

TUMORSKI BILJEZI U DJEČJOJ ONKOLOGIJI - IZ LABORATORIJA ZA KLINIČKU PRIMJENU

JASNA LENIČEK KRLEŽA*

U radu je dan pregled danas dostupnih informacija o upotrebi tumorskih biljega koje se temelje na preporukama i smjernicama međunarodnih i nacionalnih stručnih skupina i organizacija a koje su objavile kliničke i laboratorijske smjernice temeljene na dokazima u dijagnostici i upravljanju malignim bolestima. Brz napredak tehnologije kao i razvoj znanosti ima za posljedicu intenzivno otkrivanje potencijalno novih tumorskih biljega. Obzirom da primjena u kliničkoj praksi treba biti i razumna i svrsishodna, dodatna ispitivanja su pokazala da je njihova klinička vrijednost jednaka ili manja od već uspostavljenih tumorskih biljega. Naglasak je na laboratorijskim preporukama i smjernicama koje obuhvaćaju osim racionalne upotrebe tumorskih biljega i zahtjeve kontrole kvalitete. Spoznaja i svijest o tome važna je za optimalnu upotrebu i pravilnu interpretaciju u kliničkoj praksi. Na taj način cjelokupna skrb bolesnika s malignom bolesti će se značajno poboljšati i biti financijski opravdana. U tom kontekstu, prikazani su najčešće korišteni tumorski biljezi koji se koriste u kliničkoj praksi dječje onkologije.

Deskriptori: TUMORSKI BILJEZI, DJETE, LABORATORIJSKA MEDICINA, KLINIČKA PRIMJENA, KONTROLA KVALITETE

UVOD

Učestalost i incidencija novotvorina dječje dobi

U razvijenim zemljama, pa tako i u Hrvatskoj, drugi najčešći uzrok umiranja djece i mladih su novotvorine, a najčešće su mijeloične i limfatične leukemije, slijede limfomi te zloćudne novotvorine mozga, kosti i drugih organa (1). Prve, detaljne podatke o učestalosti, smrtnosti, preživljenju, te epidemiologiji i faktorima rizika kod djece i adolescenata sa malignim bolestima, objavio je Nacional Cancer Institute (NCI) u monografiji Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) iz 2007. godine i dostupni su na mrežnim stranicama

*Klinika za dječje bolesti Zagreb
Klinička jedinica za medicinsku biokemiju u pedijatriji

Adresa za dopisivanje:
Dr. sc. Jasna Leniček Krleža, spec. med. Biochem.
Klinika za dječje bolesti Zagreb
Klinička jedinica za medicinsku biokemiju u pedijatriji
10000 Zagreb, Klaićeva 16
E-mail: jlenicek@gmail.com

(http://seer.cancer.gov/csr/1975_2008). Prema ovim podacima, između 12 glavnih vrsta zloćudnih novotvorina u djetinjstvu, leukemije i tumori središnjeg živčanog sustava čine više od polovice novih slučajeva. Otprilike jedna trećina tumora dječje dobi su leukemije, s najvećom učestalošću akutne limfoblastične leukemije, dok najčešće solidne tumore predstavljaju tumori mozga (gliomi i meduloblastomi). Ostali solidni tumori (neuroblastomi, Wilms tumori i sarkomi poput rhabdomyosarcoma i osteosarkoma) imaju manju učestalost. Incidencija zloćudnih tumora djece u proteklih 20 godina je u stalnom porastu, ali u usporedbi s incidencijom odraslih koja je 20-30 puta veća, tumori dječje dobi su još uvijek relativno rijetke. Postotak smrtnosti djece s malignom bolesti se smanjuje sa porastom stope 5-godišnjeg preživljavanja (58,1%-1975., 79,6%-2004.) (2).

Upravljanje bolesnikom - djetetom sa malignom bolesti

Uzroci malignih bolesti kod djece još uvijek su u velikoj mjeri nepoznanica. Od malignih bolesti odraslih razlikuju se po

kliničkoj slici, lokalizaciji, patohistološkoj dijagnozi i prognozi. Dva su tipična porasta incidencije malignih bolesti djece: u ranom djetinjstvu i u adolescenciji. Proces rasta i razvoja stanične diferencijacije je izrazito brz tijekom prve godine života te je incidencija malignih bolesti u tom razdoblju najveća. Tada su najčešći embrionalni tumori poput neuroblastoma, nefroblastoma, retinoblastoma, rabdomiosarkoma i meduloblastoma. U dobi od dvije do pet godina najveću incidenciju imaju akutne leukemije, non-Hodgkin limfomi i gliomi, dok je pubertet razdoblje sa intenzivnim rastom i hormonalnim promjenama okarakteriziran porastom učestalosti koštanih tumora, Hodgkinove bolesti, gonadnih zametnih tumora i karcinoma. U prijelaznom razdoblju prema odrasloj dobi (adolescenciji) nalazimo maligne bolesti karakteristične i za dječju dob i za odraslu dob (3, 4).

Za postavljanje dijagnoze, liječenje i praćenje djeteta s malignom bolesti potrebna je dugogodišnja edukacija i iskustvo liječnika uz primjenu razvijene tehnologije. Klinička prezentacija malignih tumora dječje dobi je varijabilna i često

teško prepoznatljiva. Nespecifični znakovi poput umora, bljedila, vrućice, promjena u neurološkom statusu, povećanih limfnih čvorova, te lokaliziranih ili generaliziranih bolova navode na sumnju u postojanje maligne bolesti (3, 4). Klinička praksa je donošenje odluka. Odluka ovisi o znanju, stavovima i vještini liječnika, ali i o raspoloživosti i dostupnosti dijagnostičkih testova. Rane devedesete godine prošlog stoljeća obilježene su uvođenjem medicine temeljene na dokazima koja uvodi standardizirane upute za rad koje s ciljem smanjena varijacije u liječenju te postaju jedini kriterij za donošenje medicinskih odluka (5, 6).

Istovremeno laboratorijska medicina temeljena na dokazima pokušava odgovoriti na samo jedino pitanje: "Je li određena laboratorijska pretraga bolesniku korisna ili ne?" te vodi krajnjem cilju: smislenom korištenju i interpretaciji rezultata laboratorijskih pretraga (7, 8).

Tumorski biljezi

Definicija tumorskog biljega danas glasi: tumorski biljeg je molekula, tvar ili proces koji se mijenja u prekanceroznim ili kanceroznim uvjetima a moguće ju je kvantitativno ili kvalitativno mjeriti (5, 6). Tumorski biljezi se koriste za: procjenu rizika, probiranje, pomoć kod dijagnoze, prognozu, praćenje terapije i pojave recidiva. Zahtjevi kojima bi trebao udovoljiti tumorski biljeg su: specifičnost (>95%) i osjetljivost (>50%), optimalna pozitivna i negativna prediktivna vrijednost, dobra korelacija s tumorskom masom, pouzdanost i reproducibilnost, primjerena cijena i reagensi prihvatljivi za okolinu (7). Ne postoji dijagnostička pretraga koja bi jasno i dovoljno rano pokazala boluje li netko od zloćudne bolesti ili ne. Posljednjih godina, mnogobrojne spoznaje na području biokemije zloćudnih tumora dovele su do značajnog pomaka, a time i do novih dijagnostičkih mogućnosti.

Promijenjen metabolizam (Slika 1) tumorske stanice ima za posljedicu fiziološke promjene (Slika 2) koje određuju maligni rast jer stanicu čine neovisnom o staničnim signalima izvana, čine ju neosjetljivom na inhibicijske signale rasta te je poremećen proces apoptoze. Sve to

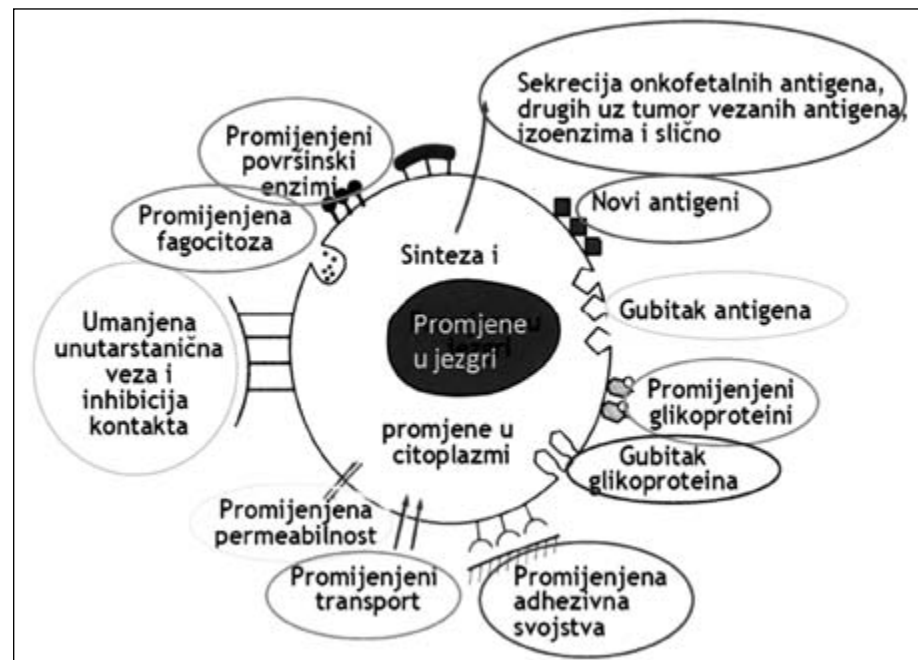
Promjene u sintezi DNA:	Pojačana sinteza DNA u staničnoj jezgri i mitohondrijima Pojačana sinteza nukleotida Poremećaj replikacije mitohondrijske DNA
Promjene u sintezi RNA:	Pojačana sinteza RNA Pojava mRNA za onkofetalne proteine Promijenjena metilacija RNA Pojačani metabolizam poliamina
Promjene u metabolizmu proteina:	Pojačana sinteza proteina Promjena proteinskog sastava u stanici (fetalni proteini) Promjene proteina stanične jezgre Promijenjena fosforilacija proteina Pojačano otpuštanje proteolitičkih enzima (npr. katepsin B)
Disanje i oksidacijska fosforilacija, osiguranje energije:	Smanjen kapacitet disanja stanica Promijenjen transport Ca ²⁺ Smanjena aktivnost peroksid-dismutaze Pojačana aerobna glikoliza i povećane aktivnosti glikolitičkih enzima Pojačan pentozni put razgradnje glukoze i aktivnost G-6-PD
Promjene u staničnoj membrani:	Promijenjen sastav stanične membrane i antigenska slika Promijenjena aktivnost enzima vezanih za membranu Pojačani procesi transporta kroz membranu Smanjenjena adhezivnost stanica Gubitak inhibicije rasta Pojačana aglutinacija

Slika 1.
Metaboličke promjene u tumorskim stanicama

dovodi do neograničenog replikacijskog potencijala, invazije u okolno tkivo i metastaziranje (8).

Posljedica promjena je stvaranje visoko i niskomolekularnih spojeva koji se ne nalaze u zdravih osoba. One se luče u cirkulaciju (ili druge tjelesne tekućine)

ili su prisutne kao antigeni na površini same tumorske stanice. Sekundarno se mogu lučiti spojevi iz stanica organizma djelovanjem tumora ili metastaza na okolno tkivo. Maligni rast često prati upalni proces te u serumu rastu koncentracije reaktanata akutne faze. Na taj način, širok raspon različitih molekula se



Slika 2.
Glavne fiziološke promjene tumorske stanice

Tablica 1. Razina dokaza (LOE) i snaga preporuke (SOR) za kliničku primjenu tumorskih biljega	
Razina dokaza (LOE)	Kriteriji
I	Dokaz iz prospektivnog kontroliranog istraživanja posebno oblikovanog za ispitivanje tumorskog biljega ili dokaz iz meta-analize, pooled analiza ili pregleda istraživanja razine II ili III
II	Dokaz iz prospektivnog istraživanja hipoteze o terapiji i koje nije posebno oblikovano za ispitivanje korisnosti tumorskog biljega
III	Dokaz iz velikih prospektivnih istraživanja
IV	Dokaz iz malih retrospektivnih istraživanja
V	Dokaz iz malih pokusnih istraživanja
Mišljenje stručnjaka, Snaga preporuke (SOR)	
A - Jaka	Nije vjerojatno da će sljedeće ispitivanje promijeniti povjerenje u procjenu učinka
B - Umjerena	Vjerojatno će sljedeće ispitivanje imati važan utjecaj na povjerenje u procjenu učinka i vjerojatno će promijeniti procjenu
C - Mala	Velika vjerojatnost da će sljedeće ispitivanje imati veliki utjecaj na povjerenje u procjenu učinka i vjerojatno će promijeniti procjenu
D - Vrlo mala	Bilo koja procjena učinka je vrlo nepouzdana
Napomena: Većina istraživanja tumorskih biljega su praktična ispitivanja u kojima su korišteni dostupni uzorci. Takva istraživanja (LOE III) su korisna za donošenje hipoteze, ali se ne mogu prihvatiti kao činjenica.	

uključuje u pojam "tumorski biljeg" koji je tradicionalno označavao molekule proteina ili glikoproteina. Zbog toga se danas daje prednost terminu "biomarkeri". U prilog novoj terminologiji ide i sve veća upotreba različitih vrsta uzoraka u kojima se biljezi određuju, pa su danas u širokoj upotrebi urin, likvor, tkivo (7, 8, 16). Najjednostavnija podjela tumorskih biljega temelji se na kemijskoj strukturi ili biološkoj funkciji: 1) proteini (transportni/pohranjujući), 2) antigeni ili membranski receptori 3) enzimi, 4) hormoni i 5) genski biljezi.

Metode određivanja tumorskih biljega dijele se na četiri osnovne skupine: 1) biokemijske metode, 2) molekularno-dijagnostičke metode u domeni medicinske biokemije, 3) citološke metode u domeni citologije i imunologije te 4) histološke metode u domeni patologije. Spoznaje o biokemiji tumorskih stanica kao i osjetljivost i specifičnost metoda koje se danas koriste, omogućile su spoznaju o mnogim potencijalnim tumorskim biljezima. Ti biljezi se još uvijek istražuju, a neki od njih nakon istraživanja su pokazali da su jednako upotrebljivi kao i oni koji se već koriste.

Preporuke i smjernice za optimalnu kliničku upotrebu tumorskih biljega

Navedeni razlozi su potaknuli međunarodne i nacionalne stručne organizacije da odrede kliničke i laboratorijske smjernice temeljene na dokazima za dijagnostiku malignih bolesti. Među njima su i praktične smjernice s preporukama za upotrebu tumorskih biljega u kliničkoj praksi NACB (eng. *National Academy of Clinical Biochemistry*) koje su nastale razvojem već ranije objavljenih smjernica NACB i EGTM (eng. *European Group on Tumor Markers*) (9). Svim preporukama za upotrebu tumorskih biljega pripisana je razina dokaza (LOE, engl. *Level of evidence*) za njihovu kliničku primjenu prema TMUG sustavu (engl. *Tumor Marker Utility Grading system*) kao i snaga preporuke (SOR, engl. *Strenght of recommendation*) (Tablica 1).

NABC preporuke i smjernice za optimalnu kliničku upotrebu tumorskih biljega kod specifičnih maligniteta dostupne su na mrežnim stranicama AACC (American Association for Clinical Chemistry) (<http://www.aacc.org/EXPIRED/TumorMarkers>), koja se kontinuirano obnavlja i nadopunjuje. Preporuke i smjernice za kliničku upotrebu

tumorskih biljega u dječjoj onkologiji nisu objavljene. U Tablici 2 prikazani su tumorski biljezi koji se najčešće koriste u dječjoj onkologiji, a grupirani su prema bolesti (7).

Praktične smjernice i preporuke za upotrebu tumorskih biljega od NACB-a obuhvaćaju preporuke za sve trenutno dostupne biljege prema specifičnim malignitetima uz naznaku snage dokaza, preporuke za upotrebu novih tehnologija u dijagnostici malignih bolesti i opće zahtjeve za kvalitetom koje uključuju: prijeanalitičke (izbor biljega, vrsta uzorka, vrijeme uzorkovanja, stabilnost), analitičke (standardizacija metode, kontrola kvalitete, interferencije) i poslijeeanalitičke zahtjeve (referentni intervali, interpretacija) (9). Ovi zahtjevi su iznimno važni i u nastavku su prikazani tek oni kojih trebaju biti svjesni i kliničari i laboratorijski stručnjaci za pravilnu upotrebu i interpretaciju tumorskih biljega.

Izbor tumorskih biljega: temelji se na lokalno dogovorenim protokolima. Najučinkovitije su se pokazale skraćene verzije preporuka koje su prilagođene lokalno dogovorenim protokolima iz prakse (10). Vrijeme uzorkovanja: bilo koje doba dana (nema dokaza o dnevnim varijacijama većine tumorskih biljega).

Tablica 2. Najčešće korišteni tumorski biljezi grupirani prema bolesti te njihova uloga u dijagnozi i upravljanju pedijatrijskim onkološkim bolesnicima						
Bolest	Tumorski biljeg	Dijagnoza	Prognoza	Probir	Praćenje	Nedefinirano
Akutna limfatička leukemija	LDH		*		*	
	IL-2 receptor	*	*			
	tDT	*				
	GD3	*				*
Non-Hodgkin limfom	LDH		*			
	IL-2 receptor	*	*			
	β-2-mikroglobulin		*		*	
	CRP		*		*	
Hodgkin limfom	CEA				*	
	Feritin		*			
	β-2-mikroglobulin		*		*	
Neuroblastom	CRP		*		*	
	Kateholamini	*	*	*	*	
	Cistationin	*	*			
	Feritin		*			
	NSE		*		*	
	CEA				*	
Wilm's tumor	GD2	*			*	*
	Hijaluronska kiselina	*			*	
	Eritropoietin	*			*	
Hepatoblastom	CEA				*	
	AFP	*			*	
	HCG	*			*	
Tumori zametnih stanica	Feritin					
	AFP	*				
Sarkomi mekih tkiva	HCG	*			*	
	CK					*
Osteosarkom	TAA					*
	AP		*			
Ewing's Sarkom	TAA					
	LDH		*			
SŽS Tumori	NSE	*				
	Poliadini	*			*	

Legenda: LDH-laktat dehidrogenaza; IL-2 receptor- interleukin-2 receptor; tDT- terminalna deoksinukleotidil transferaza; GD-gangliozidi; CRP- C-reaktivni protein; CEA- karcionembrionalni antigen; AFP- alfa-fetoprotein; HCG-humani korionski gonadotropin; CK- kreatin kinaza; TAA- tumorski antigen; AP- alkalna fosfataza

- Bazalne vrijednosti: predstavljaju koncentracije tumorskih biljega prije bilo kojeg tretmana, a važne su zbog izbjegavanje mogućih interferencija i interpretacije slijedećih rezultata.

- Vrsta uzorka: ovisi o metodi kojom se tumorski biljeg određuje. Treba slijediti upute proizvođača reagensa. Obveza je laboratorija dati jasnu uputu o vrsti uzorka i vrsti epruvete u koju uzorak treba uzeti.

- Čuvanje uzorka seruma ili plazme: kratkotrajno čuvanje na +4 °C, dugotrajno na -30 °C ili dugotrajnije na -70 °C.

- Stabilnost pri zamrzavanju i odmrzavanju: ovisi o tumorskom biljegu i samom uzorku. Na određivanje AFP, CEA i CA125 više utječe dugotrajno čuvanje nego često zamrzavanje i odmrzavanje, dok je CA19-9 relativno nestabilan u oba slučaja. Toplina i visoka temperatura okoline može utjecati na rezultate (HCG može disocirati na slobodne alfa- i beta-podjedinice).

- Klinička stanja: Općenito vrijedi da jetrene i bubrežne bolesti, upala i infekcija te neke benigne bolesti mogu prouzročiti povećane koncentracije tumorskog biljega.

- Prolazno povećanje koncentracija tumorskog biljega može se pojaviti nakon kemoterapije i alternativnih oblika liječenja. Ispitane interferencije pojedinih lijekova kao i podaci o križnoj reaktivnosti i specifičnosti antitijela sastavni su dio propisa proizvođača reagensa te dostupni na upit laboratoriju (9, 13).

- Interferencije: Za procjenu interferencija potrebna je sigurnost da su svi zahtjevi prijeanalitičke faze zadovoljeni, volumen uzorka treba omogućiti procjenu interferencije (npr. heterofilnih i drugih antitijela, "prozonski" efekt). O interferencijama u imunološkim metodama određivanja može se pronaći u dodatnoj literaturi (11, 12).

- Kratka klinička informacija koja ukazuje na malignost i/ili fazu liječe-

nja (prije/poslije operacije/kemoterapije) treba pratiti uzorak.

- Referentni intervali tumorskih biljega su važni prije tretmana, nakon čega pacijentova vlastita "bazalna vrijednost" predstavlja najvažniju referentnu točku za interpretaciju svih daljnjih rezultata tumorskog biljega. Promjene i unutar referentnog intervala su značajne. Značajna promjena varira među tumorskim biljezima, uglavnom zbog razlika njihovih bioloških varijacija. Općenito, potvrđeno povećanje ili smanjenje od 25% obično se smatra klinički značajnim. Svako stalno povećanje uz istu metodu određivanja mora se tretirati kao mogući recidiv.

- Poluživot (t/2) je definiran kao vrijeme potrebno da se koncentracija tumorskog biljega smanji za 50% nakon potpunog uklanjanja tumorskog tkiva (npr. t/2 za AFP je 4-5 dana, CA125: 5-10 dana, CA19-9: 4-8 dana, CA15-3: 5-7 dana, CEA 7 dana, HCG 12-20 sati, LD 10-54 sati, NSE 1 dan) (13). Kemoterapija produžava t/2 tumorskog biljega (13). Dinamika određivanja tumorskih biljega definira se s t/2, distribucijom i kinetikom eliminacije (14). Prečesto određivanje i procjena tumorskog biljega može krivotvoriti tijek bolesti. Opće smjernice uspješnosti terapije definiraju vremenski razmak između serijskih određivanja (5-6 t/2 tumorskog biljega) kada padaju na razinu normalnih vrijednosti. U slučaju višestrukih tumorskih biljega, vrijeme procjene učinka terapije se određuje prema 5-6 t/2 biljega sa najdužim vremenom poluživota. Ovo razdoblje može biti duže u slučaju liječenja kemoterapijom ili radioterapijom.

- Laboratorijski nalazi trebaju sadržavati korištenu metodu, a na upit liječnika trebaju omogućiti kumulativne rezultate tumorskog biljega što olakšava interpretaciju (9, 13).

- Preporuke i smjernice NACB-a (9) su prihvaćene od strane Hrvatske komore medicinskih biokemičara i dio su njene arhivirane dokumentacije (15).

Cilj ovog preglednog rada je upoznati liječnike o preporukama za korisnu upotrebu tumorskih biljega. Na toj osnovi predstavljene su mali broj biokemijskih tumorskih biljega koji se najčešće rutinski koriste u dječjoj onkologiji: a-fetoprotein, b-korionski gonadotropin, feritin i neuron-specifična enolaza.

a-Fetoprotein (AFP)

AFP je glikoprotein koji stvara jetra, yolk sac i gastrointestinalni trakt tijekom fetalnog razvoja zbog čega je njegova koncentracija u fetalnoj krvi visoka. Prolaskom kroz placentu, normalno se nalazi u krvi trudnica. Serumske koncentracije AFP dosežu svoj maksimum u 13. gestacijskom tjednu, kod rođenja padaju na približno 30.000 ng/mL, nakon 6 mjeseci života na koncentracije ispod 50 ng/mL, a oko prve godine života dostižu vrijednosti odraslih (< 15 ng/mL).

Povećana koncentracija kod djece i odraslih upućuje na postojanje tumora. Dobro je dokumentirano povećanje AFP kod pedijatrijskih bolesnika sa hepatoblastomom, hepatocelularnim karcinomom, gonadalnim i ekstragonadalnim tumorima zametnih stanica. 70-80% pacijenata s hepatocelularnim karcinomom i gotovo sva djeca s hepatoblastomom imaju povišene koncentracije AFP i mogu poslužiti za probir rizičnih skupina. Povišene koncentracije nalaze se i kod djece sa yolk sac tumorom. Vrijeme i postotak pada AFP korisni su prediktori ishoda bolesti.

Vrijednosti AFP kod djece sa tumorima jetre ili zametnih stanica dosežu koncentracije od 1.000 do 100.000 ng/mL, nerijetko mogu biti i veće od 200.000 ng/mL, a zabilježene su i koncentracije veće od 700.000 ng/mL. Postoje dokazi koji sugeriraju da opseg glikolizacije AFP može koristiti u razlikovanju AFP malignog ili benignog porijekla. Opseg glikolizacije ovisan je o koncentraciji glikozilaze u hepatocitima. Iako je zabilježena potpuna glikolizacija AFP u benignim jetrenim neoplazmama, smatra se da je opsežnija glikolizacija AFP povezana sa malignim tumorima. Povećane koncentracije AFP se mogu naći kod hepatitisa, ciroze, upalnih bolesti crijeva te nekih rijetkih bolesti (tirozinnoza, ataxia telangiectasia).

Serumske koncentracije drastično padaju nakon resekcije hepatoblastoma i gonadalnog zametnog tumora. Postoperativno povećanje AFP je moguće kao odraz regeneracije normalnog jetrenog tkiva, a moguće je i nakon kemoterapije zbog lize tumorskih stanica. Povećanje serumskog AFP u praćenju bolesti moguće je prije pojave kliničkih znakova te je znak relapsa bolesti. Mali udio djece s malignim bolestima jetre pokazala su povezanost sa prijevremenim pubertetom. U tim situacijama, kada su povećane koncentracije AFP i HCG, AFP se pokazao kao bolji pokazatelj aktivne bolesti. Vrijeme poluživota kreće se oko 4-5 dana. Za vrijeme kemoterapije moguće je produljenje vremena poluživota i na >13 dana, a neki autori povezuju i produljenje t/2 sa preživljenjem (7, 9, 13, 16-20).

b-humani korionski gonadotropin (bHCG)

HCG je glikoprotein građen od α i β podjedinice. α -podjedinica strukturno je identična podjedinici tireotropina, luteinizirajućeg i folikulostimulirajućeg hormona, dok je β -podjedinica imunološki različita i koristi se u imunokemijskim metodama pri čemu nema unakrsne reakcije sa spomenutim hormonima. HCG stvaraju trofoblastične stanice placente. Njegova serumska koncentracija je ispod 5 IU/mL, osim kod djece do 1 godine starosti i trudnica.

Povišene vrijednosti tog biljega nalazimo u krvi bolesnika sa trofoblastičnim tumorom (100%), tumorom testisa (70%), jajnika te zametnih stanica. Poluživot serumskog HCG je 12-20 sati, i kao takav je koristan u praćenju odgovora na terapiju. Nakon odstranjenja tumora očekuje se ubrzani pad koncentracije. Visoke koncentracije biljega nakon provedene terapije loš su prognostički znak. Može biti povišen i kod nekih nemalignih bolesti (ciroza jetre) ali i kod ovisnika o marihuani (7, 9, 13, 16-20).

Feritin

Feritin je kompleks proteina i željeza koji se sastoji od 24 polipeptidna lanca poznata kao apoferitin. Nalazi se

u parenhimalnim i retikuloendotelnim stanicama jetre, slezene i koštane srži. U serumu se nalazi u niskim koncentracijama. Glavni je protein-prenosnik željeza i osjetljiv indikator pohranjenog željeza u organizmu. Povišene koncentracije u serumu nalazimo kada je organizam preopterećen željezom (hemokromatoza i hemosideroza), u kroničnim upalnim bolestima (kronične infekcije, reumatoidni artritis, kronične bubrežne bolesti) te u upalnim bolestima jetre koje prate nekrozu stanica jetre (hepatitis). Reaktant je akutne faze. Tijekom akutne upale, metabolizam željeza je reorganiziran od strane primarnih posrednika u odgovoru akutne upale (citokini, α -čimbenik nekroze tumora, interleukin-6, interleukin-1). Tada se koncentracije feritina povećavaju brzo i paralelno s CRP-om. Oporavkom naglo pada koncentracija CRP koje ne prati paralelno i pad koncentracije feritina, vjerojatno zbog t/2 CRP koji je 5-7 sati u odnosu na t/2 feritina (30 sati).

U nekim malignitetima feritin stvaraju tumorske stanice te posljedično u serumu nalazimo povišene koncentracije feritina. Povećane koncentracije feritina su opisane kod djece s neuroblastomom, leukemijama, Hodkin's limfomom i hepatocelularnim karcinomom. Najveća klinička upotreba je kod neuroblastoma, Hodkin's limfoma i tumora jetre.

U pacijenata sa neuroblastomom stadija IVS, koncentracije feritina su uglavnom normalne i kada je bolest aktivna. Nasuprot tome, uznapredovali neuroblastom stadija III i IV, u 50% slučajeva pokazuje povišene koncentracije feritina. Kod djece s diseminiranim neuroblastomom, feritin je indikator težine bolesti, koristan je i u praćenju odgovora na terapiju, dok je prognostička vrijednost moguća i u uznapredovalom stadiju bolesti. Neuroblastom stadija III pokazuje preživljenje kod 70% bolesnika s normalnim i 23% bolesnika sa povišenim vrijednostima feritina. Stadij IV neuroblastoma sa normalnim vrijednostima feritina ima preživljenje 27% u usporedbi s 3% preživljenjem pacijenata s povišenim vrijednostima feritina.

U pacijenata sa Hodkin's limfomom, visoke vrijednosti feritina povezuju se sa

mogućim relapsom bolesti. Feritin je također koristan i u praćenju odgovora na terapiju kod pacijenata s tumorom jetre (7, 9, 13, 16-20).

Neuron specifična enolaza (NSE)

NSE je izoenzim dimeričkog glikolitičkog enzima enolaze koji katalizira pretvorbu 2-fosfoglicerata u fosfoenolpiruvat. Sastavljen je od dvije delta-podjedinice i nalazi se u živčanim, endokrinim i neuroendokrinim stanicama. Povišene vrijednosti NSE u krvi nalaze se kod neuroblastoma, meduloblastomu i retinoblastomu. Diseminirani neuroblastomi (stadij III i IV) povezani su sa povišenim koncentracijama NSE u trenutku dijagnoze i najčešće su te koncentracije ispod 100 ng/mL. Koncentracije veće od 100 ng/mL povezuju se sa lošim ishodom bolesti kod djece mlađe od 2 godine i stadijem III bolesti te kod djece sa stadijem IV i mlađom od 1 godine starosti. Istovremeno, starija djeca i/ili niži stadij bolesti sa koncentracijom NSE većom od 100 ng/mL se ne povezuju sa lošim ishodom bolesti. Kao i feritin, NSE u stadiju IVS ne pokazuje povećane koncentracije.

NSE je koristan i u praćenju odgovora na terapiju jer dobro korelira sa tumorskom masom. 24-72 sata nakon prvog ciklusa kemoterapije dolazi do privremenog porasta NSE kao rezultat raspadanja tumorskih stanica. Nakon toga slijedi pad serumskih vrijednosti (unutar tjedan dana ili do kraja prvog ciklusa terapije). Tijekom remisije bolesti, 80-90% bolesnika ima normalne vrijednosti, dok su povišene vrijednosti vezane uz relaps bolesti.

Povišene vrijednosti NSE se javljaju i u bolesnika s benignim plućnim bolestima, cerebrovaskularnim meningitisom, diseminiranim encefalitisom, spino-cerebralnom degeneracijom, cerebralnom ishemijom, cerebralnim infarktom, upalnim bolestima mozga, organskim epilepsijama, shizofrenijom. Nadalje, hemolitička anemija, zatajenje jetre, završna faza zatajenja bubrega također mogu dovesti do povišenih koncentracija NSE-a.

Izuzetno je važno zadovoljavanje uvjeta kvalitete iz prijeanalitičke faze. Na rezultate utječe produženo vrijeme odjeljivanja seruma/plazme od ugruška/stanica jer stajanjem dužim od sat vremena NSE iz eritrocita i trombocita prelaze u uzorak seruma/plazme što dovodi do lažno povišenih vrijednosti. Temperatura i višestruko zamrzavanje uzorka može utjecati na rezultate. Stabilnost uzorka je 6 sati na sobnoj temperaturi, tri mjeseca na -20 °C. Hemolizirani uzorci nisu prihvatljivi za analizu. Ostali mogući utjecaji na rezultate ovise o metodi određivanja.

Vrijeme poluživota NSE-a je 24 sata (7, 9, 13, 16-20).

Umjesto zaključka

Kada govorimo o tumorskim biljezima u dječjoj onkologiji tada postajemo svjesni svih različitosti od odrasle populacije. Heterogenost maligniteta, relativno mala učestalost, dinamičnost promjena fiziološkog sustava kroz rast i razvoj djeteta koje je uz to i specifična jedinka samo su neki od razloga što istraživanja nemaju snagu dokaza potrebnu za objavu smjernica i preporuka. Zadnjih nekoliko godina, u literaturi se mogu pronaći pregledi i mišljenja stručnjaka o upotrebi tumorskih biljega u malignitetima dječje populacije (18, 20, 21). Nadalje, zahtjevi za kontrolom kvalitete posebno su važni u dječjoj populaciji. Nerijetko je uzorak malog djeteta lipemičan, hemoliziran ili uzet iz intravenoznog sustava namjenjenog za terapiju. Nadalje, volumen krvi značajno je manji i mogućnost ispitivanja interferencija je ograničena ili onemogućena. Mogućnosti pogreške u prijeanalitičkoj fazi je daleko veća od odrasle populacije. Referentni intervali su danas ponovo nezaobilazna tema kako u medicinskim istraživanjima tako i u kliničkoj praksi, a problematika referentnih intervala u dječjoj populaciji ima dodatnu težinu. Svijest i spoznaja o mogućim interferencijama zasigurno će smanjiti pogreške i time osigurati pravilnu interpretaciju rezultata, poboljšati cjelokupnu skrb djece s malignom bolesti ali i osigurati optimalnu upotrebu tumorskih biljega u kliničkoj praksi.

Autor izjavljuje da nije bio u sukobu interesa.
Author declare no conflict of interest.

LITERATURA

1. Rodin U, Belić D. Dojenačke smrti u Hrvatskoj u 2011. godini. Izvješće za 2011 Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo. Dostupno na: http://www.hzjz.hr/publikacije/dojenacke_2011.pdf Pristup: 10. veljače 2013.
2. Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2004. Bethesda, MD: National Cancer Institute. 2007. Dostupno na: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2004. Pristup 10.veljače 2013.
3. Principles and Practice of Pediatric Oncology. Pizzo A, Poplack DG (ur). 5. izd. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia 2005.
4. Stiller CA. The epidemiology of childhood cancer. Oncogen 2004; 23: 6429-44.
5. Hayes DF, Bast RC, Desch CE, Fritsche H, Kemeny NE, Jessup JM et al. Tumor marker utility grading system: A framework to evaluate clinical utility of tumor markers. J. Natl. Cancer Inst 1996; 88: 1456-66.
6. Diamandis EP. Tumor markers: Past, present, and future, in Tumor Markers: Physiology, Pathobiology, Technology, and Clinical Applications. Eds Diamandis EP, Fritsche H, Lilja H, Chan D, Schwartz M. AACC Press, Washington, D.C 2002; 3-8.
7. Youhg G, Kaucuc KL, Reaman GH. Diagnosis and management of pediatric tumors. In: biochemical basis of pediatric disease. Steven J. Soldin SJ, Rifai N, Hicks JM (editors) 3rd edition, AACC Press, Washington 1998.
8. Raymond WR. Biochemistry of Cancer. U: Holland-Frei Cancer Medicine. 5th edition. Bast RC Jr, Kufe DW, Pollock RE, et al.(editors). Hamilton (ON): BC Decker; 2000. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20777/> Pristup: 15. veljače 2013.
9. National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory medicine practice guidelines. Use of tumor markers In clinical practice: Quality requirements. Edited by Catharine M. Surgeon CM, Diamandis EP. 2009 by American Association for Clinical Chemistry.Dostupno: http://www.aacc.org/members/nacb/LMPG/OnlineGuide/PublishedGuidelines/tumor/Documents/TumorMarkers_QualityRequirements09.pdf Pristup 15.veljače 2013.
10. Guidelines for the use of tumour markers. Duffy MJ, McGing P (editors), 4th Edition. The Association of Biochemists in Ireland 2010.
11. Dodig S. Interferencije svojstvene kvantitativnim imunokemijskim metodama. Biochemia Medica 2009; 19 (1): 50-62.

12. Leniček Krleža J. Laboratorijska medicina u pedijatriji: Interferencije laboratorijskih analiza i interpretacija laboratorijskog nalaza. Paed Croat 2012; 56: 234-8.

13. Toner GC, Geller NL, Tan C, Nisselbaum J, Bosl GJ. Serum tumor marker half-life during chemotherapy allows early prediction of complete response and survival in nonseminomatous germ cell tumors. Cancer Research 1990; 50: 5904-10.

14. Bidart JM, Thuillier F, Augereau C, Chalas J, Daver A, Jacob N et al. Kinetics of serum tumor marker concentrations and usefulness in clinical monitoring. Clini Chem 1999; 45 (10): 1695-707.

15. Preporuke i smjernice NACB-a. Tumorski biljezi u kliničkoj praksi. Dostupno na: http://www.hkmb.hr/obavijesti/arhiva2012/arhiva_2012.html Pristup 10. Veljače 2013.

16. Ricafort R. Tumor markers in infancy and childhood. Ped Review 2011; 32 (7): 306-8.

17. Sharma S. Tumor markers in clinical practice: General principles and guidelines. Indian J Med Paediatr Oncol. 2009; 30 (1): 1-8.

18. Singal AK, Agarwala S. Tumour markers in pediatric solid tumours. J Indian Assoc Pediatr Surg 2005; 10 (3): 183-91.

19. Gilbert-Barness E, Barness LA. Clinical use of pediatric diagnostic tests. 1st ed., Lippincott Williams & Wilkins 2003.

20. Sandoval JA, Malkas LH, Hickey RJ. Clinical significance of serum biomarkers in pediatric solid mediastinal and abdominal tumors. Int.J Mol Sci 2012; 13: 1126-53.

21. Savitskaya YA, Rico-Martínez G, Linares-González LM, Delgado-Cedillo EA,Téllez-Gastelum R, Alfaro-Rodríguez AB et al. Serum tumor markers in pediatric osteosarcoma: a summary review. (e-pub) Clinical Sarcoma Research 2012, 2:9. Dostupno na: <http://www.clinicalsarcomaresearch.com/content/2/1/9> Pristup 15.veljače 2013.

Summary

TUMOR MARKERS IN CHILD ONCOLOGY - FROM LABORATORY TO CLINICAL UTILITY

J. Leniček Krleža

This paper presents an overview of currently available information on the use of tumor markers based on the recommendations and guidelines of national and international professional groups and organizations which have published clinical and laboratory evidence-based guidelines for the diagnosis and management of malignant disease. The rapid advancement of technology and the development of science has resulted in intense discovery of potentially new tumor markers. Their further investigation have shown that their clinical utility is equal to or less than the already established tumor markers. However, application in clinical practice should be reasonable and appropriate. Accent is on laboratory recommendations and guidelines that include besides the use of tumor markers and quality control requirements. Knowledge and awareness of that is important for optimal use and correct interpretation in clinical practice. This significantly improves the overall care of patients with malignant disease and makes it cost-effective. In this context were presented the most commonly used tumor markers in clinical practice of child oncology.

Descriptors: TUMOR MARKER, CHILD, LABORATORY MEDICINE, CLINICAL UTILITY, QUALTY CONTROL

Primljeno/Received: 25. 2. 2013.

Prihvaćeno/Accepted: 25. 3. 2013.