

Nádorové markery a epigenetické faktory

Nekulová M., Šimíčková M., Valík D.

Masarykův onkologický ústav, Brno

SOUHRN

Práce shrnuje současné pohledy na laboratorní vyšetřování v současné onkologické praxi, zejména na stanovování nádorových markerů v séru a tkáni, jejich správné indikace a načasování i požadavky validity vyšetřování (specifičnost, senzitivita, pozitivní a negativní prediktivní hodnota a další parametry hodnocené v rámci správné laboratorní praxe) stejně jako jejich používání v rámci doporučení mezinárodních pracovních skupin pro nádorové markery (EGTM, 1, 2). Je vysvětlena rozlišovací operační křivka (ROC) závislosti senzitivity a specifičnosti stanovení.

Přehled nádorových markerů, jednotlivé indikace vyšetřování nádorových markerů jsou uvedeny v tabulkách, stejně jako hodnoty biologického poločasů pro jednotlivé sérové nádorové markery.

Práce zmiňuje také současné postavení perspektivních vyšetření molekulární genetiky i nově se otvírající možnosti epigenetiky.

Klíčová slova: nádorové markery, indikace, načasování vyšetření, validita, epigenetika.

SUMMARY

Nekulová M., Šimíčková M., Valík D.: Tumor markers and epigenetic factors

The examinations of tumor markers in serum and tissue, their accurate indications, timing and validity (specificity, sensitivity, positive and negative predictive value and the other parameters evaluated according to requirements of good laboratory practice) as well as their applications in terms of recommendations of International working groups for tumor markers (EGTM 1, 2) are summarized in the contemporary view of clinical oncology.

Structural classification of tumor markers, individual indications of their examinations, biological half-time for individual tumor markers, and explanation of ROC (Receiver Operating Characteristics) curves are presented in individual tables.

Also the perspective methods of molecular DNA genetics and epigenetic are mentioned.

Key words: tumor markers, indications, timing, validity, epigenetics.

V současné době se objevují názory, že začátek zhoubného bujení, do současnosti spojovaný s procesy mutace genů, budeme muset posunout ještě před tyto „viditelné“ změny (změny v pořadí nukleotidů). Budeme se muset zaměřit na tzv. změny epigenetické. Na začátku nádorového onemocnění dochází totiž již k molekulárním změnám, k nimž náležejí i alterace epigenetické. Jsou to modifikace genové exprese, často vlivem metylace DNA a remodelace chromatinu přes proteiny histonů. Buňky jimi postižené vypadají morfologicky zcela normálně, ale jejich DNA je už pozměněná. K detekci těchto změn budou nutné zatím ne zcela používané postupy.

Epigenetika studuje převážně připojení metylových skupin na konkrétní místa genů, jakési ztluštění vlákna DNA, které znemožňuje správné čtení kódu. Epigenetické změny mění fungování genů. Zatím víme, že dokážou některé geny kompletně zapnout nebo vypnout, nebo že jejich činnost jen oslabují, např. zapínání onkogenů. Tým z Univerzity J. Hopkinse pokusy na myších (nesprávným zapínáním kopie genu IGF2) vyvolával vznik karcinomu tlustého střeva [3]. Byly popsány tři stadia změn. V první fázi nastává epigenetické rozvrácení buněk, které zajišťují reparaci tkání, a dochází k množení buněk. Druhá fáze nastartuje mutace a změny chromozomů. Třetí krok je genetická a epigenetická nestabilita, která vede k šíření nádorové tkáně. Poznání těchto změn by mělo vést k preventivní terapii dříve než dojde k mutacím. Prevence rakoviny by se tak měla přesunout k testům epigenetických změn na zdravých

buňkách v kritických místech. Zatím však tato místa neznáme a použitelné testy nejsou. Na přídatné značky, které provázejí epigenetické změny, je prozkoumána jen malá část lidské DNA. Pokud dojde jen ke změně funkce genu bez prokazatelných jiných změn, jde o změny epigenetické. Dochází k mobilizaci metylových skupin [4], jejich přilepení na řídicí úseky a utlumení, případně posílení jejich funkce. I když změny probíhají embryonálně, projeví se často až v dospělosti. Mohou dávat vznik třeba leukémiím (metylace genů krevní řady). Epigenetické děje jsou vratné! Geny lze demetylovat, třeba změnou výživy. Zkoumal se vliv B₁₂, B₅, cholinu a betainu (snižuje tendenci k obezitě, diabetu a nádorů u potomků) – zatím v pokusech na myších. Vliv rodičů a prarodičů se podepisuje i na modelu chování v rodině dětí (stresové hormony a metylace jejich receptoru). Kam nás tyto informace povedou a co si z nich může vybrat každý pro sebe? A jak těchto znalostí lze využít v prevenci a terapii [5]? „Epigenetika je o tom, co jíme, jak se chováme a jak se máme rádi“. To všechno jsou mechanismy, kterými můžeme ovlivňovat další změny, které se později mohou změnit z dočasných na trvalé. Zatím v onkologické praxi ještě neumíme využít ani všechny poznatky genetiky. V rámci výzkumu se pracuje na mnoha studiích. Do běžné rutiny však proniklo zatím jen stanovování některých DNA markerů: např. BRCA1 vzhledem ke karcinomu prsu, RB1 pro retinoblastom, K-ras pro kolorektální karcinom, RET onkogen pro medulární karcinom štítné žlázy, p53 u Li-Fraumeni syndromu, amplifikace N-myc u neuro-

blastomu a DNA tumorový marker přestavby c-abl-bcr u leukémie a přestavby bcl-2 pro B lymfom [6, 7].

V běžné rutině však může onkolog v současné době při terapii a monitorování nemocných podpořit své informace o pacientovi nejčastěji vyšetřováním sérových nádorových markerů. Jen na začátku terapie (při chirurgickém výkonu) může tato vyšetření doplnit i stanovením některých z tkáňových nádorových markerů (hormonální receptory, HER2-neu a další), které většinou slouží také jako prognostické nebo prediktivní parametry.

V době stanovení diagnózy před zahájením onkologické terapie by vyšetření nádorových markerů v séru nikdy nemělo chybět. Nepomůže příliš v diagnóze, ale je nutné pro posuzování další dynamiky v rámci sledování efektu terapie nebo návratu choroby. Jen vzácné jsou indikace v rámci screeningu (např. hepatocelulárního karcinomu nebo mnohočetných hereditárních neoplazií) i v rámci hledání neznámého primárního tumoru. Vyšetřování nádorových markerů bývá součástí protokolů různých klinických studií i zkoušení nových léků ve fázi klinického testování I–IV.

Racionální využití nádorových markerů předpokládá znalost správné indikace vyšetření, jejich diagnostické hodnoty, klinické senzitivity a specifity, analytických možností, faktorů ovlivňujících vyšetření a interpretace výsledků. Možnosti klinického využití pro screening, primární diagnostiku, prognózu, predikci návratu choroby, monitorování terapie i algoritmus pro hledání lokalizace neznámého primárního tumoru bývají uváděny ve vztahu k nejčastějším maligním tumorům a jednotlivým nádorovým markerům (tab. 1.).

Table 1. Tumor markers and localization of tumor

Marker	Tumors
CEA	Colorectal, Stomach, Breast, Lung
AFP	Liver, Testicle
TPA/S	Breast, Lung, Colorectal, Urinary bladder
CYFRA 21-1 (cytoker. fragment)	Lung, Cervix uteri
PSA	Prostate
CA 125	Ovarial, Hepar
CA 15-3	Breast
CA 19-9	Pancreas, Colorectal
CA 72-4	Stomach
CA 50	Colorectal, Pancreas
MCA (Ag mucin.ca)	Breast
SCCA	Lung, Cervix uteri
B2M	Multiple myeloma, lymphoma,
FER (ferritin)	Hodgkin's lymphoma, Testicle, Lung
HCG	Testicle, Chorion, Germ cell
CT	Thyroid (C-cell)
TG (thyroglobulin)	Thyroid
PAP (prostate spec. acid phosphatase)	Prostate
NSE	Neuroblast, Small Cell Lung Cancer (SCLC), APUDOMA, melanoma
TK (thymidinkinase)	Lymphoma, leukemia, SCLC

Nádorové markery jsou definovány jako molekuly převážně proteinového charakteru, které jsou přítom-

ny v organismu v důsledku vzniku a vývoje maligního procesu. Jejich výskyt ve tkáni zhoubného nádoru (celulární nádorové markery) a v tělních tekutinách (humorální nádorové markery) souvisí s růstem nádoru v organismu; jsou produkovány buď samotným nádorem (s nádorem asociované antigeny), nebo jinými tkáněmi jako odpověď na maligní proces v organismu (indukované nádorové markery, např. proteiny akutní fáze). Snaze nalézt a vyšetřovat faktory, které by umožnily odhadnout prognózu vývoje onemocnění a predikovat odpověď na terapii onkologických nemocných, byla věnována (vedle studia genetických faktorů) velká pozornost. Většinou se jedná o vyšetřování tkáňových biologických markerů souvisejících s hormonální závislostí nádorů (steroidní receptory), s jejich metastatickým potenciálem (proteinázy), s růstem (růstové faktory a jejich receptory), s proliferací, apoptózou, angiogenezí, immortalitou, genomovou instabilitou (onkogeny, supresorové geny a jejich produkty) a chemorezistencí nádorů.

Přítomnost nádorových markerů v tělních tekutinách je podmíněna přechodem těchto látek z místa syntézy (nádorová tkáň) do cirkulace. Koncentrace nádorových markerů v séru má obvykle přímý vztah k typu a rozsahu onemocnění. Vzhledem k širokému spektru nádorových onemocnění neexistuje dosud univerzální nádorový marker, a ani senzitivita (správný záchyt nemocných) při dostatečné specifitě (správná negativita u lidí bez nádorového onemocnění) nikdy nedosahuje ideálních 100 %. Nezvýšená koncentrace nádorového markeru proto ještě neznamená nepřítomnost maligního onemocnění, a naopak pozitivní výsledek nemusí nutně znamenat zhoubný nádor. Ideální nádorový marker by měl být orgánově specifický, detekovatelný v co nejčasnějším stadiu maligní transformace, měl by korelovat s růstem nádoru, stadiem, prognózou a účinností terapie. Diagnostický práh nádorových markerů, samozřejmě nesrovnatelný s metodikami molekulární biologie s využitím PCR, umožňuje v příznivých případech odhalit nádor o hmotnosti 1 mg, tedy asi 10^6 maligních buněk, zatímco klinická diagnóza bývá určena většinou až u nádoru, který obsahuje asi 10^9 buněk.

Onkofetální antigeny, tj. látky, které mají důležité funkce během vývoje plodu, mají významnou roli v onkologii. Produkce těchto látek se ve zdravých tkáních po narození snižuje až zastavuje, aby při maligním procesu došlo prostřednictvím aktivace určitých genů k obnovení jejich produkce. Některé nádorové markery mají vztah k procesu proliferace, případně k procesům asociovaným s růstem nádoru, které mohou odrážet rovnováhu mezi proliferací, apoptózou, případně degradací ve tkáni primárního nádoru. K nádorovým markerům počítáme rovněž některé enzymy, hormony nebo jiné tkáňové metabolity. Tyto látky (především hormony) mohou vykazovat ektopickou produkci, tj. syntézu ve tkáni, v níž za fyziologického stavu nejsou produkovány.

Diskriminační hranice pro hodnocení zvýšené hladiny nádorových markerů v séru při diagnostice primárního nádorového onemocnění je definována jako koncentrace, pod níž leží většina sérových hodnot zdravých lidí i nemocných s benigním onemocněním. Pro sekundární diagnostiku (při hodnocení možného návra-

tu choroby ve formě lokální progresse či diseminace) je však třeba použít jako vztažnou skupinu nemocné v kompletní remisi. Senzitivita (i cut-off) pak může být pro obě fáze onemocnění odlišná.

Ideální marker by měl mít 100% specifitu při co nejvyšší senzitivě. Vzhledem k tomu, že žádný z dosud známých nádorových markerů této specifity nedosahuje, nastavuje se obvykle diskriminační hranice tak, aby zaručovala 95% specifitu; pro ni se pak uvádí senzitivita. Často je však senzitivita udávána při použití komerčně doporučené diskriminační hladiny (cut-off); v tomto případě není vždy zaručena alespoň 90% specifita. Vztah senzitivity a specifity vyjadřuje ROC-křivka (Receiver Operating Characteristics) – obrázek 1.

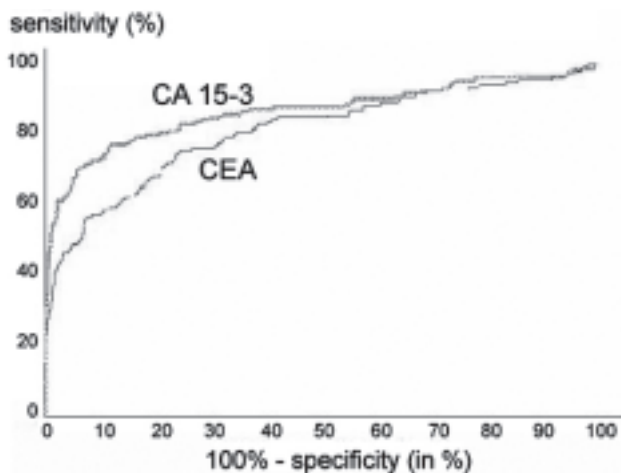


Fig. 1. ROC curve for CEA and CA 15-3 in breast cancer patients

Velké zakřivení křivky (co největší plocha pod křivkou, průběh co nejlépe levé a horní ose) je známkou vhodnosti nádorového markeru pro danou diagnózu. Charakteristiky testu, vyjádřené pomocí senzitivity a specifity, jsou doplněny hodnocením pravděpodobnosti, že při pozitivním testu je vyšetřovaná osoba skutečně nemocná (pozitivní predikční hodnota), popř. že při negativním výsledku je osoba skutečně zdravá (negativní predikční hodnota). Pro aplikaci v klinické praxi platí:

- Screening – vzhledem k poměrně nízké diagnostické senzitivě a specifitě není většina nádorových markerů vhodná k tomuto účelu u asymptomatických vyšetřovaných. Jiná je však situace u symptomatických nemocných nebo u skupin s vysokým rizikem. Jako příklad lze uvést:

- vyšetřování alfa-fetoproteinu (AFP) u nemocných s jaterní cirhózou vzhledem k možnosti vzniku hepatocelulárního karcinomu,
- vyšetřování tkáňového polypeptidového antigenu nebo jeho specifické složky (TPA/S) vzhledem k možnému výskytu karcinomu močového měchýře u profesně rizikových skupin,
- vyšetřování kalcitoninu (CT) v rodinách s familiárním výskytem medulárního karcinomu štítné žlázy,
- vyšetřování AFP a lidského choriového gonadotropinu (hCG) u rizika výskytu nádorů z germinativních buněk,
- sledování paraproteinů vzhledem k možnému vzniku mnohočetného myelomu.

Také u mužů nad 50 let bývá doporučován screening pomocí prostatického specifického antigenu (PSA) vzhledem ke karcinomu prostaty.

- Primární diagnostika – platí podobná pravidla jako pro screening. Markery však mohou být nápomocné při hledání primárního nádoru u prokázaných metastáz nebo v diferenciální diagnostice u pacientů se suspektním zhoubným onemocněním, nejlépe s použitím počítačového programu, který k zadaným výsledkům nádorových markerů a s přihlédnutím k věku a pohlaví pacienta nabídne na základě epidemiologických údajů pravděpodobné diagnózy. Vzhledem ke stagingu platí, že vysoká hodnota nádorového markeru může upozornit na špatně určené nižší stadium choroby. Prognóza nepředstavuje podstatnou roli sérových nádorových markerů. Určitý význam má CEA u kolorektálních karcinomů, AFP a hCG u germinativních tumorů, nebo b2-mikroglobulin (b2M) u mnohočetného myelomu.

- Sledování průběhu choroby je hlavní doménou indikace těchto vyšetření. Analýza hladin nádorových markerů v krvi bývá přínosná pro hodnocení remise, respektive podezření na reziduální nádor. Vzestup hladin nádorových markerů představuje včasné upozornění (často předcházející klinickou diagnózu v průměru o 3–6 měsíců) na návrat choroby (lead time). Je vhodné sledovat kinetiku nádorových markerů a hodnotit výrazné změny i v rámci referenčního rozsahu.

- Sledování efektu terapie nádorovými markery je necenitelným pomocníkem lékaře. Vzhledem k různým biologickým poločasům jednotlivých markerů (tab. 2) je nutno správně volit intervaly odběrů krve k vyšetření

Table 2. Half-time of serum tumor markers

Marker	Half-time	
	Days	Hours
CEA	14	
TPA	7	
CA	15–3	7
AFP	5	
CA	19–9	5
CA	125	4
TG	2.5	
PSA	2	
TK	2	
HCG	1	
fPSA (free PSA)		7
PAP		2
HCG		1
B2M		0.7
SCCA		0.3
PRL (prolactin)		0.3
ACTH		0.2
CT		0.2
TATI (Tum. ass. trypsin inhibitor)		0.1
UGP (urinary gonadotrop.pept.)		0.1

tak, aby se skutečně postihl efekt terapie a ne „lysis fenomén“, tj. krátkodobý prudký nárůst hladiny markeru jako odpověď na terapii. Proto vyšetřujeme nádorové markery pro posouzení úspěšnosti terapie nejdříve

koncem 3. týdne, lépe ve 4. týdnu od aplikace terapie. Tato oblast se v poslední době dostává do centra zájmu onkologů. Obecně lze říci, že pokles hladiny markerů (před terapií zvýšené nejméně na dvojnásobek referenční hodnoty) nejméně o 50 % po 2 měsících terapie je prediktorem dobré léčebné odpovědi.

Pro frekvenci vyšetřování markerů platí kritéria doporučená WHO [8, 9] a podle zkušeností kliniků i statistiků, hodnotících dynamiku změn nádorových markerů ve vztahu ke klinickému průběhu choroby, je třeba tato doporučení dodržovat. Nejčastěji jsou navrhovány tyto intervaly:

- 1 měsíc v prvním roce po primární terapii,
- 2 měsíce ve druhém roce,
- 3 měsíce v dalších letech sledování.

Koncentrace nádorového markeru má být dále vyšetřena: před nasazením terapie, po skončení terapie (podle poločasů markeru, obvykle 3.–4. týden), při změně terapie, dále i při nejasném průběhu nemoci.

Pro stanovení koncentrace nádorových markerů bývají používány metody imunochemické analýzy. Jejich principem je vazba mezi antigenem (představovaným nádorovým markerem) a k němu specifickou protilátkou. Detekci vytvořeného imunochemického komplexu umožňuje značení radionuklidem (radioimunoanalýza, RIA, nebo imunoradiometrické stanovení, IRMA), enzymem (enzymoimunoanalýza, EIA, ELISA), fluorescenčním případně chemiluminiscenčním indikátorem (FIA, CLIA). Někdy mohou být použity i další metody, např. *in vitro* tvorba značeného produktu ze značeného substrátu (radioenzymové stanovení thymidinkinázy). Koncentrace markerů v krvi se pohybuje ve velice nízkých hodnotách (podle typu parametru řádově obvykle v $\mu\text{g/l}$). Protože standardní materiál bývá v různých komerčních soupravách rozdílný podle stupně purifikace (neexistují obvykle WHO standardy), bývá i koncentrace vyjadřována v konvenčních jednotkách (U/l, kU/l atd.).

Výběr optimální metody stanovení je ovlivněn zejména parametry spolehlivosti vlastního metodického postupu (přesnost, správnost, detekční limit, použitelné koncentrační rozmezí, specifická protilátek). Také je třeba vzít v úvahu i další faktory: možnost automatizace, nutné přístrojové vybavení, stabilitu reagentů, možnost co nejjednodušší a nejstabilnější kalibrace (při opakované kalibraci též šarže možnost použít rekaliibraci pouze pro jednu vybranou koncentraci z kalibrační křivky), dobu nutnou k vyšetření a také cenu stanovení. Dlouhodobé sledování vyžaduje nestřídat sety od různých výrobců pro jeden marker. Vnitřní kontrola správnosti vyšetření bývá obvykle založena na sledování 2 hodnot – fyziologické a patologické. Jiným prostředkem ke sledování spolehlivosti metody je stanovení mediánu hodnot souboru nemocných za určité období. Dodržování správné laboratorní práce při vyšetřování nádorových markerů je obzvláště důležité vzhledem ke značné finanční náročnosti vyšetření.

Pro správnou interpretaci změn v hladinách markerů, zejména při dlouhodobém sledování nemocných s nádorovými chorobami, je třeba vyloučit všechny možné rušivé faktory, které by mohly stanovení ovlivnit už v preanalytické fázi. Je známo, že v určitých pří-

padech mohou být výsledky analýzy ovlivněny některými postupy vyšetřování (ale i jinými vlivy); např. pro stanovení PSA smí být odebrána krev nejdříve 48 hodin po rektálním vyšetření prostaty. Kontaminace vzorku při odběru je faktor, který může znehodnotit např. stanovení antigenu skvamózních buněk (SCCA) – kontaminace slinami, potem; neuron-specifická enoláza (NSE) – hemolýzou (oddělení séra od krevních elementů je třeba provést nejpozději do 1 hodiny). Důležitou roli hraje stabilita vzorku. Není-li stanovení provedeno do doby doporučené výrobcem (uložení při $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$), je třeba vzorek zamrazit. Vlastní analýza pak vyžaduje vzhledem k dlouhodobému sledování pacientů vysoký stupeň reprodukovatelnosti.

Při hodnocení vyšetření je třeba zvážit další faktory [10], které by mohly přispět k falešné pozitivitě výsledku. Jsou to především zvýšené hladiny nádorových markerů v důsledku jejich produkce u nemaligních onemocnění, nebo poruch jejich vylučování (zejména při zhoršené funkci jater nebo ledvin). K falešně pozitivním výsledkům mohou přispět i tzv. heterofilní myši protilátky (HAMA), které se mohou v tělních tekutinách objevit, zejména jako důsledek reakce organismu na myší bílkoviny podané např. za účelem diagnostiky nebo terapie.

Pro většinu nádorových markerů je z literatury znám biologický poločas v séru, který je velmi rozdílný, proto je třeba ho při hodnocení změn časového průběhu hladin zvažovat [11, 12].

Jako signifikantní bývají posuzovány změny hladin nádorových markerů:

- a) bez terapie (v klinické remisi) – výrazný nárůst koncentrace ve 3 následných odběrech (i v rámci referenčních hodnot) značí recidivu, respektive progresi;
- b) během terapie – nárůst o více než 25 % značí progresi onemocnění, pokles více než 50 % parciální remisi (kompletní remise však nemůže být hodnocena pouze změnami v hladinách markerů).

Matematicko-statistické postupy jsou využívány u nemocných sledovaných vzhledem k časnému zachycení případného návratu choroby. Jsou schopny na základě výsledků tří předcházejících měření nádorových markerů v doporučených intervalech (ne delších než 3 měsíce) vytvořit prognózu dalšího vývoje hodnot těchto parametrů pro sledovaného nemocného a stanovit u něho pravděpodobnost návratu choroby na dalších 3 měsíce. Podobně na základě vyhodnocení strmosti poklesu hladin sérových markerů, může onkolog velmi rychle získat informaci o účinnosti aplikované terapie, případně o vhodnosti její změny. Jiné programy pomáhají hledat primární nádor při průkazu metastáz neznámého původu na základě vyšetření nádorových markerů, věku a pohlaví nemocného a epidemiologických onkologických údajů. Na podkladě známého klinického stavu u každé hodnoty markeru je možno hodnotit rovněž senzitivitu a specifitu vyšetření [13], případně modifikovat optimální diskriminační hranici pro danou nádorovou lokalizaci. Matematické přístupy jsou také používány v hodnocení prognostických faktorů získaných peroperačně ze tkání (celulární prognostické parametry), např. při statistickém hodnocení křivek pře-

žití (či bezpříznakového přežití) sledovaných nemocných v závislosti na těchto parametrech. Všechny tyto moderní způsoby vyhodnocování předpokládají úzkou spolupráci laboratorních pracovníků s klinickými lékaři, a to nejen formou konzultací laboratorních nálezů, ale i ve smyslu poskytování informací o klinickém stavu vyšetřovaných nemocných.

I když nás rychlý pokrok vědy nutí zajímat se o nejnovější poznatky v oboru laboratorní onkologie, současná realita možností klinického onkologa zůstává zatím pevně oběma nohama na zemi v oblasti již běžně využívaných metod a jen těžko se prosazuje zavádění nových postupů i s vědomím jejich značného přínosu.

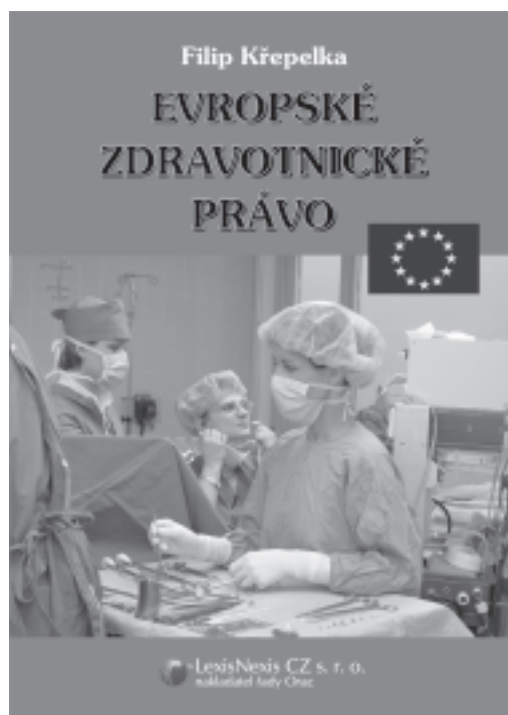
Literatura

1. **Compton, C., Fenoglio-Preiser, C. M., Pettigrew, N. et al.** American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference: Colorectal Working Group. *Cancer*, 2000, 88, 7, p. 1739–1757.
2. **Duffy, M. J., Dalen, A., van, Haglund, C. et al.** Clinical utility of biochemical markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines. *Eur. J. Cancer*, 2003, 39, 6, p. 718–727.
3. **Feinberg, A. P., Ohlsson, R., Henikoff, S.** The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nat. Rev. Genet.*, 2006, 7, 1, p. 21–33.
4. **Kaneda, A., Feinberg, A. P.** Loss of imprinting of IGF2: a common epigenetic modifier of intestinal tumor risk. *Cancer Res.*, 2005, 15, 65, 24, p. 11236–11240.
5. **Bylin, S. B., Ohm, J. E.** Epigenetic gene silencing in cancer – a mechanism for early oncogenic pathway addiction? *Nat. Rev. Cancer*, 2006, 6, 2, p. 107–116.
6. **Nussbaum, R. L. et al.** *Klinická genetika*. 6. vyd., Praha : Triton 2004, 319 s., ISBN 80-7254-475-6.

7. **Michalová, K., Zemanová, Z.** Klasická a molekulární cytogenetika v klinické praxi. *Klin. Biochem. Metab.*, 2005, 13(34), 2, p. 63–67.
8. **Molina, R., Barak, V., van Dalen, A., Duffy, M. J., Einarsson et al.** Tumor markers in breast cancer – Europ. Group on Tumor Markers recommendations. *Tumour Biol.*, 2005, 26, 6, p. 281–293.
9. **Hoffman, B. R., Diamandis, E. P.** Recent advances in cancer biomarkers. *Clin. Biochem.*, 2004, 37, 7, p. 503–504.
10. **Marks, V.** False-positive immunoassay results: a multicenter survey of erroneous immunoassay results from assays of 74 analytes in 10 donors from 66 laboratories in seven countries. *Clin. Chem.*, 2002, 48, 11, p. 2008–2016.
11. **Goldstein, M. J., Mitchell, E. P.** Carcinoembryonic antigen in the staging and follow-up of patients with colorectal cancer. *Cancer Incest.*, 2005, 23, 4, p. 338–351.
12. **Bast, R. C. Jr., Ravdin, P., Hayes, D. F. et al.** 2000 update of recommendations for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J. Clin. Oncol.*, 2001, 19, 6, p. 1865–1878. Erratum in: *J. Clin. Oncol.*, 2001, 19, 21, p. 4185–4188; *J. Clin. Oncol.*, 2002, 20, 8, p. 2213.
13. **Hoefner, D. M.** Serum tumor markers. Part I: Clinical utility. *Med. Lab. Obs.*, 2005, 37, 12, 20, p. 22–24.

Do redakce došlo 18. 5. 2006.

Adresa pro korespondenci:
MUDr. Miroslava Nekulová, CSc.
OLM MOÚ Brno
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: nekulova@mou.cz



Svým obsahem ojedinělá publikace pedagoga PF MU v Brně JUDr. Filipa Křepelky, Ph.D., jejíž význam koresponduje se vstupem ČR do EU, který přináší nemalé právní změny – vedle vnitrostátního práva se začíná uplatňovat nový právní řád nadnárodní. Důležitá je především unifikace norem vývoje, výroby a odbytu léčiv a dalšího zdravotnického materiálu, harmonizace kvalifikace zdravotníků nebo koordinace soustav veřejného financování zdravotní péče o migranty. Kromě právníků zejména zdravotníci, manažeři zdravotnických zařízení či úředníci zdravotnické správy určitě ocení tuto publikaci jako praktickou pomůcku.

A5, 120 stran, 90 Kč

LexisNexis CZ s. r. o.,
Limuzská 2110/8, 100 00 Praha 10
tel.: 274 013 268, fax: 274 013 256
e-mail: obchod@lexisnexus.cz,
www.lexisnexus.cz