

*Medicinska edukacija/  
Medical education*

TUMOR MARKERI. ZNAČAJ U KLINIČKOJ  
PRAKSI I NJIHOVO ODREĐIVANJE U KRVI

TUMOR MARKERS. SIGNIFICANCE IN  
CLINICAL PRACTICE AND THEIR  
DETERMINATION IN BLOOD

**Correspondence to:**

**Branislava Rusić**

Dipl. farm. med. biohemičar  
Odeljenje za toksikološku hemiju,  
Centar za kontrolu trovanja,  
Vojnomedicinska akademija,  
Crnotravska 17  
e-mail: branislavarusic@gmail.com  
tel. 064-24-28-903

Branislava Rusić, Kristina Denić, Marko Antunović,  
Snežana Đorđević, Vladimir Nešić, Vesna Kilibarda

Odeljenje za toksikološku hemiju, Centar za kontrolu trovanja,  
Vojnomedicinska akademija, Beograd

*Ključne reči*

tumor markeri, karcinom, klasifikacija,  
referentne vrednosti

*Key words*

tumor markers, carcinoma, classification,  
referent values

*Sažetak*

Maligno transformisane ćelije stvaraju i oslobađaju supstance koje se nazivaju tumor markeri. Zbog velike raznolikosti, kako prema mestu detekcije, produkcije tako i prema ulozi i strukturi, tumor markeri mogu se klasifikovati u više različitih grupa. U kliničkoj praksi, tumor markeri se koriste za skrining, diferencijalnu dijagnozu, prognozu i praćenje kliničkog toka bolesti kao i odgovora na terapiju. Povišeni nivo tumor markera može da ukaže na karcinom, ali sam po sebi taj podatak nije dovoljan za postavljanje dijagnoze. Da bi se jedan marker koristio u skriningu, mora da ima dobru osetljivost i specifičnost za određeni tumor. Ograničena osetljivost tumor markera kod početnih stadijuma kancera i nedostatak tumorske specifičnosti onemogućava njihovu upotrebu za postavljanje primarne dijagnoze. Sa druge strane, visoke vrednosti tumor markeri mogu biti u korelaciji sa uznapređovalim stadijumom bolesti i da ukažu na lošu prognozu. Najvažnija indikacija za određivanje nivoa tumor markera u krvi jeste praćenje efekta antikancerske terapije posle koje se očekuje značajni pad vrednosti tumor markera. Za određivanje tumor markera najčešće se koriste imunohemijske (radioimuno i enzimске) metode. Zbog primene različitih antitela i detekcionih činilaca različitih proizvođača, neophodno je odrediti referentne vrednosti za svaki tumor marker pojedinačno. Takođe, veoma je važno da se njihova koncentracija meri istim postupkom tokom kontinuiranog praćenja nivoa tumor markera kod pacijenata na terapijskom tretmanu.

*UVOD*

Maligno izmenjene ćelije stvaraju karakteristične supstance koje se nazivaju tumor markeri. Tumor markeri mogu biti produkovani i od strane maligno netransformisanih ćelija kao odgovor na karcinom ili na izvesna benigna stanja<sup>(1)</sup>. Mogu da se klasifikuju na više načina: prema mestu detekcije, produkcije i prema strukturi. Prema mestu detekcije, ove supstance mogu grubo da se podele na humoralne (cirkulišuće) koji se detektuju u krvi ili nekoj drugoj telesnoj tečnosti i celularne koji se detektuju u ili na ćeliji.

Druga, biohemijska, klasifikacija tumor markera zasniva se na podeli prema tome da li su ta jedinjenja nastala direktnom sintezom tumorske ćelije (*produkti tumora*) ili su jedinjenja koja prate maligne procese (*produkti koji prate tumor*).

**Produkti tumora** mogu biti sintetizovani proizvodi i metabolički aktivne supstance (enzimi, hormoni, metaboli-ti). Sintetizovanim proizvodima pripadaju onkofetalni, ektopični i onkoplacentalni antigeni<sup>(2)</sup>.

Za dijagnozu tumora veliki značaj imaju *onkofetalni antigeni*. To su antigeni koji su fiziološki prisutni tokom embrionalnog i fetalnog razvoja. U organizmu odraslih mogu se detektovati u veoma niskim koncentracijama (ng/ml). Kod određenih malignih procesa nivo onkofetalnih antigena može biti značajno visok kao posledica aktivacije onkogeno. Najveći dijagnostički značaj iz te grupe imaju karcinoembriogeni antigen (CEA) i alfa-1-fetoprotein (AFP)<sup>(1,2)</sup>.

Usled izmenjenog metabolizma maligno transformisana ćelija produkuje jedinjenja koja se ne sintetišu u normalnoj ćeliji. To su *ektopični proizvodi*. Njihova specifičnost je niska, što umanjuje dijagnostički značaj u praćenju tumorskih procesa<sup>(2)</sup>.

*Onkoplacentalni produkti* (humani horiogonadotropin, HCG i specifični  $\beta$ -1-glikoprotein, SP1) fiziološki se stvaraju jedino u placenti. U patološkim, kancerskim, stanjima mogu biti produkovani od strane tumora<sup>(2)</sup>.

**Produkti koji prate tumor** mogu se svrstati u dve grupe. Prvu grupu čine izmenjeni serumski parametri pod

dejtstvom tumora, a drugu enzimi zdravih tkiva koji se javljaju u cirkulaciji usled tumora (2).

Prvoj grupi produkata koji prate tumor pripadaju feritin i  $\beta$ -2-mikroglobulin. Značajno je pomenuti i serumske parametre nastale sekundarnim promenama kao što su komponente krvnih grupa (karcinoma antigeni-CA 19-9, CA-72-4) i mucinske (ugljenohidratne) antigene (CA-125, CA 15-3). Kako je njihova specifičnost mala, ovi parametri se najčešće koriste kao dodatni markeri za praćenje oboljenja (2).

Enzimi i izoenzimi zdravih tkiva povećavaju se u sistemskoj cirkulaciji kao posledica samog tumora i/ili metastatskih infiltracija u zdravo tkivo. Često određivani enzimi su prostatična kiselna fosfataza (karcinom prostate),  $\alpha$ -glutamilttransferaza (primarni karcinom jetre i metastatske promene na jetri), alkalna fosfataza (karcinom koštanog sistema), neuron-specifična enolaza (neuroblastom) i mnogi drugi (3).

Zbog velike raznolikosti tumor markera (TM) kako po ulozu i poreklu, tako i po strukturi, svi tumor markeri svrstani su u nekoliko kategorija: 1) enzimi, 2) hormoni, 3) onkofetalni antigeni, 4) ugljenohidratni markeri, 5) antigeni krvnih grupa, 6) proteini, 7) receptori i 8) geni (4). U tabeli 1 prikazani su samo neki tumor markeri koji se koriste u dijagnostici određenih vrsta karcinoma (1,3).

**Tabela 1.** Osobine nekih tumor markera i vrsta karcinoma za koji su značajni

Tumor marker	Osobine	Vrsta karcinoma
Alfafetoprotein (AFP)	Onkofetalni antigen, normalno prisutan kod trudnica, fetalni protein sintetisan u jetri, u serumu zdravih ima ga manje od 20 ng/mL	Hepatocelularni i karcinom germinativnih ćelija
Karcinoembrioni antigen (CEA)	Onkofetalni antigen, može biti prisutan i kod netumorskih stanja (pušenje, ciroze, emfizem pluća)	Kolorektalni, pankreasni, plućni, želudačni i karcinom dojke
Karcinoma antigen 125 (CA 125)	Ugljenohidratni marker	Ovarijalni i endometrijalni karcinom
Karcinoma antigen 15-3 (CA 15-3)	Ugljenohidratni marker	Karcinom dojke, ovarijuma, pankreasa i pluća
Karcinoma antigen 19-9 (CA 19-9)	Antigen krvnih grupa	Kolorektalni i pankreasni karcinom
Karcinoma antigen 72-4 (CA 72-4)	Antigen krvnih grupa	Gastrointestinalni i ovarijalni karcinom
Prostata specifičan antigen (PSA)	Enzim (serin proteaza)	Karcinom prostate

Idealno bi bilo da se tumor markeri produkuju samo od strane tumorskih ćelija i da nisu prisutni kod zdravih osoba i benignih stanja (4). Međutim, da bi tumor markeri mogli da se koriste u dijagnostifikovanju i praćenju malignih procesa, moraju da poseduju sledeće karakteristike: 1) da su u jasnoj vezi sa malignim procesom, 2) da su u korelaciji sa masom tumora, 3) da pružaju informaciju o tipu tumora,

lokalizaciji i stepenu oboljenja, 4) da ukazuju koju terapiju treba koristiti i 5) da omogućavaju prognozu. Kako ne postoji tumor marker koji poseduje sve navedene karakteristike, oni kao takvi imaju ograničenu primenu u oblasti skrininga, dijagnostikovanja, procenjivanja prognoze, utvrđivanja stupnja i lokalizacije tumora (3). Postoji više indikacija za određivanje tumorskih markera. Mogu se koristiti za skrining, diferencijalnu dijagnozu, prognozu i praćenje kliničkog toka kao i odgovora na terapiju (5).

#### *Skrining i diferencijalna dijagnoza*

Povišeni nivo tumor markera može da ukaže na karcinom, ali taj podatak sam po sebi nije dovoljan za postavljanje dijagnoze. Da bi se jedan marker koristio u skriningu, mora da ima dobru osetljivost i specifičnost za određeni tumor. Iz tih razloga, tumor markeri obično se kombinuju sa drugim dijagnostičkim metodama kao što su ultrazvuk, biopsija i patohistološki nalaz (6). Npr. AFP može da se koristi za rano otkrivanje hepatocelularnog karcinoma kod pacijenata sa povećanim rizikom kao što su ciroza jetre ili infekcije virusom hepatitisa B i C. Prema preporukama NACB (The National Academy of Clinical Biochemistry, USA) AFP trebalo bi da se određuje zajedno sa ultrazvukom abdomena na svakih šest meseci kod pacijenata sa visokim rizikom za hepatocelularni karcinom. Ako su AFP vrednosti veće od 20  $\mu$ g/L i konstantno rastu, a ultrazvučni pregled negativan, svakako treba istražiti razlog povećanja nivoa AFP (5).

Ograničena osetljivost početnih stadijuma kancera i nedostatak tumorske specifičnosti onemogućava upotrebu tumor markera za postavljanje primarne dijagnoze. U prilog tome ide i dilema o primeni PSA kao skrining markera za karcinom prostate obzirom na to da je PSA tkivno specifičan i da se može povećati i kod benigne hiperplazije prostate. Mali je broj slučajeva gde se TM mogu koristiti za razlikovanje benignog i malignog stanja kao što je CA 125 za diferencijalno praćenje benigne i maligne pelvične mase kod žena u postmenopauzi (5).

#### *Prognostički indikatori i detekcija remisije oboljenja*

Kada je reč o prognostičkim osobinama, može se reći da su visoke vrednosti TM u vezi sa uznapredovalim stadijumima bolesti i ukazuju na lošu prognozu. Postoji korelacija nekih markera sa veličinom i stadijumom tumora kao što su CEA za kolorektalni kancer, CA 125 za kancer ovarijuma i CA 19-9 za kancer pankreasa. Normalne ili blago povišene vrednosti TM u remisiji su znak da će period za ponovnu pojavu tumora biti duži, a samim tim se i period preživljavanja produžava (3).

#### *Praćenje odgovora na terapiju*

Jedna od, možda, najvažnijih indikacija za određivanje nivoa TM jeste praćenje terapije. Nakon uspešnog prvog tretmana tumora, kao što je hirurški tretman, koncentracija TM trebalo bi da opadne. Ukoliko postoperativno ne dođe do pada vrednosti preoperativno visokih nivoa TM, to može

ukazivati na nekompletnu resekciju ili prisustvo multiplih tumora. Za pravovremeno određivanje vrednosti ispitivanog TM potrebno je znati njegov biološki poluživot. Na taj način se adekvatno može tumačiti dobijeni rezultat u smislu uspešnosti primenjene terapije. Vrednosti biološkog poluživota za neke TM su: 2 do 3 dana za ukupni PSA, 12-20h za hCG, a za AFP i do 5 dana (4).

Prostata specifičan antigen (PSA) je visoko osetljiv marker za karcinom prostate. Njegova koncentracija je u korelaciji sa stadijumom i veličinom tumora. Osim za prognozu, PSA se najviše koristi za praćenje efikasnosti primenjene terapije. Bolja specifičnost i osetljivost markera može da se dobije određivanjem odnosa slobodnog i ukupnog PSA (fPSA/tPSA) gde je fPSA slobodna frakcija koja nije vezana za proteine i izražava se u procentima. Naime, primećeno je da muškarci čije su vrednosti za PSA manje od 3 ng/mL i fPSA veće od 18% su pacijenti sa niskim rizikom da obole od kancera prostate. Sa druge strane, niže vrednosti fPSA (18% i manje) ukazuju na rizik za karcinom prostate i pre povećanja tPSA. Ovakva korelacija ukazuje da određivanje procenta fPSA ima i dijagnostički značaj kod muškaraca čiji je tPSA preko 3 ng/mL (1).

Kriterijum za izbor tumor markera obuhvataju kako kliničke tako i biohemijske i analitičke parametre, a sve u cilju postizanja najbolje efikasnosti primene. Obzirom na to da je većina markera nespecifična, samo jednim određivanjem TM ne može se utvrditi ponovna pojava tumora. Takođe, povećanje TM kod nekih inflamatornih procesa su prolazna, za razliku od tumorskih procesa gde je porast TM kontinuiran. Na taj način se izvođenjem serijskih određivanja mogu eliminisati lažno pozitivni rezultati. Kako bi se procenila efikasnost tumor markera za praćenje terapije, potrebno je uzimati serije uzoraka. Tako, prvu serumsku koncentraciju TM treba odrediti nakon postavljanja dijagnoze karcinoma kao i pre početka terapije. Prva vrednost ukazuje na pogodnost praćenja a u izvesnim slučajevima i na prognostički ishod. Drugi uzorak uzima se nakon terapije, a njegov rezultat daje informaciju o uspešnosti primenjene terapije. Kada i koliko puta će se uzimati sledeći uzorci zavisi od poluživota tumor markera. Naredna uzorkovanja su važna zbog što ranijeg utvrđivanja ponovne pojave karcinoma (3).

### **Referentne vrednosti za tumor markere**

Da bi se procenila značajnost nekog tumor markera potrebno je odrediti ga kod različitih populacija, kako kod zdravih osoba i pacijenata sa benignim promenama tako i kod pacijenata sa različitim tipovima karcinoma. Za validaciju svakog markera potrebno je odrediti referentne vrednosti, izračunati prediktivne vrednosti, distribuciju vrednosti markera i značajnost u proceni oboljenja (3). Referentne vrednosti dobijaju se određivanjem tumor markera od interesa kod zdrave populacije istog pola i godina. Najčešće korišćen statistički metod za obradu podataka je Gausova (normalna) raspodela gde se rezultati prikazuju kao srednja vrednost  $\pm 2$  standardne devijacije (Sd). Međutim, kod pacijenata sa dijagnostikovanim tumorom značajnije je odrediti cut-off vrednosti od gornje granice referentnog intervala. To znači da se terapijski efekat prati preko koncentracije TM

odredene pre primene terapije (4). S tim u vezi, gornja referentna granica za tumor markere kod zdravih osoba igra malu ulogu za obolele na terapiji pa je mnogo značajnije da se prate promene kod svakog pacijenta ponaosob. Na taj način postiže se osetljiviji dijagnostički kriterijum od poređenja individualne vrednosti za svakog pacijenta sa gornjom referentnom granicom (3). Prema tome, moglo bi se reći da svaki pacijent sa tumorom ima svoj „bazni nivo“ za određeni tumor marker. A vrednosti posle prve terapije se uzimaju kao specifične referentne vrednosti koje će služiti kao bazni nivo za naredno praćenje.

### **Laboratorijsko određivanje tumor markera**

Za određivanje tumor markera najčešće se koriste imunohemijske metode (testovi sa obeleženim antitelom ili antigenom). To su RIA (Radio Immuno Assay) i EIA (Enzyme Immuno Assay). Radio imuno testovi imaju dobru osetljivost i slabe interferencije ali se zbog radioaktivnosti sve više zamenjuju enzimskim testovima. Dva osnovna tipa reakcija koji se koriste u imunohemijskim određivanjima analita su kompetitivni (ograničena količina reagensa) i nekompetitivni (sa viškom reagensa, dvostrani ili sendvič testovi). Ima nekoliko vrsta enzimskih testova u zavisnosti od principa imunohemijske reakcije i signala koji se prati. To su ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), FPIA (Fluorescence Polarisation Immunoassay), MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay) i CMIA (Chemiluminescent Magnetic Immunoassay) (7). Zajednički princip za sve enzimске imuno testove zasniva se na reakciji antitelo-antigen (At-Ag) i enzim-supstrat. Antitelo ili antigen obeležen enzimom (At\*, Ag\*) stupa u reakciju sa ligandom iz uzorka i uz dodatak supstrata za dati enzim nastaje kompleks antitelo-antigen i hromogen čija se apsorbancija meri kao signal. U zavisnosti od toga da li je kompetitivni ili nekompetitivni tip reakcije, jačina merenog signala biće obrnuto ili direktno proporcionalna koncentraciji TM.

Osim imunohemijskih testova za određivanje tumor markera mogu se koristiti hromatografija, elektroforeza, masena spektrometrija povezana sa tačnom ili gasnom hromatografijom i microarray tehnika (7).

Zbog različitih, gore navedenih, metoda za određivanje TM, veoma je važno da se njihova koncentracija meri istim postupkom. Tako na primer, testovi različitih proizvođača daju različite vrednosti za TM u istom uzorku čak i kada se koriste ista antitela i metode. Drugim rečima, to znači da primena različitih komercijalnih testova za merenje TM nisu međusobno uporedivi. Shodno tome, preporuka je da se pacijentu sa karcinomom posle terapije, serijski prate vrednosti TM istim postupkom. U slučaju promene metode i testa treba odrediti TM istovremeno i starom i novom metodom ili, ako je moguće, sačuvati uzorke pacijenta za eventualno određivanje i novom metodom. S tim u vezi, treba uvek navesti kojom metodom i kojim testom su određeni tumor markeri (Tabela 2). Zbog svega navedenog, određivanje referentnih vrednosti, a samim tim i „cut-off“ vrednosti nije uniformno jer one zavise od pola, rase, godina, zdravstvenog statusa, primenjene metode, antitela, matriksa i standarda (3).

**Tabela 2.** Referentne vrednosti nekih tumor markera određenih različitim metodama

Tumor marker	Metoda određivanja ECLIA	Metoda određivanja CLIA	Radioimunološko određivanje koncentracije
Alfafetoprotein (AFP)	0 – 6,7 IU/mL	0 – 7,3 IU/mL	0 - 15µg/L
Karcinoembrioni antigen (CEA)	0 – 2,5µg/L	0 – 3µg/L	0 - 5 ng/mL
Karcinoma antigen 125 (CA 125)	0 – 35 U/mL	0 – 35 U/mL	0 - 30 U/mL
Karcinoma antigen 15-3 (CA 15-3)	0 – 32,4 U/mL	0 – 31,3 U/mL	0 - 30 U/mL
Karcinoma antigen 19-9 (CA 19-9)	0 – 31 U/m	0 – 37 U/mL	0 - 37 U/mL
Karcinoma antigen 72-4 (CA 72-4)	0 – 6,9 U/mL	0 – 2,08µg/L	0 - 6 U/mL
Prostata specifičan antigen (PSA)	0 – 4 µg/L	0 – 4 µg/L	0 - 6 µg/L

Prilikom određivanja nivoa TM, brojne egzogene i endogene interferencije mogu da utiču na konačan rezultat. Tako na primer, može doći do povećanja vrednosti nekih TM

usled hemolize ili stajanjem uzorka krvi. Zato se preporučuje odvajanje seruma od koagulima u toku 60 min. Takođe, ikterični uzorak može biti uzrok povećane vrednosti PSA. Kod pacijenata koji dobijaju mišije imunoglobuline u svrhu dijagnoze i terapije u toku imunoscintigrafskog postupka ili u toku imunoterapije, može doći do stvaranja humanih anti-mišijskih antitela (HAMA). Ova heterofilna anti-Ig antitela dovode do lažno pozitivnih rezultata kod testova za određivanje tumor markera koji sadrže ovo monoklonsko antitelo. Prema tome, kliničari i biohemičari moraju da vode računa o mnogim faktorima koji mogu da uslove razlike u rezultatima i greške pri određivanju tumorskih markera. Osnovni je cilj da se izbegnu laboratorijske greške koje potiču od razlika u rezultatima određivanja tumorskih markera, ma kog porekla one bile (7).

### ZAKLJUČAK

Kao što se može zapaziti, postoji veliki broj tumor markera koji se danas mogu određivati različitim analitičkim tehnikama. Određivanje nivoa tumor markera u krvi može imati značajnu ali ne i presudnu ulogu u dijagnostici i tretmanu malignih oboljenja. U tom smislu, neophodno je unapređivati razvoj specifičnijih i osetljivijih tumor markera. Osim toga, redovna edukacija lekara kliničara kao i biohemičara o rezultatima savremenih istraživanja problema onkološke laboratorijske dijagnostike je od neprocenjive važnosti za pravilnu interpretaciju rezultata.

### Abstract

Malignantly transformed cells creates and liberates substances called tumor markers. Due to great diversity in order to place of detection, production, role and structure, tumor markers can be classified into different groups. In clinical practice, tumor markers are used for screening, differential diagnosis, prognosis and monitoring of clinical course of disease as well as response to therapy. Elevated level of tumor marker may indicate cancer, but by itself alone it is not enough to diagnose cancer. Tumor markers must have good sensitivity and specificity for particular tumor so they can be used in screening. Limited sensitivity in the initial stages of cancer and lack of tumor specificity disable the use of tumor markers to set the primary diagnosis. On the other hand, high values of tumor markers can correlate with advanced stages of disease and indicate poor prognosis. The most important indication to determine tumor markers in blood is to monitor the effect of applied anti-cancer therapy. Immunochemical (radioimmuno and enzymatic assays) methods are the most commonly used for tumor markers determination. Due to implementation of different antibodies and factors by different manufacturers, it is necessary to determine reference values for each tumor marker separately. Also, it is very important to use the same method to measure tumor marker concentration during continuing monitoring of treated patients.

### LITERATURA

1. Voorzanger-Rousselot N, Garnero P. Biochemical markers in oncology. *Cancer Treatment Reviews*. 2007; 33: 230-283.
2. Majkić-Singh N. Tumorski markeri: Biohemija i klasifikacija. *Jugoslav Med Biochem*. 2006; 25: 79– 88.
3. Majkić-Singh N. Medicinska biohemija. Drugo dopunjeno izdanje. Beograd: Društvo medicinskih biohemičara Srbije; 2006.
4. Burtis A. C. Tietz Textbook of Clinical chemistry and molecular diagnostics. 5th edition. Amsterdam: ELSEVIER; 2012.
5. Duffy J. M. Tumor markers in clinical practice: A Review Focusing on Common Solid Cancers. *Med Princ Pract*. 2013; 22: 4-11.
6. Ignjatović S. Klinička korisnost tumor markera. *Jugoslav Med Biochem*. 2006; 25: 119–125.
7. Stanković S. Tumor markeri: Metode određivanja. *Jugoslav Med Biochem*. 2006; 25: 89–101.