
Nádorové markery tumorů horních partií GIT

*Olga Bálková
Roche s.r.o., Diagnostics Division*

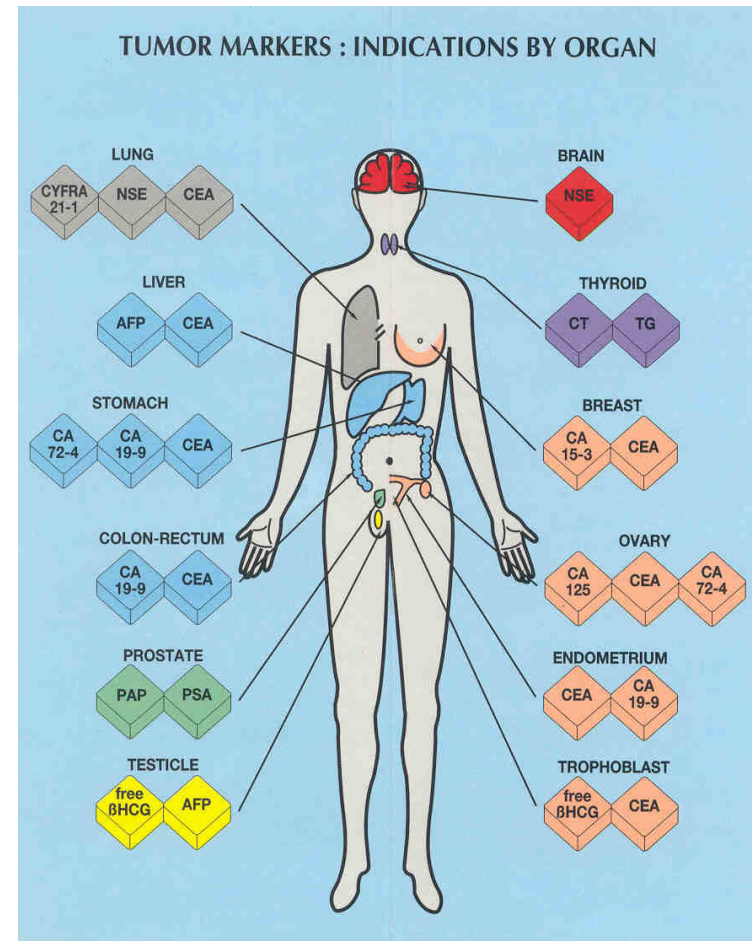


Nádorové markery (TM)

- Nádorové markery jsou **laboratorně prokazatelné známky** v biologických tekutinách, tkáních nebo buňkách, pomocí kterých je možné prokázat: riziko vzniku, přítomnost, prognózu, účinnost (škodlivost) terapie a vznik metastáz nebo reziduální choroby nádorového onemocnění. (Masopust 2004)
- Produkovány:
 - samotným nádorem = s nádorem asociované antigeny
 - jinými tkáněmi = indukované nádorové markery
(odpověď na maligní proces v organismu, např. proteiny akutní fáze)
- Celulární TM: výskyt ve tkáni zhoubného nádoru
- Humorální TM: výskyt v tělních tekutinách. Přítomnost TM v tělních tekutinách je podmíněna přechodem těchto látek z místa syntézy (nádorová tkáň) do cirkulace.

Historie vyšetřování TM

- Bence-Jonesova bílkovina: 1845
- hCG: 1928
- PAP: 1936
- TPA: 1957
- AFP: 1963
- CEA: 1965
- SCCA: 1977
- CA19-9, PSA: 1979
- CA125, CA 72-4: 1981
- NSE: 1994
- CYFRA 21-1: 1995



Velký boom vyšetřování TM na přelomu 80. a 90. let

Zdroj: Internet

Platí, že ...

- Dosud nebyl nalezen univerzální nádorový marker.
- **Senzitivita** (správný záchyt nemocných) ani **specifičnost** (správná negativita u lidí bez nádorového onemocnění) nedosahují ideálních 100 %.
- Nezvýšená koncentrace nádorového markeru \neq nepřítomnost maligního onemocnění
- Pozitivní výsledek \neq zhoubný nádor
- **Rozlišovací schopnost TM:** odhalí tumor o hmotnosti 1 mg
(10^6 maligních buněk)
Klinické vyšetření: odhalí tumor $>10^9$ maligních buněk
- Koncentrace TM v séru: obvykle v přímém vztahu k typu a rozsahu onemocnění (např. koncentrace CEA odpovídá hmotnosti adenoCa kolorekta).



Aplikace TM v klinické praxi

- **Screening:** většina TM nepoužitelná u asymptomatických jedinců
- symptomatictí nemocní a vysoce rizikové skupiny lidí: využitelnost stanovení TM (např. AFP u nemocných s jaterní cirhózou → hepatocelulární Ca; vyšetření kalcitoninu v rodinách s familiárním výskytem medulárního Ca štítnice)
- **Primární diagnostika:** malá využitelnost TM
(hledání primárního ložiska při nálezů meta neznámého původu)
- **Staging:** vysoká hodnota TM může upozornit na špatně určené nižší stádium choroby.
- **Prognóza:** ±
(určitý význam CEA u Ca kolorekta, AFP a hCG u germinativních tu, B₂M u mnohočetného myelomu)
- **Sledování průběhu nemoci:** hlavní doména **indikace** těchto vyšetření
(elevace TM často o měsíce předchází klinické rozpoznání relapsu).
- **Sledování efektu léčby:** neocenitelná pomoc TM. Nutno volit intervaly odběru krve dle biologického poločasu konkrétního TM tak, aby se postihl účinek terapie a ne tzv. „lysis fenomen“.

Preanalytické požadavky

Čas odběru vzorku	<ul style="list-style-type: none"> • Je třeba odebrat vždy vzorek před terapií. • Diurnální variace pro většinu TM neprokázána. • Vliv postoperačního peritoneálního trauma může vést k falešně pozitivním výsledkům (např. CA 125). • Je vhodné vyloučit odběr séra během menstruace (např. pro CA 125 při screeningu). • Vyloučení manipulace prostaty před odběrem na stanovení PSA sníží ev. falešnou pozitivitu (prostatická biopsie, transuretrální resekce, katetrizace, digitální rektální vyšetření, ejakulace), dále vyloučení odběru PSA při infekci močových cest, prostatitidě.
Vliv diagnostických nebo léčebných postupů	<ul style="list-style-type: none"> • Interference lidských anti-mýších protilátek (HAMA) vede k falešné pozitivitě. Doporučeno značit léčbu monoklonálními protilátkami na žádanku.
Vliv poškození ledvin	<ul style="list-style-type: none"> • Falešně zvýšené hladiny CEA, TPA a dalších cytokeratinů. • Je třeba lépe prostudovat a dokumentovat.
Vliv cholestázy	<ul style="list-style-type: none"> • Může vést ke zvýšení CA 19-9.
Kontaminace slinami	<ul style="list-style-type: none"> • Falešně zvýšené hodnoty CA 19-9, SCC, CEA, TPS.
Typ vzorku	<ul style="list-style-type: none"> • Obvykle je vhodné jak sérum, tak i plasma. • Diference mezi sérem a EDTA-plasmou mohou být způsobeny vlivem komplementu nebo užitím separací séra na gelu.
Stabilita vzorku	<ul style="list-style-type: none"> • TM obecně stabilní, separaci séra a úschovu při 4 °C (krátkodobě) nebo minus 30 °C (dlouhodobě) však provést co nejrychleji, pro fPSA nejpozději do 3 hod. • Zahřátí vzorku nežádoucí (obzvláště pro hCG, PSA).

Postanalytická interpretace

<i>Klinická informace ordinujícího lékaře</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ke každému odběru je třeba uvést stručnou klinickou informaci (např. pooperační odběr, po 6.cyklu chemoterapie.
<i>Příslušné referenční rozmezí</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Obvykle definováno pro zdravou populaci, jsou vhodné především pro nemocné před a bezprostředně po primární léčbě. • Je výhodné stanovit vlastní bazální linie individuálního nemocného. • Klinický význam má i vzestup hladin TM i v rámci referenčního rozmezí
<i>Klinicky relevantní změna koncentrace</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Zahrnuje biologickou i analytickou variabilitu. • Obvykle je to vzestup nebo pokles o 25%, je třeba dále upřesnit.
<i>Postup při změně metody</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Indikovat změnu metody na dlouhodobém výpisu. • Analyzovat předchozí odběr novou metodou, ev. potvrdit hodnotu (ať už reálný trend, nebo posun v základní linii hladiny TM novým odběrem v kratším časovém intervalu.
<i>Znalost poločasu TM v krvi</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Poločas jako 50% snížení koncentrace v cirkulaci po kompletním odstranění nádoru. • Především vhodné pro AFP, hCG.
<i>Využitelnost TM</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Objektivní klinická informace o využitelnosti TM.

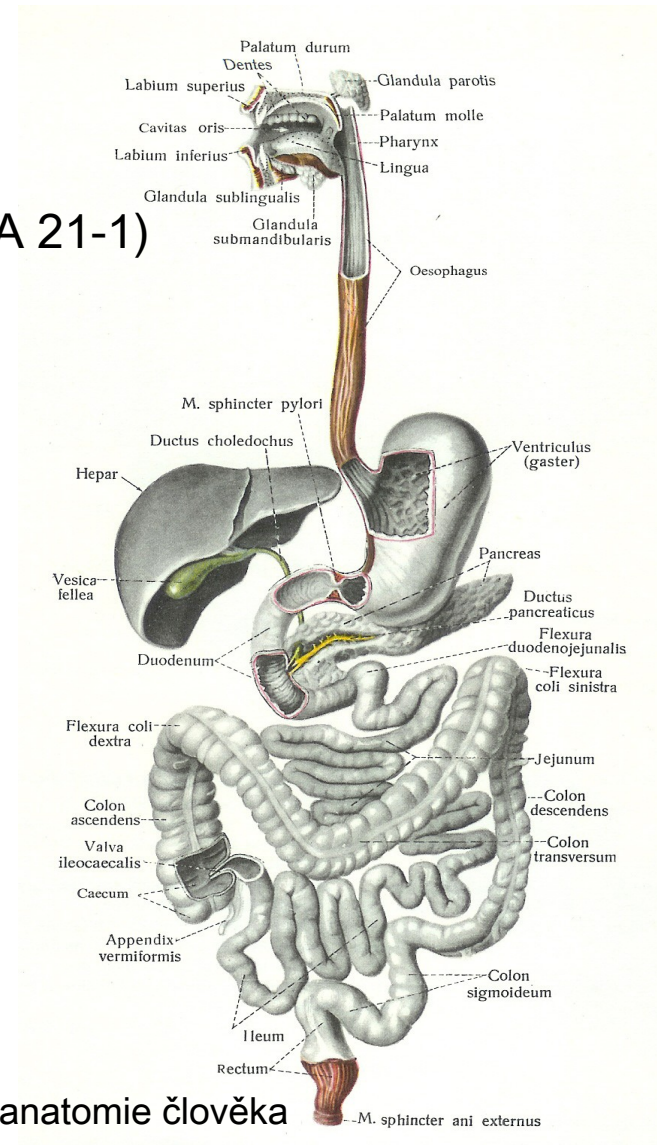
Kontrola kvality měření TM

- **Vnitřní laboratorní kontrola kvality:**
 - povinnost každé laboratoře
 - kontrola denní, týdenní, měsíční, v cyklech
 - kontrolní materiály firemní nebo vlastní
 - vyhodnocení pravdivosti měření
- **Externí kontrola kvality:**
 - mezilaboratorní porovnání
 - v ČR SEKK (2-4 cykly ročně), vybrané analyty, kontrolní materiály A a B
 - mezinárodní porovnání (Oncocheck I, II)
- **Oncocheck:**
 - 12x ročně (záleží na rozhodnutí laboratoře)
 - kontrolní materiály Oncocheck 1-A,B 2-A,B (lidská sérová matrix), obsahují vysoké koncentrace TM, testovány na viry hepatitis a HIV
 - Oncocheck I: AFP, CEA , CA 19-9, CA 125, CA 15-3, PSA, free PSA
 - Oncocheck II: CA 72-4, CYFRA 21-1, NSE, free-beta-hCG



Nádorové markery horních partií GIT

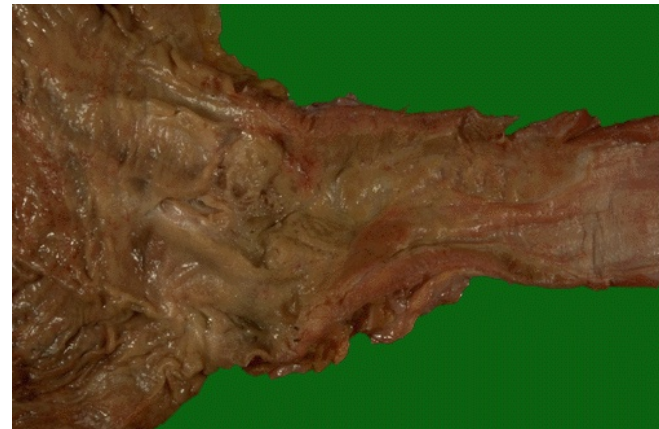
- **Horní část jícnu:**
převládají epidermoidní Ca → SCCA, (CYFRA 21-1)
- **Dolní část jícnu:**
hlavně adenoCa → CA 72-4, CEA, CA 19-9
- **Žaludek:**
hlavně adenoCa → CA 72-4, CEA, CA 19-9
hepatoidní typ tumoru → AFP
- **Pankreas:**
CA 19-9, CEA, CA 72-4, (CA 125, DU-PAN 2)



Obr.: Sinělnikov, Atlas anatomie člověka

CA 72-4 (antigen TAG 72)

- S nádorem asociovaný antigen (CA = carbohydrate antigens) diferenciační, onkofetálního typu
 $t_{1/2}$ v cirkulaci 3-7 dní
- Funkce: dosud neznámá
- Fyziologický výskyt: in utero (produkce v žaludku, jícnu a pankreatu vyvíjejícího se plodu)
- Marker s vysokou specifičností → vhodný do kombinace s jinými markery → zvýšení senzitivity



CA 72-4

- **Klinické využití:** monitorování malignit GIT (a mucinového typu ovariálního Ca), hladina koreluje s přítomností vzdálených meta
 - monitorování průběhu Ca žaludku: senzitivita cca 50 %, specifčnost téměř 100 %
 - záchyt meta Ca žaludku: doporučení v kombinaci s CEA nebo CA 19-9
 - sledování pacientů s Ca dolní třetiny jícnu a pankreatu (CA 72-4 + CEA: odliší benigní x maligní proces pankreatu vyšetřením tekutiny cyst)
- Nevhodný pro screening a stanovení diagnózy
- **Příčiny falešné positivity:** jaterní cirhóza, akutní pankreatitida, chronická bronchitida, vředová choroba žaludku, záněty GIT
- **Referenční rozmezí:** <6,9 kU/l

CA 19-9 (GICA=gastrointestinal cancer antigen)

- S nádorem asociovaný antigen, diferenciační, onkofetálního typu
 $t_{1/2}$ v cirkulaci cca 5 dní
- Funkce: dosud neznámá
- Fyziologický výskyt: in utero (produkce v epiteliálních strukturách žaludku, pankreatu a žlučových cest vyvíjejícího se plodu).
Stopová množství produkována v dospělosti (ve žláznových strukturách pankreatu, žlučníku, brochů).
5-10 % populace tento antigen netvoří.
- Marker s vysokou senzitivitou



Foto: Internet

CA 19-9

- **Klinické využití:** monitorování malignit GIT (pankreas, žaludek, kolorektum, cholangiocelulární Ca, tu žlučových cest)
 - exponenciální růst koncentrací v séru ($>10^4$ kU/l) při vzdálených meta
 - monitorování efektu léčby
 - u nemocných >45 let s nejasnými bolestmi epigastria doporučeno stanovovat CA 19-9 ve 2-3 týdenních intervalech a sledovat jeho dynamiku
- Nevhodný pro screening a stanovení diagnózy
- **Příčiny falešné positivity:** cholestáza (hodnoty CA 19-9 až do 100 kU/l), záněty a benigní nemoci žaludku, střeva, pankreatu a jater, diabetes
- **Referenční rozmezí:** <37 kU/l
(pro odlišení chronické pankreatitidy od Ca pankreatu doporučeno používat cut-off >120 kU/l)

Karcinom pankreatu

Tumor Marker	Sensitivity (Percent)	Specificity (Percent)
CA 19-9 (>37 U/ml)	85	85
CA 50 (>17 U/ml)	71	71
CA 242 (>184 U/ml)	66	65
CA 494 (<40 U/ml)	90	94
DU-PAN-2 (>400 U/ml)	66	92
Span-1 (>400 U/ml)	95	100

SCCA (antigen skvamózních buněk)

- S nádorem asociovaný antigen, diferenciační, onkofetálního typu
 $t_{1/2}$ v cirkulaci cca 20 min.
složka směsného antigenu TA-4, dva homologní proteiny SCCA1 a SCCA 2
(liší se izoelektrickým bodem)
- Funkce: dosud nevyjasněná
(prokázáno inhibiční působení na proteinázy, především v oblasti apoptotické signální cesty - nádor by tímto mechanismem využíval SCCA k potlačení procesu apoptózy, tj. k podpoře vlastního růstu)
- Fyziologický výskyt: produkce omezena na diferencované epidermoidní buňky plodu i dospělých
- Marker s vysokou senzitivitou

SCCA

- **Klinické využití:** monitorování malignit orofaciální oblasti (horní část jícnu), epidermoidních tu plic, děložního čípku, těla dělohy, endometria, vulvy a vaginy
- Nevhodný pro screening a stanovení diagnózy
- **Příčiny falešné positivity:** nemaligní gynekologická a plicní onemocnění, choroby jater, generalizovaný ekzém, psoriáza, pemfigus, gravidita
- **Referenční rozmezí:** $<1,2 \mu\text{g/l}$



Foto: Internet Pathology Laboratory

CEA (karcinoembryonální antigen)

- S nádorem asociovaný antigen, diferenciační, onkofetálního typu glykoprotein s vysokým obsahem sacharidů
 $t_{1/2}$ v cirkulaci dle stupně glykosylace 2-16 dní
- Funkce: CEA patří do imunoglobulinové supergenové rodiny - podíl na adhezi a metastazování buněk.
- Fyziologický výskyt: produkován vyvíjejícím se embryem. V dospělosti omezeně syntetizován epiteliálními buňkami střevní sliznice, žaludku a bronchů.
- **Klinické využití:** monitorování nemoci a efektu léčby u karcinomů GIT (adenoCa plic, mammy, mucinózní adenoCa ženských pohl. orgánů, medulární Ca štítnice, tu endometria, tu děložního těla, Ca m. měchýře, ledvin, diferenc. Ca prostaty, testikulární teratomy)
- Nevhodný pro screening a stanovení diagnózy
- **Příčiny falešné positivity:** jaterní cirhóza, m. Crohn, střevní polypy, nemoci plic, ledvin, žlučníku, pankreatitida, benigní nemoci mammy, kuřáci, alkoholici
- **Referenční rozmezí:** <3,4 $\mu\text{g/l}$, u kuřáků až 10 $\mu\text{g/l}$
(hodnoty nad 50 $\mu\text{g/l}$ svědčí pro meta)

AFP (alfa-1-fetoprotein)

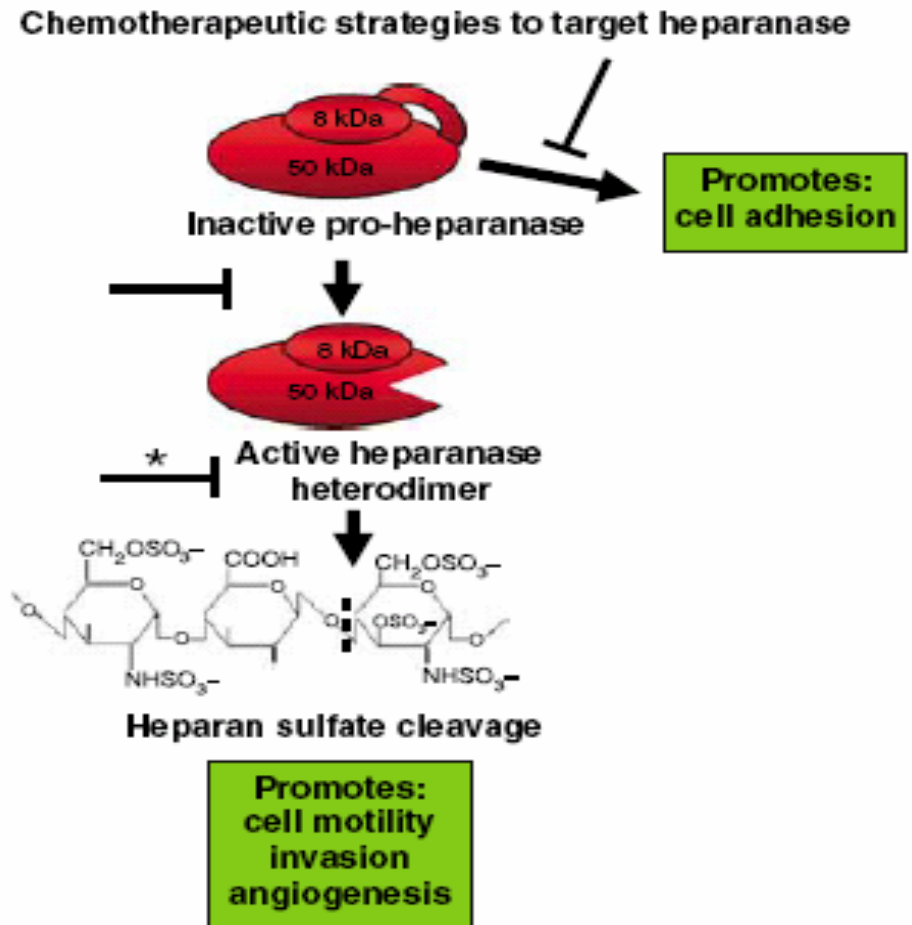
- S nádorem asociovaný antigen, diferenciační, onkofetálního typu, glykoprotein, $t_{1/2}$ v cirkulaci cca 5 dní
- Funkce: transportní bílkovina (vazba steroidů, některých těžkých kovů, bilirubinu, mastných kyselin, retinoidů, drog, antibiotik, ...)
- Fyziologický výskyt: produkován v embryonálním žloutkovém vaku (od 10. dne po oplodnění do 10. týdne gravidity) a ve fetálních játrech (od 10. t. gravidity).
V séru matky (průchod přes placentu) ukazatel fyziologického vývoje těhotenství.
Minimální produkce v dospělosti.
- **Klinické využití:** exprese AFP pozorována asi u 1/5 nemocných s tu střeň, pankreatu, žaludku, žluč. cest.
Monitorování průběhu hepatocelulárního Ca, germinativních tu ovarí i testes.
Sekundární prevence hepatoCa u lidí s chronickou hepatitidou B a C.
- **Příčiny falešné positivity:** akutní (virová) i chronická hepatitida, cirhóza jater, nekróza jater, fyziologické i patologické těhotenství
- **Referenční rozmezí:** <7,4 $\mu\text{g/l}$ (=5,8 kIU/l)

Další markery

- **Heparanáza**
- **RECAF (receptor pro AFP):** slouží ke vnášení mastných kyselin a jiných molekul do fetálních buněk většiny tkání. Není exprimován normální tkání, ale až nádorovou tkání. Je stanovitelný pomocí RIA metod ve tkáni ca prsu (senzitivita 93 %), ovaria (96 %), plic (94 %), **žaludku** (90 %), prostaty (88 %), čípku (86 %), lymfomu i melanomu (80 %) a u mnoha dalších malignit.
- **Kostní markery:** kostní meta (ICTP, P1NP, CTx)
- **Markery kardiotoxicity:** srdeční troponiny, (NT-pro)BNP

Heparanáza

- Fyziologicky se vyskytující nitrobuněčný enzym, který štěpí proteoglykan heparan-sulfát (který má klíčovou roli v extracelulární matrix, ECM).
- Remodelace ECM je typická pro tumory a zánětlivé procesy a je úzce spojená s invazivitou procesu a metastazováním.
- Remodelací ECM se uvolňuje celá řada bioaktivních růstových faktorů a fragmenty heparan-sulfátu, které jsou schopné navodit buněčné dělení.



Heparanáza

- Heparanáza je preferenčně exprimována u různých lidských nádorů (od ca pankreatu až k meduloblastomu) a její overexprese odpovídá invazivitě fenotypu. Působí uvolňování angiogenetických faktorů z ECM a zvyšuje metastatický potenciál, redukuje pooperační přežívání.
- Sérové, cytologické stanovení: prognostický význam
- Je slibným terčem vyvíjených antikancerogenních látek (PI-88).

