

УДК 616-006

## ПРИНЦИПИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ПУХЛИННО-АСОЦІЮВАНИХ МАРКЕРІВ У СУЧАСНІЙ КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

**Христич М.М., Юревич Ю.О.,****Коваль С.В., Іващенко А.В., Грищук Р.Я.**

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Огляд присвячений сучасним уявленням про онкологічні маркери і їх місце в онкології: використання для диференціальної діагностики, в прогнозі перебігу пухлинного процесу, моніторингу та до клінічного виявлення рецидивів хвороби, а також в скринінгу, направленому на раннє виявлення злоякісних новоутворень. Описано біохімічні характеристики і функції найбільш інформативних і часто використовуваних онкологічних маркерів.

**Ключові слова:** серологічні пухлинні маркери, моніторинг, скринінг.

**Постановка проблеми.** На сьогодні однією з найбільш актуальних проблем клінічної онкології залишається рання діагностика злоякісних новоутворень. Основним напрямком досліджень є пошук пухлинних маркерів (ПМ), які б з високою достовірністю дозволяли діагностувати виникнення пухлинного процесу задовго до появи клінічних симптомів, особливо у пацієнтів із груп ризику.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Термін «серологічні ПМ» з'явився в 60-і роки минулого століття, коли були відкриті і охарактеризовані перші ПМ – альфа-фетопротейн (АФП) [1] та раково-ембріональний антиген (РЕА) [2]. Тоді ж була проведена оцінка клінічної значущості цих молекул, результати якої дали надію на розробку лабораторних неінвазивних діагностичних методів. Разом з тим початком ери ПМ можна

вважати виявлення в 1845 р. Г. Бенс-Джонсом (H. Bence Jones) в сечі пацієнта з мієломою підвищеного вмісту термолабільного білка, описаного як «гідратований оксид альбуміну». Згодом він був названий по імені Бенс-Джонса.

Еволюція методів ідентифікації ПМ пройшла шлях від низькочутливих методів преципітації і електрофорезу до високочутливих, що визначають піко- і фемто-концентрації біологічно активних молекул [3]. На даний час двовимірний гель-електрофорез і мас-спектрометричний аналіз є основними методами вивчення посттрансляційних модифікацій протеїнів і пошуку біомаркерів. Досягнення у вивченні канцерогенезу з використанням молекулярно-генетичних методів, виявлення гіперекспресії різних генів, що кодують пухлиноасоційовані протеїни, привели до відкриття великої кількості речовин, що є потенційні ПМ та перспективними для подальшого вивчення і можливого клінічного використання.

**Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми.** На сьогоднішній день в онкологічній практиці широко застосовуються не більше 30 з безлічі описаних серологічних пухлинних маркерів. Це пов'язано перш за все з тим, що для широкого впровадження ПМ в медичну практику необхідна аналітична і клінічна валідація тесту і демонстрація клінічної значущості за принципами доказової медицини – за результатами мета-аналізу великих рандомізованих досліджень.

**Мета статті.** Основною метою огляду є узагальнення експериментальних та клінічних досліджень, що стосуються принципів і результатів використання в онкологічній практиці декількох найбільш часто використовуваних маркерів, стосовно яких виконано велику кількість наукових досліджень, включаючи великі рандомізовані.

**Виклад основного матеріалу.** Серологічні пухлинні маркери (ПМ), що входять до класу біомаркерів, – це сполуки, концентрація яких може підвищуватися в сироватці крові (СК) та інших біологічних рідинах в онкологічних хворих. Класичне уявлення про серологічні ПМ як про складні ензими з вуглеводним або ліпідним компонентом в останні роки розширилося: арсенал ПМ поповнився цитокінами і факторами росту. Багато з ПМ широко використовуються в онкологічній практиці, так як їх наявність і концентрація (перш за все в крові) в певній мірі корелює з виникненням і динамікою розвитку злоякісного процесу [1; 2].

Діагностичну значимість ПМ визначають його чутливість і специфічність. Ідеальний серологічний ПМ повинен володіти 100% чутливістю і специфічністю. Однак використовувані на сьогодні маркери виявляються в підвищених кількостях у сироватці крові (СК) не тільки при раку, але також при доброякісних процесах і запальних захворюваннях, але, як правило, в меншому відсотку випадків і в більш низьких концентраціях [4]. Третьою характеристикою ПМ є дискримінаційний рівень (ДУ), тобто допускається верхня межа концентрацій цього ензиму у здорових осіб. Маркер задовольняє вимоги ПМ, якщо при обраному ДУ його специфічність не нижча 90%, а чутливість перевищує 50% [4]. Крім того, існує таке поняття, як «сіра зона» (перехідна зона), що позначає діапазон

ПМ, характерний для пацієнтів з запальними та іншими неонкологічними захворюваннями.

CA125 – глікопротеїн з молекулярною масою близько 200 кДа, що є епітопом високомолекулярного муцина (~ 4000 кДа). Білковий кор молекули містить N-термінальний домен, область подвійного повтору і короткий цитоплазматичний домен. Вуглеводний компонент CA125 представлений головним чином О-зв'язаними гліканами [5; 6]. Передбачається, що даний протеїн є мультифункціональною молекулою. CA125 є маркером вибору для раку яєчників (РЯ), так як діагностична чутливість CA125 для серозного РЯ коливається від 42% стадії (I-II стадії) до 99% (IV стадія).

Простат-специфічний антиген (ПСА) – другий найбільш часто використовуваний ПМ, є глікопротеїном з молекулярною масою 34 кДа [7]. Цей протеїн є сериновою протеазою родини калікреїнів [7]. Фізіологічно ПСА, будучи протеазою, розщеплює гель-утворюючі протеїни в спермі, що призводить до її розрідження. У крові ПСА перебуває у двох формах: вільна та зв'язана з інгібіторами протеаз; велика частина (65-95%) пов'язана з α1-антихімотрипсином (α1-Ахт) і незначна кількість (1-2%) – з А2-макроглобуліном [8]. Характеристика інших найбільш широко використовуваних в клініці ПМ докладно наводиться в ряді оглядів [1; 2; 9].

Серологічні маркери в основній своїй масі не є органоспецифічними, але більшість з них підвищується при певних гістологічних типах пухлин: маркери аденогенних карцином (РЕА, CA125, CA15-3 і ін.), Маркери плоскоклітинних карцином (SCC, Cyfra), маркери нейроендокринних пухлин (5ПГУК, хромогранин А), маркери ЛПЗ (ТК-1, v2-мікроглобулін) тощо. У зв'язку з цією обставиною у більшості випадків хворих з метастазами без встановленого первинного вогнища найчастіше неможливо судити про локалізацію первинної пухлини, використовуючи результати визначення серологічних ПМ. У той же час в деяких випадках за поєднанням підвищених маркерів, з урахуванням їх рівнів, можна припустити локалізацію первинного вогнища, тобто дати клініцистам напрямки для обстеження.

При вивченні діагностичної чутливості ПМ у онкологічних хворих для багатьох з них була показана залежність від стадії: чим більше стадія процесу, тим частіше і до більш високих рівнів підвищується маркер. Ступінь її виразності для різних маркерів різна. В одних випадках (наприклад, для CA15-3) чутливість маркера для ранніх стадій РМЗ вкрай низька (<20%), в інших – відсоток маркер-позитивних випадків високий (> 50%) вже при початкових стадіях пухлинного процесу (наприклад, Tu M2-РК при раку нирки, прогастрин-релізінг пептид (ProGRP) для дрібноклітинного раку легень) [2]. Дослідження ступеня враженості у деяких нових серологічних ПМ і з'ясування причин, що її обумовлюють, дозволяє диференціювати випадки широкої маркер-негативності пухлини від ситуацій, коли низький рівень маркера пов'язаний з малим об'ємом злоякісного новоутворення. У той же час, якщо виходити із знання функції маркера, наприклад пов'язаної з активацією проліферації (ТК-1, TPS і ін.), То для ряду пухлин по вихідним рівнями маркеру можна судити і про сту-

пінь біологічної агресивності пухлинного процесу [10]. Слід підкреслити, що маркер-негативність на етапі діагностики онкологічного захворювання не є підставою для виключення даного маркера зі схеми подальшого моніторингу пацієнта. Так, якщо нормальний рівень ПМ обумовлений початковими стадіями пухлинного процесу, то в подальшому в разі прогресування цілком можливо, що вміст даного маркера буде зростати, а його динаміку доцільно використовувати для моніторингу ефективності терапії. Така ситуація може бути пояснена як зміною клітинного складу пухлини, насамперед в результаті консервативного лікування, так і наростанням пухлинної маси при прогресуванні процесу. Всі ці фактори здатні змінювати не тільки спектр, але і рівень експресії ряду ПМ в пухлинних клітинах. Нижче представлені принципи та приклади використання ПМ в онкологічній практиці.

#### **I. Використання серологічних ПМ для уточнюючої/диференціальної діагностики на прикладі ПСА для РПЖ**

Відкриття і впровадження в клінічну практику ПСА для виявлення РПЖ істотно розширило можливості для ранньої діагностики цього захворювання. Діагностичне значення в онкології має визначення як загального ПСА (заг. ПСА), що включає обидві форми маркера, так і співвідношення вільного ПСА (віль. ПСА) і заг. ПСА [11; 12]. Показник співвідношення віль. ПСА/заг. ПСА має певне діагностичне значення в зв'язку з тим, що при розвитку РПЖ знижується частка віль. ПСА і збільшується частка ПСА, пов'язаного з a1-антихімотрипсину, і в підсумку співвідношення віль. ПСА/заг. ПСА знижується [13]. До теперішнього часу серед фахівців немає єдиної думки щодо ДУ як для заг. ПСА, так і для показників віль. ПСА/заг. ПСА. Рекомендації експертних груп з питання використовуваних ДУ ПСА за більш ніж 20-річний період зазнають суттєвих змін. Найбільші труднощі виникають при диференціальній діагностиці РПЖ і доброякісної гіперплазії передміхурової залози при рівнях заг. ПСА в діапазоні 4,0–10,0 нг/мл («сіра зона») і нормальних даних пальцевого ректального дослідження. Для підвищення специфічності лабораторної діагностики у виявленні РПЖ у пацієнтів з рівнями маркера в «сірій зоні» використовують додаткові параметри: співвідношення віль. ПСА до заг. ПСА, щільність ПСА, швидкість збільшення заг. ПСА в часі і деякі інші [14; 15].

#### **II. Використання серологічних ПМ в прогнозі перебігу пухлинного процесу (на прикладі СА125 при РЯ)**

СА125 рекомендований Європейської експертною групою в якості прогностичного фактора при РЯ. З високим рівнем доказовості виявлено лише один рівень СА125: хворі з СА125 < 65 од/мл мають достовірно кращу 5-річну виживаність в порівнянні з пацієнтами з рівнем СА125 > 65 од/мл [16].

Динаміка зміни СА125 при проведенні нео-, ад'ювантної хіміотерапії (ХТ), виконанні операції (екстирпації матки з придатками) також використовується як прогностичний фактор. Рівні маркера вище 35 од/мл і 65 од/мл у пацієнток після проведення оптимальної і неоптимальною циторедуктивної операції відповідно асоційовані з

несприятливим прогнозом загальної та безрецидивної виживаності [17; 18].

Також було продемонстровано, що зниження рівня маркера більш ніж на 50% після першого курсу ад'ювантної ХТ асоціюється з більш сприятливим прогнозом у хворих РЯ як непрямий критерій високої хіміочувствительності [19].

Показано, що найкращий прогноз щодо безрецидивної і загальної виживаності очікується в тих випадках, коли рівень СА125 після завершення комбінованого лікування в обсязі циторедуктивної операції і 6 циклів цитостатичної терапії не перевищує 10 од/мл, при цьому зменшення рівня маркера від цієї величини на кожну 1 од/мл призводить до збільшення часу стабілізації на кілька місяців [9; 17; 20].

#### **III. Серологічні ПМ в контролі ефективності первинного лікування**

Рівні ПМ після завершення первинного лікування в більшості випадків відображають ступінь його розвитку в онкологічних хворих. Так, ПСА широко застосовують для оцінки результату оперативного втручання у хворих РПЖ. Оскільки ПСА – органоспецифічний протеїн, то після простатектомії його рівень повинен впасти до «межі визначення» і складати менше 0,1 нг/мл.

СА125 є маркером вибору для оцінки ефективності лікування хворих на РЯ, доповнюючи традиційні інструментальні методи [21]. Динаміка СА125 в процесі ХТ відображає її ефективність. Послідовне зниження рівнів маркера в процесі терапії свідчить про відповідь на лікування, в той час як зростання показників маркера говорить про прогресування захворювання і неефективну терапію [22].

Не можна не відзначити, що закономірності зниження рівнів тих чи інших ПМ, так само як і терміни їх нормалізації в процесі різних видів лікування, розрізняються. Час напіввиведення (період напіврозпаду) «класичних» ПМ, як правило, не перевищує майже 7–10 днів. Тому вони швидко реагують на зміну клінічного статусу хворого. У зв'язку з цим більшість ПМ після проведеного хірургічного лікування відображають клінічну ситуацію через 10–14 днів, за умови сприятливого післяопераційного перебігу. [23].

#### **IV. Використання серологічних ПМ в моніторингу для доклінічного виявлення рецидивів злоякісних новоутворень (на прикладі РПЖ і РЯ)**

Передклінічне виявлення рецидивів РПЖ засноване на такому показнику, як швидкість зміни ПСА в часі. На даний час свідченням біохімічного рецидиву після променевої терапії (ЛТ) вважається підвищення рівня ПСА більш ніж на 2 нг/мл щодо найменшого зафіксованого у пацієнта значення.

Визначення динаміки СА125 при спостереженні за хворими на РЯ після проведення лікування вважається найбільш прийнятним і економічно вигідним методом доклінічного виявлення початку розвитку рецидивів захворювання, в тому числі як обґрунтування для призначення обстеження [24]. Стійке підвищення показника СА125 в динаміці спостереження за хворими на РЯ в більшості випадків свідчить про початок розвитку рецидиву захворювання. Загальноприйнятним визначенням «маркерного рецидиву» є двократне збільшення сироваткової концентра-

ції СА125 в порівнянні з верхньою межею норми (якщо досягнута нормалізація маркера в результаті первинного лікування) або в порівнянні з найменшим зафіксованим у хворого значенням (якщо не досягнута нормалізація його рівня в результаті первинного лікування) [25].

#### **V. Використання серологічних ПМ в скринінгу, направленому на раннє/активне виявлення злоякісних новоутворень**

«Скринінг» в онкології позначається метод активного виявлення осіб з будь-якою онкологічною патологією (при відсутності клінічної симптоматики) або факторами ризику її розвитку, заснований на застосуванні спеціальних діагностичних досліджень.

Обґрунтуванням для використання тестів на ПМ в якості першого етапу в скринінгових програмах служать простота у виконанні, низька вартість, неінвазивність, і, що особливо важливо, їх рівень у перше виявлених онкологічних хворих в 70% випадків в 10-40 разів перевищує верхню межу норми. Отже, зростання маркера(-ів) у частині пацієнтів починається істотно раніше клінічного прояву хвороби, і його можливо виявити.

Так, є дані ретроспективних досліджень, що рівні СА125 починають підвищуватися за 1-2,5 року, а ПСА – за 4-7 років до клінічного проявлення злоякісної пухлини. Але оскільки в ряді випадків підвищення ПМ може спостерігатися і при неонкологічних захворюваннях, то підвищений рівень маркера ще не означає наявності злоякісного новоутворення, а лише побічно свідчить про існування якогось патологічного процесу і є вказівкою на необхідність обстеження [26].

**Висновки і пропозиції.** Таким чином, серологічні ПМ стали незамінним лабораторним інструментом в онкологічній практиці для уточнюючої діагностики, оцінки ефективності лікування, прогнозу перебігу пухлинного процесу та доклінічного виявлення розвитку рецидивів і в ряді випадків для активного виявлення раку. Застосування нових молекулярно-генетичних технологій в цій галузі науки призводить до ідентифікації нових ПМ, а детальне вивчення функцій і біологічної ролі того чи іншого маркера дає можливість більш поглиблено розуміти як окремі ланки, так і механізмів канцерогенезу в цілому.

#### **Список літератури**

1. Абелев Г.И. Эмбриональные антигены в опухолях. Анализ в системе альфа-фето-протеина. Опухолевый рост как проблема биологического развития. – М., 1979.
2. Gold P., Freedman S.O. Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* 1965;121:439-62.
3. Говорун В.М., Иванов В.Т. Протеомика и пептидомика в фундаментальных и прикладных медицинских исследованиях. *Биоорг химия* 2011;37(2):199-215.
4. Faten-Moghadam A., Stieber P. Sensible use of tumor markers. J. Hartmann (ed). Basel: Springer-Verlag, 1993. 70S.
5. Bafna S., Kaur S., Batra S.K. Membrane-bound mucins: the mechanistic basis for alterations in the growth and survival of cancer cells. *Oncogene* 2010; 29(20): 2893-904.
6. O'Brien T.J., Beard J.B., Underwood L.J. et al. The CA 125 gene: a newly discovered extension of the glycosylated N-terminal domain doubles the size of this extracellular superstructure. *Tumor Biol* 2002;23(3):154-69.
7. Ban Y., Wang M.C., Watt K.W. et al. The proteolytic activity of human prostate-specific antigen. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;123:482-8.
8. Christensson A., Laurell C.B., Lilja H. Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine proteinase inhibitors. *Eur J Biochem*.
9. Faten-Moghadam A., Stieber P. Sensible use of tumor markers. J. Hartmann (ed). Basel: Springer-Verlag, 1993. 70S.
10. He Q., Zhang J., Zou S. et al. Concentration of thymidine kinase 1 (S-TK1) is a more sensitive proliferation marker in human solid tumors than its activity. *Oncol Rep* 2005;14:1013-9.
11. Переверзев А.С., Коган М.И. Рак простаты. X.: Факт, 2004. – 231 с.
12. Practice Guidelines and Recommendations for use of Tumor Markers in the Clinic. The National Acad Clin Biochem 2002;15:1-56.
13. Catalona W.J., Partin A.W., Slawin K.M. et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA* 1998;279:1542-7.
14. Hori S., Blanchet J.S., McLoughlin J. From prostate-specific antigen (PSA) to precursor PSA (proPSA) isoforms: a review of the emerging role of proPSAs in the detection and management of early prostate cancer. *BJU Int* 2012;112:717-28.
15. Schröder F.H., Hugosson J., Roobol M.J. et al. ESRPC Investigators. Screening and prostate – cancer mortality in a randomized. European study. *N Engl J Med* 2009;360:1320-8.
16. Soletormos G., Duffy M.J., Othman S. et al. Clinical use of cancer biomarkers in epithelial ovarian cancer: updated guidelines from the European group on tumor markers (EGTM). *J Tumor Biology* 2014;35(1):S1.
17. Nagele F., Petru E., Medl M. et al. Preoperative CA 125: an independent prognostic factor in patients with stage I epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1995;86(2):259-64.
18. Корнеева И.А., Новикова Е.Г., Сергеева Н.С. Современный взгляд на маркерный рецидив рака яичников. *Российский онкологический журнал* 2010;2:54-7.
19. Riedinger J.M., Bonnetain F., Basuyau J.P. et al. Change in CA 125 levels after the first cycle of induction chemotherapy is an independent predictor of epithelial ovarian tumor outcome. *Ann Oncol* 2007;18(5):881-5.
20. Liu P.Y., Alberts D.S., Monk B.J. et al. An early signal of CA-125 progression for ovarian cancer patients receiving maintenance treatment after complete clinical response to primary therapy. *J Clin Oncol* 2007;25(24):3615-20.
21. Aebi S., Castiglione M. ESMO Guidelines Working Group. Newly and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2009;4:21-3.
22. Guppy A.E., Rustin G.J. CA125 response: can it replace the traditional response criteria in ovarian cancer? *Oncologist* 2002;7(5):437-43.

23. Wechsel H.W., Petri E., Bichler K.-H. et al. Marker for renal cell carcinoma (RCC): the dimeric form of pyruvate kinase type M2 (Tu M2-PK). *Anticancer Res* 1999;19:2583-90.
24. Семенова А.И. Мониторинг эффективности лечения и выявление рецидивов с помощью биомаркеров. *Практическая онкология* 2011;12(4):171-7.
25. Rustin G.J., Marples M., Nelstrop A.E. et al. Use of CA-125 to define progression of ovarian cancer in patients with persistently elevated levels. *J Clin Oncol* 2001;19(20):4054-7.
26. Сергеева Н.С., Маршутина Н.В. Опухольассоциированные маркеры в скрининговых программах, направленных на активное выявление рака яичников: реальность, проблемы и перспективы. *Практическая онкология* 2010; 11(2):110-9.

**Христич М.Н., Юревич Ю.О., Коваль С.В., Иващенко А.В., Грищук Р.Я.**

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца

## **ПРИНЦИПЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОПУХОЛЕ-АССОЦИИРОВАННЫХ МАРКЕРОВ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ**

### **Аннотация**

Обзор посвящен современным представлениям про онкологические маркеры и их место в онкологии: использовании для дифференциальной диагностики, в прогнозе течения опухолевого процесса, мониторинге и для доклинического выявления рецидивов болезни, а также в скрининге, направленном на раннее выявление злокачественных новообразований. Описаны биохимические характеристики и функции наиболее информативных и часто используемых онкологических маркеров.

**Ключевые слова:** серологические опухолевые маркеры, мониторинг, скрининг.

**Khristich M.N., Yurevych Y.O., Koval S.V., Ivaschenko A.V., Hryshchuk R.Ya.**

National Medical University named after A.A. Bohomolets

## **PRINCIPLES AND PERSPECTIVES OF TUMOR-ASSOCIATED MARKERS IN CLINICAL PRACTICE**

### **Summary**

The paper reviews modern concepts of tumor markers and their place in oncology: using for differential diagnostics, in the prognosis of the tumor, follow-up and for preclinical revealing of relapses, as well as in the screening aimed at early detection of malignant neoplasms. Biochemical characteristics and functions of most informative tumor markers were described.

**Keywords:** serological tumor markers, monitoring, screening.