



# NÁDOROVÉ MARKERY

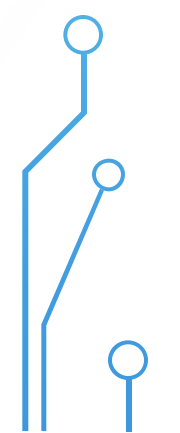
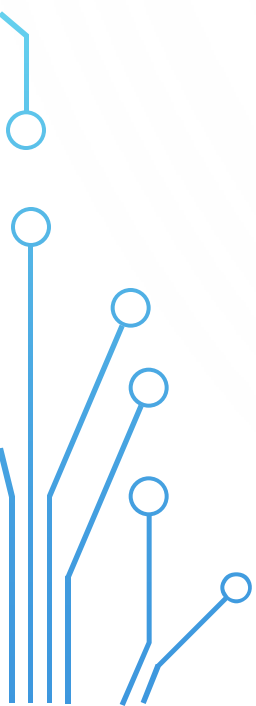
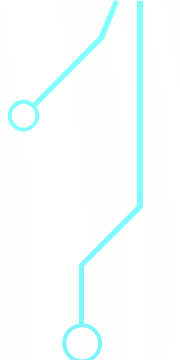
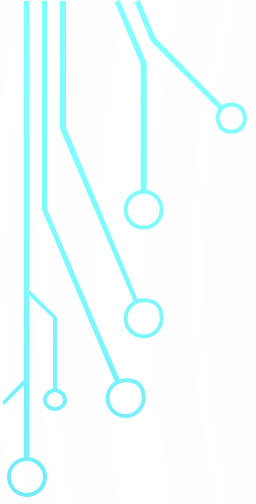
DALIBOR VALÍK

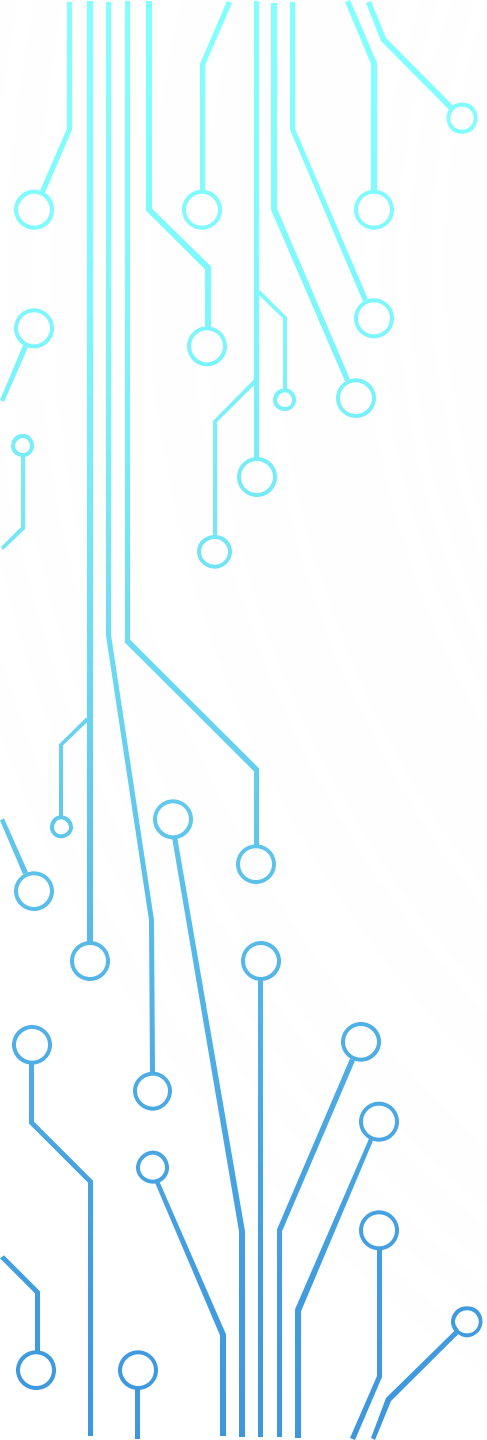
LENKA ZDRAŽILOVÁ DUBSKÁ

*ÚSTAV LABORATORNÍ MEDICÍNY FN BRNO*

*KATEDRA LABORATORNÍCH METOD LF MU*

INASKO





# MALIGNÍ ONEMOCNĚNÍ NÁDOROVÉ MARKERY

- **benigní nádory:** rostou pomalu, kompaktně a nešíří se
- **maligní nádory:** neostře ohraničené, v parenchymu se častěji objevují nekrózy, překotný růst, histologicky se s rozvojem nádorového onemocnění může postupně ztrácet podobnost s výchozí tkání, recidivují, šíří se do okolí, zakládají metastázy, kachektizují nositele

# MALIGNÍ ONEMOCNĚNÍ

- Vykazuje obvykle řadu laboratorně zjistitelných abnormalit, jež jsou svým charakterem nespecifické
- Často dochází k situaci, že tyto abnormality mohou předcházet vývoji manifestního onemocnění – někdy po dlouhou dobu

# DIFERENCIÁLNÍ DIAGNÓZA Z LABORATORNÍHO POHLEDU – NEJVÝZNAMNĚJŠÍ NÁLEZY

- anémie, trombocytopenie
- neutrofilie, monocytóza
- změněné jaterní testy, např. LDH
- elektroforéza sérových bílkovin (M-spike)
- tendence k hyperkoagulaci
- zvýšená sedimentace

# - NÁDOROVÉ MARKERY -

solubilní (tělní tekutiny):

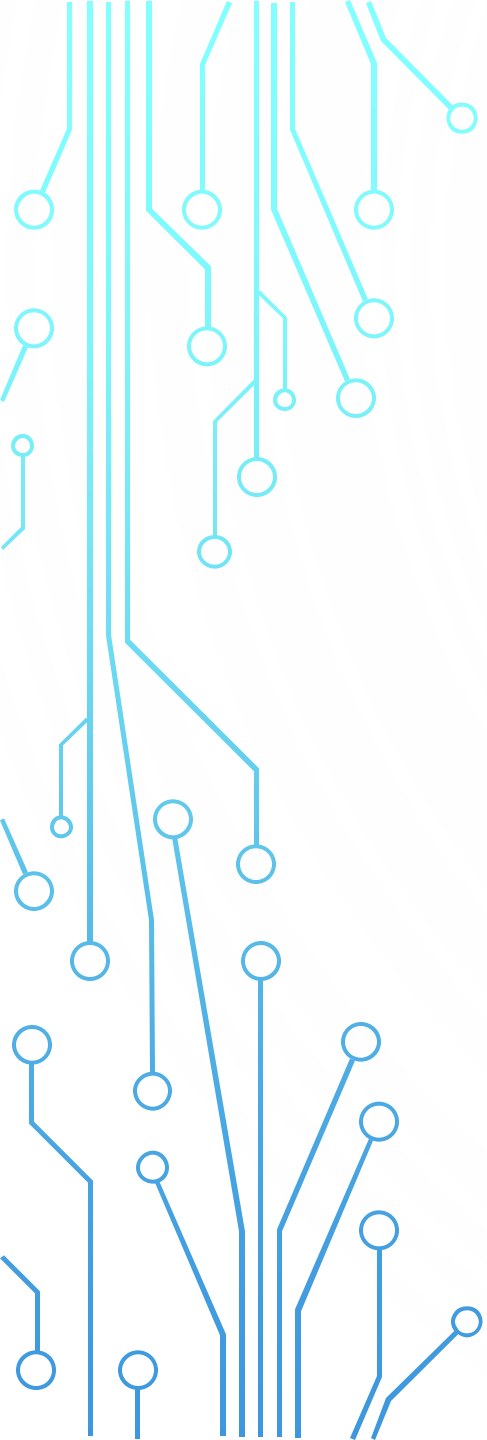
- enzymy (LDH, NSE, PSA etc)
- hormony (katecholaminy, hCG, ACTH)
- metabolity
- onkofetální antigeny: AFP, CEA,
- „specifické“ antigeny: CA15-3, CA19-9, CA125

buněčné (BM, tkáň tělní, tekutiny):

- přítomnost abnormálních buněk
- přítomnost abnormálních vlastností

NA-based (nádorové buňky):

- Chromozomy
- Genom (dědičné, de novo)
- mRNA



# PRINCIPY IMUNOANALYTICKÝCH METOD PRO STANOVENÍ TM

## INTERFERENCE

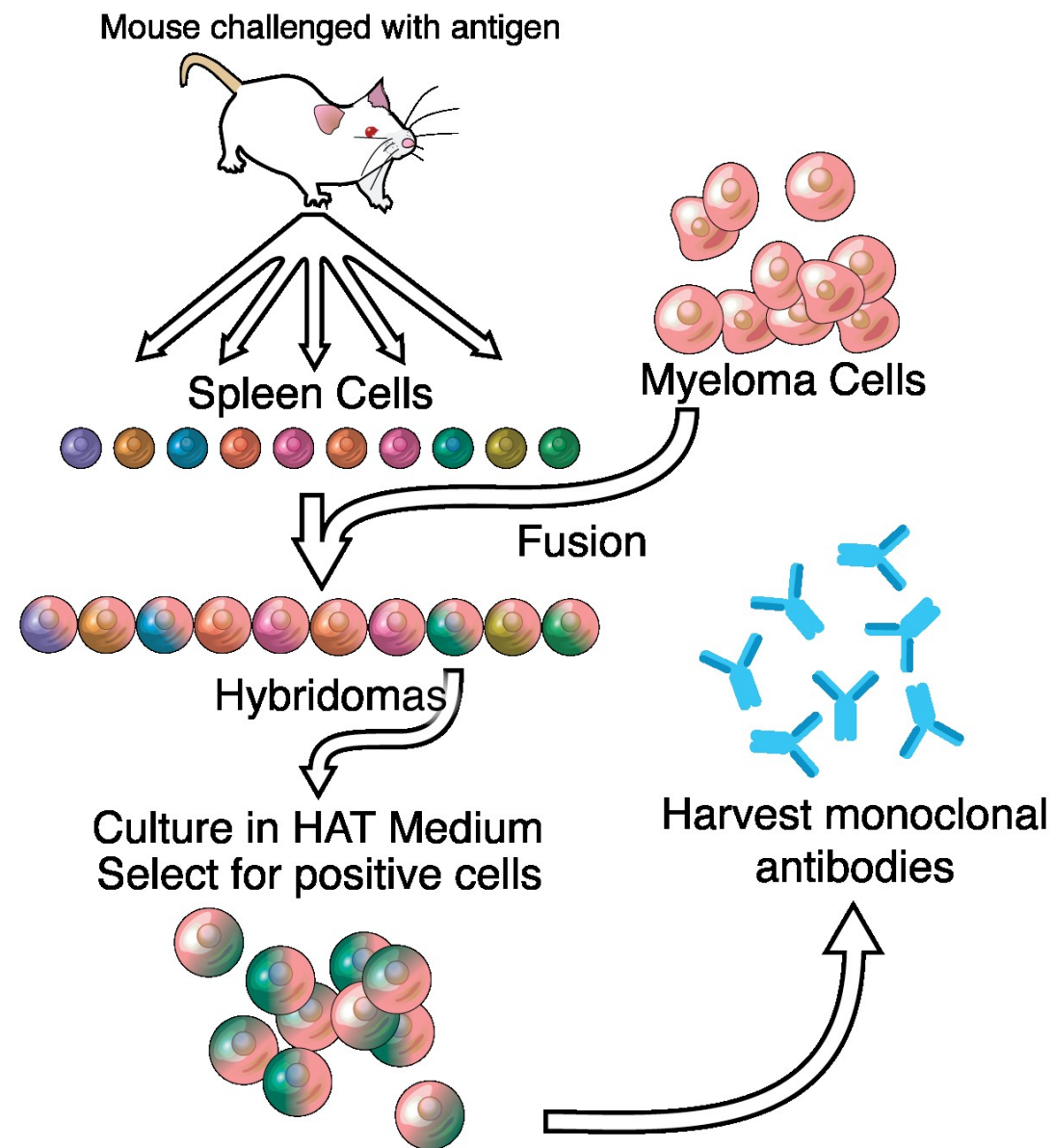


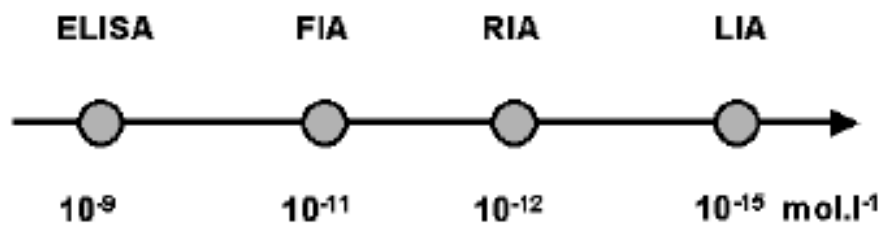
# ANALYTICKÉ METODY - SOLUBILNÍ NÁDOROVÉ MARKERY:

- Kvantitativní imunoanalýza - dominantně
  - Manuální ELISA, CLIA, ....
- určení aktivity enzymů
- určení vazebné kapacity
- chromatografické techniky
- hmotnostní spektrometrie

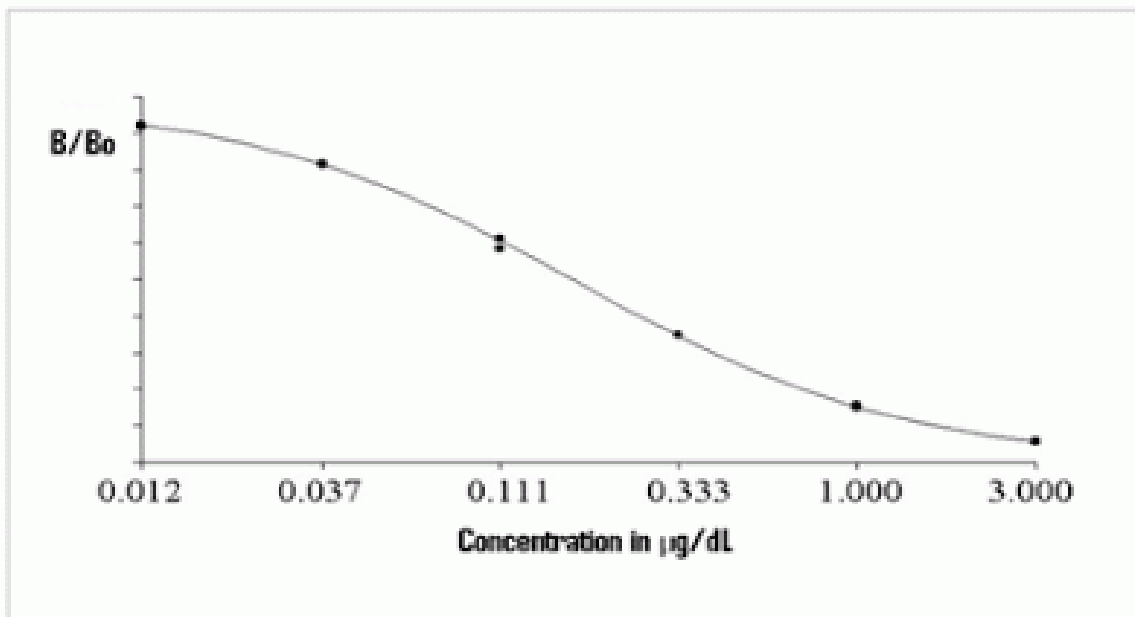
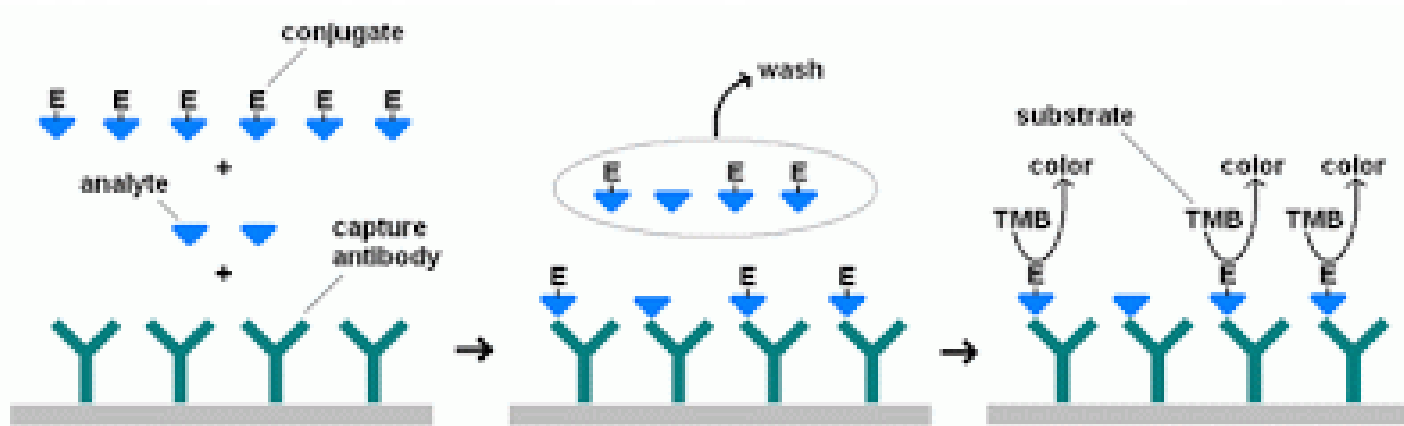


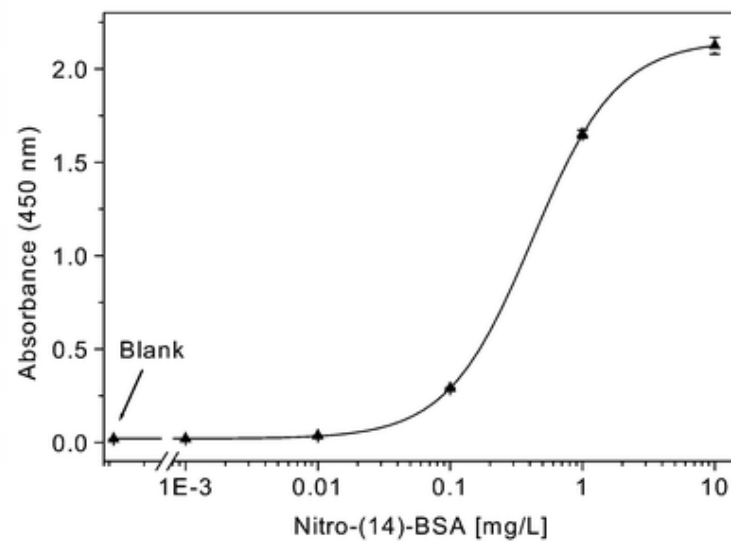
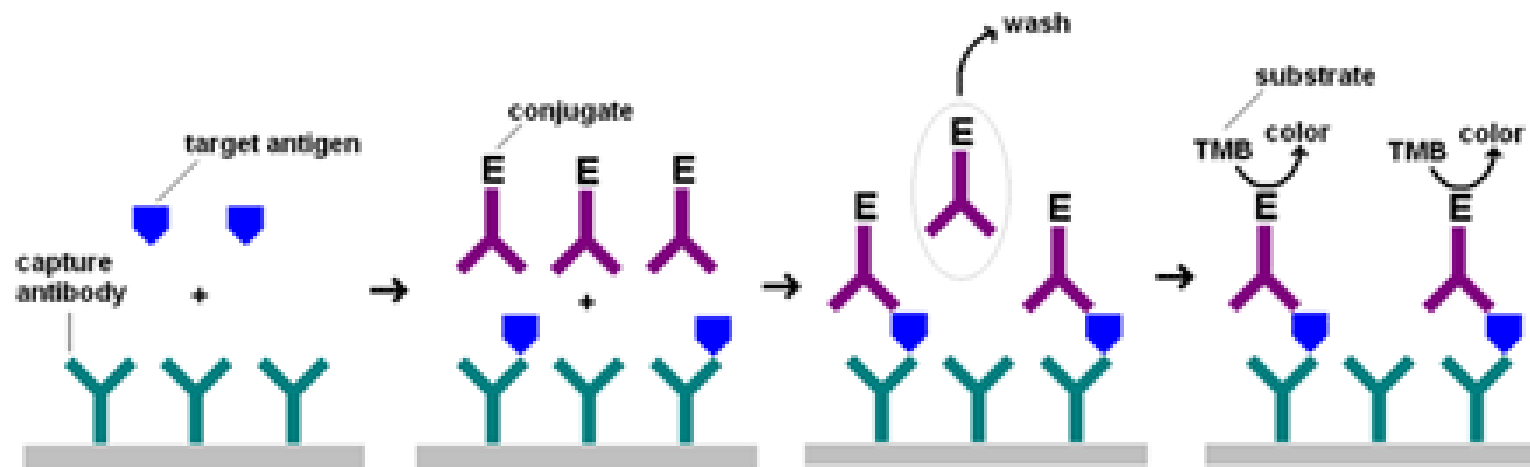
# PRODUKCE MONOKLONÁLNÍCH PROTILÁTEK





**Obrázek 2.2** Charakteristické citlivosti imunoanalytických metod. **ELISA** = Enzyme Linked Immunosorbent Assay, **FIA** = fluorescenční imunoanalýza, **RIA** = radioimunoanalýza, **LIA** = Luminiscenční imunoanalýza.

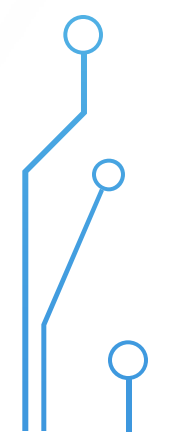
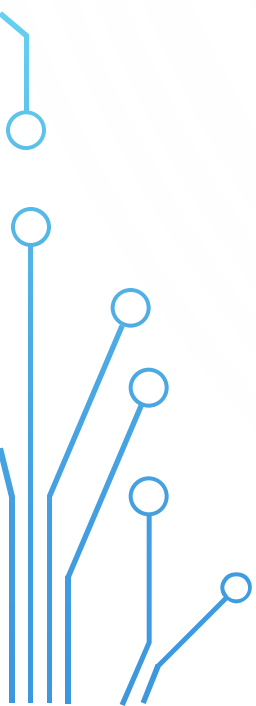
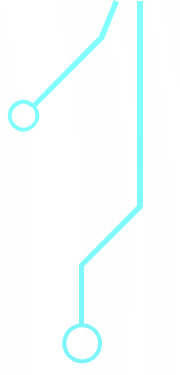
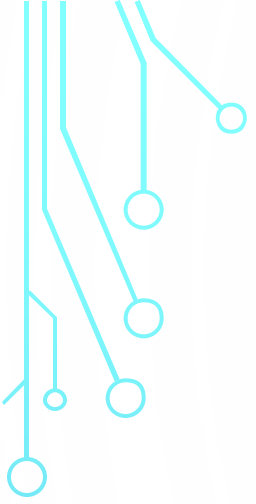










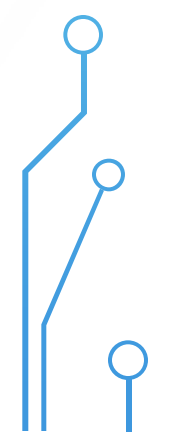
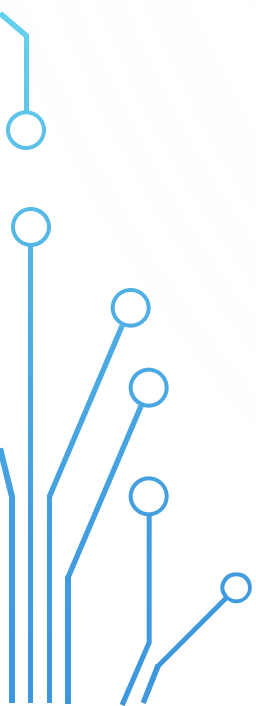
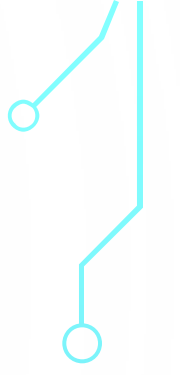
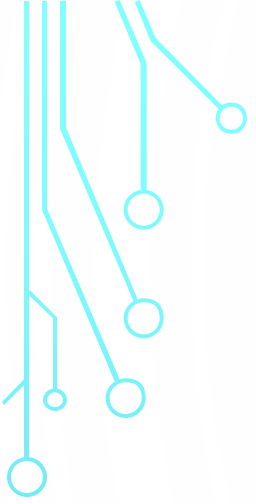


# OPERA

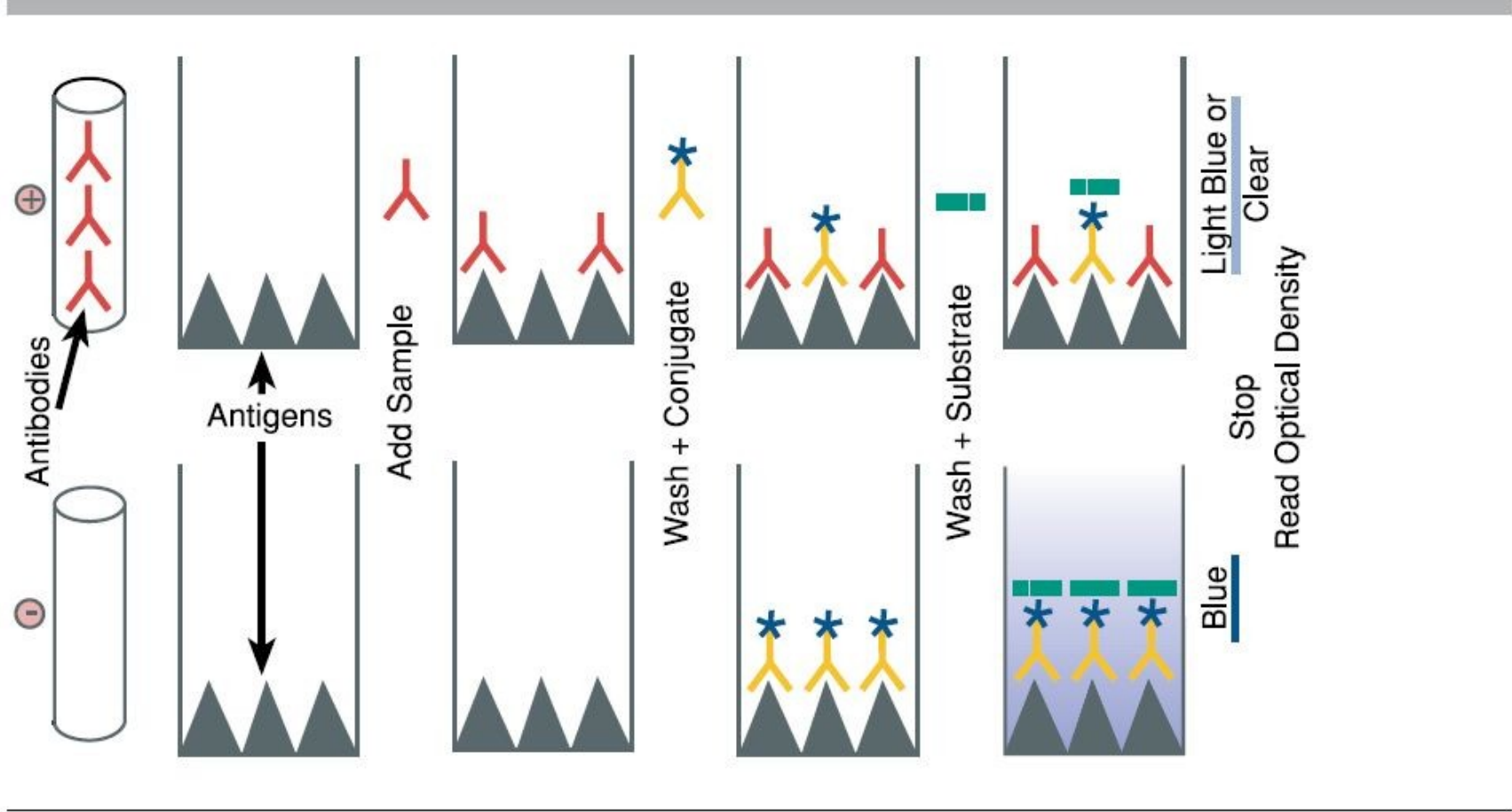
- **Robustnost**

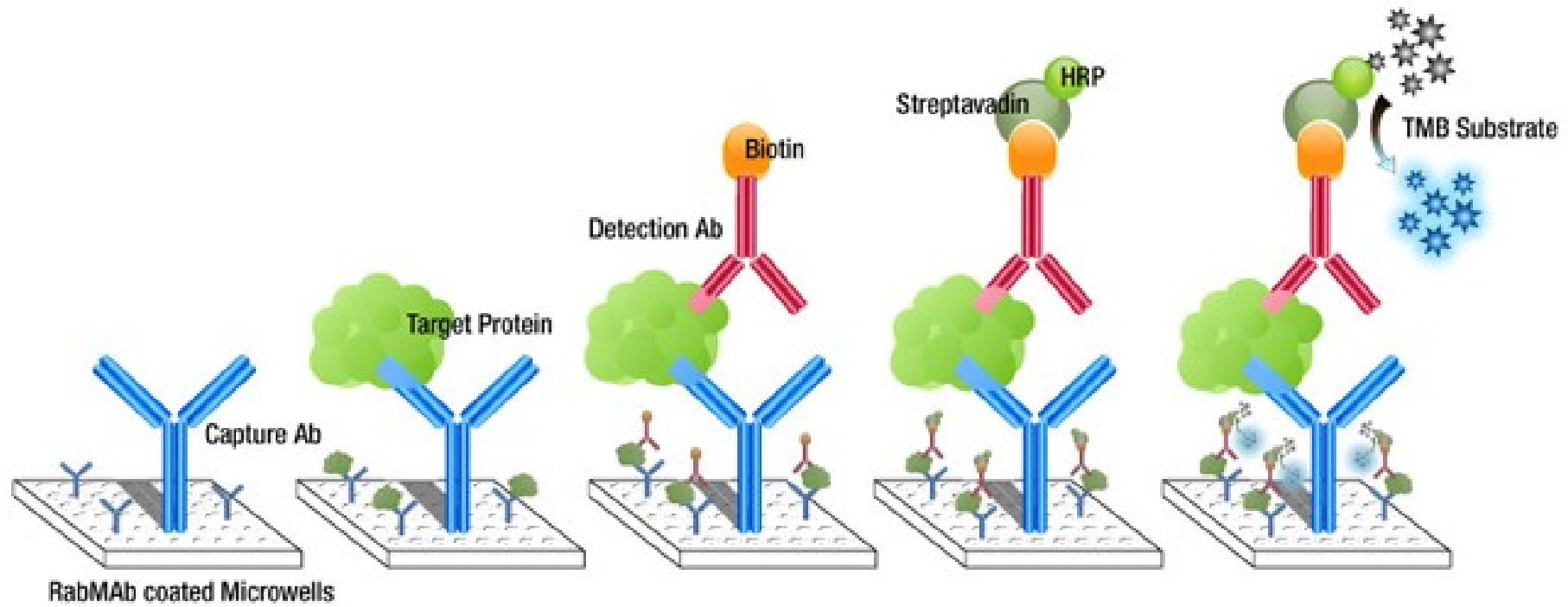
**ednoduchost**













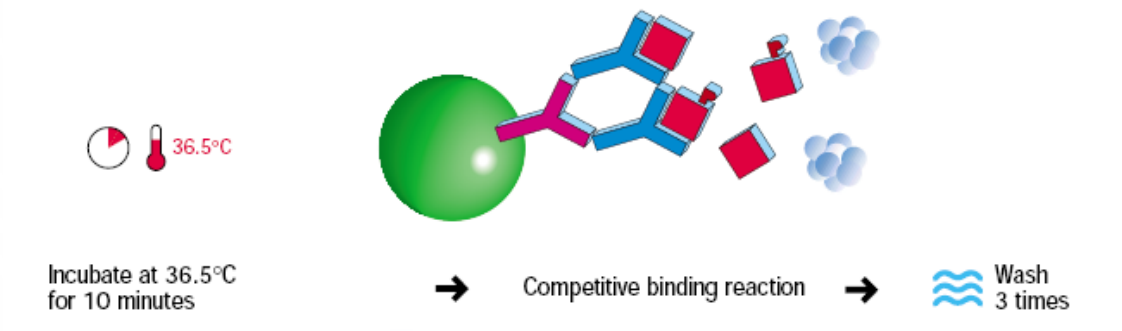
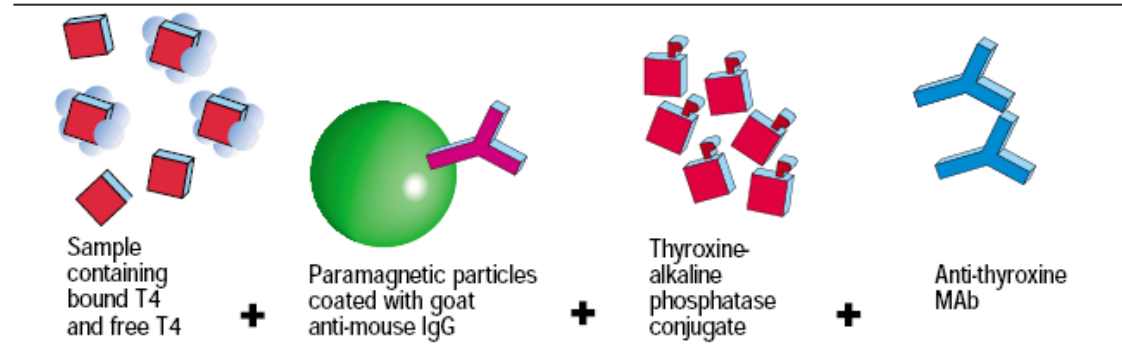


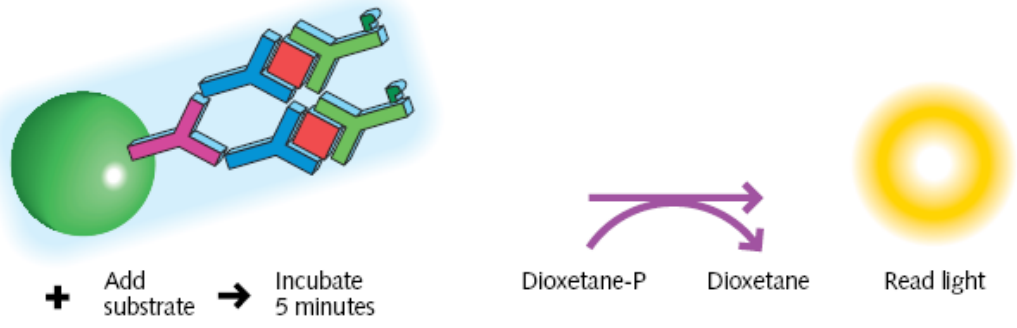
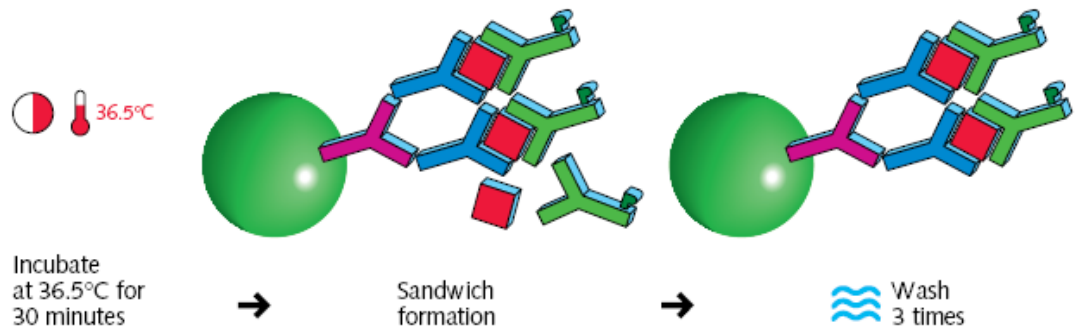
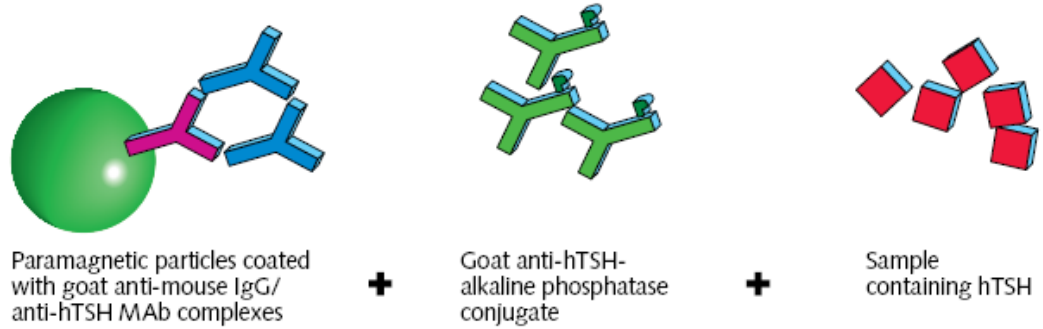


GROUP 1



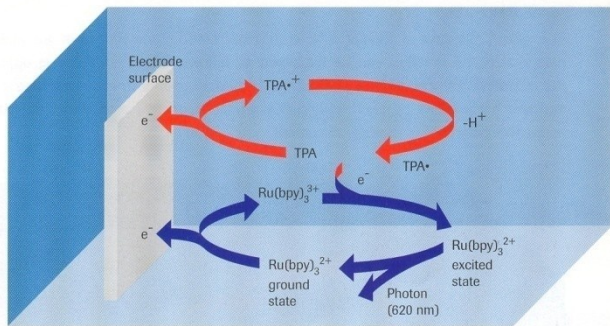
# CONFIDENTIAL





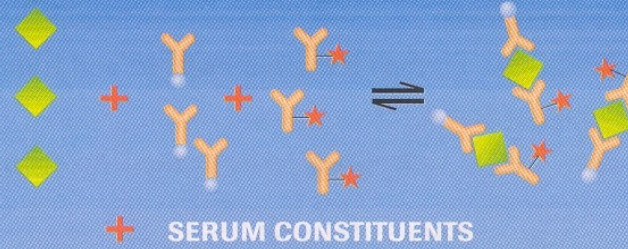
- **Citlivost**
- **Široký koncentrační rozsah**
- **Automatizace**

**Aktuálně standardní technologie pro automatické analyzátory !**

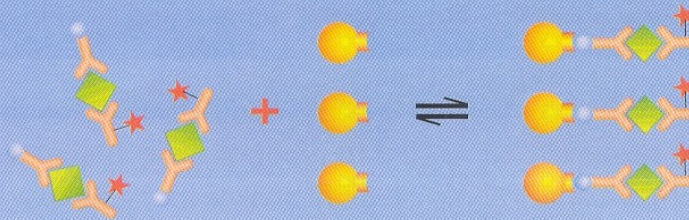


## SANDWICH PRINCIPLE

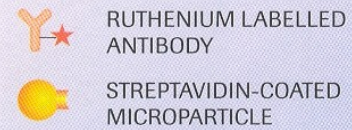
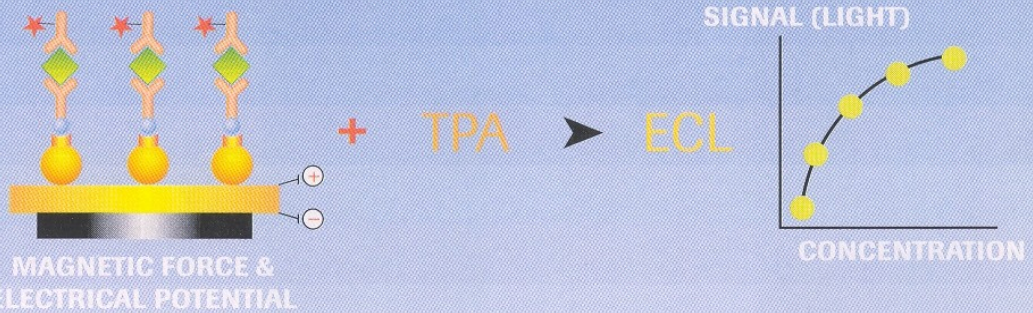
### FIRST IMMUNOLOGICAL REACTION



### SECOND REACTION



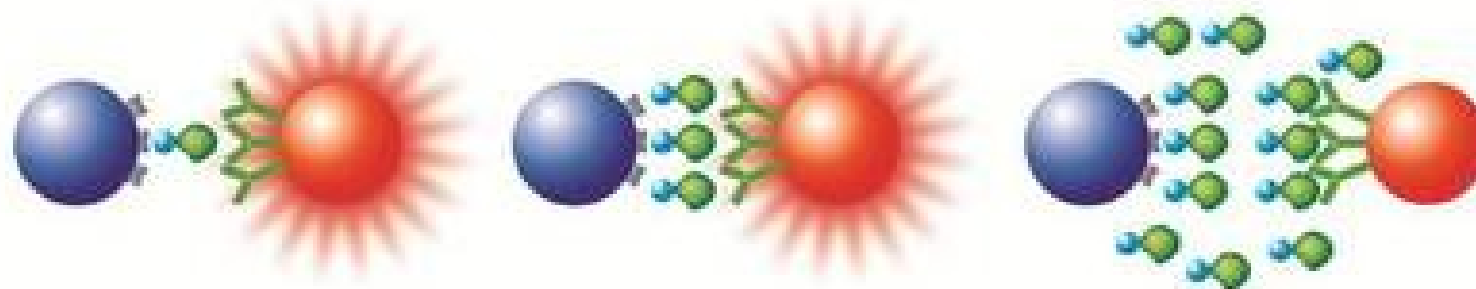
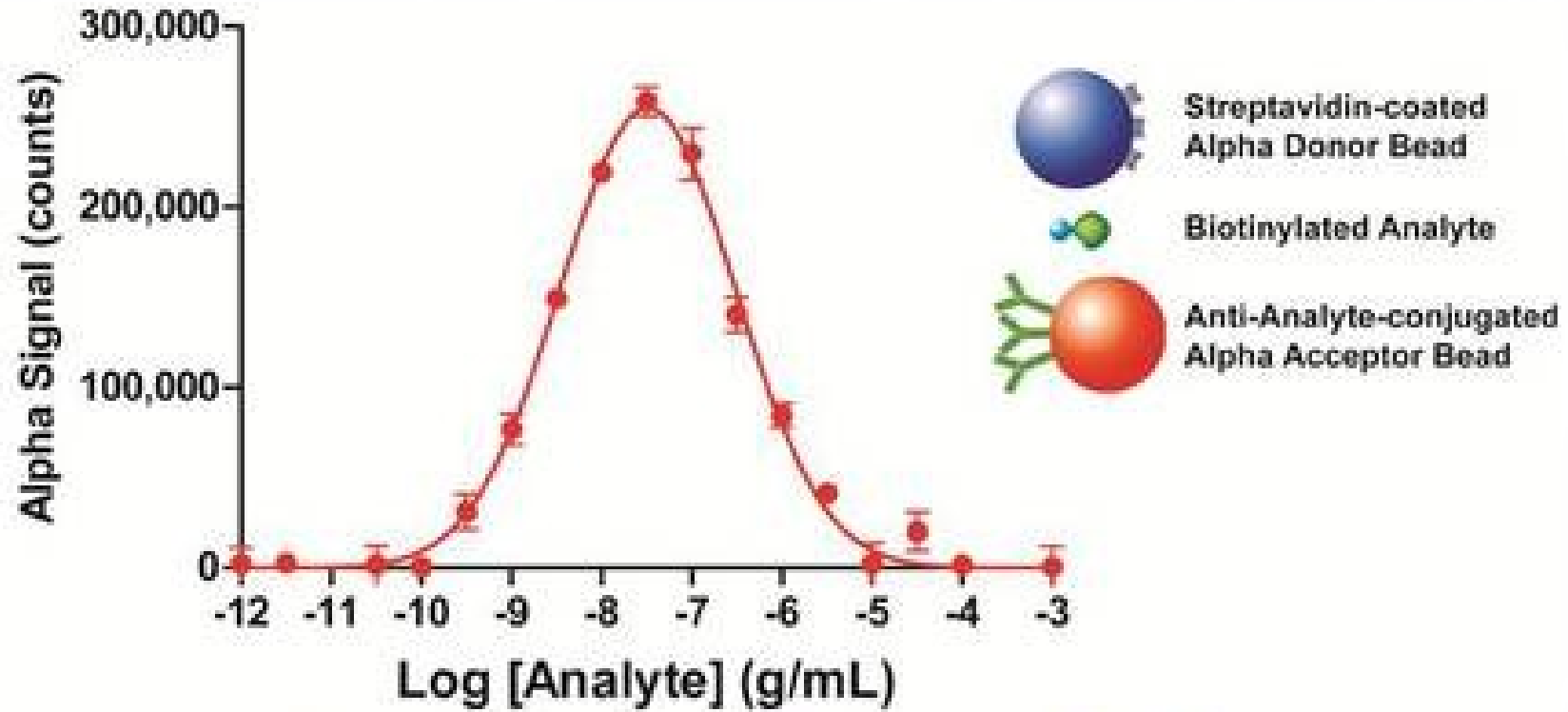
### LIGHT REACTION





- **Obecně**

- Vzorke překračující rozsah kalibrace metody
- Ředění striktně podle pokynů výrobce (nulový standard nebo specifický diluent)
- Immunoanalýzy obecně neakceptují ředění destilovanou vodou nebo fyziologickým roztokem (nedostatek proteinů - matricový efekt)



**LOW ANALYTE CONCENTRATION**  
Some binding sites occupied  
Signal production above background

**Limited bead association**

**OPTIMAL ANALYTE CONCENTRATION**  
Optimal # binding sites occupied  
Maximum signal production

**Optimal bead association**

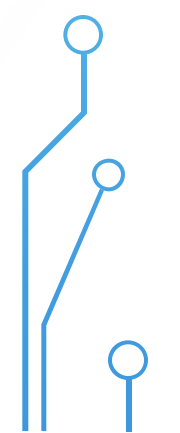
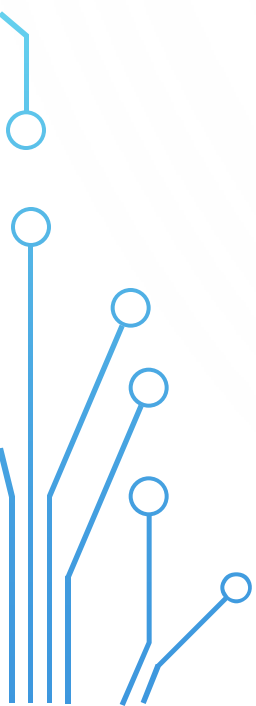
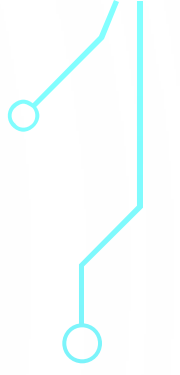
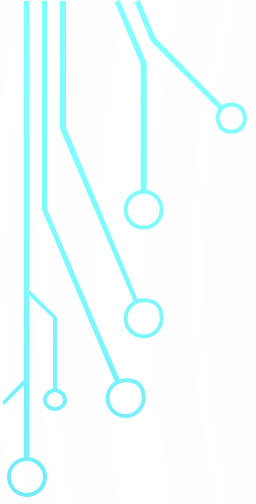
**EXCESS ANALYTE CONCENTRATION**  
All binding sites occupied  
Maximum signal production

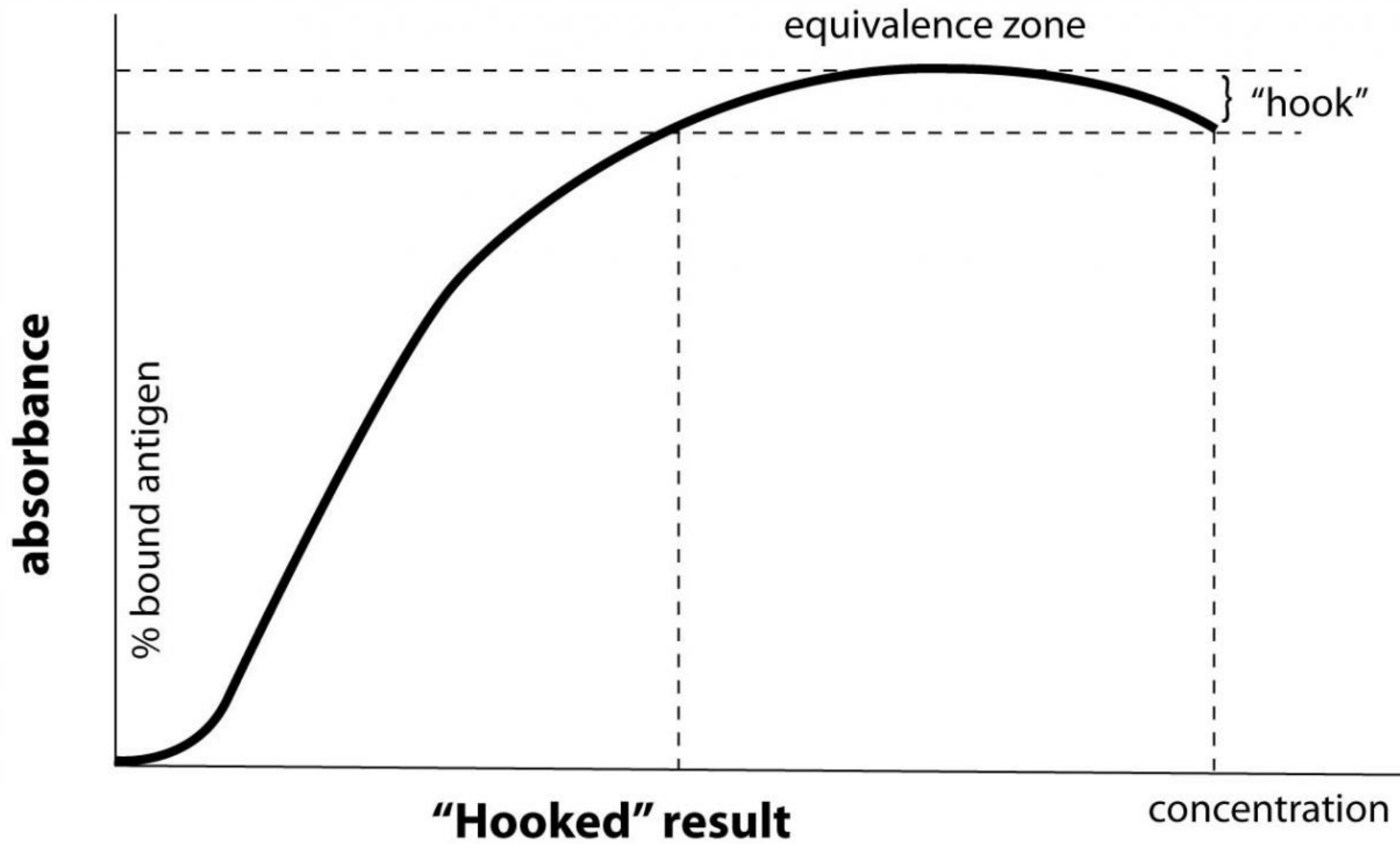
**Bead association inhibited**

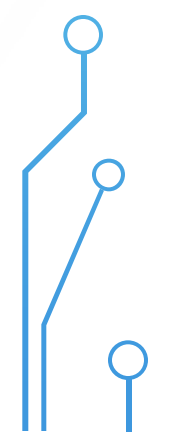
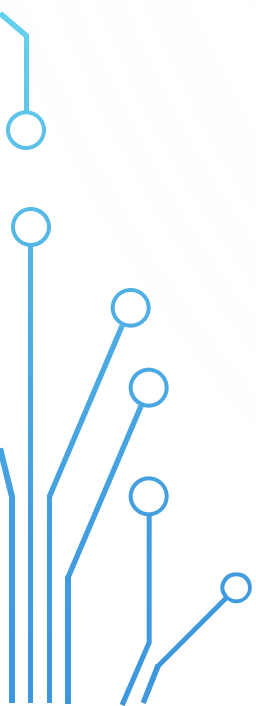
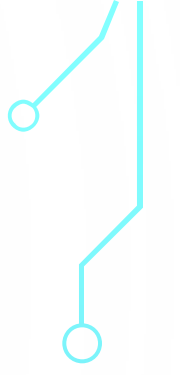
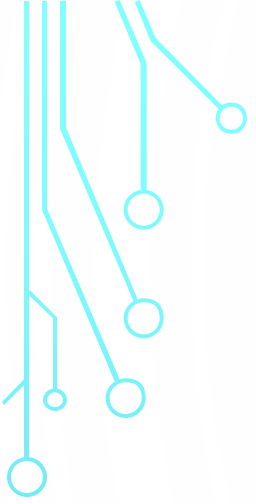


# ZDROJE INTERFERENCE U IMUNOANALYTICKÝCH METOD...

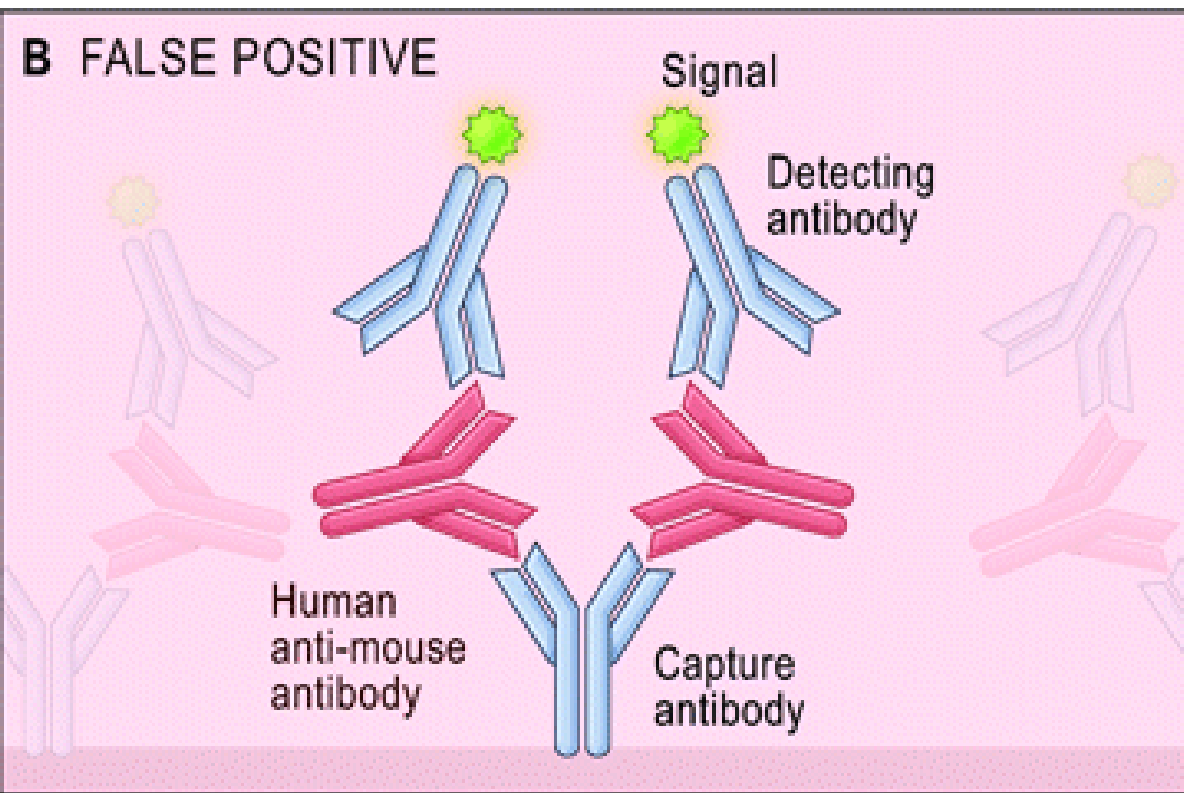
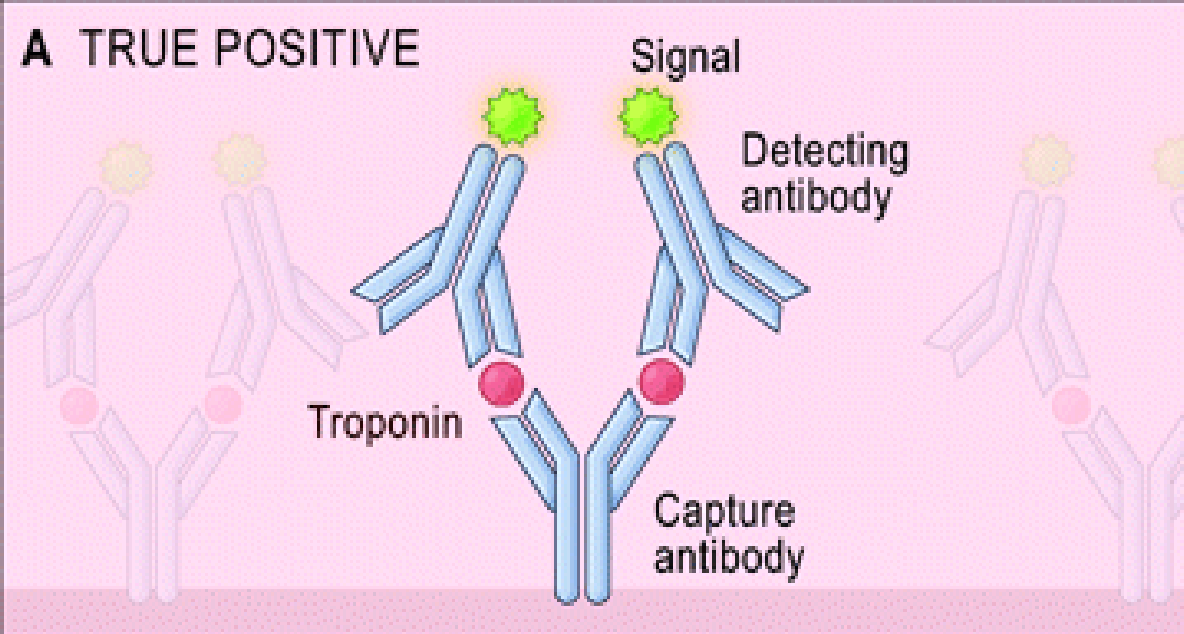
- Heterofilní protilátky:
  - Endogenní, reagující s nehumánními protilátkami (i.e Paul Bunnell – Forssmannův antigen z králičích ledvin)
- HAMA
  - Human anti-mouse antibody
- Hook effect
  - způsobují falešně pozitivní nebo negativní výsledky









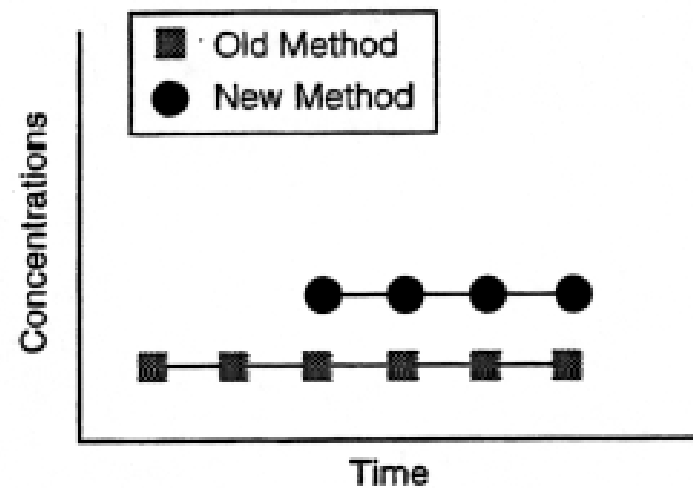


<b>Vnitřní kontrola kvality</b>		
Reprodukovatelnost	Intra-assay variabilita <5%; inter-assay variabilita <10%.	Ruční a/nebo výzkumné metody mohou mít nižší přesnost, ale výsledky EGC naznačují, že tyto hranice jsou běžně dostupné pro většinu analytů.
Nastavení objektivních kritérií pro schválení metody	Limity pro akceptovatelnost metody by měly být předem definovány, preferována jsou logická kritéria založená na Westgardových pravidlech	Výsledky vnitřní kontroly kvality mají být zaznamenávány, kontrolovány a před uvolněním výsledků pro lékaře
Vhodný počet IQC vzorků		Více vzorků IQC zahrnutých do jednoho cyklu analýzy umožňuje identifikaci nevhodné analýzy a potvrzuje možnost využití výsledku pro klinické účely
Vzorky velmi podobné patientským séřům	Nejméně jeden sérový vzorek z nezávislého zdroje by měl být pro kontrolu matrix zahrnut do kontrolního materiálu, který je poskytován výrobcem reagensů	Kontroly v soupravách mohou budit přehnaně dobrý dojem ze stanovení, zvláště, pokud jsou připraveny přidavkem standardu k umělé matrix.
Vzorky IQC užívat v koncentracích vhodných pro klinické aplikace	Negativní a slabě pozitivní kontroly by měly být zahrnuty pro všechny TM. Mělo by být pokryto i široké koncentrační rozmezí a vysoké vzorky zařazovat ke kontrole správnosti ředění.	U vyšetření, kde je důležitá určitá rozhodovací hladina ( PSA, 4 µg/L; AFP, 5-8 kU/L; hCG, 5 U/L), je třeba zařazovat vzorky IQC blízko těchto hladin.

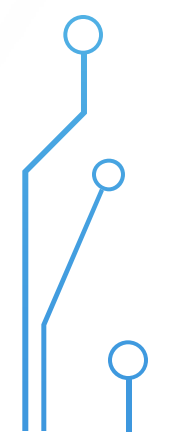
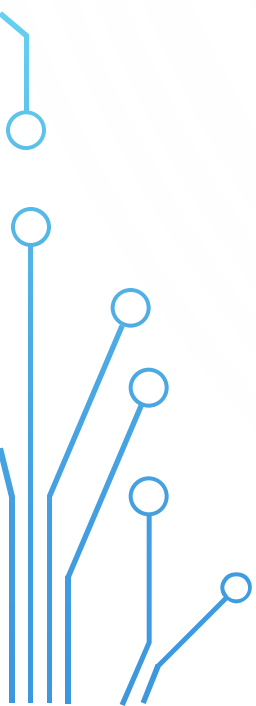
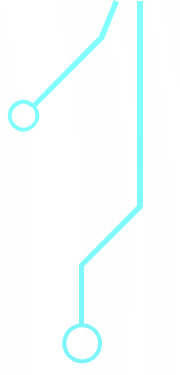
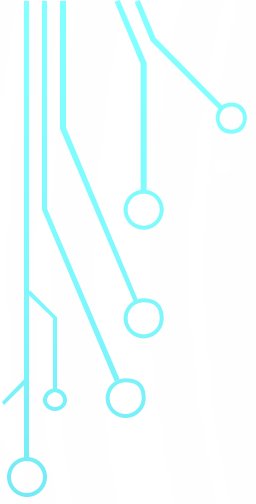
# KLÍČOVÉ FAKTORY VE STANOVENÍ TUMOROVÝCH MARKERŮ

- Biologické (half-life, nespecificita – ROC analýza)
- Analytické (preanalytika, interference)

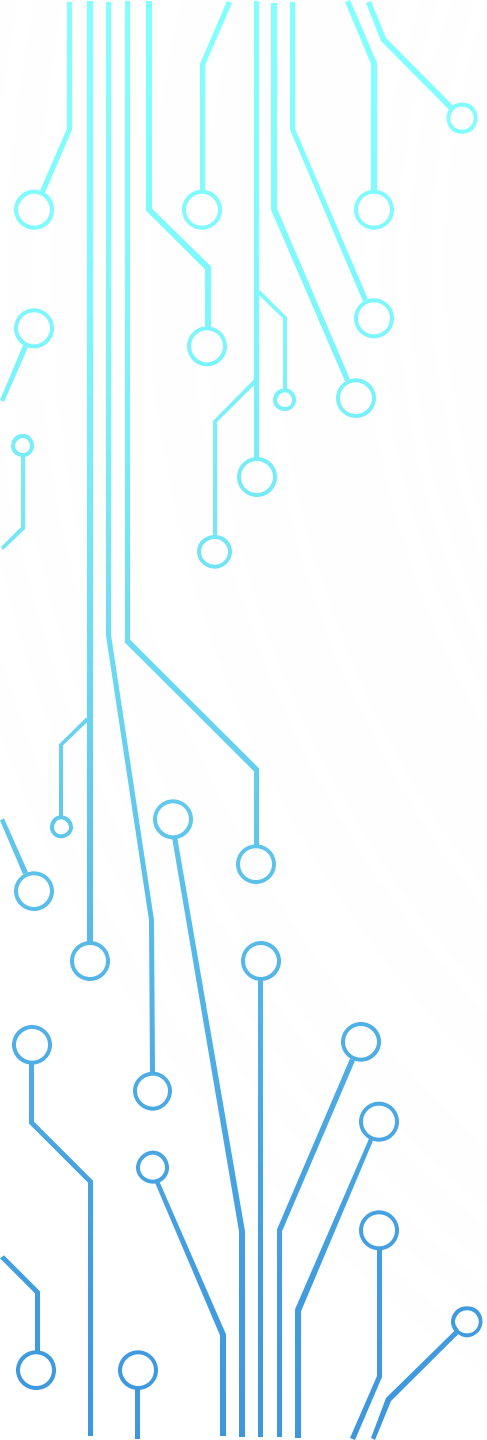
... rebaselining specimens ...











VYUŽITÍ NÁDOROVÝCH MARKERŮ,  
VLASTNOSTI IDEÁLNÍHO MARKERU, SENZITIVITA,  
SPECIFIČNOST, ROC KŘIVKA, HODNOTA "CUT-OFF",  
TYPY NÁDORŮ A NÁDOROVÉ MARKERY

# TUMOR MARKERY: UŽITÍ V KLINICE

- **Populační screening** – vyšetřování asymptomatických jedinců
- **Diferenciální diagnóza** – nádor neznámého origa (metastatické i primární onemocnění)
- **Prognostické indikátory**
- **Monitoring odpovědi na terapii** (i rozsah chirurgického výkonu)
- **Detekce návratu choroby**

# Summary of Key Guideline Recommendations for the use of CA 125



ACBI



	ACBI	AJCC	EGTM	ESMO	NACB	SOR
<b>Screening</b>	N		N <sup>i</sup>	N	N <sup>m</sup>	N
<b>Diagnosis/ Case-finding</b>	N <sup>i</sup>		N <sup>i</sup>	N	N <sup>i</sup>	Y
<b>Staging/ Prognosis</b>	Y	N	Y	Y	Y	Y
<b>Detecting recurrence</b>	Y		Y	Y	Y	Y
<b>Monitoring therapy</b>	Y		Y		Y	Y

Y = Recommended by the organization

N = Not recommended by the organization

N<sup>i</sup> = Only if CEA is increased at presentation and CA 125 is not

N<sup>m</sup> = In combination with transvaginal sonography, CA 125 may have a role in the early detection of ovarian cancer in women with a hereditary ovarian cancer syndrome.

ACBI = Association of Clinical Biochemists in Ireland; AJCC = American Joint Committee on Cancer; EGTM = European Group on Tumor Markers; ESMO = European Society for Medical Oncology

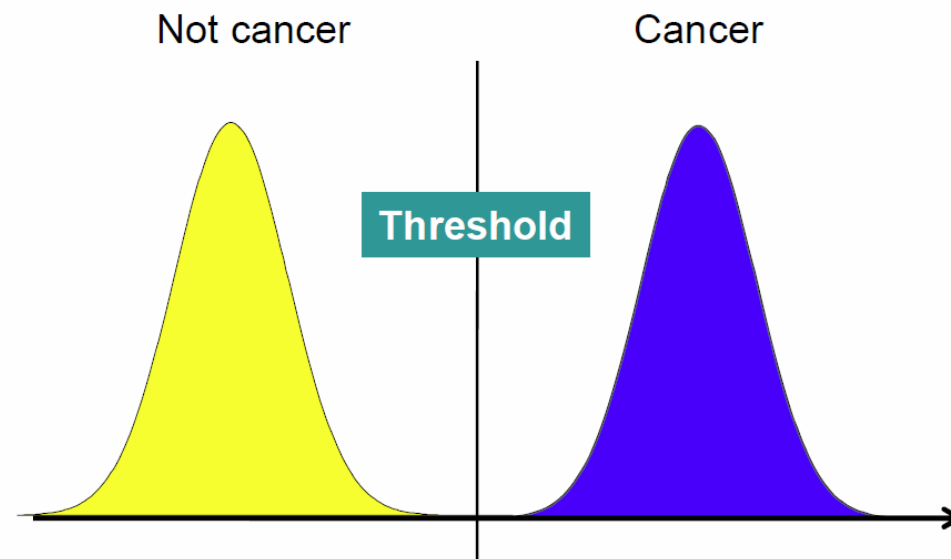
NACB = National Academy of Clinical Biochemistry; SOR = Standards, Options, and Recommendations

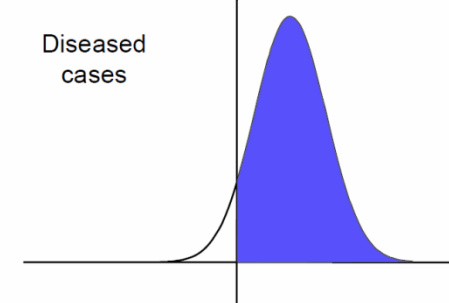
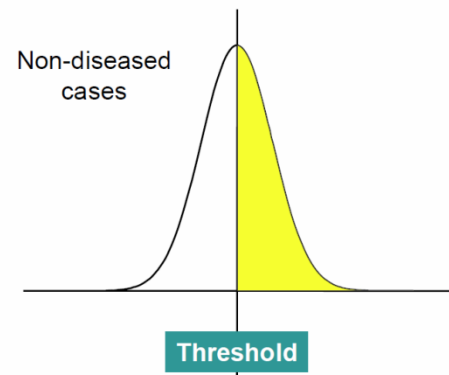
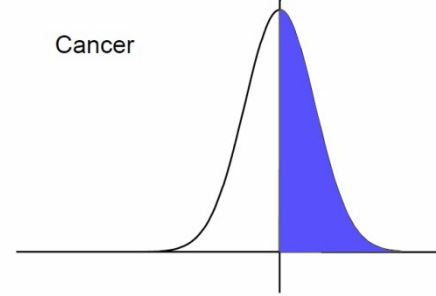
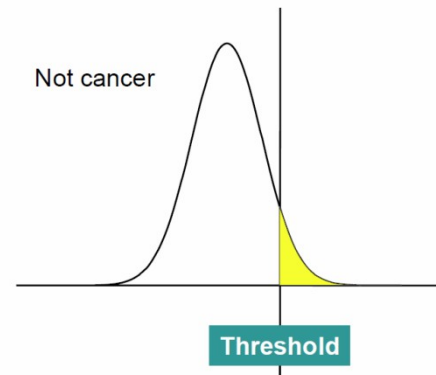
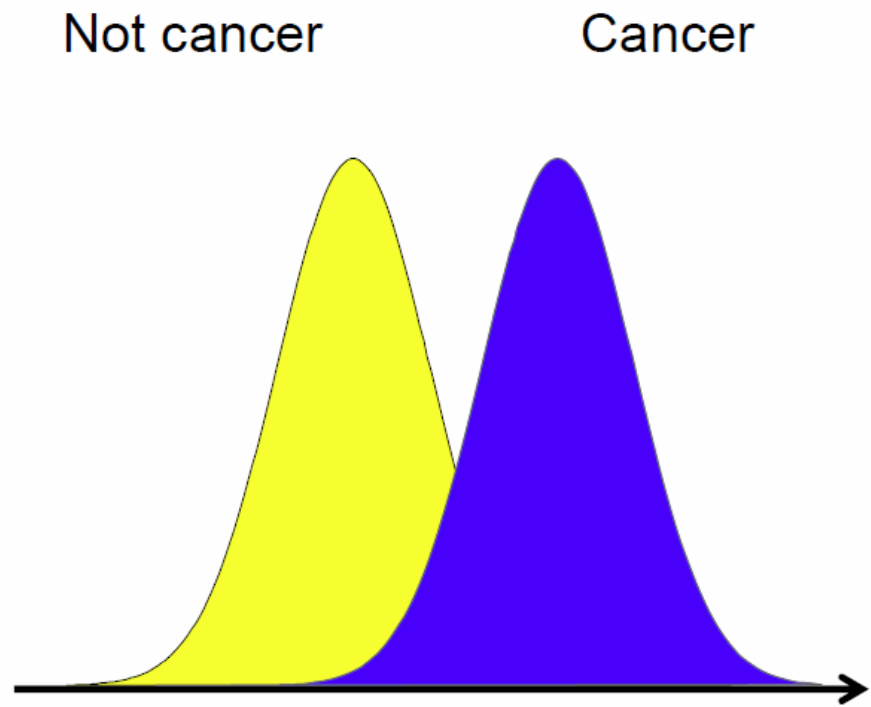
Source: Sturgeon, C. Practice Guidelines for Tumor Marker Use in the Clinic. *Clinical Chemistry* 48:8, 1151-1159. 2002.

# - IDEÁLNÍ NÁDOROVÝ MARKER -

- specifický pro daný typ nádoru nebo pro malignitu obecně
- dostatečně citlivý pro časnou diagnosu pro účely screeningu
- dostupný

# IDEÁLNÍ MARKER







# SENZITIVITA A SPECIFICITA

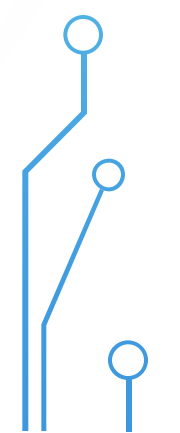
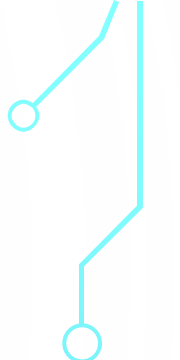
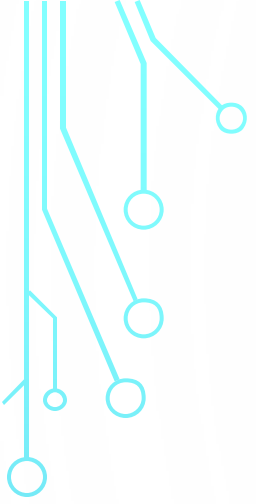
Senzitivita – chceme zachytit **všechny**  
nemocné

(test je pozitivní - vyšetřovaný má  
nemoc)

Specificita - chceme zachytit **jen** zdravé,  
(test je negativní – vyšetřovaný nemá  
nemoc)

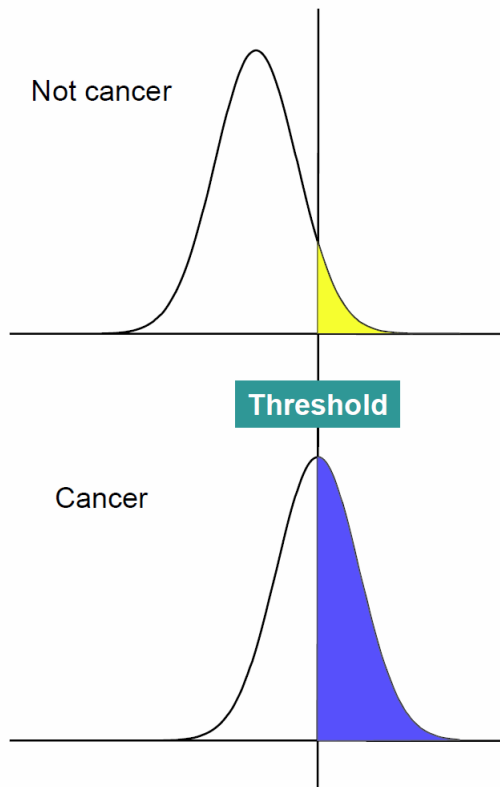
	<b>Pacient s pozitivním výsledkem testu</b>	<b>Pacient s negativním výsledkem testu</b>	<b>Celkem</b>
S daným onemocnění m	TP	FN	TP + FN
Bez daného onemocnění	FP	TN	FP + TN
Celkem	TP + FP	FN + TN	TP + FN + TN + FN

ASPEC

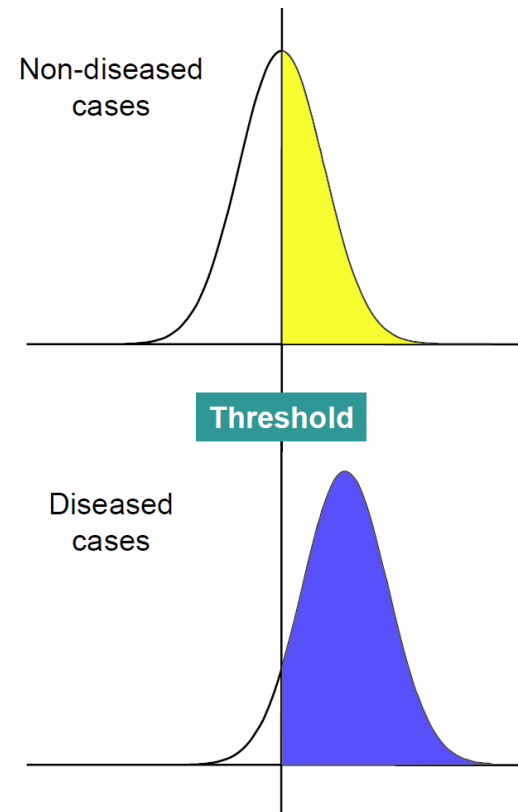


# SENZITIVITA VS SPECIFICITA

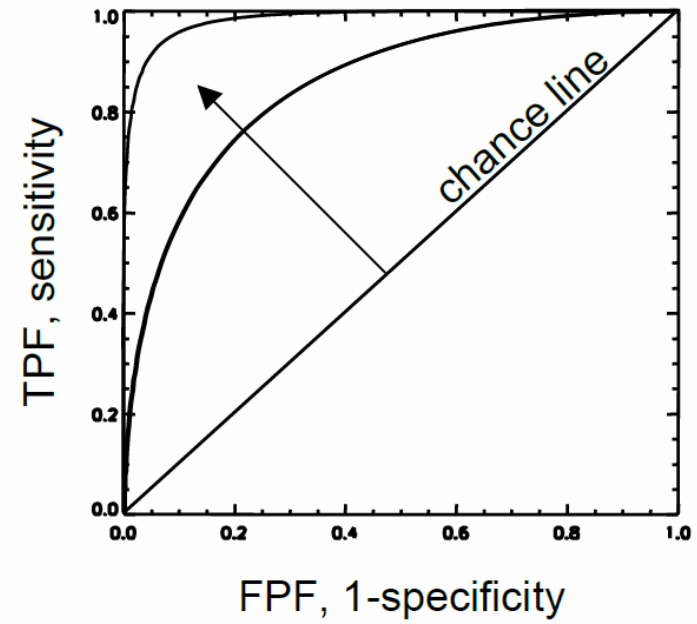
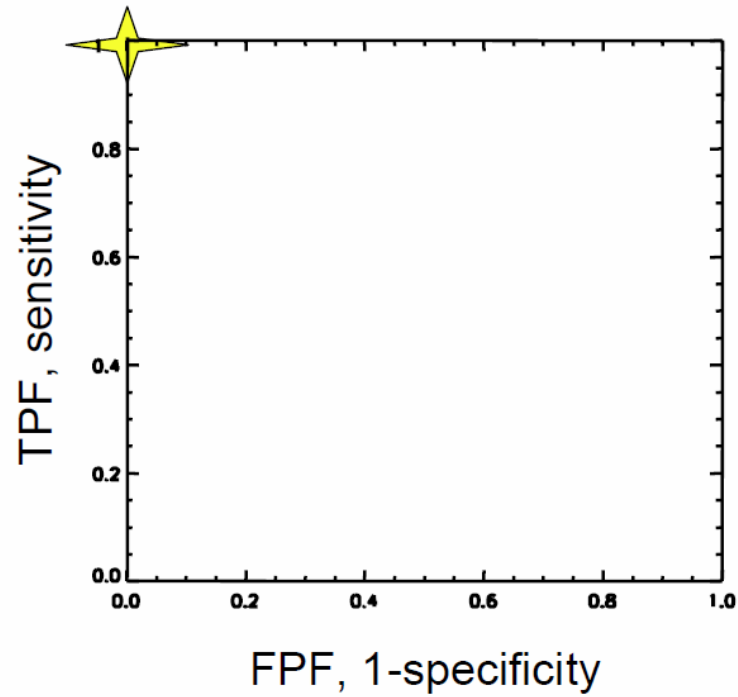
DOBŘÁ SPECIFICITA,  
NÍZKÁ SENZITIVITA



DOBŘÁ SENZITIVITA,  
ŠPATNÁ SPECIFICITA



# ROC ANALÝZA (AUC)



Number of Rating Categories:

(Not needed for example data or for Format 5.)

Run Program

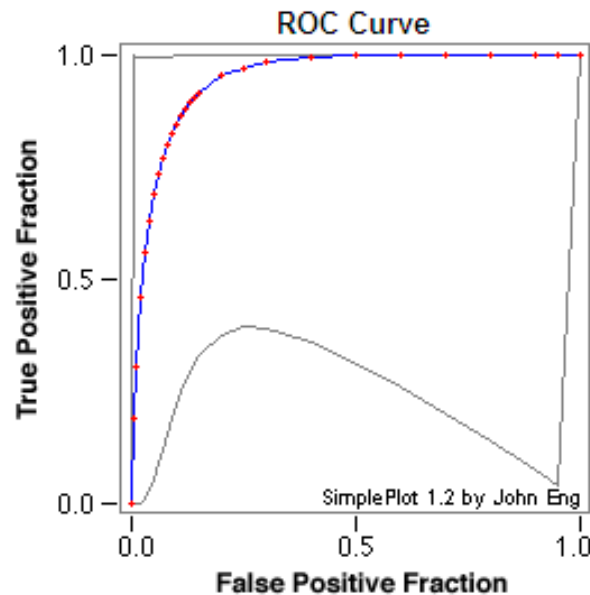
Input Data: (paste or enter)

```
0 1
0 2
0 2
0 3
0 0
0 2
0 3
0 5
1 5
1 10
1 6
1 4
1 3
1 15
1 5
1 10
```

Program Output: (may be copied and pasted into other programs)

```
Truth  result value  deviate      (FPF, TPF)
+      15.0000     3.1152     (0.0009, 0.0485)
tie    10.0000     2.4691     (0.0068, 0.2378)
+       6.0000     2.1091     (0.0175, 0.4262)
      (run boundary)  2.0038
tie     5.0000     1.7085     (0.0438, 0.6557)
      (run boundary)  1.4234
+       4.0000     1.3218     (0.0931, 0.8333)
      (run boundary)  1.2093
tie     3.0000     0.7749     (0.2192, 0.9615)
      (run boundary)  0.3026
tie     2.0000    -0.1748     (0.5694, 0.9992)
-       1.0000    -0.9021     (0.8165, 1.0000)
-       0.0000    -1.6518     (0.9507, 1.0000)
```

WARNINGS AND ERROR MESSAGES:



Summary Statistics:

```
Total Cases:      16
Positive Cases:   8
Negative Cases:   8

Fitted ROC Area:  0.949

Caution: Data Format 5
(for continuous data) was
used even though all data
were integers.
```

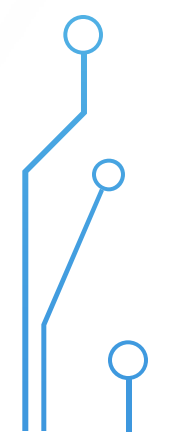
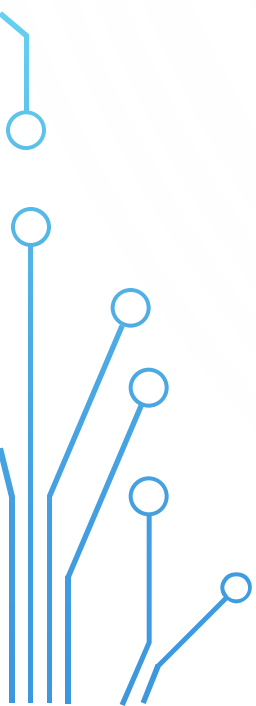
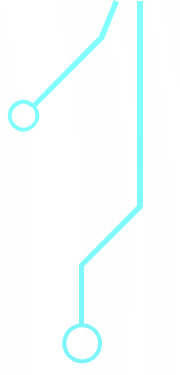
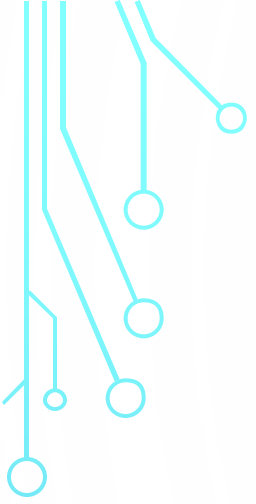
Points for Plotting: (copy & paste to Excel)

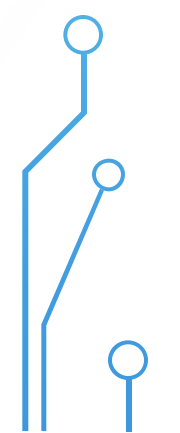
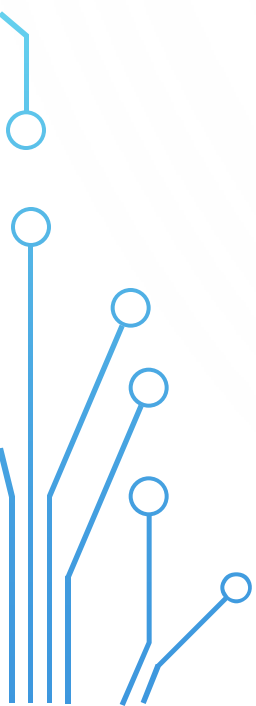
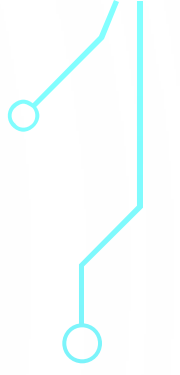
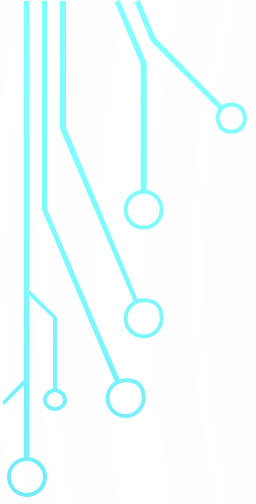
FPF	TPF	Lower	Upper
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0050	0.1921	0.0000	0.9981
0.0100	0.3068	0.0001	0.9969
0.0200	0.4579	0.0023	0.9956
0.0300	0.5587	0.0114	0.9949
0.0400	0.6324	0.0297	0.9948
0.0500	0.6891	0.0560	0.9950
0.0600	0.7341	0.0877	0.9954
0.0700	0.7707	0.1220	0.9959
0.0800	0.8009	0.1565	0.9965
0.0900	0.8261	0.1895	0.9971











- Jde o **onkofetální glykoprotein** s vysokým obsahem sacharidů o molekulové hmotnosti 180–200 kDa. Za fyziologických podmínek je CEA produkován ve vyvíjejícím se embryu. V dospělosti je omezeně syntetizován epiteliálními buňkami střevní sliznice, žaludku a bronchů. CEA patří do imunoglobulinové genové rodiny; podílí se pravděpodobně na procesu adheze a metastazování buněk.

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 5,0 µg/l.

**Doporučené použití pro klinické účely:** Pro screening i diagnostiku maligního onemocnění nelze CEA použít. CEA produkují **karcinomy zažívacího traktu, plic (adenokarcinomy), mléčné žlázy, nádory ženských pohlavních orgánů (mucinózní adenokarcinomy), endometriální nádory i nádory děložního těla, karcinomy močového měchýře, ledvin, diferencované karcinomy prostaty a testikulární teratomy**. Předoperační hodnoty CEA > 40 µg/l jsou charakteristické pro kratší interval bezpříznakového přežití nemocných s karcinomem mléčné žlázy. Na základě předoperačních hodnot lze posoudit možnost radikálního zásahu u kolorektálního karcinomu. Monitorování průběhu onemocnění a odpovědi na léčbu patří k základním využitím CEA. Hodnoty vyšší než 10 µg/l znamenají obvykle progresi maligního procesu. Koncentrace vyšší než 50 µg/l svědčí s vysokou pravděpodobností o jaterních nebo kostních metastázách. Pro nádory zažívacího traktu se obvykle pohybuje senzitivita při návratu onemocnění pro kolorektální karcinom kolem 60 %, pro nádory žaludku asi 50 %. Pokles hodnot CEA po chirurgickém zákroku může poskytnout údaj o úspěšnosti terapie, podobně lze hodnotit efekt chemo- či radioterapie, pokud byly hodnoty před terapií zvýšené. Zvýšení CEA v séru lze také pozorovat u benigních nebo premaligních lézí jako jsou jaterní cirhóza, Crohnova choroba, střevní polypy, onemocnění plic, ledvin, žlučníku, pankreatitida,

- Vyskytuje se jako glykolipid ve tkáni nebo mucin v séru. Obsahuje determinanty lidské krevní skupiny sialyl-Lewis (a). Kolem 5-10 % populace tento antigen netvoří.

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 40 kU/l.

**Doporučené použití pro klinické účely:** Pro screening a stanovení diagnózy maligního onemocnění není vhodný a to ani pro nádory pankreatu, kde dosahuje tento marker vysoké senzitivity (až 70-90 %) i výrazně vysokých hodnot v séru (až 106 kU/l). Exponenciální nárůst koncentrací v séru (nad 104 kU/l) je obvykle známkou vzdálených metastáz. Vysokou senzitivitu dosahuje tento marker i podle závažnosti onemocnění u **karcinomů kolorekta (18-58 %)**, u **cholangiocelulárních karcinomů (22-49 %)**, u **nádorů žlučových cest (55-79 %)** a **žaludku (25-60 %)**. Koncentrace CA 19-9 korelují dobře s efektem terapie. **Mucinózní karcinomy ovaria** mohou taktéž produkovat CA 19-9.

Značně zvýšené hladiny CA19-9 v séru působí cholestáza, ale i benigní a zánětlivé onemocnění žaludku, střeva, pankreatu a jater.

- AFP je **onkofetální glykoprotein**, produkovaný v embryonálním žloutkovém vaku a ve fetálních játrech. V dospělém zdravém organismu je syntéza AFP omezena na minimum. V séru matky, kam přechází přes placentu, je důležitým ukazatelem fyziologického vývoje těhotenství. Významná je především jeho role transportní (vazba steroidů, některých těžkých kovů, bilirubinu, mastných kyselin, retinoidů, drog, antibiotik apod.).

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 10 µg/l.

**Doporučené použití pro klinické účely:** Screening maligního procesu pomocí AFP v séru je vhodný pouze u symptomatických nemocných s jaterní cirhózou nebo podezřením na **germinativní nádory varlat** (nesestouplé varle, nádory testes u sourozence – dvojčete). Monitorování průběhu onemocnění patří k základním využitím AFP. Pro **hepatocelulární karcinom** je AFP markerem první volby (senzitivita u neléčeného onemocnění je až 80 %). **U germinativních nádorů ovariálních i testikulárních** je senzitivita rovněž vysoká: pro čisté embryonální nádory dosahuje hodnot až 80 %, u teratomů 20 %, a až 80 % u nádorů žloutkového vaku. Obvykle chybí v seminomech a choriokarcinomech. Exprese AFP u nádorů zažívacího traktu je pozorována asi u jedné pětiny nemocných. Nemaligními příčinami zvýšené hladiny AFP v séru většinou bývají akutní virová i chronická hepatitida, cirhóza jater a těhotenství.

- Jde o glykoprotein tvořený dvěma rozdílnými podjednotkami: alfa (14,5 kDa) a beta (22,2 kDa). In vivo může docházet k disociaci jednotek alfa a beta, beta-složka může být dále štěpena na močový gonadotropinový peptid (beta-core fragment).

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 10 IU/l.

**Doporučené použití pro klinické účely:** V závislosti na použitém detekčním systému je stanovení specifické pro celkový beta-hCG (tj. intaktní hormon-dimer + volná podjednotka beta), pro intaktní hCG (dimer bez volné podjednotky beta), pro volnou podjednotku beta nebo pro beta-core fragment (stanovení v moči). Screening maligního procesu pomocí hCG v séru lze provádět u symptomatických osob, např. při podezření na **germinativní nádory** varlat s retencí varlat v anamnéze. Stanovení má význam pro zhodnocení stadia onemocnění, pro potvrzení histologické charakterizace nádorů testes a choriokarcinomů a pro jejich monitorování. Senzitivita pro neseminomy je asi 50 %, pro seminomy 10–20 %, pro choriokarcinomy téměř 100 %, pro další lokalizace nádorů (pankreas, GIT, plíce, mléčná žláza, ledviny, močový měchýř) je do 20 %. Zvýšené hladiny hCG v séru mohou způsobovat fyziologické i patologické stavy v těhotenství, myomy a ovariální cysty.

- Jde o antigen polymorfního epiteliálního mucinu (PEM), nazývaný rovněž MUC1. V dospělosti je syntetizován v epiteliálních buňkách vývodů mléčné žlázy, slinných žláz a bronchů. Alternativou stanovení CA 15-3 je stanovení antigenu CA 27-29; jde o detekci odlišného epitopu téhož epiteliálního mucinu (MUC1).

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 35 kU/l.

**Doporučené použití pro klinické účely:** Stanovení nelze použít pro screening nemocných s **karcinomem prsu** a stanovení této diagnózy vyjma vybrané skupiny pacientů a jejich rodin z indikace genetiky. Koncentrace CA 15-3 korelují se stadiem onemocnění. Hlavní využití CA15-3 je v monitorování nemocných s karcinomem prsu. Při 90 % specifitě dosahuje senzitivita u neléčených nemocných pouze 20 - 40 %, u metastazujících nádorů až 80 %. Relaps onemocnění bývá charakterizován senzitivitou CA 15-3 dosahující 60 - 90 %. Jeho „lead time“ umožňuje předpovědět návrat onemocnění s předstihem několika měsíců před některými zobrazovacími metodami. Dynamika změn po terapii obvykle koreluje s terapeutickým efektem.

Nemaligní onemocnění, zvyšující hladinu CA 15-3 v séru zahrnují benigní onemocnění prsu, benigní onemocnění trávicího ústrojí, jaterní cirhózu,

- Jde o heterogenní glykoprotein s vysokým obsahem sacharidů. Je produkován fetálními epiteliálními tkáněmi coelomového původu. V dospělém věku může být omezeně syntetizován v normálním epitelu tkáně vejcovodů, bronchů, endometria, cervixu, ale i v mezotelu pleury, perikardu a peritonea.

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 35 kU/l.

**Doporučené použití pro klinické účely:** CA 125 je exprimován u 80 % karcinomů **ovarií serózního** (nemucinózního) typu. Senzitivita v dalších gynekologických nádorech je nižší. Produkce CA125 u karcinomů mléčné žlázy, pankreatu, plic, žlučových cest reflektuje obvykle postižení pleury a peritonea. Zvýšená hladina CA 125 byla prokázána u hepatocelulárního karcinomu. Screening CA 125 v séru nemocných s karcinomem ovarií je prováděn pouze v případě rodinné predispozice. Stanovení CA 125 je vhodné pro potvrzení stadia choroby. Nárůst koncentrace CA 125 může předcházet klinickou diagnózu o 1–8 měsíců. Po odstranění primárního tumoru klesá koncentrace CA 125 o 75–90 % během prvního týdne, do 2–3 týdnů se hodnoty normalizují. Přetrvávající vysoké hodnoty mohou být indikací k „second look“ operaci.

Zvýšené hladiny CA 125 v séru způsobené nemaligním onemocněním obvykle zahrnují chronická onemocnění jater, peritonitidu, benigní onemocnění ovarií a endometria, leiomyom nebo selhání ledvin.



- PSA je serinová proteináza umožňující zkapalnění seminální tekutiny, čímž usnadňuje pohyb spermií. PSA má enzymovou aktivitu chymotrypsinu. V séru je PSA inaktivován vazbou na alfa1-antichymotrypsin, méně na alfa2-makroglobulin. Určitý podíl PSA v séru se vyskytuje ve volné podobě.

**Hodnocení:** cut-off se mění v závislosti na věku – do 50 let = 2,5 µg/l, do 60 let = 3,5 µg/l, do 70 let = 4,5 µg/l, starší = 6,5 µg/l. Frakce fPSA/PSA bývá u maligního nádoru 0 – 15 %, hraniční hodnoty jsou 15 – 20%, u benigního onemocnění nad 20 %.

**Doporučené použití pro klinické účely:** Význam screeningu karcinomu prostaty pomocí sérového PSA u asymptomatických mužů je diskutabilní, lze jej provádět u starších mužů se symptomy poruch močových cest, ev. s rodinnou zátěží. Pro odlišení benigní hyperplazie od karcinomu se stanovuje poměr volného a celkového PSA (u benigních hyperplazií je vyšší - nad 20 %). Zvýšení PSA o více než 0,75 µg/l ročně ve třech po sobě jdoucích vyšetřeních znamená 90 % pravděpodobnost karcinomu prostaty. Hladiny PSA nad 30 µg/l mohou signalizovat i vzdálenější metastázy. Přetrvávající zvýšené koncentrace v séru po radikální prostatektomii znamenají buď přítomnost zbytkové choroby či lokální návrat. Monitorování má význam rovněž při terapii - pokles PSA obvykle koreluje s délkou přežití. Příčinou zvýšené hladiny PSA v séru bývá též předchozí digitální rektální vyšetření prostaty, předchozí biopsie prostaty, transuretrální resekce nebo jiné mechanické dráždění prostaty. Z nemaligních onemocnění je zvýšení pozorováno u hyperplazie

- Antigen CA 72-4 (Tumor-asociovaný antigen, TAG 72) je definovaný jako epitop mucinu reagující se dvěma monoklonálními protilátkami. Za fyziologického stavu jej produkuje vyvíjející se plod v žaludku, jícnu a pankreatu. **Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 7,0 kU/l.

**Doporučené použití pro klinické účely:** CA 72-4 se používá pro monitorování maligních nádorů **horního GIT** a mucinového typu ovariálního karcinomu. CA 72-4 je nevhodný pro screening a stanovení diagnózy maligního procesu horního GIT. Jeho hladina koreluje s přítomností vzdálených metastáz. Užívá se k monitorování průběhu onemocnění především u karcinomu žaludku. Příčiny zvýšení CA72-4 v séru u nemaligních chorob obvykle zahrnují jaterní cirhózu, akutní pankreatitidu, chronickou bronchitidu, vředovou chorobu žaludku a zánětlivá onemocnění GIT.

- Vyskytuje se jako homo- nebo heterodimer tvořený z podjednotek alfa a beta. S-100 beta protein byl poprvé popsán v centrálním nervovém systému. V nervové tkáni (v gliálních a Schwanových buňkách) se nachází především S-100 beta-beta dimer. Složení (alfa-alfa) mají např. příčně pruhované svaly.

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 0,1 µg/l.

**Doporučené použití pro klinické účely:** Melanomy jsou charakteristické obsahem beta-podjednotky tohoto proteinu. Přítomnost této formy S-100 beta v séru svědčí pro jeho invazivitu. V dysplastických névech je naopak prokazována především alfa-podjednotka. Pro screening a diagnostiku se neužívá, je vhodný pro monitorování nemocných s **maligním melanomem**. U metastatického onemocnění bývají přítomny vysoké koncentrace tohoto markeru, rovněž senzitivita při metastatickém procesu je až 80 %. Koncentrace měřené před primární terapií mají vysokou prognostickou hodnotu. Pozitivní hodnoty lze nalézt i u mozkových maligních nádorů a u sekundárního metastatického onemocnění. Zvýšené hladiny S-100 beta v séru mohou být

- Jde o izoenzym enolázy (2-fosfo-D-glycerát hydrolyáza, EC 4.2.1.11), který katalyzuje přeměnu 2-fosfoglycerátu na fosfoenolpyruvát. Za fyziologického stavu jej produkuje nervová a plicní tkáň plodu, v dospělosti je jeho výskyt v normálním stavu vázán především na neurony.

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 15 µg/l.

**Doporučené použití pro klinické účely:** Vzhledem k obsahu NSE v červených krvinkách a destičkách je třeba provést oddělení krevních elementů do jedné hodiny od odběru. NSE není vhodná pro screening a stanovení diagnózy maligního procesu. Pro pacienty s **neuroblastomy a malobuněčným karcinomem plic (SCLC)** má stanovení NSE prognostický význam. Zvýšené hodnoty NSE u neléčených nemocných se SCLC se mohou vyskytovat až u 80 % případů. Monitorování průběhu onemocnění je vhodné především u SCLC, neuroblastomů, meduloblastomů, retinoblastomů, dále apudomů (karcinoidů, feochromocytomů), u nádorů ledvin, ev. i u seminomů, melanomu a prostaty. Nejvyšší hodnoty bývají popisovány u dobře diferencovaných ganglioneuroblastomů a ganglioneuromů. Senzitivita při rozsevu onemocnění u SCLC bývá až 80 %.

Příčiny zvýšení NSE v séru nemaligních lézí zahrnují plicní onemocnění

- Byly identifikovány dva homologní proteiny SCC1 a SCC2. Tyto antigeny byly charakterizovány jako serin proteinázové inhibitory, tzv. serpiny. Marker je výrazně citlivý na kontaminaci slinami nebo potem v preanalytické fázi.

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 1,5 µg/l.

**Doporučené použití pro klinické účely:** Pro screening a stanovení diagnózy se neužívá. Vysoké hodnoty u neléčených nemocných s karcinomem **cervixu** jsou prognosticky významné pro odhad dalšího vývoje onemocnění. Monitorování průběhu onemocnění pomocí SCCA se provádí především u pacientů s nádory orofaciální oblasti, epidermoidních nádorů plic, děložního čípku, těla dělohy, endometria, vulvy a vaginy. Příčiny zvýšení SCCA v séru u nemaligních lézí zahrnují nemaligní gynekologická a plicní onemocnění nebo jaterní choroby.

- Jde o solubilní fragment cytokeratinu 19. Předpokládá se, že jeho výskyt v séru nemocných s maligními nádory může souviset se smrtí buňky apoptózou či nekrózou. Vzhledem ke specifickému výskytu tohoto cytokeratinu v epiteliálních buňkách skvamózního (epidermoidního) typu má CYFRA 21-1 vyšší orgánovou specificitu než ostatní cytokeratinové markery TPA nebo TPS.

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 3,3 µg/l.

**Doporučené použití pro klinické účely:** Pro screening a stanovení diagnózy maligního procesu nelze toto vyšetření použít. Jeho hladina obvykle koreluje se stadiem onemocnění. Monitorování průběhu onemocnění a především monitorování úspěšnosti terapie je hlavní oblastí využití tohoto markeru. Senzitivita u **epidermoidních karcinomů plic** se pohybuje kolem 55 %, u velkobuněčných karcinomů a adenokarcinomů plic je nižší (35 a 28 %). Význam má rovněž pro sledování nemocných s karcinomem močového měchýře (senzitivita asi 30 %) a **epidermoidních nádorů cervixu (spolu s SCCA) a nádorů oblasti hlavy a krku**. Příčin zvýšení hladiny CYFRA 21-1 z nemaligních příčin je celá řada a zahrnují jaterní cirhózu, chronické onemocnění ledvin, astma, infekce respiračního traktu a další.

- TPA je polypeptid ze solubilních fragmentů cytokeratinů typu středních filament (cytokeratin 8, 18, a 19). Antigen s velice podobnou charakteristikou, definovaný na podkladě reaktivity s jinou monoklonální protilátkou byl nazván TPS (tkáňový polypeptidový specifický antigen odpovídající cytokeratinu 18).

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off TPS je kolem 140 U/l

**Doporučené použití pro klinické účely:** Jde o velmi nespecifické nádorové markery, jejichž užití v klinické praxi poslední dobou klesá. TPA/S měl být „univerzálním“ nádorovým markerem vhodným především pro monitorování a hodnocení účinnosti terapie. Je markerem s nejvyšší senzitivitou pro sledování nemocných s **karcinomem močového měchýře**. Vyšetření tohoto markeru nelze použít pro screening, diagnózu a staging onemocnění. Dále se užívá pro monitorování nemocných s nádory prsu, plic, GIT a ledvin. Dynamika jeho změn při terapii je obvykle rychlejší než u markerů diferenciačního typu. Nespecificky je TPA/S v séru zvýšen při některých onemocněních jater

- Jde o enzym tvořený dvěma rozličnými polypeptidovými řetězci, které formují 5 izoenzymů. Na zvýšení LD u maligních onemocnění se podílí zejména izoenzym 1 a 2 , u solidních nádorů i ostatní izoenzymy.

**Hodnocení:** není jednotná hladina cut-off ; nález je informativní při posouzení změny katalytické koncentrace LD mezi dvěma časově odlišenými odběry. U dětí je hodnota LD vyšší. Laboratořím se doporučuje používat jako hodnotu cut-off hodnotu horní meze jejich vlastního referenčního intervalu.

**Doporučené použití pro klinické účely:** je vhodným doplňkovým markerem zejména pro monitorování nemocných s diferencovanými lymfocytárními i histiocytárními typy nehodgkinských lymfomů, leukémií, ale i solidních nádorů



- B2M tvoří extracelulární doménu lidského leukocytárního antigenu HLA I.třídy. Je přítomen téměř ve všech buňkách kromě erytrocytů a trofoblastických buněk.

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 2,4 mg/l.

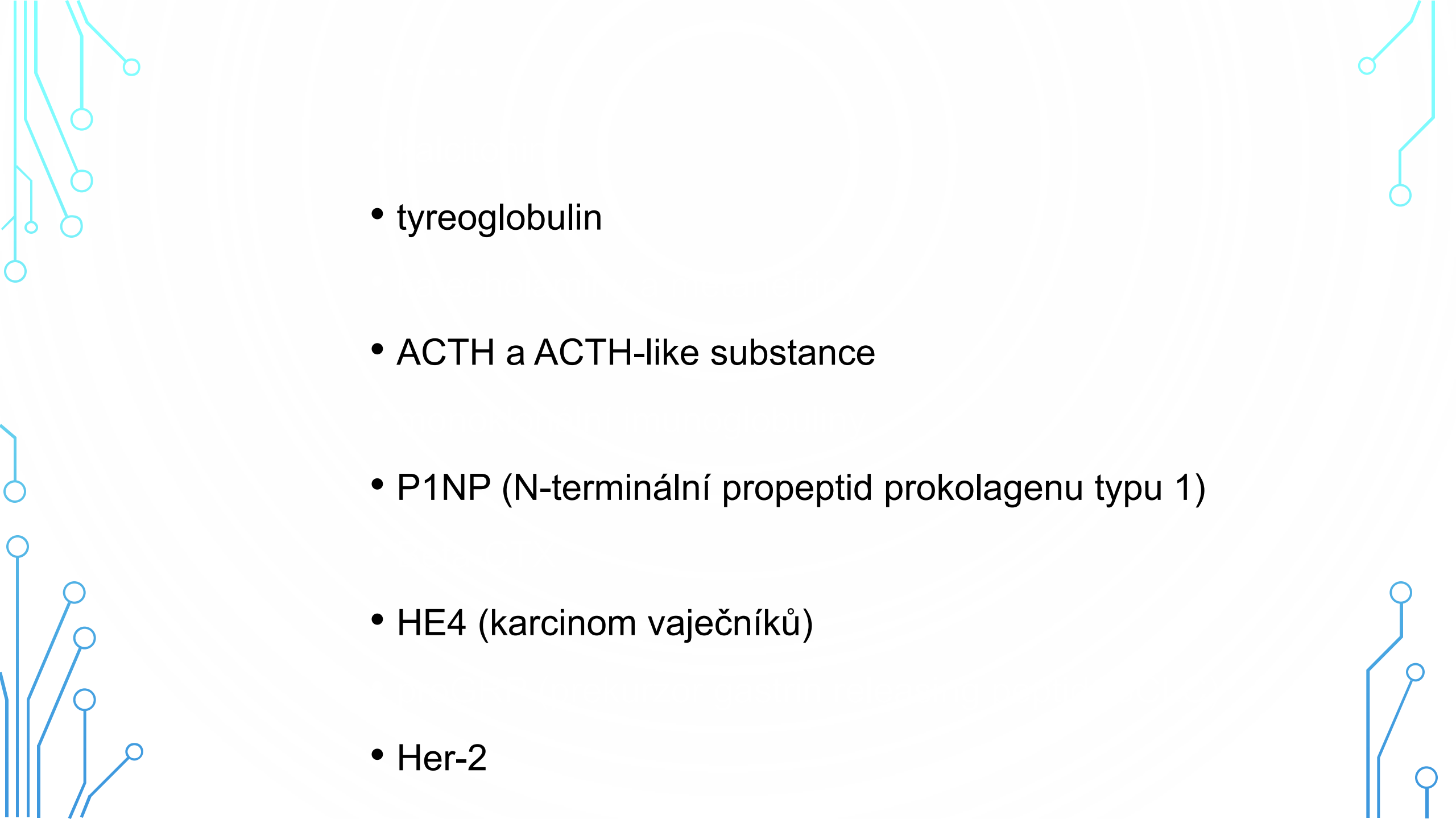
**Doporučené použití pro klinické účely:** Stanovení nelze použít pro screening a diagnostiku maligního onemocnění. B2M je zvýšen u systémového onemocnění B-lymfocytárního systému, u mnohočetného myelomu, chronické lymfocytární leukemie a nehodgkinských lymfomů B-lymfocytárního původu. K určitému zvýšení B2M v případě rozsevu onemocnění dochází i u solidních karcinomů.

Zvýšené hladiny B2M v séru se vyskytují zejména u poruch funkce ledvin a chronických zánětlivých, autoimunitních

- Chromogranin A (CgA) je kyselý glykoprotein vyskytující se v sekrečních granulích normálních i neoplastických neuroendokrinních tkáních.

**Hodnocení:** obvyklá hodnota cut-off je kolem 35 µg/l

**Doporučené použití pro klinické účely:** CgA vykazuje nejvyšší senzitivitu u nemocných s neuroendokrinními malignitami při srovnání s dosud užívanými metodami stanovení NSE nebo 5-hydroxyindoloctové kyseliny v moči. Senzitivita průkazu návratu choroby pro karcinoidy se pohybuje kolem 70 – 90 %. CgA vykazuje korelaci se změnami odpovídajícími vývoji onemocnění (progrese, stabilizace, kompletní remise). Cirkulující CgA byl prokázán i u sporadických gastro-entero-pankreatických neuroendokrinních tumorů i u dědičných mnohočetných endokrinních neoplasií typu 1 (MEN), u dětských neuroblastomů i u neuroendokrinní diferenciace karcinomu prostaty nereagujících na hormonální léčbu. Zvýšené hladiny chromograninu A v séru či plasmě najdeme při terapii kortikoidy, poruchách ledvin a jater.

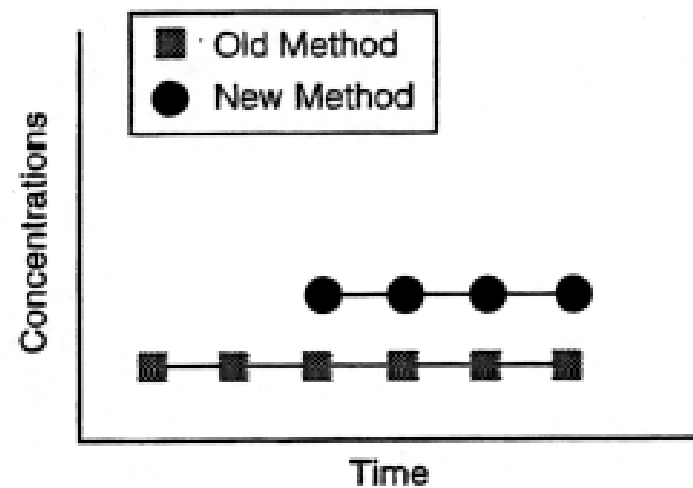
- 
- tyreoglobulin
  - ACTH a ACTH-like substance
  - P1NP (N-terminální propeptid prokolagenu typu 1)
  - HE4 (karcinom vaječníků)
  - Her-2

Nádor – lokalizace		Markery základní	Markery doplňkové	
Žaludek	Karcinom	CA72-4, CEA	CA19-9, AFP	
	Neuroendokrinní	CgA	5-HIAA, gastrin, somatostatin, ACTH	
Jícen	Horní třetina	SCCA	CYFRA 21-1	
	Dolní třetina	CA72-4, CEA		
Pankreas	Karcinom	CA19-9, CEA		
	Neuroendokrinní	Inzulin, NSE	CgA	
Játra	Hepatocelulární karcinom	AFP, CEA		
	Cholangiocelulární	CA19-9		
	metastázy	CEA		
Tlusté střevo a konečník	Karcinom	CEA, CA19-9	GMT	
	neuroendokrinní	CgA, 5-HIAA, NSE	hCG	
Mléčná žláza		CA15-3, CEA	Her-2, CYFRA 21-1, TPA/S, TK	
Ovarium	Nemucinózní	CA125, HE4	TPA/S	
	Mucinózní	CA19-9, CA 72-4, inhibin	CEA	
	Germinativní	AFP, hCG		
Cervix	Epidermoidní	SCCA	CYFRA 21-1, CEA	
	Adenokarcinomy	CEA, CYFRA 21-1		
Corpus uteri		CA125, CA19-9	HE4	
Vulva		SCCA		
Ledviny		CEA, LD, NSE		
Močový měchýř		TPA/S, CYFRA 21-1		
Prostata		PSA, fPSA	CgA	
Testes	Seminomy	hCG, LD	NSE	
	Neseminomy	hCG, AFP, LD		
Karcinoid		5-HIAA, NSE, CgA		
Štítná žláza	Medulární	CT, CEA	CgA, NSE	
	Diferencovaný	TG		
	Anaplastické	TPA/S		
Melanom		S100beta, NSE	LD, TK	
Plíce	SCLC	CEA, NSE, proGRP	CYFRA21-1, CgA	
	NSCLC	Adenokarcinom	CYFRA 21-1, CEA	CA15-3, CA125
		Skvamózní	SCC, CYFRA 21-1	
		Velkobuněčný nediferencovaný	CYFRA 21-1, CEA	CA15-3
Hlava, krk		SCCA, TPA/S	CYFRA 21-1, CEA,	
CNS	Neuroblastomy	NSE, CgA		
	Gliomy	CEA		
	Astrocytomy	TK		
Kostní metastázy		P1NP, beta-CTX	CgA	

metoda	03.04.14 06:30 14/37829	03.04.14 06:30 14/37831	27.11.14 09:49 14/129429	27.11.14 09:49 14/129430	09.03.15 09:42 15/27394	09.03.15 09:43 15/27395	ref. meze	jednotka
P_Natrium		141	141		140		137-145	mmol/l
P_Kalium		4.7	4.4		4.9		3.5-5.1	mmol/l
P_Chloridy		104	102		93		100-108	mmol/l
P_Magnesium		0.92	0.87		0.81		0.76-1.12	mmol/l
P_Kalcium		2.55	2.69		3.34 K		2.15-2.54	mmol/l
P_Bilirubin celkový		16	11		12		do 22	µmol/l
P_AST		0.64	0.51		1.30		0.25-0.57	µkat/l
P_ALT		0.77	0.42		0.27		0.17-0.65	µkat/l
P_GGT		0.58	0.54		1.13		0.20-1.30	µkat/l
P_ALP		1.02	1.10		2.98		0.55-1.78	µkat/l
P_Laktátdehydrogenáza		3.79	4.22		29.39		2.00-3.79	µkat/l
P_Kreatinin		77	80		91		49-87	µmol/l
vv_eGFR <sub>epi</sub>		1.24	1.18		1.01		1.10-2.00	ml/s
P_Urea		4.3	5.7		8.4		do 7.1	mmol/l
P_Kyselina močová		418	422		1036		161-390	µmol/l
P_Glukóza		6.1	5.8		5.5		3.9-5.8	mmol/l
P_Albumin		48	46		39		39-49	g/l
P_Celková bílkovina		76	76		70		70-86	g/l
P_Hemoglobin volný			60		60		do 200	mg/l
B_Erytrocyty		4.910	4.940		4.860		4.000-5.200	10 <sup>12</sup> /l
B_Leukocyty		6.250	7.170		12.580		4.500-11.000	10 <sup>9</sup> /l
B_Hemoglobin		156	154		153		120-160	g/l
B_Hematokrit		0.436	0.441		0.452		0.360-0.460	
B_Trombocyty		255	244		323		177-393	10 <sup>9</sup> /l
B_Stř. objem erytr.(MCV)		88.8	89.3		93.0		80.0-100.0	fl
B_Stř.hmot. Hb v ery(MCH)		31.8	31.2		31.5		26.0-34.0	pg
B_Stř.konc.Hb v ery(MCHC)		358	349		338		310-370	g/l
B_RDW		12.3	12.6		15.1		11.0-15.6	%
B_MPV		10.8	10.1		10.7		7.2-11.1	fl
B_Neutrofilý		0.430	0.494		0.769		0.480-0.700	-
B_Eosinofily		0.061	0.064		0.004		0.015-0.045	-
B_Basofily		0.018	0.015		0.010		0.000-0.020	-
B_Monocyty		0.091	0.110		0.114		0.005-0.070	-
B_Lymfocyty		0.400	0.317		0.103		0.270-0.420	-
B_Neutrofilý počet		2.690	3.540		9.670		1.800-7.700	10 <sup>9</sup> /l
B_Eozinofily počet		0.360	0.460		0.050		0.050-0.350	10 <sup>9</sup> /l
B_Bazofily počet		0.110	0.110		0.120		0.030-0.160	10 <sup>9</sup> /l
B_Monocyty počet		0.570	0.790		1.440		0.150-0.580	10 <sup>9</sup> /l
B_Lymfocyty počet		2.500	2.270		1.300		1.000-4.800	10 <sup>9</sup> /l
B_Nezralé granulocyty		0.2	0.4		1.7		0.0-0.6	%
B_Nezralé granulo. počet		0.010	0.030		0.210		0.000-0.040	10 <sup>9</sup> /l
B_NRBC		0.000	0.000		0.000		0.000-0.000	/100 Leuko
B_NBRC počet		0.000	0.000		0.000		0.000-0.000	10 <sup>9</sup> /l
P_C-reaktivní protein		1.0			66.8		0.0-11.0	mg/l
S_CEA	1.1			1.0		1.4	do 4.6	ug/l
S_CA 15-3	15.9			14.1		25.5	do 34.0	kU/l
S_Estradiol						18		pmol/l
S_FSH						10.0		IU/l

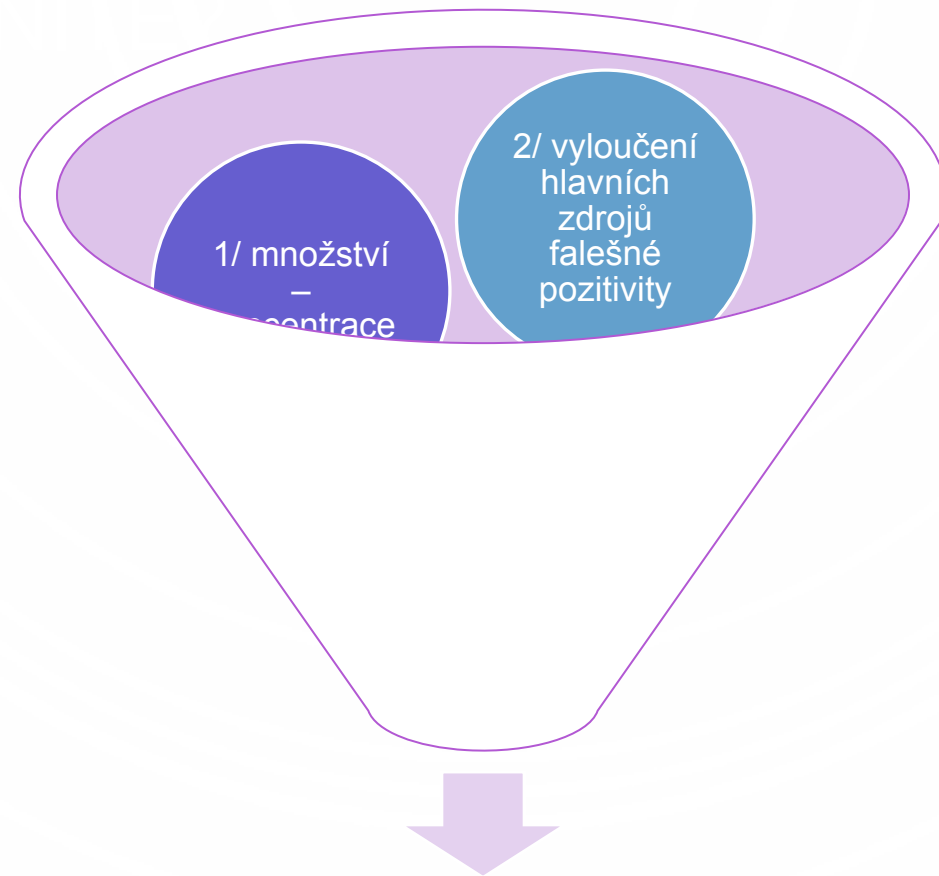
# KLÍČOVÉ FAKTORY VE STANOVOVÁNÍ NÁDOROVÝCH MARKERŮ

- Biologické (half-life, nespecificita)
- Analytické (preanalytika, interference)

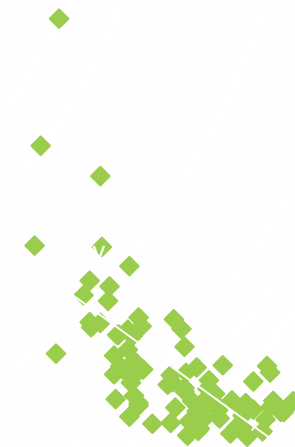


...

...



Nádorový marker	Nemalignní onemocnění	Jiná příčina
AFP	jaterní cirhóza, akutní i chronická hepatitida, zánětlivé procesy plic, ledvin, GIT, autoimunitní onemocnění	těhotenství
B2M	porucha funkce ledvin, jaterní onemocnění, chronické záněty, poruchy imunity, virové infekce	
Beta-CTX	osteoporóza	anabolická terapie
CA 125	výpotky, ovariální cysty, záněty adnex, endometrióza, myom, choroby jater, pankreatu, žlučníku, plicní infekce, CHOPN, nefrotický syndrom	první trimestr těhotenství, ovulace, menstruace
CA 15-3	deficience vitamínu B12, jaterní cirhóza, akutní hepatitida, postižení ledvinových glomerulů, benigní nádor prsu, plicní infekce, léčba G-CSF, ovariální cysta, autoimunitní onemocnění	
CA 19-9	cirhóza jater, cholelitiáza, chronická hepatitida, akutní a chronická pankreatitida, choroby žlučových cest, diabetes, endometrióza, ovariální cysta, renální selhání	těhotenství
CA 72-4	benigní nádory prsu, choroby GIT, akutní procesy, CHOPN	terapie nesteroidními antiflogistiky, kortikosteroidy nebo omeprazolem
CEA	zánětlivé choroby jater, renální selhání, jaterní cirhóza, pankreatitida, ulcerózní kolitida, Crohnova nemoc	kouření, těhotenství
CYFRA 21-1	jaterní cirhóza, renální selhání, systémové kožní onemocnění (psoriáza, pemfigus), jaterní onemocnění, myom, ovariální cysta, zánětlivé onemocnění, výpotky	
Feritin	zánětlivé onemocnění, poruchy metabolismu železa, akutní hepatitida, Gaucherova choroba	
hCG	mola hydatidóza, renální selhání, autoimunitní onemocnění	těhotenství
HE4	porucha funkce ledvin, výpotky, jaterní onemocnění	
Her-2	jaterní onemocnění, renální selhání	
Chromogranin A	chronická atrofická gastritida, gastritida při infekci <i>H. pylori</i> , poruchy funkce ledvin, benigní hyperplazie prostaty, zánětlivé onemocnění střev, jaterní onemocnění, akutní a chronická srdeční dysfunkce, hypertenzní krize, pneumonie, sepse, akutní procesy	terapie inhibitory protonové pumpy, antagonisty H2-histaminových receptorů, kortikosteroidy
ICTP	revmatoidní artritida, porucha funkce ledvin	imobilizace vyšetřovaného
Kalcitonin	porucha funkce ledvin, hyperkalcemie, sepse, Zollingerův-Ellisonův syndrom, perniciózní anemie	konec těhotenství





Nádorový marker	Nemaligní onemocnění	Jiná příčina
NSE	plicní a jaterní onemocnění, hemolytická anemie, postižení mozku, ledvinové selhání, neuropatie	hemolýza ve vzorku, terapie inhibitory protonové pumpy
P1NP	osteoporóza	anabolická terapie
Pro-GRP	renální selhání, jaterní onemocnění, chronická onemocnění	
PSA	benigní hyperplazie, záněty prostaty, renální selhání	mechanické dráždění prostaty
S-100 beta	renální selhání, poškození mozku, zlomeniny, jaterní onemocnění, autoimunitní onemocnění	
SCCA	porucha funkce ledvin, kožní onemocnění, poruchy jater, záněty plic	
TK	virové a bakteriální infekce, proliferační procesy, deficiencie vitaminu B <sub>12</sub> , autoimunitní stavy	
TPA/S	infekční procesy, jaterní cirhóza, pankreatitida, výpotek, ateroskleróza, akutní procesy	
Tyreoglobulin	subakutní tyreoiditida,	těhotenství (poslední trimestr)
5-HIAA		dietetické faktory: káva, alkohol, ananas, ořechy, banány

# NÁDOROVÉ MARKERY - PREANALYTIKA

- V současnosti se většina používaných solubilních nádorových markerů stanovuje v séru.
- Jde obvykle o štěpy velkých molekulárních komplexů, a proto nevykazují nádorové markery příliš velkou preanalytickou variabilitu.

# TUMOR MARKERY: UŽITÍ V KLINICE

- **Populační screening** (PSA, fPSA)
- **Diferenciální diagnóza** (AFP)
- **Prognostické indikátory** (CEA)
- **Monitoring odpovědi na terapii** (CA15-3, CEA, CA125, SCCA ...)
- **Detekce návratu choroby** (CA15-3, CEA, CA19-9, AFP, hCG ..)

## Doporučení

České společnosti klinické biochemie (ČSKB ČLS JEP)

České onkologické společnosti (ČOS ČLS JEP)

České společnosti nukleární medicíny (ČSNM ČLS JEP) - sekce imunoanalytických metod  
k využití nádorových markerů v klinické praxi

### **Autorský kolektiv:**

Masarykův onkologický ústav Brno: Dalibor Valík (editor), Miroslava Nekulová, Lenka Zdražilová  
Dubská,

Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN Praha: Drahomíra Springer  
(editor), Ivan Malbohan, Tomáš Zima (editor),

Oddělení nukleární medicíny imunoanalytická laboratoř FN Plzeň- Bory a Centrální laboratoř pro  
imunoanalýzu LF UK a FN Plzeň: Ondřej Topolčan, Radka Fuchsová, Šárka Svobodová

**Účel:** účelem tohoto doporučení je pomoci lékařům a pracovníkům klinických laboratoří se orientovat  
v racionálním používání nádorových markerů v klinické praxi.

**Zdroje:** toto doporučení rámcově vychází z dokumentů publikovaných ASCO, NACB a EGTM  
([www.asco.org](http://www.asco.org), [www.nacb.org](http://www.nacb.org), [www.egtm.eu](http://www.egtm.eu)). Doporučení dále zohledňuje dlouhodobé zkušenosti  
autorů s používání nádorových markerů v péči o onkologického pacienta.