

Karcinom prostaty – molekulární podstata, diagnostika a ekonomika prevence

Štern P.¹, Vranovský K.², Šafarčík K.³

¹Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK Praha

²Olympus C&S Praha

³IA laboratoř KNM FN Ostrava

SOUHRN

Karcinom prostaty (CaP) je třetí nejčastější příčinou úmrtí u mužů na zhoubné nádory v ČR a celosvětově představuje každý desátý nádor u mužů.

Aplikace mikroanalytických technologií DNA a proteomiky otevírá možnosti rozlišit pomalu rostoucí a agresivní nádory pomocí molekulárních „otisků“. S využitím nové molekulárně biologické metody byl objeven onkogen, který se vyskytuje u většiny CaP, a objasněn je i mechanismus jeho vzniku translokací promotorové oblasti TMPRSS2 genu do lokusu rodiny transkripčních faktorů ETS. Aktivátor transkripce STAT5 byl identifikován jako důležitý faktor pro přežití buněk CaP. Značný pokrok byl také učiněn ve vysvětlení úlohy epigenetických faktorů pro genezi CaP. Zatím nevýrazné výsledky přineslo hledání lokusů zodpovědných za dědičnou formu tohoto onemocnění. Zvyšuje se význam technik umožňujících detekci a charakterizaci cirkulujících nádorových buněk.

Byla uvedena téměř stovka markerů, které by mohly být použitelné pro diagnostiku CaP. Prostatický sérový antigen (tPSA) a jeho odvozené parametry (měrná hmotnost, poměr koncentrace tPSA a přechodové zóny, růst koncentrace tPSA/rok, věkově specifický interval koncentrací tPSA, index volný PSA/tPSA, doba ke zdvojnásobení koncentrace tPSA) mohou významně přispívat k diferenciaci diagnostice CaP. Průměrné náklady na včasný záchyt CaP v ČR činí asi 8650 Kč na každý zachráněný rok života. Podrobně byly studovány: kallikrein hK2, kallikrein hK11, glutathion-S-transferáza $\pi 1$, prostatický antigen kmenových buněk, prostatický specifický membránový antigen, telomerázová reverzní transkriptáza, jakož i chromogranin A. Sledování markerů CaP v moči se rovněž věnuje značné úsilí a bylo testováno více než 20 různých markerů, ale rozsah studií je dosud malý.

Klíčová slova: karcinom prostaty, biomarkery karcinomu prostaty.

SUMMARY

Štern P., Vranovský K., Šafarčík K.: **Prostatic cancer – molecular basis, diagnostics and economy of prevention**
Prostate cancer (CaP) is the 3rd leading cause of mortality from cancer in the Czech Republic. Every 10th cancer disease worldwide in men is CaP.

Microanalytical DNA technologies and proteomic techniques provide us with new opportunities enabling us to distinguish slowly growing tumors from aggressive ones by means of molecular “prints“. A new oncogene present in most of CaPs was discovered and mechanism of this event was explained, using a new molecular biology method. The oncogene is generated by translocation of promotor region of TMPRSS2 gene to the locus of ETS family of transcription factors. STAT5 transcription activator was identified as a factor critical for CaP cells survival. A considerable progress has been made in explanation of the epigenetic factors role in the CaP genesis. The results of search for the inherited CaP-responsible locus are still not convincing. The significance of techniques for the detection and characterization of circulating tumor cells has increased.

Almost 100 markers potentially usefull for CaP diagnosis have been reported. Serum Prostate Specific Antigen (PSA) and derived parameters (tPSA density, tPSA/transition zone ratio, tPSA velocity, age-specific tPSA levels, free PSA/total PSA index, tPSA doubling time) can significantly contribute to the differential diagnosis of CaP. The average costs for early detection of CaP in CR are 8650 CZK for one year of patient's life. Kallikrein hK2, kallikrein hK11, glutathion-S-transferase $\pi 1$, Stem Cells Prostatic Antigen, Prostate-specific membrane antigen, Telomerase Reverse Transcriptase, and Chromogranin A were studied in details. Considerable effort was put into urine CaP markers monitoring. More than 20 different urine markers have been studied but the populations have been small.

Key words: prostate cancer, prostate cancer biomarkers.

Úvod

Karcinom prostaty (CaP) je jedním z nejčastějších zhoubných nádorů u mužů a třetí nejčastější příčinou úmrtí u mužů na zhoubné nádory v ČR [1]. Počet nových onemocnění CaP má navíc stále rostoucí trend. Incidence se zvýšila z 44,4/100 000 mužů (8,2 % ze všech nádorů) v roce 1995 na 54,4/100 000 (9,2 % ze všech nádorů) v roce 2000. Při pokračujícím trendu a stárnutí populace lze očekávat zvýšení počtu nových případů. Nárůst v prevalenci onemocnění v roce 2000 je 57,3 % ve srovnání s rokem 1995. Novorozenec mužského

pohlaví má asi 16% pravděpodobnost, že se u něj vyskytne CaP, a 3% pravděpodobnost, že na toto onemocnění zemře. Incidence uváděná v západní Evropě v roce 2002 je 61,6/100 000 mužů a celosvětově je každý desátý nádor u mužů CaP, což reprezentuje půl milionu nově diagnostikovaných nádorů ročně [2].

Molekulární podstata karcinomu prostaty

Přenos vlastností charakteristických pro nádorovou buňku na další generace buněk rostoucího nádoru je

podle našich současných znalostí možný pouze dvěma způsoby: *geneticky nebo epigeneticky*. V případě genetické změny můžeme předpokládat dva možné případy. Změna zděděná po rodičích, která se vyskytuje ve všech buňkách jedince (např. polymorfismus spojený se zvýšeným rizikem CaP), nebo somatická genetická změna, která nastala pouze v jedné buňce postiženého orgánu, vede ke vzniku nádoru nebo pre-nádorových buněk. V reálné situaci dochází patrně ke kombinaci všech těchto způsobů přenosu informace, protože genetických a epigenetických změn nutných pro vznik nádorového fenotypu je vždy celá řada a vzájemně se podmiňují a doplňují.

Genetické změny

Pravděpodobně nejdůležitější somatickou změnou vedoucí ke vzniku nádorové buňky je vznik onkogenu z protoonkogenu. Protoonkogeny jsou normální součástí buněčných regulačních kaskád a signál k proliferaci buňky dávají pouze v citlivé závislosti na podněty přicházející z okolí buňky. Jejich mutace však může vést k tomu, že začnou dávat silný, nekontrolovatelný signál vedoucí k proliferaci buňky. Pokud v důsledku dalších mutací selžou i ostatní kontrolní mechanismy (apoptóza, antionkogeny aj.), začne buňka nekontrolovaně proliferovat. Hledání specifického onkogenu, zodpovědného za vznik nádorové buňky, bylo po řadu let v případě karcinomu prostaty neúspěšné. V roce 2005 však byla publikována práce, která by mohla být zásadním průlomem v této problematice [3]. Pomocí nově vyvinuté metody COPA (Cancer Outlier Profile Analysis) bylo zjištěno, že u většiny prostatických nádorů jsou silně exprimovány transkripční faktory ERG nebo ETV1 patřící do rodiny ETS proteinů.

Proteiny patřící do rodiny ETS transkripčních faktorů jsou silně evolučně konzervované (vyskytují se např. také u *Drosophily*). Byly původně objeveny v roce 1983 jako *v-ets* onkogen ve viru ptačí leukémie E26. ETS proteiny regulují geny, které hrají roli v buněčné proliferaci, diferenciaci, hematopoéze, apoptóze, angiogenezi atd. Bylo identifikováno více než 200 cílových genů těchto faktorů, což dobře ilustruje jak rozsah jejich aktivit, tak i důležitost těchto proteinů pro buněčnou regulaci a kancerogenezi.

Tyto onkogeny jsou silně exprimovány v několika nádorových buněčných liniích a v řadě patientských vzorků z lokalizovaných i metastatických prostatických karcinomů. Ukazuje se, že příčinou aktivace těchto onkogenů je translokace promotoru pocházejícího z genu TMPRSS2 (Transmembránová serin-2 proteáza), který obsahuje element regulovaný androgeny. Nejčastěji dochází k deleci proměnlivého úseku DNA mezi TMPRSS2 (lokus 21q22.2) a ERG (lokus 21q22.3) na stejném chromozomu. Typickým produktem fúzního genu jsou různé varianty ERG onkogenu (nebo jen některých exonů ERG), obvykle ve formě fúzního proteinu s částí TMPRSS2. Jsou vysoce exprimované. Obdobně vznikají translokací TMPRSS2 fúzní geny s ETV1 (lokus 7p21.2) nebo vzácněji s ETV4 (lokus 17q21) genu [4] (asi 2 % karcinomů).

TMPRSS2 je jedním z 12 členů rodiny transmembránové serinové proteázy typu II (TTSP). Je exprimována v normální prostatické tkáni a velmi silně exprimována v epitelu prostatického nádoru. Za normálních okolností je to transmembránová molekula. Pokud je aktivována, doména s proteázovou aktivitou je uvolněna z buněčného povrchu do mezibuněčného prostoru, kde aktivuje například PAR-2 (abnormal embryonic Partitioning of cytoplasm) receptor, který hraje důležitou roli při vzniku metastáz. Exprese TMPRSS2 je regulována androgeny. Fakt, že při fúzi s ETS proteiny hraje významnou roli promotor regulovaný androgeny, může být důležitý při hledání mechanismu účinku hormonální terapie u karcinomu prostaty. Naopak změna vlastností fúzního proteinu může být jedním z možných vysvětlení vzniku tumoru nezávislého na hormonech.

Zjištění, že se translokace TMPRSS2 vyskytuje u 70–80 % primárních karcinomů prostaty (podle jiných údajů asi u poloviny prostatických nádorů zjištěných screeningem), ukazuje, že jde o časnou a snad i primární událost v etiologii vzniku karcinomu. Stejná translokace byla objevena nejen u karcinomů, ale i v některých prekurzorových lézích (HGPIIN – high-grade prostatic intraepithelial neoplasia lesion). Zdá se, že v případě prostatické kancerogeneze se jedná o velmi časnou událost, která předchází dalším případným změnám na chromozomální úrovni [5].

Objev tohoto mechanismu vzniku karcinomu prostaty by mohl mít velký vliv na vývoj nové generace markerů (zvláště v kombinaci s technologií analýzy cirkulujících nádorových buněk) i na vývoj nové generace léčiv.

Somatické genetické změny se týkají kromě již výše uvedeného genu také genu GSTP1 a genu PTEN (homolog fosfatázy a tenzinu), který kóduje aktivitu fosfatázy vůči bílkovinám a lipidům. Jeho koncentrace je při rozvinutých CaP často snižena. Jako významný se jeví i gen CDKN1B (p27) kódující na cyklinu závislý kinázový inhibitor, který tlumí nádorové bujení. Ztráta DNA sekvencí 12p12-3 byla popsána u 23 % lokalizovaných CaP a 47 % vzdálených metastáz CaP.

Také onkogen **STAT5** (převodník signálu a aktivátor transkripce) byl identifikován jako důležitý faktor pro přežití buněk CaP [6].

Epigenetické změny

Epigenetické změny jsou definovány jako možné dědičné změny genové exprese při nezměněné DNA sekvenci.

Většina genů, které buňka obsahuje, je v dané chvíli nepoužívaná a je organizovaná ve vysoce kondenzované formě. Skupiny nepoužívaných genů jsou zkroutěny do superšroubovice a navinuty na histony. V přesně určených místech jsou pak upevněny na lešení buněčného jádra. Pokud má být nějaký dosud nepoužívaný gen aktivovaný, musí dojít ke změnám uspořádání, které vedou k rozvolnění dané kličky DNA a tím k uvolnění přístupu molekulám, které regulují a provádějí transkripci [5]. Tyto změny zahrnují mimo jiné změny metylace DNA a také různé modifikace histonů. Oba tyto epigenetické mechanismy často koope-

rují a mění šablonu genové exprese. Po případném rozdělení buňky je pak daný vzor sdílen oběma dceřinými buňkami, a představuje tak formu děděné informace, která není přímo zahrnuta v primárním kódu DNA.

Mechanismus, vedoucí k epigenetickým změnám v nádorové buňce, není doposud plně objasněn a není jasné ani to, zda jsou epigenetické změny následkem nebo příčinou kancerogeneze. Evidentně však hrají v procesu kancerogeneze důležitou roli.

Lokální DNA hypermetylace nebo hypometylace

Metylace cytosinu na 5' uhlíku v tzv. CpG sekvencích DNA jsou katalyzované jednou ze tří DNA-metyltransferáz (DNMT1, DNMT3a nebo DNMT3b). Metylované jsou nejčastěji tzv. CpG ostrovy vyskytující se v 5' oblastech více než poloviny všech genů. Změny v metylaci mohou vést k transkripční inaktivaci nebo aktivaci genů popsané také u mnoha typů nádorů.

V případě karcinomu prostaty je hypermetylace popsaná u více než 30 genů. Mezi nimi jsou geny tumor-supresorů, geny kontrolující buněčný cyklus, geny kontrolující hormonální regulaci, geny řídící opravy poškozené DNA, invazivitu a morfologii nádorových buněk aj.

Snížení transkripce genu pro glutathion-S-transferázu $\pi 1$ (**GSTP1**) je nejběžnější dosud popsanou epigenetickou změnou (> 90 %) pro CaP [7]. PCR metoda specifická pro metylaci dovoluje úspěšně detekovat metylaci GSTP1 v tělních tekutinách (sérum, plazma, moč, ejakulát). GSTP1 chrání DNA před elektrofilními metabolity karcinogenů a reaktivními oxidanty tím, že je konjuguje na glutathion. Při CaP vede snížená exprese uvedeného enzymu často k rozvoji hypermetylace, zatímco u jiných malignit je tento jev pozorován vzácně. Pomocí GSTP1 lze spolehlivě rozlišit intraepiteliální tvorbu nádoru od BHP (při benigní hyperplazii prostaty je vždy negativní), ale spolehlivá pozitivita u CaP je pouze u pacientů s cirkulujícími nádorovými buňkami. V případě lokalizovaného onemocnění CaP je pozitivní nález GSTP1 jen u 36 % pacientů. Nicméně takto lze detekovat 80–90 % adenokarcinomů prostaty. Změna v genové expresi GSTP1 (snížení transkripce) vede ke zdvojnásobení rizika onemocnění v časném stadiu CaP a exprese GSTP1 nezávisí na koncentraci tPSA.

Modifikace histonů

Kovalentní modifikace histonů zahrnují acetylaci, metylaci a fosforylaci, které provádějí specifické chromatin modifikující enzymy. Způsob této modifikace je označován jako „histonový kód“ a slouží jako druhý stupeň epigenetické regulace genové exprese. Acetylace histonů uvolňuje promotorové oblasti genů, a umožňuje tak jejich transkripci; deacetylace naopak transkripci brání.

Modifikace histonů hraje významnou roli ve vzniku a vývoji karcinomu prostaty. Zvláštní význam má EZH2, gen kódující protein s doménou zodpovědnou za metyltransferázovou aktivitu, která je důležitá pro metylaci histonů. Vysoká exprese tohoto genu v případě karcinomu prostaty vede např. k utlumení exprese DAB2IP supresoru tím, že metyluje histon H3-K27 na DAB2IP

promotoru a indukuje jeho deacetylaci. Jiným známým genem, který je kontrolován metylací histonu, je gen pro PSA [8, 9].

Dědičná forma karcinomu prostaty

Familiární forma karcinomu prostaty představuje podle některých zdrojů asi 10–20 % a dědičná forma (HCaP) asi jen 5–10 % všech případů karcinomu prostaty v populaci [10]. Část familiárních výskytů CaP lze totiž vysvětlit rodinnými návyky, stravou, kouřením a vlivem prostředí. Familiární výskyt CaP lze také jen obtížně odlišit od výskytu sporadického, vyvolaného citlivými geny. Riziko onemocnění způsobeného náchylnými geny je podstatně vyšší v kombinaci s účinkem potravy a životního prostředí.

Dědičná forma CaP je pravděpodobně způsobena vzácnými alelami genů, které jsou v současnosti předmětem intenzivního genetického mapování. Uskutečněné i probíhající studie využívají klasické metody genetického mapování a sledují genetickou vazbu hledaných genů u postižených rodin v dané populaci. Mají často obrovský rozsah. Důvodem velkého rozsahu těchto studií je snaha o překonání potíží, které jsou způsobeny tím, že je dědičná forma onemocnění překryta daleko vyšší frekvencí sporadické formy onemocnění, malou velikostí sledovaných rodin, heterogenitou alel atd. Výsledky těchto studií jsou tedy dosud často kontroverzní a nejasné. Nejpravděpodobnějším dosud nalezeným kandidátem je lokus 1q24–25 pojmenovaný HPC1 (hereditary prostate cancer 1). Byl nalezen u velkých rodin v USA a ve Švédsku a jedná se o různě mutovaný gen pro ribonukleázu L (RNASEL). Tento gen byl následně zkoumán několika vědeckými skupinami včetně International Consortium for Prostate Cancer Genetics zahrnující týmy z USA, Austrálie, Finska, Norska, Švédska a Velké Británie.

U některých dalších polymorfních genů také existují alely asociované se zvýšeným rizikem CaP. Androgenní receptor obsahuje úseky polymorfního polyglutamin trinukleotidu (CAG) a zkrácení těchto úseků vede ke zvýšení rizika CaP. Polymorfismus spojený se zvýšeným rizikem CaP se projevuje také u receptoru vitamínu D, zejména u rozvinutých nádorů.

Pokud budou nalezeny alely způsobující dědičnou formu karcinomu prostaty a případné mutace dobře definovány, stane se zřejmě genetický screening dědičné formy karcinomu prostaty realitou [10].

Aplikace mikroanalytických technologií DNA a proteomiky otevírá možnosti sledovat genetické změny v počátku, rozvoji a progresi onemocnění a rozlišit pomalu rostoucí a agresivní nádory pomocí molekulárních „otisků“ [6].

Biochemické markery sledované při CaP

Byla uvedena téměř stovka markerů [11], která by mohla být použitelná pro diagnostiku CaP. Tyto látky mají mnoho biochemických a buněčných funkcí. Řadu z nich tvoří enzymy, např. proteáza, kináza, fosfatáza, reverzní transkriptáza, racemáza, reduktáza, syntáza,

hydroláza, RNáza, ale také bílkoviny řídící propustnost buněčné membrány, transkripční faktor, proteázový inhibitor, cytokin, nebo bílkoviny jaderné matrice, výztuže membrán a další. Pro výběr markeru jsou podstatná klinická data a vědecké poznatky podporující jeho potenciální užitečnost. Marker by měl být stanovitelný robustní a dobře reprodukovatelnou běžně dostupnou metodou v séru, moči nebo seminální tekutině. Významně může pomoci také mikroanalýza tkání. Perspektivní markery jsou velmi rozdílné velikosti: od jednoho z nejmenších enzymů – jaderné cholin/etanolaminové kinázy $M_r = 6\ 000$, jejíž funkce není známa, až po jádro spojené s matricí, které slouží k rozmnožování buněk $M_r = 358\ 000$.

Prostatický sérový antigen (tPSA) je nejvýznamnějším nádorovým markerem pro včasnou detekci CaP a monitorování tohoto onemocnění. tPSA byl objeven v roce 1979. Je produkován epiteliálními buňkami prostaty, které lemují aciny a dukty prostatické tkáně, a je secernován do seminální tekutiny. Na cestě do krevního oběhu musí tPSA překonat významnou bariéru mezi prostatickým lumen a kapilární krví, zahrnující prostatickou bazální membránu, stroma, kapilární bazální membránu a kapilární endoteliální buňku. tPSA je jednořetězový glykoprotein s 237 aminokyselinami o molekulové hmotnosti 33 000. Sacharidová složka je připojena na kyselinu asparagovou v pozici 45 a molekula má 5 disulfidických vazeb. tPSA je neutrální serinová proteáza patřící do skupiny kalikreinů a označuje se také jako hK3. Aktivní místo enzymu je složeno ze 3 aminokyselin (histidinu, kyseliny asparagové a serinu). tPSA je kódován genem uloženým na dlouhém ramínku chromozomu 19. V séru se vyskytuje ve dvou hlavních formách – vázané a volné. tPSA je vázán většinou na chymotrypsin nebo na α -2-makroglobulin. Volný PSA (fPSA) je směsí několika forem PSA. První komerční metoda stanovení celkového tPSA byla popsána v roce 1986.

V klinické praxi je stanovení tPSA snadno dostupným vyšetřením, které vede k detekci klinicky významných karcinomů prostaty nízkého, a tedy potenciálně kurabilního stadia onemocnění. Jeho citlivost výrazně převyšuje ostatní diagnostická vyšetření a tPSA s odvozenými parametry (měrná hmotnost – tPSAD, poměr koncentrace tPSA a přechodové zóny – tPSA-TZ, růst koncentrace tPSA/rok – PSAV, věkově specifické koncentrační intervaly tPSA, index fPSA/tPSA, doba ke zdvojnásobení koncentrace tPSA – tPSADT) může významně přispívat k rozlišení mužů s karcinomem prostaty a jinými onemocněními prostaty. tPSA se vyskytuje především ve spermatu, kde je jeho koncentrace velmi vysoká (0,2–0,5 g/l). Aby se tPSA dostal do krevního oběhu, musí překonat významnou bariéru mezi prostatickým lumen a kapilární krví, zahrnující prostatickou bazální membránu, stroma, kapilární bazální membránu a kapilární endoteliální buňku. Tvorba tPSA je androgenně dependentní a omezená na prostatickou tkáň, i když nízké koncentrace byly rovněž detekovány v některých jiných tkáních [12].

Zvýšenou hladinu celkového PSA v séru můžeme pozorovat nejen u CaP, ale i u jiných onemocnění, např.

při benigní hyperplazii prostaty (BHP), zánětu prostaty, při akutní retenci moči, po některých urologických manipulacích (vyšetření *per rectum*, katetrizace, cystoskopie a transrektální sonografie).

Léčba pacientů s pokročilým CaP je již pouze paliativní a prognóza špatná. Prevence CaP je obtížná a nejslibnější cestou se zdá včasná diagnóza, kterou je možné dosáhnout screeningem mužů od určité věkové hranice. Problémem zůstává standardizace hraniční hladiny tPSA (např. 4 μ g/l).

Je zřejmé, že screening vede k diagnóze zvýšeného počtu CaP nižšího stadia. Schopnost diagnostikovat lokalizovaný CaP (a zároveň vysoký výskyt latentního CaP) vzbuzuje obavy, kolik klinicky nezávažných CaP se může diagnostikovat screeningovým programem. Tyto CaP neohrožují zdraví pacienta v průběhu zbývajících života, takže je není třeba léčit. Z toho vyplývá další úkol pro screeningový program – odlišit klinicky závažné CaP od nezávažných.

Stanovení tPSA v kombinaci s vyšetřením *per rectum* zlepšilo detekci CaP a včasnost diagnózy, nicméně více než 40 % tumorů je odhaleno až v lokálně pokročilém nebo metastatickém stadiu. Hodnota cut-off sérového tPSA byla arbitrárně stanovena na 4 μ g/l. Víme však, že až 20 % pacientů s CaP má hladinu tPSA nižší než 4 μ g/l. Přitom v intervalu koncentrace tPSA 4,0 až 10,0 μ g/l se CaP vyskytuje pouze u 25 % pacientů.

Senzitivita tPSA je ve vztahu k detekci CaP uváděna mezi 68–80 % a specifita mezi 49–90 %.

Poměr hodnoty tPSA (μ g/l) a objemu prostaty (cm^3) označovaný jako tPSAD byl u pacientů s CaP signifikantně vyšší (0,285) oproti nemocným bez nálezu (0,181). Pro rozlišení BHP a CaP je doporučeno rozhraní tPSAD 0,15, které zlepšuje specifitu tPSA až o 50 % [13]. Použití této hranice sice vedlo ke snížení počtu provedených biopsií o více než 50 %, ale současně nebylo detekováno až 50 % CaP. Při posunu hranice tPSAD na 0,1 dochází k redukci počtu biopsií jen o 24 až 42 %, ale není detekováno pouze 20 % CaP.

Poměr tPSA a objemu přechodné zóny (centrální oblast prostaty obkružující močovou trubici, odkud vychází BHP) je označovaný jako tPSA-TZ. Z přechodové zóny vychází pouze 10–15 % CaP. Poměr tPSA-TZ je pro diferenciaci mezi BHP a CaP srovnatelný s indexem fPSA/PSA [12]. Při sledování tPSAD a tPSA-TZ se projevuje poměrně velká variabilita ve výsledcích sonograficky měřeného objemu prostaty a tranzitorní zóny.

Vzestup koncentrace tPSA² – tPSAV se obecně hodnotí jako součet:

$$1/2 \times [(tPSA_2 - tPSA_1)/t_1] + 1/2 \times [(tPSA_3 - tPSA_2)/t_2]$$

kde $tPSA_1$ je hodnota sérové hladiny tPSA z prvního stanovení, $tPSA_2$ z druhého stanovení, $tPSA_3$ ze třetího stanovení; t_1 je čas mezi prvním a druhým stanovením tPSA v letech a t_2 je čas mezi druhým a třetím stanovením [13]. tPSAV je vyšší u mužů s CaP ve srovnání s muži bez nálezu již 5 let před stanovením diagnózy CaP. tPSAV je u zdravých jedinců 0,04 μ g/l/rok, u pacientů s BHP 0,07–0,27 μ g/l/rok a u pacientů s CaP 0,75 μ g/l/rok a vyšší, a to v závislosti na agresivitě tumoru (senzitivita 72%, specifita 95%); 70 % mužů s diagnostikovaným CaP mělo hodnotu tPSAV vyšší

než 0,75 µg/l/rok a pouze 5 % mužů s takovou hodnotou tPSAV nemělo CaP [12]. Hlavní využití tPSAV spočívá v možnosti detekce karcinomu prostaty při hladině tPSA menší než 4,0 µg/l, ve zlepšení indikačních kritérií pro opakované biopsie prostaty při tPSA vyšším než 4 µg/l a při monitorování výsledků radikální léčby CaP.

Čas, během kterého dojde ke zdvojnásobení koncentrace tPSA-tPSADT, je ve srovnání s tPSAV nezávislý na původní hodnotě tPSA. Hodnota tPSADT umožňuje rozlišit lokální recidivu od metastatického postižení pacientů po radikální prostatektomii, modifikovat léčbu a zpřesnit předpověď předpokládané délky života. Například při metastatickém postižení pacientů po radikální prostatektomii byl tPSADT 4,3 měsíce, avšak při lokální recidivě 11,7 měsíců [13].

V případě benigního onemocnění je v séru vyšší podíl fPSA. Důvodem by mohla být existence různých izoform enzymu. Izoelektrický bod molekul tPSA nemocných s BHP leží v oblasti pH výrazně nižším než u nemocných s CaP, což by mohlo být způsobeno různým glykosylačním procesem tPSA v dysplastických a maligních buňkách s rozdílnou vazbou tPSA na α -1-antichymotrypsin, respektive α -2-makroglobulin [12]. Index volný/celkový tPSA je u pacientů s CaP signifikantně nižší než u pacientů s BHP. Stanovení fPSA při koncentracích tPSA mezi 2,5–10 µg/l sníží procento biopsií prostaty o 38 %, přičemž je stále ještě zachyceno 90 % všech CaP, je-li cut-off do 20 % fPSA [12, 13]. Když se index zvýší na 25 % pro pacienty s koncentrací tPSA mezi 4,0–10,0 µg/l a benigním palpačním nálezem na prostatě (bez ohledu na velikost prostaty a věk), zachytí se 95 % případů s CaP a zamezí provedení 20 % zbytečných biopsií [13]. Analýza užitečnosti nákladů: jestliže uvažujeme 95% senzitivitu, což je klinicky akceptovatelné, pak je specifická (diagnostická výťažnost) pro poměr f/tPSA a cPSA (komplex tPSA s α ₁-antichymotrypsinem) shodná, avšak v intervalu 4–10 µg/l tPSA podstatně lepší (18%) než v rozmezí tPSA 2–4 µg/l (6%) [14]. Obtěžovat pacienta s pomalu rostoucím nádorem biopsií není přínosné, ale je třeba sledovat f/tPSA. Pacient s nízkým fPSA má až 10násobně vyšší pravděpodobnost CaP do 8 let, i když je tPSA pod 3 µg/l.

Celkový přírůstek tPSA v celoplošné mužské populaci byl stanoven na 3,2 % za rok, respektive 0,04 µg/l/rok. Oesterling pro muže ve věku 40–49 let navrhl cut-off koncentrace tPSA 2,5 µg/l, v 50–59 letech 3,5 µg/l, v 60–69 letech 4,5 µg/l a v 70 letech 6,5 µg/l při 95% specifitě. Anderson při 95% hladině významnosti uvádí v nižších dekádách přísnější kritéria cut-off koncentrace tPSA: 40–49 let do 1,5 µg/l, 50–59 let do 2,5 µg/l, 60–69 let do 4,5 µg/l a 70–79 let do 7,5 µg/l. Zvýšila se tím výrazně senzitivita testu, především v kategorii mezi 40.–50. rokem věku.

EBM studie 61 publikací [14] uvádí, že z 12 582 mužů, kteří měli tPSA v rozmezí 4–10 µg/l, mělo 33 % CaP, nicméně i mezi 3 191 muži s tPSA 2–4 µg/l bylo 23 % s CaP.

Screening CaP je stále podceňován, ačkoliv např. pravděpodobnost karcinomu prsu u pozitivního nálezu

při mamografii v 50 letech je 17%, ale pravděpodobnost CaP ve stejném věku při tPSA větším než 4 µg/l je 25% [15]. Méně mužů umírá na CaP, je-li onemocnění diagnostikováno časněji a léčeno ve více kurabilním stadiu. Ve Spojených státech dnes umírá o 25 % méně mužů na CaP než umírá žen na karcinom prsu. V zemích, kde tomu tak není, např. ve Švédsku (ale i v ČR) mortalita na CaP stále narůstá přibližně o 2 % ročně. Ve Švédsku umírá na CaP o 50 % mužů více než umírá žen na karcinom prsu. Přesvědčivým příkladem jsou údaje z Tyrolska. V tomto regionu byl zaveden bezplatný screening CaP s radikální léčbou diagnostikovaných karcinomů a úmrtnost na CaP zde v letech 1993–1998 poklesla o 42 % ve srovnání s ostatními oblastmi Rakouska.

Studie sledující délku přežití po diagnóze CaP mohou být ve vysokých věkových kategoriích zkresleny interferencemi s dalšími nemocemi. Nicméně i v ČR existuje zajímavá finanční rozvaha o užitečnosti screeningu CaP ve věkových kategoriích 50–59 let a 60–69 let, provedená na základě demografických údajů z roku 2003 [16].

Finanční rozvaha

Pro muže ve věku 50–59 let (777 910) – na 100 000 mužů zachyceno: 116 z cca 170 CaP s průměrným prodloužením života o 6–7 let. Při celkových nákladech 18,4 milionů Kč vycházejí náklady na každý zachráněný rok života 24 530 Kč.

Pro muže ve věku 60–69 let (479 529) – na 100 000 mužů zachyceno: 341 z cca 500 CaP s průměrným prodloužením života o 6–7 let. Při celkových nákladech: - 300 tisíc Kč (tj. úspora) vycházejí náklady na každý zachráněný rok života cca - 136 Kč (úspora).

Jestliže se obě kohorty sečtou, jsou náklady vynaložené na screeningový program včasného zachytu CaP 8650 Kč na každý zachráněný rok života.

Další biomarkery

Nejznámější marker tPSA patří do rodiny tkáňových kalikreinů (má označení hK3 – *human kallikrein*), což vedlo ke studiu dalších kalikreinů. Tyto jsou lokalizované na chromozomu 19q13.4 a zakódované pomocí 15 strukturálně podobných, hormony regulovaných genů, tj. největším seskupením sousedících proteázových genů v celém genomu [17]. Název **kalikrein** byl zaveden podle řeckého označení pro pankreas, kde byl poprvé nalezen hK1. Kalikreiny jsou jednořetězcové serinové proteázy (pravděpodobně všechny jsou glykoproteiny) a jejich translace probíhá ve formě preproenzymů s M_r 23 000–26 000. V prostatě probíhá na úrovni mRNA téměř výhradně exprese genů pro kalikreiny: hK2, hK3, hK4, hK11 a hK15. Imunohistochemicky bylo prokázáno, že kalikreiny hK3, hK4 a hK11 jsou lokalizovány převážně v cytoplasmě žlázového epitelu, odkud jsou pravděpodobně vylučovány. Regulace transkripce je prokázána u hK2 a hK3 jako odezva na androgeny a progestiny v prostatě a pro hK4 na androgeny v prostatě.

Kalikrein **hK2** lze použít pro diferenciální diagnostiku mezi CaP a BHP a také pro rozlišení mezi orgá-

nově specifickým a nespecifickým onemocněním. Sekvence aminokyselin je u hK2 z 80 % homologická s tPSA.

Koncentrace hK2 je v séru 100krát nižší než u tPSA, přičemž se ale významně větší podíl hK2 (81–96 %) nachází ve volné formě a pouze zbytek je vázaný na bílkoviny. Specifická hK2/fPSA > f/t tPSA.

Kalikrein **hK11** je zvýšený u 60 % mužů s CaP. Koncentrace hK11 i poměr hK11/tPSA jsou významně nižší u pacientů s CaP než u pacientů s BHP. Protože poměr hK11/tPSA má senzitivitu 90%, bylo by možné se vyhnout přibližně 50 % zbytečných biopsií, pokud jsou prováděny při podílu fPSA < 20 %. Také je známo, že snížená koncentrace hK3 ve tkáni prostaty je spojena s agresivnější formou nádoru. Naproti tomu zvýšené koncentrace hK5 a hK11 indikují příznivou prognózu CaP. Kallikreiny jako sekreční proteiny jsou přítomny nejen v séru, ale také v seminální plazmě a mateřském mléce.

Prostatický antigen kmenových buněk (**PSCA**) je na povrch buněk připojen glykosylfosfatidylinositolovou kotvou [18], patří do rodiny povrchových buněčných antigenů typu Ly-6/Thy-1 a jeho gen je lokalizován na chromozomu 8q24.2. Jeho název je odvozen od toho, že je z 30 % homologický s antigenem kmenových buněk typu 2. PSCA sestává ze 123 aminokyselin a uplatňuje se při dělení buněk a signální transdukcii. PSCA vzniká převážně v prostatě a jeho zvýšená exprese byla zjištěna u 48–94 % CaP včetně těch, které jsou nezávislé na androgenech. PSCA lze detekovat v prostatické tkáni, ale také v periferní krvi. PSCA je uvolňován zvláště intenzivně po vzniku metastáz. Dosud není prokázáno, že by stanovení PSCA poskytlo další informaci k výsledku tPSA. Nadměrná exprese PSCA byla kromě CaP pozorována také u karcinomu pankreatu a karcinomu přechodných buněk. Protilátky proti PSCA se mohou použít při imunoterapii rozvinutých a metastazujících nádorů prostaty, ale je třeba zvážit také jejich toxicitu.

Prostatický specifický membránový antigen (**PSMA**) je transmembránový glykoprotein typu II ($M_r \sim 100\,000$) na povrchu buněk epitelu prostaty [19], který je vysoce specifický pro prostatu. PSMA je vázaný na membránu, proto se předpokládá jeho detekce v séru existencí cirkulujících prostatických buněk. Koncentrace PSMA je při CaP větší než při BPH; senzitivita testu je v intervalu 39–91 % a specifická testu 60–96 %. PSMA může odhalovat primární nádor i metastázy a může být cílem terapeutických agens jako jsou cytotoxiny nebo radionuklidy. PSMA má celou řadu synonym, podle toho, kde se uplatňuje. V centrálním nervovém systému metabolizuje mozkový transmitter N-acetyl-aspartyl-glutamát, z čehož je odvozen název NAALADáza (*N-acetylated- γ -linked-acidic dipeptidase*), v proximální části tenkého střeva odstraňuje γ -glutamát z poly- γ -glutamylového folátu (odtud folát hydroláza FOLH1 a glutamát karboxypeptidáza II GCPII). Expresa PSMA je nepřímo úměrná koncentraci androgenů. Zvýšená exprese PSMA při adenokarcinomu prostaty může ukazovat na jeho úlohu při štěpení signálních molekul ovlivňujících udržování struktury a funkce této žlázy. PSMA

jako peptidáza by mohla také aktivovat signální kaskádu ovlivňující přežití, množení a migraci buněk.

Telomerázová reverzní transkriptáza (**TERT**) nevykazuje většinou aktivitu v benigní tkáni, ale u CaP je prokázána v 63–94 % případů [11], nezávisle na koncentraci tPSA. TERT má schopnost vyvolávat nesmrtelnost buněk. Nevýhodou TERT je to, že není specifická pro prostatu. Telomerázová aktivita byla prokázána u 90 % lidských nádorových buněk [20]. Její vymizení je chápáno jako přirozená obrana organismu a není známo, co vyvolává její opětné objevení v nádorových buňkách. Inhibitory TERT by mohly působit jako cancerostatika. Telomerázová aktivita může být regulována prostřednictvím estrogenových receptorů, a to modulací jejich funkce pomocí receptorových antagonistů.

Chromogranin A (**GRN-A**) je prohormon nacházející se ve většině endokrinních a neuroendokrinních buněk. Jeho koncentrace koreluje s rozvojem nádoru a identifikuje CaP nezávislý na androgenech [21]. Koncentrace GRN-A může být zvýšená dokonce i když je tPSA v normálním rozmezí. Výsledky GRN-A tedy doplňují diagnostické údaje získané vyšetřením tPSA. Vzájemná korelace mezi koncentracemi GRN-A a tPSA nebyla nalezena ani u lokalizovaných nádorů CaP, ani v případě rozvoje metastáz. Se změnami GRN-A však koreluje hladina neuron-specifické enolázy, dalšího neuroendokrinního tkáňového markeru. GRN-A jako indikátor neuroendokrinní diferenciace predikuje nedostačnou odezvu tumoru na hormonální terapii, tedy špatnou prognózu, a jeho koncentrace dobře koreluje s rozvojem nádoru v endokrinních buňkách, zejména při vzdálených metastázách. Nedostatkem tohoto markeru je, že CaP nemusí obsahovat endokrinní buňky, zejména v raném stadiu, a GRN-A v tomto období není schopen prokázat CaP. GRN-A je nevhodný pro rozlišení BPH a raného stadia CaP a nemá spolehlivou odezvu při opakování CaP po prostatektomii nebo radioterapii.

Růstové faktory jsou důležité pro normální vývoj a růst prostaty, ale nevhodná exprese jednotlivých členů této rodiny vede k progresi CaP. Dlouhodobá expozice **IL-6** na buňky CaP usnadňuje růst nádoru [6]. Receptor hepatocytového růstového faktoru (**c-met**) je protoonkogenní bílkovina, která byla zjištěna u velkého počtu CaP, a bylo prokázáno, že c-met zvyšuje invazivní potenciál buněk CaP.

Geny kódující bílkoviny, které ovlivňují agresivitu nádorových buněk a tvorbu metastáz, jsou předmětem studia pro klinické aplikace. Především se jedná o snížení adheze nádorových buněk ke zdravé tkáni. V normálních buňkách epitelu prostaty se vyskytují **integriny** [6], ale při většině CaP se nevyskytují. Podobně je tomu u cytoadhezivních molekul **C-CAM** patřících k imunoglobulinům. Metastatické supresorové geny se neuplatňují u primárního nádoru, ale pouze u metastáz, např. gen **CD44**, jehož exprese je nepřímo úměrná rozvoji metastáz, je produkován aktivovanými paměťovými a efektorovými lymfocyty.

Prostatický izoenzym kyselý fosfatázy (**PACP**) je obsolentní diagnostický marker CaP, ale může být použit jako léčivo při CaP. Je známo, že při CaP se ak-

tivita PACP v krvi zvyšuje, ale v nádorových buňkách se významně snižuje. Buněčný PACP je neutrální enzym defosforylující HER-2 ve fosfotyrosinových zbytcích [22]. Tím snižuje aktivitu HER-2 a dochází k poklesu tumorogenicity. Naopak nedostatek buněčného PACP umožňuje hyperfosforylaci HER-2, čímž se aktivují extracelulární kinázy regulující signál (ERK) a proteinové kinázy aktivující mitogeny (MAPK), takže dochází k růstu buněk CaP, nereagujících na androgeny.

Sledování markerů CaP v moči se rovněž věnuje značné úsilí [23], zejména při návrhu screeningových testů. Bylo testováno více než 20 různých markerů, ale rozsah studií je dosud malý a často se jedná o obtížně stanovitelné látky. Markery pro stanovení jsou nukleové kyseliny DNA, respektive RNA nebo proteiny. V moči mohou být sledovány už dříve uváděné markery GSTP1, respektive TERT. Z bílkovin byly v moči při CaP prokázány MCM-5 (minichromosome maintenance complex component 5), fibronektin, argininamidáza, transferin, fPSA a další. Přestože je uváděná specifita velmi vysoká a někdy dosahuje i 100 % (např. pro GSTP1), je senzitivita tohoto markeru nízká (36%). Celkově nejlepší výsledky byly zaznamenány pro MCM-5 protein, a to senzitivita 92% a specifita 82%. Ovšem studie obsahovala pouze 12 pacientů s CaP. Další rozšíření analýz v moči předpokládá rozvoj molekulárně biologických metod a detekci pomocí hmotnostní spektrometrie.

Cirkulující nádorové buňky

Rozsev buněk karcinomu prostaty do sekundárních tkání je proces, který předchází vzniku metastáz a předpokládá cestování nádorových buněk žilním systémem. V případě karcinomu prostaty dochází po provedení radikální prostatektomie k rekurenci nádoru ve formě metastáz ve 20–30 % případů [24]. Ke zvýšení hladiny PSA, která jako první rekurenci signalizuje, může v některých případech dojít až deset nebo patnáct let po operaci, a navíc zde často ještě dochází ke zpoždění výskytu metastáz po zvýšení hladiny PSA. Podle provedených studií stoupá pravděpodobnost rekurence nádoru stále s dobou po operaci. To vše ukazuje na existenci spících buněk karcinomu v periferních tkáních – v případě karcinomu prostaty téměř vždy v kostech. Podle některých údajů se tyto buňky do kostí dostávají už od časných stadií vzniku karcinomu [24].

Cirkulující nádorové buňky by mohly mít velký význam pro diagnostiku i léčbu karcinomu prostaty. Zpočátku se většina vědeckých a klinických týmů soustřeďovala na detekci a kvantifikaci nádorových buněk (v případě karcinomu prostaty epiteliálních) v cirkulaci nebo v periferních tkáních. Podle některých studií má počet cirkulujících buněk význam pro prognózu pacienta a dnes už existuje několik účinných metod pro jejich stanovení (např. RT-PCR detekce mRNA pro PSA).

Větší možnosti však slibuje izolace jednotlivých cirkulujících nádorových buněk a jejich podrobná analýza. Během izolace dochází k postupné koncentraci nádorových buněk vzhledem k ostatním buňkám v krevním oběhu. Tato koncentrace probíhá v několika krocích, které obvykle zahrnují centrifugaci v gradientu

a pozitivní či negativní záchyt buněk na magnetických mikročasticích pokrytých protilátkami proti povrchovým buněčným antigenům. V případě karcinomu prostaty jsou pro pozitivní záchyt využívány obvykle protilátky proti cytokeratinům, protože se jedná o epiteliální buňky. Stejně markery mohou být využity i pro vizualizaci jednotlivých buněk. Mikromanipulačním pipetovacím systémem mohou pak být vizualizované nádorové buňky odděleny od ostatních a podrobně charakterizovány [24].

Závěr

Naše práce podává souhrn názorů na vznik karcinomu prostaty, jeho preventivní diagnostiku a ekonomické dopady screeningu. Protože počet citací je regulami časopisu omezen, zvolili jsme možnost tzv. superreview. Většina uvedených odkazů jsou review s četností více než 100 odkazů. Takže čtenář má nepřímo k dispozici více než tisíc citací a může se dostat ke všem pramenům, které byly v této oblasti v poslední době vědeckým přínosem.

Literatura

1. **Mañas, O.** Onemocnění prostaty – epidemiologie. Dostupný na [www: <http://www.preventio.cz/pdf/abstrakta.pdf>](http://www.preventio.cz/pdf/abstrakta.pdf)
2. **Delongchamps, N. B., Singh, A., Haas, G. P.** The Role of Prevalence in the Diagnosis of Prostate Cancer. *Cancer Control*, 2007, 13, p. 158–168.
3. **Tomlins, S. A., Rhodes, D. R., Perner, S. et al.** Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science*, 2005, 310, p. 644–648.
4. **Tomlins, S. A., Mehra, R., Rhodes, D. R., Smith, L. R. et al.** TMPRSS2:ETV4 Gene fusions define a third molecular subtype of prostate cancer. *Cancer Res.*, 2006, 66, p. 3396–3400.
5. **Cerveira, N., Ribeiro, F. R., Peixoto, A. et al.** TMPRSS2-ERG gene fusion Causing ERG overexpression precedes chromosome copy number changes in prostate carcinomas and paired HGPIN lesions. *Neoplasia*, 2006, 8, p. 826–832.
6. **Hughes, C., Murphy, A., Martin, C., Sheils, O., O'Leary, J.** Molecular pathology of prostate cancer. *J. Clin. Pathol.*, 2005, 58, p. 673–684.
7. **Henrique, R., Jeronimo, C.** Molecular detection of prostate cancer: a role for GSTP1 hypermethylation. *Eur. Urol.*, 2004, 46, p. 660–669.
8. **Nelson, W. G., Yegnasubramanian, S., Agoston, A. T. et al.** Abnormal DNA methylation, epigenetics, and prostate cancer. *Front. Biosci.*, 2007, 12, p. 4254–4266.
9. **Li, L. CH., Dyhiya, R.** Epigenetics of prostate cancer. *Front. Biosci.*, 2007, 12, p. 3377–3397.
10. **Langeberg, W. J., Isaacs, W. B., Stanford, J. L.** Genetic etiology of hereditary prostate cancer. *Front. Biosci.*, 2007, 12, p. 4101–4110.
11. **Tricoli, J. V., Schoenfeldt, M., Conley, B. A.** Detection of prostate cancer and predicting progression: current and future diagnostic markers. *Clin. Cancer Res.* 2004, 10, p. 3943–3953.
12. **Lukeš, M., Záleský, M., Zchoval, R., Urban, M., Heráček, J.** Prostatický specifický antigen a karcinom prostaty. *Klinická onkologie*, 2001, 14, s. 114–119.

13. **Peší, M., Zámečník, L., Soukup, V., Dvořáček, J.** Prostatický specifický antigen a odvozené parametry. *Urologie pro praxi*, 2004, 2, s. 59–63.
14. **Roddam, A. W., Duffy, M. J., Hamdy, F. C. et al.** Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a tPSA level of 2-10 ng/ml: systematic review and meta-analysis. *Eur. Urol.*, 2005, 48, p. 386–399.
15. **Pacík, D.** Časný záchyt karcinomu prostaty u informovaného muže. Diagnostika a léčba benigní hyperplazie prostaty. Komentáře. Dostupný na [www: <http://www.preventio.cz/komentare.htm#pacik#pacik>](http://www.preventio.cz/komentare.htm#pacik#pacik)
16. **Pecen, L., Topolčan, O., Šafarčík, K.** Možné ekonomické dopady projektu časný záchyt karcinomu prostaty. Dostupný na [www: <http://www.preventio.cz/farmakoekonomicka_studie.htm>](http://www.preventio.cz/farmakoekonomicka_studie.htm)
17. **Borgozo, A., Iacovos, P. M., Diamandis, P.** Human tissue kallikreins: physiological roles and applications in cancer. *Mol. Cancer Res.*, 2004, 2, p. 257–280.
18. **Jalkut, M. W., Reiter, R. E.** Role of prostate stem cell antigen in prostate cancer research. *Curr. Opin. Urol.*, 2002, 12, p. 401–406.
19. **Ghosh, A., Heston, W. D. W.** Tumor target prostate specific membrane antigen (PSMA) and its regulation in prostate cancer. *J. Cell. Biol.*, 2004, 91, p. 528–539.
20. **Ahmed, A., Tollefsbol, T.** Telomeres, telomerase, and telomerase inhibition: clinical implications for cancer. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 2003, 51, p. 116–122.
21. **Stenman, U. H., Abrahamsson, P. A., Aus, G. et al.** Prognostic value of serum markers for prostate cancer. *Scand. J. Urol. Nephrol. Suppl.*, 2005, 216, p. 64–81.
22. **Veeramani, S., Yuan, T. Ch., Chen, S. J. et al.** Cellular prostatic acid phosphatase: a protein tyrosine phosphatase involved in androgen-independent proliferation of prostate cancer. *Endocr. Relat. Cancer*, 2005, 12, p. 805–822.
23. **Müller, H., Brenner, H.** Urine markers as possible tools for prostate cancer screening: review of performance characteristics and practicality. *Clin. Chem.*, 2006, 52, 4, p. 562–573.
24. **Morgan, T. M., Lange, P. H., Vessella, R. L.** Detection and characterization of circulating and disseminated prostate cancer cells. *Front. Biosci.*, 2007, 12, p. 3000–3009.

Do redakce došlo 5. 10. 2007.

Adresa pro korespondenci:
Doc. RNDr. Petr Štern, CSc.
ÚKB LD VFN a 1. LF UK, FP
Karlovo nám. 32
128 08 Praha 2
e-mail: petr.stern@vfn.cz