

Kostní markery u nemocných s karcinomem prsu – C-Telopeptid kolagenu typu I (ICTP) jako marker monitorování kostních metastáz a efektu terapie bisfosfonáty

Nekulová M.¹, Dubská L.¹, Petráková K.¹, Šimíčková M.¹, Brančíková D.², Pecen L.³, Pilný R.¹, Valík D.¹

¹Masarykův onkologický ústav, Brno

²Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno

³UIVT, AV ČR, Praha

SOUHRN

Cíl studie: U 60 nemocných s karcinomem prsu jsme vyšetřovali sérové hladiny markeru novotvorby kostí, prokolagen typu 1 N-terminální propeptidu (P1NP) a markerů kostní resorpce, β -CrossLaps (β -CTX) a C-Telopeptid kolagenu typu I (ICTP). U 44 nemocných byly přítomny kostní metastázy a byly léčeny bisfosfonáty, 16 nemocných bylo bez přítomnosti metastatického procesu. Cílem studie bylo vyhodnotit senzitivitu a specifitu vzhledem k přítomnosti kostních metastáz a efektu terapie bisfosfonáty.

Metody: Sérové hladiny kostních markerů β -CrossLaps (CTX) a P1NP jsme stanovovali na analyzátoru Elecsys 2010 (Roche), ICTP byl stanovován manuální EIA metodou (Orion – Diagnostica). Nemocným s prokázanými kostními metastázami (n = 44) byla aplikována terapie bisfosfonáty (Zoledronat 4 mg/28 dní). Analýza kostních markerů byla prováděna před zahájením terapie a 14., 28. a 56. den terapie.

Výsledky: Nejvyšší validitu vyšetření pro detekci kostních metastáz karcinomu prsu a reakci na terapii jsme prokázali pro ICTP (specifita 89,5% a senzitivita 79,5%).

Závěr: Z dosažených výsledků se ICTP jeví jako specifický marker kostní remodelace a představuje citlivou a snadnou metodu detekce kostních metastáz i monitorování efektu jejich terapie.

Klíčová slova: ICTP, P1NP, β -CTX, kostní markery, karcinom prsu, efekt léčby, bisfosfonáty.

SUMMARY

Nekulová M., Dubská L., Petráková K., Šimíčková M., Brančíková D., Pecen L., Pilný R., Valík D.: Bone markers in breast cancer patients: C-telopeptide of Type I collagen (ICTP) as a marker to monitor bone metastasis and outcome of bisphosphonate therapy

Objective: Biochemical markers of bone formation such as procollagen of type 1 N-terminal propeptide (P1NP) and bone resorption such as beta-CrossLaps (β -CTX) and cross linked c-telopeptide of type I collagen (ICTP) are considered possible non-invasive markers of bone metastases. Our objective was to determine validity of bone markers in the detection of bone metastases and in response to bisphosphonate therapy.

Methods: We investigated 60 patients with breast carcinoma: 16 without bone metastases and 44 with metastases treated with Zoledronat 4 mg/28 days. Serum concentrations of β -CTX and P1NP were measured using immunoanalyser Elecsys 2010 (Roche) and ICTP by manual competitive immunoassay (Orion Diagnostica). Determinations of bone markers were performed prior to bisphosphonate therapy and after 2 weeks, 1 month and 2 months during therapy.

Results: ICTP proved to have the highest diagnostic validity in detection of bone metastases reaching (specificity 89,5% and sensitivity 79,5%).

Conclusion: ICTP is a highly specific marker of bone degradation useful in diagnosis of bone metastases and monitoring of therapeutical effect of bisphosphonate.

Key words: ICTP, P1NP, β -CTX, bone markers, breast cancer, therapy monitoring, bisphosphonates.

Úvod

Kostní metastázy bývají častou komplikací nemocných se zhoubnými nádory, nejčastěji s karcinomem prsu, prostaty, plic, ale i s jinými malignitami (zejména s adenokarcinomem ledviny, karcinomem močového měchýře, karcinomem štítné žlázy, maligním melanomem a vzácněji s jinými nádory). Samostatnou problematiku představuje mnohočetný myelom [22, 23].

Při vzniku metastáz se uplatňuje interakce cytokinů IL-1, IL-6, TNF, TGF a osteoprotegerinu, což vede k aktivaci osteoklastů a k resorpci kosti [10]. Diagnóza kostních metastáz se opírá o zobrazovací metody (RTG kostí, scintigrafie, CT – počítačová tomografie, MR

– magnetická rezonance) a o biochemická vyšetření (degradační produkty kolagenu, stanovení izoenzymu nebo celkové aktivity alkalické fosfatázy – ALP, stanovení koncentrace kalcia [10]). I když laboratorní patologie a pozitivní scintigrafie vedou k vážnému podezření, k definitivnímu potvrzení existence kostních metastáz bývá nutná pozitivita RTG či CT. Nejčastějším klinickým symptomem kostních metastáz je bolest vznikající při destrukci trabekulární struktury kostí, dále příznaky hyperkalcémie, které jsou zpočátku nenápadné (anorexie, polyurie), později se objevuje zácpa, dehydratace, emoční labilita. Neléčené kostní metastázy mají špatnou prognózu, dochází k patologickým frakturám a krátkému přežití nemocných [23]. Jejich včasnou diagnostikou a poskytnutím terapie

lze zlepšit kvalitu života nemocných. Léčba kostních metastáz je multimodální. Může se uplatnit chirurgická léčba, radioterapie i systémová léčba (chemoterapie, hormonální léčba, bisfosfonáty). Zvláště vhodné jsou bisfosfonáty, protože tlumí nejen bolest, ale efektivně snižují hyperkalcémii tlumivým účinkem na aktivitu osteoklastů [6].

Biochemická vyšetření kostních markerů osteoresorpce i novotvorby představují důležitou pomoc pro lékaře nejen v diagnostice, ale zejména ve sledování efektu terapie. Kostní markery se dnes spíše stanovují v krvi než v moči, kde se tolik neuplatňují vlivy cirkadiánní variability a dietního režimu. Kostní marker vhodný pro procesy kostní resorpce bývá doplňován současně vyšetřovaným markerem novotvorby kosti, protože oba procesy většinou probíhají současně a většina kostních metastáz je smíšených [12].

C-Telopeptid kolagenu typu I (ICTP) je koncová, nehelikální část kolagenu typu I. Jedná se o části peptidových řetězců, spojených pomocí vazeb (cross-links). Používá se pro posouzení stupně resorpce kosti [21]. Existují dvě různé cesty kostní resorpce. První je zprostředkovaná katepsinem K a uplatňuje se během fyziologické resorpce kosti. Druhá je zprostředkovaná matrix metaloproteinázou 9 (MMP9) a aktivuje se převážně v patologických situacích, které specificky reflektuje ICTP [11].

Kromě tohoto markeru jsme vyšetřovali další marker osteoresorpce (β -CTX) a marker novotvorby kosti P1NP.

Soubor pacientů a metody

U 60 žen (věk 34–79 roků) s diagnózou karcinomu prsu byly vzhledem k podezření na kostní

rozsev vyšetřovány kostní markery ICTP kompetitivní EIA metodou na mikrotitračních destičkách (Orion – Diag), β -CrossLaps (CTX) a P1NP, specifický indikátor depozitu kolagenu 1 definovaný jako marker novotvorby kostí [4]; oba poslední na imunoanalyzátoru Elecsys 2010 Roche, metodou ECLIA (elektrochemiluminiscenční imunoanalýza). U nemocných s prokázanými kostními metastázemi ($n = 44$) byla aplikována terapie bisfosfonáty (Zoledronat 4 mg/28 dní). Odběry byly prováděny opakovaně před zahájením terapie a 14., 28., 56. a 84. den v jejím průběhu. Před zahájením terapie byla provedena kostní scintigrafie a definitivní potvrzení přítomnosti kostních metastáz bylo hodnoceno pomocí RTG nebo CT vyšetření. U 44 nemocných byly skutečně prokázány kostní metastázy pomocí RTG či CT, u 16 nemocných byl nález na kostech hodnocen jako negativní.

U kostních markerů byly hodnoceny parametry validity (senzitivita, specifita, pozitivní a negativní prediktivní hodnota, relativní riziko a ROC křivka). Bodové odhady parametrů validity byly doprovázeny výpočtem 95% konfidenčních intervalů. Ke statistickému hodnocení korelace mezi testovanými parametry jsme použili Spearmanův korelační koeficient. K hodnocení efektu terapie byl použit také Karnofského index (KI) a hodnocení bolesti pacientek podle spotřeby opiátů.

Výsledky

ICTP v souboru pacientek s kostními metastázemi u karcinomu prsu s 89,5% specifitou při cut-off 5,4 $\mu\text{g/l}$ prokázal 79,5% senzitivitu při pozitivní prediktivní hodnotě (PV+) 95 % a negativní prediktivní hodnotě (PV-) 61 %. Plocha pod ROC křivkou (AUC) byla také vyhovující (0,87), jak ukazuje obrázek 1.

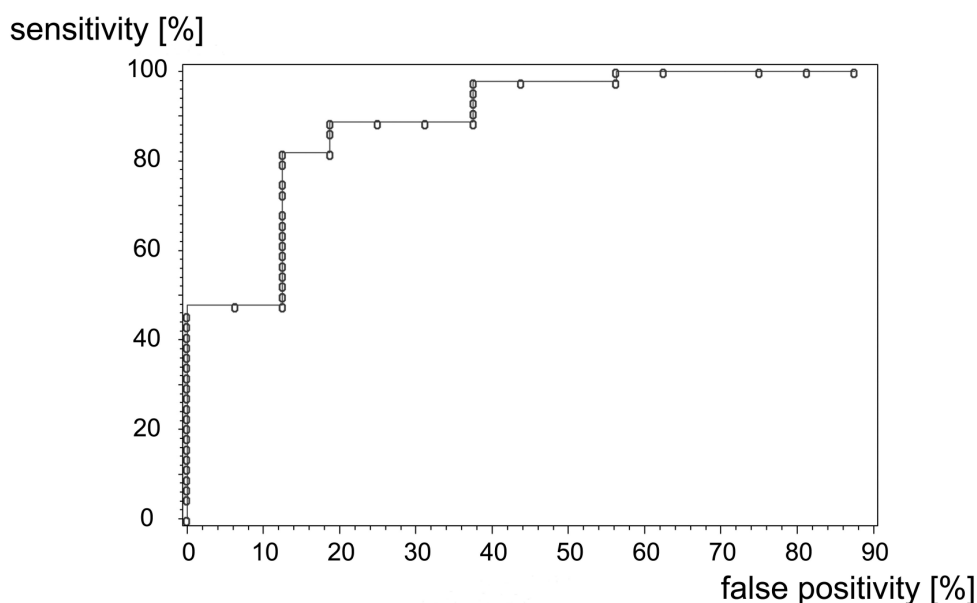


Fig. 1. Receiver operation characteristic curve (ROC) for ICTP in all patients

ICTP u nemocných s kostním rozsevem při hodnocení proti souboru nemocných bez metastáz metodou ANOVA vykazalo $p = 0,0011$, Wilcoxonův test $p = 0,0001$ a mediánový test s $p < 0,0005$.

Metoda P1NP při cut-off 74 $\mu\text{g/l}$ při specifitě 90,4%, (95%CI — konfidenční interval 84,5%; 96,4%) prokazovala přítomnost kostního rozsevu se senzitivitou jen 46,4%, (95%CI 33,4–59,5%), PV+ byla 74,3%, PV- činila 73,9% a AUC 0,76.

Marker β -CTX u nemocných s kostním rozsevem hodnocených proti souboru nemocných bez metastáz metodou (ANOVA: $p = 0,0032$, Wilcoxonův test $p = 0,0004$, mediánový test $p < 0,0001$) při cut-off 0,380 $\mu\text{g/l}$ a specifitě 90%, (95% CI 74,8–100,0%)

potvrzoval kostní metastázy se senzitivitou 66,7%, (95% CI 51,3–82,1%), PV+ byla 91,9%, (95% CI 81,6–100,0%), a PV- byla 58,6%, (95% CI 40,4 až 76,9%). Běžně udávaná cut-off je však 0,8 $\mu\text{g/l}$, kdy b-CTX prokázal při specifitě 94,4% dokonce jen 41,67% senzitivitu, PV+ činila 93,4% a PV- pouze 46,2%.

P1NP s β -CTX významně korelovalo podle Spearmanova korelačního koeficientu s $r_s = 0,78$ při $p < 0,0001$. Porovnání ploch pod ROC křivkami AUC podle Van der Waerdenova testu: $p < 0,0001$; porovnání absolutních hodnot rozdílů ploch pod ROC křivkami: $p = 0,0067$ ve prospěch P1NP s β -CTX. Korelaci β -CTX a ICTP uvádí 2a, b.

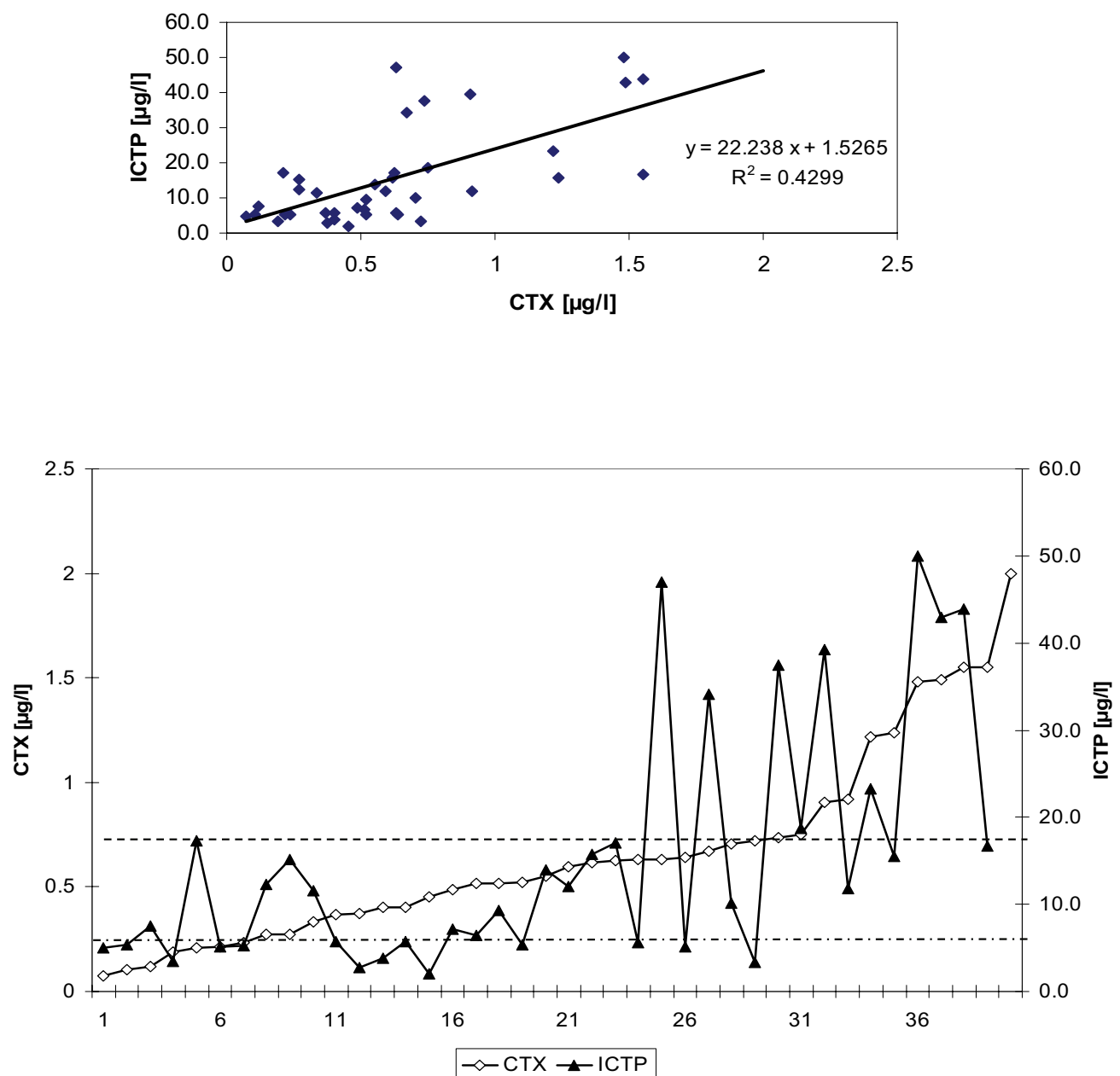


Fig. 2 a, b. Correlations of ICTP and β -CTX in breast cancer patients with bone metastases (in all patients)

U nemocných s prokázanými kostními metastázemi (z původních 44 nemocných bylo 40 léčeno a současně byly monitorovány kostní markery) jsme před zahájením terapie nacházeli zvýšenou hladinu aspoň jednoho ze sledovaných kostních markerů u 88 % nemocných, nejčastěji ICTP, zvýšenou hodnotu ICTP současně s P1NP u 50 % z těchto pacientek. V průběhu terapie

Nejlépe je možno korelaci hladiny kostních markerů a efektu terapie dokumentovat pro ICTP, který vzestupem mediánu po 3 měsících odlišil skupinu nemocných bez efektu (14 nemocných), od skupiny s efektem (26 nemocných s trvalým poklesem – obr. 4). Podobný pokles mediánu lze u efektu terapie zaznamenat i pro P1NP (obr. 5).

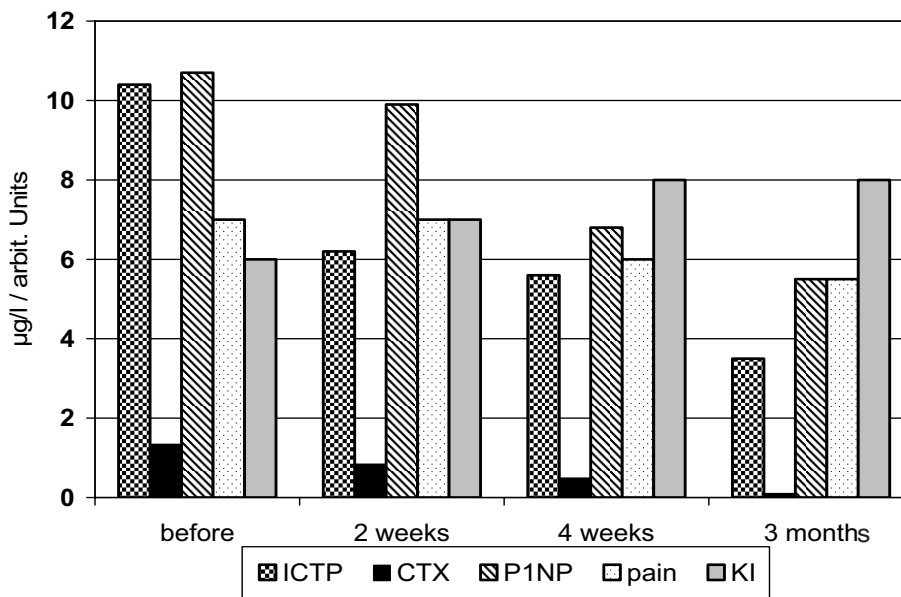


Fig. 3. Median value for followed bone markers, Karnofski-Index (KI) and pain during therapy of 40 followed patients

klesl medián zvýšených hodnot ICTP po 14 dnech o 40 %, po 3 měsících terapie o 65 %. U P1NP pokles mediánu činil po 14 dnech 10 %, po 3 měsících terapie 50 %; pro β -CTX byl po 14 dnech pokles 15%, po 3 měsících to bylo 40 % původně zvýšené hodnoty (obr. 3). Současně se Karnofského index zvýšil v průměru po 14 dnech o 10 %, po 3 měsících o 20 %; bolest se zmenšila nejprve o 15 %, po 3 měsících až o 60 % (hodnoceno podle spotřeby léků).

Zatímco po 14 dnech terapie existovala skupina nemocných, u nichž došlo k poklesu hodnot ICTP a P1NP, ale subjektivně efekt terapie nemocné ještě neuváděly, po 3 měsících tato skupina zanikla a přešla do skupiny 26 nemocných s efektem provázeným poklesem markerů (62 %). Lze tedy mluvit o predikci efektu pomocí kostních markerů.

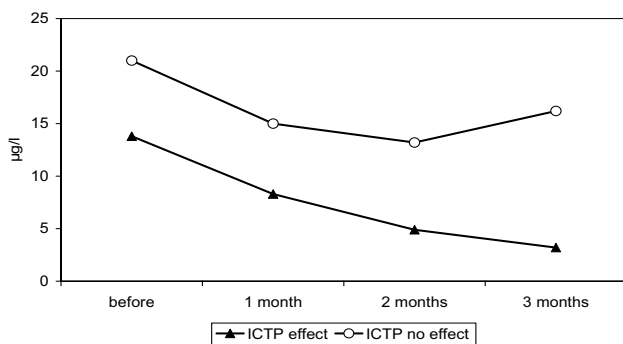


Fig. 4. Effect of bisphosphonate therapy in 26 patients (62%) and ICTP serum level (median value)

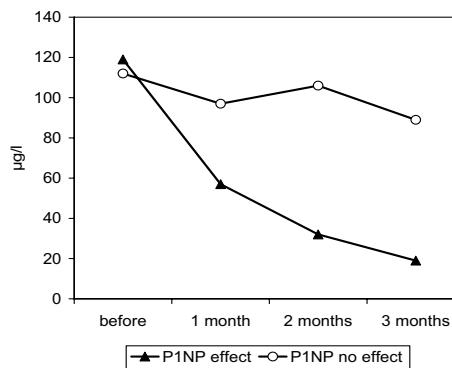


Fig. 5. Effect of bisphosphonate therapy in 26 patients (62%) and P1NP serum level (median value)

Diskuse

Metastatické onemocnění kostí je u pacientů se zhoubnými nádory časté a je příčinou významné morbidity a mortality. Máme však k dispozici několik účinných způsobů léčby těchto nemocných. Obzvláště důležité jsou bisfosfonáty, které inhibují resorpci kostní hmoty zprostředkovanou osteoklasty, protože snižují incidenci nežádoucích projevů kostních metastáz u mnoha typů nádorů a mohou doplnit standardní protinádorové léčebné postupy [23]. V současné době je hodnocení léčebných výsledků terapie kostních

metastáz znemožňováno nedostatkem účinných a rychlých diagnostických metod, kterými by bylo možné léčebné efekty monitorovat. Nejslibnější se zdají být analýzy detekující telopeptidy kolagenu typu I jako markery kostní resorpce pro hodnocení léčebné odpovědi u pacientů s metastatickým onemocněním kostí [1].

Remodelace skeletu je spojena s odbouráváním kostní hmoty, která je více než z 90 % (organické hmoty) tvořena kolagenem typu 1. Ten je odvozen z prokolagenu typu 1, který je syntetizován fibroblasty a osteoblasty. Prokolagen 1 obsahuje jak N-(amino), tak i C-(karboxy) terminální části molekuly. Tyto propeptidy jsou vytvořeny působením specifických proteináz během přeměny prokolagenu v kolagen, který je následně začleněn do kostní hmoty. Pro monitorování procesu osteoformace bývá v současnosti doporučován N-terminální propeptid kolagenu typu 1 (P1NP), zejména pro osteoplastické metastázy. P1NP je vysoce specifickým markerem pro tvorbu osteoblastických (a tedy i smíšených) metastáz, vykazuje malou cirkadiánní variaci, lze jej měřit i v séru a vykazuje poměrně nízkou intraindividuální variaci. Během tvorby kolagenu 1 je P1NP uvolňován do intracelulárního prostoru a následně do krevního oběhu. Metoda stanovení P1NP vykazuje dobrou reprodukovatelnost, podle údajů z literatury nemá výraznější závislost na dietě. V našem souboru se P1NP u pacientů s kostními metastázami proti souboru bez metastáz metodou ANOVA signifikantně lišilo ($p = 0,0392$) také podle Wilcoxonova testu ($p < 0,0001$) a mediánového testu ($p < 0,0001$), senzitivita pro detekci metastáz však nebyla dostatečná. Pro sledování efektu terapie byly výsledky dobré, ne však lepší než pro ICTP. Pro detekci nových kostních metastáz karcinomu prsu není senzitivita P1NP dost vysoká, doporučuje se pro sledování efektu terapie. Lepší výsledky než u karcinomu prsu při detekci a sledování terapie kostních metastáz jsou popisovány u karcinomu prostaty, zřejmě pro převažující osteoblastické metastázy kostí.

Stanovení β -CTX se doporučuje v souvislosti s monitorováním účinnosti antiresorpční terapie (např. terapií bifosfonáty, hormonální náhradní terapií, při terapii osteoporózy nebo jiných kostních onemocněních). Těmito prostředky lze účinky terapie monitorovat už v průběhu několika týdnů. V našem souboru pacientek s karcinomem prsu jsme potvrdili kostní metastázy při 94,4% specifitě jen se 41,67% senzitivitou při běžně užívané referenční hodnotě 0,8 $\mu\text{g/l}$.

U žen léčených pro osteoporózu je očekáván při dobrém efektu terapie nejméně 40% pokles P1NP po 6 měsících léčení [2].

U pacientek s karcinomem prsu byly hodnoty P1NP v séru po operaci [8] i po chemoterapii [7] shledány negativním prognostickým parametrem vzhledem k přežívání.

Vzhledem k posouzení kostního metabolismu potřebují onkologové při terapii žen s karcinomem prsu více informací, které doporučuje vhodný algoritmus vyšetřování a terapie [6] u těchto nemocných. Také nádorové markery bývají považovány za vhodné parametry u kostního rozsevu nádorového onemocnění [17]. Terapie bisfosfonáty představuje profit pro tyto nemocné, i když se jedná (s výjimkou

myelomu) jen o podpůrnou a život neprodlužující terapii. Radioterapie může dlouhodobým zvýšením metabolismu kolagenu typu 1 ovlivnit také hladiny kostních markerů, zejména β -CTX [18]. Na skutečnost, že normalizace biochemických markerů kostní formace koreluje s klinickým benefitem terapie u pacientek s metastatickou formou nádoru prsu, poukazují ve své práci také další autoři i doporučení odborných společností [1, 3, 20].

Výhodou proti scintigrafii je možnost častějšího vyšetření. Vzestup biochemických markerů kostního metabolismu v době progresu a pokles při úspěšné specifické terapii u pacientek s metastatickou formou nádoru prsu prokazují ve své práci také další autoři [11, 14, 15, 24]. Výsledky Luftnerových prací potvrzují dostatečnou klinickou validitu P1NP, ostatní práce dokládají význam markerů osteoresorpce. Výrazná korelace však nebyla nalezena pro P1NP a kostní scintigrafii u 88 nemocných s různými typy nádorů [19], i když hodnocení senzitivity (24%) bylo provedeno při příliš vysoké specifitě (až 96%). Sérové koncentrace metabolitů kolagenu typu 1 korelovaly také s metastatickým procesem u karcinomu prostaty, i když některé práce shledávají, že marker ICTP odráží progresi choroby nejen v kostech [13].

Korelaci mezi zvýšenými hodnotami kostních markerů, tedy i ICTP a následným scintigrafickým nálezem, je nutno provádět až s určitým časovým odstupem, protože existuje lead time (čas mezi laboratorním a klinickým nálezem) i pro kostní markery. Například v souboru 178 nemocných s karcinomem prsu byla u žen se zvýšenou hodnotou ICTP po roce pozitivní i scintigrafie kostí a byl prokázán relaps choroby s projevy kostního postižení, popř. generalizace choroby [15]. ICTP se jeví jako prognostický marker, který by mohl pomoci určit rizikovou skupinu pacientek ohrožených generalizací choroby. Kinetika markerů koreluje s klinickým efektem léčby bisfosfonáty, kromě subjektivního hodnocení nemocných je pokles jejich hladiny první známkou efektu léčby, a to již po druhém podání. Profit z léčby lze očekávat také u pacientů s osteoporózou.

Závěr

Kostní markery, zejména ICTP, β -CTX, markery kostní resorpce a P1NP jako marker novotvorby kostí, jsou doporučovány jako vhodná pomocná vyšetření k diagnóze kostních metastáz i hodnocení efektu jejich terapie. Pro ICTP u kostních metastáz karcinomu prsu byla prokázána 89,5% specifita a 79,5% senzitivita, tedy nejvalidnější parametry ze srovnávaných metod. ICTP je tedy vhodným markerem kostní degradace v kostních metastázách a představuje citlivou a snadnou pomocnou metodu detekce kostních metastáz i monitorování jejich terapie. Kostní markery zlepšily svou specifitu i senzitivitu [4] a mohou být užitečné v časně diagnostice kostních metastáz a zejména v monitorování terapie, např. bisfosfonáty, která se stále více používá v terapii kostních metastáz.

Literatura

1. **Clamp, A., Danson, S., Nguyen, H., Cole, D., Clemons, M.** Assessment of therapeutic response in patients with metastatic bone disease. *Lancet Oncol.*, 2004, 5, 10, p. 607–616.
2. **Delmas, P. D.** Pathogenesis of postmenopausal bone loss. Therapeutic implications. *Rev. Med. Interne*, 2000, 21, Suppl 4, p. 474.
3. **Delmas, P. D., Hardy, P., Garnero, P., Dain, M.** Monitoring individual response to hormone replacement therapy with bone markers. *Bone*, 2000, 26, 6, p. 553–560. Comment In *Bone*, 2000, 26, 6, p. 551–552.
4. **Fontana, A., Delmas, P. D.** Markers of bone turnover in bone metastases. *Cancer*, 2000, 88, 12, Suppl 1, p. 2952–2960.
5. **Fridrichová, M., Loučka, M., Paulovičová, I.** *Ověření významu sledování hladin ICTP a hodnocení jeho role v diagnostice časných kostních metastáz u ca mammae a ca prostatae. Vybrané otázky – onkologie XI.* Praha: Galén, 2007, s. 194.
6. **Hillner, B. E., Ingle, J. N., Chlebowski, R. T., Gralow, J., Yee, G. C., Janjan, N. A., Cauley, J. A., Blumenstein, B. A., Albain, K. S., Lipton, A., Brown, S.** American Society of Clinical Oncology 2003 update on the role of bisphosphonates and bone health issues in women with breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2003, 21, 21, p. 4042–4057.
7. **Jensen, B. V., Johansen, J. S., Skovsgaard, T., Brandt, J., Teisner, B.** Extracellular matrix building marked by the N-terminal propeptide of procollagen type I reflect aggressiveness of recurrent breast cancer. *Int. J. Cancer.*, 2002, 1; 98, 4, p. 582–589.
8. **Jukkola, A., Bloigu, R., Holli, K., Joensuu, H., Valavaara, R., Risteli, J., Blanco, G.** Postoperative PINP in serum reflects metastatic potential and poor survival in node-positive breast cancer. *Cancer Res.*, 2001, 21, 4 B, p. 2873–2876.
9. **Katolická, J., Rovný, A., Filipenský, P., Nekulová, M.** *Karcinom prostaty a kostní markery: naše zkušenosti. Vybrané otázky – onkologie XI.* Praha: Galén, 2007, s. 33.
10. **Klener, P.** *Klinická onkologie.* Praha: Galén, 2002, s. 80, 309–310
11. **Koizumi, M., Takahasi, S., Ogata, E.** Comparison of serum bone resorption markers in the diagnosis of skeletal metastasis. *Anticancer Res.*, 2003, 23, p. 4095–4099.
12. **Laurence, M., Demers, M. D.** Bone Markers in the Management of patients with Skeletal Metastases. *Cancer*, 2003, 97, 3, Suppl 1, p. 874–879.
13. **Lein, M., Wirth, M., Miller, K., Eickenberg, H. U., Weissbach, L., Schmidt, K., Haus, U., Stephan, C., Meissner, S., Loening, S. A., Jung, K.** Serial markers of bone turnover in men with metastatic prostate cancer treated with zoledronic acid for detection of bone metastases progression. *Eur. Urol.*, 2007, 52, 5, p. 1381–1387.
14. **Lipton, A., Costa, L., Ali, S., Demers, L.** Use of markers of bone turnover for monitoring bone metastases and the response to therapy. *Semin. Oncol.*, 2001, 28, p. 54–59.
15. **Luftner, D., Richter, A., Geppert, R., Wernecke, K. D., Possinger, K.** Normalization of biochemical markers of bone formation correlates with clinical benefit from therapy in metastatic cancer. *Anticancer Res.*, 2003, 23, p. 1017–1026.
16. **Luftner, D., Jozereau, D., Schildhauer, S., Geppert, R., Muller, C., Fiolka, G., Wernecke, K. D., Possinger, K.** P1NP as serum marker of metastatic spread to bone in breast cancer patients. *Anticancer Res.*, 2005, 25, p. 1017–1026.
17. **Oremek, G. M., Weis, A., Sapoutzis, N., Sauer-Eppel, H.** Diagnostic value of bone and tumour markers in patients with malignant diseases. *Anticancer Res.*, 2003, 23, 2A, p. 987–990.
18. **Sassi, M., Jukkola, A., Riekkö, R., Hoyhtya, M., Risteli, L., Oikarinen, A., Risteli, J.** Type I collagen turnover and cross-linking are increased in irradiated skin of breast cancer patients. *Radiother Oncol.*, 2001, 58, 3, p. 317–323.
19. **Schoenberg, J., Rozenboom, S., Wirthgen-Beyer, E., Eilles Ch.** Evaluation of the clinical value of bone metabolic parameters for the screening of osseous metastases compared to bone scintigraphy. *BMC Nuclear Medicine*, 2004, dostupné na: www.biomedcentral.com/1471-2385/4/3, cit. 1. 4. 2007.
20. **Šimíčková, M., Nekulová, M., Petráková, K., Pecen, L., Staníček, J., Frgala, T., Pilný, R., Dubská, L., Valík, D.** Sérový N-terminální propeptid prokolagenu typu I (PINP) a kostní metastázy karcinomu prsu. *Klin. Onkol.*, 2007, 20, 2, p. 220–223.
21. **Takahara, K., Kamimura, M., Hashidate, H., Uchiyama, S., Nakagawa, H.** Change of cross-linked telopeptide of type I collagen (ICTP) and other bone resorption markers in patients with bone fragility fractures. *J. Orthop. Sci.*, 2007, 12, 3, p. 219–226.
22. **Terpos, E.** Biochemical markers of bone metabolism in multiple myeloma. *Cancer Treat. Rev.*, 2006, 32, Suppl 1, 1, p. 15–19.
23. **Vorlíček, J., Vyzula, R., Adam, Z. et al.** *Praktická onkologie – vybrané kapitoly.* Praha: Grada, 2000, s. 243–273.
24. **Wada, N., Fujisaki, M., Ishii, S., Ikeda, T., Kitajima, M.** Evaluation of bone metabolic markers in breast cancer with bone metastasis. *Breast Cancer*, 2001, 8, p. 131–137.

Práce byla podpořena grantem VVZ MZ ČR
00020980501-5.

Do redakce došlo 16. 1. 2008.

Adresa pro korespondenci:
MUDr. Miroslava Nekulová, CSc.
Oddělení laboratorní medicíny
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: nekulova@mou.cz