

Sérologické a molekulárne genetické nádorové markery



Obr.1: Predovšetkým u starších pacientov sa zvyšuje riziko nádorov. Popri klinickom vyšetrení môžu aj krvné testy poukázať na ochorenie.
Zdroj obrázka: envatoelements

Môže jednoduchá vzorka krvi zjednodušiť invazívne a nákladné vyšetovanie pacientov s nádorom? S touto otázkou často prichádzajú majitelia aj veterinári. Ako všeobecnú odpoveď môžeme povedať: čiastočne. Vzorky krvi už môžu poskytnúť dôležité informácie týkajúce sa diagnózy a monitorovania. Aktuálny stav sa dozviete v tomto článku.

Vo všeobecnosti je potrebné odlišiť sérologické testy od metód tekutej biopsie. Sérologické testy zisťujú proteíny produkované nádorovými bunkami v krvi, zatiaľ čo tekutá biopsia deteguje DNA, RNA a proteíny spojené s nukleovou kyselinou v telesných tekutinách.

Hematológia

V súvislosti s mnohými nádorovými ochoreniami sa na neregeneratívnu anémiu nazerá ako na

anémiu chronického ochorenia. Môže indikovať infiltráciu kostnej drene neoplastickými bunkami (napr. pri leukémii, lymfóme, mnohopočetnom myelóme alebo iných metastázach) alebo nádory produkujúce estrogén (nádory Sertolihových buniek). Ak je postihnutá kostná dreň, sú zvyčajne postihnuté ďalšie bunkové línie, takže je potrebné zvážiť príslušné nádory, najmä ak sa súčasne vyskytuje neutro- a/alebo trombocytopenia.

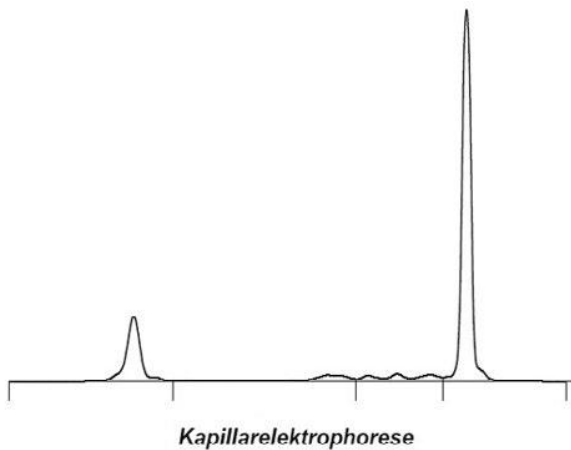
Trombocytopenia sa často vyskytuje pri nádoroch sleziny. V priebehu rôznych neoplastických ochorení sa môže vyskytnúť aj trombocytóza. Pri lymfoproliferatívnych neopláziách je možná masívna lymfocytóza.

Eozinofília sa môže vyskytnúť napríklad ako reakcia na mastocytóm, ale aj v súvislosti s T-bunkovým lymfómom.

Biochémia krvi

Niektoré parametre krvnej chémie môžu poskytnúť dodatočné informácie pre onkologický work up, napr.: globulíny, laktátdehydrogenáza (LDH) a vápnik (Ca).

Hyperglobulinémiu pozorujeme pri nádoroch produkujúcich protilátky (mnohopočetný myelóm, plazmocytóm, B-bunkový lymfóm/leukémia). V diagnostike pomôže sérová elektroforéza (obr. 2).



Fraktion	%	g/l	Katze:
Albumin	19,0	27,5	Alb: 42-61%
Alpha	5,7	8,2	a-Glob: 9-24%
Beta	7,6	11,0	b-Glob: 6-25%
Gamma	67,7	98,0	g-Glob: 6-26%

Obr. 2: Monoklonálna gamapatia s deficitom albumínu pri multipnom myelóme *Zdroj obrázky: Laboklin*

Zvýšený metabolizmus v nádorovom tkanive, a s tým spojená rýchla bunková proliferácia, vedú k zvýšenej tvorbe LDH. Vysoké koncentrácie LDH v krvi psov môžu naznačovať zhubné nádorové ochorenia. Čo je však pravdepodobne významnejšie, je fakt, že zvýšenie LDH u pacientov s lymfómom podstupujúcich liečbu môže naznačovať recidívu.

Hyperkalcémia spojená s nádorom môže byť spôsobená mnohými typmi nádorov. Najbežnejšie typy nádorov spojené s hyperkalcémiou sú lymfóm, mnohopočetný myelóm, tymóm a karcinóm análnych včkov. Parathormone related protein (PTHrP) môže hrať úlohu vo vývoji hyperkalcémie spojennej

s nádorom. Do úvahy však prichádzajú aj iné príčiny ako parathormón, zvýšené koncentrácie metabolitov vitamínu D alebo aktivita niektorých cytokínov, preto sa mnohé nádorové ochorenia spájajú s hyperkalcémiou, ale nie so zvýšením PTHrP. Okrem toho mierne zvýšené sérové koncentrácie nemusia nevyhnutne potvrdiť prítomnosť nádorového ochorenia. Vo väčšine prípadov je primárna hyperparatyreóza spôsobená adenómom prítitných teliesok.

Okrem toho môžu byť nápomocné zvýšené koncentrácie proteínov akútnej fázy (napr. C-reaktívny proteín u psov alebo sérový amyloid A (SAA) u mačiek a koní). Sú pozorované pri diseminovaných nádoroch (napr. lymfóm alebo metastatické nádory) a v prítomnosti rozsiahlej nekrózy nádoru.

Čo robiť pri podozrení na lymfóm alebo leukémiu?

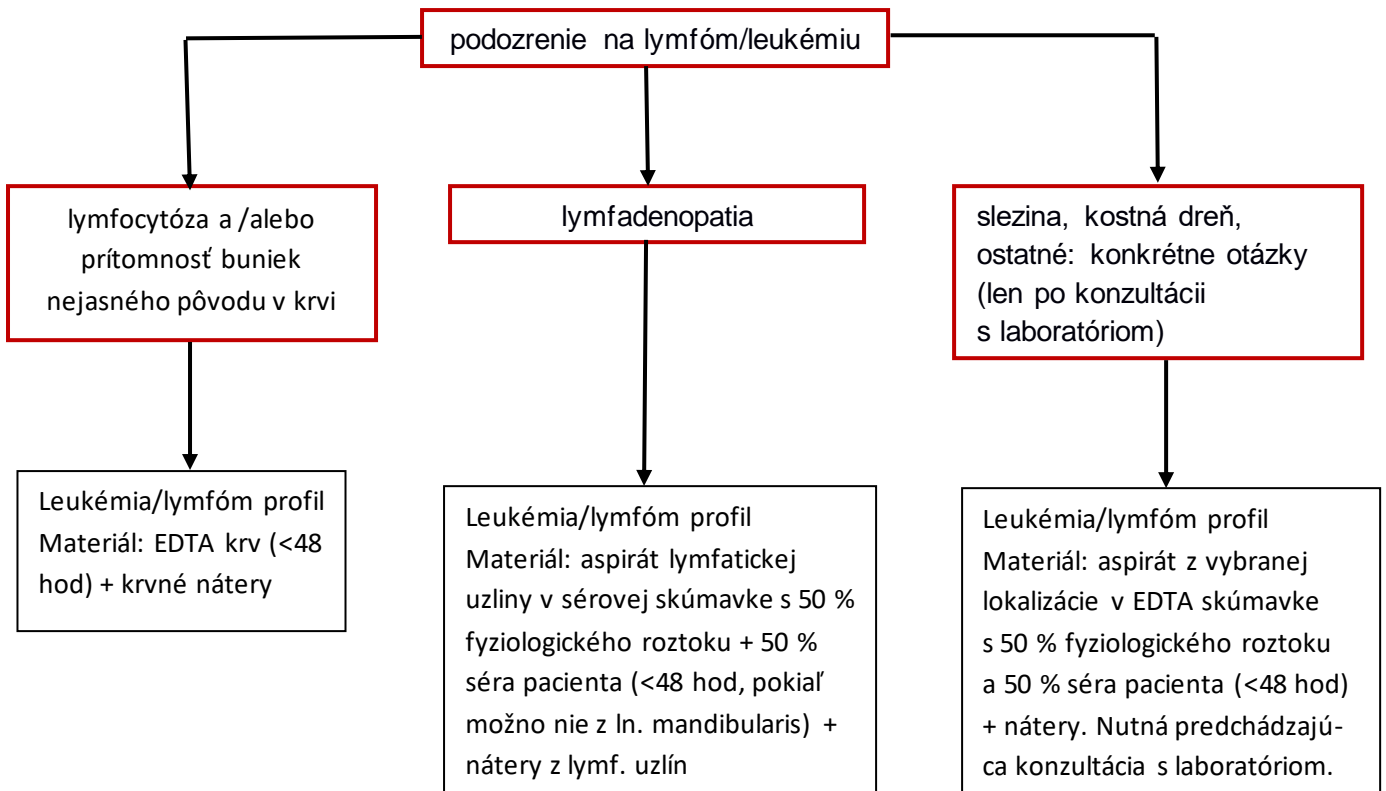
Schematický work up lymfoproliferatívnych neoplázií pomocou imunofenotypizácie a testovania klonality z tekutín sme zhrnuli do prehľadu (obr. 3).

Nádorové markery

Parametre, ktoré sa bežne označujú ako nádorové markery, sú biochemické látky ako glykoproteíny, hormóny, enzýmy, metabolické produkty alebo zložky DNA, ktoré sa vyskytujú vo zvýšenom množstve v krvi pri nádorových ochoreniach. Buď ich produkuje samotný nádor, alebo ich produkciu v telu vlastných bunkách nádor stimuluje. Môžu alebo nemusia byť špecifické pre jeden typ nádoru. Je potrebné si uvedomiť, že aj benígne ochorenia môžu viesť k zvýšeniu klasických nádorových markerov. Pozitívne nálezy je nutné vždy odlíšiť najmä od zápalových ochorení. Jediná abnormálna hodnota nikdy nie je dôkazom neoplázie.

Využitie uvedených nádorových markerov je potrebné vnímať predovšetkým v kontexte monitorovania a odhadu rizika recidívy. Pred začatím liečby má zmysel určiť základnú hodnotu.

Optimálne využitie imunofenotypizácie a PARR pri podozrení na leukémiu/lymfóm u psov a mačiek



Obr. 3: Schématické znázornenie diagnostického postupu pri podozrení na lymfóm alebo leukémiu

Zdroj: Laboklin

Tymidínkináza (TK-1)

TK-1 je enzým zapojený do zabudovania aminokyseliny tymidínu do DNA. Koncentrácia v krvi poskytuje informácie o deliacej činnosti buniek. Referenčné hodnoty existujú pre psov, mačky, morčatá a kone.

TK-1 je zvýšená najmä pri hematopoetických nádoroch. Okrem toho sú vysoké koncentrácie spojené s kratším časom prežitia u psov s lymfómom. TK-1 je vhodná aj na sledovanie terapie a včasnú detekciu recidív lymfoproliferatívnych ochorení. Pri lymfómoch psov môže k zvýšeniu dôjsť niekoľko týždňov pred klinicky viditeľnou recidívou.

Alfa-1-fetoproteín (AFP)

AFP je glykoproteín, ktorý sa tvorí u embrya v žltkovom vaku, pečeni a gastrointestinálnom trakte a funguje ako transportný proteín (podobne ako albumín). Po narodení sa

produkuje len v malom množstve v pečeni a črevách. AFP je zvýšený u psov s lymfómami a nádormi mastocytov. U ľudí sa AFP používa na diagnostiku hepatocelulárneho karcinómu a predpovedanie jeho prognózy. Pretože koncentrácia AFP v sére psov s hepatocelulárnym karcinómom je vyššia v porovnaní s inými ochoreniami pečene, môže byť užitočným nástrojom na diagnostiku a sledovanie hepatocelulárneho karcinómu u psov. Je však potrebné poznamenať, že v individuálnych prípadoch môže byť AFP zvýšený aj pri benígnych ochoreniach pečene, ako je hepatocelulárny adenóm, zápalové ochorenia alebo chronická hepatopatia a štúdií je málo. AFP by sa malo považovať za možnú užitočnú zložku komplexnej diagnostiky.

Karcinoembryonálny antigén (CEA)

CEA je tiež glykoproteín a je súčasťou žľazového tkaniva. Zvýšené sérové koncentrácie

nachádzame pri zápalových alebo malígnych zmenách v týchto tkanivách. V humánnej medicíne sa používa ako užitočný marker rakoviny pľúc, hrubého čreva, prsníka, vaječníkov a prostaty. Tam má tiež prognostickú hodnotu, najmä pri črevných nádoroch. U psov sú k dispozícii štúdie na rakovinu mliečnej žľazy, žalúdka, pankreasu a priedušiek. Použitie u psov je v súčasnosti obmedzené najmä na doplnkovú diagnostiku a sledovanie recidív alebo metastáz.

Nukleozómy

Nukleozóm je podjednotka chromozómu v jadre buniek. DNA je omotaná okolo tzv. histónových proteínov. Tieto históny sa vo zvýšenej miere uvoľňujú, keď bunky odumierajú, a je možné ich zistiť v krvi. Komerčne dostupný Nu.Q®Test bol vyvinutý pre humánnu medicínu a hodnotený na použitie u psov. Dobrá citlivosť bola zdokumentovaná na detekciu diseminovaných a agresívnych nádorov, ako sú lymfómy, histiocytárne sarkómy a hemangiosarkómy, zatiaľ čo niektoré solídne lokalizované nádory (ako sú sarkómy mäkkých tkanív) vykazovali menej často pozitívne výsledky. Je dôležité poznamenať, že nukleozómy/históny voľne cirkulujúce v krvi psov sú tiež zvýšené pri zápalových ochoreniach a po traume. Napríklad u psa s horúčkovitým ochorením test nerozlišuje medzi neoplastickými a zápalovými/infekčnými príčinami. Je navrhnutý čisto ako skrínigový test pre klinicky zdravých psov.

Genetické riziko nádorov a mutácie

Testovanie zárodočných mutácií sa v bežnej reči často označuje ako genetické testovanie. Odhaľuje dedičné genetické chyby, ktoré vedú k zvýšenému riziku vzniku niektorých nádorových ochorení. Týmto spôsobom je možné v rámci skrínigových vyšetrení určiť nádorové riziko pre jednotlivého psa. Aktuálne Laboklin ponúka genetické testy na renálny cystadenokarcinóm s asociovanou dermatofibrózou u nemeckého ovčiaka, familiárny folikulárny karcinóm štítnej žľazy u nemeckého dlhosrstého stavača a genetický test na skvamocelulárny karcinóm prsta u čierneho pudla a čierneho veľkého bradáča.

Okrem týchto existuje ešte test na histiocytárny sarkóm u bernského salašnického psa, ktorý Laboklin neponúka.

Okrem zárodočných mutácií sa môžu vyskytnúť aj mutácie v somatickej línii. BRAF je proteín podieľajúci sa na normálnom raste buniek. Zapína sa alebo vypína rôznymi bunkovými signálmi. Mutácia v géne BRAF vedie k nadmernej aktivácii a nekontrolovanému rastu postihnutého tkaniva. U psov môže detekcia mutácie BRAF s vysokou špecifickosťou odlíšiť karcinóm močového mechúra, uretry a prostaty od benígnych proliferácií. Vyšetrenie prítomnosti mutácie BRAF sa vykonáva z bunkového materiálu. Keďže test možno vykonať aj na bunkových aspirátoch (získaných technikou odsávania cez katéter) alebo na bunkách v močovom sedimente, je to menej invazívna možnosť na objasnenie nálezov, ktoré sú podozrivé z nádorov. Pozitívny výsledok je veľmi špecifický, ale negatívny nádor nevylučuje. Príčinou falošne negatívnych výsledkov môže byť príliš málo materiálu bohatého na bunky alebo nádor bez mutácie. Okrem toho existuje aj možnosť stanovenia „copy number alterations“ (CNA), ktoré sú pri uroteliálnych karcinómoch výrazne zmenené v porovnaní s normálnymi, benígnymi alebo zápalovými zmenami močového mechúra.

Záver

Na záver musíme povedať, že diagnostika nádorov sa skladá z mnohých častí ako mozaika. V závislosti od prípadu sa musia vykonať ďalšie vyšetrenia, ako sú zobrazovacie postupy, cytologické alebo histologické vyšetrenia.

*Sophie Burde, Dr. Katrin Törner,
PD Dr. Heike Aupperle-Lellbach*

Spektrum vyšetrení k téme

Diagnostika tumorov malá/veľká
Tymidínkináza
CEA
AFP
BRAF a BRAF comp.
Klonalita lymfocytov (PARR)
Leukémia imunofenotypizácia
Leukémia/lymfóm profil

Literatúra

Aupperle-Lellbach H, Grassinger J, Hohloch C, Kehl A, Pantke P (2018): Diagnostische Aussagekraft der BRAF-Mutation V595E in Urinproben, Ausstrichen und Biptaten beim kaninen Übergangszellkarzinom. Tierärztl. Prax Ausg K; 46: 289-295.

Aupperle-Lellbach H, Kehl A, de Brot S, van der Weyden L (2024): Clinical Use of Molecular Biomarkers in Canine and Feline Oncology: Current and Future. Vet. Sci; 11 (5): 199.

Boye P, Floch F, Serres F, Geeraert K, Clerson P, Siomboing X, Bergqvist M, Sack G, Tierny D (2019): Evaluation of serum thymidine kinase 1 activity as a biomarker for treatment effectiveness and prediction of relapse in dogs with non-Hodgkin lymphoma. J Vet Intern Med; 33 (4): 1728-1739.

Flory A, Kruglyak KM, Tynan JA, McLenan LM, Rafalko JM, Fiaux PC, Hernandez GE, Marass F, Nakashe P, Ruiz-Perez CA et al. (2022): Clinical validation of a next-generation sequencing-based multi-cancer early detection „liquid biopsy“ blood test in over 1,000 dogs using an independent testing set: The CANcer detection in dogs (CANDiD) study. PLoS One; 17 (4): e0266623.

Kehl A, Aupperle-Lellbach H, de Brot S, van der Weyden L (2024): Review of molecular technologies for investigating canine cancer. Animals; 14: 769.