Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Plzni

Disertační práce
Obor: Vnitřní nemoci

Ovlivnění hladiny nejpoužívanějších nádorových markerů a jejich interpretace (ovlivnění systémovými a zánětlivými onemocněními)

MUDr. Miroslava Časová
Centrální laboratoř pro imunoanalýzu

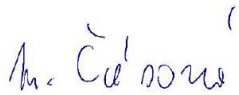
Školitel: Prof. MUDr. Ondřej Topolčan, CSc.

Plzeň 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou disertační práci vypracovala samostatně a že jsem všechny použité informační zdroje řádně uvedla v přiloženém seznamu literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Plzni duben 2015



Časová Miroslava, MUDr.

Abstrakt

Úvod:

Vyšetření nádorových markerů je bráno mnohdy nejenom laickou veřejností jako základ úspěšné diagnostiky a následného sledování nemocných se zhoubnými nádory. Je jejich význam skutečně tak veliký nebo jen sugestivní název těchto analytů či touha po jednoduché kvantitativně vyjádřené veličině, kdy něco změřím a je-li to vyšší než minule, je vše špatně?

Cíl práce:

Tato práce se pokusí odpovědět na otázku, jaké faktory mohou ovlivnit sérovou hladinu proteinových a mucinových markerů a tím vést k nesprávné interpretaci výsledků.

Metody:

Nádorové markery byly stanovovány izotopovými a neizotopovými laboratorními metodami podle standardních operačních protokolů imunoanalytické laboratoře. Všechny metody byly kontrolovány interní kontrolou kvality a čtyřikrát do roka pomocí externího hodnocení kvality. Celkově byly vyšetřeny nádorové markery u 3180 probandů a provedeno 16 236 analýz nádorových markerů v období mezi rokem 2008-2014.

Výsledky:

U premenopausálních žen, během menstruačního cyklu v období ovulačního peaku, dochází k mírnému vzestupu AFP, CA 125 a HE 4. Ostatní sledované markery se měnily minimálně nebo vůbec.

Těhotné ženy v I. a II. trimestru mění hladiny AFP, a také CA 125 a v ojedinělých případech se zvyšovalo HE4. Ostatní nádorové markery se neměnily.

U postmenopausálních žen jsme výskyt falešné pozitivity markeru neprokázali. U kuřáků dochází ke zvýšení CEA, ale tato falešná pozitivita je sice častá, ale zvýšení je relativně nízké, takže jen minimálně ovlivňuje interpretaci výsledku.

Všechna fyzikální vyšetření dráždící tkáň produkující nádorový marker (vyšetření per rektum, kolonoskopie, bronchoskopie atd.) výrazně mění hodnoty nádorových markerů a proto odběr na stanovení hladiny nádorových markerů by měl vždy

předcházet těmto vyšetřením.

Zánětlivá onemocnění virové etiologie ovlivňují především chromogranin A a mucinové nádorové markery. Obdobně je tomu i u bakteriálních zánětů.

Výpotky v pohrudniční dutině nebo ascites vedou k extrémnímu zvýšení hladin CA 125 bez jakéhokoliv vztahu k etiologii výpotku. V rutinní praxi však velice často vedou k nesprávnému diagnostickému postupu, a to k vyhledávání maligního nádoru za každou cenu. Naopak by měla platit obecná zásada, že při jakémkoliv dráždění serózních blan marker CA 125 nestanovovat.

Chronická renální insuficience vede k extrémnímu zvýšení hodnot nádorových markerů. Autoimunitní onemocnění trávicího ústrojí zvyšují hladiny CA 125, CA 19-9 a chromograninu A.

K extrémnímu zvýšení hodnot chromograninu A vede léčba blokátory protonové pumpy a v praxi je často mylně pátráno po karcinoid syndromu. Obdobně extrémní zvýšení CA 125 u zánětů v malé pánvi vede k nesprávné interpretaci, podezření na diagnózu nádorů ovaria.

Závěry:

Pro lékaře znamená vyšetření nádorových markerů ve správném panelu, čase a frekvenci pomocníka ke zjištění podezření na časnou recidivu onemocnění a umožní mu zahájit diagnostický proces k jejímu odhalení.

Pro nemocného znamená zvýšená jen jedna hodnota markeru pouze námět na diskuzi s lékařem, který by mu měl limitovanou výpovědní hodnotu, zejména náhodného výběru, vysvětlit.

Znalost faktorů, které mohou výsledek ovlivnit, je nezbytně nutná pro optimální indikaci a interpretaci nádorových markerů a tím zabránit zbytečné owerdiagnostice.

Klíčová slova:

Nádorové Markery, Faktory, Proband, Falešná Positivita, Zánět, Pohrudniční Výpotek, Renální Insuficience, Autoimunitní Onemocnění, Ascites

Abstract

Interpretation of Common Used Tumor Markers Affected by Systemic and Inflammatory Diseases

Introduction:

An examination of tumor markers is often made as a basis for the successful diagnosis and follow-up treatment of patients with malignant tumors. However, are tumor markers truly significant by themselves, or are they just a baseline quantitative expression of value that we use to diagnose a patient as better or worse based on it increasing or decreasing value?

Objective:

This paper attempts to answer the question of what factors can affect serum protein and mucin markers and thus lead to a misinterpretation of their results.

Methods:

Tumor markers were determined by isotopic and non-isotopic laboratory analysis methods, using operational protocols of the immunoanalytic laboratory. All methods were checked using internal quality control, and four times a year using an external quality control. Additionally, 16 236 samples were analysed using 3180 probands during the period 2008-2014.

Results:

We discovered that in premenopausal women, the markers AFP, CA 125 and HE 4 rise during ovulation peak periods while other markers changed minimally or not at all. However, in postmenopausal women, we proved the incidence of a false positivity marker. With women in the 1st and 2nd trimester of pregnancy, the levels of AFP, CA 125 and HE4 changed while other tumor markers remain unchanged. With smokers CEA levels increase, however the false positive rate is relatively small and only minimally affects the interpretation of the results. In contrast, rectal examination, colonoscopy, bronchoscopy significantly increases the values of tumor markers, so sampling should always precede these tests. Inflammatory disease of viral etiology, as well as bacterial inflammation mainly increases Chromogranin A and mucin tumor

markers. Pleural effusions or ascites leads to an extreme increase in levels of CA 125 without any relation to etiology of effusion. Chronic renal insufficiency leads almost to an extreme increase in tumor markers, while autoimmune diseases of the digestive tract increases CA 125, CA 19-9 and chromogranin A. The extreme increase in serum chromogranin A resulting from treatment using proton pump inhibitors is often misinterpreted as carcinoid syndrome. And similarly, the extreme increasing of CA 125 as result of inflammation in the femal pelvis can also lead to the misinterpretation and suspected diagnosis of ovarian tumors.

Conclusions:

When physicians use the right kind of tumor markers in the right time and frequency, these markers assist significantly in the early detection of cancer or its recurrence, and assists the physician in beginning the diagnostic process for its discovery. Therefore when a patient receives one higher-level tumor marker, they should discuss this result with their doctor, and the doctor should explain to the patient that this information has limited predictive value, especially in the case of a random tumor marker selection. A physicians knowledge of the factors that may influence tumor marker outcome is essential for the optimal display and interpretation of the tumor markers.

KEY WORDS: Tumor Markers, Factors, Proband, False Positive,
Renal Insufficiency, Inflammation, Autoimmune Diseases, Pleural Effusions, Ascites

OBSAH

Seznam použitých zkratek 7

1. Úvod do problematiky nádorových markerů 8

2. Cíl práce a pracovni hypotéza 9

3. Přehled současných znalostí o problematice 10

3.1. Charakteristika nádorových markerů 10

3.2. Možnosti využití nádorových markerů v klinické praxi..... 13

3.3. Obecná pravidla při interpretaci nádorových markerů 16

4. Metodika…..... 18

4.1. Metodika stanovení nádorových markerů 18

4.2. Sledováné a vyhodnocované soubory probandů a nemocných.....19

5. Výsledky a diskuze 22

5.1. Sumarizace dosažených výsledků a doporučení pro klinickou rutinní praxi 37

6. Závěr……..... 41

7. Poděkování…..... 41

8. Literatura…..... 42

9. Seznam příloh 49

Seznam použitých zkratek

AUC	Plocha pod křivkou (Area Under Curve)
AFP	Alfa-1-fetoprotein
CEA	Karcinoembryonální antigen (carcinoembryonic antigen)
CA 125	Cancer (carbohydrate) antigen 125
CA 15-3	Cancer antigen 15 – 3
CA 19-9	Cancer (carbohydrate) antigen 19-9
CYFRA 21-1	Cytokeratinový fragment 21-1
ECLIA	Elektrochemiluminiscenční analýza
EGTM	The European Group on Tumor Markers
EHK	Externí hodnocení kvality
ELISA	Enzymatická imunoanalýza
FSH	Folitropin nebo folikulostimulační hormon
HE4	Human epididymis protein 4
CHL	Chemiluminiscence
CgA	Chromogranin A
IKK	Interní kontrola kvality
IRMA	Imunoradiometrická analýza
MT	Monototal
PPV+	Pozitivní prediktivní hodnota
PPV –	Negativní prediktivní hodnota
PSA	Prostatický specifický antigen
RIA	Radioimunoanalýza
REA	Radioenzymová analýza
ROC	(Receiver Operating Characteristic) křivka
ROMA	Algoritmus rizika ovariální malignity (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm)
SD	Směrodatná odchylka (Standard Deviation)
SOP	Standartní operační protokol
TK	Thymidinkinása
TPS	Tkáňový specifický polypeptidický antigen
NSCLC	Non-Small Cell Lung Cancer, nemalobuněčný karcinom plic
SCLC	Small-Cell Lung Cancer, malobuněčný karcinom plic
VEGF	Vaskulární endoteliální růstový faktor
WHO	World Health Organization, Světová zdravotnická organizace

1. Úvod do problematiky nádorových markerů

V současnosti se často setkáváme s tendencí odklonu od vyšetřování nádorových markerů. Řadou odborných společností jsou nádorové markery indikovány jen ve velmi speciálních případech a nebo dokonce zcela zamítány. Základním problémem nádorových markerů je, že jde o látky, které nejsou orgánově ani nádorově, specifické. Výjimkou je PSA, které je orgánově specifické. Dalším problémem v klinické praxi je neznalost správné indikace, preanalytických podmínek a především optimální interpretace výsledku. Základním pravidlem, které je hlavním mottem mé práce , ale mělo by být i současně přístupem lékařů k nádorových markerů je: ,,Musím mít jasnou otázku, proč nádorový marker indikuji a současně musím vědět, co chci z výsledku vyvodit.'' Vzhledem k výše uvedené nespecificitě nádorových markerů je proto nutné znát, kdy je výsledek plně v souladu s diagnózou, ale mnohdy je daleko důležitější znát, kdy jde o výsledek nesprávně pozitivní, který nesmí vést k unáhleným diagnostickým podezřením a k nesprávnému diagnostickému postupu.

2. Cíl práce a pracovni hypotéza

Nízká specificita a senzitivita nádorových markerů je důsledek existujích nesprávně pozitivních a nesprávně negativních výsledků. Existuje doporučení, ve kterém jsou pravidla pro optimální indikaci a interpretaci nádorových markerů popsány obecně. Účelem tohoto doporučení je pomoci lékařům a pracovníkům klinických laboratoří se orientovat v racionálním používání nádorových markerů v klinické praxi. Zdroje: toto doporučení rámcově vychází z dokumentů publikovaných ASCO, NACB a EGTM (www.asco.org, www.nacb.org, www.egtm.eu). [Svobodová 2014]
Jednoznačně není popsáno, jak nenádorová onemocnění výsledek ovlivňují.

Cíl práce

Na základě retrospektivních a prospektivních studií zjistit vliv následujících faktorů na výsledky stanovení nádorových markerů a vytvořit doporučený postup, jak tyto poznatky vyžívat pro optimalizaci indikace a interpretace nádorových markerů.

Sledovány budou následující možnosti ovlivnění:

Fyziologické stavy

- Těhotenství
- Menstruační cyklus

Vyšetření, návyky

- Kouření
- Fyzikální vyšetření
- Instrumentální vyšetření

Onemocnění

- Zánětlivá onemocnění
    a. bakteriální
    b. virové
- Srdeční selhání
- Chronická onemocnění jater
- Chronická onemocnění ledvin
- Vybraná systémová onemocnění

3. Přehled současných znalostí o problematice

3.1 Charakteristika nádorových markerů

Nádorové markery jsou látky produkované nádorovými buňkami či organizmem jako odpověď nebo důsledek nádorového bujení. [Duffy 2004]
Mají nejrůznější charakter: antigeny lokalizované na povrchu buněčných membrán, enzymy metabolických drah či fragmenty cytoplazmatických struktur uvolňované do okolí při poškození nebo zániku buněk. Lze je detekovat imunoanalytickými metodami v séru, moči, výpotcích či jiných biologických tekutinách, popřípadě v buněčném cytosolu a extraktech z tkáňových kultur. [Svobodová2014] Imunohistochemicky je prokazujeme cíleně v tkáních. Metody molekulární biologie nám umožňují detekovat genovou expresi biomarkerů. Šlágrem současnosti je stanovení nádorových markerů v cirkulujících buňkách. [Pešta 2013]

Nádorové markery máme buď nespecifické, kdy jejich produkce souvisí například s buněčnou proliferací. Tyto markery jsou typické především pro málo vyzrálé aplastické tumory, příkladem je thymidinkináza (TK). Málo diferencované buňky produkují pouze chemicky jednoduché sloučeniny, které jsou nezbytné při buněčném růstu, proto název proliferační. [Topolčan 2008] Nespecifické nádorové markery vznikají při poškození buněčného skeletu nebo zániku buněk (růst, nekróza, apoptóza). Typickým příkladem jsou cytokeratin, který detekujeme v biologických tekutinách jako solubilní cytokeratinové fragmenty. [Svobodová 2014, Kaušitz 2014] Diferencované buňky jsou schopny tvořit složité polypeptidické či mucinové struktury. Produkce těchto nádorových nádorových markerů souvisí především s histologickou strukturou nádoru. Jedná se například o CEA, mucinové nádorové markery, hCG, AFP a podobně. [Kaušitz 2014]

Předpokladem průkazu nádorových markerů a jejich existence v tělních tekutinách je vaskularizace nádoru. Kromě vaskularizace souvisí hladina nádorových markerů i s velikostí nádoru. [Kaušitz 2014] Nádorové markery umožňují v příznivých případech odhalit nádor tvořený 10^6 nádorovými buňkami tj. cca o hmotnosti 1 mg , zatímco diagnóza pomocí zobrazovacích technik nádoru o průměru 3-5 mm, který obsahuje 10^9 nádorových buněk. Při volbě optimálního času odběru a interpretaci výsledků nádorových markerů musíme vzít v úvahu ještě následující dva parametry a to biologický poločas a biologickou variabilitu. Respektování biologického poločasu je důležité především tehdy, pokud využíváme nádorové markery pro kontrolu efektu terapie,

kdy volba doby po operaci nebo po skončení chemoterapie musí být minimálně dvoj- až trojnásobkem biologického poločasu. Znalost biologické variability markeru je důležitá při dynamickém sledování nádorových markerů pro posouzení významnosti změny hladiny nádorového markeru.

Neexistuje zatím univerzální nádorový marker, který by vyhovoval všem metodickým a klinickým požadavkům. [Holubec 2002]

Ve většině publikací jsou definovány požadavky kladené na ideální nádorový marker:

- Je produkován pouze maligním nádorem
- Je orgánově specifický
- Vyskytuje se ve vysokých koncentracích v biologických tekutinách
- Koreluje s velikostí nádoru
- Koreluje se stadiem onemocnění
- Koreluje s prognózou
- Koreluje s účinností terapie

Žádný z nádorových markerů tato kritéria nesplňuje. Následující dělení zohledňuje původ a kvalitativní rozdíly onkogenních markerů (Tabulka č 1.) [Svobodová 2014, Springer 2013] Název „nádorové markery“ je značně nepřesný [Holubec 2002], navíc v současné době jsou do této skupiny často řazeny i látky, které jsou fyziologickou součástí buněk a jejichž hladiny se v souvislosti s nádorovým procesem výrazně mění. Je lepší proto hovořit o biomarkerech nádorového procesu.

Základní charakteristika vybraných nádorových markerů (Tabulka 1)

Nadorový Marker	Charakteristika	Molekulová váha	Biologický poločas	Jednotky	Datum objevu
Alpha-fetoprotein (AFP)	onkofetální glykoprotein se strukturou podobn ou albuminu.	~70 kDa	5 dní	IU/ml	1963
Cancer antigen 19-9 (CA-19-9)	Glykolipin, mucin	~1,000 kDa	5 dní	kIU/l	1979
Cancer antigen 125 (CA-125)	Glykoprotein	~200 kD	5-10 dní	kIU/l	1981
Cancer antigen 15-3 (CA- 15-3)	Glykoprotein	>250 kD	7 dní	kIU/l	1983
Carcinoembryonic antigen (CEA)	Glykoprotein	~180 kDa	14 dní	µg/l	1965
CYFRA 21-1	Polypeptid	~30 kDa	14 dní	µg/l	1990
HE4	patřící do rodiny syrovátkových kyselých proteinů se čtyřdisulfidickým jádrem (WFDC)	~20-25 kDa	Není znám	pmol/L	1991
Chromogranin A	Kyselý glykoprotein	~49 kDa	Není znám	ng/ml	1967
TK	Enzym syntézy DNA	~24 kDa	2 dny	IU/l	1960
PSA	Glycoprotein s proteázovou aktivitou (kallikrein 3)	~34 kDa	2-3 dny	µg/l	1979

(Tabulka1) Přehled a charakteristika nádorových markerů, u kterých je z literatury všeobecně známé, jak jsou zvýšeny či ovlivněny.
Toto cíleně neuvádíme, protože práce je založena na dlouhodobých výsledcích imunoanalytické laboratoře FN Plzeň a vlastní výsledky jsou konfrontovány s literárními údaji.

3.2 Možnosti využití nádorových markerů v klinické praxi

Screening

Obecnou podmínkou screeningu je, že při 95 % specificitě má být senzitivita 97 %. Této senzitivity musí být dosaženo nejlépe u 1. nebo 2. stadia nádorového onemocnění. V praxi se očekávalo, že takovým nádorovým markerem pro kolorektální karcinom bude CEA, pro nádory ovarií CA 125 a pro karcinom prostaty PSA. Žádný z těchto předpokladů se však nesplnil. Ani u karcinomu prostaty by se proto nemělo hovořit o screeningu, ale o časné diagnostice ve vybrané populační skupině. [Diamandis 2008]

Primární diagnostika

Podobně jako pro screening nejsou nádorové markery optimální ani pro primární diagnostiku, a to rovněž pro nízkou senzitivitu a specificitu. Jsou zvýšeny na jedné straně i u benigních nádorů dané lokalizace a na druhé straně i při generalizaci - např. u kolorektálního karcinomu s metastázami do jater se setkáváme v 25% se zcela normálními hodnotami nádorových markerů. [Visokai2006]

Diferenciální diagnostika

Podobně jako při primární diagnostice i zde je nutno nádorové markery používat jen přísně indikovaných situacích, kde jejich vyšetření má pomocný charakter. Ve své podstatě však často mohou urychlit vyšetřovací postup a nebo upřesnit diagnózu. Jde například o diferenciální diagnostiku chorionepitheliomu kontra mola hydatidosa nebo maligních nádorů varlat kontra benigních afekcí. Vysoká hladina NSE má velký podpůrný význam pro diferencialní diagnostiku mezi malobuněčným a nemalobuněčným karcinomem plic. Nezastupitelnou úlohu má chromogranin A v diagnostice karcinoid syndromu, eventuálně dalších neuroendokrinních nádorů.

Monitorování průběhu choroby

V praxi je nejčastější a nejdůležitější indikací pro použití nádorového markeru monitorování průběhu onemocnění s cílem diagnostikovat recidivu nebo progresi onemocnění . [Diamandis 2008, Sturgeron2008] Dodržují se určitá schémata související s typem nádoru a jeho prognózou, např. opakovaný doporučený postup EGTM pro kolorektalní karcinom nebo karcinom pankreatu. [Duffy 2004] Význam má především provádět sledování nádorových markerů tam, kde časná diagnostika recidivy umožní optimalizaci léčby nebo změnu kvality života nemocného, jak je zdůrazňovano v doporučených postupech Americké onkologické společnosti (ASCO) pro kolorektální karcinom a karcinom prsu. Naopak u nádorů s nepříznivou prognózou, jako karcinom jícnu, je sledování nádorových markerů po provedeném chirurgickém zákroku bezcenné. [Diamandis 2008]. Za takové situace nemáme totiž další optimální možnost, která by výrazně zlepšila životní perspektivu nemocného. Detekce trvale se zvyšujících hodnot nádorových markerů je pro nemocného spíše psychicky traumatizující. Obdobně nemá smysl sledovat nádorové markery, jsou – li vyčerpány všechny léčebné možnosti a k dispozic je pouze symptomatická léčba. Rovněž je nutné dodržet zásadu stanovení optimálního markeru či optimální kombinace markerů v korelaci s diagnózou [Sturgeron2008, Kaušitz 2014], protože řada markerů se v průběhu onemocnění mění, ale jejich změny jsou pro diagnostické použití bezvýznamné.

Naproti tomu tabulka 2 ukazuje příklady optimálního použití nádorových markerů. Diskutovanou otázkou je, kdy se sledováním nádorových markerů začít a jaká má být frekvence. Dle naší zkušenosti [Holubec 2002] je nejvhodnější provést první vyšetření před léčbou, tj. nejčastěji před operací a pak vyšetřovat v prvních třech měsících 1x za měsíc a na to navázat vyšetřením 1x za 3- 4 měsíce až do konce třetího roku od zahájení sledování. Později pak je dostačující frekvence 2 x ročně. Samozřejmě dojde-li k progresi onemocnění, je nutné frekvenci sledování zvýšit. Vyšetření předoperační hodnoty má dvojí význam. Nejdůležitější je ten (jak naše dlouhodobé zkušenosti např. s kolorektálním karcinomem ukazují), že je-li CEA zvýšeno předoperačně, bude zvýšeno i při progresi a to v 88 – 95 %. Naproti tomu tam, kde předoperační hodnoty CEA byly v normě, dojde při progresi k vzestupu jen v 30 %.(Visokai) Umožňuje tedy do jisté míry předoperačním vyšetřením individualizovat dispenzární péči. Při předoperační pozitivitě markeru se můžeme na něj spolehnout i při follow up, při negativitě by měl být dán důraz především na

klinické sledování nemocného, event. zobrazovací techniky. Kromě toho absolutní výše sérové hladiny nádorového markeru souvisí s prognózou nemocného.

Druhým významem je možnost posouzení efektu provedeného chirurgického zákroku.

V minulosti bylo pro odhalení reziduální nádorové tkáně u nádorů ovaria využíváno stanovení CA 125.

Klinické využití vybraných nádorových markerů podle EGTM (Tabulka 2)

Nádorový marker	Primární klinické využití nádorového markeru
AFP	Diagnóza a monitorace primárního hepatocelulárního karcinomu a nádorů germinálního původu. Prognóza germinálních nádorů.
CA-19-9	Monitorace karcinomu žlučových cest a pankreatu.
CA -125	Monitorace ovariálního karcinomu a prognóza po terapii.
CA-15-3	Monitorace karcinomu prsu
CEA	Monitorace gastrointestinálních a jiných adenokarcinomů.
CYFRA 21-1	Monitorace karcinomu močového měchýře a plic.
HE4	Monitorace karcinomu ovarií.
Chromogranin A	Diagnostika neuroendokrinních nádorů a monitorace plicních a neuroendokrinních nádorů.
PSA	Karcinom prostaty
TK	Hematologické malignity

Obdobných schémat různého rozsahu existuje celá řada. Mají regionální či naopak nadnárodní charakter.

Sledování efektu terapie

Sledování efektu terapie pomocí nádorových markerů se stále více stává neocenitelným pomocníkem lékaře. [Topolčan 2005] Vzhledem k různým biologickým poločasům jednotlivých markerů je nutno správně volit intervaly odběrů krve k vyšetření tak, aby se skutečně postihl efekt terapie a ne tzv. "lysis fenomén", tj. krátkodobý prudký nárůst hladiny markeru jako odpověď na terapii. Proto vyšetřujeme nádorové markery pro posouzení úspěšnosti terapie nejdříve koncem třetího týdne, lépe ve 4. týdnu od aplikace terapie. Tato oblast se v poslední době

dostává do centra zájmu onkologů. Nezanedbatelnou výhodou pro markery, oproti zobrazovacím metodám, je fakt, že jejich elevace může upozornit na progresi i v jiném orgánu, než je sledován zobrazovacími metodami. Existuje tedy potřeba lepšího systému pro sledování terapie než je současně dostupný. Toto je oblast, ve které v budoucnu markery najdou své ocenění a snad nedůležitější roli v praxi. Důležitou výhodou vyšetřování sérových nádorových markerů je, že jejich měření odráží dynamiku stavu nemocného a vyšetření může být opakováno, jak je třeba. Pozitivní korelace mezi změnami některých sérových nádorových markerů a odpovědí k systémové terapii u onkologických pacientů byla popisována nejčastěji u karcinomu prsu, kde nejčastěji sledovaným markerem bylo CEA.
Další práce potvrzují zvýšené přežívání u nemocných léčených na základě zvýšených hodnot sérových nádorových markerů při negativním nálezu zobrazovacích metod u nemalobuněčného plicního karcinomu.
Při terapii ovariálních karcinomů byl prokázán význam stanovení CA 125 a HE4 pro optimalizaci léčby. U nehodgkinských lymfomů a leukémie, vyšetřování sérové hladiny thymidinkinázy i beta-2-mikroglobulinu umožňuje sledovat efekt chemoterapie i predikci vývoje choroby především u dětských hemoblastóz. [Votava 2007]

3.3 Obecná pravidla při interpretaci nádorových markerů

Nádorové markery by se měly stanovovat pokud možno jednou metodikou v jedné laboratoři. [Svobodová 2014] Negativní výsledek ještě neznamená, že nádorové onemocnění není přítomné. Hodnoty nádorových markerů mohou být ovlivněny celou řadou procesů (preanalytických a analytických). Pro kvalitní klinické zhodnocení je nutná úzká spolupráce laboratoře a klinického pracoviště. Pro klinické zhodnocení nádorových markerů se používá hlavně referenční rozmezí.

Při primární diagnostice je definována hladina markeru, pod kterou je 95 % 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. V současné době je doporučeno stanovovat senzitivitu při 95 % specificitě. Je nutné respektovat i skutečnost, že se nádorové markery mohou zvyšovat i u benigních onemocnění.

Otázka položená v úvodu práce:„Co můžeme očekávat od vyšetření nádorových markerů?“

Správně indikované vyšetření nádorových markerů může přispět především k časnému záchytu recidivy onemocnění a tím i rychlejšímu terapeutickému zákroku, který může i prodloužit život nemocného. Orgánová specificita při vyšetřování jednoho izolovaného markeru je relativně nízká, proto je nutné vyšetřovat nádorové markery v pravidelných intervalech, protože nejdůležitějším faktorem, který nás může upozornit na časnou recidivu onemocnění, je dynamika vzestupu markerů.

Praxe je však přesně opačná, vyšetření jsou indikována naprosto náhodně. To znamená spíše ekonomickou ztrátu, protože výtěžnost těchto nahodilých vyšetření je naprosto nulová. Mnohdy je opomíjeno předoperační stanovení nádorových markerů, které je nezbytným předpokladem využití markerů v úspěšné kontrole terapie.

Položíme-li si ještě otázku perspektivy, pak je nepochybně ve vyhledávání nových markerů pomocí nejmodernějších analytických metod (proteomiky, genomiky a dalších). Pro kontrolu léčby používat cílený marker pro cílenou léčbu (VEGF pro antiangiogenní léčbu), dále stanovení cirkulujících nádorových buněk v periferní krvi pro diagnostiku mikrometastáz.

4 . Metodika

4.1 Metodika stanovení nádorových markerů

Pro správnou interpretaci výsledků je důležité zachovávání správné laboratorní praxe. Ta začíná již preanalytickou fází vyšetření. Je výhodou, že námi sledované nádorové markery neovlivňuje ani způsob odběru, transport materiálu a i skladování vzorků se řídí běžně platnými obecnými pravidly. Správnost a reprodukovatelnost výsledků v analytické části musí zajistit laboratoř optimální metodikou a kvalitou kontroly. My jsme pro zpracování našich vzorku použili metody uvedené v tabulce 3. V tabulce je rovněž definován způsob interní kontroly kvality a externího hodnocení kvality. V podrobnostech odkazuji na přílohové práce, jejichž jsem spoluatorkou a kde je problematika principu i charakteristiky metod včetně kontroly kvality prezentována a diskutována.

Přehled metod stanovení a referenční hodno v práci sledovaných nádorových markerů (Tabulka 3)

Nádorový marker	**zkratka**	**Metoda stanovení**	**analyzátor**	**IKK**	**EHK**	**Referenční rozmezí**
Alfa-fetoprotein	**AFP**	CHL	UniCel DxI 800 Beckman Coulter	BioRad	SEKK	do 10 IU/ml
Cancer antigen 19-9	**CA 19-9**	CHL	UniCel DxI 800 Beckman Coulter	BioRad	SEKK	do 28 kIU/l
Cancer antigen 125	**CA 125**	CHL	Architect i1000SR	BioRad	SEKK	do 35 kIU/l
Cancer antigen 15-3	**CA 15-3**	CHL	UniCel DxI 800 Beckman Coulter	BioRad	SEKK	do 24 kIU/l
Karcinoembryonální antigen	**CEA**	CHL	UniCel DxI Beckman Coulter	BioRad	SEKK	do 3,0 µg/l
Cytokeratinino fragment 21.1	**CYFRA 21-1**	ECLIA	Roche	kitová	SEKK	do 2,5 µg/l
HE 4	**HE 4**	CHL	Architect i1000 SR	kitová		Dle věku a pohlaví *
Chromogranin A	**Cg A**	IRMA	Stratec	kitová		do 100,0 ng/mL
Prostatický specifický antigen	**PSA**	CHL	UniCel DxI 800 Beckman Coulter	BioRad	SEKK	Dle věku** *
Thymidinkinaza	**TK**	REA	IMMUNOTECH ruční metoda	kitová		do 8,0 IU/l

Vysvětlivky k Tabulce 3

***HE 4 ženy do 40-ti let do 79 pmol/l nad 40 let do 100 pmol/l, muži do 79 pmol/L**

****PSA muži do 39 let 0,0-2,0 µg/l , 40-49 let 0,0-2,5 µg/l, 50-59 let 0-3,5 µg/l, 60-69 let 0-4,5 µg/l , nad 70 let 0-6,5 µg/l**

4.2 Sledováné a vyhodnocované soubory probandů a nemocných

Pro naší práci jsme si vybrali skupinu fyziologických stavů, systémových a zánětlivých onemocnění, která mohou nebo podle empirických zkušeností ovlivňují hladiny námi vybraných nádorových markerů. Celkově jsme vyšetřili 3180 vzorků a provedli 16 236 analýz nádorových markerů. Pro retrospektivní vyhodnocení výsledků bylo využito laboratorního informačního systému a klinického informačního systému Fakultní nemocnice Plzeň. V případě potřeby byly dohledány konkrétní podrobnosti ve zdravotní dokumentaci. Kromě toho podle potřeby byla retrospektivní sledování doplněna speciálním sledováním u vybraných skupin nemocných .

Ve výsledcích je vždy diskutován klinický problem a na základě obou typů studií je hledána optimální odpověď. Je nutné jednoznačně říci, zda může falešná pozitivita ovlivnit interpetaci výsledku. Jak vyplývá z následující tabulky 4, jednalo se o 3180 probandů, u kterých bylo provedeno celkem 16 236 analýz.

(Tabulka 4) Základní charakteristika sledovaných souborů

Charakteristika probandů	N	Průměrný věk	Věk Min – max.	Počet mužů	Počet žen
Premenopausální	160	30	19 – 52	0	160
Postmenopausální	100	64	55 -76	0	100
Těhotné	150	26	19 -43	0	150
Kuřáci	108	56	36 -69	78	30
Per rectum	80	48	34 -75	80	0
Kolonoskopie	60	56	48 -75	60	0
Bronchoskopie	30	62	56-81	22	8
Virové infekce herpetické	56	23	18 -34	22	34
Virové infekce ostatní	150	31	19 -64	80	70
Bronchopneumonie	56	48	43 -79	39	17
Chronická obstrukční choroba plicní	89	61	39 – 82	49	40
NSCLC stadium I –II	110	65	55 -76	99	11
NSCLC stadium III a IV	200	64	19 -43	180	20
Zánětlivá onemocnění žlučníku	64	48	36 -69	26	38
Zánětlivá onemocnění žlučových cest	56	36	34 -75	21	35
Akutní pankreatitis	39	38	28 -55	20	19
Cholecystolithiasa	60	49	35-61	20	40
Maligní nádory žlučníku a žlučových cest	45	61	58 -73	19	26
Pohrudniční výpotek – zánětlivý	164	41	19 -64	90	74
Zánětlivá onemocnění v malé pánvi	50	43	32 -58	0	50
Benigní nádory vaječníků	29	49	40 -71	0	29
Maligní nádory vaječníků	62	57	46-74	0	62
Prostatitida	40	58	49-76	40	0
Benigní nádory prostaty	100	59	51 -81	100	0
Maligní nádory prostaty	150	66	48 -75	150	0
Pohrudniční výpotek kardiální	136	68	53 -79	85	51
Pohrudniční výpotek maligní etiologie	120	64	59 -81	81	39

Ascites při jaterní cirhóze	100	59	53-80	80	20
Ascites kardiální etiologie	136	64	58-84	60	76
Ascites při metastázách do jater	200	68	60-89	130	70
Ascites při hepatocelulárním Ca	60	60	48-78	48	12
Dialyzační léčba	140	49	36-60	68	72
Ulcerózní kolitida	50	38	26-56	25	25
Crohnova choroba	30	34	28-58	18	12
Celkem	**3180**			**1790**	**1390**

Definování jednotlivých souborů

- **Premenopausální ženy** – vyšetřovány opakovaně v průběhu menstruačního cyklu.

  Jednalo se většinou o ženy, které byly vyšetřovány v endokrinologické ambulanci gynekologické kliniky.

- **Těhotenství** - všechny markery v průběhu těhotenství byly vyšetřovány v rámci screeningu Downova syndromu v I. a II. trimestru, ve II. trimestru se již nepodařilo nabrat vzorek u všech žen, které byly vyšetřovány v předcházejících trimestrech.

- **Kouření** - návyk byl definován více než 10 cigaretami denně po dobu minimálně pěti let.

- **Vliv fyzikálního a instrumentálního vyšetření** – byl jednak pozorován nahodile tam, kde byla neshoda mezi výsledkem a diagnózou a doba odběru potvzena sestrou nebo lékařem nebo cílenými náběry.

- **Virové herpetické infekce -** dokumentovány vysokou hladinou thymidinkinázy mezi 60 –600 IU/l.

- **Virové infekce ostatní** – definovány protilátkami, hladinou thymidinkinázi či dle jednoznačného záznamu v dokumentaci.

- **Bronchopneumonie** – jednoznačný rtg popis, laboratoř a klinický nález. Kontrolní vyšetření 6 týdnů po ukončení léčby.

- Pokud šlo o **retrospektivní nálezy,** byla následující onemocnění verifikována z nemocničního informačního systému Win MediCalc nebo přímo konzultací nálezu s ošetřujícímlékařem.

- Chronická obstrukční choroba plicní

- NSCLC stadium I.–II.
- NSCLC stadium III.-IV.
- Zánětlivá onemocnění žlučníku
- Zánětlivá onemocnění žlučových cest
- Akutní pankreatitis
- Cholecystolithiasa
- Vliv chronické renální insuficience prokazován vyšetřením renálních parametrů u dialyzavaných nemocných a náběr byl proveden vždy před dialýzou.
- Výpotek byl verifikován sonografickým vyšetřením a nebo jinou zobrazovací technikou, údaj o etiologie výpotku byl přejat z nemocničního informačního systému
- Kardiální selhávání bylo verifikováno dle údajů z nemocničního systému a převzata klasifikace WHO NYHA I.-IV
- Jaterní selhávání - diagnóza ověřena laboratorním a bioptickým nálezem
- Autoimunitní onemocnění bylo verifikováno dle údajů nemocničního informačního systému

Sledování nádorových markerů u nádorových onemocnění se zcela vymyká rámci práce. Frekvence patologických hodnot a hodnoty jsou u některých diagnóz dány do kontrastu proti nesprávné specificitě. V některých případech se ukazuje, že v určité konkrétní situaci by neměl být marker vůbec interpretován a k výsledku by mělo být přistupováno tak, jako by vůbec neexistoval. Na druhé straně kontrast mezi nesprávnou pozitivitou a výsledky u nádorů nám má umožnit existenci diametrálního rozdílu mezi oblastmi, v jakých se výsledky pohybují nebo nám ukazuje, že ovlivnění výsledků nespecifickými vlivy neovlivňuje žádným způsobem interpretaci.

5. Výsledky a diskuze

Výsledky jsou pojaty jako soubour tabulek sumarizujících jakým způsobem námi sledované vlivy ovlivňují nádorové markery. Vždy jde o dvojici tabulek, kde první z nich uvádí frekvenci nesprávné pozitivity, která je důsledkem sledovaného vlivu onemocnění a podobně. V této tabulce jsou uveden jednak absolutní počet nesprávně pozitivních případů, ale daleko důležitější je vždy číslo uvedené v závorce, které vyjadřuje frekvenci falešné pozitivity v procentech.
Druhá tabulka uvádí vždy minimální a maximální hodnotu markeru, kterou jsme v našem souboru zjistili. Poskytuje do jisté míry doplňující informaci k tabulce první, protože ukazuje, zda je nutné při interpretaci s nesprávnou pozitivitou kalkulovat nebo dokonce výsledek markeru nehodnotit. Pro přehlednost jsou čísla v obou tabulkách barevně zvýrazněna. Nízká frekvence je zelená, průměrná frekvence modrá a frekvence nad 50 % je červená. Obdobně ve druhé tabulce, zasahuje-li zvýšení do oblasti hraničních hodnot nebo tzv. šedé zóny výsledku, jsou čísla zelená, jde-li o jednoznačně výrazné zvýšení jsou čísla modrá, dosahuje-li extrémních hodnot, jsou čísla červená.

Z **fyziologických** vlivů nejčastěji sledovanou diskutovanou otázkou je ovlivnění jakýchkoliv laboratorních hodnot těhotenstvím, menstruačním cyklem.

(Tabulka 5)

	n	CEA	AFP	CA 15-3	CA 19-9	CA 125	HE 4	CgA
Těhotenství I. trimestr	**150**	10 (7%)	-	8 (5 %)	9 (6 %)	128 **(85%)**	15 (10%)	12 (8%)
Těhotenství II. trimestr	**150**	4 (3 %)	-	10 (7 %)	9 (6%)	118 **(59%)**	10 (7%)	12 (8 %)
Těhotenství III. trimestr	**130**	2 (2 %)	-	10 (8 %)	5 (4%)	80 **(61%)**	6 (5%)	10 (8%)
Menstruační cyklus	**160**	0	2 (9%)	80 (6%)	80 (6%)	90 **(56%)**	4 (3%)	12 (8%)
Postmenopausálně	**100**	0	2 (2%)	3 (3%)	10 (10%)	5 (5%)	56 **(56%)**	5 (5%)

Tabulka (6)

	n	CEA µg/l	AFP IU/ml	CA 15-3 kIU/l	CA 19-9 kIU/l	CA 125 kIU/l	HE 4 pmol/l	CgA ng/mL
Těhotenství 1 trimestr	150	0-4	-	5 -45	9	10 -98	15 -86	12 - 59
Těhotenství 2 trimestr	150	0-3,5	-	10 -50	9-48	10-165	10 -106	122
Těhotenství III trimestr	130	2 -6	-	10-56	5-49	60 -160	6	10
Menstruační cyklus	160	0 - 2	2-11	10 -80	15 -58	12-90	14-65	12-90
Postmenopausálně	100	0 -2,5	2-12	3-41	10-45	5 - 68	56-106	5-102

Změny hladin AFP nebyly předmětem sledování, protože tyto podrobně známe a jsou i využívány pro screening vrozených vývojových vad. Zjistili jsme, že v těhotenství se zvyšuje CA 125 v prvním trimestru u 85 % žen, ve II. trimestru téměř ve stejném počtu tj. 79%, ve III. trimestru u 61 %. Zvýšení hladin je statisticky však pouze signifikantní ve II. trimestru. V prním a třetím trimestru je velká variabilita hladin, takže rozdíly proti netěhotným ženám nejsou. Ve druhém trimestru se zvyšují i ostatní mucinové markery a chromogranin A, ale zvýšení hladin těchto markerů není signifikantní.

CEA a HE4 se v průběhu těhotenství mění minimálně. Obdobně jako my sledoval Estakhri R v roce 2013 u 30 nemocných mucinové nádorové markery a popisuje jejich kolísaní. Udává však jen kolísání v rámci normálních či hraničních hodnot.

V dalších pracích sice nebyly systematicky nádorové markery sledovány a jsou náhodně popisovány. Změny CA 125 uvádí [Xie X.J 2014] v souvislosti s preeklampsií a zvýšením HE 4 u nemocných po in vitro fertilizaci a současně diskutuje i hladiny CA 125 a HE 4 u postmenopausálních žen, kde sice existují výchylky do oblasti hraničních hodnot, ale změny nejsou signifikantní. [Hallamaa M, 2014] Společným hlavním nedostatkem těchto prací jsou malésoubory několika desítek nemocných.

V souvislosti s menstruačním cyklem se signifikantně zvyšují všechny mucinové nádorové markery v době ovulačního píku, nejvíce však CA 125.

HE4 a AFP se rovněž zvyšuje, ale podstatně méně než CA 125. CEA se vlivem menstruačního cyklu nemění. Všechny změny obdobně jako u těhotných jsou však pouze v rozsahu normálních a hraničních hodnot. U postmenopausálních žen je větší

biologická variabilita nádorových markerů, výraznou závislost na věku má HE4 a AFP.

Diskutovanou otázkou je ovlivnění hladin nádorových markerů kouřením.

(Tabulka 7)

	n	CEA µg/l	AFP IU/ml	CA 15-3 kIU/l	CA 19-9 kIU/l	CA 125 kIU/l	CgA ng/mL	HE- 4 pmol/l
Kouření	**108**	80 **(74%)**	10 **(9%)**	8 **(7%)**	6 **(6%)**	16 **(15%)**	12 **(11%)**	-

(Tabulka 8)

	n	***CEA*** µg/l
Kouření	***108***	***0-6***

Zde k výraznému ovlivnění dochází především u CEA, zvýšení je signifikantní, ale je maximálně o 100% referenční hodnoty. V naší laboratoři proto máme pro kuřáky stanovenu referenční hodnotu 5 µg/l. Frekvence zvýšení i ovlivnění hladiny ostatních námi sledovaných nádorových markerů je minimální.

Vyšetřovací metody

(Tabulka 9)

Vyšetření	n	CEA	AFP	CA 15-3	CA 19-9	CA 125	CgA	PSA	Cyfra 21-1
Per rectum	**80**	**65 (81%)**	**10 (13%)**	**5 (6%)**	**36 (45%)**	**12 (15%)**	**2 (3%)**	**71 (89%)**	-
Kolono-skopie	**60**	**40 (67%)**	**0 0**	**0**	**40 (67 %)**	**5 8%**	**5 8%**	-	-
Broncho-skopie	**30**	**15 (50%)**	-				**8 (25%)**		**30 (100%)**

(Tabulka 10)

Vyšetření	n	CEA µg/l	CgA ng/mL	PSA µg/l	Cyfra 21-1 µg/l
Per rectum	**80**	**6 -19**	**48-102**	**4,1 - 14**	**.**
Kolonoskopie	**60**	**5 -12**	**48-110**	**-**	**-**
Bronchoskopie	**30**	**5 – 20**	**50-168**	**-**	**2,5 – 9,8**

Při fyzikálním a instrumentálním vyšetření dochází k mechanickému dráždění, které tak přímým působením může ovlivnit sekreci nádorových markerů. Toto ovlivnění může nastat pouze tam, kde mechanické dráždění přímo působí na tkáň, která nádorový marker produkuje. Jak vyplývá z tabulky, jde především o změny CEA, CA 19-9 a PSA, při vyšetření per rectum.

Toto ovlivnění je natolik významné, že je nutné považovat výsledek nádorového markeru za neinterpretovatelný. Zajímavým zjištěním je ovlivnění změn nádorových markerů při bronchoskopii, kdy rovněž hodnoty především CYFRA 21-1, ale i hodnoty CEA a mucinových nádorových markerů se zvyšují a nejsou vhodné pro klinické použití.

Odběr krve v případě per rectum či instrumentálních vyšetření musí být bezpodmínečně proveden před vyšetřením.

Virové infekce

(Tabulka 11)

Virové infekce	n	CEA	AFP	CA 15-3	CA 19-9	CA 125	CgA
Ostatní	**150**	10 **(7%)**	60 **(40%)**	25 **(17%)**	86 **(57%)**	98 **(65%)**	66 **(44%)**
Herpetické infekce	**56**	6 **(11%)**	8 **(14%)**	11 **(20%)**	9 **(16%)**	11 **(20%)**	28 **(50%)**

(Tabulka 12)

Virové infekce	n	*CEA* µg/l	*AFP* *IU/ml*	*CA 15-3* *kIU/l*	*CA 19-9* *kIU/l*	*CA 125* *kIU/l*	CgA ng/mL
Ostatní	**150**	**2 - 6**	**0- 15**	**12-55**	**10 - 86**	**15- 356**	**25- 668**
Herpetické	**56**	**0 -6**	**1 -12**	**5 -56**	**10 -106**	**12 -256**	**25 -389**

Obecně známým faktem je, že při virových infekcích se výrazně, nebo až extrémně zvyšuje hladina TK. Sledování tohoto nádorového markeru však nebylo předmětem této práce. Na základě našich i literárních zkušeností jsme hladinu TK považovali vedle klinického obrazu a hladin protilátek za kritérium zařazení pacienta do této skupiny. O ovlivnění hladin nádorových markerů virovými onemocněními prakticky neexistují žádné publikace, i když podle našich zkušeností k ovlivnění hladin nádorových markerů dochází. Nejvýraznější je u chromograninu A, kde cca. v 50% jsou hladiny zvýšeny. Zvýšení je většinou o 50- 100% referenční hodnoty, ale objevili jsme i ojedinělé hodnoty extrémně zvýšené na 600-800 ng/mL. Z dalších nádorových markerů se mění všechny mucinové nádorové markery a AFP. Vůbec se nemění CEA.

Zánětlivá onemocnění plic kontra nádory plic

(Tabulka 13)

Onemocnění	n	CEA	AFP	CA 15-3	CA 19-9	CA 125	CgA
Bronchopneumonie	**56**	24 **(43%)**	10 **(18%)**	11 **(20%)**	18 **(32%)**	30 **(54%)**	15 **(27%)**
Bronchopneumonie 6 týdnů po léčbě	**56**	3 **(5%)**	0 **(0%)**	1 **(2%)**	1 **(2%)**	2 **(4%)**	2 **(4%)**
Benigní onemocnění plic	**89**	10 **(11%)**	2 **(2%)**	5 **(6%)**	2 **(2%)**	1 **(1%)**	8 **(9%)**
Nádory časné stadium (NSCLL)	**110**	25 **(23%)**	3 **(3%)**	12 **(11%)**	6 **(6%)**	10 **(9%)**	20 **(18%)**
Nádory pokročilé (NSCLL)	**200**	180 **(90%)**	5 **(3%)**	20 **(10%)**	18 **(9%)**	48 **(24%)**	63 **(32%)**

(Tabulka 14)

Onemocnění	n	CEA µg/l	AFP IU/ml	CA 15-3 kIU/l	CA 19-9 kIU/l	CA 125 kIU/l	CgA ng/mL
Bronchopneumonie	**56**	**0-10**	**2-15**	**12-89**	**10-89**	**5 -189**	**20-169**
Bronchopneumonie 6 týdnů po léčbě	**56**	**0-4**	**1-12**	**10-36**	**10-58**	**5-51**	**20-108**
CHROP	**89**	**0-10**	**1-11**	**12-48**	**10-59**	**5-78**	**78-156**
Nádory časné stadium (NSCLL)	**110**	**1-15**	**0-12**	**12-56**	**8-65**	**5-156**	**78-236**
Nádory pokročilé (NSCLL)	**200**	**5-360**	**0-16**	**25-156**	**15-324**	**14-567**	**45-890**

U zánětlivých onemocnění plic se prakticky zvyšovaly všechny nádorové markery, nejčastěji CEA, CA 125 a chromogranin A. Vzestup byl u všech markerů málo výrazný a nebyl statisticky významný proti kontrolní skupině. Při srovnání frekvence zvýšení absolutních hodnot, mezi skupinou v akutní fázi onemocnění a po ukončené léčbě je vidět, že došlo k výraznému poklesu zvýšených hodnot. Což nepochybně ukazuje, že zvýšení bylo falešnou pozitivitou. V literauře jsou údajně popisovány změny nádorových markerů především u chronických bronchitid, či respirační insuficience a výsledky jsou značně nejednotné [Rahimi Rad MH 2014,Tsuburai T 2008, Uy O 2007] a z našich zkušeností se domníváme, že popisované změny jsou nejspíše důsledkem průvodního zánětu.

Onemocnění žlučových cest a pankreasu (Tabulka 15)

Onemocnění	n	CEA	AFP	CA 15-3	CA 19-9	CA 125	CgA
Zánětlivá onemocnění žlučníku	**64**	10 **(16%)**	4 **(6%)**	15 **(23%)**	14 **(22%)**	28 **(44%)**	56 **(88%)**
Zánětlivá žlučových cest	**56**	3 **(5%)**	10 **(18%)**	12 **(21%)**	13 **(23%)**	25 **(45%)**	48 **(86%)**
Akutní pankreatitis	**39**	8 **(9%)**	2 **(2%)**	5 **(6%)**	2 **(2%)**	1 **(1%)**	8 **(9%)**
Cholecystolithiasa	**60**	3 **(5%)**	2 **(3%)**	1 **(2%)**	8 **(13%)**	5 **(8%)**	5 **(8%)**
Nádory žlučovýchcest	**45**	20 **(44%)**	40 **(89%)**	21 **(47%)**	41 **(91%)**	21 **(47%)**	38 **(84%)**

(Tabulka 16)

Onemocnění	N	CEA µg/l	AFP IU/ml	CA 15-3 kIU/l	CA 19-9 kIU/l	CA 125 kIU/l	CgA ng/mL
Záněty žlučníku	**64**	**1- 8**	**2 -16**	**12-65**	**12 -156**	**10-289**	**54-366**
Zánětlivá žlučových cest	**56**	**1 -19**	**2 -29**	**10-60**	**11-168**	**10-356**	**54 -256**
Akutní pankreatitis	**39**	**1 - 5**	**2- 14**	**10-48**	**10-42**	**1-30**	**54 -123**
Cholecystolithiasa	**60**	**1-4**	**2-12**	**8-34**	**10-52**	**5 -65**	**54 -154**
Nádory žlučových cest	**45**	**2-65**	**3- 3500**	**8 -200**	**15 -2000**	**5 - 1000**	**54 -750**

Zánětlivá onemocnění žlučníku a žlučových cest výrazně zvyšují především hladinu chromograninu A a CA 125. Souvisí to s tím, že v hepatocytech a buňkách žlučových cest jsou tyto nádorové markery přímo produkovány. [Devarbhavi 2002, Klapdor 2003, Piantino 1990] Hladiny dalších mucinových nádorových markerů (CA15-3, CA19-9) jsou zvýšeny jen asi u jedné třetiny nemocných. Navíc jak vyplývá z hladin těchto markerů, zvýšení je pouze jen o cca.30-50 % referenční hodnoty. V literatuře jsou popisována zvýšení CA 19 -9 na hodnoty 40-80 kIU/l buď asymptomatické, nebo s bolestmi břicha a vždy byla nalezena pouze benigní příčina. [Ulla Rocha JL 2007]

U cholecystolithiázy, pokud nebyla provázena zánětlivou komplikací, se prakticky nádorové markery neměnily. Problematika nádorových markerů u nemocných s obstrukčním ikterem byla řešena v práci [NG WW Tong 1985], který prokázal vysoké hodnoty nádorových markerů při maligní etiologii a obdobně jako my, nízké hodnoty při etiologii benigní. Překvapivě ve velmi nízkém procentu, v případě, že se jednalo o benigní etiologii je zvýšen AFP. Pro praxi je toto zjištění velice důležité. AFP je v případě jaterní tkáně nádorově specifickým markerem. Pouze v diferenciální diagnostice musíme vyloučit nádorové onemocnění vycházející ze zárodečného listu. Toto je nepochybně důvodem, proč v Číně a Japonsku, kde hepatocelulární karcinom je jedním z nejčastějších maligních onemocnění, je tento marker využíván ke screeningu hepatocelulárního karcinomu. V Evropě i USA byla snaha využít tohoto markeru pro včasný záchyt maligního zvratu jaterní cirhózy či autoimunních jaterních onemocnění v nádor. V letech 1990-1995 byl takový screening prováděn i ve FN Plzeň, ale obdobně jako i na jiných pracovištích v zahraničí se ukázalo, že poměr mezi počtem sledovaných nemocných a zachycených nádorů, jak ze zdravotnického,

tak ekonomického hlediska, byl nevýhodný. Dle našich zkušeností je AFP výrazně zvýšen jak u nádorů žlučových cest a také i hepatocelulárního karcinomu, ne však u metastatického procesu do jater. [Piantino P. 1990]

Změny nádorových markerů u metastáz do jater a u hepatocelulárního karcinomu jsou diskutovány v části kapitoly věnované problematice ascitu. Změny nádorových markerů u karcinomu pankreatu byly opakovaně popisovány poprvé v roce 1989 [Haglundem 1989, Irigoyen 2003 Klapdor 2003 Minato 2013] a existuje doporučený postup pro sledování nádorových markerů z roku 2010. [Duffy 2010]

Zánětlivá a nádorová onemocnění v malé pánvi

(Tabulka 17)

	n	CEA	CA 19-9	CA 125	HE 4
Zánět v malé pánvi	**50**	1 (2%)	10 (20%)	50 (100%)	3 (6%)
Benigní nádor	**29**	3 (10%)	10 (34%)	19 (98%)	3 (10%)
Maligní nádor	**62**	0	2 (3 %)	56 (90%)	58 (93%)

(Tabulka 18)

	n	CEA µg/l	CA 19-9 kIU/l	CA 125 kIU/l	HE 4 pmol/L
Zánět v male pánvi	**50**	**1-4**	10-46	**50-6000**	30-149
Benigní nádor	**29**	1-4.5	10-56	**19-256**	30-150
Maligní nádor	**62**	**0**	10-69	**56-4500**	**58-680**

Zánětlivá onemocnění v malé pánvi u žen a záněty prostaty jsou často diskutovanou otázkou v souvislosti s nesprávnou pozitivitou nádorových markerů. U zánětů v malé pánvi jsme měli k dispozici výsledky čtyři obvykle vyšetřované markery, které gynekologové obvykle používají pro diferenciální diagnostiku.

Časté chyby v praxi se dělají při hodnocení procesů v malé pánvi. Hlavní podrobný komentář je v příloze ve dvou materiálech, kterých jsem spoluautorkou. [Vrzalová2009, Presl 2014] Ve výše uvedených tabulkách je jednoznačně

dokumentovaná vysoce se vyskytující nesprávná pozitivita CA 125 a naopak minimální nesprávná pozitivita HE 4. Benigní a maligní nádory jsou uvedeny jen pro srovnání a problematika je diskutována již ve zmíněných přílohách a na konci této kapitoly. Tato nesprávná pozitivita CA 125 vede mnohdy k odmítání nádorových markerů gynekology.

Dalším příkladem falešného zvýšení nádorového markeru vlivem zánětu je u zánětu prostaty. Obdobně se nachází ve vysokém procentu zvýšené hodnoty PSA, které zhoršují diferenciální diagnostiku benigních a maligních afekcí. Na rozdíl od adnexitid zde řešením není žádný doplňkový marker.

Pohrudniční výpotky

(Tabulka 19)

Pohrudniční výpotek Etiologie	n	CEA	AFP	CA 15-3	CA 19-9	CA 125	CgA
Zánětlivý	164	10 (6%)	4 (2%)	45 (27%)	44 (27%)	163 (99%)	56 (34%)
Kardiální	136	15 (11%)	40 29%	42 (31%)	63 (46%)	133 (98%)	58 (43%)
Maligní	120	78 (65%)	5 (4%)	15 (13%)	20 (17%)	119 (99%)	55 46%

(Tabulka 20)

Pohrudniční výpotek Etiologie	n	CEA µg/l	AFP IU/ml	CA 15-3 kIU/l	CA 19-9 kIU/l	CA 125 kIU/l	CgA ng/mL
Zánětlivý	164	2-8	4-11	12-56	44-165	25-6600	56-210
Kardiální	136	2-8	1-29	22-98	16-180	25-6490	58-365
Maligní	120	3-78	5-15	15-96	10-156	28-6450	56-980

U pohrudničního výpotku je falešné zvýšení hladiny nádorového markeru CA 125 nejčastější změnou ke které dochází, jak bylo popsáno již v 80. letech minulého století. [Jibiki 1987 a Jikibi1989] Současně také dochází i k vzestupu mucinových nádorových markerů. Tato změna je primárně důsledkem podráždění serózních blan [How 2006, Hussain 2004] a etiologie vzniku výpotku je většinou druhotná. Zvýšení

hladin CA 125 bývá nejčastěji na hodnoty, které jsou deseti- i více násobkem referenční hodnoty, tj. do oblasti extrémně zvýšených hodnot. Souvislost mezi zvýšením hladin CA 125 a etologii onemocnění neexistuje. Zcela jinak je tomu u ostatních nádorových markerů, kde v souvislosti mezi dráždění serózy a zvýšením serové hladiny je vysoce pravděpodobná u mucinových markerů. Tyto markery se ale na rozdíl od CA 125 zvyšují jen na troj- až pětinásobek normy. Frekvence zvýšení těchto markerů u pohrudničního výpotku i ascitu je však relativně nízká, ale při interpretaci výsledků je nutnost falešné pozitivity vždy brát v úvahu. Ostatní markery se mění většinou v souvislosti s etiologií výpotku. Změnami nádorových markerů u osob s pohrudničním výpotkem se zabýval [Ghayumi 2005], který dělal stejné spektrum markerů jako my, narozdíl od nás popisuje vyšší frekvenci zvýšení mucinových markerů, což ale souvisí s rozdílnou metodikou použitou v jeho práci. Jednalo se o izotopové nebo ELISA metody.

S uvedených faktů vyplývá, že vyšetřování CA 125, je-li přítomen pohrudniční výpotek, nemá smysl. V praxi bývá výsledek nesprávně interpretován a vede ve vysokém procentu ke zbytečnému zatížení nemocného. Je tomu proto, že lékař extrémní hodnotu CA 125 spojuje s diagnózou generalizovaného nádorového onemocnění. Přes všechny přednášky, publikace a doporučené postupy laboratoře Fakultní nemocnice v Plzni i přes existující a opakovaně zmiňovaný doporučený postup České lékařské společnosti je tato chyba nejčastější chybou v používání nádorových markerů v rutinní praxi. Z naší statistiky za období 10 let bylo takto nesprávně indikováno CA 125 v 3926 případech u pohrudničního výpotku!

Ascites

(Tabulka 21)

Ascites	n	CEA	AFP	CA 15-3	CA 19-9	CA 125	CgA
Jaterní cirhóza	100	10 (10%)	60 (60%)	25 (25%)	86 (86%)	98 (98%)	66 (66%)
Kardiální etiologie	136	15 (11%)	20 (15%)	42 (31%)	63 (46%)	133 (98%)	21 (15%)
Metastázy do jater	200	120 (60 %)	10 (5 %)	25 (13%)	180 (90 %)	190 (95 %)	100 (50%)
Hepatocelulární Ca	60	39 (65%)	40 (66%)	8 (13 %)	37 (62 %)	59 (98 %)	42 (70 %)

(Tabulka 22)

Ascites	n	CEA kIU/	AFP IU/ml	CA 15-3 kIU/l	CA 19-9 kIU/l	CA 125 kIU/l	CgA ng/mL
Jaterní cirhóza	100	0,5-12	1-50	2-89	15-134	5-6000	36-556
Kardiální etiologie	136	0,5-8	1-16	2-69	12-100	4-5600	32-256
Metastázy do jater	200	2-300	3-50	2-105	17-890	3-5780	33-980
Hepatocelulární Ca	60	2-15	3-980	10-150	14-1560	12-6000	24-890

Stejně jako tomu bylo u pohrudničního výpotku, nejdůležitějším zjištěním je, že i u ascitu je ve 100 % zvýšeno CA 125 a dosahuje extrémních hodnot. Problematika ascitu je obdobná jako u pohrudničního výpotku. Zvýšení nezávisí na etiologii ascitu, ani na jeho množství. Extrémně vysoké hodnoty CA 125 byly i u minimálního ascitu, který byl prokazatelný jen sonograficky. A platí totéž co v případě pohrudničního výpotku, vyšetřovat a interpretovat tento marker při existenci ascitu nemá smysl.

Druhým markerem zvýšeným na extrémně vysoké hodnoty byl chromogranin A . Pokud byl ascites v souvislosti s jaterní cirhózou, byly ve vysoké frekvenci zvýšeny hodnoty AFP, což souvisí s povahou jaterního onemocnění. Odborné nálezy popisuje [Crosby 1998 a Fabris 1991]. Jejich výsledky jsou však založeny na izotopových metodách za použití polyklonálních protilátek. Tím jde o sledování zcela jiných epitopů než je tomu v současnosti při použití směsi monoklonálních vysoce specifických protilátek. [Treska 2004, Treska 2009] Hodnoty AFP se u cirhózy narozdíl od hepatocelulárního karcinomu pohybovaly v rozmezí od 10 –50 IU/ml. U nemocných s hepatocelulárním karcinomem je popisováno zvýšení alfa fetoproteinu [Giannini 2014], které je v zemích jihovýchodní Asie využíváno ke screeningu. Překvapivá a v literatuře prakticky nepopsaná je skutečnost, že výrazně rozdílně se u jaterních metastáz a hepatocelulárního karcinomu chová alfa fetoprotein. Zatímco u jaterních metastáz je zvýšen ojediněle a navíc zvýšení je na hodnoty do 50 IU/ml, pak u hepatocelulárního karcinomu jsou hodnoty zvýšeny výrazně nad 100 IU/ml velice často. Narozdíl od hodnot u karcinomu, kde dosahují hodnot přes 100 IU/ml. Zvýšení nijak nesouvisí s ascitem. Naopak zvýšení CA 19-9 souvisí jednak se základním onemocněním a jednak i s rážděním pobřišnice. Obdobně je tomu i u všech mucinových markerů. Při ascitu, který byl důsledkem kardiální dekompenzace, byly prakticky zvýšeny všechny markery, ale frekvence zvýšení byla relativně nízká a rovněž hodnoty se pohybovaly maximálně v rozmezí hraničních a lehce zvýšených hodnot. Zvýšení CA 125 jak s ascitem tak s kardiální dekompenzací popisuje Durak –

Nalbantic. [Durak – Nalbantic 2013]

Dialyzační léčba

(Tabulka 23)

	n	CEA	AFP	CA 15-3	CA 19-9	CA 125	CgA	HE4
Dialyzační léčba	**140**		90 **(64%)**	70 **(50%)**	83 **(59%)**	140 **(100%)**	120 **(86%)**	120 **(100%)**

Hemodialyzovaní nemocní minimální a maximální hodnoty nádorových markerů. (Tabulka 24)

Dialyzační léčba	**n**	**CEA** µg/l	**AFP** IU/ml	**CA 15-3** kIU/l	**CA 19-9** kIU/l	**CA 125** kIU/l	**CgA** ng/mL	**HE4** pmol/L
Min - max	**140**	**3 - 50**	**5 -120**	**4 -150**	**4 – 200**	**1500 – 6000**	**80 -1500**	**800 -1200**

Ve svých studiích, které byly dělány rovněž jako naše studie na skupině hemodialyzovaných, došla celá řada autorů jako např. [Devarbhavi H 2002, Estakhri 2013] k závěru, že vzhledem k tomu, že většina nádorových markerů se vylučuje ledvinami a jejich hodnocení v případě selhávání ledvin je problematické.

Naše zkušenosti ukazují, že při poruše ledvinných fukcí, kdy kromě faktoru změněného vylučování markeru z organismu přistupuje i otázka rozdílných biologických poločasů markerů a v případě mucinových markerů obrovská velikost molekuly. Z tohoto plyne jediný možný závěr - výsledky jsou výrazně nespecificky ovliněné a nelze je seriózně interpretovat.

Autoimunitní choroby

(Tabulka 25)

Autoimunitní choroby	**n**	**CEA**	**AFP**	**CA 15-3**	**CA 19-9**	**CA 125**	**CgA**
Ulcerózní kolitida	**50**	3 **(6 %)**	20 **(40%)**	8 **(16 %)**	28 **(56 %)**	32 **(64 %)**	22 **(44%)**
Crohnova choroba	**30**	5 **(17%)**	5 **(17%)**	**8** **(27%)**	10 **(33%)**	20 **(67%)**	21 **(70%)**

(Tabulka 26)

Autoimunitní choroby	n	CEA µg/l	AFP IU/ml	CA 15-3 kIU/l	CA 19-9 kIU/l	CA 125 kIU/l	CgA ng/mL
Ulcerózní kolitida	50	2 -25	3 - 36	5 -86	15 -980	15 – 560	56 - 360
Crohnova choroba	30	2 -22	3-26	5 -80	15- 580	15 -230	56 - 550

O autoimunitních chorobách je v literatuře minimálně údajů [Alaseven 2008] a mnohdy jsou údaje protichůdné [BooTh 1973], což často souvisí s nepřesně definovaným stadiem onemocnění. U našich souborů se jednalo vždy o akutní stadium onemocnění. Z našich výsledků vyplývá skutečnost, že jsou ovlivněny nejčastěji mucinové markery a chromogranin A. Vzestup CEA a AFP, i když sice ojediněle se vyskytující, může být i výrazný a snadno zaměnitelný s maligní etiologií.

Příčiny těchto zvýšení se nám nepodařilo z existující dokumentace objasnit. V posledních dvou letech se opakovaně setkáváme s nesprávnou interpretací výsledků chromograninu A u nemocných léčených blokátory protonové pumpy. Celkem máme k dispozici výsledek chromograninu A u 63 nemocných, kde se ve 100 % jednalo o hodnoty vyšší než kalibrační rozsah stanovení, čili hodnoty nad 1000 ng/mL. Po vysazení blokátorů protonové pumpy, které bylo provedeno u 10 nemocných se po 14 dnech hodnoty vrátily na zcela normální hodnoty mezi 50 – 80 ng/mL. Podobné výsledky jsou popisovány v literatuře. [Tsukamoto 2011 a Pregun 2011]

Na závěr dokumentujeme, jak jsou neprávem opomíjeny nádorové markery a jak je popírán jejich význam v gynekologii.

Podrobně je problematika rozebrána v práci [Vrzalova 2009 a Presl 2014], kde jsem v obou případech spoluautorkou a na tyto práce, které jsou přílohou disertační práce, odkazuji. Zde shrnuji jen nejdůležitější poznatky.

Současná praxe je taková, že při první návštěvě je pacientce s abnormálním nálezem v pánvi prováděno stanovení následujících biomarkerů: CA125 a HE4, hladina folikulostimulačního hormonu (FSH) a vypočtěn ROMA index. Současně je provedeno gynekologické vyšetření a sonografické vyšetření, a tím jsou velice rychle získány informace o přibližné etiologii abnormálního pánevního nálezu.

S ohledem na věkovou distribuci epiteliálního ovariálního karcinomu byly cílovou skupinou postmenopausální pacientky. Data z našeho souboru ukazují, že největší výtěžnost námi užívaného postupu pro postmenopauzální pacientky má kombinace CA125 a HE4. Při FSH cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 25,3% pro ROMA

2, resp. námi nejblíže kalkulované hodnotě 26,4%, dosahuje ROMA2 senzitivity 92,3%, specificity 88,5 % a PV- 99,3%. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 25,3%, resp. námi nejblíže kalkulované hodnotě 26,3 %, dosahuje ROMA2 senzitivity 95,2 %, specificity 87,8 % a PV- 99,5 %.

CA125, při FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 36 IU/ml, dosahuje CA125 senzitivity 92,3%, specificity 85,3 % a PV- 99,3%. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnozu menopauzy na 22 IU/l, při cut-off 36 IU/ml, má CA125 senzitivitu 95,2%, specificity 84,6% a PV- 99,5%.

Marker HE4, při FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 89 pmol/l pro HE4, dosahuje senzitivity 76,9%, specificity 86,2% a PV- 98,0%, pokud snížíme cut-off FSH pro na 22 IU/l, potom při cut-off 89 pmol/l dosahuje HE4 senzitivity 71,4%, specificity 87,5% a PV- 97,1%.

Z uvedeného vyplývá, že kombinace obou markerů nesporně zlepšuje výsledky, kterých by bylo dosaženo, pokud bychom použili jen CA125 samotný. Kolem 20% epiteliálních ovariálních karcinomů vykazuje malou produkci CA125, a tím je použití jen CA125 nedostatečné. Naopak nad 50% těchto malignit má zvýšené hladiny HE4, a proto kombinace může ovariální malignity u těchto pacientek zachytit. [Presl 2014]

V kombinaci CA125 a HE4 je také proto, že zvýšené hodnoty CA125 je možné naměřit u fyziologických stavů, jako je menstruace, gravidita, dále u benigních nádorů ovarií, zánětů, u endometriózy a při přítomnosti myomů. Tato falešná pozitivita může ve skupině premenopauzálních pacientek činit v běžné klinické praxi potíže.

Pokud budeme sledovat výsledky ROC analýzy se zaměřením na cut-off jednotlivých markerů a jejich kombinací odpovídající 95% specificitě, bude situace u skupiny pre- a postmenopauzálních pacientek následující.

Největší výtěžnost ve skupině postmenopauzálních pacientek opět dosahuje kombinace markerů CA125 a HE4. Při cut-off FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje ROMA2 senzitivity blížící se 85% při cut-off 37,7%. Při cut-off FSH 22 IU/l je situace u premenopauzálních pacientek v některých aspektech odlišná, proto při stanovení menopauzálního statusu dle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 7,4% pro ROMA1, resp. námi nejblíže kalkulované hodnotě 7,5%, dosahuje ROMA1 senzitivity 70,5%, specificity 83,2% a PV- 98,2%. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 7,4%,

resp. námi nejblíže kalkulované hodnotě 7,3%, dosahuje ROMA1 senzitivity 55,5%, specificity 84,8% a PV- 98,3%. Cut-off CA125 je na našem pracovišti identické pro obě skupiny pacientek, pre- i postmenopauzální, 35 IU/l. Ve shodě se zahraničními pracovišti se však jeví jako přínosný posun horní hranice normy u premenopauzální skupiny na hodnoty cca dvojnásobné, tj. 70-80 IU/l. Na rozdíl od pacientek postmenopauzálních, u premenopauzálních jsme dosáhli ve sledovaném souboru nejvyšší senzitivity 94,1%, specificity 89,2% při cut-off 68 IU/ml. Laboratorní známkou menopauzy byla opět hodnota FSH 40 IU/l. Při cut-off FSH 22 IU/l byla senzitivita 88,8%, specificita 91,2% při cut-off 85 IU/ml. HE4 u skupiny premenopauzálních pacientek, při stanovení menopauzálního statusu dle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 89 pmol/l pro HE4, resp. námi nejblíže stanovené hodnotě 88 pmol/l, dosahuje senzitivity 52,9%, specificity 96,8% a PV- 97,6%. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 89 pmol/l, resp. námi nejblíže stanovené hodnotě 86 pmol/l, dosahuje HE4 senzitivity 44,4%, specificity 97,9% a PV- 98,2% - situace identická. Marker CA125 užívaný ve skupině postmenopauzálních pacientek při cut-off FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95% dosahuje senzitivity blížící se 85% při cut-off 63 IU/l. Při cut-off FSH 22 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 81% při cut-off 81 IU/l. Samotný marker HE4 v této sledované kohortě při cut-off FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 77 % při cut-off 115 pmol/l. Při cut-off FSH 22 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 72% při cut-off 112 pmol/l. ROMA1, při cut-off pro laboratorní diagnózu menopauzy FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 59% při cut-off 19,9%.

Při cut-off FSH 22 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 56% při cut-off 17,6%.

CA125 užívaný samostatně ve skupině premenopauzálních pacientek při cut-off FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 59% při cut-off 130 IU/l. Při cut-off FSH 22 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 45% při cut-off 143 IU/l. Samotný marker HE4 u premenopauzálních pacientek při cut-off FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 53% při cut-off 80 pmol/l. Při cut-off FSH 22 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 56% při cut-off 74 pmol/l.

Ovariální karcinom je svojí incidencí a vysokou mortalitou celosvětovým problémem.

Jedním z důvodů je chybějící symptomatologie časných stadií a dalším z důvodů je zatím neexistující screening. Donedávna byl jediným rutinně užívaným markerem pro ovariální abnormality marker CA125. V naší práci jsme na populaci českých žen dokázali, že marker HE4 dosahuje senzitivity i specificity použitelné v každodenní praxi. Kombinace markerů HE4 a CA125 a současný výpočet ROMA indexu je vhodnou metodikou pro zlepšení záchytu ovariálního karcinomu.

5.1 Sumarizace dosažených výsledků a doporučení vyplývající pro klinickou rutinní praxi

Většina lékařů posuzuje jakýkoliv laboratorní výsledek podle existujícího cutt-of. Někteří se řídí ještě pravidly existence hraniční šedé zóny, kdy je výsledek nutno interpretovat velice opatrně a nejlépe zopakovat. Méně často už se lékař zajímá o vlivy, které mohou výsledek ovlivnit a tím jej učinit problematicky interpretovatelným, či jej nelze interpretovat vůbec. Nespecifické pozitivitě byly věnovány okrajově některé doporučené postupy. [Duffy 2014, Diamandis 2008 ,Sturgeron 2008] V doporučených postupech obvykle bez dokumentace na základě kazuistik z běžné praxe byly obvykle uváděny faktory ovlivňující nádorové markery.

Jednou z nich je i zde uváděná tabulka (27) převzatá z doporučeného postupu Společnosti klinické biochemie, nukleární mediciny a onkologie, která sice na možná ovlivnění upozorňuje, ale nijak je blíže nespecifikuje.

Benigní onemocnění, která zvyšují hladiny vybraných nádorových markerů (Tabulka 27)

Nádorový marker	Benigní onemocnění
AFP	jaterní cirhóza akutní virová hepatitida chronická hepatitida chronické renální selhání těhotenství - především 1. a 2. trimestr
CA-19-9	onemocnění jater a žlučových cest cirhóza jater primární biliární cirhóza akutní hepatitida toxická hepatitida chronická hepatitida cholecystitida cholangoitida choledocholitiáza akutní a chronická pankreatitida benigní onemocnění žaludku a střeva (především zánětlivá)

CA -125	exsudativní perikarditida fyziologicky v těhotenství gynekologická benigní onemocnění benigní onemocnění ovarií endometria leiomyom selhání ledvin benigní onemocnění jater akutní pankreatitida akutní hepatitida jaterní cirhóza ikterus biliární cirhóza onemocnění provázená výpotkem v serózních dutinách jakékoliv etiologie – zánětlivý, traumatický, kardiální exsudativní pleuritis ascites
CA-15-3	benigní onemocnění prsu benigní onemocnění trávicího ústrojí jaterní cirhóza chronická renální insuficience (především při léčbě hemodialýzou) HIV infekce chronická bronchitida pneumonie a bronchopneumonie TBC akutní a chronická hepatitida revmatická onemocnění fyziologicky v těhotenství
CEA	u kuřáků (do 5 ng/ml) při chronickém ledvinovém selhání při benigních onemocněních GIT a jater ulcerózní kolitida Crohnova choroba střevní polypóza chronická hepatitida jaterní cirhóza chronická pankreatitida

	zánětlivá onemocnění plic bronchopneumonie chronická bronchitida TBC plic mukoviscidóza autoimunitní choroby benigní adenomy prsu
CYFRA 21-1	jaterní cirhóza chronické selhání ledvin astma TBC infekce respiračního traktu
HE4	srdeční selhávání endometrióza
chromogranin A	chronické selhávání ledvin chronická onemocnění jater fyziologicky u těhotných střevní záněty a atrofická gastritida
PSA	Prostatitida
TK	virové infekce

U premenopausálních žen, během menstruačního cyklu a v období ovulačního peaku dochází k mírnému vzestupu AFP, CA 125 a HE 4. Ostatní sledované markery se měnily minimálně nebo vůbec.

U těhotných žen se v I. a II. trimestru mění hladiny AFP, a také CA 125 a v ojedinělých případech HE4. Ostatní nádorové markery se neměnily.

U postmenopausálních žen, jsme výskyt falešné pozitivity markerů neprokázali. U postmenopausálních žen dochází sice k nespecifickému ovlivnění, ale frekvence i velikost změn, ke kterým dochází, jsou velmi malé. Takže sporné mohou být pouze hraniční hodnoty - je tedy vhodné výsledek s časovým odstupem zopakovat.

U kuřáků ve vysokém procentu dochází ke zvýšení CEA, ale tato falešná pozitivita je relativně malá.

Falešná pozitivita u kuřáků musí být vždy respektována při hodnocení hraničních a lehce zvýšených hodnot. Při hodnocení remisních hodnot je nutné používat vždy individuálních bazálních hodnot, které nemusí být v rozsahu normálních hodnot.

Vyšetření per rektum, kolonoskopie, bronchoskopie výrazně mění hodnoty

nádorových markerů a odběr by měl vždy předcházet těmto vyšetřením. V praxi tato skutečnost je málo respektována a to vede velice často k nesprávné interpretaci nádorových markerů, či dokonce i zpochybňování jejich významu.

Zánětlivá onemocnění virové etiologie ovlivňují především chromogranin A a mucinové nádorové markery a k obdobným změnám dochází i u zánětů barkeriálních. V praxi je výskyt falešně pozitivních změn u zánětlivých onemocnění nadhodnocován. Jediným řešením, které plyne z našeho sledování jsou hraniční hodnoty či lehce zvýšené. Z toho vyplývá neukvapovat se v závěru hodnocení nádorových markerů a zopakovat odběr po odeznění zánětlivé komplikace.

Pokud pozitivita markeru přetrvává, nejedná se falešnou pozitivitu a je nutno pátrat po příčině.

Výpotky v pohrudniční dutině nebo ascites vedou k extrémnímu zvýšení hladin CA 125 bez jakéhokoliv vztahu k etiologii výpotku. Zde patí jediné pravidlo - CA 125 při existujícím dráždění serózních blan nevyšetřovat a opačně, při nevysvětlitelném zvýšení CA 125 na prvém místě vyloučit, že existuje třeba i jen minimální ascites nebo výpotek jako příčina extrémní hodnoty CA 125.

Při zvýšení ostatních markerů, pokud je v oblasti šedé zony nebo zvýšených hodnot, nelze nic řici o etiologii výpotku. Při výrazném nebo extremním zvýšení ostatních markerů lze naopak jednoznačně hovořit o maligní etiologii. Při zvýšené hodnotě ostatních měřených markerů, jako v předcházejících případech nutno posoudit dynamiku vývoje markeru. Pokles vždy svědčí pro nesprávnou pozitivitu, neměnící se hodnota nebo dokonce vzestup vždy by měla nutit pokračovat ve vyšetřování etiologie výpotku.

Chronická renální insuficience vede prakticky k extrémnímu zvýšení hodnot nádorových markerů. Při poruchách renálních funkcí by neměly být nádorové markery vůbec vyšetřovány, interpretace výsledku je značně problematická a většinou i nemožná.

Autoimunitní onemocnění trávicího ústrojí zvyšují mucinové nádorové markery a chromogranin A výhradně v akutním stadiu. Ojediněle se zvyšuje i AFP a CEA, a to zcela nestandardně a změny prakticky nejsou interpretovatelné.

K extrémnímu zvýšení hodnot chromograninu A vede léčba blokátory protonové pumpy a je často mylně interpretováno jako karcinoid syndrom. Obdobně extrémní zvýšení CA 125 u zánětů v malé pánvi vede k nesprávné interpretaci, podezření na diagnózu nádorů ovaria.

6. Závěry

Pro lékaře znamená vyšetření nádorových markerů ve správném panelu, čase a frekvenci pomocníka ke zjištění podezření na časnou recidivu onemocnění a umožní mu zahájit diagnostický proces k jejímu odhalení.

Pro nemocného znamená zvýšená jen jedna hodnota markeru pouze námět na diskuzi s lékařem, který by mu měl limitovanou výpovědní hodnotu, zejména náhodného výběru, vysvětlit.

Znalost faktorů, které mohou výsledek ovlivnit, je nezbytně nutná pro optimální indikaci a interpretaci nádorových markerů a tím zabránit zbytečné owerdiagnostice.

7. Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. MUDr. O. Topolčanovi, CSc. za jeho odborné vedení, cenné rady, všestrannou pomoc a trpělivost při vedení mé disertační práce a poskytnutá data. Dále bych ráda poděkovala všem mým přátelům a kolegům, kteří mě po celou dobu mého PhD. studia doprovázeli a pomáhali mi.

Dále patří mé poděkování Alfredu Scottovi za jeho pomoc při grafické úpravě práce a jeho velkou podporu.

V neposlední řadě bych velice ráda poděkovala Dádince, Víťence, Caroline a mé sestře Pavlíně, že při mně stály, podporovaly a inspirovaly mě k dokončení práce.

8. Literatura

Ataseven H, Oztürk ZA, Arhan M, Yüksel O, Köklü S, Ibiş M, Başar O, Yilmaz FM, Yüksel I. Cancer antigen 125 levels in inflammatory bowel diseases. *J Clin Lab Anal,* 2009, vol. 23, no. 4, s. 244-8.

Alexander JC, Silverman NA, Chretien PB. Effect of age and cigarette smoking on carcinoembryonic antigen levels. *JAMA*, 1976, vol. 3, no. 18, s. 1975-9.

Alvarezsala R, Prados C, Deterreros F, Blasco R, Pino J, Gomez L, Alvarezsala J, Callol L, Villamor J. Carcinoembryonic antigen in the diagnosis of lung-cancer using bronchoalveolar lavage - a comparative-study with healthy-subjects, chronic-bronchitis, *respiratory-infections and interstitial pulmonary-diseases. Int J Oncol,* 1995, vol. 6, no. 5,s.1093-8.

Anderson HA, Rosenman KD, Snyder J. Carcinoembryonic antigen (CEA) plasma levels in Michigan and Wisconsin dairy farmers. *Environ Health Perspect,* 1978, vol. 23, s. 193-7.

Asseo PP, Tracopoulos GD. Simultaneous enzyme immunoassay of carcinoembryonic antigen in pleural effusion and serum *Am J Clin Pathol*, 1982, vol. 77, no. 1, s. 66-71.

Balaban YH, Simsek H, Yilmaz R, Sarer-Yurekli BP, Shorbagi A, Tatar G. Tumor markers in familial Mediterranean fever and their correlation with the frequency of attacks. *Clin Exp Rheumatol*, 2008, vol. 26, no. 4, s. 114-6.

Bulut I, Arbak P, Coskun A, Balbay O, Annakkaya AN, Yavuz O, Gülcan E. Comparison of serum CA 19.9, CA 125 and CEA levels with severity of chronic obstructive pulmonary disease. *Med Princ Pract*. 2009, vol. 18, no. 4, s 289-93.

Brumsted JR, Mead PB, Gibson M. Serum concentration of protein CA-125 in women with pelvic inflammatory disease. *Sex Transm Dis,* 1988, vol. 15, no. 3, s. 144-7.

Booth SN, King JP, Leonard JC, Dykes PW. The significance of elevation of serum carcinoembryonic antigen (CEA) levels in inflammatory diseases of the intestine. *Scand J Gastroenterol*,1974, vol. 9, no. 7, s. 651-6.

Bosch JL, Hop WC, Bangma CH, Kirkels WJ, Schröder FH. Prostate specific antigen in a community-based sample of men without prostate cancer: correlations with prostate volume, age, body mass index, and symptoms of prostatism. *Prostate,*1995, vol. 27, no. 5, s. 241-9.

Choe SA, Ku SY, Jee BC, Suh CS, Kim SH, Choi YM, Kim JG, Moon SY. Significance of the serum CA-125 level in intrauterine insemination cycles. *Clin Exp Reprod Med.* 2011, vol. 38, no. 3, s. 164-7.

Crosby HA, Hubscher S, Fabris L, Joplin R, Sell S, Kelly D, Strain A Immunolocalization of putative human liver progenitor cells in livers from patients with end-stage primary biliary cirrhosis and sclerosing cholangitis using the monoclonal antibody OV-6. *Am J Pathol*. 1998, vol. 152, no. 3, s. 771-9.

Diamandis EP, Hoffman BR, Sturgeon CM. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines for the Use of Tumor Markers. *Clin Chem. 2008*, vol. 54, no. 11, s. 1935-9.

Devarbhavi H, Kaese D, Williams AW, Rakela J, Klee GG, Kamath PS. Cancer antigen 125 in patients with chronic liver disease. *Mayo Clin Proc*. 2002, vol. 77, no. 6, s. 538-41.

Duffy MJ, Lamerz R, Haglund C, Nicolini A, Kalousová M, Holubec L, Sturgeon C. Tumor markers in colorectal cancer, gastric cancer and gastrointestinal stromal cancers: European group on tumor markers 2014 guidelines update. *Int J Cancer.* 2014, vol. 134, no. 11, s. 2513-22.

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,vol. 39, no. 6, s. 718-27.

Duffy MJ. The urokinase plasminogen activator system: role in malignancy.Curr *Pharm Des*, 2004, vol. 10, no.1, s. 39-49.
Duffy MJ. Evidence for the clinical use of tumour markers *Ann Clin Biochem,* 2004, vol. 41, no. Pt 5, s. 370-7.

Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Holinski-Feder E, Klapdor R, Lamerz R, Peltomaki P, Sturgeon C, Topolcan O. Tumour markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use. *Eur J Cancer.* 2007, vol. 43, no. 9, s. 1348-60.

Duffy MJ, Sturgeon C, Lamerz R, Haglund C, Holubec VL, Klapdor R, Nicolini A, Topolcan O, Heinemann V. Tumor markers in pancreatic cancer: a European Group on Tumor Markers (EGTM) status report. *Ann Oncol*, 2010, vol. 21, no.3, s. 441-7.

Duk JM, Kauer FM, Fleuren GJ, de Bruijn HW. Serum CA 125 levels in patients with a provisional diagnosis of pelvic inflammatory disease. Clinical and theoretical implications. *Acta Obstet Gynecol Scand,* 1989, vol. 68, no. 7, s. 637-41.

Durak-Nalbantic A, Resic N, Kulic M, Pecar E, Zvizdic F, Dzubur A, Dilic M, Gojak R, Sokolovic S, Hodzic E, Brdjanovic S. Serum level of tumor marker carbohydrate antigen-CA125 in heart failure. *Med Arch.* 2013, vol. 67, no. 4, s. 241-4.

Estakhri R, Ghahramanzade A, Vahedi A, Nourazarian A. Serum levels of CA15-3,

AFP, CA19-9 and
CEA tumor markers in cancer care and treatment of patients with impaired renal function on hemodialysis.
Asian Pac J Cancer Prev, 2013, vol. 14, no. 3, s. 1597-9.

Fabris C, Basso DA, Leandro G, Meggiato T, Elba S, Panozzo MP, Del Favero G,Fogar P,
Di Mario F, Naccarato R. Serum CA 19-9 and alpha-fetoprotein levels in primary hepatocellular
carcinoma and liver cirrhosis. *Cancer*, 1991, vol. 15, no. 8, s. 1795-8.

Ferrer J, Villarino MA, Encabo G, Felip E, Bermejo B, Vilà S, Orriols R. Diagnostic utility of CYFRA 21-1, carcinoembryonic antigen, CA 125, neuron specific enolase, and squamous cell antigen level determinations in the serum and pleural fluid of patients with pleural effusions. *Cancer,* 1999, vol. 86, no. 8, s. 1488-95.

Finek J, Holubec L Jr, Topolcan O, Salvet J, Pikner R, Holdenrieder S, Stieber P, Lamerz R, Holubec Sen L, Svobodova S, Visokai V, Helmichova E. Clinical relevance of tumor markers for the control of chemotherapy. *Anticancer Res*, 2005, vol. 25, no. 3A, s. 1655-8.

Giannini EG, Sammito G, Farinati F, Ciccarese F, Pecorelli A, Rapaccini GL, Di Marco M, Caturelli E, Zoli M, Borzio F, Cabibbo G, Felder M, Gasbarrini A, Sacco R, Foschi FG, Missale G, Morisco F, Svegliati Baroni G, Virdone R, Trevisani F; Italian Liver Cancer (ITA.LI.CA) Group. Determinants of alpha-fetoprotein levels in patients with hepatocellular carcinoma: implications for its clinical use. *Cancer,* 2014, vol. 120, no. 14, s. 2150-7.

Ghayumi SM, Mehrabi S, Doroudchi M, Ghaderi A. Diagnostic value of tumor markers for differentiating malignant and benign pleural effusions of Iranian patients. *Pathol Oncol Res*, 2005, vol. 11, no. 4, s. 236-4.

Haglund C, Kuusela P, Roberts PJ. Tumour markers in pancreatic cancer. *Ann Chir Gynaecol.* 1989, vol. 78, no. 1, s. 41-53.

Hallamaa M, Huhtinen K, Suvitie P, Perheentupa A. Serum concentrations of HE4 change little during in vitro fertilization. Acta Obstet Gynecol Scand. 2014, vol. 93, no. 7, s. 640-6.

Han SN, Lotgerink A, Gziri MM, Van Calsteren K, Hanssens M, Amant F. Physiologic variations of serum tumor markers in gynecological malignancies during pregnancy: a systematic review. BMC Med. 2012, vol. 8, no. 10, s. 86.

Holubec, L., Jr., Topolčan, O., Pikner, R.: Biologická aktivita u kolorektálního karcinomu.
Čas. Lék. Čes, 2002, vol. 141, no. 16, s. 508-512

How SH, Liam CK, Jamalludin AR, Chin SP, Zal AB. Serum cancer antigen 125 in

patients with pleural effusions. *Med J Malaysia*, 2006, vol. 61, no. 5, s. 558-63.

Hussain SF, Grayez J, Grigorian A, Green JT. Massive pleural effusion and marked increase of CA-125. *Postgrad Med J,* 2004, vol. 80, no. 943, s. 300-1.

Irigoyen Oyarzabal AM, Amiguet García JA, López Vivanco G, Genollá Subirats J, Muñoz Villafranca MC, Ojembarrena Martínez E, Liso Irurzun P. [Tumoral markers and acute-phase reactants in the diagnosis of pancreatic cancer]. *Gastroenterol Hepatol*. 2003, vol. 26, no. 10, s. 624-9.

Jibiki K, Abe Y, Takeda M, Iwachika C, Odagiri E, Demura R, Demura H. [Clinical evaluation of various tumor markers in pleural effusion and in the serum]. *Gan No Rinsho*, 1989, vol. 35, no. 9, s. 991-8.

Jibiki K, Demura R, Abe Y, Odagiri E, Demura H. [A clinical evaluation of CA 125 levels in serum, ascites and pleural effusion]. *Gan No Rinsho*, 1987, vol.33, no. 14, s. 1756-62.

Kaušitz Juraj, Topolčan Ondřej, Karlíková Marie, Časová Miroslava, Svobodová Šárka, Augé Fradera Josep, Barac Vivien, Bartošová Zdena, Costigliola Vincenzo, Kaušitzová Eva, Sabolová Lujza,Sanislo Luboslav, Závodná Katarína, Zezulová Mária,Biomarkery v onkologii. 2014
www.molekgen.eu/stujnimaterialy/monografie, ISBN 978-80-263-0820-1

Khanna AK, Yadav SK, Dixit VK, Nath G, Kumar M, Khanna A. CA 19-9 in various gastrointestinal malignancies in an Indian population. *Trop Doct*. 2004, vol. 34, no. 2, s. 107-8.

Klapdor R, Bahlo M, Babinski A. Atypical courses of serum tumor markers--4 case reports. *Anticancer Res*. 2003, vol. 23, no. 2A, s. 845-50.

Levy M, Visokai V, Lipska L, Topolcan O. Tumor markers in staging and prognosis of colorectal carcinoma. *Neoplasma*, 2008, vol. 55, no. 2, s. 138-42.

Liska V, Treska V, Holubec L, Skalický T, Sunar A, Topolcan O, Fínek J. [Prognostic factors of early recurrence of colorectal liver metastases and their usage in clinical praxis]. *Rozhl Chir,* 2006, vol. 85, no. 4, s. 163-8.

Ng WW, Tong KJ, Tam TN, Lee SD. Clinical values of CA19-9, CA125 and CEA in malignant obstructive jaundice. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei).* 1995 vol. 55, no. 6, s. 438-46.

Man LB, Li GZ, Huang GL, Wang JW, Liu BY. [Aggressiveness and extent of prostatic inflammation relates with serum PSA levels in type IV prostatitis]. Zhonghua Nan Ke Xue. 2012, vol. 18, no. 8, s. 710-4.

Minato Y, Kamisawa T, Tabata T, Hara S, Kuruma S, Chiba K, Kuwata G, Fujiwara T, Egashira H, Koizumi K, Saito I, Endo Y, Koizumi S, Fujiwara J, Arakawa T, Momma K, Kurata M, Honda G. Pancreatic cancer causing acute pancreatitis: a comparative study with cancer patients without pancreatitis and pancreatitis patients without cancer. J Hepatobiliary Pancreat *Sci*. 2013, vol. 20, no. 6, s, 628-33.

Moore E, Soper DE. Clinical utility of CA125 levels in predicting laparoscopically confirmed salpingitis in patients with clinically diagnosed pelvic inflammatory disease. *Infect Dis Obstet Gynecol,* 1998, vol. 6, no. 4, s. 182-5.

Moore RG, Miller MC, Steinhoff MM, Skates SJ, Lu KH, Lambert-Messerlian G, Bast RC Jr. Serum HE4 levels are less frequently elevated than CA125 in women with benign gynecologic disorders. *Am J Obstet Gynecol*, 2012, vol. 206, no. 4, s. 351.e1-8.

Mozas J, Castilla JA, Jimena P, Gil T, Acebal M, Herruzo AJ. Serum CA-125 in the diagnosis of acute pelvic inflammatory disease. *Int J Gynaecol Obstet*, 1994, vol. 44, no. 1, s. 53-7.

Pesta M, Fichtl J, Kulda V, Topolcan O, Treska V. Monitoring of circulating tumor cells in patients undergoing surgery for hepatic metastases from colorectal cancer. *Anticancer Res,* 2013, vol. 33, no. 5, s. 2239-43.

Piantino P, Fusaro A, Randone A, Cerchier A, Daziano E. [Increased levels of Ca 19-9, Ca 50 and Ca 125 in patients with benign diseases of the biliary tract and the pancreas]. *J Nucl Med Allied Sci.* 1990, vol. 34, no. 4 Suppl, s. 97-102.

Pregun I, Herszényi L, Juhász M, Miheller P, Hritz I, Patócs A, Rácz K, Tulassay Z. Effect of proton-pump inhibitor therapy on serum chromogranin a level. Digestion. 2011, vol. 84, no.1, s.22-8.

Presl J, Novotny Z, Topolcan O, Vlasak P, Kucera R, Fuchsova R, Vrzalova J, Betincova L, Svobodova S. CA125 and HE4 levels in a Czech female population diagnosed with endometrial cancer in preoperative management. *Anticancer Res*, 2014, vol. 34, no.1,s.327-31.

Presl J, Kučera R, Topolčan O, Novotný Z, Vrzalová J, Fuchsova R, Betincová L, Rokyta Z. [HE4 a biomarker of ovarian cancer]. *Ceska Gynekol*, 2012, vol. 77, no. 5, s. 445-9.

Presl Jiří, Kučera Radek, Topolčan Ondřej, Svobodová Šárka, Novotný Zdeňek, Windrichová Jindra, Čásová Miroslava, Fuchsová Radka
Betincová Lucie Využití biomarkerů pro diagnostiku a monitoraci léčby karcinomu vaječníků. 2014
www.molekgen.eu/stujnimaterialy/monografie, ISBN 978-80-263-0816-4

Rahimi-Rad MH, Rahimi P, Rahimi B, Gholamnaghad M. Serum CA-125 level in patients with chronic obstructive pulmonary disease with and without pulmonary hypertension. Pneumologia. 2014, vol. 63, no. 3, s. 164-6.

Sarandakou A, Protonotariou E, Rizos D. Tumor markers in biological fluids associated with pregnancy. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2007, vol. 44, no. 2, s. 151-78.

Sturgeon CM, Hoffman BR, Chan DW, Ch'ng SL, Hammond E, Hayes DF, Liotta LA, Petricoin EF, Schmitt M, Semmes OJ, Söletormos G, van der Merwe E, Diamandis EP;
National Academy of Clinical Biochemistry. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines for use of tumor markers in clinical practice: quality requirements. *Clin Chem.* 2008, vol. 54, no. 8, s. e1-e10.

Sturgeon CM, Duffy MJ, Stenman UH, Lilja H, Brünner N, Chan DW, Babaian R, Bast RC Jr, Dowell B, Esteva FJ, Haglund C, Harbeck N, Hayes DF, Holten-Andersen M, Klee GG, Lamerz R, Looijenga LH, Molina R, Nielsen HJ, Rittenhouse H, Semjonow
A, Shih IeM, Sibley P, Sölétormos G, Stephan C, Sokoll L, Hoffman BR, Diamandis EP; National Academy of Clinical Biochemistry. National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *Clin Chem*. 2008, vol. 54, no. 12, s. 11-79.

Sturgeon CM, Duffy MJ, Hofmann BR, Lamerz R, Fritsche HA, Gaarenstroom K, Bonfrer J, Ecke TH, Grossman HB, Hayes P, Hoffmann RT, Lerner SP, Löhe F, Louhimo
J, Sawczuk I, Taketa K, Diamandis EP; National Academy of Clinical Biochemistry. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines for use of tumor markers in liver, bladder, cervical, and gastric cancers. *Clin Chem.* 2010, vol. 56, no. 6, s. 1-48

Song L, Zhu Y, Han P, Chen N, Lin D, Lai J, Wei Q. A retrospective study: correlation of histologic inflammation in biopsy specimens of Chinese men undergoing surgery for benign prostatic hyperplasia with serum prostate-specific antigen. *Urology.* 2011, vol. 77, no. 3, s. 688-92

Topolcan O, Holubec L Jr. The role of thymidine kinase in cancer diseases. *Expert Opin Med Diagn*, 2008, vol. 2, no. 2, s. 129-41.

Topolcan O, Holubec L, Polivkova V, Svobodova S, Pesek M, Treska V, Safranek J, Hajek T, Bartunek L, Rousarova M, Finek J. Tumor markers in pleural effusions. *Anticancer Res,* 2007, vol. 27, no. 4A, s. 1921-4.

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, vol. 25, no. 3A, s. 1831-3.

Treska V, Topolcan O, Stanislav K, Liska V, Holubec L. Preoperative tumor markers as prognostic factors of colorectal liver metastases. *Hepatogastroenterology*, 2009, vol. 56, no. 90, s. 317-20.

Treska V, Skalický T, Fínek J, Kormunda S, Topolcan O, Sutnar A, Neprasová P,Sůvová B. Is liver resection or radiofrequency ablation indicated in breast carcinoma metastases?]. *Rozhl Chir,* 2004, vol. 83, no. 4, s. 173-7.

Tsuburai T, Kawabata Y, Tsurikisawa N, Mitomi H, Oshikata C,
Ono E, Ohtomo M, Maeda Y, Taniguchi M, Akiyama K. [Case of eosinophilic bronchitis and
bronchiolitis associated with increased level of serum CEA in asthmatics]. *Nihon Ko-kyuki
Gakkai Zasshi*, 2006,vol.44, no.10, s.742-8.

Tsukamoto H, Mizoshita T, Sasaki M, Mizushima T, Tanida S, Ozeki K, Hirata Y, Shimura T, Kataoka H, Kamiya T, Nojiri S, Tsukamoto T, Tatematsu M, Joh T. Long-term high-dose proton pump inhibitor administration to Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils enhances neuroendocrine tumor development in the glandular stomach. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011, vol. 12, no. 4, s. 1049-54.

Tyler C, Kapur A, Felder M, Belisle JA, Trautman C, Gubbels JA, Connor JP, Patankar MS. The mucin MUC16 (CA125) binds to NK cells and monocytes from peripheral blood of women with healthy pregnancy and preeclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 2012, vol. 68, no.1,s.28-37.

Ozat M, Kanat-Pektas M, Yenicesu O, Gungor T, Danisman N, Mollamahmutoglu L. Serum concentrations of CA-125 in normal and preeclamptic pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 2011, vol. 284, no. 3, s. 607-12.

Ulla Rocha JL, Alvarez Sanchez MV, Paz Esquete J, Fernandez Salgado E, Alvarez Alvarez C, Vazquez Sanluis MJ, Ledo Barro L, Vazquez Astray E. Evaluation of the bilio-pancreatic region using endoscopic ultrasonography in patients referred with and without abdominal pain and CA 19-9 serum level elevation. *JOP*. 2007, vol. 8, no. 2, s. 191-7.

Uz O, Kardesoglu E, Tas D, Acar G, Isilak Z, Yiginer O, Aparci M, Cingozbay BY, Cebeci BS. CA-125 level is associated with right ventricular echocardiographic parameters in patients with COPD. *South Med J*. 2011, vol. 104, no. 9, s. 624-8.

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, vol. 26, no. 4B, s. 3183-6.

Votava T, Topolcan O, Holubec L Jr, Cerna Z, Sasek L, Finek J, Kormunda S. Changes of serum thymidine kinase in children with acute leukemia. *Anticancer Res*. 2007 ;vol. 27 no.4A s.1925-8.

Vrzalova J, Prazakova M, Novotny Z, Topolcan O, Casova M, Holubec L Jr. Test of ovarian cancer multiplex xMAP technology panel. *Anticancer Res*, 2009, vol. 29, no. 2, s. 573-6.

Xie YJ, Chen M, Chen SJ. Prediction of pregnancy outcomes with combined ultrasound scanning of yolk sacs and serum CA125 determinations in early threatened abortion. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2014, vol. 41, no. 2, s. 186-9.

9. Seznam příloh

Publikace autorky:

A. Plzeňský lékařský sborník 2015, HE4 In Comparison with other biomarkers in ovarian cancer diagnostic

B. Anticancer research 2009 (IF1,4)Test of Ovarian Cancer Multiplex xMAP Technology Panel

C. Anticancer research 2015 (IF1,8) PHI in the Early Detection of Prostata Cancer

D. Biologická aktivita nádoru. Aneb proč stanovovat biomarkery v onkologii. 2014

E. Využití biomarkerů pro diagnostiku a monitoraci léčby karcinomu vaječníků. 2014

F. Biomarkery v onkologii. 2014

G. Princip a využití imunoanalytických metod. 2014