

Hana Rakuša<sup>1</sup>, Jasna But Hadžić<sup>2</sup>

# Klinična uporabnost tumorskih označevalcev in njene omejitve

## *Clinical Applicability of Tumour Markers and its Limitations*

### IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: tumorski označevalci, biologija raka, komplementarni označevalci, presejalni programi, diagnostika raka, tarčno zdravljenje, prognoza

Razvoj raka je stopenjski proces, njegov temelj pa predstavljajo spremembe v genetskem zapisu in izražanju genov. Te spremembe je mogoče opredeliti z genetskimi ali laboratorijskimi biokemijskimi metodami in jih uporabiti kot označevalce maligne bolezni. Tumorski označevalci nakazujejo prisotnost, nekateri pa tudi aktivnost tumorja. Ob njihovem odkritju sredi prejšnjega stoletja so predvidevali, da jih bo mogoče uporabiti predvsem za zgodnje odkrivanje bolezni. Izkazalo pa se je, da so tumorski označevalci večinoma premalo občutljivi, da bi z njimi lahko zanesljivo odkrili zgodnje stopnje bolezni, in premalo specifični, da bi z njimi zanesljivo ločevali med različnimi bolezenskimi stanji. Njihovo uporabnost v presejalnih programih dodatno omejujeta še nizka prevalenca malignih bolezni v populaciji in oteženo oblikovanje referenčnih vrednosti. Kot pri ostalih preiskavah je treba že pred določanjem tumorskih označevalcev natančno vedeti, kakšni bodo nadaljnji ukrepi v primeru pozitivnega ali negativnega rezultata. Za uspešno klinično uporabo je nujno tudi natančno poznavanje lastnosti posameznega tumorskega označevalca, saj so kljub svojim pomanjkljivostim nezamenljivo dopolnilo pri vseh stopnjah kliničnega odločanja. V prispevku so predstavljeni tumorski označevalci, ki so najbolj razširjeni v presejalnih programih, pri diagnostiki, načrtovanju tarčnega zdravljenja in spremljanju uspešnosti zdravljenja ter napovedi izida.

### ABSTRACT

KEY WORDS: tumor markers, cancer biology, complementary tumor markers, screening programmes, cancer diagnostics, target treatment, prognosis

The evolution of cancer is a gradual process. Gene mutations and altered gene expression are a fundamental part of cancer biology. They can be evaluated with genetic and biochemical techniques, and used as markers of malignant diseases. Tumor markers can indicate the presence as well as the activity of a certain tumor. Their discovery dates back to the middle of the previous century, and it was first assumed they would be predominantly used for the detection of the preclinical stage of the disease. However, it became

<sup>1</sup> Hana Rakuša, štud. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; hana.rakusa@medrazgl.si

<sup>2</sup> Doc. dr. Jasna But Hadžić, dr. med., Sektor za radioterapijo, Onkološki inštitut, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana; Katedra za onkologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana

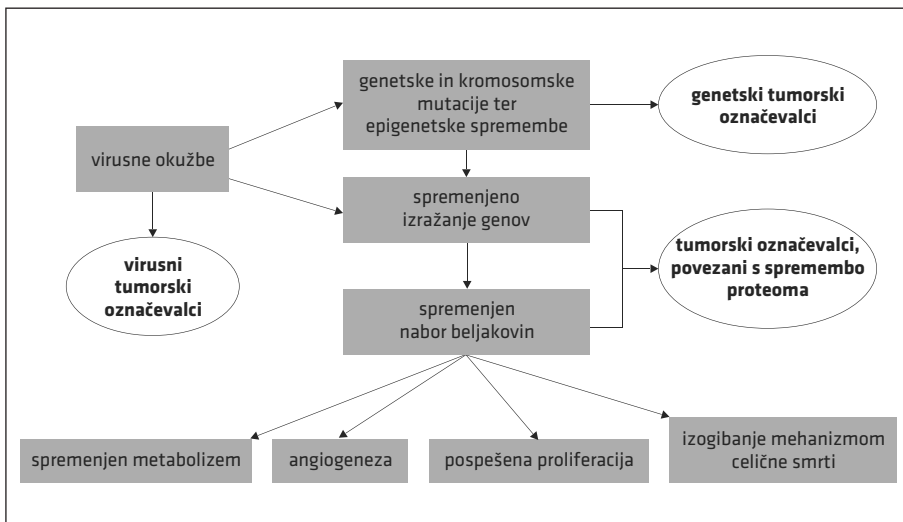
apparent that most tumor markers lack the sensitivity to uncover the preclinical stage of the disease, as well as the specificity to differentiate between different conditions with sufficient certainty. Their application in screening programs is further limited by the low prevalence of malignant diseases and by the challenges of establishing unified reference values. As with any other procedure, tumor marker tests require a defined clinical pathway with possible interventions for the case of both positive and negative test results. In addition, it is quintessential to understand properties and limitations of an individual tumor marker in order to use it successfully. Despite their limitations, tumor markers remain an unparalleled supplement in clinical decision-making. This review article focuses on the most widespread tumor markers in screening programs, diagnostics, planning of the treatment, treatment assessment and prognostication.

## UVOD

Tumorski označevalci (TO) so biokemični pokazatelji prisotnosti ali aktivnosti tumorja, saj so v povišanih koncentracijah prisotni pri bolnikih z določenimi malignimi boleznimi. Prisotni so v telesnih tekočinah, izločkih ali tkivih bolnika. Izločajo oz. izražajo jih tumorske ali zdrave celice kot odgovor na prisotnost tumorja (slika 1).

Za učinkovito uporabo v diagnostiki, zdravljenju in sledenju bi od TO pričakovali (1–4):

- visoko občutljivost, kar pomeni prisotnost pri večini bolnikov z določenim tumorjem,
- visoko specifičnost, kar pomeni, da bi TO tvorile samo rakavo spremenjene celice,
- visoko pozitivno in negativno napovedno vrednost,
- dovolj velike količine, ki omogočajo diagnostiko že pred klinično izraženo boleznijo,
- koncentracijo, sorazmerno z razsežnostjo maligne bolezni,



**Slika 1.** Tumorski označevalci (TO) pri razvoju raka. Sivi okvirčki predstavljajo temeljne patološke procese pri razvoju raka. Patološke procese je možno primerjati s fiziološkimi, jih z genetskimi ali biokemičnimi metodami opredeliti in kvantificirati ter izsledke uporabiti kot TO.

- možnost preverjanja njihove klinično uporabne vrednosti s prospektivnimi raziskavami,
- jasne referenčne vrednosti za razlikovanje zdravih in malignih sprememb ter
- določanje z neinvazivnimi, cenovno dostopnimi in avtomatiziranimi preiskavami.

Popolni TO ne obstajajo. Starejši TO niso preverjeni v randomiziranih raziskavah, njihova uporaba pa sega že v čas pred moderno slikovno in molekularno diagnostiko. Pomembno diagnostično orodje so predstavljali predvsem nespecifične onkofetalne beljakovine (npr. karcinoembrionalni antigen (angl. *carcinoembryonic antigen*, CEA)) in bolj specifični glikoproteini oz. ogljikohidratni TO (npr. karcinomski antigeni (angl. *cancer antigen*, CA)). Pri diagnostiki in spremljanju bolnika so že pred več desetletji v serumu določali tudi hormone (npr.  $\beta$ -horionski gonadotropin ( $\beta$ -HCG)) in encime (npr. alkalno fosfatazo (AF)) (1–4). Določanje izraženosti hormonskih receptorjev v tumorskem tkivu je služilo napovedovanju odgovora na hormonsko terapijo, zato ti predstavljajo najstarejše napovedne TO. Kasneje je sledilo tudi določanje drugih receptorjev in ligandov kot prijemališč za določena zdravila. Poleg napovednih lastnosti so nekateri TO izkazali tudi prognostično vrednost ter na novo definirali klasifikacijo nekaterih rakov (slika 2). Z razvojem molekularne diagnostike se je definicija TO razširila tudi na kromosomske in genetske mutacije ter epigenetske spremembe. Zaradi močnih prognostičnih in napovednih lastnosti genetskih TO se določanje ene mutacije (npr. z metodo verižne reakcije s polimerazo (angl. *polymerase chain reaction*, PCR)) v večini primerov nadomešča z določanjem več TO hkrati, kar je mogoče izvesti s sekvenciranjem naslednje generacije (angl. *next generation sequencing*, NGS) (3, 5–7). Določanje genetskih TO v tkivnih biopsijah počasi izpodriva neinvazivna in bolniku prijaznejša tekočinska biopsija,

z določanjem genetskih TO v bolnikovem serumu (8). V sodobni onkologiji se TO tako vedno bolj približujejo želenim lastnostim. Za lažje razumevanje tega heterogenega področja smo v prispevku povzeli uporabnost najpogostejših TO pri pogostih epiteljskih tumorjih (tabela 1).

## PODROČJA UPORABE TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

### Vloga tumorskih označevalcev pri presejalnih programih

Presejalni programi so namenjeni odkrivanju predrakavih sprememb in zgodnjemu odkrivanju bolezni, ko njeni simptomi še niso klinično izraženi. Zgodnje odkrivanje omogoča uspešnejše ukrepanje in obvladovanje bolezni, kar vodi v upočasnjeno napredovanje bolezni, podaljšano preživetje in zmanjšano umrljivost (10).

Ker je določanje TO v telesnih tekočinah enostavno in poceni, so v začetnem obdobju odkrivanja in preučevanja TO predpostavljali, da bodo najbolj uporabni ravno v presejalnih programih (1, 2). Vendar se je izkazalo, da so TO premalo občutljivi za predklinične stopnje bolezni in premalo specifični za ločevanje od nemalignih stanj. Ob nizki prevalenci maligne bolezni v splošni populaciji tako ne dosegaajo ustreznih pozitivnih in negativnih napovednih vrednosti (1, 2).

### Pregled blata za prikrito krvavitev

Posebej uveljavljeno je spremljanje prikrite krvavitve v blatu (angl. *faecal occult blood testing*, FOBT), ki jo je laboratorijsko možno dokazati z oksidativnimi barvili ali imunokemičnimi testi, ki so natančnejši. Ker je prikrita krvavitev dokazljiv biokemični indikator, ki nakazuje na prisotnost adenoma ali raka debelega črevesa in danke (RDČD), bi lahko trdili, da gre za poseben TO. Priporočila opredeljujejo, da mora biti FOBT vsaj 50-% občutljiv za RDČD, izvajati se mora vsaki dve leti, pozitivnemu rezultatu FOBT mora slediti kolonoskopija, rezultati

pa se morajo zbirati v centralnem registru. Tem smernicam sledi večina evropskih državnih presejalnih programov. V štirih randomiziranih raziskavah je bilo dokazano, da je umrljivost zaradi kolorektalnega karcinoma za 25 % manjša pri tistih, ki se udeležujejo presejalnih programov (2, 11).

### **Odkrivanje raka prostate z merjenjem za prostato specifičnega antigena**

V Sloveniji v okviru presejalnih programov za zdaj še ne uporabljamo serumskih TO, v pripravi pa je presejalni program za zgodnje odkrivanje raka prostate. Povišane koncentracije za prostato specifičnega antigena (PSA) so značilne za patološke spremembe prostate; tako za benigno hiperplazijo prostate kot tudi za karcinom prostate. Pri karcinomih so koncentracije višje; koncentracije nad 10 ng/ml so praviloma posledica malignega procesa (zgornja normalna vrednost pri zdravi populaciji je 2 ng/ml). Koncentracije PSA dobro odražajo velikost tumorja (12).

V metaanalizi petih randomiziranih raziskav, ki je vključevala 721.718 moških, so dokazali, da presejanje z merjenjem serumskih koncentracij PSA le minimalno zmanjša specifično umrljivost zaradi raka prostate, ne vpliva pa na celokupno umrljivost. Z računalniškim modeliranjem so ocenili, da bi v vzorcu 1.000 preiskovancev v obdobju desetih let preprečili le eno smrt zaradi raka prostate, pri 29 preiskovancih bi zaradi preiskav, ki sledijo pozitivnemu rezultatu presejanja, pričakovali naslednje zaplete: enega bolnika bi bilo treba hospitalizirati zaradi sepse, trije bi utrpeli hujšo urinsko inkontinenco, 25 pa bi jih poročalo o erektilni disfunkciji (13). Zaključki evropske randomizirane raziskave so podobni, saj Schröder in sodelavci navajajo, da bi za preprečitev ene smrti morali pregledati 781 moških, dodatnih 48 moških bi bilo treba zaradi karcinoma zdraviti. Ponekod takšno presejanje zato odsvetujejo. Da se izognemo prekomerni diagnostiki in zdravljenju, se

morajo zdravniki in bolniki zavedati prednosti, omejitev in morebitnih zapletov presejanja, nadaljnjih diagnostičnih postopkov in zdravljenja (14).

### **Odkrivanje raka materničnega vratu s testiranjem na humani papiloma virus**

Praktično vsi raki materničnega vratu so etiološko povezani z okužbo s HPV, predvsem sevoma 16 in 18. Za namen presejanja z molekularno genetsko metodo določamo prisotnost virusne DNA. V opazovalnih in randomiziranih evropskih raziskavah so pokazali, da je negativen HPV-test visoko občutljiv napovedni varovalni dejavnik za karcinom *in situ* za obdobje šest let, vztrajajoč pozitiven HPV-test pa ima boljšo občutljivost za napoved invazivne oblike raka v primerjavi z brisom po Papanicolaou (bris PAP). V primerjavi z brisom PAP se je HPV-testiranje izkazalo za učinkovitejše in cenejše ter ob negativnem testu omogoča podaljšanje obdobja presejanja s treh na pet let. Ženske s pozitivnim HPV-testom je treba napotiti še na bris PAP (10).

### **Uporaba tumorskih označevalcev pri diagnostiki malignih tumorjev**

Zaradi omejene občutljivosti in specifičnosti TO ni smiselno pričakovati, da bo uporaba TO nadomestila patohistološke preglede in slikovne metode; z izjemo jetrnoceličnega karcinoma (angl. *hepatocellular carcinoma*, HCC) in neseminomskih germinalnih tumorjev. Kljub temu da TO niso povsem specifični za izbrano maligno bolezen, njihove koncentracije pa ne odražajo vedno velikosti tumorjev, je nekatere TO možno uporabiti za razlikovanje benignih in malignih procesov (1–3).

### **Diagnostika jetrnoceličnega karcinoma**

Pri bolnikih s cirozo jeter in povišanim tveganjem za razvoj HCC je kot dopolnilo UZ-pregledom dvakrat letno priporočeno določanje serumske koncentracije

$\alpha$ -fetoproteina (AFP), ki je povišana pri 80–100 % bolnikov. Serumske koncentracije nad 200 ng/ml predstavljajo veliko verjetnost za karcinom. Ožiljeni solidni vozlički, večji od 2 cm, v cirotično spremenjenih jetrih so sumljivi za HCC, če se najdba ne sklada z radiološko sliko hemanjioma. Kadar je takšni najdbi pridružena izrazito povišana koncentracija AFP (nad 400 ng/ml), je to diagnostično značilno za HCC in biopsija ni potrebna. V razvitih državah je zaradi tovrstnega pristopa 30–40 % bolnikov odkritih, ko je kurativno zdravljenje še možno (2, 15, 16).

#### **Diagnostika ne seminomskih germinalnih tumorjev**

AFP in  $\beta$ -HCG sta komplementarna TO, ki ju je možno izkoristiti tudi pri diagnostiki ne seminomskih germinalnih tumorjev. Povišana koncentracija AFP se pojavlja pri 60–80 % bolnikov (pri zdravih ne presega 10 ng/ml),  $\beta$ -HCG pa pri 60 % (pri zdravih ne presega 15 mU/ml), ker pa se ne pojavljata pri istih bolnikih, je skupna občutljivost več kot 80%. Njuni vrednosti je v sklopu diagnostike treba preveriti pred načrtovano orhiektomijo, po posegu pa je z njima možno spremljati odgovor na zdravljenje (17).

#### **Rak neznanega izvora**

Določanje večjega nabora TO je priporočeno samo pri raku neznanega izvora. Glede na morebitne povišane vrednosti se nato izvede v organ usmerjena slikovna diagnostika, kar zmanjša čas hospitalizacije in morbiditeto zaradi večjega števila diagnostičnih posegov (3).

#### **Uporaba tumorskih označevalcev pri oblikovanju prognoze in zdravljenja**

Prognostični TO odražajo intrinzične lastnosti tumorja in posledično verjetnost, da bo prišlo do napredovanja bolezni ali drugih kliničnih zapletov neodvisno od zdra-

vljenja (3, 4). Omogočijo nam, da glede na pričakovano agresivnost poteka bolezni bolnike razvrstimo v prognostične skupine. Tako identificiramo bolnike, ki potrebujejo dodatno, invazivnejšo zdravljenje, oz. bolnike z bolj indolentno boleznijo, ki bi bili zaradi prekomernega zdravljenja neupravičeno izpostavljeni njegovim zapletom (2). Prognostični TO so najbolj uporabni pri rakah, kjer je spekter možnih izidov širok, kar velja za rak dojke, jajčnikov, prostate, zarodnih celic in RDČD (2).

Prognostičnim TO so podobni napovedni (angl. *predictive*) TO, s katerimi je možno oceniti kakšen bo učinek zdravljenja. Takšni TO so pogosta prijemašča za tarčna biološka zdravila. Prognostična in napovedna uporabnost TO se pogosto prekrivata (2, 3).

#### **Prognostični in napovedni tumorski označevalci pri raku dojke**

Določanje prisotnosti estrogenskih receptorjev (ER) pri raku dojke ne omogoča zgolj natančnejše razvrstitve, temveč tudi napoveduje prognozo in odgovor na hormonsko terapijo. Tumorji z visoko izraženostjo ER so v 70 % občutljivi na terapijo, vendar stopnja izraženosti ER in stopnja odgovora na terapijo nista premo sorazmerno povezana. Hormonska terapija je priporočena, če vsaj 10 % celic izraža ER, večja negotovost se pojavi pri tumorjih, kjer je ta delež 1–10 % (18, 19).

Izražanje progesteronskih receptorjev (PR) je odvisno od signalnih poti, povezanih z ER. Prisotnost PR nakazuje, da so te signalne poti in regulatorni mehanizmi delujoči, zato prisotnost PR predstavlja pozitiven prognostični TO, hkrati pa napoveduje dober odgovor na hormonsko terapijo. PR skupno izraža 85 % ER-pozitivnih rakov, za pozitiven rezultat mora PR izražati 10 % celic. Manj kot 2 % rakov izražata PR, ne pa tudi ER, kar otežuje odločitev glede hormonskega zdravljenja. Uporabna vrednost PR kot samostojnega, od ER

neodvisnega TO, je namreč slabše opredeljena (19).

Z negativno prognozo je povezana pomnožitev receptorja 2 za epidermalni rastni dejavnik (angl. *human epidermal growth factor receptor 2*, HER2), ki je povezana s tumorji višjega gradusa, hitrejšim zasevanjem, večjim deležem ponovitev in večjo smrtnostjo. Hkrati pa je HER2 glavni TO, ki omogoča zdravljenje s tarčnimi biološkimi zdravili (17). Pozitivna vrednost imunohistokemijskega testa (oznaka 3+) omogoča uvedbo tarčnega zdravljenja. Mejno pozitivne rezultate (oznaka 2+) je treba dodatno ovrednotiti s fluorescentno *in situ* hibridizacijo (FISH), saj je le pri 15–30% teh primerov možno odkriti gensko pomnožitev HER2, kar omogoča uvedbo tarčnega zdravljenja (19).

Genetske mutacije, ki jih prikažemo z molekularno genetskimi testi Mamaprint® in Oncotype® DX, predstavljajo tako prognostični TO kot tudi napovedni označevalci odziva na zdravljenje z dopolnilno kemoterapijo. Za napoved odziva na endokrino terapijo pa uporabljamo jedrni antigen Ki67; njegovo proliferativno aktivnost določimo imunohistokemijsko. Meja za napovedno ugodno vrednost Ki67 je 5%, za napovedno neugodno pa 30%. Pri odločitvi o dopolnilnem zdravljenju raka dojke tako upoštevamo značilnosti bolnice, značilnosti tumorja, obsega bolezni in TO (slika 2) (6, 20).

Pri razširjeni obliki raka dojke so se v zadnjih letih uveljavila nova tarčna zdravila, ki jih izbiramo glede na določene napovedne TO (tabela 1). Npr. zaviralci encima poli ADP-riboza polimeraza (angl. *poly ADP-ribose polymerase inhibitors*, PARPi) so kot zdravila prvega izbora učinkoviti pri bolnikih z zarodnimi mutacijami v genih BRCA1/BRCA2 (angl. *breast cancer antigen*). Olaparib iz razreda PARPi pa se uporablja tudi v dopolnilnem zdravljenju pri bolnikih z zarodnimi mutacijami v omenjenih genih, ki izražajo hormonske receptorje in imajo negativen status HER2, ali pri trojno negativnih tumorjih (20).

### **Prognostični in napovedni tumorski označevalci pri raku glave in vratu**

Okužba s HPV povzroči inaktivacijo tumorje zavirajočih genov TP53 (angl. *tumor protein p53*) in RB1 (angl. *retinoblastoma 1 gene*), medtem ko sta ta gena pri rakih, povezanih s kajenjem in uživanjem alkohola, mutirana. HPV-pozitivni raki glave in vratu se tako genetsko razlikujejo od rakov, povezanih s kajenjem in uživanjem alkohola, bolniki so mlajši in bolje reagirajo na zdravljenje z obsevanjem ter imajo boljše preživetje. Običajno uporabljen prognostični in napovedni TO, ki se pretirano izraža pri s HPV-povezanim rakom glave in vratu, je beljakovina p16. Določamo jo imunohistokemično (21).

### **Prognostični in napovedni tumorski označevalci pri raku prostate**

Izhodiščni nivo PSA predstavlja neodvisni prognostični dejavnik, ki lokaliziran rak prostate deli na tri prognostične skupne: nizko (PSA < 10 ng/ml), srednjo in visoko rizično skupino (PSA > 20 ng/ml) (3).

### **Prognostični in napovedni tumorski označevalci pri pljučnem raku**

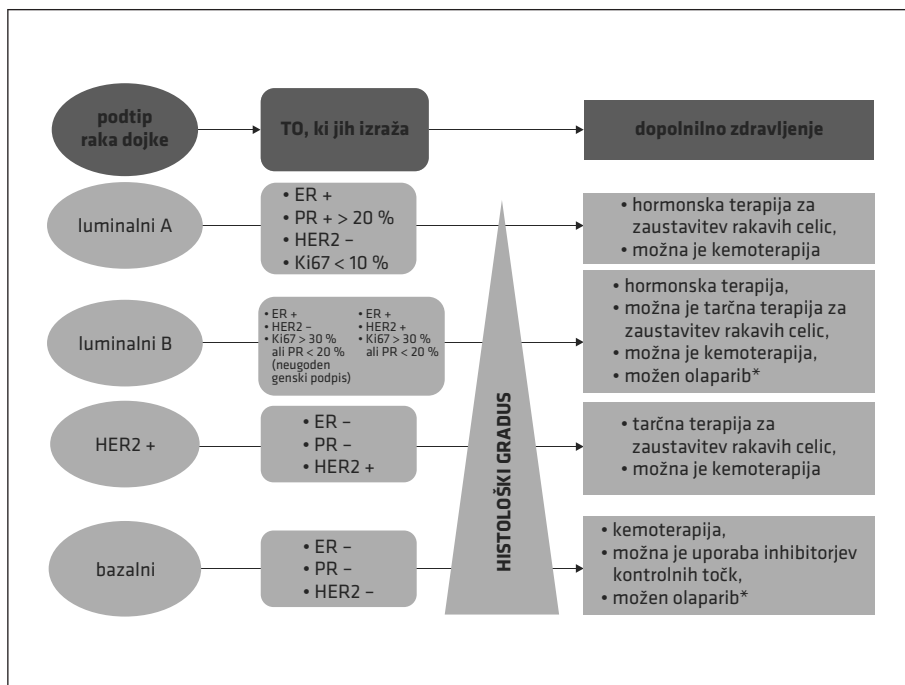
Standard v diagnostiki razsejanega žleznega pljučnega raka predstavlja refleksno testiranje napovednih biomarkerjev z NGS na biopsijskih vzorcih. Refleksno testiranje pomeni, da patolog takoj po postavitvi diagnoze naroči dodatno testiranje, vzporedno z imunohistokemično določitvijo statusa receptorja (angl. *programmed cell death receptor-1*, PD-1) in liganda 1 receptorja programirane celične smrti 1 (angl. *programmed cell death ligand-1*, PD-L1). Najpogostejša je mutacija receptorja za epidermalni rastni dejavnik (angl. *epidermal growth factor receptor*, EGFR) s 15-% prevalenco v Evropi in predstavlja tarčo za zdravljenje s tirozin kinaznimi inhibitorji (TKI). Prisotnost PD-1/PD-L1 je pomemben prognostični in napovedni dejavnik za zdravljenje z imunoterapijo (zaviralci imunskih kontrolnih

točk) pri razsejanem in lokalno napredovalem nedrobnoceličnem pljučnem raku (22).

### Vloga tumorskih označevalcev pri spremljanju poteka zdravljenja in ponovitve bolezni

Pooperativno spremljanje dinamike koncentracij TO omogoča zgodnje odkrivanje ponovitve bolezni ali napredovanja maligne bolezni. Napredovanje bolezni je s TO možno zaznati, še preden se izrazi klinično, in celo, preden ga je možno odkriti z radiološkimi metodami. Zgodnje odkrivanje bolezni omogoča hitrejšo uvedbo dodatnega zdravljenja in izboljša celokupne možnosti za ozdravitev in podaljšano preživetje (2, 3).

Z enakimi TO je možno spremljati dinamiko razširjene bolezni pri bolnikih na sistemskem zdravljenju. Upad koncentracije TO kaže na učinkovitost zdravljenja, višanje pa na napredovanje bolezni (2). V interpretaciji je treba upoštevati izhodiščni nivo in biološko razpolovno dobo, ki je lahko od nekaj ur do nekaj tednov (12). Pričakovano je tudi prehodno zvišanje nivoja TO ob tumorskem razpadu po uvedbi citotoksičnih zdravil. Takšnega prehodnega povišanja koncentracij ni po vnosu bioloških tarčnih zdravil, ker ne povzročajo razpada celic. TO večinoma služijo kot dopolnilo pri oceni poteka razširjene bolezni v sklopu klinične slike, drugih laboratorijskih in radioloških najdb (2).



**Slika 2.** Prognostični in napovedni tumorski označevalci (TO) za dopolnilno zdravljenje pri raku dojke (6, 20). Podtip raka dojke določimo glede na izražanje TO in nato glede na značilnosti bolnice, značilnosti tumorja, obseg bolezni, podtip ter histološki gradus uvedemo dopolnilno zdravljenje. Podtipi so razvrščeni od najnižjega (zgornji del slike) do najvišjega histološkega gradusa (spodnji del slike). TO – tumorski označevalci, ER – estrogenski receptor, PR – progesteronski receptor, HER2 – receptor 2 za epidermalni rastni dejavnik (angl. *human epidermal growth factor receptor 2*), + – prisotnost izbranega TO, – odsotnost izbranega TO, Ki67 – jedrni antigen Ki67, \* – olaparib iz razreda zaviralcev encima poli ADP-riboza polimeraza (angl. *poly ADP-ribose polymerase inhibitors*, PARPi) se uporablja kot vzdrževalno zdravljenje le pri bolnicah z zarodnimi mutacijami in HER2-negativnim rakom dojke.

### **Spremljanje neseminomskih germinalnih tumorjev**

Poleg tega, da sta  $\beta$ -HCG in AFP uporabna kot diagnostična in prognostična TO, je s spremljanjem njunih pooperativnih serumskih koncentracij možno predvideti uspešnost zdravljenja. Razpolovna doba AFP znaša 5 dni, zato ga je smiselno določiti vsaj 14 dni po operaciji; padec serumskih koncentracij potrjuje radikalnost operacije. Podobno tudi normalizacija koncentracije  $\beta$ -HCG pomeni, da je bila operacija radikalna, le da je razpolovna doba  $\beta$ -HCG krajša; znaša 24 ur (17).

Če se serumske koncentracije povišajo za polovico zgornje normalne vrednosti, je upravičeno sklepati, da je prišlo do napredovanja bolezni tudi brez spremljajočih radioloških najdb. V takšnih primerih je smiselna uvedba kemoterapije (17).

Oba TO je treba določiti tudi pred uvedbo sistemske terapije. Po prvem tednu serumske vrednosti dodatno porastejo zaradi razpada tumorskih celic, nato pa v skladu z razpolovnimi dobami upadejo. Takšen upad je kazalnik dobrega odgovora na zdravljenje, hkrati pa napoveduje podaljšano preživetje (17, 23). Smernice priporočajo določanje obeh TO v prvem letu na 2–4 mesece, v drugem letu na 3–6 mesecev, v tretjem in četrtem letu na pol leta, nato pa enkrat letno, vsaj še 10 let po končani terapiji (2).

### **Spremljanje raka debelega črevesa in danke**

Zaradi nespecifičnosti CEA TO ni uporaben v diagnostiki RDČD. Ker pa je v zvišani koncentraciji prisoten pri 80 % bolnikov s potrjenim rakom, je njegova uporabnost predvsem v sledenju bolnikov med zdravljenjem in po njem. CEA določamo v serumu pred zdravljenjem, po operaciji, med sistemskim zdravljenjem in po njem (2, 15, 17). Razpolovna doba znaša 4–7 dni, zato koncentracije v krvi upadejo približno po enem mesecu. Popolna odstranitev tumorja brez

prisotnosti zasevkov se kaže z normalizacijo koncentracije pod zgornjo normalno mejo (2,5 ng/ml) (17, 24). Za spremljanje bolezni je priporočeno določanje CEA na 3–6 mesecev. Za relativno zanesljivo napoved ponovitve bolezni se morajo koncentracije povečati za 30–50 % zgornje normalne vrednosti (24).

Visoko razmerje med pred- in pooperativno koncentracijo CEA predstavlja negativni prognostični dejavnik (24).

### **Spremljanje raka dojke**

Uporabnost TO pri spremljanju raka dojke je najbolj kontroverzna. V preteklosti je bilo določanje CA 15-3 v času sledenja standard. Ker odkrivanje napredovanja bolezni pred pojavom klinično očitnih zasevkov ni vplivalo na prognozo, večina mednarodnih smernic odsvetuje določanje CA 15-3 med sledenjem (3).

## **OMEJITVE UPORABE TUMORSKIH OZNAČEVALCEV IN NJIHOV RAZVOJ**

Popolni TO ne obstajajo, saj jih celice tvorijo tudi ob vnetjih, poškodbah in različnih fizioloških procesih, prisotni pa so tudi pri povsem zdravih posameznikih. Vsi tumorji iste vrste ne izražajo enakih TO, kar posledično pomeni, da so rezultati preiskav lahko lažno negativni. Koncentracije TO večinoma ne sovpadajo z razširjenostjo bolezni, prav tako pogosto ni zanesljivih referenčnih vrednosti, s katerimi bi lahko nedvomno potrdili malignost procesa. Standardizacijo onemogočajo razlike med konkurenčnimi reagenti različnih proizvajalcev in intra- ter interindividualna variabilnost pri tvorbi TO. Zato je njihovo prisotnost ali odstopanje od normalnih koncentracij nujno interpretirati skupaj z anamnezo in klinično sliko bolnika ter rezultati morebitnih drugih preiskav (2–4, 12).

Za izboljšanje napovedne vrednosti in poenostavljenje diagnostike ter spremljanja se razvijajo novi TO. Predvsem je aktualno



molekularno genetsko določanje krožeče tumorske DNA (angl. *circulating tumor DNA*, ctDNA), tumorskih celic (angl. *circulating tumour cells*, CTC), RNA (mRNA in mikro-RNA) in zunajceličnih veziklov (angl. *extracellular vesicles*, EV). Pri nedrobnoceličnih pljučnih rakih se tekočinska biopsija ctDNA že uporablja za določanje EGFR-mutacije v diagnostiki in rezistentnih mutacij (mutacija T790M; zamenjava treonina z metioninom na 790. mestu) med zdrav-ljenjem s TKI (3). Pri zgodnjem in razsejanem raku dojke imajo CTC prognostično vrednost. Cirkulirajoča mikro-RNA ima prognostični in napovedni potencial pri številnih rakih,

trenutno pa je dokazov za standardno uporabo v klinični praksi še premalo (18). Pri germinalnih tumorjih bi jo bilo možno uporabljati pri določanju stadija, saj njeno izražanje sovпада s premerom tumorja in napoveduje metastatsko obliko bolezni (17).

Zanimiva so tudi področja raziskovanja že uveljavljenih TO (tabela 1), predvsem v kombinacijah z drugimi označevalci. Tako je kombinacija nadmodkove beljakovine (angl. *human epididymis protein 4*, HE4) in CA 125 izboljšala stratifikacijo tveganja pri raku jajčnika. Pri pljučnem raku pa se raziskuje kombinacija več serumskih TO za pre-sejanje in zgodnjo diagnostiko (3).

**Tabela 1.** Izbor pogostih tumorskih označevalcev v redni klinični uporabi (25). CA – karcinomski antigen (angl. *cancer antigen*), HE4 – nadmodkova beljakovina (angl. *human epididymis protein 4*), HCC – jetrno-celični karcinom (angl. *hepatocellular carcinoma*), CEA – karcinoembrionalni antigen (angl. *carcinoembryonic antigen*), RDČD – rak debelega črevesa in danke, MM – maligni melanom, DPR – drobnocelični pljučni rak, HER2 – receptor 2 za humani epidermalni rastni dejavnik (angl. *human epidermal growth factor receptor 2*), NDPR – nedrobnocelični pljučni rak, PAP – prostatična kislina fosfataza (angl. *prostatic acid phosphatase*), PD-1 – receptor programirane celične smrti 1 (angl. *programmed cell death receptor-1*), PD-L1 – ligand 1 receptorja programirane celične smrti 1 (angl. *programmed cell death ligand-1*), CTC – krožeče tumorske celice (angl. *circulating tumour cells*), BRCA – gen raka dojke (angl. *breast cancer gene*), ALK – anaplastična limfomska kinaza, EGFR – receptor za epidermalni rastni dejavnik (angl. *epidermal growth factor receptor*, EGFR), NTRK – nevtrotrofična receptorska kinaza, MSI – mikrosatelitna nestabilnost (angl. *microsatellite instability*), dMMR – okvare popravljajnih mehanizmov DNA (angl. *deficient DNA mismatch repair*).

Tumorski označevalec	Oznaka	Vrsta raka	Uporaba
<b>Glikoproteini oz. ogljikohidratni tumor spremljajoči antigeni</b>			
Karcinomski antigen 15-3	CA 15-3	rak dojke	odziv na zdravljenje, spremljanje
Karcinomski antigen 27-9	CA 27-29	rak dojke	odziv na zdravljenje, spremljanje
Karcinomski antigen 19-9	CA 19-9	rak trebušne slinavke, žolčnika, želodca	odziv na zdravljenje
Karcinomski antigen 125	CA 125	rak jajčnikov	diagnostika, odziv na zdravljenje, spremljanje
Karcinomski antigen 72-4	CA 72-4	rak želodca	spremljanje
Nadmodkova beljakovina	HE4	rak jajčnikov	določitev zdravljenja, odziv na zdravljenje, spremljanje
<b>Onkofetalne beljakovine</b>			
Kalcitonin		medularni rak ščitnice	diagnostika, odziv na zdravljenje, spremljanje
α-fetoprotein	AFP	HCC, germinalni tumorji	diagnostika, odziv na zdravljenje; dodatno pri germinalnih tumorjih določitev stadija in prognoza
Karcinoembrionalni antigen	CEA	RDČD, nekateri drugi raki	odziv na zdravljenje, spremljanje

<b>Tumorski označevalec</b>	<b>Oznaka</b>	<b>Vrsta raka</b>	<b>Uporaba</b>
<b>Encimi</b>			
Laktatna dehidrogenaza	LDH	MM, nevroblastom, germinalni tumorji	določitev stadija, prognoze, odziv na zdravljenje
Nevronsko specifična enolaza	NSE	DPR	diagnostika in odziv na zdravljenje
Prostatična kisl fosfataza	PAP	razsejan rak prostate	diagnostika slabo diferenciranih rakov
<b>Hormoni</b>			
$\beta$ -humani horionski gonadotropin	$\beta$ -hCG	horiokarcinom, germinalni tumorji	določitev stadija, prognoze, odziv na zdravljenje
<b>Hormonski in drugi receptorji</b>			
Estrogenski/progesteronski receptor	ER/PR	rak dojke	za določitev zdravljenja
Receptor 2 za epidermalni rastni dejavnik, pomnožitev ali povečano izražanje	HER2	rak dojke, jajčnikov, mehurja, trebušne slinavke in želodca	za določitev zdravljenja
Receptor programirane celične smrti 1/ligand 1 receptorja programirane celične smrti 1	PD-1/PD-L1	NDPR, HCC, rak želodca, požiralnika	za določitev zdravljenja
<b>Virusni tumorski označevalci</b>			
Beljakovina p16		rak glave in vratu	prognoza
<b>Krožeče tumorske celice</b>			
Krožeče tumorske celice	CTC	razsejan rak dojke, prostate, RDČD	za določanje prognoze in odločitve o zdravljenju
<b>Genetske mutacije</b>			
Mutacije <i>BRCA1/BRCA 2</i>		rak dojk, rak jajčnikov	za določitev zdravljenja
Mutacije protoonkogene <i>BRAF V600</i>		MM, RDČD, NDPR	za določitev zdravljenja
Preureditve <i>ALK</i>		NDPR	za določitev zdravljenja in prognoze
Mutacije <i>EGFR</i>		NDPR	za določitev zdravljenja in prognoze
Mutacija, pomnožitev protoonkogene <i>MET</i>		NDPR	za določitev zdravljenja in prognoze
Preureditve <i>NTRK</i>		NDPR, solidni tumorji	za določitev zdravljenja in prognoze
Preureditve protoonkogene <i>RET</i>		NDPR	za določitev zdravljenja in prognoze
Mutacije protoonkogene <i>KRAS</i>		NDPR, RDČD	za določitev zdravljenja in prognoze
Mikrosatelitna nestabilnost/okvare popraviljanje DNA	MSI/dMMR	RDČD, drugi solidni tumorji	določanje zdravljenja, diagnostika sindromov
Genomski test – 70 genov	Mammaprint®	rak dojke	prognoza
Genomski test – 46 genov	Prolaris®	rak prostate	prognoza in odločitve o zdravljenju

## ZAKLJUČKI

Izboljšano razumevanje biologije raka je v prejšnjem stoletju pripomoglo k postopnemu odkrivanju TO. Čeprav so sprva predvidevali, da bodo namenjeni predvsem zgodnjemu odkrivanju malignih bolezni, je njihova uporabnost na tem področju zaradi nizke občutljivosti in specifičnosti omejena. Sodobni TO so predvsem genetski, mogoče jih je določati z NGS in imajo predvsem napovedno vrednost pri zdravljenju.

Vedno, ko se odločimo za določanje TO, moramo vedeti, kakšno bo nadaljnje klinično ukrepanje v primeru pozitivnega rezul-

tata. Določanje samo TO zato ni upravičeno, saj zgolj na podlagi pozitivnega rezultata ni mogoče potrditi prisotnosti maligne bolezni ali oblikovati nadaljnega kliničnega pristopa in zdravljenja (2–4, 12).

Čeprav so TO nepogrešljiv del sodobne klinične onkologije, mora njihova uporaba vsakič znova temeljiti na mednarodnih priporočilih, podprtih z neodvisnimi raziskavami. Kljub temu da so TO izjemno heterogeni, je za uspešno uporabo treba poznati biološke lastnosti posameznega označevalca, indikacije za določanje in njegove omejitve.

**LITERATURA**

1. Nagpal M, Singh S, Singh P, et al. Tumor markers: A diagnostic tool. *Natl. J. Maxillofac. Surg.* 2016; 7 (1): 17.
2. Duffy MJ. Tumor markers in clinical practice: A review focusing on common solid cancers. *Med. Princ. Pract.* 2012; 22 (1): 4–11.
3. Filella X, Rodríguez-García M, Fernández-Galán E. Clinical usefulness of circulating tumor markers. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2022; 61 (5): 895–905.
4. Holdenrieder S, Pagliaro L, Morgenstern D, et al. Clinically meaningful use of blood tumor markers in oncology. *Biomed Res. Int.* 2016; 2016: 9795269.
5. Hong Y, Kim WJ. DNA methylation markers in lung cancer. *Curr. Genomics.* 2020; 22 (2): 79–87.
6. Blatnik A, Perhavec A, Gazič B, et al. Priporočila diagnostike in zdravljenja raka dojk. Ljubljana: Onkološki inštitut; 2021.
7. Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: A report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann. Oncol.* 2020; 31 (11): 1491–505.
8. Lone SN, Nisar S, Masoodi T, et al. Liquid biopsy: A step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. *Mol. Cancer.* 2022; 79: 21.
9. Bhatt AN, Mathur R, Farooque A, et al. Cancer biomarkers – Current perspectives. *Indian J. Med. Res.* 2010; 132: 129–49.
10. Anon. Improving cancer screening in the European union. 10th ed. Berlin: SAPEA; 2022.
11. Duffy MJ, Van Rossum LGM, Van Turenhout ST, et al. Use of faecal markers in screening for colorectal neoplasia: A European group on tumor markers position paper. *Int. J. Cancer.* 2011; 128 (1): 3–11.
12. Možina B, Lenart K, Grošelj A, et al. Diagnostične metode: Laboratorijske metode. In: Strojjan P, Hočvar M, eds. *Onkologija, učbenik za študente medicine.* 2nd ed. Ljubljana: Onkološki inštitut; 2018: 418–44.
13. Ilic D, Djulbegovic M, Jung JH, et al. Prostate cancer screening with prostate-specific antigen (PSA) test: A systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2018; 362.
14. Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, et al. Screening and prostate cancer mortality: Results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet.* 2014; 384 (14): 2027–35.
15. Faria SC, Sagebiel T, Patnana M, et al. Tumor markers: myths and facts unfolded. *Abdom. Radiol.* 2019; 44 (4): 1575–1600.
16. Sturgeon CM, Duffy MJ, Hofmann BR, et al. National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in liver, bladder, cervical, and gastric cancers. *Clin. Chem.* 2010; 56 (6): 1–48.
17. Pedrazzoli P, Rosti G, Soresini E, et al. Serum tumour markers in germ cell tumours: From diagnosis to cure. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2021; 159: 103224.
18. Seale KN, Tkaczuk KHR. Circulating Biomarkers in Breast Cancer. *Clin. Breast Cancer.* 2022; 22 (3): e319–31.
19. Rakha EA, Chmielik E, Schmitt FC, et al. Assessment of predictive biomarkers in breast cancer: Challenges and updates. *Pathobiology.* 2022; 89 (5): 263–77.
20. Gradishar WJ, Moran MS, Abraham J, et al. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines) Breast Cancer, Version 4.2023.
21. Kühn JP, Schmid W, Körner S, et al. HPV status as prognostic biomarker in head and neck cancer— which method fits the best for outcome prediction? *Cancers (Basel).* 2021; 13 (8): 4730.
22. Vrankar M, Boc N, Kern I, et al. Priporočila za obravnavo bolnikov s pljučnim rakom. *Onkol. Strok. časopis za Zdr.* 2023; 27: 30–88.
23. Dieckmann KP, Radtke A, Spiekermann M, et al. Serum levels of microRNA miR-371a-3p: A sensitive and specific new biomarker for germ cell tumours. *Eur. Urol.* 2017; 71 (2): 213–20.
24. Xie H-L, Gong Y-Z, Kuang J-A, et al. The prognostic value of the postoperative serum CEA levels/preoperative serum CEA levels ratio in colorectal cancer patients with high preoperative serum CEA levels. *Cancer Manag. Res.* 2019; 11: 7499–511.
25. NCI: Tumor Markers in Common Use [internet]. Bethesda: National Cancer Institute; c2023 [citirano 2023 Jul 1]. Dosegljivo na: <https://www.cancer.gov/about-cancer/diagnosis-staging/diagnosis/tumor-markers-list>