

УДК 616-073.916

ПУХЛИННІ МАРКЕРИ: МОЖЛИВОСТІ, ЗАСТОСУВАННЯ, ПЕРСПЕКТИВИ

Бабенко О.С., Лошак М. Я., Чопей І.В., Пулик О.Р.

*Ужгородський національний університет, факультет післядипломної освіти, кафедра терапії та сімейної медицини, м. Ужгород***Ключові слова:** рак радіоімунологічний аналіз, ракові маркери, онкологія

Вступ. Захворюваність злоякісними новоутвореннями невинно зростає. Про масштабність цього явища свідчить той факт, що в Україні щорічно 160 тис. чоловік недужують на рак, 100 тис. чоловік помирають від раку. Серед хворих 1,1% дітей, 46,9% осіб працездатного віку і 52% – похилого і старечого віку. На обліку в онкологічних закладах стоїть більше 40 тисяч хворих [28].

Найбільш поширеними в структурі захворюваності чоловічого населення є рак легень (23,8%), шлунку (11,2%), шкіри (9,5%); у жінок – рак молочної залози (18,0%), шкіри (12,8%), тіла матки (7,8%). Смертність від раку повторює особливості захворюваності і характеризується стабільним ростом. Ведучі місця в структурі смертності від раку у чоловіків займають рак легень (28,9%), рак шлунку (14,3%), колоректальний рак (10,1%), у жінок – рак молочної залози (18,6%), колоректальний рак (13,3%), рак шлунку (12,1%). В останній час всі дослідники прогнозують підвищення захворюваності раком [28]. Тобто, проблему раку можна віднести до найважливішого медико-біологічного і соціально-економічного явища.

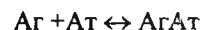
В онкології шляхи покращення результатів лікування пов'язують з наступними напрямками: рання діагностика, вдосконалення хірургічних методів лікування, розвиток комбінованих методів лікування. Іноді традиційні методи діагностики бувають недостатньо інформативними. Тому необхідно вишукувати нові діагностичні тести, результати яких не залежать від суб'єктивної думки спеціаліста, що виконує обстеження. До таких тестів можна віднести кількісне визначення пухлинних маркерів [5].

Матеріали та методи. Серед важливіших аналітичних систем, що базуються на використанні пухлинних маркерів виділяють радіоімунологічний (RIA), імуноферментний, хемілюмінесцентний чи флуоресцентний аналіз [4, 29]. Найбільш широке застосування в онкології має радіоімунологічний метод, який базується на насиченні специфічного зв'язуючого агента лігандом і конкурентній взаємодії мічених і немічених лігандів із зв'язуючими білками. Важливість радіоімунологічних методів для прогресу медицини і біології підтверджена присудженням Нобелівської премії за 1977 рік одному із засновників методу – R.S.Yalow.

Принципи радіоімунологічного аналізу (RIA) експериментально обґрунтували і розробили у 1960 році – R.S.Yalow та S.A.Berson, які вперше провели кількісне визначення інсуліну в сироватці крові. Пізніше були створені методи визначення гормонів підшлункової, щитовидної, статевих залоз, наднирників, гіпо-

фізу. У зв'язку з простотою, високою чутливістю, специфічністю, відсутністю променевого впливу на організм, великою пропускну здатністю методи радіоімунологічного аналізу отримують все більше використання у клінічній медицині та успішно конкурують з класичними біохімічними і біологічними методами. Їх використання дозволяє визначати критерії для диференційної діагностики, важкості захворювання, оцінити ефективність лікування і прогноз захворювання [20].

Радіоімунологічний аналіз складається з 4 основних етапів: інкубація, розділення, радіометрія, облік результатів. Метод базується на імунохімічній реакції між антигеном (Ag) і специфічним антитілом (At). В результаті взаємодії вихідних продуктів утворюється комплекс антиген-антитіло (AgAt), що дисоціює на вільні компоненти:



Для кількісної оцінки розподілу антигену між зв'язаною і вільною фазами використовують метод радіонуклідного розведення, в якому індикатором є мічений антиген, максимально ідентичний неміченому за своїми фізико-хімічними та імунологічними властивостями.

В імунології введення мітки здійснюють шляхом добавлення антигена, що містить радіоізотоп. Звичайно речовини, що містять тирозин або гістидин, мітять радіоактивним йодом (I^{131}). Ця мітка ліганда нестійка, але проста для радіометричного обстеження проб. У ліганди, що не містять вказаних амінокислот, вводять внутрішню мітку (атом водню заміщує тритій). Дана методика дозволяє зберігати мічені речовини тривалий час, але обмежена у використанні через високу вартість обстеження.

Розробка радіоімунологічних методів аналізу відкрила нові можливості діагностики злоякісних новоутворень шляхом виявлення у сироватці крові пухлинних маркерів.

Пухлинні маркери – це речовини, які виробляються пухлинними клітинами в значно більших кількостях, ніж нормальними [19, 29]. Від речовин, що продукуються нормальними клітинами, вони відрізняються якісно (пухлинноспецифічні), чи кількісно (асоційовані з пухлиною, присутні також в непухлинних клітинах). Використання онкомаркерів показане в наступних випадках:

- скринінг онкологічних захворювань;
- диференціальна діагностика раку і доброякісних утворень;
- оцінка поширеності процесу;
- прогноз;

- оцінка ефективності терапії;
- динамічне спостереження з метою раннього виявлення рецидивів і генералізації захворювання [23].

Ідеальним пухлинним маркером можна вважати той, який володіє високою специфічністю і чутливістю у відношенні до певного виду пухлин. Підвищений рівень маркерів має виявлятися вже при малих розмірах пухлини. Їх вміст у біологічній рідині повинен відображати зміни, що проходять у процесі лікування [47].

Але більшість відомих у наш час маркерів не завжди відповідають цим критеріям. Крім того, ще не вдалося розробити жодного специфічного діагностичного, здатного детектувати тільки злоякісну пухлину даного гістологічного типу. Поки що можна говорити лише про диференціацію пухлин з доброякісними новоутвореннями. У крові хворих з неонкологічною патологією рівень маркерів, як правило, не перевищує нормальної концентрації. При таких патологічних станах, як запальні захворювання печінки, підшлункової залози, легень іноді проявляється неспецифічне підвищення рівня маркерів [22]. При доброякісних захворюваннях рівні маркерів підвищуються у 2-3 рази, а при раках – в десятки, сотні разів.

Для того, щоб тест міг забезпечити максимально високу точність діагностики раку, він має відповідати наступним вимогам: результат аналізу має інтерпретуватися індивідуально, кількісно відображати зміни в клінічному протіканні, виявляти субклінічне протікання злоякісного росту, має бути надійним, щоб клініцист навіть при відсутності цитологічного обстеження міг приймати міри [22].

В клінічній практиці в якості маркерів використовують такі антигени:

- фетальні або ембріональні-раковоембріональний антиген, α -фетопротейн, α -онкофетальний антиген, панкреатичний онкофетальний антиген;

- плацентарні поліпептиди – хоріогонадотропін, плацентарний лактоген, плацентарна лужна фосфатаза, специфічні глікопротеїни вагітності;

- ектопічні ендокринні поліпептидні гормони – кортикотропін, кальцитонін, антидіуретин;

- тканинні секреторні продукти – імуноглобуліни, поліаміни, β_2 -мікроглобуліни, феритин, тироглобулін, К-казеїн;

- ферменти – галактозил-трансфераза, кисла фосфатаза простати.

Результати досліджень та їх обговорення. Ідентифікація і характеристика різних біохімічних компонентів крові, зв'язаних з злоякісними новоутвореннями, почалася кілька десятиліть тому (після відкриття альфафетопротейну і раковоембріонального антигену). За даними Г.А. Ткачової, α -фетопротейн виявили у 1963 у крові мишей і пацюків з хімічноіндукованою гепатомою Г.А. Абелев та інші, Ю.С. Татарінов виявив цей білок у хворих гепатоклітинним раком [23].

Ph. Gold, S. Freedman у 1965 році повідомили про виявлення раковоембріонального антигену, який був отриманий при імунізації кроликів екстрактами людської карциноми прямої кишки. У 1969 році

D.Thomson і співавтори розробили чутливий метод його радіоімунологічного визначення в екстрактах із тканин і сироватці крові хворих із різними видами пухлин [26].

Значну роль у скринінгу раку передміхурової залози відіграє визначення в сироватці крові рівнів простатичного специфічного антигену (ПСА) [10, 11, 29]. У чоловіків нормальна концентрація ПСА не перевищує 4 нг/мл. Значення маркера вище 30 нг/мл, як правило, свідчить про наявність злоякісного новоутворення. У хворих з вираженим раком відмічається концентрація 1000 нг/мл і більше. Інтерпретацію результатів визначення маркера необхідно проводити з врахуванням клінічних даних, так як незначне підвищення концентрації (до 10 нг/мл) можливе і при деяких доброякісних захворюваннях простати [22]. Рівень ПСА на початку, в середині і в кінці дистанційної променевої терапії відображає ефективність її проведення [58]. Крім того, швидкість зниження рівня маркера після лікування є більш цінною прогностичною ознакою, ніж вихідний рівень [46]. Для виявлення скритих метастазів у хворих раком простати можна використовувати рівень простатичної кислої фосфатази [35]. Для підвищення диференціально-діагностичних можливостей методу запропоновано додаткові показники ПСА [10,11].

Широке використання в практиці знайшов тест на визначення маркера СА-125. Цей глікопротеїн знаходиться в серозних оболонках і тканинах. В нормі його концентрація не повинна перевищувати 35 МЕ/мл. Рівень білка може підвищуватися у хворих пневмонією і важким цирозом печінки. СА-125 дуже інформативний у хворих раком яєчників і добре кофелює з наявністю метастазів [45]. Визначення підвищеного рівня маркера у крові і перитонеальній рідині дозволяє диференціювати рак яєчників з доброякісними гінекологічними процесами [40]. Концентрація маркера перед операцією є цінною прогностичною ознакою [48]. Високий рівень СА-125 після третього курсу хіміотерапії ідентифікує хворих, що погано реагують на подальше лікування [49]. Зміна концентрації маркера на 26% від його вихідного рівня передбачає клінічну реакцію на хіміотерапію другої черги у хворих епітеліальних раком яєчників. Хворі, що отримували хіміотерапію і мали рівень СА-125 менше 35 МЕ/мл, виликувалися [51].

Перспективним є визначення маркера СА 19-9. Це високомолекулярний глікопротеїн, що продукується ембріональним кишківником. У дорослих в нормі концентрація його в крові не перевищує 35 МЕ/мл і може незначно підвищуватися при хронічному панкреатиті, холангіті, цирозі. Критичним для диференційної діагностики хронічного панкреатиту і екзокринного раку підшлункової залози є значення вище 1000МЕ/мл [37]. Рівень маркера є чутливим і специфічним тестом для діагностики раку підшлункової залози [32]: у 90% хворих рівень СА 19-9 значно вищий, ніж у пацієнтів з іншою патологією і здорових. Тест може використовуватися як метод відбору осіб для поглибленого обстеження [16]. При цьому Ege-

Т. і співавтори показали неможливість використання тесту для ранньої діагностики раку підшлункової залози [38].

Крім того, підвищення рівня маркера спостерігається у 80% хворих раком жовчовивідних шляхів [8], в хворих первинним і метастатичним раком печінки [1]. У 31% хворих раком шлунку підвищується вміст СА 19-9 у сироватці крові [8]. Комбіноване визначення СА 19-9 з РЕА можна використовувати для контролю за пацієнтами з можливим рецидивом раку шлунку. Їх чутливість зростає до 94%. Mc Knight A. і співавтори у 1989 році показали неможливість використання його в популяції, схильній до захворюваності раком стравоходу через низьку чутливість методу [43].

Часто на практиці визначають рівень раковомембріального антигену (РЕА). Це глікопротеїн, що виробляється в шлунково-кишковому тракті плода. Високий його концентрація в сироватці крові не перевищує 5 нг/мл. При наявності онкологічного захворювання цей рівень невпинно зростає. Визначення рівня РЕА – максимально чутливий і специфічний тест для діагностики рецидивів і метастазів рака прямої кишки [15], крім того, він характеризує ступінь поширення пухлини [14]. Концентрація цього маркера підвищується у 55-70% хворих раком шлунку, у 67% хворих раком печінки, у 80% хворих раком товстої кишки, у 55-100% хворих раком підшлункової залози [8]. Порівняно з іншими маркерами (ТРА, СА19-9), РЕА має найвищу чутливість у хворих колоректальним раком [53]. Його концентрація в крові корелює з загальним станом хворого, характером метастазування, масою пухлини, реакцією на хімотерапію [30].

Г.А. Ткачова і співавтори у 1979 р. виявили підвищений рівень раковомембріального антигену у крові хворих аденокарциномою шлунку. Доведено, що вміст цього маркера у слизовій оболонці і шлунковому соці у здорових менший, ніж у хворих раком і має більше прогностичне значення [39]. Відмічається більша концентрація РЕА у хворих з диференційованими формами раку шлунку, ніж при недиференційованих і малодиференційованих формах [26]. Визначена залежність рівня маркера від стадії процесу. При метастазуванні в лімфатичні вузли його концентрація, як правило вища, ніж при відсутності метастазів.

Найбільш ефективним є використання рівня маркера в оцінці адекватності терапії і діагностиці рецидиву. Рівень маркера має значення перед операцією, але малоінформативний в післяопераційному періоді [41]. В той же час, Кадошук Т.А. і співавтори дослідили, що підвищення концентрації РЕА після операції передувало ідентифікації рецидиву, а зниження – свідчило про успішне лікування. Після радикального видалення пухлини вміст антигену в крові у післяопераційному періоді зменшується, а після паліативного втручання – не змінюється або підвищується. Характер зміни рівня маркера дає уяву про ефективність використання протипухлинних препаратів [9].

За рівнем у крові маркера хворі раком щитовидної залози істотно відрізняються від хворих аденомою і

здорових осіб [7]. Для діагностики рака легень визначають концентрацію РЕА в бронхоальвеолярних змивках. Високий рівень маркера дозволяє проводити диференційну діагностику з неонкологічними захворюваннями легень [12]. Крім того, у хворих бронхогенним раком підвищується вміст маркера у крові [59]. Визначення рівня РЕА і феритину у частини хворих з периферичним раком легень дає можливість підтвердити діагноз. При центральному раку високий рівень антигену свідчить про проростання пухлини в сусідні органи і тканини легені, дозволяє встановити стадію і операбельність захворювання. Нормальна концентрація обох маркерів у хворих з доброякісними захворюваннями легень дозволяє виключити онкологічний процес [6].

Themault R.L. і співавтори у 1989 році дослідили рівень РЕА перед і після ад'ювантної хімотерапії [56]. Концентрація маркера має прогностичне значення. Збільшення вихідного рівня у 2 рази в кінці хімотерапії свідчить про наявність у хворого метастазів.

В роботах [2, 3] показано, що тест на РЕА може бути критерієм для диференціальної діагностики злоякісних і доброякісних процесів. Обстежено 50 хворих, які знаходились на лікуванні в Ужгородському обласному онкологічному диспансері. Серед обстежених з нераковими захворюваннями визначено середній рівень РЕА в сироватці крові 3,7 нг/мл. Середня концентрація РЕА для хворих на рак шлунку I і II стадії 9,8 нг/мл. У хворих III стадії рівень маркера майже в 3 рази перевищує норму (13,9 нг/мл), у хворих IV стадії – більш ніж у 5 разів (25,9 нг/мл). Виявлена кореляція між рівнем маркера і ступенем поширення процесу дає додаткову інформацію для визначення стадії захворювання. Це підтверджує дані [25], що тест на РЕА інформативний в оцінці ступеню поширеності онкологічного процесу.

На жаль, раковомембріальний антиген неспецифічний і підвищується у хворих поширеними формами рака легень, шлунку, стравоходу, прямої кишки. Високий вміст цього маркера, феритину і пролактину може свідчити про наявність раку молочної залози. Рівні РЕА і СА дещо підвищуються при гіперплазії і мають значення для визначення ризику розвитку карциноми ендометрія [36].

Альфафетопропротеїн (АФП) – глікопротеїн, що виробляється в нормі жовточним мішком ембріона і печінкою плода. В нормі його концентрація не повинна перевищувати 10 МЕ/мл. Використовується в діагностиці гепатоцелюлярного раку печінки, метастазів інших пухлин у печінку, раку яєчка і яєчників. Вміст АФП у хворих раком печінки (розмірами до 3 см) підвищується у 75% хворих. При поєднаному використанні маркера з феритином інформативність тесту значно підвищується [55]. Рівень підвищується також у хворих з метастазами в печінку [17]. АФП можна використовувати для диференційної діагностики раку печінки з цирозом [33]. Рівень маркера корелює з наявністю антигена до вірусу гепатиту В і з прогнозом у хворих раком [52]. Шаков Е.В. і співавтори у 1990р.

показали, що α -фетопротейн дає можливість підтвердити наявність онкологічного процесу, але не має значення в диференційній діагностиці пухлин сечостатевої системи [27].

СА 15-3 – це антиген мембранних клітин карциноми молочної залози. Нормальний його рівень в крові не повинен перевищувати 35 МЕ/мл і може незначно підвищуватися у хворих цирозом (до 50 МЕ/мл.). Маркер у хворих поширеним раком молочної залози значно підвищується і корелює з ступенем поширеності метастазів [34]. Визначення рівнів СА 15-3 і РЕА дозволяє здійснювати моніторинг у цих хворих.

Чутливим тестом для передбачення поширеності онкологічного процесу і визначення рецидивування є концентрація онкофетального феритину у крові. Це дозволяє використовувати його для скринінга і діагностики раку молочної залози [50].

Практично ідеальним маркером для виявлення трофобластичних пухлин і злоякісних новоутворень із зародкових клітин є хоріонічний гонадотропін. При діагностиці карциноми яйця і плаценти його чутливість досягає 100%. Максимальний рівень маркера визначається при хоріонепітеліомі. Своєчасна діагностика захворювання дозволяє вилікувати 90-95% хворих без метастазів і 80% з метастазуванням [22].

Глутатіон S-трансфераза – це новий можливий маркер імуногістохімічного визначення карцином товстого кишківника. Тест можна використовувати у моніторингу лікування хворих раком [57].

Нейрон-специфічна енолаза (НСЕ) – гліколітичний фермент, що визначається у нейронах, нейроендокринних клітинах нервової системи. У клінічно здорових концентрація в крові – 0-15 нг/мл. Підвищення рівня маркера визначається у хворих мілкоклітинною карциномою легень, нейробластою, пухлинами нейроектодермального і нейроендокринного походження. Стійке зниження рівня енолази свідчить про ідентичне лікування, а підвищення вказує на неефективність терапії або появу рецидиву. Збільшення вмісту НСЕ можливе також при доброякісних захворюваннях легень. Критичним рівнем для диференціації мілкоклітинної карциноми є концентрація в крові 25 нг/мл. Визначення НСЕ можна вважати додатковим методом діагностики карциноми легень. Серійне вимірювання маркера в сироватці дозволяє передбачити ефект лікування [54].

Підвищення рівня сироваткової лактатдегідрогенази є неспецифічним і спостерігається у

хворих раком всіх локалізацій [44]. В якості маркера злоякісного росту можна використовувати плацентарну лужну фосфатазу. Найбільшу ефективність вона проявляє при діагностиці раку яєчників [15].

При злоякісних новоутвореннях шлунково-кишкового тракту відмічається підвищення концентрації лактоферину в крові. Так, у хворих раком шлунку, його концентрація досягає 1946 ± 536 нг/мл (нормальні значення 440-620 нг/мл) [22].

Встановлено наявність кореляції між рівнем іммуноглобуліну та інгібітора C_1 -ентерази (ІЕ) з поширеністю раку шлунку. Інформативність показника активності ІЕ в кілька разів вища, ніж клінічні дані. Підвищення її рівня до операції свідчило про наступ прогресування пухлини. Це дозволяє використовувати активність ІЕ для прогнозування раку [42].

У хворих з диференційованими формами раку щитовидної залози має значення визначення рівнів тиреоглобуліну в сироватці крові. В нормі концентрація тиреотропного гормону (ТТГ) в сироватці крові становить 0,25-4,0 МО/л. Тиреоглобулін не виявляється в крові пацієнтів, яким проведено тотальну тиреоїдектомію при відсутності метастазів. Його поява в крові свідчить про рецидив або наявність метастазів [29].

Висновки. Більшість відомих в наш час маркерів не в повній мірі відповідають критеріям специфічності і чутливості по відношенню до пухлин певного виду. Сучасний рівень розвитку імунологічного аналізу дозволяє говорити про диференціацію пухлин з доброякісними новоутвореннями. Іноді тест на пухлинний маркер є інформативним оцінці ступеню поширеності онкологічного процесу. Хоча при деяких патологічних станах (запальні захворювання печінки, підшлункової залози, легень) можуть проявлятися неспецифічне підвищення рівня маркерів.

Визначення концентрації маркерів розглядають як важливий метод діагностики при комплексному обстеженні пацієнта поряд з клінічними, рентгенологічними та ендоскопічними методами діагностики. Використання онкомаркерів виправдане в першу чергу тоді, коли основні методи діагностики є недостатньо інформативними. В провідних медичних центрах постійно ведуться роботи по пошуку пухлинних маркерів, які б з високою достовірністю дозволяли діагностувати рак задовго до появи клінічних симптомів особливо у пацієнтів з груп ризику.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аметов А.С., Касаткин Ю.Н., Митьков В.В., Гурьева И.В. Углеводный антиген СА19-9 в сыворотке крови больных доброкачественными и злокачественными заболеваниями печени // Медицинская радиология. – 1985. – №3 – С.39 – 41.
2. Бабенко О.С., Лошак М.Я., Лемко І.С., Щербіна О.В., Щадей О.І. Радиоімуннологічний аналіз рівнів раково-ембріонального антигену у хворих на рак шлунку //Променева діагностика, променева терапія.- 2003.- №15.- С.33-41.
3. Бабенко О.С., Лошак М.Я., Козодасва М.П. Тест на раково-ембріональний антиген як критерій діагностики раку шлунку //Променева діагностика, променева терапія.- 2003.- №15.- С.141.
4. Байерман К. Определение следовых количеств органических веществ. – М.: Мир, 1987. – С.347 – 354.
5. Блохина Н.Г. Принципы ранней диагностики некоторых злокачественных опухолей // Терапевтический архив. – 1989. – Т.6, №10. – С.27.
6. Замятин С.С., Захарычев В.Д. Использование радиоиммунологического определения раково – эмбрионального антигена и ферритина в диагностике рака легких // Клиническая рентгенология и радиология. –К.:Здоровье, – 1989. – С.101 – 105.