

Tumorski označevalci v klinični onkologiji

Srdjan Novaković

KAJ SO TUMORSKI OZNAČEVALCI?

Rezultat maligne transformacije je maligna celica, iz katere nastane ob vsaki nadaljnji delitvi nova maligna celica. V tem procesu pridobijo maligno spremenjene celice nekaj novih lastnosti, po katerih se razlikujejo od nemalignih celic istega izvora. Nastale spremembe se odražajo v spremenjeni morfoloiji, fiziologiji in rasti (obnašanju) celice. Te razlike med normalnimi in maligno spremenjenimi celicami uporabljamo za dokazovanje malignega procesa oz. malignih celic. Snovi, ki jih pri tem spremljamo, imenujemo tumorski označevalci.

Glede na to, da se tumorske celice od normalnih razlikujejo na različnih nivojih, se tudi tumorski označevalci med seboj razlikujejo in predstavljajo razmeroma širok pojem, ki zajema poleg različnih snovi tudi procese v celicah. Tako nam kot tumorski označevalci na primer lahko služijo membranski antigeni, hormoni, encimi, poliamini, nukleozidi, produkti onkogenov, produkti tumorskih supresorskih genov ali podatki o DNA ploidiiji celic in deležu celic v S-fazi celičnega ciklusa. Različna področja v onkologiji uporabljajo - odvisno od potreb in od tehnik za zasledovanje - različne tumorske označevalce: klinična onkologija ima »svoje«, molekularna biologija »svoje«, imunohistokemija »svoje«, fiziologija »svoje« ...

UPORABA TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

Teoretično so možnosti za uporabo tumorskih označevalcev v onkologiji številne, njihova dejanska uporabnost pa je odvisna od senzitivnosti in specifičnosti označevalca ter od zanesljivosti drugih metod, ki so na voljo za doseg tega cilja (Tabela 1).

TUMORSKI OZNAČEVALCI V KLINIČNI ONKOLOGIJI

Ustaljena definicija tumorskih označevalcev v klinični onkologiji zajema predvsem snovi, ki so produkt malignih celic, ali snovi, ki so nastale v drugih celicah pod vplivom delovanja malignih celic in jih lahko določimo v telesnih tekočinah. Tumorski označevalci so lahko bodisi novosintetizirane snovi, kakršnih v zdravem organizmu ne najdemo, bodisi snovi, ki so v normalnem organizmu prisotne v veliko nižjih koncentracijah.

V klinični onkologiji nam določanje tumorskih označevalcev lahko pomaga pri diagnozi bolezni in napovedovanju njenega poteka, pri določanju stadija bolezni in izbiri načina zdravljenja ter pri zgodnjem odkrivanju ponovitve in razširitve bolezni. Doslej znani

označevalci so manj primerni za odkrivanje primarnih malignih bolezni, zato jih le redko uporabljamo kot presejalno metodo. Poleg tega vseh označevalcev ne uporabljamo z istim namenom; nekateri so primernejši za spremljanje dinamike bolezni, drugi pa za zgodnje odkrivanje ponovitve bolezni.

Za lažjo interpretacijo rezultatov moramo napraviti več določitev tumorskih označevalcev v različnih stadijih bolezni ter spremljati gibanje njihovih koncentracij. Pri tem moramo upoštevati biološko razpolovno dobo, ki predstavlja čas, v katerem prvotna koncentracija (seveda brez nadaljnje tvorbe) pade na polovico. To v praksi pomeni, da pri bolniku z visokimi izhodiščnimi koncentracijami označevalcev ne smemo pričakovati, da se bodo te normalizirale takoj po uspešnem zdravljenju, ampak moramo upoštevati njihov biološki razpolovni čas in šele potem oceniti uspeh zdravljenja. Biološki razpolovni čas tumorskih označevalcev je različen in se giblje od nekaj ur do nekaj tednov.

Tumorski označevalci nam lahko služijo kot napovedni dejavniki. Spremljanje maligne bolezni pred zdravljenjem, med njim in po njem ter skrbna obdelava podatkov nam lahko veliko povesta o naravi maligne bolezni in s tem o

Tabela 1. Uporaba tumorskih označevalcev v onkologiji.

ZA SPREMLJANJE BOLEZNI	
določanje v telesnih tekočinah	<ul style="list-style-type: none"> • spremljanje odgovora na zdravljenje • zgodnje odkrivanje ponovitve bolezni • spremljanje razširjenosti bolezni • razlikovanje med malignimi in benignimi bolezni • presejalna metoda pri nekaterih vrstah raka
imunoscintigrafija in limfoscintigrafija	
imunohistokemija	<ul style="list-style-type: none"> • za diagnozo • za napoved poteka bolezni • za napoved odgovora na zdravljenje
ZA ZDRAVLJENJE	
direktna citotoksičnost specifičnih monoklonskih protiteles (MoAb)	<ul style="list-style-type: none"> • vezava komplementa na specifična MoAb • vezava citotoksičnih celic na specifične označevalce - receptorje
vezava zdravil na specifična MoAb	
vezava toksinov na specifična MoAb	
vezava radioaktivnih izotopov na specifična MoAb	
inhibicija receptorjev za rastne faktorje	

prognozi bolnika. Na splošno velja, da so izredno visoke koncentracije tumorskih označevalcev slab prognostični pokazatelj.

DOLOČANJE TUMORSKIH OZNAČEVALCEV V SERUMU

Tumorski označevalci imajo v telesnih tekočinah nizke koncentracije in za njihovo dokazovanje potrebujemo visoko senzitivno tehnologijo. Tehnike, ki jih danes uporabljamo, temeljijo bolj ali manj na podobnem principu - to je na določanju kompleksov antigena in protiteles. Najbolj razširjene tehnike so radioimunska metoda, encimskoimunska in luminometrično-imunska metoda. Med seboj se razlikujejo po spojini, ki je vezana na detekcijska protitelesa, in po načinu detekcije nastalih kompleksov. Vse našete metode so prilagojene dokazovanju izredno nizkih koncentracij antigena, tako da velikih razlik v njihovi senzitivnosti ni. Specifičnost metod je v veliki meri odvisna od kvalitete protiteles ter od specifičnosti protiteles za posamezen antigen oziroma tumorski označevalec.

SENZITIVNOST IN SPECIFIČNOST TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

Idealen tumorski označevalec naj bi bil prisoten samo v tumorskih celicah, značilen naj bi bil za organ in vrsto tumorja, določljiv v serumu vseh bolnikov z istim tipom tumorja, določljiv v serumu na začetku razvoja tumorja, njegove serumske koncentracije pa naj bi odražale dinamiko rasti tumorske mase. Poleg tega naj bi bile serumske koncentracije uporabne kot napovedni dejavnik poteka bolezni pri bolnikih z določenim tipom tumorja.

Vse do danes pa še ne poznamo antigenske strukture, ki bi obstajala samo v malignih tumorskih celicah, kar pomeni, da lahko protitelesa proti posameznim tumorskim označevalcem navzkrižno reagirajo tudi z drugimi antigenskimi strukturami. Zaradi tega ne moremo govoriti o povsem specifičnem označevalcu ali metodi za spremljanje prisotnosti malignih tumorskih celic. Pri vrednotenju rezultatov moramo vedno imeti v mislih, da maligna bolezen ni edini vzrok za povišane vrednosti tumorskih označevalcev, ampak da obstaja več faktorjev, ki vplivajo na njihovo koncentracijo.

Vlogo in uporabno vrednost posameznega tumorskega označevalca in metode za določeno vrsto rakave bolezni natančno opredelimo s pojmom senzitivnosti in specifičnosti (tabela 2). Senzitivnost označevalca pove, pri kolikšnem deležu bolnikov z določenim tumorjem je serumski (urinski, plazemski, likvorski) nivo označevalca povišan. Čim večji je delež bolnikov z istovrstnim tumorjem, pri katerih je nivo povišan, tem bolj senzitivnen je označevalec, zato pričakujemo minimalno število lažno negativnih določitev. Specifičnost predstavlja delež priskovancev, ki nimajo določene maligne bolezni in imajo

Tabela 2. Izračunavanje senzitivnosti in specifičnosti.

	označevalec povišan	označevalec normalen
število bolnikov z določeno vrsto maligne bolezni	A	B
število ljudi brez določene vrste maligne bolezni	C	D
senzitivnost = $A/(A+B)$; specifičnost = $D/(C+D)$.		

normalen nivo označevalca. To pomeni, da je označevalec tem bolj specifičen, čim manjkrat je prisoten pri ljudeh brez določene vrste tumorja oz. čim manj je lažno pozitivnih določitev.

Idealen tumorski označevalec naj bi bil potemtakem 100% senzitivnen in specifičen za vrsto maligne bolezni, njegova referenčna vrednost pa naj bi bila 0. Referenčna vrednost je tista arbitrarno določena koncentracija označevalca, nad katero govorimo o povišanih vrednostih. Ker kot tumorske označevalce zaenkrat uporabljamo snovi, ki so prisotne tudi v drugih celicah, je referenčna vrednost vedno večja od 0 in je postavljena tako, da dosežemo nek kompromis med specifičnostjo in senzitivnostjo označevalca. Večanje specifičnosti za določen označevalec pomeni istočasno zmanjšanje njegove senzitivnosti in obratno. Z drugimi besedami, referenčno vrednost moramo postaviti tako, da imamo čim manj lažno negativnih in čim manj lažno pozitivnih rezultatov.

Če je pri isti vrsti maligne bolezni mogoče določati več označevalcev, lahko z njihovo kombinacijo povečamo senzitivnost detekcije, vendar je pri tem treba upoštevati zmanjšano specifičnost. Če označevalce pravilno izberemo, se specifičnost detekcije lahko le minimalno zmanjša, medtem ko signifikantno povečamo senzitivnost. Pogoj za dobro kombinacijo različnih označevalcev je predvsem njihova visoka specifičnost in komplementarnost za isto vrsto tumorja. Kot primer dobre kombinacije označevalcev lahko vzamemo β HCG (humani horiogonadotropin) in AFP (α -fetoprotein) za neseminomske germinalne tumorje. Specifičnost vsakega od navedenih označevalcev je za to vrsto tumorjev več kot 90%, senzitivnost pa okrog 60%. Zaradi njune komplementarnosti (kar pomeni, da sta povišana pri različnih bolnikih) je senzitivnost kombinacije teh dveh označevalcev približno 95%.

Doslej smo govorili o specifičnosti in senzitivnosti označevalcev za posamezno vrsto raka. Lahko pa tumorske označevalce uporabljamo za dokazovanje malignega procesa na splošno, kar pomeni, da nas ne zanima, za kakšno vrsto raka gre, ampak nas zanima le potrditev, da pri bolniku obstaja maligna bolezen. V takšnih primerih nas zanima predvsem senzitivnost detekcije, manj pa njena specifičnost. Zato se takrat odločamo za kombinacijo več označevalcev s čim

LASTNOSTI IDEALNEGA TUMORSKEGA OZNAČEVALCA

- označevalec naj bi tvorila samo maligna tumorska tkiva
- vsak označevalec naj bi bil značilen za določen organ in tumor
- označevalec naj bi bil dokazljiv pri vseh bolnikih z istovrstnim malignim tumorjem
- označevalec naj bi se tvoril v zadostnih količinah, ki bi jih lahko zaznali že na začetni stopnji razvoja malignega tumorja
- serumske koncentracije označevalca naj bi odražale velikost tumorske mase

manj lažno negativnimi določitvami oz. čim višjo senzitivnostjo.

RAZDELITEV TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

Tumorske označevalce lahko razdelimo na več načinov: po kemični strukturi, po mestu nastanka, po vrstah tumorskih bolezni, pri katerih naj bi jih določali, itd. Najpogosteje uporabljena razdelitev poskuša strniti njihove biokemične lastnosti, mesto nastanka ter funkcionalnost. Po tej razdelitvi ločimo naslednje tumorske označevalce: onkofetalne proteine, hormone in/ali karcinoplacentarne antigene, encime, tumor spremljajoče antigene, posebne serumske proteine in skupino mešanih označevalcev.

Onkofetalni proteini

Onkofetalni proteini so antigeni, ki normalno nastajajo med embrionalnim razvojem. Pri odraslih je njihova tvorba omejena ali ustavljena. Povečane koncentracije teh antigenov pri odraslih so posledica ponovne aktivacije nekaterih genov, ki kontrolirajo rast celic in so neposredno povezani z malignim procesom.

Karcinoembrionalni antigen (CEA) je značilen predstavnik te skupine in eden od najdlje znanih tumorskih označevalcev. To je glikoprotein z molekularno maso okrog 180 KD, ki so ga prvič izolirali iz ekstrakta tkiva črevesnega adenokarcinoma. Med embrionalnim razvojem nastaja v epitelijskih celicah gastrointestinalnega trakta, jeter in trebušne slinavke. Takoj po odkritju so menili, da gre za idealen tumorski označevalec za rak širokega črevesa in danke, vendar se je hitro izkazalo, da je CEA prisoten tudi v nekaterih normalnih tkivih odraslih, npr. v črevesni sluznici in plevri, v bolezensko spremenjenih tkivih nemalignega izvora in v tkivih drugih malignih tumorjev.

Tako lahko povečane serumske koncentracije CEA, razen pri bolnikih z rakom širokega črevesa in danke, zasledimo pri hudih kadicah, pri bolnikih z bronhitisom, gastritisom, duodenalnim ulkusom, jetrnimi okvarami, pankreatitisom, polipi širokega črevesa in danke itd. Med bolniki z drugimi malignimi boleznimi in povišanimi serumskimi koncentracijami CEA bi našli bolnike z rakom trebušne slinavke, pljuč, dojke, želodca, ščitnice, jeter, mehurja, jajčnikov in endometrija.

CEA je kljub pomanjkljivostim pomemben označevalec za spremljanje bolnikov z rakom širokega črevesa in danke, saj ima 65% vseh bolnikov s to boleznijo (vključno s tistimi z lokalizirano boleznijo in stadijem I) in celo 100% bolnikov z metastatsko razširjeno boleznijo povišane serumske koncentracije tega označevalca. Poleg tega je to označevalec, ki ga lahko uporabljamo za spremljanje različnih drugih vrst malignih bolezni, zlasti raka dojke, jajčnikov, trebušne slinavke, pljuč in jeter. V področju koncentracij od 4 do 10 ng/ml najdemo tako

POMANJKLJIVOSTI DOSLEJ ZNANIH TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

- nezadostna specifičnost za vrsto rakave bolezni
- tvorba označevalcev v visokih koncentracijah pri nemalighnih procesih: različna vnetja, benigni tumorji, bolezni jeter in trebušne slinavke
- tvorba pri različnih fizioloških stanjih: nosečnost, menstruacija, laktacija
- tvorba v povsem zdravih tkivih

bolnike z malignimi kot tudi z benignimi boleznimi in celo nekatere hude kadicke, medtem ko so serumske koncentracije CEA nad 10 ng/ml bolj kazalec malignega procesa.

Alfa-fetoprotein (AFP) poznamo enako dolgo kot CEA. Odkrili so ga leta 1963 v serumu mišk s hepatocelularnim karcinomom. To je glikoprotein z molekularno maso okrog 70 KD, ki med embrionalnim razvojem nastaja v rumenjaki v vrečki, celicah epitelijskega gastrointestinalnega trakta in jeter. Med nosečnostjo prehaja AFP preko plodove krvi v amnijsko tekočino in preko placente v materino kri. Pri nosečnicah so

torej serumske koncentracije AFP odvisne predvsem od trajanja nosečnosti. Močno povišana serumska koncentracija AFP med nosečnostjo pa je lahko tudi znak za različne anomalije ploda, kot so npr. spina bifida, anencefalija in atrezija požiralnika, ali za prisotnost večjega števila plodov.

Pri odraslih zdravih osebah je AFP v krvi v izredno majhnih količinah. Normalne vrednosti AFP v serumu se vzpostavijo približno 9 mesecev po rojstvu. Povišane serumske koncentracije AFP (nad 10 ng/ml) pri odraslih zasledimo ob akutnem virusnem hepatitisu, jetrni cirozi, obstruktivnem ikterusu in pri nekaterih malignih boleznih, kot so rak trebušne slinavke, pljuč in želodca. Poseben pomen ima za spremljanje bolnikov s hepatocelularnim karcinomom (95-100% specifičnost in senzitivnost), kjer so koncentracije nad 1200 ng/ml tako rekoč potrditev primarnega jetrnega (hepatocelularnega) karcinoma, ter bolnikov z neseminomskimi germinalnimi tumorji (specifičnost 60%).

Hormoni

Maligne tvorbe lahko sprožijo spremembe v sintezi in izločanju različnih hormonov. Kvantitativne kot tudi kvalitativne spremembe v sintezi in izločanju nekaterih hormonov so lahko torej kazalec malignega procesa. O kvantitativnih spremembah govorimo takrat, ko se tumorji razvijejo v tkivu endokrinih žlez in se zaradi maligne transformacije celic produkcija hormona poviša ali zniža. V to skupino uvrščamo hormone endokrinih tumorjev kot so *parathormon*, *insulin*, *prolaktin*, *kateholamini* in drugi. Kvalitativne spremembe nastanejo takrat, ko maligno transformirane celice nekaterih organov (pljuča, dojke, želodec, centralno živčevje, jajčniki) začnejo tvoriti hormone - to je t.i. ektopična tvorba hormonov (npr. *kalcitonin* in *parathormon* pri raku dojke, *lipotropin* pri karcinoidnih tumorjih, *kalcitonin*, *insulin*, *parathormon* pri malignomih timusa).

Od vseh hormonov se je kot tumorski označevalec najbolj uveljavil *horiogonadotropin (βHCG)*. To je protein z molekularno maso okrog 45 KD, ga uvrščamo tudi v posebno skupino karcinoplacentarnih antigenov, to je proteinov, ki nastajajo v placenti med nosečnostjo in so pri odraslih prisotni le izjemoma. Na določanju tega hormona

temelji večina testov za zgodnje odkrivanje nosečnosti. Povečane serumske koncentracije β HCG lahko zasledimo skoraj pri vseh bolnicah z germinalnimi tumorji s trofoblastno komponento (horiokarcinomi) ali molo hidatidozo in pri večini moških bolnikov z germinalnimi tumorji. β HCG ima zelo kratek razpolovni čas v serumu (36-48 ur) in je zato uporaben za spremljanje odgovora na zdravljenje ter za prognozo. V kombinaciji z AFP je β HCG odličen označevalac za spremljanje germinalnih tumorjev. Po drugi strani okoli 10% germinalnih tumorjev ne izloča tumorskih označevalcev, zato jih pri teh bolnikih ne moremo uporabiti za diagnostiko in spremljanje bolezni. Rahlo povišane vrednosti β HCG lahko zasledimo tudi pri bolnikih z rakom dojke, želodca, pljuč, jeter ali širokega črevesa, vendar v klinični praksi za spremljanje teh bolnikov niso pomembne.

Encimi

Kot tumorski označevalci nam lahko služijo tudi nekateri encimi, katerih povečana tvorba je rezultat malignega procesa v organizmu.

Prostatična kislina fosfataza je encim, ki nastaja v normalnem tkivu prostate. Encim je sestavljen iz dveh identičnih podenot in ima molekulsko maso 100 KD. Povišane serumske koncentracije (nad 3 ng/ml) zasledimo pri bolnikih z rakom prostate in to običajno pomeni napredovalo fazo bolezni, ko tumor preraste kapsulo prostate. Zato je določanje prostatične kisline fosfataze primerno za razlikovanje benignih procesov (hipertrofije) od malignih. Treba je poudariti, da so lahko serumske koncentracije tudi do 5-krat višje od normale, če kri odvzamemo prej kot v 48 urah po kakršnemkoli fizikalnem pregledu prostate. Da se izognemo lažno pozitivnim določitvam, je torej potrebno kri za ta tumorski označevalac odvzeti pred pregledom ali več kot 48 ur po rektalnem pregledu.

Alkalna fosfataza obstaja kot vrsta izoencimov, ki nastajajo npr. v jetrih, kosteh ali v placenti. Povišanje serumskih koncentracij pri bolnikih z maligno boleznijo ponavadi pomeni metastatsko razširitev bolezni v jetra in/ali kosti ali prisotnost primarnega kostnega malignega tumorja (osteosarkoma).

Nevronska specifična enolaza (NSE) je citoplazemski glikolitični encim, ki so ga najprej dokazali v celicah nevroektodermalnega izvora in nevronih. Pozneje so ugotovili, da je prisoten tudi v tkivu tumorjev z nevroektodermalno ali neuroendokrino diferenciacijo. NSE je sestavljen iz dveh podenot, imenovanih α in γ . Izooblika γ/γ nastaja v nevronih in neuroendokrinih celicah. Povečana tvorba encima (nad 15 ng/ml) je lahko povezana z razvojem nevroblastoma, drobnoceličnega raka pljuč ali medularnega raka ščitnice. NSE je torej označevalac, čigar serumske koncentracije so pogosto povečane pri bolnikih s tumorji z neuroendokrino diferenciacijo.

Od ostalih (nespecifičnih) označevalcev v tej skupini omenimo še *laktat dehidrogenazo (LDH)*, ki je pogosto povišana v serumu bolnikov z limfomi in germinalnimi tumorji (seminomi), *gama glutamil transpeptidazo (GGT)*, ki naj bi kazala na holestazo in je pogosto zvišana zaradi

prisotnosti jetrnih metastaz, in *timidin kinazo (TK)*, ki naj bi pomagala pri presoji o razširjenosti bolezni pri bolnikih z levkemijo, limfomom, možganskimi tumorji, drobnoceličnim rakom pljuč ali rakom dojke.

Tumor spremljajoči antigeni

To je heterogena skupina označevalcev, ki zajema različne membranske strukture tumorskih celic. Sodobna tehnologija izkorišča možnost tvorbe specifičnih monoklonskih protiteles proti določeni antigenski strukturi, ki je najbolj značilna za določene tumorske celice. Zato so označevalci v tej skupini bolj specifični za določeno vrsto malignega tumorja kot ostali in pogosto njihove serumske koncentracije natančneje odražajo rast ali zmanjševanje tumorske mase. Ker pa še vedno ne poznamo antigenske strukture, ki bi bila strogo specifična samo za rakave celice, najdemo tudi te označevalce pogosto v tkivih, ki niso maligno spremenjena. Pri bolnikih z rakom pa so serumske koncentracije teh označevalcev statistično značilno višje kot pri zdravih odraslih in bolnikih z nemaligimi boleznimi.

Karcinomski antigen 15-3 (CA 15-3) je ogljikohidratni antigen z molekulsko maso okrog 300 do 450 KD. Določamo ga z dvema različnima monoklonskima protitelesoma, ki sta sposobni vezave na različna mesta antigena. CA 15-3 nastaja v sekretornem epiteliju (dojk, pljuč, gastrointestinalnih organov, maternice...) in je pogosto v izločkih zdravih odraslih ljudi. Povečane serumske koncentracije (nad 30 U/ml) zasledimo predvsem pri bolnicah z rakom dojke, vendar je nivo označevalca lahko povišan tudi pri drugih malignih boleznih, kot so rak pljuč, prostate, jajčnikov, materničnega vratu in gastrointestinalnega trakta. Torej CA 15-3 ni specifičen označevalac ne za organ ne za vrsto tumorja. Kljub temu je pri tistih bolnicah z rakom dojke, pri katerih se tvori, dober pokazatelj uspešnosti zdravljenja in poteka bolezni. Na nivo CA 15-3 v serumu lahko vpliva tudi prisotnost nekaterih netumorskih bolezni dojke in seveda prisotnost benignih tumorjev dojke, vendar v takih primerih serumska koncentracija le redko preseže 40 U/ml. Povišane vrednosti zasledimo tudi pri približno 8% nosečnic med 38. in 40. tednom nosečnosti.

Hkratno določanje CA 15-3 in CEA pri bolnicah z rakom dojke poveča senzitivnost (zmanjša število lažno negativnih določitev) in ohranja solidno specifičnost (majho število lažno pozitivnih določitev).

Mucinski karcinomski antigen (MCA) je označevalac, značilen za rak dojke. Specifičnost MCA za rak dojke z mucinsko komponento je več kot 80% in senzitivnost okrog 70%. Pri odraslih nastaja MCA v normalnem epiteliju dojke, ledvic, endometrija, uretre in prostate. Povišane serumske koncentracije MCA lahko zasledimo tudi pri bolnikih z drugimi malignimi tumorji epiteljskega izvora. MCA je dober označevalac za zgodnje odkrivanje ponovitve bolezni pri bolnicah z rakom dojke, uporaben pa je tudi za spremljanje dinamike bolezni in odgovora na zdravljenje. Zanimivo je, da so serumske koncentracije tega označevalca povišane pri 57% nosečnic, v tretjem trimesečju pa lahko celo v 100% primerov.

Zaradi nekomplementarnosti (pojavljata se pri bolnikih z istovrstnim tumorjem) določanje MCA v kombinaciji z CA 15-3 ne izboljša senzitivnosti in specifičnosti metode.

Karcinomski antigen 125 (CA 125) je značilen označevalec za rak jajčnikov. To je glikoprotein z molekulsko maso okrog 200 KD, ki nastaja pri več kot 80% bolnic z nemucinoznim rakom jajčnikov. Med embrionalnim razvojem nastaja CA 125 v celomskem epiteliju, Müllerjevih vodih, mezotelnih celicah plevre, perikarda in peritoneja. Pri odraslih je CA 125 prisoten v sluznici materničnega vratu in pljučnem parenhimu, zanimivo pa je, da ne nastaja v zdravem tkivu jajčnikov. Povišane serumske koncentracije CA 125 (nad 35 U/ml) najdemo razen pri bolnicah z rakom jajčnikov še pri bolnicah z benignimi in malignimi ginekološkimi boleznimi (endometrijoza, ciste jajčnikov, rak endometrija, rak materničnega vratu), kot tudi pri nekaterih bolnikih z neginekološkimi malignimi boleznimi, kot so rak pljuč, rak prostate in maligni mezoteliom peritoneja. Od vseh tipov raka jajčnikov je CA 125 najbolj zanesljiv in uporaben za spremljanje bolnic z epitelijem in nediferenciranim rakom jajčnikov.

Karcinomski antigen 19-9 (CA19-9) je glikolipid in je pravzaprav spremenjen Lewisov hapten iz sistema krvnih skupin. CA 19-9 je pogosto povečan v serumu bolnikov z gastrointestinalnimi tumorji. Monoklonska protitelesa proti tej mucinski antigenski determinanti reagirajo navzkrižno z različnimi mucinskimi molekulami, vendar samo pri osebah, ki imajo aktiven Lewis (Le^a) gen. Pri osebah, pri katerih je ta gen neaktiven in so Le^(a-b-), se ta antigenska determinanta sploh ne tvori in označevalec za spremljanje bolezni ni uporaben. Označevalec je sicer nekoliko bolj specifičen za rak trebušne slinavke in jeter, pogosto pa so serumske koncentracije CA 19-9 povišane pri bolnikih z rakom širokega črevesa, danke, želodca in jajčnikov. V relativno visokih koncentracijah ga je moč dokazati pri zdravih odraslih ljudeh v semenski tekočini, želodčnem soku, amnijski tekočini ter izločkih trebušne slinavke in dvanajstnika. Zato ga je smiselno določati le v serumu ali plazmi, kjer so koncentracije povišane le ob bolezenskih spremembah.

Prostatični specifični antigen (PSA) je 30 - 40 KD velik protein (serinska proteaza), ki so ga prvič izolirali iz ekstrakta tkiva prostate in semenske tekočine. Po tvorbi v tkivu prostate se izloča v semensko tekočino, kjer doseže izredno visoke koncentracije. Vloga te serinske proteaze je preprečiti koagulacijo semenske tekočine. Pri zdravih osebah preidejo v krvni obtok le izredno majhne količine PSA, tako da je njegova koncentracija v serumu zanemarljiva. Pri bolnikih s patološkimi spremembami prostate, zlasti z rakom, pa se količine, ki preidejo v obtok močno povečajo in s tem značilno naraste koncentracija v serumu.

V serumu se PSA pojavlja v neaktivni prekursorski obliki (M 30-40 KD) ali vezan na proteazne inhibitorje, kot so alfa-1 antihimotripsin (ACT), alfa-1 proteinazni inhibitor, alfa-2 mikroglobulin ali alfa-antitripsin (M 100-800 KD). Največji delež PSA je v kompleksu z ACT (60-90%) in v prosti prekursorski obliki (10-40%), medtem ko druge oblike predstavljajo manj kot 1% celotnega PSA v serumu.

Označevalec je visoko specifičen za rak prostate in njegove serumske koncentracije zelo dobro spremljajo velikost tumorske mase. Zaradi visoke senzitivnosti in izredno dobre korelacije s tumorsko maso uporabljamo PSA za spremljanje bolnikov z rakom prostate pogosteje kot prostatično kislom fosfatazo. Poleg tega uporabljamo metodo tudi za presejanje bolnikov z rakom prostate vendar le pri moških, ki so starejši od 50 let in ki imajo več dejavnikov tveganja (oče rak prostate, mati ali sestra rak dojke, debelost, več generacij z rakom prostate).

Z določanjem različnih oblik PSA ter s pravilno evaluacijo deležev prostega in celotnega PSA lahko dokaj zanesljivo napovemo, ali gre v prostati za benigno ali za maligno spremembo. Na splošno velja, da serumske koncentracije celotnega PSA nad 10 ng/ml odražajo malignen proces. Interpretacija izvidov med 2 in 10 ng/ml je težavna. Pri takšnih primerih si pomagamo z določanjem prostega in celotnega PSA: če je razmerje 0.2 ali manj, je verjetnost malignoma prostate velika, če pa je razmerje večje kot 0.2, govori to v prid benigne bolezni. Na osnovi digitalnega rektalnega pregleda, ultrazvočne preiskave prostate, pravilne interpretacije odnosa prostega in celotnega PSA ter eventualno na osnovi intenzitete izločanja na volumsko ali težnostno enoto (PSA density) prostate lahko z veliko gotovostjo sklepamo, za kakšen proces gre, in zmanjšamo število nepotrebnih biopsij za več kot 30%. Moramo pa se zavedati, da lahko na ta način spregledamo 6-10% bolnikov z rakom prostate. Tudi za PSA velja - podobno kot za prostatično kislom fosfatazo - da lahko koncentracija v krvi naraste zaradi fizikalnega pregleda prostate, zato je treba bolnikom kri odvzeti pred pregledom ali vsaj 48 ur po njem.

Posebni serumski proteini

Med posebne serumske proteine uvrščamo različne proteine. Med bolj znanimi je *feritin*, ki je odgovoren za znotrajcelično vezavo železa in detoksikacijo (npr. vezava prostih radikalov). Pod normalnimi pogoji najdemo visoke koncentracije tega proteina v jetrih, vranici in kostnem mozgu. Iz serumskih koncentracij ter odnosa različnih podenot tega encima lahko postavimo sum na maligno bolezen (H- podenota je prevladujoča v malignem tumorskem tkivu, medtem ko v normalnem tkivu prevladuje HL- podenota). Normalen nivo feritina v serumu se giblje od 8 do 440 ng/ml. Povišane koncentracije opažamo pri bolnikih z akutno levkemijo, limfomi (posebej Hodgkinovim limfomom), rakom pljuč, jeter in prostate.

Tiroglobulin je intracelularni glikoprotein, ki je odgovoren za nastanek in shranjevanje tiroksina. V nizkih koncentracijah ga lahko zasledimo v serumu večine zdravih ljudi (0-75 ng/ml), medtem ko so koncentracije izrazito visoke pri bolnikih z dobro diferenciranim folikularnim karcinomom ščitnice. Redkeje so vrednosti povišane pri anaplastičnem karcinomu, pri bolnikih z medularnim karcinomom ščitnice pa serumske koncentracije tiroglobulina ne spremljajo razvoja in dinamike tumorske bolezni.

Beta-2-mikroglobulin je protein, ki je identičen lahki verigi HLA in je zato na celični membrani skoraj vseh

diferenciranih celic. V nizkih koncentracijah (serumske koncentracije 1.2-2.5 ng/ml) ga je moč zaslediti v vseh telesnih tekočinah, in sicer vezanega na HLA ali prostega. Vzrokov za povečanje serumskih koncentracij je več: povečana sinteza proteina zaradi hitrejše delitve celic, hiter razpad celičnih membran in odmiranje celic ter močnejše delovanje imunskega sistema, kakor tudi zmanjšana filtracijska kapaciteta ledvic (98% se ga izloča preko ledvic). Povišane serumske koncentracije lahko zasledimo pri bolnikih z rakom pljuč, dojke, trebušne slinavke, širokega črevesa in danke, limfomi in kronično limfatično levkemijo (KLL).

S-100 protein so prvič izolirali iz govejih možganov. Prve predpostavke, da gre za specifičen možganski (ali nevralni) označevalac, so se pokazale kot netočne, saj je S-100 protein prisoten v različnih zdravih tkivih. Normalne koncentracije tega označevalca v serumu so pod 0.3 ng/ml. Poleg tega da je S-100 dober kazalec poškodb v centralnem živčnem sistemu, ga lahko uporabljamo tudi kot tumorski označevalac pri bolnikih z nevrinomom, glioblastomom, astrocitomom in meningeomom. Posebno vlogo naj bi imel kot napovedni dejavnik in za spremljanje zdravljenja pri bolnikih z malignim melanomom (<0.3 - 85% 3-letno preživetje; 0.3-0.6 - 50% 3-letno preživetje; >0.6 - 10% 3-letno preživetje).

Skupina različnih tumorskih označevalcev

Ta skupina zajema označevalce, katerih tvorba izredno dobro spremlja spremembe v hitrosti proliferacije celic. To je heterogena skupina označevalcev, ki niso specifični za posamezne tumorje, ampak na splošno nakazujejo možnost obstoja maligne bolezni. V to skupino uvrščamo poliamine, nukleozide in tkivni polipeptidni antigen (TPA).

Poliamine, kot so spermin, spermidin in putrescin, so dokazali v povišanih koncentracijah v urinu, kadar je šlo za hitro nadomeščanje celic določenega tkiva z novimi.

Nukleozida dimetilgvanozin in psevdouridin sta komponenti RNA, ki se enako kot poliamini izločata v cirkulatorni sistem v večjih količinah, kadar gre za povečano celično proliferacijo.

Tkivni polipeptidni antigen (TPA) je prav tako nespecifičen označevalac hitre delitve celic. Molekulska masa tega polipeptida je okrog 180 KD. Sestavljen je iz različnih citokeratinskih enot, in sicer citokeratina 19 (44%), citokeratina 18 (36%) in citokeratina 8 (30%). Med embrionalnim razvojem je v različnih tkivih ploda in v placenti. Pri odraslih je TPA sestavni del celičnega skeleta normalnih in tumorskih celic. Nastaja med S-fazo celičnega ciklusa in njegove koncentracije odražajo hitrost delitve celic. Hitrejša delitev celic narekuje hitrejšo sintezo TPA in večje količine tega polipeptida preidejo v cirkulatorni sistem. Zaradi tega je TPA splošen označevalac, ki spremlja patološko proliferacijo celic (največkrat prisotno pri maligni transformaciji) ne glede na vrsto ali lokalizacijo tkiva. Za razliko od drugih označevalcev serumske koncentracije TPA slabo odražajo velikost tumorske mase. Normalne serumske koncentracije TPA se gibljejo do 90 U/ml. Koncentracije, višje od 120 U/ml, so lahko posledica malignega, lahko pa tudi benignega procesa.

BIOLOŠKI FAKTORJI, KI LAHKO VPLIVAJO NA SERUMSKE KONCENTRACIJE TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

Glede na to, da idealnega tumorskega označevalca ni in da snovi, ki jih uporabljamo kot tumorske označevalce, ne nastajajo samo in izključno kot spremljevalci malignega procesa, omenimo nekaj osnovnih dejavnikov, ki lahko vplivajo na serumske koncentracije tumorskih označevalcev:

Lažno pozitivni rezultati

- vnetni procesi;
- benigne bolezni jeter ter posledične motnje metabolizma in izločanja (AFP, TPA, CEA, CA 19-9, CA 15-3);
- motnje v delovanju ledvic (beta-2-mikroglobulin, kalcitonin, PSA, CEA, CA 19-9, CA 15-3);
- obsežna tumorska nekroza;
- posledice diagnostičnih in terapevtskih postopkov (rektalni pregled, mamografija, operativni poseg, radio- in kemoterapija);
- fiziološka stanja (nosečnost - βHCG, CA 125, CA 15-3, MCA, AFP; menstrualni ciklus - CA 125).

Lažno negativni rezultati

- popolen izostanek sinteze (npr. CA 19-9 pri Le^(a-b) osebah);
- slabo izražene antigenske determinante (ali tvorba samo v nekaterih tumorskih celicah);
- slaba prekrvavitev tumorja;
- nastajanje imunskih kompleksov z organizmu lastnimi protitelesi;
- hiter razpad in izločanje antigenov.

KDAJ DOLOČATI TUMORSKE OZNAČEVALCE?

- pred operativnim posegom in pred kakršnim koli drugim zdravljenjem (radioterapijo, kemoterapijo, hormonsko ali biološko terapijo);
- po operativnem posegu, med zdravljenjem in po končanem zdravljenju, enkrat na 3 do 6 mesecev do drugega leta, pozneje pa enkrat na leto oz. ob rednih pregledih;
- ob sumu na ponovitev ali napredovanje bolezni;
- pred spremembo terapije;
- najmanj 3 tedne po začetku nove terapije;
- 2-3 tedne po določitvi povišanih koncentracij tumorskega označevalca.

Predloženi načrt določanja zajema v grobem večino tumorskih označevalcev. Seveda so v klinični onkologiji potrebe velikokrat drugačne, zato moramo dinamiko določanja prilagoditi vrsti in lastnostim tumorja ter planiranju načinov zdravljenja. Z drugimi besedami, gornja tabela predstavlja le približen načrt, ki ga moramo prilagoditi za vsakega bolnika posebej ob upoštevanju dejstva, da je vsak bolnik kontrola samemu sebi (vedno spremljamo dinamiko gibanja koncentracij).

SKLEP

Določanje tumorskih označevalcev za spremljanje dinamike maligne bolezni je danes uveljavljena in marsikdaj nenadomestljiva onkološka laboratorijska metoda. Tumorski označevalci so zanesljivi predvsem pri spremljanju odgovora na zdravljenje ter pri zgodnjem odkrivanju ponovitve bolezni (pred pojavom kliničnih znakov bolezni). Zaradi pomanjkljivosti so le redko uporabni kot presejalna metoda ali kot edino diagnostično sredstvo, so pa v kombinaciji z drugimi metodami pomembni za postavitev diagnoze in pri odločanju o zdravljenju. Poleg tega lahko kombiniramo več tumorskih označevalcev in s tem dosežemo večjo specifičnost ali senzitivnost pri spremljanju posamezne vrste maligne bolezni. Enostavnost in neinvazivnost metode za določanje tumorskih označevalcev omogočata sledenje bolezni tudi pri bolnikih, pri katerih drugi načini diagnostike niso možni.

Zaradi individualnih razlik v vsebnosti posameznih označevalcev v serumu priporočamo večkratno določanje označevalcev ter spremljanje gibanja serumskih koncentracij (tudi takrat, ko so pod normalno vrednostjo). Idealno bi bilo, če bi nivo označevalcev vsakemu bolniku določili pred začetkom zdravljenja, nekajkrat med zdravljenjem (odvisno od načina zdravljenja, vrste maligne bolezni ter vrste označevalca) ter po končanem zdravljenju. Tumorske označevalce moramo pri bolnikih spremljati daljši čas tudi po končanem zdravljenju, najbolje ob rednih polletnih ali letnih kontrolnih pregledih. Tako bomo lahko tudi pri bolnikih brez kliničnih znakov pravočasno odkrili ponovitev bolezni. Iz posamičnih določitev lahko sklepamo o prisotnosti oz. razširjenosti tumorske bolezni, vendar le v primeru, če so serumske koncentracije označevalcev močno povišane.

Pri bolnikih na paliativnem in simptomatskem zdravljenju določanje tumorskih označevalcev ni več smiselno. Če so bile pred začetkom zdravljenja vrednosti tumorskih označevalcev normalne in se ob napredovanju ali nazadovanju bolezni niso spreminjale, je malo verjetno, da

se bodo ob ponovitvi bolezni zvišale. Pri takih bolnikih je nesmiselno zasledovati tumorske označevalce tako med zdravljenjem kot po njem. Tudi zato je pomembno, da tumorske označevalce določimo pred začetkom zdravljenja in ugotovimo, ali jih je pri določenemu bolniku smiselno spremljati.

Literatura:

1. Hill RP, Tannock IF. Introduction: cancer as a cellular disease. In: Tannock IF, Hill RP, eds. *The basic science of oncology*. New York: Mc Graw-Hill, 1992:1-4.
2. Squire J, Philips RA. Genetic basis of cancer. In: Tannock IF, Hill RP, eds. *The basic science of oncology*. New York: Mc Graw-Hill, 1992:41-60.
3. Malkin A. Tumor markers. In: Tannock IF, Hill RP, eds. *The basic science of oncology*. New York: Mc Graw-Hill, 1992:196-206.
4. Novaković S, Krošl G, Plesničar S. Prognostic value of a mucin-like carcinoma-associated antigen (MCA) in patients with breast carcinoma. *Tumor Diagn Ther* 1989; 10:136-41.
5. Novaković S, Marolt F, Serša G. The use of MCA and CEA in prostatic cancer follow-up. *Radiol Jugosl* 1990; 24:417-21.
6. Novaković S, Serša G, Krošl G, Plesničar S. CEA, MCA and CA 125 tumor markers in pregnant women. *Radiol Jugosl* 1990; 24: 79-84.
7. Novaković S, Serša G. Tumor markers in clinical oncology. In: Benulič T, Serša G, Kovač V, eds. *Advances in Radiology and Oncology*. Ljubljana: Radiologia Jugoslavica, 1992:214-20
8. Jezeršek B, Červek J, Rudolf Z, Novaković S. Clinical evaluation of potential usefulness of CEA, CA 15-3, and MCA in follow-up of breast cancer patients. *Cancer Lett* 1996; 110:137-44.
9. Eissa S, Shoman S, eds. *Tumor markers*. London: Chapman & Hall, 1998:406.
10. Rubin P, ed. *Clinical oncology: A multidisciplinary approach for physicians and students*, 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993:791.