány v následujících tabulkách č. 14 - 16 a grafech č. 9 - 10:

Parametr	Jednotka	Medián	Minimum	Maximum
CEA	ng/ml	2,00	0,00	85,00
CA 19-9	IU/ml	10,05	0,70	606,00
TK	IU/l	4,70	0,40	80,00
TPA	IU/l	44,00	0,00	375,00
TPS	IU/l	43,50	0,00	905,00
I-CAM	ng/ml	108,97	30,46	434,72
V-CAM	ng/ml	1053,00	472,57	1816,00
IL-6	pg/ml	6,49	0,56	142,09
IL-10	pg/ml	5,55	0,64	209,92
TIMP-1	ng/ml	164,20	104,40	153,40
MMP-9	ng/ml	484,91	135,04	2528,00
VEGF	pg/ml	139,60	12,31	1475,00
Adiponektin	μg/ml	9,60	2,80	39,00
Leptin	pM	465,83	6,20	4676,00

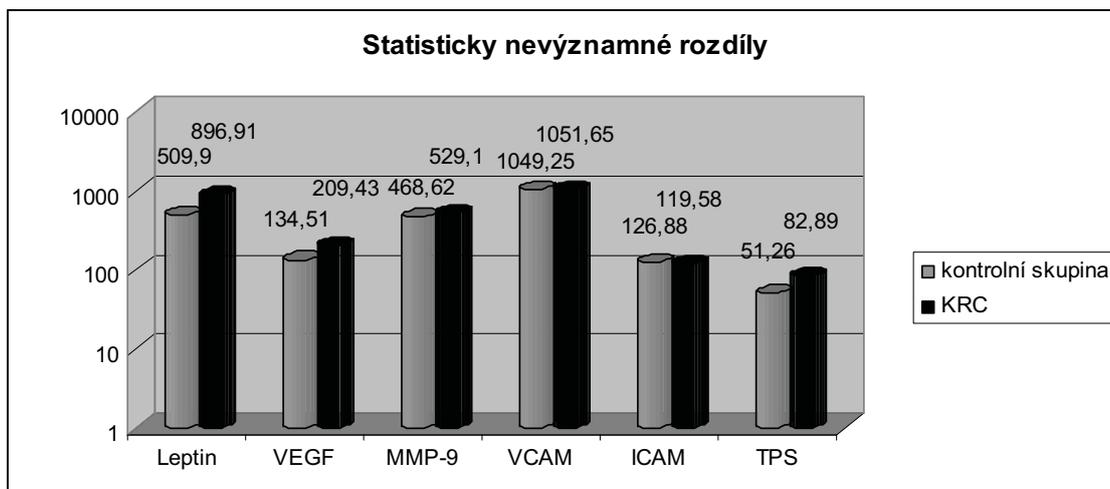
Tabulka č.14: Základní deskriptivní statistika parametrů biologické aktivity nádoru u pacientů s kolorektálním karcinomem (N=174)

Parametr	Jedn.	Medián	Minimum	Maximum
CEA	ng/ml	1,50	0,30	6,90
CA 19-9	IU/ml	5,20	0,80	32,00
TK	IU/l	5,90	2,90	21,70
TPA	IU/l	10,00	10,00	240,00
TPS	IU/l	35,00	10,00	236,00
I-CAM	ng/ml	114,42	53,68	249,28
V-CAM	ng/ml	1016,28	660,16	1734,86
IL-6	pg/ml	1,21	0,57	82,13
IL-10	pg/ml	0,64	0,64	10,36
TIMP-1	ng/ml	143,60	108,60	207,20
MMP-9	ng/ml	431,88	166,12	944,27
VEGF	pg/ml	112,65	3,20	377,22
Adiponektin	µg/ml	12,36	5,33	25,00
Leptin	pM	408,24	8,40	1336,39

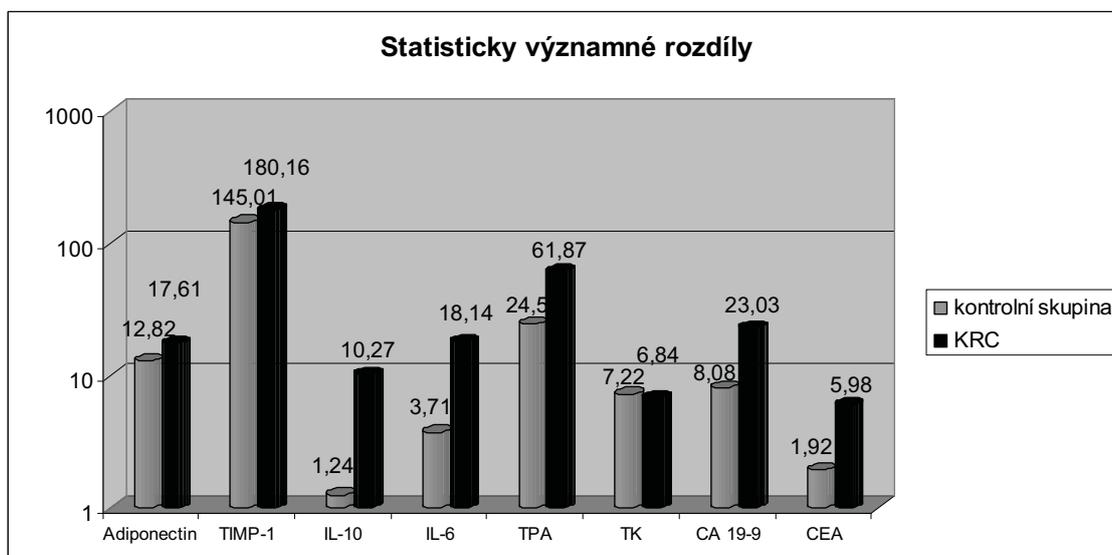
Tabulka č.15: Základní deskriptivní statistika parametrů biologické aktivity nádoru u kontrolního souboru zdravých jedinců.

Parametr	Jedn.	Kontrolní skupina N=50			Skupina s kolorektálním karcinomem N= 174			p- hodnota
		Průměr	Směrod. odchylka	95. percentil	Průměr	Směrod. odchylka	95. percentil	
CEA	ng/ml	1,92	± 1,35	4,30	5,98	± 12,58	24,10	0,0388
CA 19-9	IU/ml	8,08	± 7,72	24,90	25,03	± 60,41	96,10	0,0003
TK	IU/l	7,22	± 4,05	18,30	6,84	± 9,34	22,00	0,0021
TPA	IU/l	24,50	± 38,37	57,00	61,87	± 68,35	229,00	<0,0001
TPS	IU/l	51,26	± 52,05	172,00	82,89	± 127,14	248,00	0,0995
I-CAM	ng/ml	126,88	± 44,42	228,45	119,58	± 49,28	219,18	0,1566
V-CAM	ng/ml	1049,25	± 213,43	1463,77	1051,65	± 258,56	1504,91	0,9944
IL-6	pg/ml	3,71	± 11,69	11,52	18,14	± 25,11	74,84	<0,0001
IL-10	pg/ml	1,24	± 1,55	3,46	10,27	± 21,02	39,21	<0,0001
TIMP-1	ng/ml	145,01	± 22,79	188,20	180,16	± 51,99	282,00	<0,0001
MMP-9	ng/ml	468,62	± 190,12	911,67	529,10	± 290,74	1033,32	0,2646
VEGF	pg/ml	134,51	± 83,73	324,02	209,43	± 217,19	668,61	0,1665
Adiponektin	µg/ml	12,82	± 4,90	25,00	17,61	± 6,51	28,87	<0,0001
Leptin	pM	509,90	± 357,73	1258,83	896,91	± 1104,00	3897,58	0,4727

Tabulka č. 16: Porovnání hodnot parametrů biologické aktivity nádorů mezi skupinou s kolorektálním karcinomem (N = 174) a mezi kontrolní skupinou zdravých osob (N = 50). Wilcoxonův test



Graf č.9 : Grafické porovnání průměrných hodnot parametrů, u kterých nebyly prokázány mezi kontrolní a patologickou skupinou statisticky významné rozdíly - logaritmické měřítko



Graf č. 10: Grafické porovnání průměrných hodnot parametrů, u kterých byly prokázány statisticky významné rozdíly mezi kontrolní a patologickou skupinou - logaritmické měřítko

Byly vypočítány korelace mezi jednotlivými parametry u pacientů s KRC i u kontrolní skupiny. V následující tabulce č. 17 jsou uvedeny pouze statisticky významné korelace, podrobný komentář je v kapitole „Diskuze“.

Korelace mezi parametry	KRC		Kontrolní skupina	
	r =	p-hodnota	r =	p-hodnota
CEA x CA 19-9	0,33762	0,0002		NS
CEA x ICAM	0,30048	0,0009		NS
TK vs. CA 19-9	0,33167	0,0032		NS
TK x TPA	0,62628	0,0003		NS
TK x TPS	0,47800	0,0001		NS
TK x TIMP	0,43420	0,0020		NS
TK x IL 10		NS	0,44551	0,0012
TPA x TPS	0,41444	0,0002	0,67567	0,0001
TPA x VCAM		NS	0,51118	0,0001
TPS x VCAM		NS	0,61434	0,0001
ICAM x VCAM		NS	0,38724	0,0055
TIMP-1 x leptin	0,40264	0,0074		NS
IL6 x adiponektin	0,41313	0,0059		NS
IL 10 x leptin		NS	0,47938	0,0004

Tabulka č. 17: Statisticky významné korelace u skupiny pacientů s KRC

Parametr (jednotka)	Odhad parametru	Standardní chyba	Poměr rizik	Chí-kvadrát	p-hodnota
N	0,6774	0,2009	1,969	11,3708	0,0007
T	0,6884	0,2416	1,991	8,1216	0,0044
G (Grading)	0,6408	0,2313	1,898	7,6739	0,0056
CA 19-9 (IU/ml)	0,0037	0,0017	1,004	4,5078	0,0337
Věk (roky)	0,0422	0,0212	1,043	3,9646	0,0465
TPS (IU/I)	0,0021	0,0012	1,002	3,1346	0,0766
TIMP-1(IU/I)	0,0067	0,0040	1,007	2,7977	0,0944
TPA (IU/I)	0,0042	0,0025	1,004	2,7852	0,0951
CEA (ng/ml)	-0,0024	0,0177	0,998	0,0189	0,8906
VEGF (pg/ml)	0,0017	0,0008	1,001	2,3740	0,1234
Leptin (pM)	0,0002	0,0001	1,000	1,9504	0,1625
Adiponektin (µg/ml)	0,0681	0,0585	1,071	1,3567	0,2441
IL-6 (pM)	0,0060	0,0056	1,006	1,1278	0,2882
IL-10 (pg/ml)	0,0038	0,0063	1,004	0,3665	0,5449
MMP-9 (ng/ml)	-0,0003	0,0007	1,000	0,0267	0,6057
I-CAM (ng/ml)	-0,0020	0,0041	0,998	0,2391	0,6248
V-CAM (ng/ml)	0,0002	0,0007	1,000	0,0536	0,8169

Tabulka č.18: Coxův regresní model celkového přežití bez ohledu na příčinu (univariační analýza) – seřazeno dle statistické významnosti

	Odhad parametru	Standardní chyba	Poměr rizik	Chí-kvadrát	p-hodnota
Věk (roky)	-0,0681	0,2886	0,934	5,6434	0,0183
CA 19-9 (IU/ml)	0,0046	0,0020	1,005	5,5118	0,0189
CEA (ng/ml)	0,0264	0,0120	1,027	4,8419	0,0278
TPA (IU/ml)	0,0048	0,0022	1,005	4,7413	0,0294
Adiponektin (µg/ml)	-0,3561	0,1679	0,700	4,4973	0,0339
ICAM (ng/ml)	0,0095	0,0045	1,010	4,4430	0,0350
V-CAM (ng/ml)	0,0017	0,0009	0,998	3,144	0,0739
VEGF (pg/ml)	0,0015	0,0010	1,002	2,5098	0,1131
TK (IU/ml)	-0,0934	0,0785	0,911	1,4164	0,2340
Leptin (pM)	-0,0258	0,0258	0,975	0,9926	0,3191
Hmotnost (kg)	0,01	0,03	1,01	0,16	0,6849
Leptin (pM)	-0,0179	0,0214	0,982	0,7053	0,4010
IL-6 (pg/ml)	0,0048	0,0078	1,005	0,3844	0,5353
TPS (IU/ml)	0,0007	0,0016	1,001	0,1888	0,6640
MMP-9 (ng/ml)	0,0001	0,0006	1,000	0,0268	0,8699
TIMP-1 (ng/ml)	-0,0003	0,0040	1,000	0,0044	0,9471
IL-10 (pg/ml)	0,0002	0,0142	1,000	0,0002	0,9886

Tabulka č. 19: Coxův regresní model - čas do progresse - PFS (univariační analýza) – seřazeno dle významnosti

Tato tabulka Coxova regresního modelu pro bezpříznakové přežívání (PFS) ukazuje, jak izolovaně jednotlivé parametry ovlivňují přežívání pacienta bez klinických známek recidivy či progresu onemocnění.

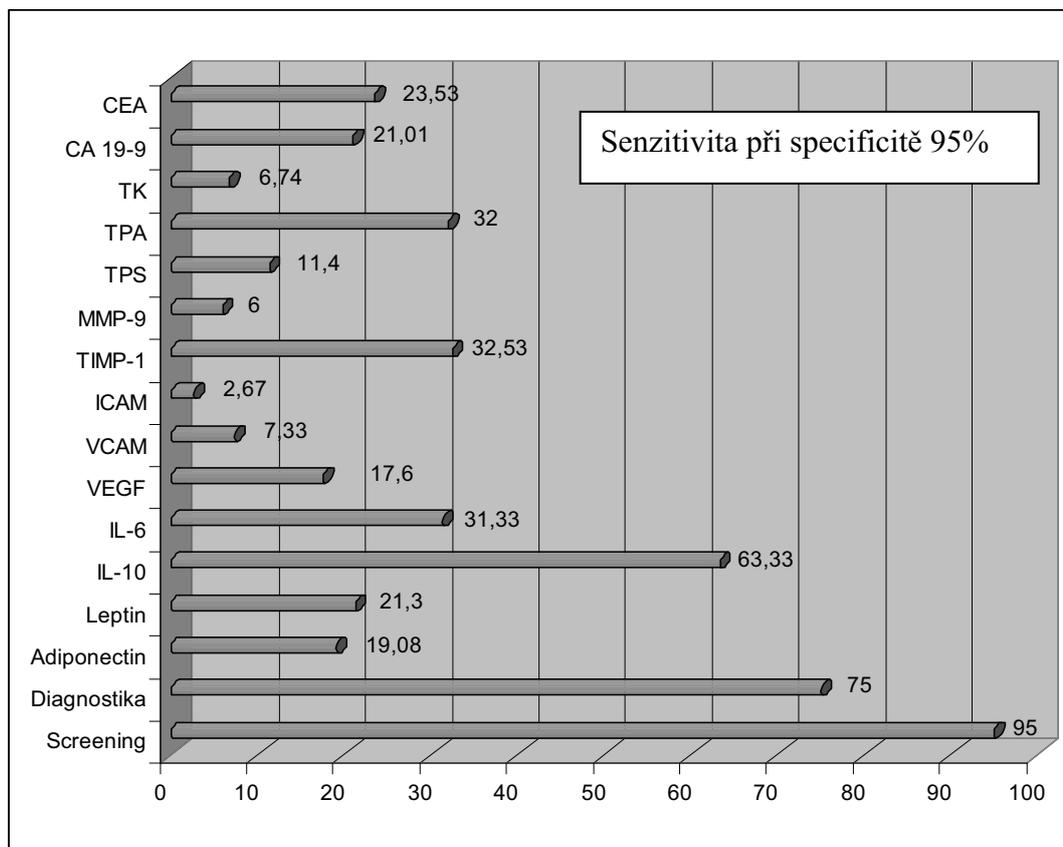
Dále jsme se zabývali porovnáváním senzitivit při různých hodnotách specifit - viz tabulka č. 20 .

Obecně platí, že pokud již pacienta sledujeme v období follow-up, lze říci, že potřebujeme co nejvyšší senzitivitu, která může být na úkor specifity tak, aby byl záchyt recidivy co nejčasnější.

Naopak pro primární či diferenciální diagnostiku je snaha použít co nejvyšší specifitu, abychom zbytečně nezatěžovali pacienty zbytečným vyšetřováním, pokud bychom použili nižší specifity.

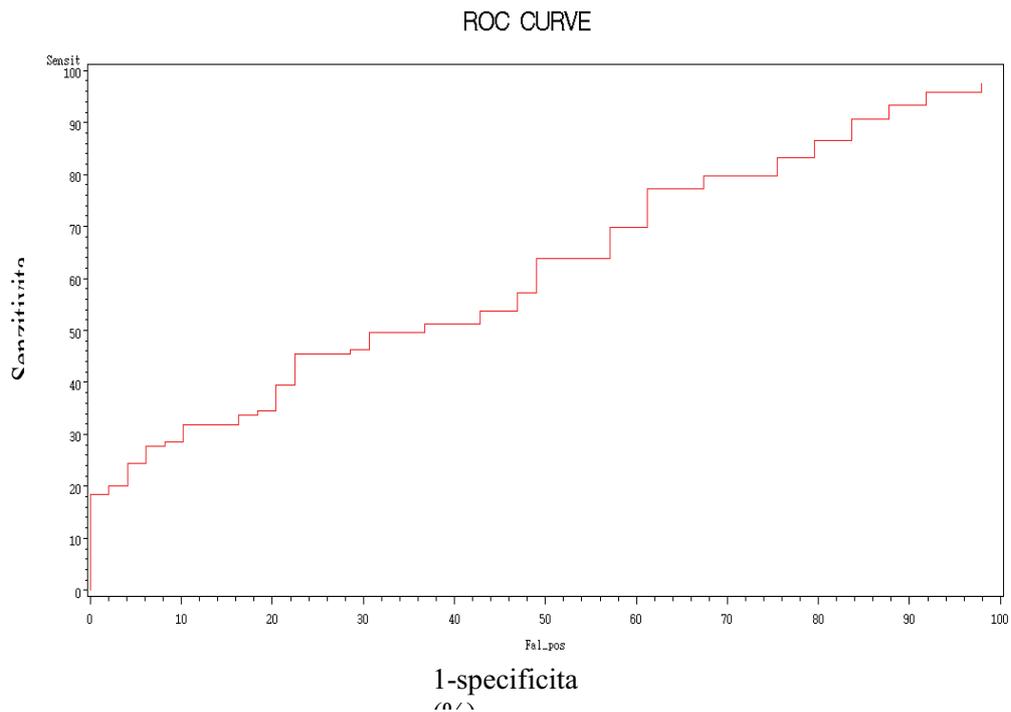
Parametr	Cut-off	Specificita (%)	Senzitivita (%)	p-hodnota
CEA	3,7	90	28,57	0,0388
	4,5	95	23,53	
CA 19-9	19,3	90	30,25	0,0003
	25,0	95	21,01	
TK	12,8	90	10,11	0,0021
	18,6	95	6,74	
TPA	54,0	90	40,00	<0,0001
	58,0	95	32,00	
TPS	163,0	90	12,28	0,0995
	173,0	95	11,40	
MMP-9	911,67	95	6,00	0,2646
TIMP-1	173,0	90	39,76	<0,0001
	188,2	95	32,53	
I-CAM	228,45	95	2,67	0,1566
V-CAM	1463,77	95	7,33	0,9944
VEGF	324,02	95	17,60	0,1665
IL-6	3,90	90	76,00	<0,0001
	11,52	95	31,33	
IL-10	2,54	90	72,00	<0,0001
	3,46	95	63,33	
Leptin	12583,83	95	21,30	0,4727
Adiponektin	18,2350	90	47,33	<0,0001
	25,0000	95	19,08	

Tabulka č.20:.. Senzitivity vybraných parametrů biologické aktivity při specificitě 90 a 95%:



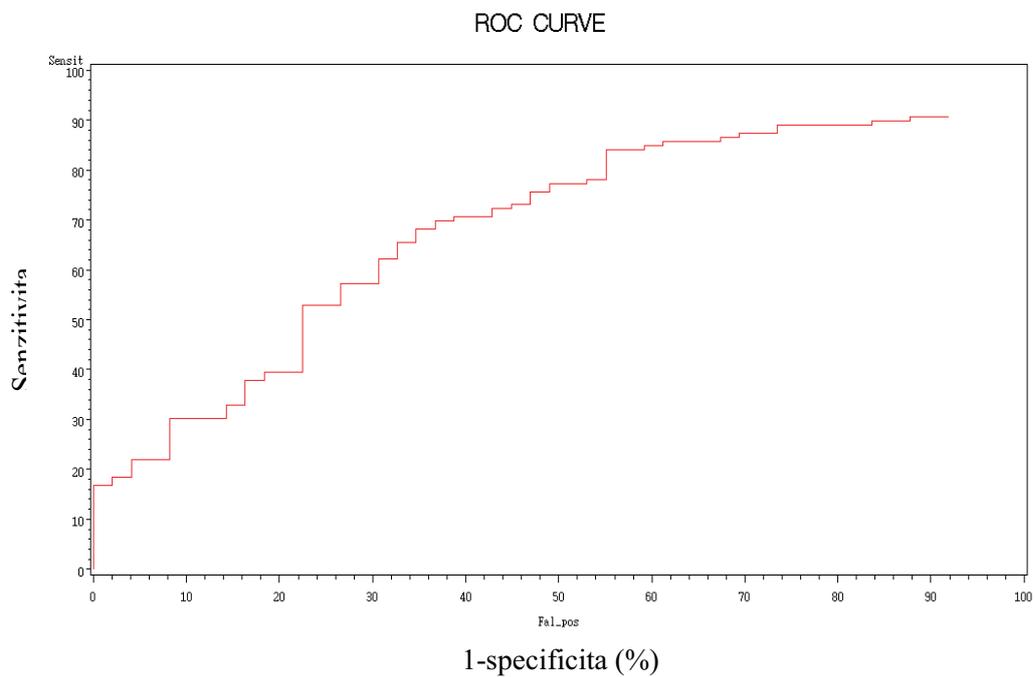
Graf č. 11. Grafické znázornění senzitivit jednotlivých parametrů v porovnání s požadavky na ideální marker pro screening a diagnostiku.

Z grafu senzitivit jednotlivých parametrů (graf č. 11) a ROC křivek pro jednotlivé parametry (grafy č. 12 – 19) je zřejmé, že žádný ze stanovených parametrů nespĺňuje přísná kritéria pro screening, kde by takový parametr musel dosahovat senzitivity 97% při 95% specifitě. Žádný z těchto parametrů nemá zatím ani diagnostickou významnost tak, aby splňoval kritéria pro primární diagnostiku (dle EGTM)⁷⁵. Podle nich musí parametr pro primární diagnostiku dosahovat buď senzitivity 75% při 95% specifitě nebo senzitivity 85% při 90% specifitě.

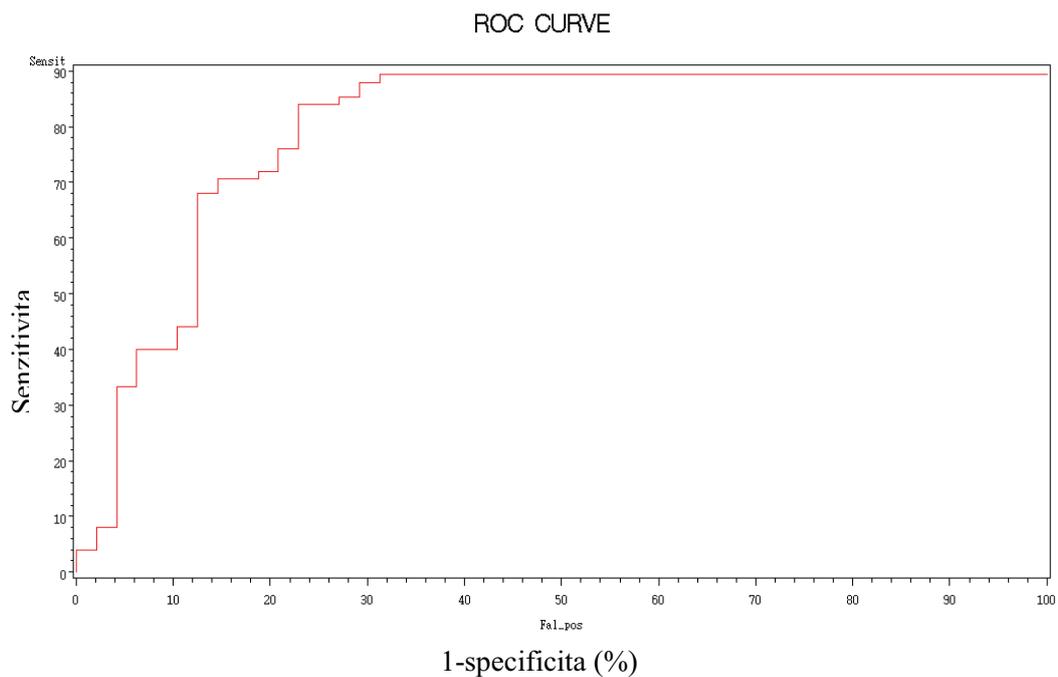


Graf č.12 : ROC křivka pro parametr CEA: (AUC = 0,63234)

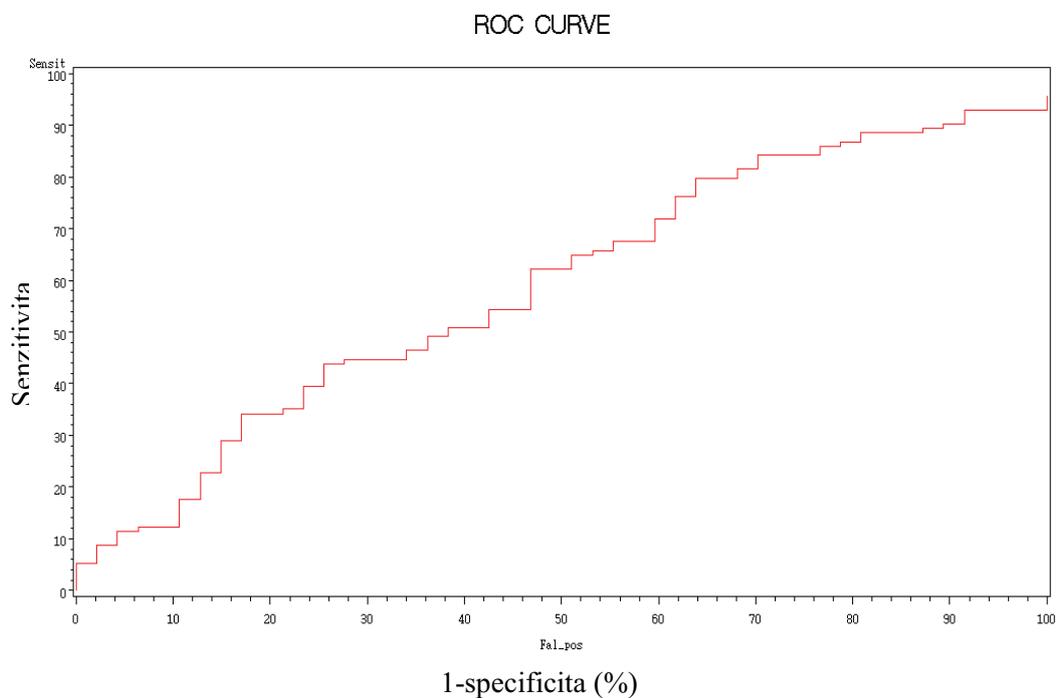
13



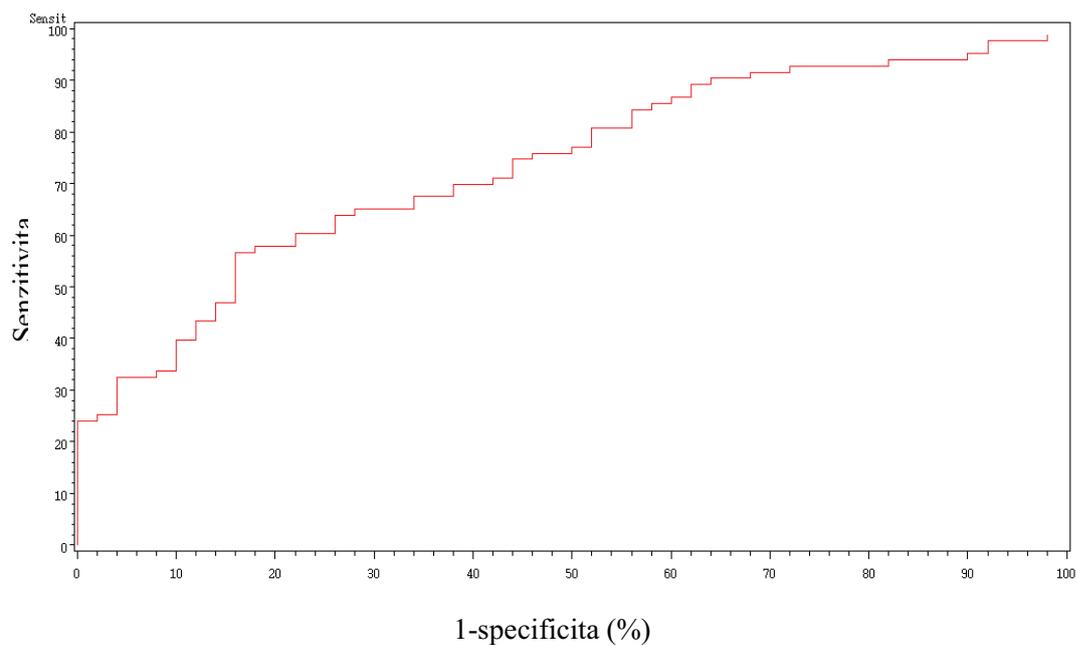
Graf č.13 : ROC křivka pro parametr TPA (AUC = 0,83958)



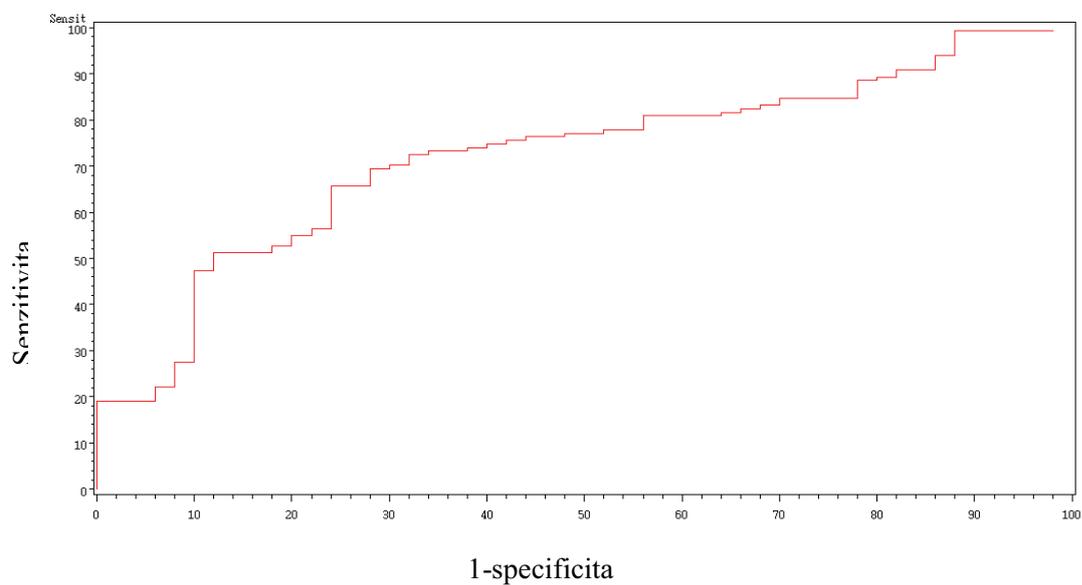
Graf č.14 : ROC křivka pro parametr CEA 19-9: (AUC = 0,68796)



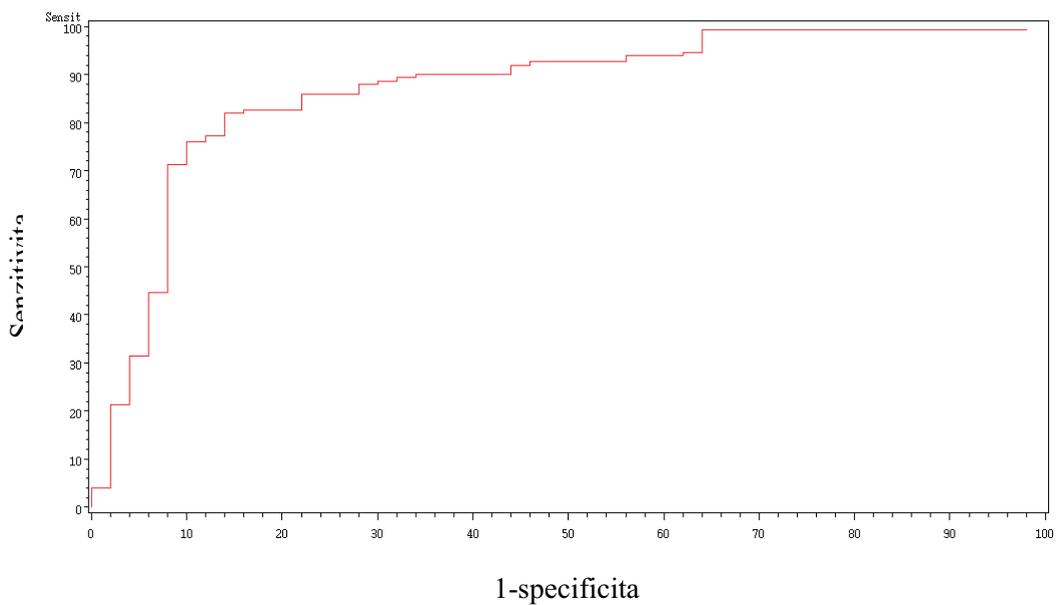
Graf č. 15: ROC křivka pro parametr TIMP-1. (AUC=0,74096)



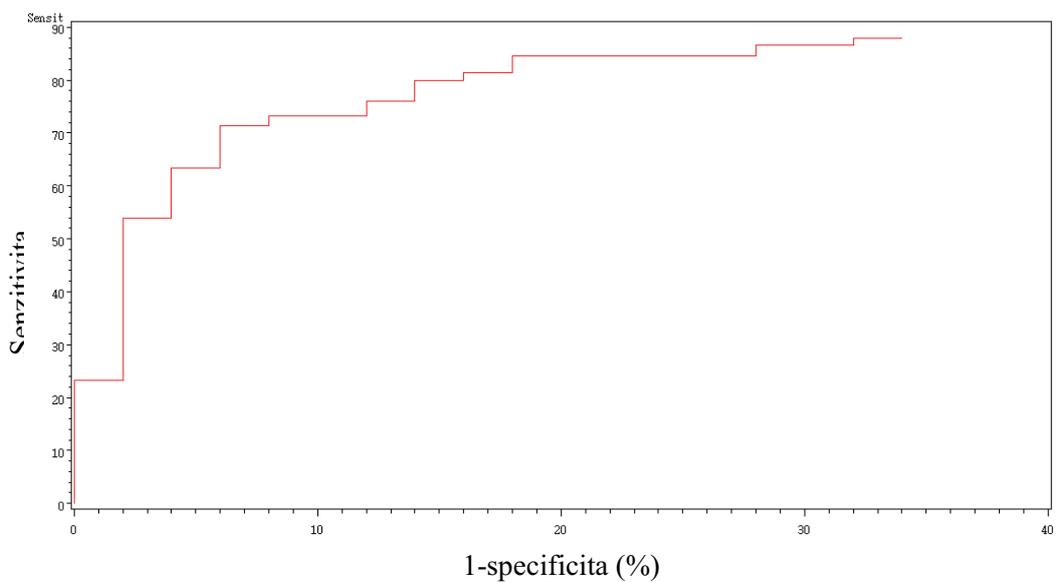
Graf č.16 : ROC křivka pro parametr TPS (AUC=0,60078)



Graf č. 17: ROC křivka pro parametr adiponektin (AUC=0,70893)



Graf č. 18: ROC křivka pro parametr IL-6 (AUC 0,86487)



Graf č.19 : ROC křivka pro parametr IL-10 (AUC= 0,62340)

Diskuze

Ve snaze konfrontovat naše výsledky s výsledky publikovanými ve světě jsme našli na Medline 2711 prací zabývajících se CEA a kolorektálním karcinomem, z nich 145 posuzuje předoperační hladinu CEA ve smyslu prognózy onemocnění. Pro CA 19-9 šlo o 425 prací, 25 z nich se zabývalo CA 19-9 a prognózou onemocnění. V případě ostatních markerů (adiponektin, leptin, IGF-1, IL6) šlo o desítky prací a jen minimum z nich se zabývá hladinou markeru a prognózou onemocnění.

Karcinoembryonální antigen je všeobecně uznávaným markerem KRC.

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.

Za fyziologických podmínek je CEA produkován ve vyvíjejícím se embryu, kde je syntetizován v epiteliálních buňkách, a to především na jejich membránách. V dospělém věku je syntetizován v minimálním množství epiteliálními buňkami střevní sliznice, žaludku a bronchů. CEA se nachází především ve tkáni nádorů karcinomů tlustého střeva a konečníku. Jeho výskyt je vázán na lépe diferencované struktury epiteliálních buněk těchto nádorů, kde je uložen na apikální straně buňky. U nádorů nediferencovaných je jeho distribuce homogenní, v anaplastických nádorech obvykle chybí.

Nárůst hladin CEA během léčby ukazuje na progresi onemocnění. Chemoterapie může přechodně, zvláště po jejím nasazení, elevovat hladinu CEA nejspíše v důsledku narušení jaterních funkcí. K dalším benigním onemocněním, která mohou elevovat CEA patří gastritis, vředová choroba, divertikulitida, jaterní onemocnění, CHOPN, diabetes a jiná akutní či chronická zánětlivá onemocnění. Nicméně CEA zůstává „zlatým standardem“ markeru KRC pro použití v rámci follow-up. Nicméně ani zde, jak vychází m.j. i z naší předchozí studie, follow-up založené pouze na sledování CEA a CA 19-9 neodhalí více než třetinu relapsů⁷⁶. Dle výsledků naší současné studie je prognostickým faktorem pro bezpříznakové přežití (DFI), ale ne pro celkové přežití (OS).

CA 19-9 je v případě jeho elevace v době diagnózy prediktivním faktorem pro přežití pacientů⁷⁷ a též jsou vysoké hladiny tohoto markeru spojené s venózní invazí tumoru a jeho lymfatickým šířením⁷⁸. CA 19-9 - mucinový marker je v naší studii v době diagnózy zvýšen v nízkém procentu případů, ale když je zvýšen, pak je výrazně nepříznivým prognostickým faktorem, a to jak pro bezpříznakové i celkové přežití (DFI i OS).

Adipocytokiny leptin a adiponektin se účastní regulace tělesné hmotnosti. V odpověď na ztrátu na hmotnosti, adiponektin se zvyšuje a leptin se snižuje. Nádorová kachexie je charakterizována ztrátou svalové hmoty a tukové tkáně společně s anorexií. Zhoršená odpověď na adiponektin a leptin může hrát roli v patogenezi nádorové kachexie.

Zdá se že leptin hraje roli v regulaci hladiny ghrelinu, peptidu produkovaného v žaludku a tenkém střevě který stimuluje chuť a nárůst hmotnosti.

Snížená hladina adiponektinu je spojena s inzulínovou rezistencí, diabetem II. typu a aterosklerózou. Studie ukazují, že adiponektin může hrát roli ve vývoji různých nádorových onemocnění. Může působit přímo na nádorové buňky a/nebo nepřímo regulací citlivosti na inzulín⁷⁹. V současné době je k dispozici celá řada studií o adiponektinu jako rizikovém faktoru kolorektálního karcinomu. Bylo prokázáno, že čím je nižší hladina adiponektinu, tím je vyšší riziko vzniku kolorektálního karcinomu⁸⁰ Výsledky naší studie ukazující, že nemocní s kolorektálním karcinomem mají signifikantně vyšší hladinu adiponektinu než kontrolní skupina je v rozporu s literaturou. Rozpor je zdánlivý, Ferroni a kol.⁸¹ ve své práci prezentuje, že nízké hladiny adiponektinu jsou především u pokročilých stádií a že predikují recidivu. V našem souboru nemocných s kolorektálním karcinomem se jednalo především o nemocné s méně pokročilým onemocněním. Kromě toho jsme prokázali, že čím vyšší hodnota adiponektinu, tím delší bylo přežití a tím menší riziko recidivy.

V literatuře není mnoho zmínek o sledování hladin leptinu ve vztahu ke kolorektálnímu karcinomu, nicméně některé studie prokazují zvýšené riziko vzniku KRC při vysokých sérových hladinách leptinu⁸², jiné prokazují zvýšené riziko (3,3x) vzniku adenomů kolon u mužů s vysokou hladinou leptinu⁸³. Jediná práce zabývající se prognózou onemocnění a hladinami adipokinů ukazuje na užitečnost kombinovaného měření adiponektinu a leptinu u pacientů s KRC⁸⁴.

Systémová zánětlivá reakce může být jedním z spouštěcích mechanismů kolorektální karcinogeneze. Studie prokazují že genetické variace IL-6, IL-8 a IL-10 jsou spojeny s kolorektálními adenomy a karcinomy⁸⁵. IL-6 může přispět k nádorové proliferaci stimulací růstu buněk a inhibicí apoptózy. Vysoké hladiny IL-6 jsou často pozorovány u pokročilých stádií onemocnění⁸⁶. Role interleukinu 6 v zánětlivých procesech byla mnohokrát diskutována, jeho role jako prognostického faktoru v maligních procesů je zmiňována méně. Výsledky posledních sledování ukazují na spojitost hladiny IL-6 s progresí KRC, gradingem a pokročilostí primárního tumoru⁸⁷. Belluco a kol.⁸⁸ nalézají nejenom elevaci IL-6 u pacientů s KRC, ale též korelaci mezi hladinami IL-6 a CEA a také s progresí onemocnění. Tato studie ukazuje na IL-6 jako na negativní, nezávislý prognostický faktor u KRC při elevaci nad 10 pg/ml. Roli IL-6 jako prognostického faktoru potvrzují i další studie⁸⁹. Naše studie v souhlase se zmiňovanými prokazuje signifikantně zvýšené předoperační hladiny interleukinů 6 a 10.

Cytokeratinové markery (TPA, TPS) byly již v minulosti mnohokrát zkoumány a jejich význam pro prognózu onemocnění nebyl prokázán. Výskyt TPA je však spojen s rychle se množícími epiteliálními buňkami plodu. Jeho výskyt v séru je vázán na rozdíl od diferenciačních antigenů spíše s buněčnou aktivitou než s objemem nádorové hmoty^{90, 91}. Tato aktivita může reflektovat nejen proces dělení buněk, ale i apoptózu, ev. degradaci tkáně a nekrózu. Poločas rozpadu v cirkulaci je 7 dní a snížení hladiny po kurativním chirurgickém zákroku je docíleno po 3-4 týdnech.

Z výsledků našich předchozích zkoumání⁹² vyplývá, že TPA i TPS jsou schopné potvrdit pokročilost onemocnění⁹³, ale v porovnání s CEA a CA 19-9 nám nepřinášejí žádnou další informaci. Nejnovější studie ukazují na přínos TPS a TPA ve stanovení prognózy onemocnění u pacientů operovaných pro jaterní metastázy KRC⁹⁴. TPS je užitečný marker v pooperačním sledování a někdy může nalézt recidivu onemocnění než CEA. Vzestup sérové koncentrace TPS může předcházet symptomy recidivy KRC o 2-6 měsíců⁹⁵. V naší studii jsme neprokázali signifikantně zvýšené hladiny TPS u pacientů s KRC ve srovnání s kontrolní skupinou, zdá se, že TPA je specifitější než TPS.

U dalšího cytokeratinového markeru CYFRA 21-1 výskyt v séru nemocných s maligními nádory může souviset s buněčnou nekrózou. Zvýšenou hladinu CYFRA 21-1 nacházíme především u nemalobuněčného karcinomu plic, nádorů močového měchýře a nádorů oblasti hlavy a krku. Fyziologicky je prokazatelná ve tkáni plic, dělohy a trávicího ústrojí. CYFRA je degradována játry a vylučována ledvinami. Z benigních onemocnění je nutno zvažovat

falešně pozitivní hodnoty u nemocných s jaterní cirhózou, s chronickým selháním ledvin, ev. s infekcí respiračního traktu. Nespecifické zvýšení je možno pozorovat při některých onemocněních jater (cirhóza, hepatitida), rovněž i u infekčních onemocnění. Falešně pozitivní hodnoty nalézáme rovněž u astmatu⁹⁶.

Za fyziologických podmínek je thymidinkináza intenzivně syntetizována především v játrech během vývoje plodu, po porodu se syntéza zpomaluje⁹⁷. Patologicky se nachází v rychle proliferujících tkáních a z těchto tkání se dostává do cirkulace. Intenzivní produkce je pozorována především u onemocnění s generalizovanou zvýšenou proliferací u hematologických malignit. Biologický poločas je asi 2 dny. Vzhledem k tomu, že některá cytostatika blokují „de novo“ syntézu DNA (metotrexát, 5-fluorouracil), je stimulována aktivita enzymů „záchranné“ náhradní cesty syntézy a dochází k vzestupu hladin TK. Nespecifické zvýšení je možno pozorovat při některých zánětlivých onemocněních plic a trávicího ústrojí, virové infekci (cytomegaloviry, herpes viry) a revmatických chorobách.

O diagnostickém využití thymidinkinázy u kolorektálního karcinomu existuje pouze málo prací^{98, 99}. V nich se porovnávají vyšší hodnoty TK pouze u kolorektálního karcinomu klinického stádia IV, u časnějších stádií bez klinických symptomů nebyly zjištěny signifikantně vyšší hodnoty TK. Thymidinkináza se zdá být užitečným markerem pro monitoraci efektu adjuvantní nebo paliativní chemoterapie¹⁰⁰. V našem souboru nebyly zjištěny zvýšené hodnoty TK.

Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) je glykoprotein, který může být produkován endoteliálními buňkami, epiteliálními buňkami thymu, fibroblasty i jinými epiteliálními buňkami. Zvýšená produkce endoteliemi může být stimulována mediátory zánětu (IL-1, TNF). Základní fyziologickou úlohou ICAM-1 je zprostředkovávat, spolu s integriny adhezi leukocytů k poškozeným buňkám cévního endotelu a transendoteliální migraci. Zvýšenou hladinu ICAM-1 nalézáme u alergických onemocnění, autoimunitních chorob (RA, RS, SLE, DM insulín dependentní), infekčních onemocnění (HIV, TBC, malárie), akutního infarktu myokardu, asthma bronchiale, jaterních onemocnění apod. Z maligních onemocnění nalézáme zvýšené hladiny ICAM-1 u nádorů močového měchýře, hematologických malignit a melanomu.

Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) je glykoprotein o molekulární váze 110 kDa produkováný endoteliálními buňkami a mikrofágy na podkladě stimulace VEGF¹⁰¹. Podporuje adhezi lymfocytů, monocytů, eosinofilů a

bazofilů po interakci s antigenem VLA-4. Elevaci VCAM-1 v séru nacházíme u karcinomu ovarií, GIT, karcinomu močového měchýře, non Hodgkinských lymfomů a karcinomu prsu. Z benigních onemocnění se jedná o autoimunitní onemocnění (RS, SLE, RA), infekční onemocnění, zánětlivá onemocnění, poruchu renálních funkcí, hyperthyreózu či hemodialyzované pacienty.

Byly zjištěny vyšší hodnoty TIMP-1 v patologické skupině, což lze vysvětlit tím, že zařazení pacienti jsou v relativně počínajících klinických stádiích I.-III., kdy má ještě TIMP převahu nad MMP. V literatuře není mnoho prací zabývajících se TIMP-1 a KRC a data jsou zatím rozporuplná. Elevaci TIMP-1 v pokročilých stádiích onemocnění prokazuje práce Korotkové¹⁰². Obecně je přijímána asociace špatné prognózy onemocnění při elevaci TIMP¹⁰³.

Je popisována korelace mezi expresí VEGF C a lymfatickou a venózní invazí, infiltrací lymfatických uzlin, stádiem onemocnění, přítomností jaterních metastáz, hloubkou invaze, horší diferenciací nádoru a hustotou vaskularizace. Je známo že VEGF-C se váže na receptory VEGFR-2 i VEGFR-3. Aktivace VEGFR-2 má za následek množení cévních endoteliálních buněk. Na rozdíl od toho, aktivace VEGFR-3 způsobí množení lymfatických cév. Odpověď na VEGF (angiogenní vers. lymphangiogenní) v tkáni je takto dána poměrem exprese obou receptorů¹⁰⁴. Navíc, aktivace lymfatické VEGF-C navodí sekreci chemokinů a podobných faktorů, přitahujících nádorové buňky a usnadňujících jejich vstup do lymfatických cév¹⁰⁵. Kromě VEGF-C, další člen VEGF rodiny, VEGF-D, také stimuluje lymphangiogenezi aktivací VEGFR-3 v nádorových buňkách^{106, 107}. Ale vztah mezi VEGF-C a VEGF-D, stejně jako role VEGF-D v lidských nádorech je ještě nejasný.

V tabulce č. 17 jsou uvedeny všechny vysoce významné statistické korelace. Žádný z korelačních parametrů neměl korelační koeficient vyšší než 0,8000. Proto se o žádné ze zjištěných korelací nedá říci, že by umožňovala náhradu jednoho parametru druhým nebo že existuje mezi parametry příčinná souvislost. U parametrů biologické aktivity se vyskytovaly korelace prakticky jen v nádorové skupině. Korelovaly spolu především parametry, které mají význam při aktivaci proliferativních dějů. Patří mezi ně proliferativní marker TK či cytokeratiny. Řada autorů mezi cytokeratinové markery řadí pouze cytokeratiny TPA a TPS, které spolu korelovaly v kontrolní skupině. Je pravděpodobné, že pro nenádorovou buňku je nutná rovnováha cytoskeletonu buňky.

Závěr:

Závěry vyplývající ze studie

- U nemocných s kolorektálním karcinomem jsme prokázali signifikantní zvýšení následujících parametrů:
 - CEA – karcinoembryonální marker je signifikantně zvýšen u nemocných s kolorektálním karcinomem, je prognostickým faktorem pro bezpříznakové přežití (PFS), ale ne pro celkové přežití (OS).
 - CA 19-9 - mucinový marker je rovněž signifikantně zvýšen u nemocných s kolorektálním karcinomem. Je sice zvýšen v nízkém procentu případů, ale když je zvýšen, pak je výrazně nepříznivým prognostickým faktorem, a to jak pro bezpříznakové i celkové přežití (PFS i OS).
 - TPA – cytokeratinový marker, jehož vzestup souvisí pravděpodobně s buněčným dělením, poškozením cytoskeletonu při expanzi nádoru a i předpokládanou inhibicí apoptózy. Při zvýšení hodnoty nad diskriminační hodnotu cut-off se významně zvyšuje riziko recidivy nádoru. Zdá se, že u kolorektálního karcinomu je specifitější než cytokeratinový marker TPS.
 - Interleukiny IL-6 a IL-10: Oba tyto markery jsou vysoce signifikantně zvýšeny u nemocných s kolorektálním karcinomem. Vzestup těchto markerů je důkazem pro teorii o úloze zánětu při vzniku a rozvoji nádorů.
 - TIMP-1 – inhibitor metaloproteináz byl v patologické skupině významně zvýšen, což souvisí s jeho biologickou proliferační a antiapoptotickou aktivitou.
 - Adiponektin – námi zjištěné signifikantní zvýšení hodnot souvisí se složením souboru. Jedná se o nemocné v časném stadiu kolorektálního karcinomu a s nízkým výskytem recidiv. Hladiny korelovaly s prognózou (přežitím i bezpříznakovým stádiem, tedy PFS i OS).
- Neprokázali jsme signifikantní změny v hladinách cytokeratinu TPS, adhezivních molekul, angiogenetických faktorů a leptinu.

1. Prokázali jsme významné rozdíly mezi kontrolní skupinou a skupinou s KRK ve vzájemných korelacích mezi jednotlivými parametry:
 - U skupiny s KRC existuje korelace mezi CEA a CA 19-9, TK a CA 19-9, TPA, TPS, TIMP-1 a C-peptidem, tj. mezi všemi parametry, které hrají roli v podpoře buněčné proliferace. Žádná taková závislost v kontrolní skupině neexistovala.
 - V kontrolní skupině existovala podstatně těsnější korelace mezi oběma sledovanými cytokeratiny a navíc existovala korelace cytokeratinů s adhezivními molekulami.
 - U metabolických parametrů byly přítomny korelace jak ve skupině KRC ta ve skupině kontrolní.

2. Při posouzení klinického využití jednotlivých parametrů na základě jejich senzitivity jsme zjistili, že:
 - Senzitivita, která by byla diagnosticky využitelná u časných stádií kolorektálního karcinomu, byla pouze u IL-10 senzitivita vyšší než 50% při 95% specifitě a u IL-6 byla senzitivita vyšší než 50% při 90% specifitě. Lze tedy uvažovat o jejich využití jako doplňkových markerů.
 - Všechny ostatní parametry včetně CEA a CA19-9 měly velice nízké senzitivity při specifitě 90% i 95%, což je plně v souladu s dostupnými literárními údaji.
 - ROC pro TPA – viz graf č. 13 vykazuje sice velmi vysokou senzitivitu, ale až při specifitách pod 85%. Cut-off pro tak nízké specifity se ale v praxi nepoužívají.

Závěry pro rutinní praxi

- a. Pravidlům pro **screening** žádný se sledovaných parametrů nevyhovuje.
- b. Rovněž pro časnou **primární diagnostiku** nádoru neexistuje v současné době žádný vhodný parametr ani jejich kombinace.
- c. Některé parametry mají význam pro stanovení **prognózy** onemocnění:

- Zvýšená hodnota CA 19-9 znamená vždy nepříznivou prognózu, a to jak ve vztahu k recidivě, tak i ve vztahu k celkové úmrtnosti.
 - Angiogenetický faktor VEGF je prognostickým faktorem pro celkové přežití.
 - CEA je parametrem, který souvisí především s progresí onemocnění.
 - Interleukiny se jeví být vhodnými perspektivními doplňkovými nádorovými markery
 - Adiponektin je vhodným markerem pro odhad, zda-li jde o pokročilé stádium nádoru a jaké je riziko recidivy.
- d. Parametry biologické aktivity nádoru jsou vhodné využít pro **monitoraci terapie:** Doporučená kombinace: TK, CEA a CA 19-9

Z výše uvedených fakt vyplývá, že se neustále dynamicky rozvíjejí znalosti o biologické aktivitě nádorů. Získané informace jsou v největší míře užívány především pro objasnění etiopatogeneze nádorového onemocnění. Během posledních let bylo vyvinuto a vyhodnoceno mnoho sérových testů, které by měly sloužit k časné detekci kolorektálního karcinomu. Zatím jen zlomek informací má praktické využití v rutinní klinické praxi. Cílem je využít znalostí o biologické aktivitě nádorového onemocnění od prevence přes diagnostiku až po terapii. Znalosti o biologické aktivitě by měly umožnit stanovit současně se stanovením diagnózy i prognózu nemocného a volbu individuálního léčebného plánu, dále pak i optimální dispenzarizační péči nemocného. Znalosti o biologické aktivitě nádoru by měly umožnit podporovat přirozenou rovnováhu mezi látkami vedoucími k růstu s látkami růst brzdícími. V praxi to znamená dostat nekontrolované nádorové bujení do regulovaných mantinelů, což by v léčbě znamenalo přechod od empirie ke kauzalitě.

Perspektivy:

K významnému zlepšení prognózy nemocných s KRC je nezbytné získat další nástroje umožňující detekci časných nádorů, nebo zdokonalit poznání patofyziologie nádorů a procesu metastazování s možností jejich ovlivnění na molekulární úrovni pro přechod od nespecifických terapeutických postupů k léčbě kauzální, která cíleně ovlivňuje jednotlivé procesy vývoje nádoru a jeho následného metastazování.

Důkladné pochopení složitých interakcí mezi složkami imunitní odpovědi vede k zájmu o terapii založené na protilátkách proti tumoru. K terapii solidních nádorů se již některé monoklonální protilátky používají. Efektivní kombinace monoklonálních protilátek s jinými biologickými látkami se jeví v současné době jako optimální adjuvantní léčba KRC. Vyčlenění sub-populace pacientů s nádory vykazujícími expresi monoklonálními protilátkami zasažitelných klinických biomarkerů by mohlo vést ke zlepšení účinnosti i specifčnosti léčby. Spolu s hledáním markerů jako možných cílů terapeutického zásahu je potřeba vyvíjet a ověřovat molekulární biomarkery odrážející etiologické a rizikové faktory a využívat tyto biomarkery pro navrhování a provádění strategií pro prevenci primárního či sekundárního onemocnění. Existují skupiny vysoce rizikových osob, které jsou nejvíce náchylné k onemocnění. Cílem je vyhledat markery, schopné identifikovat tyto vysoce rizikové osoby s vysokou specificitou a selektivitou.

Genomika, proteomika a poslední vývoj v oblasti miRNA jsou směry které mohou vést k nalezení cílených biomarkerů. Poznatky o mikro RNA (krátké, nekódující RNA molekuly, které regulují expresi genů, potlačující translaci nebo štěpící RNA, hrají klíčovou roli v diferenciaci buněk, jejich proliferaci a apoptóze) a jejich specifických funkcích nabízí příležitost zaměřit se na genetické a epigenetické změny, které vedou k vzniku rakoviny¹⁰⁸. MiRNA může být i cílem ke genové léčbě KRC¹⁰⁹, mohla by být využita i pro jeho screening¹¹⁰.

Proteomika zabývající se plazmatickými bílkovinami nabízí množství potenciálních markerů, některé z nich (ANXA3, BMP4, LCN2...) jsou již v souvislosti v KRC sledovány¹¹¹.

Souhrn

Přes rozsáhlé pokroky v poznání molekulární podstaty vzniku tumoru, rozmach chemoterapie i posunování hranic chirurgické léčby zůstává kolorektální karcinom na předním místě jako příčina úmrtí na celém světě.

Chirurgická léčba samotná již dosahuje z hledisek onkoradikality svých mezí, a proto se i chirurgové obracejí k molekulárním základům nádorového bujení ve snaze nalézt markery, které umožní operovat pacienty v nižších stádiích onemocnění a tím i k zlepšení výsledků a prognózy onemocnění a také markery, které po úspěšné operaci umožní sledovat průběh onemocnění pacienta a odhalí případnou recidivu onemocnění včas, aby chirurg mohl opět kurativně zasáhnout.

Nádorové markery jsou látky, které často vznikají v souvislosti se změněným metabolismem nádorově transformované buňky, a proto jejich hladiny při maligním onemocnění výrazně stoupají.

Sérové nádorové markery představují důležité parametry, které mohou usnadnit predikci vývoje onemocnění, jeho progresi nebo regresi (remisi) u onkologických nemocných.

Nádorové markery se klinicky využívají pro screening, primární diagnostiku, staging, prognózu, především však pro predikci rekurence choroby, monitorování terapie, je možné uvažovat i o algoritmech pro hledání lokalizace neznámého primárního tumoru.

Tato práce si klade za cíl shrnout současné poznatky o markerech KRC, nastínit další možný vývoj a ve své části experimentálně prezentovat vlastní výsledky autora při sledování vztahu hladin již ověřených a především zatím neověřených možných markerů k prognóze onemocnění u pacientů podstupujících kurativní chirurgickou intervenci.

Do souboru byly zařazeni pacienti, operovaní na Chirurgické klinice FTNSP v Praze 4 (přednosta doc. MUDr. Vladimír Visokai, Ph.D.) a na Chirurgické klinice FN Plzeň (přednosta prof. MUDr. Vladimír Třeška, DrSc.). Pacienti byli operováni v letech 2001 – 2006. Celkem bylo zařazeno 174 pacientů s kolorektálním karcinomem a 50 pacientů v kontrolní skupině. Krev byla odebírána u pacientů předoperačně, zkoumány byly následující markery : CEA, CA 19-9, TK, TPA, TPS, I-CAM, V-CAM, IL 6, IL 10, TIMP-1, MMP 9, VEGF, adiponektin a leptin.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí software S.A.S. (Statistical Analysis Software) release 8.02 a programu STATISTICA release 5.1.

U nemocných s kolorektálním karcinomem jsme prokázali signifikantní zvýšení následujících parametrů: CEA, CA 19-9, TPA, IL 6 IL 10, TIMP-1 a adiponektinu. Neprokázali jsme signifikantní změny v hladinách cytokeratinu TPS, adhezivních molekul, angiogenetických faktorů a leptinu.

Závěry pro rutinní praxi: Pravidlům pro screening žádný ze sledovaných parametrů nevyhovuje. Rovněž pro časnou primární diagnostiku nádoru neexistuje v současné době žádný vhodný parametr ani jejich kombinace. Některé parametry mají význam pro stanovení prognózy onemocnění: Zvýšená hodnota CA 19-9 znamená nepříznivou prognózu, angiogenetický faktor VEGF je prognostickým faktorem pro celkové přežití, CEA je parametrem, který souvisí především s progresí onemocnění.

Další prohlubování znalostí o biologické aktivitě nádoru by mělo umožnit dosáhnout pomocí cílené léčby přirozené rovnováhy mezi látkami vedoucími k buněčnému růstu s látkami růst brzdícími tak, jak je tomu u zdravého organismu.

Summary

Despite extensive progress in understanding of the molecular pattern of the tumor, growing possibilities of chemotherapy and surgical treatment, colorectal cancer remains the significant cause of death worldwide.

Surgical treatment alone has already reached in oncologic radicality its limits, and therefore the surgeons turned to the molecular base of tumor growth in an effort to find markers that allow to operate patients at lower stages of the disease and thus improve the results and prognosis of the disease. And also to find markers, which, after curative operation will find a possible relapse in early stage to enable the surgeon to perform second curative intervention.

Tumor markers are substances that often arise in connection with the changed metabolism transformed tumor cells, and therefore their levels increased in the presence of malignancy. Serum tumor markers are important parameters that may facilitate the prediction of the disease, its progression or regression (remission). Tumor markers are clinically used for screening, primary diagnosis, staging, prognosis, but particularly for predicting recurrence of disease, monitoring therapy. This work aims to summarize the current knowledge about the colorectal cancer markers, outline the possible development and present results of relationship between the levels of potential markers for disease prognosis in patients undergoing curative surgical intervention.

To this study patients who underwent curative colorectal resection in Surgical Department of Thomayer Teaching Hospital Prague (Head Assoc. Prof. Visokai Vladimír, MD, Ph.D.) and the Surgical Clinic of University Hospital Pilsen (Head Prof.. Třeška Vladimír, MD, PhD.) have been included. Patients were operated between years 2001 - 2006. There were enrolled 174 patients with colorectal cancer and 50 patients in the control group. Blood was collected in patients pre-operatively, following markers were investigated: CEA, CA 19-9, TK, TPA, TPS, I-CAM, V-CAM, IL 6, IL 10, TIMP-1, MMP 9, VEGF, adiponectin and leptin.

Statistical evaluation was performed using SAS software (Statistical Analysis Software) release 8.02 and STATISTICA release 5.1.

In patients with colorectal cancer we have shown significant increase in the following parameters: CEA, CA 19-9, TPA, IL 6 IL 10, TIMP-1 and adiponectin. We did not find significant changes in the levels of TPS cytokeratins, adhesion molecules, angiogenetic factors and leptin.

Findings for routine practice: There were no satisfying results for screening in monitored parameters. Also for early diagnosis of primary tumor there were

currently no suitable parameter neither their combination. Some parameters are important for determining prognosis of the disease: elevation of CA 19-9 predict unfavorable prognosis, VEGF is a prognostic factor for overall survival, CEA is a parameter that is related mainly to disease progression.

Further intensive study of tumor biological activity should result in development of targeted therapy, which should support establishing of natural equilibrium between substances promoting and inhibiting cellular growth, similarly like in healthy organism.

Seznam tabulek, grafů a obrázků

Seznam grafů:

Graf č.1: Incidence a mortalita karcinomu kolon /100 000 obyvatel, zdroj ÚZIS.

Graf č.2: Incidence a mortalita karcinomu rekta /100 000 obyvatel, zdroj ÚZIS.

Graf č.3: Vývoj zastoupení klinických stádií u karcinomu kolon, zdroj dat ÚZIS.

Graf č.4: Vývoj zastoupení klinických stádií karcinomu rekta, zdroj dat ÚZIS.

Graf č.5: Srovnání incidence kolorektálního karcinomu v ČR se světem, zdroj Globocan 2002.

Graf č.6: Incidence karcinomu kolon, počet případů na 100 000 osob ve věkové kategorii, zdroj ÚZIS.

Graf č.7: Incidence karcinomu rekta, počet případů na 100 000 osob ve věkové kategorii, zdroj ÚZIS.

Graf č.8: Grafické znázornění podskupin v jednotlivých letech.

Graf č.9: Grafické porovnání průměrných hodnot parametrů, u kterých nebyly prokázány mezi kontrolní a patologickou skupinou statisticky významné rozdíly - logaritmické měřítko.

Graf č.10: Grafické porovnání průměrných hodnot parametrů, u kterých byly prokázány statisticky významné rozdíly mezi kontrolní a patologickou skupinou – logaritmické měřítko.

Graf č.11: Grafické znázornění senzitivit jednotlivých parametrů v porovnání s požadavky na ideální marker pro screening a diagnostiku.

Graf č.12: ROC křivka pro parametr CEA.

Graf č.13: ROC křivka pro parametr TPA.

Graf č.14: ROC křivka pro parametr CEA 19-9.

Graf č.15: ROC křivka pro parametr TIMP-1.

Graf č.16: ROC křivka pro parametr TPS.

Graf č.17: ROC křivka pro parametr adiponektin.

Graf č.18: ROC křivka pro parametr IL-6.

Graf č.19: ROC křivka pro parametr IL-10.

Seznam tabulek:

Tabulka č.1: Incidence kolorektálního karcinomu v jednotlivých věkových kategoriích ve srovnání s ostatními nádorovými lokalizacemi.

Tab. č.2: Nádorové markery u maligních onemocnění.

Tab. č.3: Elevace CEA u maligních a benigních chorob.

Tab. č.4: Elevace CA 19-9 u maligních a benigních chorob.

Tabulka č.5 : Adhezivní molekuly.

Tabulka č.6. Základní epidemiologická charakteristika souboru pacientů s kolorektálním karcinomem (N = 174).

Tabulka č.7. Základní onkologická charakteristika souboru pacientů s kolorektálním karcinomem (N = 174).

Tabulka č.8. Základní demografická data pacientů s kolorektálním karcinomem(N = 174).

Tabulka č.9. Základní epidemiologická charakteristika kontrolního souboru (N=50).

Tabulka č.10. Základní demografická data kontrolní skupiny (N = 50).

Tabulka č.11. Počty pacientů zařazených v jednotlivých obdobích.

Tabulka č.12: Metody stanovení sledování parametrů biologické aktivity.

Tabulka č.13: Přehled obecných faktorů, které mohou mít vliv na interpretaci výsledku parametru biologické aktivity nádoru.

Tabulka č.14:.. Základní deskriptivní statistika parametrů biologické aktivity nádoru u pacientů s kolorektálním karcinomem (N=174).

Tabulka č.15: Základní deskriptivní statistika parametrů biologické aktivity nádoru u kontrolního souboru zdravých jedinců.

Tabulka č.16: Porovnání hodnot parametrů biologické aktivity nádorů mezi skupinou s kolorektálním karcinomem (N = 174) a mezi kontrolní skupinou zdravých osob (N = 50). Wilcoxonův test.

Tabulka č.17: Statisticky významné korelace u skupiny pacientů s KRC.

Tabulka č.18: Coxův regresní model celkového přežití bez ohledu na příčinu (univariační analýza) – seřazeno dle statistické významnosti.

Tabulka č.19: Coxův regresní model - čas do progresu - PFS (univariační analýza) – seřazeno dle významnosti.

Tabulka č.20: Senzitivity vybraných parametrů biologické aktivity při specifitě 90 a 95%.

Seznam obrázků:

Obr. č. 1: Vogelsteinův model kancerogeneze

Literatura

- 1 Fusai G, Davidson BR. Management of colorectal liver metastases, *Colorectal Dis.* 2003; 5(1):2-23
- 2 UZIS ČR, Aktuální informace 3/2007
- 3 Pecen, L., Topolčan, O., Koukalová, H., Novák, J., Šíroký, P., Roušarová, M., Holubec L.jr., Pikner, R., Svobodová Š. Epidemiology of colorectal carcinoma in the Czech Republic. *J Tumor Marker Oncology* 2000, 15(1): 55-56
- 4 Minárik M, Mináriková P. Genetika a biologie kolorektálního karcinomu. *Bulletin HPB* 2005; 2.
- 5 Luna Perez P, Quinonez G, Benitez-Briebesca L, Barrientos FJ, de la Torre A. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Lynch syndrome. *Rev Gastroenterol Mex.* 1995; 60: 169-174.
- 6 Jablonská M., Chlumská A., Kotrlík J., Křepelová A., Pešková M., Řezníková L., Švestka T Rodinný výskyt „sporadického“ kolorektálního karcinomu . *Čes. a Slov. Gastroent.* 2001; 2: 43-48
- 7 Frič P. Screening programs for sporadic colorectal carcinoma. *Vnitr Lek.* 2002; 48: 556-559
- 8 Tyburec J, Keil R, Drábek J, Lochmannová J, Hrdlička L, Štoviček J, Burešová M, Goláňová J, Hanika J: Vyšetření stolice na okultní krvácení a záchyt kolorektálního karcinomu u souboru pacientů koloskopovaných ve FN Motol v letech 2002 – 2005; *HPB chirurgie* 2006, 14, 1-2
- 9 Fearon E.R., Vogelstein B.. A Genetic Model for Colorectal Tumorigenesis. *Cell* 1990; 61: 759-767
- 10 Amaya, H., Tanigawa, A., Lu, C., Matsumura, M., Shimomatsuya, T., Horiuchi, T., Muroaka, T. Asociacion of vascular endothelial growth factor expression with tumor angiogenesis, survival and thymidin phosphorylase/plated derived endothelial cell growth factor expression in human colorectal cancer. *Cancer Lett* 1997; 119: 227-235
- 11 Hanahan, D., Folkman, J. Patterns and emerging mechanism of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1994; 86: 315-328
- 12 Zeng ZS, Sarkis AS, Zhang ZF, Klimstra DS, Charytonowicz E, Guillem JG, Cordon-Cardo C, Cohen AM. p53 nuclear overexpression: an independent predictor of survival in lymph node--positive colorectal cancer patients, *J Clin Oncol.* 1994;12: 2043-2050
- 13 Aotake, T., Cai De, L., Chiba, Y. Changes of Angiogenesis and Tumor Cell Apoptosis during Colorectal Carcinogenesis. *Clin Cancer Research* 1999; 5: 135-142
- 14 Steinbach G, Heymsfield S, Olansen NE, Tighe A, Holt PR. Effect of caloric restriction on colonic proliferation in obese persons: implications for colon cancer prevention, *Cancer Res* 1994; 54: 1194-1197
- 15 De Cosse JJ. Antioxidants, *Prog Clin Biol Res* 1988; 279: 131
- 16 Rigau J, Pique JM, Rubio E, et al. Effects of long-term sulindac therapy on colonic polyposis, *Ann Intern Med* 1991; 115: 952.
- 17 Steward WP. Curcumin: A Potential Nutrition-Derived Chemopreventive Agent, 2006 Educational Book, ASCO (dostupné na www.asco.org)
- 18 Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, Hammond EH, Henson DE, Hutter RVP, Nagle RB, Nielsen ML, Sargent DJ, Tailor CR, Welton M, Willet C. Prognostic Factors in Colorectal Cancer, College of American Pathologists Konsensus Statement 1999, *Arch Pathol Lab Med.* 2000; 124: 979-994
- 19 Sadahiro S, Suzuki T, Maeda Y, Yurimoto S, Yasuda S, Makuuchi H, Kamijo A, Murayama C. Detection of Carcinoembryonic Antigen Messenger RNA-Expressing Cells in Peripheral Blood 7 Days After Curative Surgery is a Novel Prognostic Factor in Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol* 2007;14(3):1092-1098

-
- 20 Wang JY, Wu CH, Lu CY, Hsieh JS, Wu DC, Huang SY, Lin SR. Molecular detection of circulating tumor cells in the peripheral blood of patients with colorectal cancer using RT-PCR: significance of the prediction of postoperative metastasis. *World J Surg.* 2006 Jun;30(6):1007-1013
- 21 Bessa X, Elizalde JI, Boix L, Pinol V, Lacy AM, Salo J, Pique JM, Castells A. Lack of prognostic influence of circulating tumor cells in peripheral blood of patients with colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2001 Apr;120(5):1084-1092
- 22 Guller U, Zajac P, Schnider A, Bosch B, Vorburger S, Zuber M, Spagnoli GC, Oertli D, Maurer R, Metzger U, Harder F, Heberer M, Marti WR. Disseminated single tumor cells as detected by real-time quantitative polymerase chain reaction represent a prognostic factor in patients undergoing surgery for colorectal cancer. *Ann Surg.* 2002 ;236(6):768-775
- 23 Diagnosticko léčebné protokoly – Kolorektální karcinom, Masarykův onkologický ústav (dostupné na [www. mou.cz](http://www.mou.cz))
- 24 Hoch J. Návrh standardu chirurgické léčby kolorektálního karcinomu. *Bulletin HPB* 2005; 13
- 25 Nelson H, Petrelli N, Carlin A, Couture J, Fleshman J, Guillem J, Miedema B, Ota D, Sargent D. Guidelines 2000 for Colon and Rectal Cancer Surgery. *Journal of the National Cancer Institute* 2001; 8: 583- 596
- 26 MacFarlane JK, Ryall RD, Heald RJ. Mesorectal excision for rectal cancer. *Lancet.* 1993; 341: 457-460
- 27 Lopez MJ. Extended resections for colorectal cancer. Multiple organ resections/ exenteration. In: Wanebo HJ. *Colorectal cancer.* Chicago. Mosby-Year Book, 1992
- 28 Hunter JA, Ryan JA jr, Schultz P. En-bloc resection of colon cancer adherent to other organs. *Am J Surg* 1987; 154: 67-70
- 29 Izbicki JR, Hosch SB, Knoefel WT, Passlick B, Bloechle C, Broelsch CE. Extended resections are beneficial for patients with locally advanced colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 1251-1256
- 30 Vyhnánek F, Denemark L, Hořejšová M, Krtek V. Současný stav resekcce jater pro metastázy karcinomu tlustého střeva a konečníku. *Rozhledy v chirurgii;* 1999, 10, 533-537
- 31 *Cancer Medicine*, 5th Edition, BC Decker Inc., Canada, 2000
- 32 Mahteme H, Pahlman L. Treatment of peritoneal surface malignancy by peritonectomy and intraperitoneal chemotherapy: a novel therapy with curative potential! *Minerva Chir.* 2005; 60:151-157
- 33 Sugarbaker PH. A curative approach to peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *Semin Oncol.* 2005; 32: 68-73
- 34 Antoš F, Šerclová Z, Gilbert Z, Klobušický P. Exenterace malé pánve a HIPEC v léčbě pokročilých kolorektálních nádorů. *Bulletin HPB* 2005, 2
- 35 Sugarbaker PH. Strategies for the prevention and treatment of peritoneal carcinomatosis from gastrointestinal cancer. *Cancer Invest* 2005; 23 :155-172
- 36 Jayne DG, Fook S, Loi C, Seow-Choen F. Peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *Br J Surg* 2002, 89: 1545-1550
- 37 Sugarbaker PH. Peritonectomy procedures. *Surg Oncol Clin N Am.* 2003; 12: 703-727
- 38 Sugarbaker PH. Review of a Personal Experience in the Management of Carcinomatosis and Sarcomatosis. *Japanese Journal of Clinical Oncology* 2001; 31: 573-583
- 39 Jacquet P, Vidal-Jove J, Zhu BW, Sugarbaker PH. Peritoneal carcinomatosis from intraabdominal malignancy: natural history and new prospects for management. *Acta Belg Chir* 1994; 94: 191-197
- 40 Wilke HJ, Van Cutsem E. Current treatment and future perspectives in colorectal and gastric cancer. *Ann Oncol.* 2003; 14: 49-55

- 41 Chung KY, Saltz LB. Antibody-based therapies for colorectal cancer. *Oncologist*. 2005; 10: 701-709
42. Amersi, F. F., Mc Elrath-Garza, A., Ahmad, A., et al. Long-term survival after radiofrequency ablation of complex unresectable liver tumors. *Arch. Surg.*, 2006; 141: 581-588.
43. Simon, C. J., Dupuy, D. E., DI Petrillo, T. A., et al. Pulmonary radiofrequency ablation: long-term safety and efficacy in 153 patients. *Radiology*, 2007; 243: 268-275
- 44 Gan S, Wilson K, Hollington P. Surveillance of patients following surgery with curative intent for colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3816-3823
- 45 Bowne WB, Lee B, Wong WD, Ben-Porat L, Shia J, Cohen AM, Enker WE, Guillem JG, Paty PB, Weiser MR. Operative salvage for locoregional recurrent colon cancer after curative resection: an analysis of 100 cases. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 897-909
- 46 Guyot F, Faivre J, Manfredi S, Meny B, Bonithon-Kopp C, Bouvier AM. Time trends in the treatment and survival of recurrences from colorectal cancer. *Ann Oncol* 2005; 16: 756-761
- 47 Ike H, Shimada H, Togo S, Yamaguchi S, Ichikawa Y, Tanaka K. Sequential resection of lung metastasis following partial hepatectomy for colorectal cancer, *Br J Surg* 2002; 89: 1164-1168
- 48 Chau I, Allen MJ, Cunningham D, Norman AR, Brown G, Ford HE, Tebbutt N, Tait D, Hill M, Ross PJ, Oates J. The value of routine serum CEA measurement and CT in the surveillance of patients after adjuvant chemotherapy for colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1420-1429
- 49 Ahmed N, Ahmedzai S, Vora V, Hillam S, Paz S. Supportive care for patients with gastrointestinal cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2004: CD003445
- 50 Griffin MR, Bergtrah EJ, Coffey RJ, Beart RW and Melton LJ: Predictors of survival after curative resection of carcinoma of the colon and rectum. *Cancer* 1987, 60:2318-2324
- 51 Scholefield JH, Steele RJ; British Society For Gastroenterology; Association of Coloproctology for Great Britain and Ireland. Guidelines for follow up after resection of colorectal cancer. *Gut*. 2002 Oct;51 Suppl 5:V3-5
- 52 Bulow S, Svendsen LB and Mellempgaard A: Metachronous colorectal carcinoma. *Br J Surg* 1990, 77:502-505
- 53 Tjandra JJ, Chan MK. Follow-Up After Curative Resection of Colorectal Cancer: A Meta-Analysis. *Dis Colon Rectum*. 2007, 50(11):1783-1799
- 54 Rosen M, Chan L, Beart RW, Vukasin P, Anthone G: Follow-up of colorectal cancer, a meta-analysis. *Dis Colon Rektum* 1998, 41: 1116-1126
- 55 Secco GB, Fardelli R, Rovida S, Gianquinto D, Baldi E, Bonfante P, Derchi L, Ferraris R. Is intensive follow-up really able to improve prognosis of patients with local recurrence after curative surgery for rectal cancer? *Ann Surg Oncol*. 2000;7(1):32-37
- 56 Jeffery M, Hickey BE, Hider PN. Follow-up strategies for patients treated for non-metastatic colorectal cancer (Review), *The Cochrane Library* 2007, Issue 4
- 57 Desch CE, Benson III Al B, Somerfield MR, Flynn PJ, Krause C, Loprinzi CL, Minsky BD, Pfister DG, Virgo KS, Petrelli NJ. American Society of Clinical Oncology Colorectal Cancer Surveillance: 2005 Update of an American Society of Clinical Oncology Practice Guideline, dostupné na www.asco.org
- 58 Chen LB, Tong JL, Song HZ, Zhu H, Wang YC. (18)F-DG PET/CT in detection of recurrence and metastasis of colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2007 Oct 7;13(37):5025-5029.
- 59 Sarikaya I, Bloomston M, Povoski SP, Zhang J, Hall NC, Knopp MV, Martin EW Jr. FDG-PET scan in patients with clinically and/or radiologically

- suspicious colorectal cancer recurrence but normal CEA. *World J Surg Oncol.* 2007, 5:64.
- 60 Titu LV, Nicholson AA, Hartley JE, Breen DJ, Monson JR. Routine follow-up by magnetic resonance imaging does not improve detection of resectable local recurrences from colorectal cancer. *Ann Surg.* 2006;243(3):348-352.
- 61 Rosen M, Chan L, Beart RW, Vukasin P, Anthone G: Follow-up of colorectal cancer, a meta-analysis. *Dis Colon Rektum* 1998, 41: 1116-1126
- 62 Masopust J.: Patobiochemie buňky, [:https://www.zdravcentra.cz/cps/rde/xchg/zc/xsl/3141_1387.html](https://www.zdravcentra.cz/cps/rde/xchg/zc/xsl/3141_1387.html)
- 63 Freier S., Weiss O., Eran M., Flyvbjerg A., Dahan R., Nephesh I., Safra T., Shiloni E., Raz I. Expression of the insulin-like growth factors and their receptors in adenocarcinoma of the colon. *Gut* 1999, 44: 704-708
- 64 Ferroni P, Palmirotta R, Spila A, Martini F, Raparelli V, Fossile E, Mariotti S, Del Monte G, Buonomo O, Roselli M, Guadagni F. Prognostic significance of adiponektin levels in non-metastatic colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2007; 27(1B):483-489
- 65 Tanaka K, Sonoo H, Kurebayashi J, Nomura T, Ohkubo S, Yamamoto Y, Yamamoto S. Inhibition of infiltration and angiogenesis by thrombospondin-1 in papillary thyroid carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1125-1113
- 66 Liu XE, Sun XD, Wu JM. Expression and significance of VEGFC and FLT-4 in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 352-355
- 67 Tumour markers in gastrointestinal cancers--EGTM recommendations. European Group on Tumour Markers, *Anticancer Res.* 1999;19(4A):2811-2815
- 68 Rocker GY, Hamilton S, Hartus J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, Somerfield MR, Gates DF, Bast Jr RC. ASCO 2006 Update of Recommendations for the Use of Tumor Markers in Gastrointestinal Cancer, *J Clin Oncol* 2006; 24: 5313-5327
- 69 Fletcher RH: Carcinoembryonic antigen. *Ann Int Med* 1986, 104: 66-73
- 70 Moertel CG, Fleming TR, Macdonald J, Haller DG, Laurie JA, Tangen C: An evaluation of the carcinoembryonic antigen (CEA) test for monitoring patients with resected colon cancer. *JAMA* 1993, 270: 943-947
- 71 Begent RHJ: The value of carcinoembryonic antigen measurement in clinical practice. *Ann Clin Biochem* 1984, 21: 231-238
- 72 Chau I, Allen MJ, Cunningham D, et al: The value of routine serum carcino-embryonic antigen measurement and computed tomography in the surveillance of patients after adjuvant chemotherapy for colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2004, 22 : 1420 -1429
- 73 Sorbye H, Dahl O: Carcinoembryonic antigen surge in metastatic colorectal cancer patients responding to oxaliplatin combination chemotherapy: Implications for tumor marker monitoring and guidelines. *J Clin Oncol* 2003, 21 : 4466 -4467
- 74 Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003, 349 : 247 -257
- 75 Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Klapdor R, Lamerz R, Nilsson O, Sturgeon C, Topolcan O. Clinical utility of biochemical markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines *Eur J Cancer.* 2003;39(6):718-277
- 76 Visokai V, Lipska L, Levy M, Kormunda S. Tumor markers in patients with relapse of colorectal carcinoma. *Anticancer Res* 2007 ;27(4A):1901-1905
- 77 Prones NM, Tanaka M. CEA and CA 19-9 as prognostic indexes in colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 905-908
- 78 Tabuli Y, Deguchi H, Saitoh Y. CEA and CA 19-9 levels of peripheral and draining velus blood in colorectal cancer patients. Correlation with histopathologic and imunohistochemical variables. *Cancer* 1988; 62: 1605 - 1613

- 79 Barb D, Williams CJ, Neuwirth AK, Mantzoros CS. Adiponektin in relation to malignancies: a review of existing basic research and clinical evidence. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 858-866
- 80 Wei EK, Giovannucci E, Fuchs CS, Willett WC, Mantzoros CS. Low plasma adiponektin levels and risk of colorectal cancer in men: a prospective study. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1688-1694
- 81 Ferroni P, Palmirotta R, Spila A, Martini F, Raparelli V, Fossile E, Mariovi S, Del Monte G, Buonomo O, Roselli M, Guadagni F. Prognostic significance of adiponektin levels in non-metastatic colorectal cancer. *Anticancer Res* 2007; 27: 483-489
- 82 Stattin P, Lukanova A, Biessy C, Söderberg S, Palmqvist R, Kaaks R, Olsson T, Jellum E. Obesity and colon cancer: does leptin provide a link? *Int J Cancer* 2004; 109: 149-152
- 83 Chia VM, Newcomb PA, Lampe JW, White E, Mandelson MT, McTiernan A, Potter JD. Leptin concentrations, leptin receptor polymorphism, and colorectal adenoma risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 2697-2703
- 84 Guadagni F, Roselli M, Martini F, Spila A, Rioldino S, D'Alesandro R, Del Monte G, Formica V, Laudisi A, Portarena I, Palmirotta R, Ferroni P. Prognostic Significance of Serum Adipokine Levels in Colorectal Cancer Patients. *Anticancer Res* 2009, 29(8): 3321 - 3327
- 85 Pais R., Silami H, Silami AC, Rusu ML, Dumitrascu DL., Metabolit syndrome and risk of subsequent colorectal cancer. *Word J Gastroenterol* 2009; 15(41): 5141-5148
- 86 Chung YC, Gang YF. Serum interleukin-6 levels reflex the disease status of colorectal cancer. *J Surf Oncol* 2003; 83: 222-226
- 87 Kamińska J, Nowacki MP, Kowalska M, et al. Clinical significance of serum cytokine measurements in untreated colorectal cancer patients: soluble tumor necrosis factor receptor type I – an independent prognostic factor. *Tumor Biol.* 2005; 26: 186 - 194
- 88 Belluco C, Nitti D, Frantz M, et al. Interleukin-6 blood level is associated with circulating carcinoembryonic antigen and prognosis in patients with colorectal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2000; 7: 133-138.
- 89 Esfandi F, Mohammadzadeh Ghobadloo S, Basati G. Interleukin-6 level in patients with colorectal cancer. *Cancer Lett.* 2006; 244: 76-78
- 90 Correale M, Arnberg H, Blockx P, Bombardieri E, Castelli M, Encabo G, Gion M, Klapdor R, Martin M, Nilsson S. Clinical profile of a new monoclonal antibody-based immunoassay for tissue polypeptide antigen. *Int J Biol Markers* 1994; 9: 231-238
- 91 Plebani M, De Paoli M, Basso D, Roveroni G, Giacomini A, Galeotti F, Corsini A. Serum tumor markers in colorectal cancer staging, grading, and follow-up. *J Surg Oncol* 1996; 62: 239-244
- 92 Levý M, Visokai V, Lipská L, Topolčan O. Tumor markers in staging and prognosis of colorectal carcinoma. *Neoplasma.* 2008;55(2):138-142.
- 93 Kornek G, Schenk T, Raderer M, Djavarnmad M, Scheithauer W. Tissue polypeptide-specific antigen (TPS) in monitoring palliative treatment response of patients with gastrointestinal tumours. *Br J Cancer.* 1995;71(1):182-185.
- 94 Třeška V., Topolčan O, Stanislav K, Liška V, Holubec L. Preoperative Tumor Markers as Prognostic Factors of Colorectal Liver Metastases. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 317-320.
- 95 Sandelewski A, Kokocinska D, Partyka R, Kocot J, Starzewski J, Chanek I, Jalowiecki P. Usefulness of evaluation of carcinoembryonic antigen (CEA) and soluble fragments of cytokeratin 18-th (TPS) in postoperative monitoring of patients with colorectal cancer. *Pol Merkuriusz Lek.* 2005;18(108):647-650.
- 96 Lindmark G, Bergstrom R, Pålman L, Glimelius B. The association of preoperative serum tumour markers with Dukes' stage and survival in colorectal cancer. *Br J Cancer* 1995; 71: 1090-1094

-
- 97 Berenstein D, Christensen JF, Kristensen T, Hofbauer R, Munch-Petersen B., Valine, not methionine, is amino acid 106 in human cytosolic thymidine kinase (TK1). Impact on oligomerization, stability, and kinetic properties, *J Biol Chem.* 2000 13;275(41):32187-32192.
- 98 Svobodova S, Topolcan O, Holubec L, Treska V, Sutnar A, Rupert K, Kormunda S, Rousarova M, Finek J. Prognostic importance of thymidine kinase in colorectal and breast cancer. *Anticancer Res.* 2007;27(4A):1907-1909.
- 99 Thomas WM, Robertson JF, McKenna PG, O'Neill KL, Robinson MH, Hardcastle JD. Serum thymidine kinase in colorectal neoplasia. *Eur J Surg Oncol.* 1995;21(6):632-634
- 100 Topolcan O, Holubec L Jr, Finek J, Stieber P, Holdenrieder S, Lamerz R, Holubec Sen L, Svobodova S, Visokai V, Lipska L. Changes of thymidine kinase (TK) during adjuvant and palliative chemotherapy. *Anticancer Res.* 2005; 25(3A): 1831-1833
- 101 Byrne GJ, Bundred NJ, Surrogate markers of tumoral angiogenesis, *Int J Biol Markers.* 2000;15(4):334-339
- 102 Korotkova EA, Gershtein ES, Prorokov VV, Kushlinskiĭ NE. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in colorectal cancer: correlation with clinicomorphological factors. *Vopr Onkol.* 2009;55(2):171-176
- 103 Frederiksen C, Lomholt AF, Davis GJ, Dowell BL, Blankenstein MA, Christensen IJ, Brünner N, Nielsen HJ. Changes in plasma TIMP-1 levels after resection for primary colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2009;29(1):75-81.
- 104 Nisato RE, Tille JC, Pepper MS. Lymphangiogenesis and tumor metastasis. *Thromb Haemost* 2003; 90: 591-597
- 105 Mandriota SJ, Jussila L, Jeltsch M, Compagni A, Baetens D, Prevo R, Banerji S, Huarte J, Montesano R, Jackson DG, Orci L, Alitalo K, Christofori G, Pepper MS. Vascular endothelial growth factor-C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis. *EMBO J* 2002; 20: 672-682
- 106 Nakamura Y, Yasuoka H, Tsujimoto M, Yang Q, Imabun S, Nakahara M, Nakao K, Nakamura M, Mori I, Kakudo K. Flt-4- positive vessel density correlates with vascular endothelial growth factor-d expression, nodal status, and prognosis in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 5313-5317
- 107 Koyama Y, Kaneko K, Akazawa K, Kanbayashi C, Kanda T, Hatakeyama K. Vascular endothelial growth factor-C and vascular endothelial growth factor-d messenger RNA expression in breast cancer: association with lymph node metastasis. *Clin Breast Cancer* 2003; 4: 354-360
- 108 Janakiram NB, Rao CV. Molecular markers and targets for colorectal cancer prevention, *Acta Pharmacol Sin* 2008 Jan; 29 (1): 1-20
- 109 Aslam MI, Taylor K, Pringle JH, Jameson JS.: MicroRNAs are novel biomarkers of colorectal cancer., *Br J Surg.* 2009 Jul;96(7):702-710
- 110 Ng EK, Chong WW, Jin H, Lam EK, Shin VY, Yu J, Poon TC, Ng SS, Sung JJ., Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening., *Gut.* 2009 Oct;58(10):1375-81
- 111 Cho WC: Contribution of oncoproteomics to cancer biomarker discovery, *Molecular Cancer* 2007, 6: 25, dostupné na <http://www.molecular-cancer.com/content/6/1/25>

Přehled publikační činnosti autora

Monografie:

Kapitoly:

Medicína založená na důkazech (evidence-based medicine, EBM)

Systémy sledování pacientů po kurativní resekci kolorektálního karcinomu

Paliativní léčba kolorektálního karcinomu

In: L. Lipská, V. Visokai a kol., Recidiva kolorektálního karcinomu - Komplexní přístup z pohledu chirurga, Grada 2009, ISBN: 978-80-247-3026-4

Články:

Časopisy s IF:

Levy M, Visokai V, Lipska L, Topolcan O. Tumor markers in staging and prognosis of colorectal carcinoma., Neoplasma. 2008;55(2):138-42. **IF 1,179**

Lipska L, Visokai V, **Levy M**, Koznar B, Zaruba P., Celiac Axis Stenosis and Lethal Liver Ischemia after Pancreaticoduodenectomy, Hepatogastroenterology 2009 **56 (93)**: 1203-1206 **IF 0,956**

Visokai V, Lipska L, Bergmann P, **Levy M**, Trubac M, Martinu V, Svobodova S, Kormunda S. : Multiorgan resections for advanced colorectal cancer. Anticancer Res 2006; 26(4B): 3183-6. **IF 1,472**

Visokai V, Lipska L, Bergmann P, **Levy M**, Dutka J. : Mesohepatectomy for colorectal liver metastasis. Case report. Hepatogastroenterology. 2005 Sep-Oct;52(65):1563-6. **IF 0,956**

Lipska L., Visokai V, **Levy M.**, Svobodova S., Kormunda S., Finek J.: Tumor markers in patients with relapse of colorectal carcinoma, AntiCancer Research 2007 ;27(4A):1901-5 **IF 1,472**

Časopisy bez IF:

Jatagandzidis V, Herdegen P, Mráček M, **Levý M**, Stefka J. Komplikace laparoskopické appendektomie, . Rozhl Chir. 2007 Jun;86(6):288-90.

Lipská L, Visokai V, Bergmann P, Trubac M, Cech P, Strupová L, **Levý M**. Kolorektální karcinom jako příčina NPB. Rozhl Chir. 2008 Jan;87(1):10-5.

Lipská L, Visokai V, Mráček M, **Levý M**. Výsledky chirurgické léčby karcinomu kolon s použitím radikální lymfadenektomie. Rozhl Chir. 2008 May;87(5):242-6.

Sborníky:

Visokai. V., Lipská L., **Levý M.**: Simultaneous resections of synchronous liver metastases and primary colorectal cancer. Biomarkers and Environment 2004, 3,4 (8), 40

Lipská L., Visokai V., **Levý M.**, Martinů V., Bergmann P., Trubač M., Svobodová Š.: Results of surgery for colorectal carcinoma – single institution experience. Biomarkers and Environment 2004, 3,4 (8), 45

- Levý M.**, Visokai V., Lipská L., Záruba P., Martinů V., Svobodová Š: Multivisceral resections for advanced colorectal cancer. Biomarkers and Environment 2004, 3,4 (8), 80
- Visokai V., Lipská L., **Levý M.**, Hoferka P.: Results of surgery for Chronic Pancreatitis, In. Gut 2004, Supplement No VI, vol 53, p. A154
- V. Visokai, L. Lipská, M. Trubač, M. **Levý**: Meze chirurgické onkoradikality u karcinomu pankreatu., Edukační sborník BOD 2005, 136-139
- L.Lipská, V.Visokai, P.Bergmann, M.Trubač, M.**Levý**, V.Martinů: Přínos radikální lymfadenektomie v chirurgické léčbě kolorektálního karcinomu, Edukační sborník BOD 2005, 158-160
- L.Lipská, V.Visokai, M.Trubač, P.Bergmann, M.**Levý**, L.Štrupová: Resekce a reresekce jater pro metastázy kolorektálního karcinomu , Edukační sborník BOD 2005, 164-166
- V.Visokai, L. Lipská, M. **Levý**, P. Záruba: Multiorgánové resekce pro lokálně pokročilý kolorektální karcinom, Edukační sborník BOD 2005, 160-162
- L.Lipská, V.Visokai, P.Bergmann, , M.**Levý**, M.Trubač, V.Martinů: Výsledky reoperací pro relaps kolorektálního karcinomu, Edukační sborník BOD 2005, 162-164
- Lipská L, Visokai V, **Levý M**, Svobodová S, Kormunda S, Fínek J. Tumor markers in patients with relapse of colorectal carcinoma. Anticancer Res. 2007 Jul-Aug;27(4A):1901-5.
- Visokai V., Lipská L., **Levý M.**, Infiltrace hilových žlučvodů imitující Klatskinův nádor, , Edukační sborník BOD 2009, 256-258
- Levý M.**, Lipská L., Visokai V., Efekt včasné recidivy kolorektálního karcinomu na její resekabilitu, Edukační sborník BOD 2009, 272-275