

# 10. Nádorové markery

- Tumor, tumorové markery.
- Základní charakteristika nádorové buňky.
- Strategie laboratorních vyšetření.
- Požadavky na ideální nádorový marker.
- Používané tumorové markery.

# Nádory (tumory)

- Nádor je patologický stav (nemoc) v důsledku **porušené kontroly buněčného dělení**
  - příčinou porušené regulace je genetická změna nejčastěji 1 somatické (ale i zárodečné) buňky
  - buňky vycházející z patologického klonu se nekontrolovaně množí (různě rychle) a posléze event. šíří i na další sekundární místa (**metastázy**)
    - podle rychlosti proliferace rozlišujeme nádory
  - **benigní** - většinou rostou jen v místě vzniku, nejsou agresivní, zachovávají si diferenciaci
  - **maligní** - rostou rychle, invazivně a šíří se na další místa, nediferencované
- Všechny nádory jsou důsledkem **genetické poruchy**, a to klíčových genů kontroly buněčného cyklu
  - **protoonkogenů** - normálně podporují dělení a růst buněk, pokud mutovány dělení je nekontrolované
  - **supresorových genů** - normálně kontrolovaně potlačují dělení, pokud mutovány, umožňují nekontrolované dělení
  - **DNA reparačních genů** - normálně opravují DNA opravitelné změny, pokud mutovány neopravená změna může být přenesena do dceřinných bb.
  - pouze některé jsou ovšem zároveň dědičné (tzv. **familiární**) = mutace v zárodečné buňce
  - většina nádorů jsou náhodné, tzv. **sporadické** = mutace v **somatické** buňce

# Nádory - vznik

## □ Genetická změna může vzniknout

- chybou při DNA replikaci a dělení buňky
- působením zevních faktorů (**karcinogenů**)
  - fyzikálních** - např. UV a ionizující záření
  - chemických** - organické látky, toxiny, těžké kovy
  - biologických** - některé RNA a DNA viry

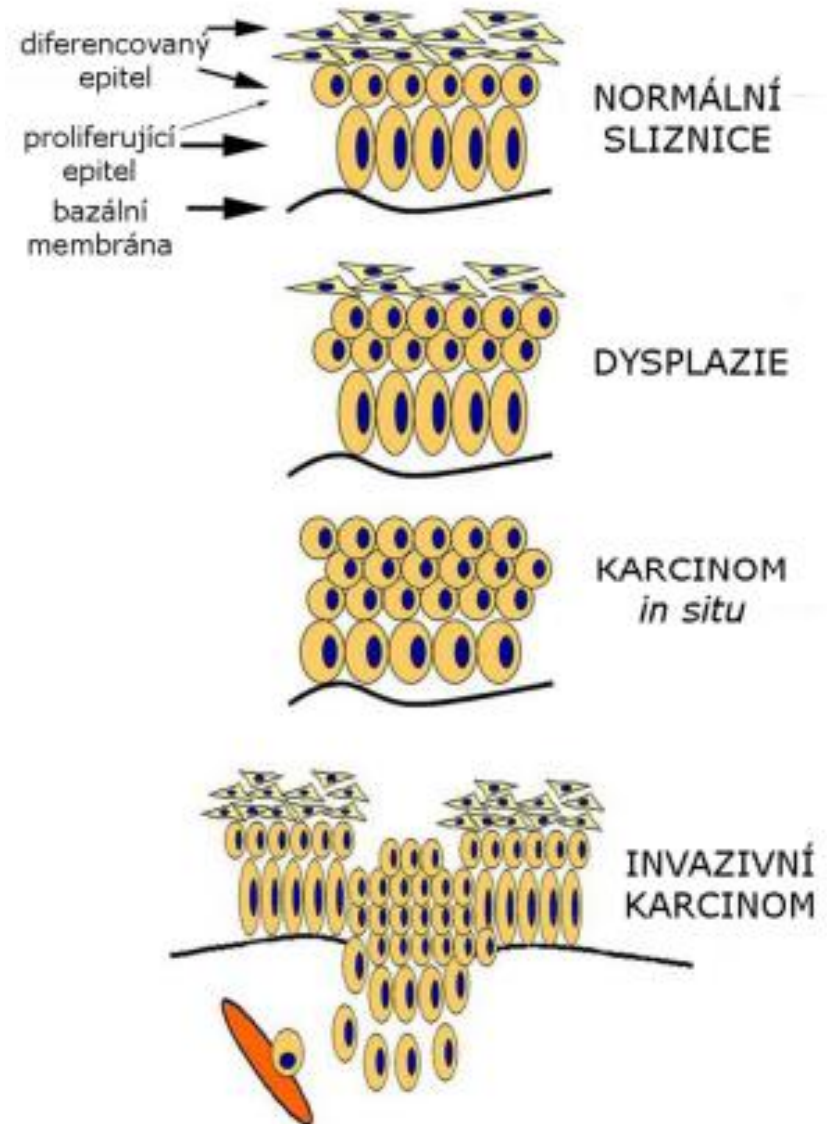
## □ Nádor zpravidla původně vychází z mutací 1 buňky (**monoklonální**), - proces nádorové transformace je ovšem víceúrovňový (tj. postupná kumulace několika mutací), takže se postupně stává geneticky **heterogenní**, --nádor přechází ze stadia prekancerózy, přes benigní až k malignímu

--**Histologicky** - tj. podle toho z jaké tkáně pochází - rozlišujeme 3 sk.

--- **epiteliální** --kůže, sliznice, výstelky vývodů (papilom, adenom (b.), karcinom (m.))

---- **mesenchymální** --pojivo, endotel, sval. tkáň, hematopoetická a lymfatická tkáň, kosti (fibrom, hemangiom, myom (b.), sarkom, lymfom, leukemie (m.)),

----- **neuroektodermové** -- CNS a periferní nervy, pigmentové névy (astrocytom, gliom, blastom, neurinom, melanom)



# Mutageny/karcinogeny

## ☐ fyzikální

- UV (karcinoma basilion kůže, melanom),
- ionizující záření a RTG záření (leukemie, št. zláza, kosti, ...)

## ☐ chemické

- polycyklické aromatické a chlorované uhlovodíky,
- aromatické aminy, nitrosaminy
- těžké kovy,
- mykotoxiny, - některé jsou toxické až po metabolické transformaci v organismu, popř. při tepelném zpracování (potrava)
- nádory GIT jako důsledek expozice karcinogenům v dietě, nádory plic jako důsledek kouření, alkoholická cirhóza

## ☐ biologické = inkorporace virového genomu do hostitelského, opět v kritických místech

- DNA viry

herpes (EBV - lymfomy), hepdnaviry (HBV - hepatocelulární ca), papovaviry (papilomaviry - ca děložního čípku, hrtanu, ústní dutiny), adenoviry

- RNA viry - retroviry (HIV - Kaposiho sarkom, B-lymfom, HTLV - T-buněčná leukemie)

# Které geny jsou změněny během kancerogeneze?

- nádor není monogenní onemocnění
- odhaduje se, že pro vývoj nádoru je nezbytných 4-7 událostí (zásahů)
- konkrétních genů, které mohou být během kancerogeneze změněny jsou desítky, obecně existuje šest základních vlastností plně maligního nádoru:

# Šest získaných vlastností maligního nádoru

## **získaná schopnost**

1. Soběstačnost v produkci růstových signálů
2. Necitlivost k signálům zastavujícím b.c.
3. Poškození apoptózy
4. Neomezený replikační potenciál
5. Posílení angiogeneze
6. Tvorba metastáz

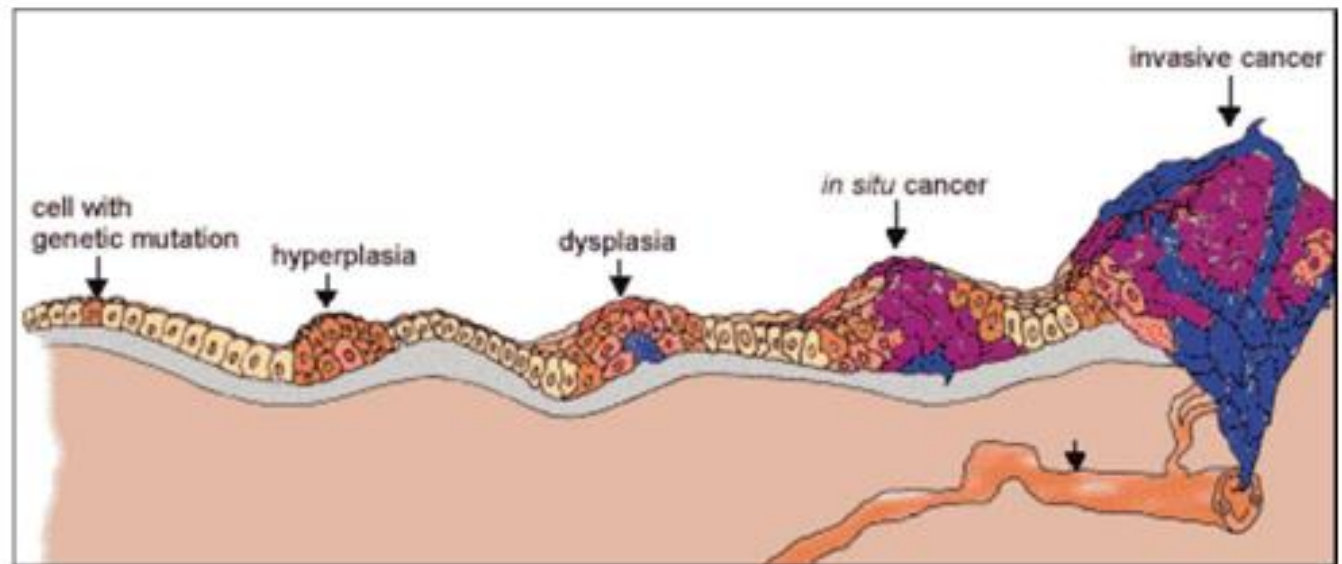
## **příklad**

- aktivace H-ras
- ztráta RB
- produkce IGF
- aktivace telomerázy
- produkce VEGF
- inaktivace E-kadherinu

**Nestabilita genomu jako podmínka akumulace všech nutných změn.**

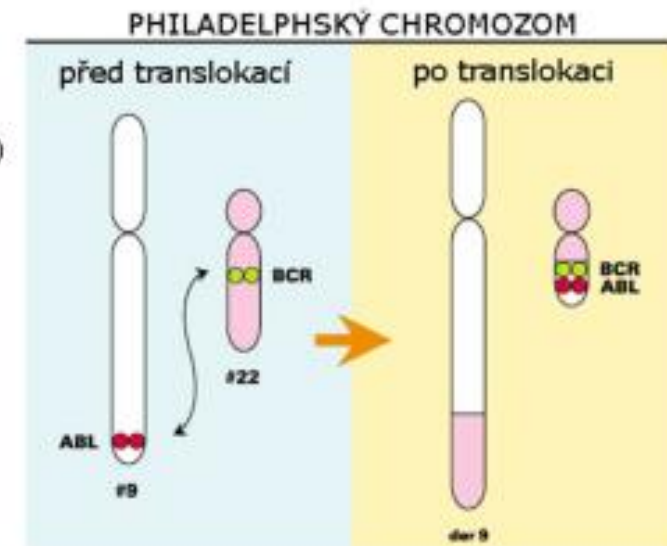
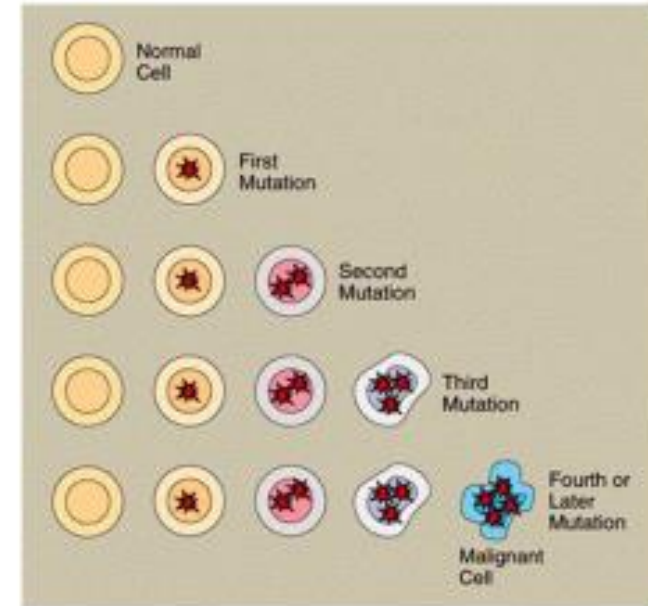
# Klasifikace nádorů

- morfologická diagnostika = typing
  - určení histologického typu
- hodnocení invazivity = grading
  - stupeň benignity × malignity
- určení iniciálního rozsahu = staging
  - TNM klasifikace (T = tumor, N = node (uzliny), M = metastasis)



# Proces nádorové transformace

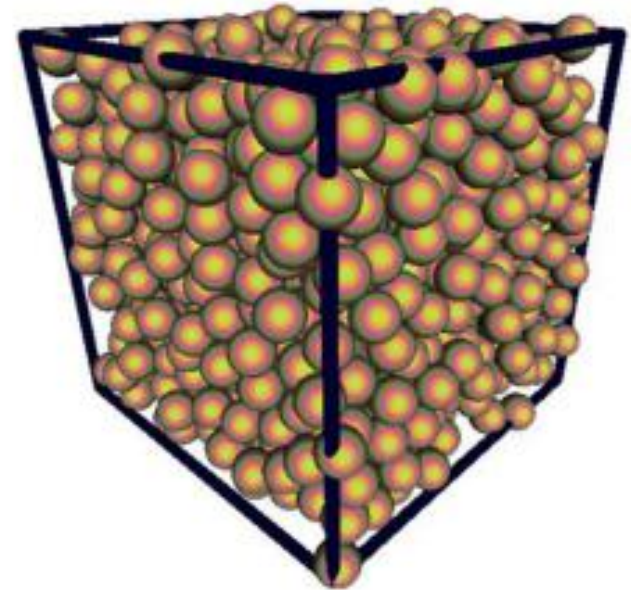
- jakákoliv mutace v kritickém místě DNA
  - ☛ tj. protoonkogen, supresor, reparační gen
  - chromozomové aberace
    - translokace, inserce, delece, duplikace
  - genové mutace
    - bodové mutace, délkové (ins/del)
- mutageny/karcinogeny
  - fyzikální
    - UV (karcinom a basilion kůže, melanom)
    - ionizující záření a RTG záření (leukemie, št. žláza, kosti, ...)
  - chemické
    - polycyklické aromatické a chlorované uhlovodíky, aromatické aminy, nitrosaminy, těžké kovy, mykotoxiny
    - některé toxické až po metabolické transformaci v organismu, popř. při tepelném zpracování (potrava)
      - ☛ nádory GIT jako důsledek expozice karcinogenům v dietě
      - ☛ nádory plic jako důsledek kouření
      - ☛ alkoholická cirhóza
  - biologické = inkorporace virového genomu do hostitelského, opět v kritických místech
    - DNA viry
      - ☛ herpes (EBV - lymfomy)
      - ☛ hepdnaviry (HBV - hepatocelulární ca)
      - ☛ papovaviry (papilomaviry - ca děložního čípku, hrtanu, ústní dutiny)
      - ☛ adnoviry
    - RNA viry - retroviry
      - ☛ HIV - Kaposiho sarkom, B-lymfom
      - ☛ HTLV - T-buněčná leukemie
  - prekancerózy = chronická iritace tkáně zánětem
    - Baretův jícen při GER
    - ulcerózní kolitida a Crohnova nemoc
    - divertikulitida





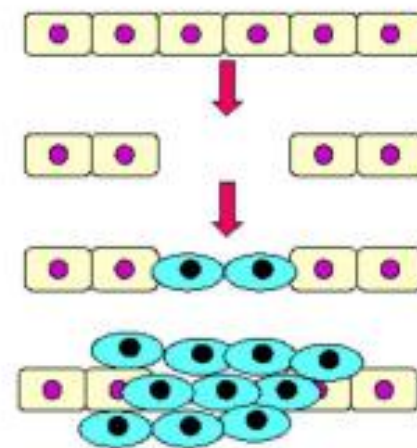
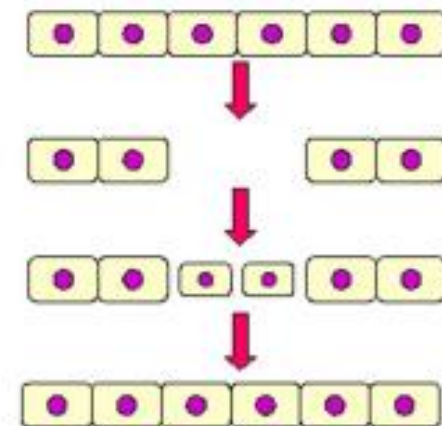
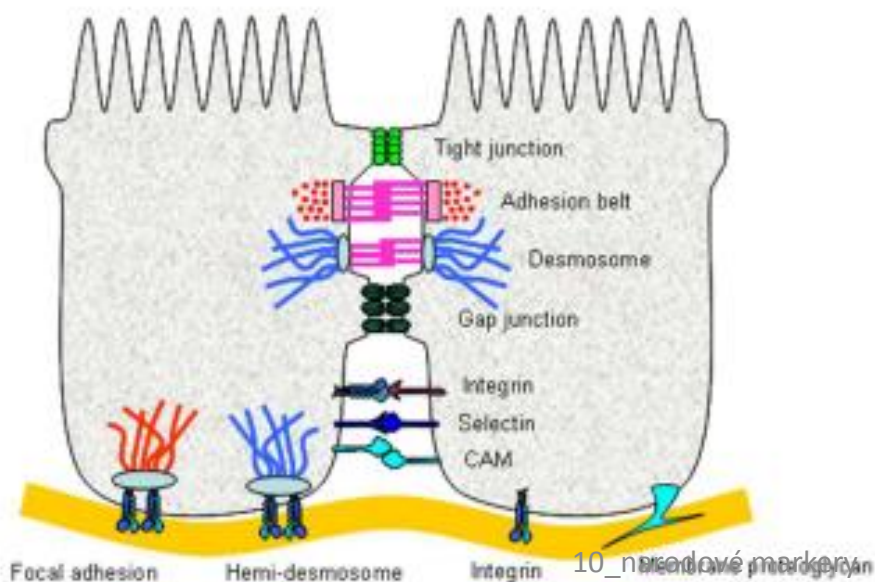
# Růst tumoru

- dělení v klonu nádorových buněk:  $N=2^n$ 
  - 2, 4, 8, 16, 32, .....
  - 10 dělení = ~1 000 bb.
  - 20 dělení = ~1 000 000 bb. (m=1mg)
  - 30 dělení = ~1 000 000 000 bb. (m=1g)
  - 40 dělení = m=1kg
    - ☛ při 12-ti hodinovém b. cyklu za zhruba 20 dní
- ve skutečnosti je ovšem růst nádoru mnohem pomalejší - dělení  $\times$  zánik buněk
  - prodlužování trvání b. cyklu
  - neproliferující frakce bb. (diferencované)
  - zánik bb. (malnutrice, cytotox. lymfocyty)
  - mechanické ztráty bb. (odlupování např. ve střevě)
- podmínkou růstu je vytvoření nádorového stromatu a kapilární sítě (angiogeneze)
  - pak převažuje proliferace nad zánikem buněk



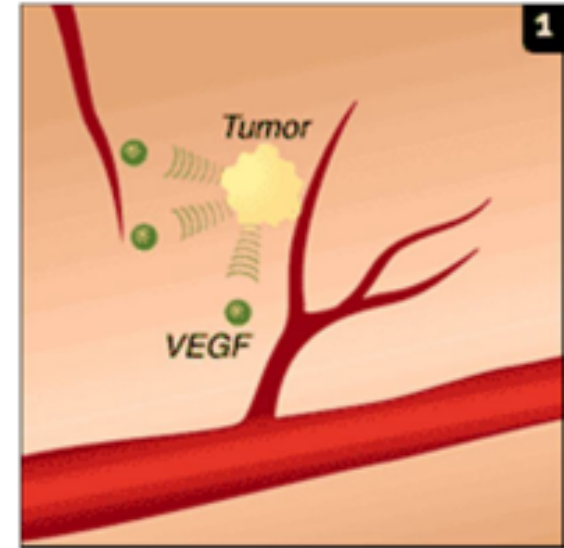
# Růst tumoru: další faktory ovlivňující buněčný cyklus

- mezibuněčná komunikace (~kontaktní inhibice)
  - integriny - spojení s ECM
  - cadheriny - spojení bb. mezi sebou



# Růst nádoru: další faktory ovlivňující buněčný cyklus

- metabolismus = **potřeba energie** (kyslík a substráty)
  - buněčná masa velikosti okolo  $1\text{mm}^3$  (cca  $1 \times 10^6$  buněk) není bez vaskularizace schopna dále růst (proliferace je v rovnováze s apoptózou)
  - v odpovědi na **hypoxii** je regulován hypoxia-1a (HIF-1a), který potranslokaci do jádra ovlivňuje transkripci řady genů, mimo jiné
    - represe E-cadherinu
    - $\uparrow$  exprese GLUT1 a 3 =  $\uparrow$  substráty
      - ☛ také efekt hormonů a růst. faktorů
    - vascular endothelial growth factor (VEGF) a angiopoetin
      - ☛ tento stimuluje novotvorbu cév (**angiogeneze**) nutných pro další růst nádoru
    - chemotaxe makrofágů do tumoru a produkce dalších angiogenních a růstových faktorů
      - ☛ VEGF
      - ☛ basic fibroblast growth factor (bFGF)
      - ☛ transforming growth factor-b (TGF-b)
      - ☛ platelet-derived growth factor (PDGF)



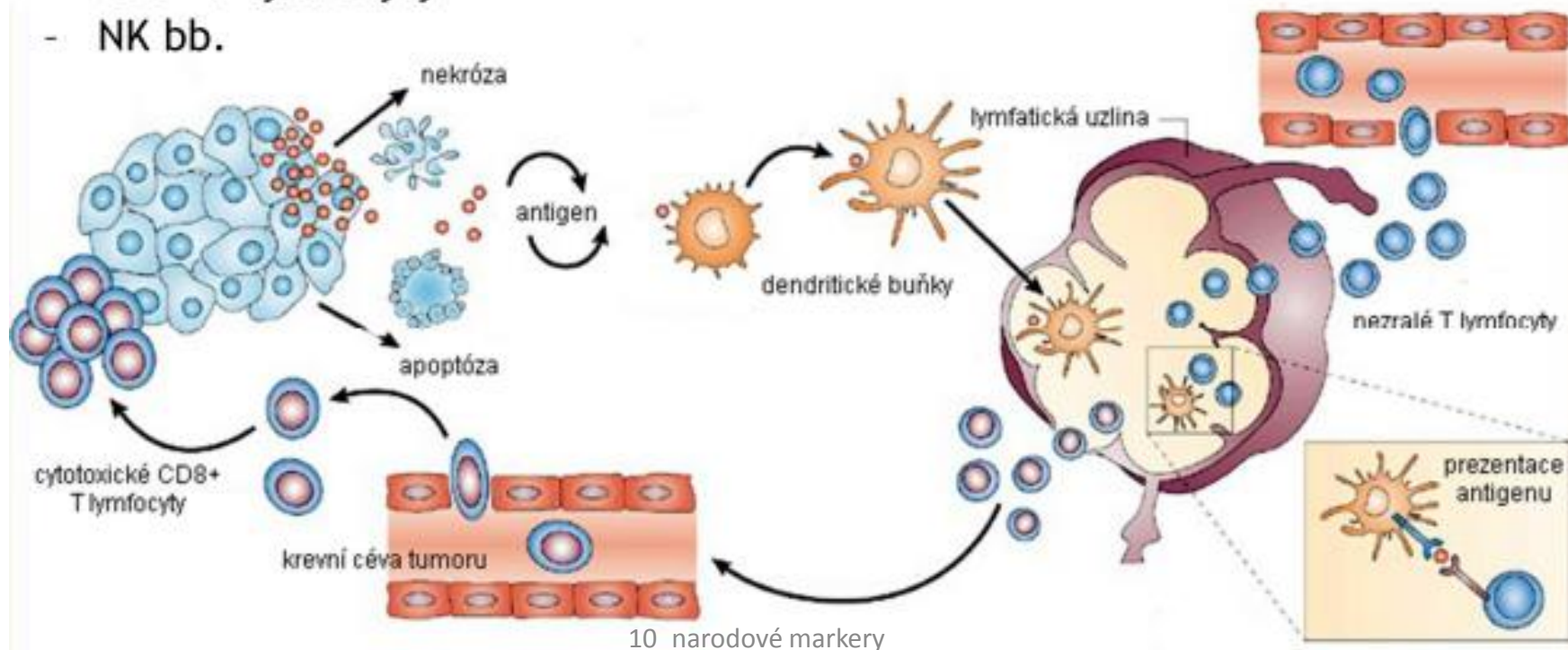
# Imunitní systém vs. nádor

nádorové bb. mají některé imunologické odlišnosti

- změny přirozených povrchových antigenů (např. ztráta MHC)
  - unikají imunitnímu rozeznání a likvidaci
- exprese nových (tzv. onkofetálních) antigenů
  - diagnostické markery (např. CEA,  $\alpha$ -fetoprotein aj.)

v protinádorové imunitě se uplatňují cytotoxické mechanismy

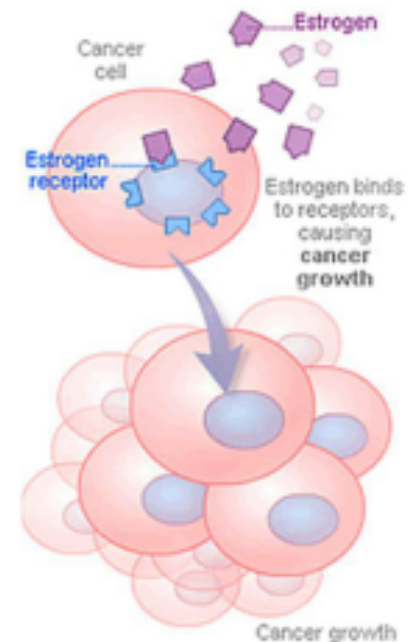
- CD8+ T-lymfocyty
- NK bb.



# Hormonální stimulace

růst některých tumorů  
je výrazně potencován  
hormony (nejč.  
pohlavními)

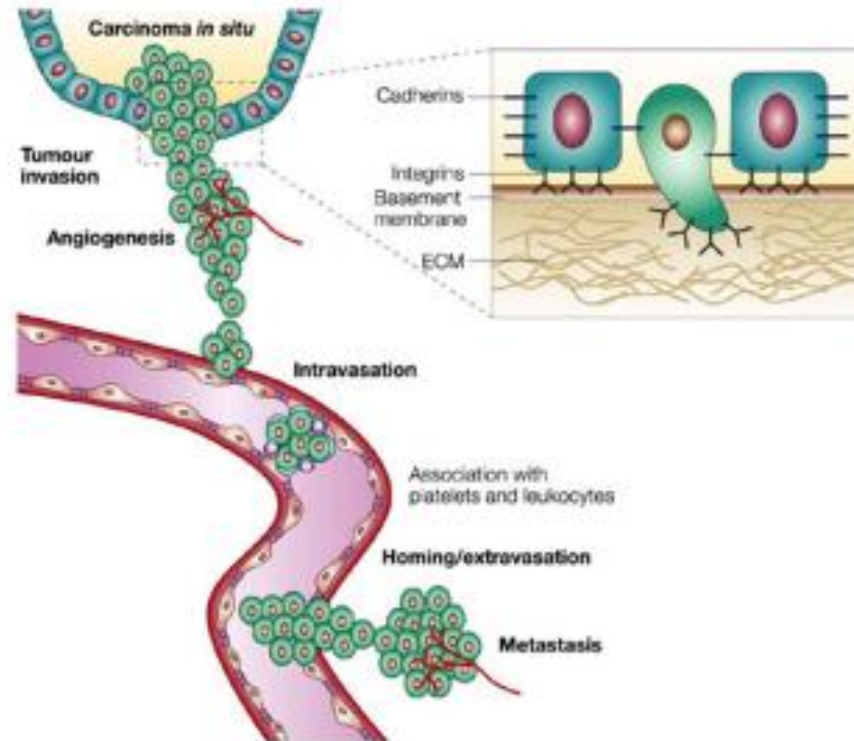
- ca prsu, dělohy,  
vaječníků, prostaty



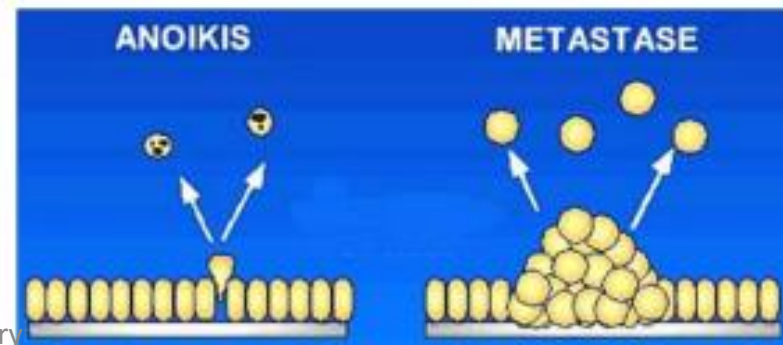
# Invazivita nádoru

nádorové bb. získávají ztrátou adhezivních proteinů (E-cadherinu) “motility” fenotyp (epithelial-mesenchymal transition, EMT)

- ztráta apikobazální polarizace bb.
  - epitelové nádory (karcinomy) tvoří 2/3 všech nádorů
- produkce proteolytických enzymů nádor. bb.
  - matrix metalloproteinázy (MMP) a uPA
    - ☛ degradují extracelulární matrix a umožňuje “pučení” nových cév a extravasaci nádor. bb.
- rezistence k anoikis
  - forma apoptózy iniciovaná “odloupnutím” epitel. b. od ECM



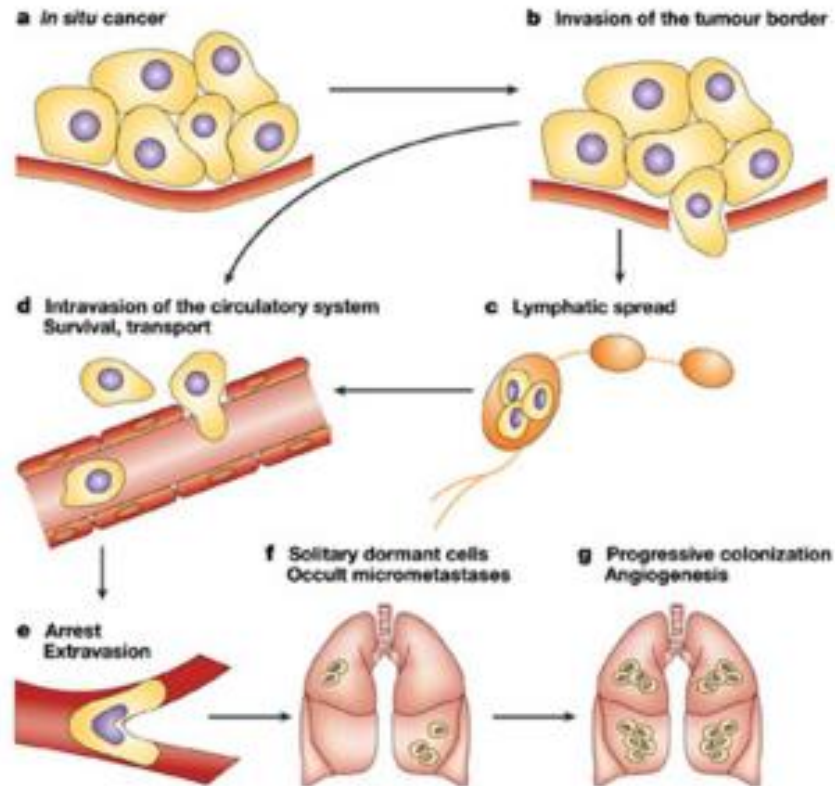
Nature Reviews | Molecular Cell Biology



# Metastázování

vytváření dceřinných nádorů vzdálených od primárního ložiska

- krví
  - často po směru toku
    - ☛ např. z GIT do jater
    - ☛ např. venózní krví do plic
    - ☛ např. z plic tepennou krví do kostí a mozku
- lymfou
  - nejprve nejbližší lymf. uzliny, poté vzdálenější



# Některé následky nádorů

- Hyperkalemie
- Hypoglykemie
- Anémie
- Acidóza
- Hormonální poruchy
- Nádorová kachexie

**Hyperkalemie** je zvýšení hladiny **draslíku v krvi**. Normální hodnoty jsou 3,8–5,0 mmol/l.<sup>1</sup>Vzhledem k tomu, že kalemie závisí na stavu acidobazické rovnováhy, je třeba ji posuzovat ve vztahu k hodnotě pH

**Nádorová kachexie** je syndrom progresivní ztráty tělesné hmoty, který způsobuje významnou morbiditu i mortalitu onkologických nemocných. Metabolické změny podmíněné aktivitou prozánětlivých cytokinů, vedoucí v konečném důsledku k vyčerpání svalové a tukové hmoty, jsou nezdědka přítomné již na počátku choroby, a proto je třeba považovat nádorovou kachexii za časný fenomén.

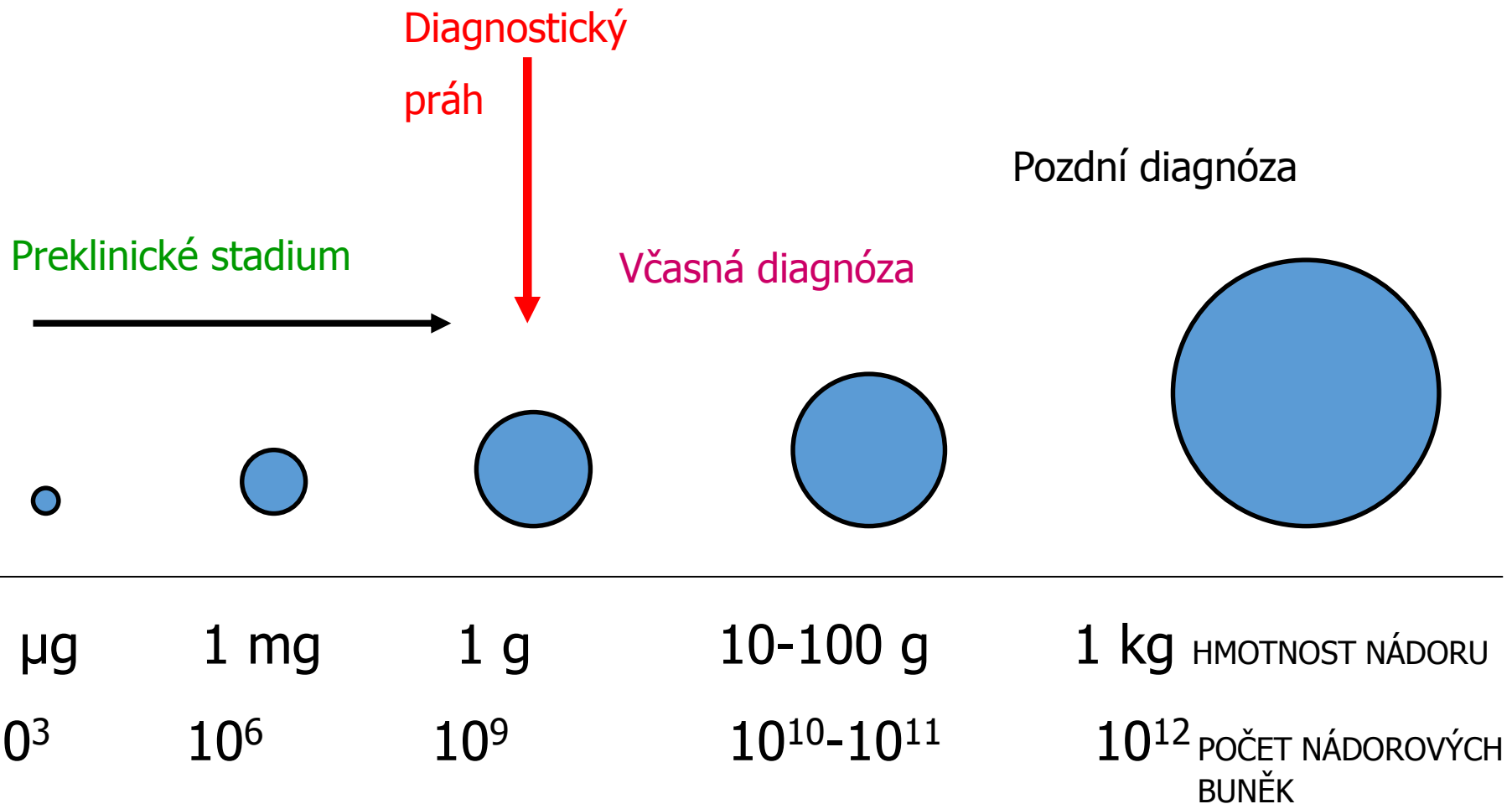


- Zhoubné novotvary patří k nejčastějším příčinám úmrtí
- Růst incidence jakých typů tumorů?
- Dochází k posunu do mladších věkových kategorií
- Cílem je co nejčasnější diagnostika
- Zobrazovací metody vs. imunochemické metody
- Metodické zdokonalování

# • Diagnostika nádorů

- Vzhledem k tomu, že rakovina je v naší společnosti častým a obávaným onemocněním, je velká snaha ji pochopit a zdokonalovat diagnostiku a léčbu.
- Léčba rakoviny závisí zejména na včasné diagnóze a rakovinné onemocnění diagnostikovat není vždy snadné.
- klinická diagnóza bývá určena většinou až u nádoru velikosti asi **1 cm - 1g**, který obsahuje asi  $10^9$  buněk.
- histologické vyšetření, zobrazovací metody (UZ, CT, NMR, PET, scintigrafii )
- Nádory často žádné příznaky nemají a dají se objevit jen drahými a zatěžujícími vyšetřeními, které nelze dělat každému pacientovi.
- Zákonitě se objevila otázka: ***Dala by se zjistit přítomnost nádoru nějakým běžným vyšetřením, nejlépe z krve?***
- A lékaři zjistili, že u řady nádorů to do jisté míry opravdu lze. Prokázalo se, že přítomnost nádoru v těle bývá spojena se zvýšením koncentrace určitých látek, které umíme laboratorně vyšetřit ze vzorku krve.
- Tyto látky byly nazvány tumor markery., **nádorové markery**

# Vývoj maligního nádoru a jeho zachycení



# NÁDOROVÉ MARKERY

- *Nádorové markery* jsou molekuly převážně **proteinového charakteru**, které jsou přítomny v organismu v důsledku vzniku a vývoje maligního procesu.
- Nazývají se též tumorové markery (TM), případně *onkomarkery*

**Rozlišovací schopnost nádorových markerů** umožňuje v příznivých případech odhalit nádor o hmotnosti **1 mg**, tedy asi  $10^6$  maligních buněk, zatímco klinická diagnóza bývá určena většinou až u nádoru velikosti asi **1 cm - 1g**, který obsahuje asi  $10^9$  buněk.

Tumorové markery **jsou produkovány** buď

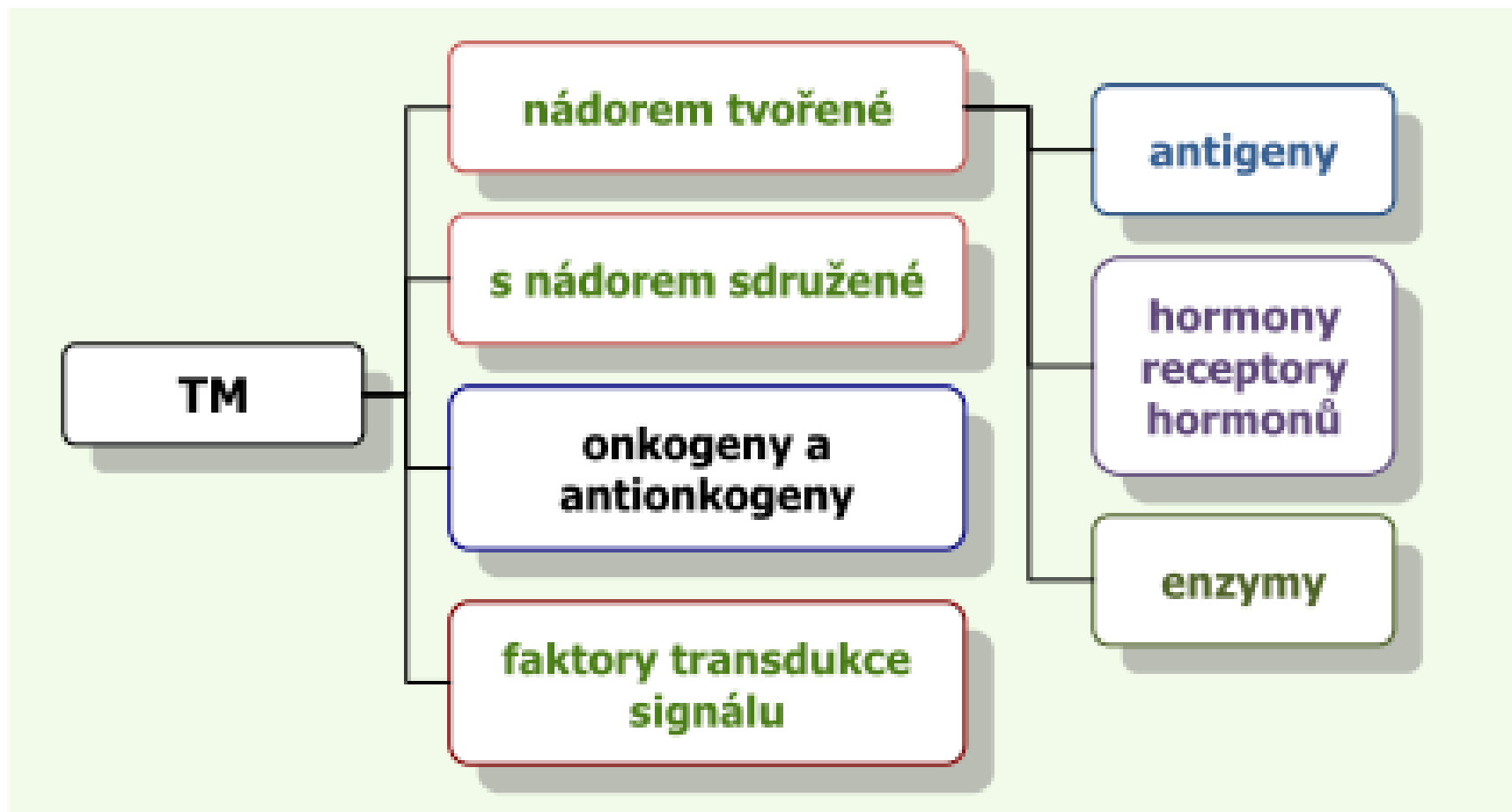
- **samotným nádorem** (pak se nazývají **antigeny sdružené/asociované s nádorem**) nebo
- **jinými tkáněmi** jako odpověď na maligní proces v organismu (pak jde o **indukované nádorové markery**, např. proteiny akutní fáze).

Lze rozlišit **tumorové markery**

- **celulární** (vyskytují se v tkáni zhoubného nádoru)
- **humorální** (vyskytují se v tělních tekutinách).

Koncentrace tumorových markerů v séru má obvykle přímý vztah k typu a rozsahu onemocnění.

# Klasifikace nádorových markerů



# Ideální tumor marker by měl splňovat tato kritéria:

- je produkován pouze u maligních onemocnění
- je orgánově specifický
- v biologických tekutinách je přítomen ve vysokých koncentracích (dostatečná senzitivita)
- jeho hladina koreluje s velikostí tumoru
  - se stadiem choroby
  - s prognózou
  - s efektem léčby
- umožňuje průkaz zbytkové nádorové tkáně
  - **V současné době takovýto ideální marker není znám.**

Doposud nebyl objeven **žádný univerzální tumorový marker**, ani specifita či senzitivita metod nedosahuje 100%. Znamená to tedy, že nezvýšená koncentrace nádorového markeru není ještě důkazem nepřítomnosti maligního onemocnění, a naopak **pozitivní výsledek** nemusí nutně znamenat zhoubný nádor.

Dají se definovat i jako *laboratorně prokazatelné známky v biologických tekutinách, tkáních nebo buňkách*, pomocí kterých je možno prokázat:

- riziko vzniku
- přítomnost
- prognózu
- účinnost (škodlivost) terapie
- vznik metastáz nebo reziduální choroby nádorového onemocnění.
- *Hlavní rolí nádorových markerů* (v medicíně, i laboratorní) je
  - sledování průběhu choroby
  - sledování účinnosti terapie.



# Klasifikace nádorových markerů

<b>Nádorem tvořené</b>	<b>Antigeny</b>	Onkofetální (AFP, CEA...)
		Onkoplacentární (hCG, izoenzymy ALP)
		„Carcinoma antigens“ (CA 19-9, CA 15-3...)
	Paraproteiny	
	<b>Hormony</b>	Kalcitonin, katecholaminy...
	<b>Receptory hormonů</b>	
	<b>Enzymy</b>	NSE...
<b>S nádorem sdružené/asociované</b>		CRP, okulní krvácení
<b>Onkogeny a antionkogeny</b>		BRCA1, p53...
<b>Faktory transdukce signálu</b> ( <b>Signální transdukce</b> - proces „přeměny“ extracelulárního signálu na buněčnou odpověď transdukci obecně se rozumí přeměna z jedné formy signálu na formu jinou, např. hlas v telefonu se mění na elektrické pulzy)		HER2/neu...

# TŘÍDĚNÍ NÁDOROVÝCH MARKERŮ

- podle průkazu
- podle chemické struktury
- podle funkce
- podle orgánové specifity

# TŘÍDĚNÍ NÁDOROVÝCH MARKERŮ

- podle průkazu
- *humorální* - průkaz v tělních tekutinách
- *celulární* - průkaz imunohistochemicky přímo v nádorové tkáni

Metodika stanovení solubilních markerů

imunoenzymatická analýza pomocí komerčních setů

# Nádorové markery podle chemické struktury

- glykoproteiny
- cukerné determinanty glykoproteinů
- sacharidy
- glykolipidy
- polypeptidy
- imunoglobuliny
- polyaminy

TEST

# Nádorové markery podle funkce

- onkofetální antigeny
- onkoplacentární antigeny
- enzymy
- hormony
- sérové bílkoviny
- receptory
- ostatní

# 1) Onkofetální antigeny

- látky vyskytující se ve vysokých koncentracích u plodu (na povrchu diferencujících se buněk) **a při přítomnosti nádorového onemocnění u dospělých**
- u zdravých dospělých osob hladina velmi nízká
- **hladina koreluje s velikostí nádorové masy**
- stanovení má význam hlavně **pro určení prognózy a kontrolu léčby**
- př.: **CEA, AFP, CA, CYFRA 21-1, SCC, MCA, MSA, TATI**

## 2) Onkoplacentární antigeny

- produkovány trofoblastickými buňkami placenty v těhotenství i za patologických podmínek a také některými germinativními (zárodečnými) Tu jako známka nádorové dediferenciace.
- ↑ hladina svědčí o ↑ malignitě Tu a potenciálu tvořit metastázy
- př.: **hCG, SP-1**

### 3) Enzymy

- můžeme je rozdělit na dvě skupiny:
  1. **enzymy uplatňující se hlavně při buněčném dělení**  
Jejich hladina je při nadměrné proliferaci výrazně zvýšená, proto se uplatňují při určování prognózy a stadia choroby.
  2. **enzymy vyskytující se i ve zdravé tkáni, kde plní své biologické funkce**  
Jsou většinou vysoce orgánově specifické, proto je používáme k určení primární lokalizace nádoru.
- **př: 1) TK (thymidinkinasa), 2) PSA, NSE (neuron-specifická enolasa), isoenzymy LD, ALP**



## 4) Hormony

1. produkovány endokrinními buňkami samotnými (např. kalcitonin u medulárního Ca štítné žlázy) nebo
  2. ektopicky (ACTH u malobuněčného Ca plic)
- používáme ke kontrole účinnosti léčby
  - př.: **ACTH**, ADH, PTH, **kalcitonin**, prolaktin

## 5) Sérové bílkoviny

- produkovány buď přímo nádorovými bb. nebo organismem ve zvýšené nebo snížené míře jako odpověď na nádorové bujení
- nespecifické
- využití hlavně pro monitoring
  
- př.:  $\beta_2$ -mikroglobulin, feritin, paraprotein

## 6) Receptory

- celulární markery
- stanovení u hormonálně aktivních nádorů
- důležité pro volbu a kontrolu léčby a pro určení prognózy
- př.: **estrogenové, progesteronové rec., Her2/neu, EGFR**

## 7) Ostatní a cirkulující buněčné elementy

- tkáněmi produkováné látky, které nelze zařadit do žádné z předchozích skupin
- př.: **TPA**, TPS, CgA, neuropeptid  $\gamma$ , 5-HIOK, S-100b
- **cirkulující buněčné elementy** (cirkulující nádorové buňky, cirkulující endotelové buňky a cirkulující endotelové prekursory).

# 8) genetické abnormality

Mimo obvyklé aplikace klasických (solubilních) nádorových markerů se zdají být klinicky užitečné jako nádorové markery i některé genetické abnormality a to především pro specifikaci abnormality nádorových buněk určující způsob léčby.

Jde jednak o **přímou detekci mutací v DNA**,

**proteinové produkty onkogenů** (např. c-myc, c-fos, k-ras, src), změny v jejich posttranslačních modifikacích v maligní tkáni nebo o "nové" genetické změny v maligní buňce (např. chromosomální rearrangement bcr-abl)

nebo **detekci mutací v tumor supresorových genech** (BRCA1, BRCA2, p53).

# Biologická povaha nádorových markerů-souhrn

Nádorovým markerem rozumíme **substanci přítomnou v nádoru nebo produkovanou nádorem nebo hostitelem** jako odpověď na přítomnost tumoru.

Tuto substanci lze využít k **diferenciaci nádoru od normální tkáně**, nebo uvažovat o přítomnosti tumoru na základě analýzy tělesných tekutin.

Substanci lze měřit **kvalitativně nebo kvantitativně** metodami chemickými, imunologickými nebo metodami molekulární biologie.

Mezi markery produkované tumorem patří:

- enzymy** (např. LD, NSE, PSA, thymidinkinasa, prostatická kyselá fosfatasa),
- imunoglobuliny** nebo jejich fragmenty či podjednotky (monoklonální imunoglobuliny, tzv. "paraproteiny"),
- hormony** (např. hCG, PTH, ACTH, kalcitonin, gastrin, prolaktin, norepinefrin, epinefrin), fragmenty komplexních glykoproteinů, (např. CA19-9, CA15-3, CA125),
- fragmenty cytokeratinů (TPA, TPS, CYFRA21-1), onkofetální antigeny (AFP, CEA),
- molekuly receptorové povahy** (estrogenový a progesteronový receptor, receptor pro interleukin 2, HER2/neu a EGF) a cirkulující buněčné elementy (cirkulující nádorové buňky, cirkulující endotelové buňky a cirkulující endotelové prekursory).

Mimo obvyklé aplikace klasických (solubilních) nádorových markerů se zdají být klinicky užitečné jako nádorové markery i některé **genetické abnormality** a to především pro specifikaci abnormality nádorových buněk určující způsob léčby. Jde jednak o přímou detekci mutací v DNA, proteinové produkty onkogenů (např. c-myc, c-fos, k-ras, src), změny v jejich posttranslačních modifikacích v maligní tkáni nebo o "nové" genetické změny v maligní buňce (např. chromosomální rearrangement bcr-abl) nebo detekci mutací v tumor supresorových genech (BRCA1, BRCA2, p53).

# Nádorové markery podle orgánové specifity

- **dobrá:** kalcitonin - medulární Ca tyroidey  
PSA - Ca prostaty  
NSE - malobuněčný Ca plic  
hCG - Tu ze zárodečných buněk  
AFP - primární Ca jater, Tu ze zárodečných buněk
- **relativně dobrá:** CA 19-9 - Ca pankreatu  
CA 125 - ovariální Ca  
CA 15-3 - mammární Ca
- **relativně malá:** CEA, TPA

# INDIKACE K VYŠETŘENÍ NÁDOROVÝCH MARKERŮ

- screening , přítomnost
- primární diagnostika a dif. diagnostika
- staging (vznik metastáz..)
- monitoring
- prognóza
- sledování účinnosti protinádorové léčby
- *Hlavní rolí nádorových markerů (v medicíně, i laboratorní) je*
  - sledování průběhu choroby
  - sledování účinnosti terapie



- **screening** - většina Tu markerů nevhodná.  
Omezeně lze použít u rizikových skupin:
- AFP u jaterní cirhózy
- kalcitonin, příp. RET onkogen v rodinách s MEN sy a u příbuzných pacienta s medulárním Ca thyroidey
- **PSA** u mužů nad 50 let pro vyloučení Ca prostaty
  
- **primární diagnostika a dif. dg.** -  
doplnění jiných vyš.

- **staging** - většinou nevhodné. Vysoká hodnota může upozornit na špatně stanovené nižší stadium nemoci.
- **monitoring a sledování účinnosti protinádorové léčby** - hlavní a zásadní uplatnění Tu markerů
- **prognóza** - většinou nevhodné. Vysoké hodnoty ukazují pokročilé stadium choroby.

# Marker

- Charakteristika
- Příklady zvýšení: \*u „typické“ malignity
  - \*u „méně typické“ malignity
  - \*u nemaligních onemocnění
  - \*u jiných stavů
- Indikace vyšetření (In)
- cut off nebo ref. rozmezí

# FREKVENCE VYŠETŘENÍ NÁDOROVÝCH MARKERŮ

doporučovány (WHO) tyto **intervaly**:

- před zahájením léčby
- po ukončení léčby (větš. 3.-4. týden)
- 1 měsíc v 1.  $\frac{1}{2}$  roce po primární terapii
- 2 měsíce ve 2.  $\frac{1}{2}$  1. roku
- 3 měsíce v 1.  $\frac{1}{2}$  následujícího roku (1-1,5 r.)
- 6 měsíců po 1,5 roku a v dalších letech sledování
- při změně léčby
- při nejasném průběhu onemocnění

Minimální odstup mezi dvěma stanoveními u jednoho pacienta je 14 dní.

# Kinetika Tu markerů

- **zdvojovací čas** = čas, za který marker zdvojnásobí svou hladinu. Čím kratší, tím agresivnější růst Tu.
- **biologický poločas:**

Marker	Dny	Hodiny	Marker	Dny	Hodiny
ACTH		0,2	FER	2	
AFP	5		NSE	1	
B2M		0,7	P-ACP		2
CA 125	4		PRL		0,3
CA 15-3	7		PSA	2	
CA 19-9	5		SCCA		0,3
CEA	14		TG	2,5	
CT		0,2	TK	2	
CYFRA 21-1		3	TPA	7	

# Preanalytické aspekty

V současnosti se většina používaných solubilních nádorových markerů stanovuje v séru. Doporučeným materiálem pro analýzu je sérum.

Pro správnou interpretaci změn v hladinách markerů, zejména při dlouhodobém sledování nemocných s nádorovými chorobami, je třeba vyloučit možné rušivé faktory, které by mohly stanovení ovlivnit už ve fázi preanalytické.

V určitých případech mohou být výsledky analýzy ovlivněny některými postupy klinického vyšetřování; např. pro stanovení prostatického specifického antigenu (PSA) má být odebrána krev nejdříve 48 hod po rektálním vyšetření prostaty, ovlivnit jeho hladinu může i jakákoliv manipulace s prostatou včetně jízdy na kole nebo sexuální aktivity. Kontaminace vzorku slinami nebo potem může znehodnotit stanovení antigenu skvamózních buněk (SCCA) nebo CA 19-9.

**Neuron-specifická enoláza (NSE)** je při hemolýze významně uvolňována z erytrocytů, oddělení séra od krevních elementů je třeba provést nejpozději do 1 hod po odběru. Hemolýza nad 300 mg/l falešně zvyšuje výsledek stanovení NSE a LD.

Příprava tkání k analýze tkáňových nádorových markerů se řídí standardními operačními postupy spádové **bioptické laboratoře**. Nádorovou tkáň určenou k vyšetření je třeba co nejrychleji doručit do laboratoře, aby se minimalizovala autolýza do okamžiku fixace materiálu.

DNA pro účely vyšetření genetických markerů se izoluje dostupnými soupravami certifikovanými pro in vitro diagnostiku.

# Metody stanovení TM

1. Imunoanalytické metody
2. Stanovení enzymů
3. Metody chromatografické
4. Metody molekulární biologie

## Další metody používané pro diagnostiku nádorů

- Patologie
  - Histologie
  - Cytologie
  - Imunohistochemie
- Průtoková cytometrie
- Biofyzikální (rtg, CT, Sono, PET)
- Metody molekulární biologie
  - PCR, DNA mikroarray, proteomika

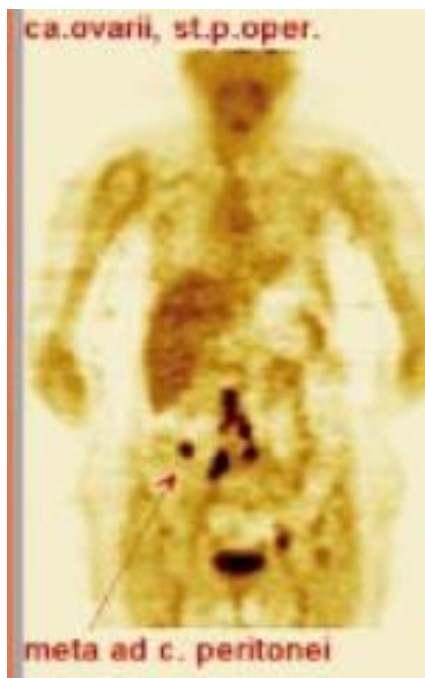
# Princip: FDG-PET

- 2-deoxy-2-[18F]fluor-D-glukóza  
18F-deoxy-fluorglukóza

## Fluorodeoxyglukóza (FDG)

FDG (značená radionuklidem, rozpadajícím se za vzniku pozitronu)

- Pozitronová Emisní Tomografie (PET)



- Nádorová buňka má při rychlém růstu velkou spotřebu glukózy
- FDG je z injekční aplikaci do krve transportována do tkání jako glukóza, je fosforylována, ale nepodléhá následné defosforylaci a je tkáněmi vychytávána (fyziologicky akumulována mozkem, částečně vylučována do moči)
- Obraz představuje spotřebu glukózy ve tkáních

Obraz představuje spotřebu glukózy ve tkáních



# Vlastní laboratorní analýza

Měření hladiny nádorového markeru je třeba provádět pomocí technologie určené k in vitro diagnostice, kalibrované dle pokynů dodavatele technologie. Metodika musí být v souladu s Nařízením vlády č. 453/2004 Sb. ze dne 7. července 2004 v platném znění, kterým se stanoví technické požadavky na diagnostické zdravotnické prostředky in vitro a pravidelně sledována vnitřní kontrolou kvality. Pracoviště by mělo disponovat příslušně kvalifikovaným personálem znalým problematiky a pravidelně se účastnit procesu externího hodnocení kvality. K vyšetření koncentrace nádorových markerů jsou obvykle **používány metody imunoanalýzy**, případně se měří enzymové aktivity (LD). Potřeba dlouhodobého sledování pacienta vyžaduje neměnicí se technologii stanovení pro daný marker. Z tohoto důvodu by měla být laboratoř schopna zajistit dlouhodobě výsledek o pokud možno stejné analytické nejistotě a vysoké reprodukovatelnosti. Pokud je změnu technologie nutné v praxi realizovat, je třeba nejprve provést srovnávací sérii měření na dostatečném množství konkrétních patientských vzorků pomocí obou souprav, aby laboratoř získala data o chování nové soupravy v konkrétních podmínkách (tzv. rebaselining). Analýza tkáňových nádorových markerů a DNA se řídí standardními operačními postupy příslušné histologické a genetické laboratoře.