**Методические рекомендации к занятию № 16**

**по дисциплине «Клиническая (био)химия»**

**Тема: Клинико-биохимические маркеры онкопролиферативных заболеваний**

**АЛГОРИТМ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ОНКОМАРКЕРЫ**

Онкологические заболевания, как причина смерти в развитых странах, занимают одно из первых мест. По мере старения людей частота опухолевых заболеваний, особенно рака, увеличивается. В последние десятилетия наблюдается тенденция к росту числа этих заболеваний среди лиц молодого возраста, поэтому проблема рака в настоящее время - одна из наиболее актуальных и сложных в медицине.

Канцерогенез - процесс многофакторный и многостадийный, включающий в себя цепь генетических и эпигенетических повреждений клетки, обратимый на ранних стадиях и прогрессирующий лишь у людей, подверженных риску. Инициация канцерогенеза происходит за счет мутаций в генах, регулирующих клеточное деление, - протоонкогенах и генах-супрессорах (антионкогенах). Протоонкогены выполняют функцию стимуляции клеточного деления; достаточно инактивации (мутации) одного аллеля протоонкогена, чтобы он превратился в «онкоген». Генысупрессоры (антионкогены) выполняют противоположную функцию; к нарушению деления и дифференцировки клетки приводит инактивация обоих аллелей гена-супрессора. К конечному результату - малигнизации клетки - приводит множество дополнительных мутаций в функциональных и регуляторных генах.

В поисках выхода из создавшегося положения мысль врачей все чаще обращается к иммунологии, как науке о внутренних механизмах защиты организма от всего чужеродного. Ряд биологических свойств опухолевых клеток - необычная морфология, ускоренная пролиферация и дифференциация, способность превращать соседние клетки в опухолевые, метастазирование в организме - отличает их от нормальных клеток. Вместе с тем, несмотря на выраженную чужеродность, они быстро растут и приводят к летальным исходам у нелеченых больных. По этой причине длительное время вообще сомневались в существовании противоопухолевого иммунитета. Однако косвенные аргументы все-таки указывали на определенную связь противораковой защиты и иммунитета. К ним относили:

•  частое возникновение опухолей при врожденных и приобретенных иммунодефицитах;

•  наличие при онкологических заболеваниях той или иной степени иммунологической недостаточности (особенно в системе клеточного иммунитета);

•  повышение частоты возникновения рака в 30-50 раз при применении иммуносупрессивной терапии;

•  повышение частоты возникновения опухоли при физиологической иммунологической недостаточности в период новорождён- ности и старости;

•  доказанные случаи медленного, иногда обратного, развития злокачественных опухолей;

•  положительное значение неспецифической стимуляции иммунной системы.

Существенный сдвиг в онкологии произошел в связи с обнаружением опухолевых антигенов, открытием Т-системы иммунитета и имммунологической толерантности. Многими исследованиями было доказано, что появление в организме клетки, отличной по фенотипу от собственных клеток, распознается Т-иммунной системой, и клетка эта элиминируется. При взаимодействии опухолевой клетки с Т-лимфоцитом происходит ее цитолиз. Однако онкологические, мутировавшие клетки организма находят пути уклонения от иммунологического надзора, в первую очередь, они теряют HLA-антигены 1-го класса, в результате чего клетки иммунной системы не могут распознать их как «свои изменившиеся» клетки. Кроме того, опухолевые клетки защищаются, выделяя серомукоид, который покрывает их мембрану и белки HLA-системы, что не дает распознавать клетку лимфоцитам. Этот процесс обусловлен мутациями в геноме опухолевой клетки. Генетическим маркером опухолевых клеток являются онкогены - участки ДНК, которые существуют в любой клетке организма для нормальной ее дифференциации и развития. При мутации в зоне онкогена происходит нарушение экспрессии антигенов гистосовместимости на мембране клетки и безудержная их пролиферация. Стимуляторами такого патологического развития клетки служат концерогены (химические, механические, лучевые, экологические и гормональные факторы) и вирусы. Кроме того, опухоль развивается в иммуноскомпроментированном организме при дефектах в иммунной системе - первичных (синдром Ди-Джорджи) и приобретенных (стресс, беременность, вирусные заболевания, иммуносупрессивная терапия).

|  |
| --- |
|  |

Опухолевыми становятся обычно молодые клетки («задержавшиеся эмбриональные клетки»), имеющие ферментативные системы как у эмбриона (например, раково-эмбриональный антиген, альфа-фетопротеин). Они содержат ряд антигенов, отличающих их от собственных клеток организма: опухоль-ассоциированные антигены (ОАА), общие для опухолевых и нормальных клеток, и опухолеспецифические антигены (ОСА), присущие только злокачественным клеткам, отличающимся от нормальных клеток по генетической детерминированности. ОАА не связаны с онкогенным фактором и мутациями в геноме клетки. Продукты этих генов есть на всех клетках, но экспрессия их незначительна. ОСА связаны с онкогенными вирусами и мутациями в области онкогенов, поэтому наряду с методами оценки клеточного и гуморального иммунитета, позволяющими выявить иммунологическую недостаточность (т.е. фактор риска возникновения онкологического заболевания), в основу диагностики, скрининга и мониторинга опухолевых заболеваний положены методы генетического обследования и методы определения опухолевых маркеров в организме больного.

Во многих случаях опухолевых заболеваний трудно определить, что первично - опухоль или иммунологическая ареактивность. Факторы, обусловливающие недостаточность противоопухолевой защиты, можно объединить в четыре главные группы.

1. Толерантность к опухолям. Естественная толерантность формируется в эмбриональном периоде при контакте с антигенами (особенно, если опухоль из эмбриональных клеток). Понятно, что наиболее выражена естественная толерантность к эмбриональным антигенам, а также к опухолям, индуцированным вертикально передающимися в поколениях вирусами. Приобретенная толерантность к другим возникшим опухолям формируется по типу низкозонной толерантности (от малых доз опухолевого иммунитета).

|  |
| --- |
|  |

2. Недостаточность механизмов иммунной защиты от опухолей вследствие: а) слабой выраженности опухолевых антигенов и их низкой иммуногенности; б) блокирующей роли антител, препятствующих действию Т-киллеров; в) иммунодепрессивного действия растворимых опухолевых факторов.

3. Врожденная избирательная иммунологическая реактивность, обусловленная наличием гена слабого иммунного ответа на тот или иной опухолевый антиген. Этот признак передается по наследству так же, как и сильные Ir-гены.

4. Пресуществующее угнетение иммунной системы. Воздействие различных факторов: гормонов, облучения, цитостатиков, интоксикации, эндокринных заболеваний.

Следовательно, противоопухолевый иммунитет имеет ряд специфических особенностей. Ведущий защитный механизм - Т-клеточный иммунитет, активность которого регулируется Т-хелпером 1-го типа (Тх1). Антитела играют при этом второстепенную роль, нередко оказывают блокирующее действие, экранируя опухоль от поражающего действия Т-лимфоцитов. Опухолевые процессы возникают как следствие снижения функции иммунологического надзора за генетическим постоянством внутренней среды. Этим, в частности, объясняют учащение случаев рака у пожилых. Защитная иммунная реакция при опухолевом процессе отсутствует или затормаживается, что способствует прогрессированию заболевания. К возможным причинам низкой иммунореактивности следует отнести феномены иммунологической толерантности к опухолевым антигенам, наличие противоиммунологической защиты самих опухолевых клеток, врожденную избирательную ареактивность по одному из генов иммунного ответа, предшествующую иммуносупрессии.

Таким образом, лабораторная диагностика онкологических заболеваний основывается на обнаружении в организме опухолевых антигенов, противоопухолевых иммунных лимфоцитов и иммуноглобулинов и медико-генетического обследования.

|  |
| --- |
|  |

**ОПУХОЛЕВЫЕ МАРКЕРЫ (ОПУХОЛЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИГЕНЫ)**

К маркерам злокачественного роста относят вещества разной природы: антигены, гормоны, ферменты, гликопротеины, липиды, белки, метаболиты. Синтез маркеров обусловлен особенностями метаболизма раковой клетки, которые обеспечивают ее автономность, агрессивность роста, способность к метастазированию. Анормальная экспрессия генома - один из основных механизмов продукции маркеров опухолевыми клетками, который обусловливает синтез эмбриональных, плацентарных и эктопических ферментов, антигенов и гормонов. Известен широкий спектр маркеров при различных локализациях рака, однако лишь единичные могут в какой-то мере соответствовать понятию «идеальный маркер».

Диагностическая значимость опухолевого маркера зависит от его чувствительности и специфичности. Пока не существует опухолевых маркеров, отвечающих определению идеальных, т.е. маркеров с почти 100%-ной специфичностью (не обнаруживающихся при доброкачественных

заболеваниях и у здоровых людей) и 100%-ной чувствительностью (обязательно выявляемых даже на ранних стадиях развития опухоли). При исследовании онкомаркеров большое значение имеет такое понятие, как «cut-off» (контрольный уровень). «Cut-off» представляет собой допускаемую верхнюю границу концентрации опухолевого маркера у здоровых людей и у пациентов с доброкачественными опухолями. «Cut-off» не имеет фиксированного значения и может изменяться в соответствии с назначением теста. Если ставится задача выявить как можно больше пациентов с опухолями, «cut-off» необходимо устанавливать на низком уровне для увеличения чувствительности, ценой неизбежного увеличения процента ложноположительных результатов (уменьшения специфичности). Если необходимо увеличить вероятность соответствия положительного результата теста наличию опухоли, «cut-off» следует установить на высоком уровне для повышения специфичности за счет увеличения процента ложноотрицательных результатов (уменьшения чувствительности).

|  |
| --- |
|  |

**ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ ОНКОМАРКЕРОВ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИН**

Альфа-фетопротеин (АФП) - онкомаркер, гликопротеин, вырабатываемый желточным мешком эмбриона. Время полужизни - 7 суток. АФП имеет два основных клинических применения: во-первых, выявление и мониторинг первичной гепатоцеллюлярной карциномы, которая возникает, как правило, в цирротической печени; во-вторых, мониторинг эффективности терапии этого заболевания. Повышение уровня АФП при гепатоцеллюлярном раке печени у 50% больных выявляют на 1-3 мес раньше, чем появляются клинические признаки заболевания. Уровень АФП в крови не коррелирует с массой опухоли менее 2 кг, однако при опухолях больше 5 кг отмечается 100%- ная корреляция. Содержание АФП хорошо коррелирует с ответом на химиотерапевтическое лечение гепатомы, значительное снижение свидетельствует о терапевтической эффективности. Однако, поскольку полный эффект химиотерапии, как правило, отсутствует, нормализации уровня АФП в крови больных не возникает. Удаление гепатомы сопровождается резким уменьшением содержания АФП в крови, персистирующее его увеличение говорит о нерадикальности хирургического лечения. Повышенный уровень АФП определяется также у 9% пациентов с метастатическим поражением печени при злокачественных опухолях молочной железы, бронхов и колоректальной карциноме.

Уровень АФП при первичной карциноме печени: >15,0 МЕ/мл в 95% случаев; 15-100 МЕ/мл в 12%; 100-1000 МЕ/мл в 14% случаев; 1000- 10 000 МЕ/мл - в 29%; 10 000-100 000 МЕ/мл - в 39% случаев.

Уровень АФП при метастатическом поражении печени - >15,0 МЕ/мл в 9% случаев; 15-100 МЕ/мл - в 7%; 100-1000 МЕ/мл - в 2% случаев (Lamertz R. et al., 1991).

Повышенный уровень АФП обнаруживают при гепатитах различной этиологии, однако повышение носит временный характер.

|  |
| --- |
|  |

Применение. Определение АФП используют для диагностики, мониторинга лечения гепатоцеллюлярного рака, диагностики герминогенных опухолей, метастазов любой опухоли в печень, скрининга в группе высокого риска (цирроз печени, гепатит, дефицит альфа-1-ан- титрипсина), диагностики зародышевых опухолей (тератом), эмбриональной карциномы, хориокарциномы, опухолей желудка, пищевода, поджелудочной железы, пренатальной диагностики (пороки развития нервного канала, синдром Дауна у плода), раннего обнаружения метастазов гепатокарциномы.

**РАКОВО-ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ АНТИГЕН**

Раково-эмбриональный антиген (РЭА) - гликопротеин, формируемый при эмбриональном развитии в желудочно-кишечном тракте. На уровень РЭА влияет курение и, в меньшей степени, прием алкоголя. Небольшое повышение уровня РЭА наблюдают у 20-50% больных с доброкачественными заболеваниями кишечника, поджелудочной железы, печени и легких. Основное применение РЭА - мониторинг развития заболевания и эффективности терапии у больных с колоректальной карциномой. Чувствительность теста (Lamertz R. et al., 1991) при:

•  колоректальном раке - 50% при концентрации >7,0 нг/мл;

•  раке печени - 33% при концентрации >7,0 нг/мл;

•  раке молочной железы - 28% при концентрации >4,2 нг/мл;

•  раке желудка - 27% при концентрации >7,0 нг/мл;

•  раке легких - 22% при концентрации >7,4 нг/мл.

Уровень РЭА в сыворотке крови больных раком толстой кишки коррелирует со стадией заболевания и служит показателем эффективности оперативного вмешательства и химио- и лучевой терапии. РЭА может использоваться в качестве маркера рецидивов и метастазов. При нелеченых злокачественных опухолях уровень РЭА постоянно увеличивается, причем в начальной стадии его рост имеет выраженный характер. Повышенный уровень РЭА отмечают у больных

|  |
| --- |
|  |

с раком поджелудочной железы. Чувствительность и специфичность РЭА для диагностики рака поджелудочной железы составляет соответственно 63,3 и 81,7%. Однако содержание РЭА увеличивается у части больных при панкреатите, что снижает ценность использования этого маркера при раке поджелудочной железы. Повышенный уровень РЭА выявляют у 30-50% больных раком молочной железы, у 33-36% больных раком легкого.

Применение. Определение уровня РЭА в сыворотке крови используют для диагностики, мониторинга лечения и течения рака прямой кишки (повышение концентрации до 20 нг/мл - диагностический признак злокачественных опухолей различной локализации), диагностики опухолей желудочно-кишечного тракта, легких, молочной железы, диагностики метастазов в печень, мониторинга в группах риска (цирроз, гепатит, панкреатит).

Уровень РЭА повышается при хронических заболеваниях легких, аутоиммунных заболеваниях, однако после выздоровления уровень РЭА в крови возвращается к нормальным величинам.

**АНТИГЕН СА 19-9**

Антиген СА 19-9 - гликолипид, обнаруживаемый в фетальном эпителии поджелудочной железы, желудка, печени, тонкой, толстой кишки и легких. СА 19-9 выводится исключительно с желчью, поэтому даже незначительный холестаз может быть причиной значительного повышения его уровня в крови. Повышение уровня СА 19-9 может наблюдаться также при доброкачественных и воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта и печени (до 500 ед/мл, но чаще до 100 ед/мл), при муковисцидозе. Имея чувствительность 82%, СА 19-9 является маркером выбора при карциноме поджелудочной железы. Чувствительность СА 19-9 (Staab H.J., 1986) при:

•  раке поджелудочной железы - 82% при «cut-off» >80 ед/мл;

•  раке печени - 76% при «cut-off» >80 ед/мл;

|  |
| --- |
|  |

•  раке желудка - 29% при «cut-off» >100 ед/мл;

•  колоректальном раке - 25% при «cut-off» >80 ед/мл.

Не обнаружено корреляции между концентрацией маркера и массой опухоли. Вместе с тем все больные с очень высокими показателями СА 19-9 (выше 10 000 ед/мл) имеют отдаленные метастазы. Определение СА 19-9 не позволяет проводить раннюю диагностику карциномы поджелудочной железы. Вместе с тем исследование уровня СА-19-9 дает ценную информацию для оценки эффективности хирургического лечения и определения прогноза. При невысоком уровне СА-19-9

в крови (64-690 ед/мл) продолжительность жизни составляет в среднем 17 мес, при уровне 75-24 000 ед/мл - 4 мес (Staab H.J., 1986).

СА 19-9 имеет чувствительность от 50% до 75% при гепатобилиарной карциноме. В настоящее время СА 19-9 является вторым по значимости маркером (после РЭА) для диагностики карциномы желудка. Его повышение наблюдают у 42- 62% больных раком желудка.

Применение. Диагностика, мониторинг лечения рака поджелудочной железы; диагностика гепатобиллиарной карциномы; раннее обнаружение метастазирования опухоли поджелудочной железы; злокачественные опухоли толстой кишки, желудка, желчного пузыря и желчных протоков, рак легкого.

**МУЦИНОПОДОБНЫЙ АССОЦИИРОВАННЫЙ АНТИГЕН**

Муциноподобный ассоциированный антиген (МСА) - опухольассоциированный антиген, присутствующий в клетках молочной железы, представляет собой сывороточный муцингликопротеид. Концентрация в сыворотке увеличивается при раке молочной железы и в 20% при доброкачественных заболеваниях молочной железы. Исследование МСА применяют для мониторинга течения рака молочной железы. При уровне «cut-off» 11 ед/мл МСА имеет специфичность 84% и чувствительность до 80% в зависимости от клинической стадии опухоли (Caffier H., 1992). При сочетании его определения с другими маркерами чувствительность не повышается. Исследование МСА применяют для мониторинга эффективности оперативного, химио- и лучевого лечения рака молочной железы.

|  |
| --- |
|  |

Применение. Диагностика рака молочной железы, мониторинг больных раком молочной железы, диагностика отдаленных метастазов рака молочной железы.

**РАКОВЫЙ АНТИГЕН СА-125**

Раковый антиген СА-125 - гликопротеин, присутствующий в серозных оболочках и тканях. Концентрация антигена повышается при заболеваниях этих тканей, беременности и менструации. Значительное увеличение уровня СА-125 в крови наблюдают иногда при различных доброкачественных гинекологических опухолях, а также при воспалительных процессах, вовлекающих придатки матки. Незначительный подъем уровня этого маркера выявляют также в первом триместре беременности, при различных аутоиммунных заболеваниях, гепатите, хроническом панкреатите и циррозе печени. Применяют этот маркер, главным образом, для мониторинга рака яичников и диагностики

его рецидивов. При уровне «cut-off» 65 ед/мл СА-125 имеет чувствительность до 87%, в зависимости от стадии и гистологического типа опухоли. У 83% больных раком яичника его уровень составляет в среднем 124-164 ед/мл (Mier W. et al., 1990). Регрессия опухоли или удаление ее хирургическим путем сопровождается уменьшением содержания СА-125 в крови. СА-125 коррелирует с ремиссией заболевания при химио- и химиолучевом лечении. Повышение уровня СА-125 в крови связано с прогрессированием опухолевого процесса.

Опухоли желудочно-кишечного тракта, карцинома бронхов и карцинома молочной железы могут также в некоторых случаях быть причиной значительного подъема уровня СА-125.

Применение. Диагностика серозного рака яичника; диагностика рецидивов рака яичника; мониторинг лечения и контроль течения рака яичников; диагностика новообразований родовых путей, брюшины, плевры; диагностика серозного выпота в полости (перитонит, плеврит); диагностика эндометриоза.

|  |
| --- |
|  |

**УГЛЕВОДНЫЙ АНТИГЕН СА-72-4**

Углеводный антиген СА-72-4 - муциноподобный опухольассоциированный антиген метастазирующих опухолевых клеток. Повышение его концентрации характерно для рака желудка, рака яичника и рака легкого. Особенно высокая концентрация в крови определяется у больных с карциномой желудка. При уровне «cut-off» 3 ед/мл СА-72-4 имеет специфичность 100% и предельную чувствительность 48% для карциномы желудка при дифференциации ее с доброкачественными желудочно-кишечными заболеваниями (Mann K., 1988). СА-72-4 - полезный маркер для мониторинга течения заболевания и эффективности терапии при карциноме желудка. Определение СА-72-4 имеет особое значение при слизеобразующей карциноме яичника. Повышенный уровень СА-72-4 изредка обнаруживается при доброкачественных и воспалительных процессах.

Применение. Диагностика рака желудка (специфичность 100%), яичника (аденокарцинома), бронхогенного немелкоклеточного рака легкого; мониторинг лечения и контроль течения рака желудка; диагностика рецидивов рака желудка; мониторинг лечения и контроль течения муцинозного рака яичника.

**РАКОВЫЙ АНТИГЕН СА-15-3**

Раковый антиген СА-15-3 - антиген мембраны клеток метастазирующей карциномы молочной железы. У здоровых может определяться на

эпителии секретирующих клеток и в секретах. СА-15-3 обладает достаточно высокой специфичностью в отношении карциномы молочной железы в сравнении с доброкачественными заболеваниями молочной железы и желудочно-кишечного тракта. Лишь иногда выявляют небольшое повышение маркера (до 50 ед/мл) у больных с циррозом печени. СА-15-3 главным образом используют для мониторинга течения заболевания и эффективности лечения рака молочной железы (Stieber P. et al., 1988). При прочих опухолях (карцинома яичников, шейки матки и эндометрия) повышение уровня маркера наблюдают только на поздних стадиях развития. Определение его концентрации используют для диагностики карциномы молочной железы, мониторинга рака яичников, простаты, легких, мониторинга лечения и диагностики рецидивов рака молочной железы.

|  |
| --- |
|  |

**БЕТА-ХОРИОНИЧЕСКИЙ ГОНАДОТРОПИН**

Бета-хорионический гонадотропин (β-ХГ) - гликопротеид, выделяемый синтициальным слоем трофобласта во время беременности. Он поддерживает активность и существование желтого тела, стимулирует развитие эмбриобласта. Выделяется с мочой. Обнаружение β-ХГ в сыворотке служит методом ранней диагностики беременности и патологии развития беременности. В онкологии определение β-ХГ используют для контроля лечения трофобластических и герминогенных опухолей. Период полужизни β-ХГ - 3 дня. У мужчин и небеременных женщин патологическое повышение уровня β-ХГ - признак наличия злокачественной опухоли.

Чувствительность при карциноме яичника и плаценты - 100%, при хорионаденоме - 97%, при несеминоматозных герминомах - 48-86%, при семиноме - 7-14%. Повышенный уровень β-ХГ наблюдают у 100% больных с опухолями трофобласта и у 70% больных с несеминомными опухолями яичка, содержащими элементы синцитиотрофобласта. Опухоль, содержащая 104-105 трофобластических клеток, продуцирует 1 МЕд/мл β-ХГ, определяемого в крови или моче (Стрижаков А.Н., Баев О.Р., 1995). Снижение уровня β-ХГ при лечении трофобластических опухолей может служить четким критерием эффективности терапии и благоприятного прогноза, поскольку подавляется рост наиболее агрессивных элементов опухоли.

Среди плацентарных трофобластических опухолей распространенность неинвазивной хорионаденомы составляет 1 случай на 2000 беременностей, а инвазивной хорионаденомы и хорионэпителиомы - 1 случай на 100 тыс. беременностей.

Герминомы яичек относят к одним из наиболее частых онкологических заболеваний молодых мужчин (20-34 лет). Поскольку гистологический тип

опухоли может меняться в ходе терапии, рекомендуют проводить сочетанное определение β-ХГ и АФП при герминомах. Семиномы, дисгерминомы и дифференцированные тератомы всегда АФП-негативны, опухоли желчного мешка всегда АФП-позитивны, в то время как карциномы или комбинированные опухоли могут быть, в зависимости от массы эндодермальных структур, АФП-позитивны или АФП-негативны. Таким образом, АФП является вторым после β-ХГ наиболее важным маркером для гермином. Совместное определение АФП и β-ХГ особенно показано в ходе лечения гермином. Профили этих двух маркеров могут не совпадать. Концентрация АФП падает до нормальных значений в течение 5 дней после радикальной операции, это падение отражает уменьшение общей опухолевой массы. После химиотерапии или радиотерапии, напротив, концентрация АФП отражает только уменьшение числа АФП-продуцирующих клеток, в связи со смешанным клеточным составом гермином определение β-ХГ необходимо для оценки эффективности терапии. Сочетанное определение АФП и β-ХГ позволяет достичь чувствительности 86% при диагностике рецидивов несеминоматозных опухолей яичка. Возрастающая концентрация АФП и/или β-ХГ указывает (часто на несколько месяцев раньше других диагностических методов) на прогрессирование опухоли и, следовательно, на необходимость изменения лечения. Изначально высокие значения АФП и β-ХГ в крови говорят о плохом прогнозе.

|  |
| --- |
|  |

**АНТИГЕН ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЫ**

Антиген плоскоклеточной карциномы (SCC) представляет собой гликопротеид с молекулярной массой 42 000 дальтон. Наиболее часто определение этого теста применяют для мониторинга течения и эффективности терапии плоскоклеточной карциномы шейки матки (чувствительность 70-85%), носоглотки и уха. SCC - маркером выбора для мониторинга течения и эффективности терапии плоскоклеточной карциномы шейки матки (Meier W. et al., 1989). Определение уровня SCC в крови позволяет не только обнаружить рецедив на ранней стадии, но отражает реакцию уже обнаруженной карциномы на проводимую терапию. Повышенный уровень SCC обнаруживают в 17% случаев немелкоклеточного рака и в 31% случаев плоскоклеточной карциномы легких (95% специфичности). Курение не оказывает влияния на уровень SCC.

**ПРОСТАТИЧЕСКИЙ СПЕЦИФИЧЕСКИЙ АНТИГЕН**

Простатический специфический антиген (ПСА) - гликопротеид, выделяемый клетками эпителия канальцев предстательной железы.

Период полужизни ПСА 2-3 дня. Значительное повышение уровня ПСА в сыворотке иногда обнаруживают при гипертрофии простаты, а также при воспалительных заболеваниях простаты. При уровне «cut-off» 10 нг/мл специфичность по отношению к доброкачественным заболеваниям простаты составляет 90% (Ambruster D., 1993). Пальцевое ректальное исследование, цистоскопия, колоноскопия, трансуретральная биопсия, лазерная терапия, задержка мочи также могут вызвать более или менее выраженный и длительный подъем уровня ПСА. Влияние этих процедур на уровень ПСА максимально выражен на следующий день после их проведения и наиболее значительно у больных с гипертрофией простаты. Исследование ПСА в таких случаях рекомендуют проводить не ранее чем через 7 дней после проведения перечисленных процедур.

|  |
| --- |
|  |

Исследование ПСА применяют для диагностики и мониторинга лечения рака предстательной железы, при котором концентрация его увеличивается, а также для мониторинга состояния пациентов с гипертрофией простаты в целях как можно более раннего обнаружения рака простаты. Уровень ПСА выше 4,0 нг/мл обнаруживают примерно у 80-90% больных раком и у 20% больных с аденомой предстательной железы. Таким образом, повышение уровня ПСА в крови не всегда свидетельствует о наличии злокачественного процесса. В нашей стране у 50% больных доброкачественная гиперплазия простаты сопровождается хроническим простатитом. Увеличение уровня ПСА в крови у больных раком простаты происходит быстрее, чем у больных с доброкачественной гиперплазией. Уровень общего ПСА более 50 нг/мл указывает на экстракапсулярную инвазию в 80% случаев и поражение региональных лимфатических узлов у 66% больных раком простаты. Имеется корреляция между уровнем ПСА в крови и степенью злокачественности опухоли. В настоящее время считают, что увеличение ПСА до 15 нг/мл и выше вместе с низкодифференцированным типом опухоли в 50% случаев указывает на экстракапсулярную инвазию и должно приниматься во внимание при определении объема оперативного вмешательства. При значениях ПСА от 4 до 15 нг/мл частота выявления рака простаты составляет 27-33%. Значения ПСА выше 4 нг/мл выявляют у 63% больных раком простаты стадии Т1 и у 71% больных раком простаты стадии Т2.

Мониторинг концентрации ПСА обеспечивает более раннее обнаружение рецидива и метастазирования, чем прочие методы. При этом изменения даже в пределах границ нормы являются информативными. После тотальной простатэктомии ПСА не должен выявляться,

обнаружение его свидетельствует об остаточной опухолевой ткани, региональных или отдаленных метастазах. Следует учитывать, что уровень остаточной концентрации лежит в пределах от 0,05 до 0,1 нг/мл, любое превышение этого уровня указывает на рецидив. Определение уровня ПСА проводят не ранее чем через 60-90 дней после операции в связи с возможными ложноположительными результатами из-за незавершенного клиренса ПСА, присутствовавшего в крови до простатэктомии.

|  |
| --- |
|  |

При эффективной лучевой терапии уровень ПСА должен снижаться в течение первого месяца в среднем на 50%. Уровень ПСА снижается и при проведении эффективной гормональной терапии. Контроль за уровнем ПСА у больных с леченым раком простаты следует проводить каждые три месяца, что позволяет своевременно выявить отсутствие эффекта от проводимой терапии.

Применение. Диагностика и мониторинг рака простаты; скрининг рака простаты у мужчин старше 50 лет (в динамике).

**СВОБОДНЫЙ ПРОСТАТИЧЕСКИЙ СПЕЦИФИЧЕСКИЙ АНТИГЕН**

Клиническая ценность определения ПСА в крови значительно возрастает при определении различных его форм, соотношение которых соответствует виду патологического процесса, протекающего в предстательной железе. В сыворотке крови ПСА находится в двух формах: свободной и связанной с различными антипротеазами. Содержание свободной формы составляет около 10% общего количества ПСА. Большая часть ПСА находится в комплексе с альфа-1-антитрипсином. Незначительная часть ПСА связана с альфа-2-макроглобулином и не определяется обычными ИФА-методами. Уровень свободного ПСА меняется в зависимости как от индивидуальных особенностей организма, так и от вида заболеваний предстательной железы. При наличии рака простаты в клетках опухоли повышается не только продукция ПСА, но и значительно возрастает синтез альфа-1-антитрипсина, в результате увеличивается количество связанной и снижается содержание свободной фракции ПСА при увеличении общей концентрации этого антигена. В результате содержание свободной фракции ПСА в сыворотке крови при раке простаты значительно ниже по сравнению с концентрацией свободного ПСА при доброкачественном процессе. На этом основана дифференциальная диагностика рака и гиперплазии простаты.

Сущность исследования заключается в параллельном определении общего ПСА и свободной фракции ПСА и расчете процента их соотношения: (свободный ПСА)/(общий ПСА) и 100%.

|  |
| --- |
|  |

Определение свободной фракции ПСА показано при увеличении общего ПСА. При значении этого соотношения ниже 15% необходимо проведение УЗИ и биопсии. Если этот показатель выше 15%, необходимо наблюдение и повторное обследование через 6 мес.

**НЕЙРОНСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЕНОЛАЗА**

Нейронспецифическая енолаза (НСЕ) - цитоплазматический гликолитический фермент, присутствующий в клетках нейроэктодермального происхождения, нейронах головного мозга и периферической нервной ткани. Повышение содержания НСЕ в сыворотке имеет место при мелкоклеточном раке легкого и нейробластомах, лейкозах, после лучевой и рентгенотерапии, после рентгенологического обследования. Концентрация НСЕ до 20 нг/мл и более может встречаться при доброкачественных заболеваниях легких, поэтому для клинической диагностики злокачественных заболеваний предпочтителен более высокий уровень «cut-off» - более 25 нг/мл (Ebert W., et al., 1990). Необходимо помнить, что НСЕ присутствует в эритроцитах, поэтому гемолиз завышает результаты исследования.

Определение уровня НСЕ наиболее показано при диагностике и мониторинге эффективности терапии мелкоклеточного рака легкого. Уровень НСЕ выше 25 нг/мл выявляют у 60% больных и выше 70 нг/мл - у 40% больных с мелкоклеточным раком легкого. Сочетанное определение НСЕ и CYFRA -21-1 увеличивает чувствительность диагностики карциномы легкого до 62%, в то время как при комбинации НСЕ и РЭА достигается чувствительность 57%.

Определение НСЕ показана при нейробластоме. При уровне «cutoff» 25 нг/мл, чувствительность в отношении данной опухоли составляет 85% (Cooper E.H. et al., 1987).

Применение. Диагностика, мониторинг лечения мелкоклеточного рака легкого, нейробластомы.

**ФРАГМЕНТ ЦИТОКЕРАТИНА 19**

Цитокератины - нерастворимые каркасные белки. В отличие от цитокератинов, фрагменты цитокератина растворимы в сыворотке. Цитокератины играют важную роль в дифференциации тканей. CYFRA-21-1 обладает хорошей специфичностью по отношению к доброкачественным заболеваниям легких, уровень «cut-off» 3,3 нг/мл обеспечивает специфичность 95%. Незначительный подъем уровня CYFRA-21-1 до 10 нг/мл обнаруживают при прогрессирующих доброкачественных заболеваниях печени и особенно при почечной недостаточности (Hasholzner U. et al., 1993).

|  |
| --- |
|  |

CYFRA-21-1 - маркером выбора для немелкоклеточной карциномы легкого. При специфичности 95% CYFRA-21-1 имеет значительно более высокую чувствительность (49%), чем РЭА (29%). Чувствительность CYFRA-21-1 при плоскоклеточной карциноме легких заметно выше (60%), чем чувствительность РЭА (18%). CYFRA-21-1 и РЭА обнаруживают сходную диагностическую чувствительность (42% и 40% соответственно) при аденокарциноме легких. Сочетание этих двух маркеров увеличивает чувствительность до 55% (Hasholzner U. et al., 1993). CYFRA-21-1 наиболее эффективен из всех известных маркеров для мониторинга течения мышечноинвазивной карциномы мочевого пузыря. При специфичности 95% CYFRA-21-1 имеет чувствительность 56% для инвазивных опухолей всех стадий. Чувствительность CYFRA-21-1 зависит от стадии заболевания: 4% на I стадии, более 33% на II стадии, 36% на III стадии и до 73% на IV стадии (Broers JL. et al., 1987). Более 50% опухолей мочевого пузыря не инфильтрируют мышечный слой. Их легко обнаруживают при урологическом обследовании. Труднее диагностировать инвазивные опухоли. Мониторинг маркера CYFRA-21-1 во многих случаях позволяет диагностировать такие формы карцином мочевого пузыря и шейки матки.

**СПЕЦИФИЧЕСКИЙ АНТИГЕН РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ**

Рак мочевого пузыря занимает четвертое место по распространенности форм рака у мужчин и девятое у женщин. Каждый пятый пациент в настоящее время умирает от этого заболевания в течение пяти лет. Определение САМРП в моче - скрининговый метод для диагностики рака мочевого пузыря, а также для динамического наблюдения за пациентами после оперативного лечения. Антиген выявляют у 90-94% больных при раке мочевого пузыря в стадии Т1-Т2-Т3. При эффективном оперативном лечении САМРП в моче исчезает, его появление свидетельствует о рецедиве заболевания.

|  |
| --- |
|  |

**БЕТА-2-МИКРОГЛОБУЛИН**

Бета-2-микроглобулин β2-МГ) - низкомолекулярный белок поверхностных антигенов клеточных ядер. Присутствие его в сыворотке обусловлено процессами деградации и репарации отдельных элементов клеток. Бета-2 -микроглобулин свободно проходит через мембрану почечных клубочков, 99,8% его затем реабсорбируется в проксимальном отделе почечных канальцев. Период полураспада бета-2-микроглобулина составляет приблизительно 40 мин. Уменьшение клубочковой фильтрации ведет к повышению уровня β2-МГ в сыворотке крови, нарушение функции

почечных канальцев приводит к экскреции больших количеств β2-МГ с мочой. Верхний предел реабсорбционной способности почечных канальцев достигается при концентрации β2-МГ в сыворотке 5000 нг/мл (Bataille R. et al., 1992). К состояниям, при которых повышается уровень сывороточного β2-МГ, относят:

•  аутоиммунные заболевания;

•  нарушения клеточного иммунитета (например, пациенты со СПИДом);

•  состояния после трансплантации органов.

Повышение уровня β2-МГ в спинномозговой жидкости у больных с лейкемией свидетельствует о вовлечении в процесс ЦНС.

Определение β2-МГ в крови и моче проводят больным при диагностике гломерулонефрита и канальцевых нефропатий, а также для выяснения прогноза у пациентов с неходжкинскими лимфомами и в особенности у пациентов со множественной миеломой (больные с повышенным уровнем имеют значительно более низкую продолжительность жизни, чем больные с нормальными значениями).

Определение β2-МГ используют для мониторинга лечения гемобластозов, миеломы, контроля активации лимфоцитов при трансплантации почки. Концентрация бета-2-микроглобулина в крови повышается при почечной недостаточности, острых вирусных инфекциях, иммунодефицитах, в том числе СПИДе, аутоиммунных заболеваниях, гемобластозах (В-клеточных), миеломе, острых лейкозах и лимфомах с поражением ЦНС. Концентрация в моче повышается при диабетической нефропатии, интоксикации солями тяжелых металлов (например, кадмия).

|  |
| --- |
|  |

**АЛГОРИТМ ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ НА ОНКОМАРКЕРЫ**

Факторы, влияющие *in vitro* на уровень ОМ в крови:

•  условия хранения сыворотки (на холоде);

•  время между взятием образца и центрифугированием (не более 1 ч);

•  гемолизированная и иктеричная сыворотка (НСЕ);

•  контаминация образца (РЭА, СА 19-9);

•  прием лекарственных препаратов (ПСА - аскорбиновая кислота, эстрадиол, ионы двух- и трехвалентных металлов, аналоги гуанидина, нитраты, митамицин).

Факторы, влияющие *in vivo* на уровень ОМ в крови:

•  продукция опухолью ОМ;

•  выделение в кровь ОМ;

•  масса опухоли;

•  кровоснабжение опухоли;

•  суточные вариации (взятие крови на исследование в одно и то же время);

•  положение тела в момент взятия крови;

•  влияние инструментальных исследований: рентгенография (НСЕ), колоноскопия, пальцевое исследование (ПСА), биопсия (АФП);

•  катаболизм ОМ - функционирование почек, печени, холестаз

(СА 19-9);

•  алкоголизм, курение. Показания к применению.

1. Дополнительный метод диагностики онкологических заболеваний в комбинации с другими методами исследований.

2. Ведение онкологических больных - мониторинг терапии и контроль течения заболевания, идентификация остатков опухоли, множественных опухолей и метастазов (концентрация ОМ может быть повышена после лечения за счет распада опухоли, поэтому исследование проводят спустя 14-21 дней после начала лечения).

3. Раннее обнаружение опухоли и метастазов (скрининг в группах риска - ПСА и АФП).

4. Прогноз течения заболевания.

**СХЕМА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОМ**

1. Определить уровень ОМ перед лечением и в дальнейшем исследовать те, которые были повышены.

2. После курса лечения (операции) исследовать через 2-10 дней (соответственно периоду полужизни маркера) с целью установления исходного уровня для дальнейшего мониторинга.

|  |
| --- |
|  |

3. Для оценки эффективности проведенного лечения (операции) провести исследование спустя 1 мес.

4. Дальнейшее изучение уровня ОМ в крови проводить с интервалом 3 мес в течение 1-2 лет, с интервалом 6 мес в течение 3-5 лет.

5. Проводить исследование ОМ перед любым изменением лечения.

6. Определять уровень ОМ при подозрении на рецидив и метастазирование.

7. Определять уровень ОМ через 3-4 нед после первого выявления повышенной концентрации.

Для рационального использования опухолевых маркеров необходимо, чтобы получаемая в результате тестирования информация была не только сама по себе корректной, но и представляла практическую ценность, т.е. позволяла выявлять заболевание или оценивать риск его возникновения у относительно здоровых лиц, и/или помогала врачу поставить больному правильный диагноз, и/или позволяла делать прогностические выводы, и/или помогала контролировать течение заболевания и оценивать эффективность проводимой терапии. Если в ходе исследования ни одна из перечисленных целей не достигается, исследование можно считать излишним.

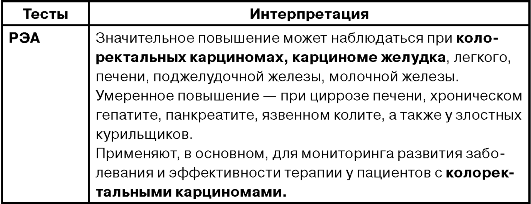
**ПЛАН ЛАБОРАТОРНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТА**

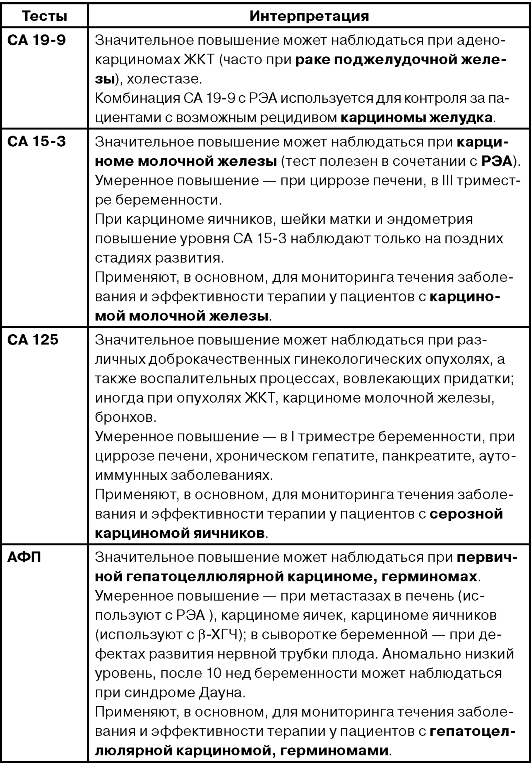
**СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМ НОВООБРАЗОВАНИЕМ**

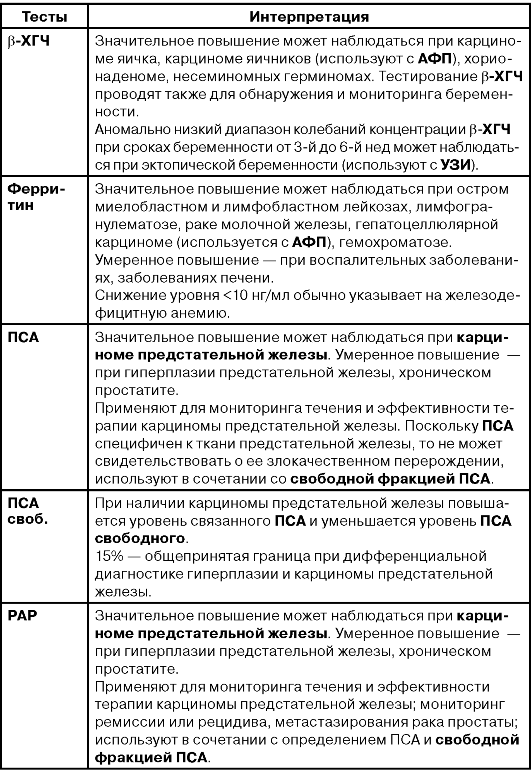
Алгоритм обследования при выявлении повышенного уровня онкомаркера (при подтверждении онкозаболевания другими методами, после хирургического, химиотерапевтического и другого вида лечения, мониторинг терапии).

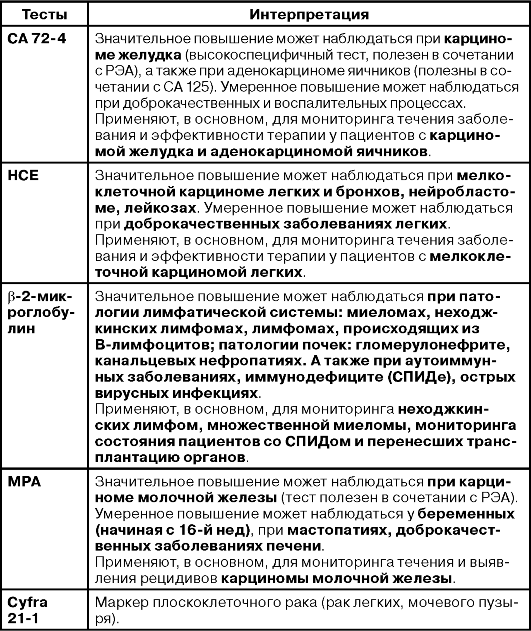


**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОНКОМАРКЕРОВ**









**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОНКОМАРКЕРОВ В ДИАГНОСТИКЕ**

**РАКА ЯИЧНИКОВ**

Опухольассоциированный маркер СА 125 рекомендован Международным противораковым союзом (VICC) для уточняющей диагностики

рака яичников и последующего мониторинга лечения. Это маркер реактивного мезотелия. Он экспрессируется в эпителии серозных оболочек плода и тканях, производных эпителия целомы. Основной источник маркера - эндометрий, что объясняет циклическое изменение уровня его в крови в зависимости от фазы менструального цикла (исследование его уровня производят только в 1-й фазе). При беременности СА 125 выявляется в крови в I триместре. Незначительное повышение этого маркера у здоровых женщин объясняют его синтезом в мезотелии брюшины, плевральной полости, перикаре, эпителии бронхов, маточных труб, у мужчин - в эпителии яичек. Дискриминационный уровень СА 125 - 35 ед/мл. Среднее значение у здоровых женщин составляет 11,0-13,0 ед/мл, у мужчин не превышает 10 ед/мл.

|  |
| --- |
|  |

При доброкачественных опухолях, воспалительных процессах уровень СА 125 не превышает 100 ед/мл. Мониторинг уровня этого маркера полезен для оценки эффективности лечения и преклинического выявления рецидивов эндометриоза. Повышение уровня СА 125 коррелирует со стадией данного заболевания. В целях раннего выявления рецидивов эндометриоза применяют мониторинг с использованияем СА 125 + СА 19-9 + РЭА.

СА 125 - маркер серозной карциномы яичника при его значении 150-200 ед/мл. Мониторинг его концентрации важен для оценки эффективности химиотерапии и оперативного вмешательства. При удаленной матке уровень его в крови снижается до 10 ед/мл. Повышение его до 35 свидетельствует о рецидиве процесса.

Дополнительным к СА 125 информативным маркером для рака яичников является СА 72-4. Высокий уровень этого маркера характерен для муцинозного рака яичников, рака легкого, желудка и толстого кишечника. Сочетание СА 125 и СА 72-4 можно использовать как дополнительный метод в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных опухолей этой локализации. Так, повышение уровня СА 72-4 с вероятностью более 90% свидетельствует о злокачественном процессе в яичниках.

Дополнительный маркер в мониторинге серозного рака яичника - СА 19-9. Во взрослом организме СА 19-9 является маркером железистого эпителия внутренних органов и продуктом их секреции в кровь. Выводится из организма желчью, поэтому холестаз может служить причиной повышения уровня маркера в крови. При эндометриозе, миоме матки уровень его повышен у 25% больных, у больных серозным раком яичника высокие уровни СА 19-9 встречаются в 40-45% случаев. При муцинозном раке яичника он является обязательным дополнением к маркеру СА 72-4,

так как более 80% пациентов имеют повышенный уровень. Таким образом, данный маркер может быть использован для мониторинга эффективности лечения и доклинического выявления рецидивов.

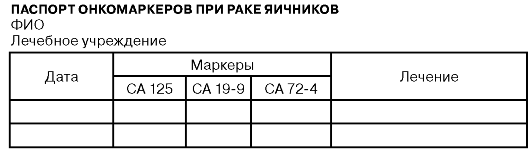
|  |
| --- |
|  |

**ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ ОПУХОЛЕВЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА ЯИЧНИКОВ**

1. Определение СА 125 для мониторинга эффективности лечения серозного рака яичника эндометриоидного, светлоклеточного и недифференцированного типов, а также доклинического выявления рецидивов заболевания в комплексе с другими диагностическими маркерами СА 19-9.

2. Определение СА 72-4 в сочетании с СА 19-9 для мониторинга эффективности лечения рака яичников муцинозного типа. Целесообразно проводить оценку этих маркеров в сочетании с СА 125.

Для пациентов, находящихся под динамическим наблюдением, заполняют паспорт для мониторирования уровня онкомаркеров.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОНКОМАРКЕРОВ В ДИАГНОСТИКЕ**

**РАКА ПРОСТАТЫ**

Простатоспецифический антиген (ПСА) - гликопротеин, вырабатываемый секреторным эпителием простаты. Он является наиболее патогномоничным и чувствительным из всех существующих ОМ для выявления органотропного рака на ранних стадиях. В этой связи данный антиген используют как на этапах диагностики рака предстательной железы (РПЖ), мониторинга больных, так и с целью скрининга неманифестирующих форм рака предстательной железы среди мужчин старше 50 лет. Уровень простатоспецифического антигена (ПСА) у мужчин до 49 лет не более 2,5 нг/мл, 50-59 - не выше 3,5 нг/мл, 60-69 лет - не более 4,5 нг/мл, старше

70 лет - не более 6,5 нг/мл. У большинства больных РПЖ уровень ПСА находится выше 20 нг/мл. Чувствительность теста при уровне ПСА более 20 нг/мл составила 93% при высокой специфичности. В качестве уточняющих методов диагностики рекомендуют использовать трансректальное УЗИ и пункционную биопсию с морфологическим исследованием материала.

Наибольшие трудности встречаются при дифференциальной диагностике РПЖ и доброкачественных поражений органа в группе мужчин с уровнями ПСА 4-10 нг/мл. Диагностику в этом случае основывают на определении фракций ПСА, как общей, так и свободной. Расчитывают соотношение свободной фракции ПСА к общему его содержанию. У здоровых лиц и при доброкачественных заболеваниях простаты это соотношение обычно превышает 20-25%. При РПЖ свободная форма усиленно связывается и соотношение св. ПСА/общий ПСА составляет менее 20-15%. При РПЖ снижается доля свободной ПСА и увеличивается общая форма ПСА, находясь в зависимости от объема опухоли. У больных с уровнем более 60 нг/мл, как правило, выявляют прорастание капсулы предстательной железы и отдаленные метастазы.

|  |
| --- |
|  |

Для оценки прогноза опухолевого процесса и мониторинга больных необходимо измерение экспрессии лактодегидрогеназы (ЛДГ), кислой фосфатазы или креатинфосфотазы, особенно у пациентов после оперативного лечения (удаления) простаты. Важный тест в диагностике метастазов - определение уровня в крови простатической кислой фосфатазы.

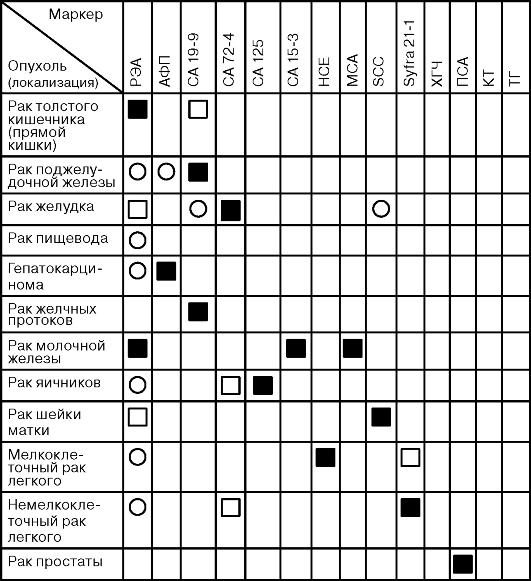
После радикальной простатэктомии единственным тестом, указывающим на ранний рецидив заболевания, является измерение уровня общего ПСА и простатической кислой фосфатазы. Определение производят не ранее чем через 60-90 дней после операции. Остаточная концентрация ПСА должна лежать в пределах 0,05-0,1 нг/мл. В дальнейшем измеряют уровень ПСА 1 раз в 4 мес и со 2-го года - 1 раз в 0,5 года. Превышение уровня ПСА в двух последующих определениях в 2 раза указывает на начало развития рецидива. Важна скорость нарастания в год - она не должна превышать 0,75 нг/мл.

При гормональной терапии больных РПЖ оценку ПСА следует осуществлять каждые 3 мес для выявления случаев неэффективности лечения и его последующей коррекции. Для выбора препаратов для гормональной терапии РПЖ необходимо исследовать в крови пациента с РПЖ уровень тестостерона, дигидротестостерона, соматомедина С и белка, связывающего соматомедин С. Именно дигидротестостерон повышает уровень ПСА и соматомедина С, которые усиливают пролиферацию клеток простаты.

Таким образом, роль и значение ОМ и других лабораторных тестов в современной онкологической клинике трудно переоценить. Расходы на хорошо зарекомендовавшие себя лабораторные тесты в условиях лимита и без того ограниченных средств в онкологии вполне оправданы с позиций не только ранней и своевременной диагностики рецидивов заболевания, выбора методов терапии опухолевых заболеваний, но и, в конечном итоге, с позиций снижения **нецелевых затрат на дорогостоящие химиопрепараты.**

|  |
| --- |
|  |

**СПЕКТР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ МАРКЕРОВ**

Окончание таблицы



**ДИАПАЗОН ПРИМЕНЕНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ МАРКЕРОВ**

Продолжение таблицы





**ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕСТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ ГРУПП РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

