

СЫВОРОТОЧНЫЙ СА 15-3 И АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ



Комлева Е.О.,

Городской
клинический
онкологический
диспансер,
г. Санкт-Петербург

е о времен-
ные пред-
ставления
о патогенезе разви-
тия рака молочной
железы (РМЖ)
основаны на пред-
ставлении о том,
что под влиянием
аномальной экс-

прессии генома, малигнизированные клетки начинают достоверно «вспоминать» ряд метаболических особенностей, свойственных организму человека лишь на этапе эмбриогенеза. Опухоль приступает к синтезу белковых молекул (онкомаркеров), который ранее был заблокирован или, по крайней мере, характеризовался минимальной активностью. Особенно, если вести сравнение с количествами, регистрируемыми в определенных органах и тканях на этапе их внутриутробного развития [4]. Детальное рассмотрение научно-практической значимости одного из маркеров при РМЖ является основной целью данного сообщения. Опухолеассоциированный антиген СА 15-3 представляет собой гликопротеиновый эпитоп муцина-1 (молекулярная масса 300кДа). Впервые его удалось выделить Куфэ в 1983 году. Маркер является одним из наиболее известных среди класса онкофетальных. Плод накапливает СА 15-3 в гепатоцитах, а так же в клетках эпителия бронхов. В организме взрослого человека имеет место экспрессия данного антигена млечным эпителием (эпителием выстилки протоков молочной железы), откуда СА 15-3 поступает в кровь.

Физиологическая концентрация сывороточного СА 15-3 у здоровых женщин ≤ 37 Ед/мл. В качестве патологического рассматривают уровень >37 Ед/мл (исключение составляет III триместр нормально развивающейся беременности, когда он может достигать 40 Ед/мл). Заболевания, при которых комплекс диагностируемых клинико-биохимических нарушений, как правило, включает повышение концентрации сывороточного СА 15-3, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Основные заболевания, при которых регистрируется повышенный уровень антигена СА 15-3 в сыворотке.

Злокачественные новообразования	Неопухолевая патология
Бронхов Желудка Молочной железы Органов женской репродуктивной системы (матки, эндометрия, яичников) Печени Поджелудочной железы	ВИЧ-инфекция Гепатит Доброкачественные опухоли желудочно-кишечного тракта Мастопатия Пневмония, хроническая обструктивная болезнь легких Ревматические заболевания Саркоидоз Туберкулез Хроническая почечная недостаточность Цирроз печени Эндометриозные кисты яичников

Применительно к диагностике РМЖ, за антигеном СА 15-3 традиционно сохраняется роль маркера выбора, значение которого предопределяет стадия болезни в условиях распространенного опухолевого процесса, когда повышенный уровень данного антигена регистрируется у 85% больных. При I-II стадии РМЖ подобные изменения отмечены лишь у 15% пациентов. Достаточно низкая (15-20%) чувствительность теста исключает перспективность его использования в целях ранней доклинической диагностики РМЖ и, соответственно, в программах скрининга.

Вместе с тем, повышенные, особенно сверхвысокие предоперационные уровни СА 15-3, расцениваются как прогностически неблагоприятный признак. Высокая концентрация антигена, как правило, ассоциируется с наличием отдаленных метастазов первичной опухоли. Специальные наблюдения свидетельствуют, что повышение уровня СА 15-3 обнаруживается за 2,7, а по некоторым данным за 4 месяца до клинической манифестации рецидива РМЖ.

Коэффициент корреляции между уровнем СА 15-3 и массой опухоли составляет 75%. Эта закономерность аргументирует целесообразность осуществления мониторинга проводимого лечения РМЖ путем динамического контроля концентрации данного антигена в сыворотке крови.

Результаты контроля сывороточного СА 15-3, как правило, содержат значимую при РМЖ информацию в следующих клинико-диагностических ситуациях:

- получение клинического прогноза (характера течения, наиболее вероятного исхода) развития заболевания;
- выявление метастазов первичной опухоли, а также наличия рецидивов заболевания;
- оценка достаточности объема выполненной хирургической операции;
- динамический мониторинг эффективности проводимой лекарственной (включая гормоно-, химиотерапию, таргетные препараты) и/или лучевой терапии, выработка решения о необходимости пересмотра тактики лечения.

В технологическом процессе определения сывороточного СА 15-3 выделяют три, выполняемых последовательно, этапа: преаналитический, аналитический, постаналитический.

Преаналитический этап. Требования к пробе:

- сыворотки крови, которые визуально имеют признаки иктеричности, а так же гемолиза и/или липидемии не подлежат дальнейшему исследованию;
- центрифугирование (получение сыворотки крови) должно проводиться не позднее 1 часа после доставки образца в КДЛ;
- предельные сроки хранения сыворотки в зависимости от температурного фактора составляют 24 ч при (+4°C) или 6 месяцев при (-20°C);
- повторение циклов замораживания/оттаивания аликвотированных сывороток не допускается;
- контаминация должна быть исключена с тем, чтобы минимизировать искажения истинного значения концентрации СА 15-3 в образце.

Аналитический этап. Количественное определение сывороточного СА 15-3 проводят иммуноферментным или хемилюминесцентным методом, где принцип детекции основан на избирательном связывании данного антигена специфическими антителами. Надо отметить, что иммуноферментный метод может быть реализован по разному. Особого внимания заслуживает вариант, когда используется комплекс стрептавидин-биотин. Такая схема обладает рядом преимуществ, важных для определения онкомаркера СА 15-3. Данная схема реализована в российском наборе «ОнкоИФА-СА 15-3» производства «Алкор Био» (г. Санкт-Петербург).

На планшет нанесены молекулы стрептавидина. На первой стадии анализа в лунки добавляются калибровочные пробы, контрольная сыворотка, исследуемые образцы и конъюгат моноклональных антител с биотином. Благодаря биодоступности и высокому сродству стрептавидина к биотину, происходит специфичное связывание данных молекул и образуется комплекс стрептавидин-биотин-моноклональное антитело к СА 15-3. На второй стадии после промывки планшета добавляется конъюгированные с пероксидазой антитела, специфичные к определенному эпитопу СА 15-3. Меченное ферментом антитело связывается с молекулами СА 15-3, которые были иммобилизованы во время первой инкубации. По окончании инкубации проводится промывка планшета, инкубация с ТМБ, остановка реакции и учет результатов.

Реализация данной схемы иммуноферментного анализа для определения онкомаркера СА 15-3, благодаря большой способности биотинных молекул связываться со стрептавидином, позволяет значительно расширить диапазон определяемых концентраций (в наборе «Алкор Био» он составляет 0–400 Ед/мл) и максимально удалить границы хук-эффекта высоких концентраций. Такие аналитические характеристики тест-системы дают возможность работать с большим количеством сывороток с высокой концентрацией СА 15-3 без предварительного разведения, тем самым минимизируя вероятность ошибки разведения и сокращая время на пробоподготовку. Это, в свою очередь, позволяет использовать данную тест-систему более эффективно для оценки предоперационного уровня СА 15-3, выявления метастазов первичной опухоли и рецидивов до их клинических проявлений, осуществлять мониторинг проводимой терапии.

Набор реагентов «ОнкоИФА-СА 15-3» можно реализовать как на автоматическом, так и на полуавтоматическом анализаторе. Надежность получаемых результатов является ключевой предпосылкой эффективности применения СА 15-3 в диагностических целях. Условия обеспечения подобной надежности применительно к различным анализам регламентирует ГОСТ Р 53022.2-2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 2. Оценка аналитической надежности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность)». Установленные данным стандартом требования к точности (правильности и прецизионности) анализа СА 15-3 изложены в таблице 2.

Специалист клинико-диагностической лаборатории также должен быть информирован относительно аналитических характеристик тест-системы, которая используется для определения уровня СА 15-3 (референсное значение, специфичность, чувствительность, диапазон измерения, точность, коэффициент вариации, хук-эффект высоких концентраций). Это позволит не допустить технологических ошибок в процессе определения концентрации антигена, а также будет способствовать правильной интерпретации получаемых результатов.

Таблица 2. Дифференцированные биологически обоснованные критерии точности определения антигена СА 15-3 в сыворотке (извлечение из таблицы Б1 ГОСТ Р 53022.2-2008).

Целевые значения, %		2-й уровень – базовый			
		Предельно допустимые значения, %			
CV	B	CV ₁₀	± B ₁₀	CV ₂₀	± B ₂₀
2,85	10,82	4,67	12,59	3,90	12,07

Постаналитический этап. Лабораторный отчет, в дополнении к полученному результату анализа, должен содержать следующую информацию:

- метод, использованный для тестирования сывороточного СА 15-3;
- референсные уровни антигена при данном варианте аналитической процедуры;
- чувствительность тест-системы, с применением которой проводилось исследование.

Больные РМЖ требуют динамического наблюдения. В этой связи увеличивается значение рациональной организации полученных аналитических данных. Эффективный, как доказывает практика, вариант решения вопроса сводится к применению лабораторного паспорта исследований сывороточного СА 15-3. При этом современная КДЛ и в этом разделе деятельности должна обладать компьютерными технологиями — лабораторной информационной системой.

Выводы

1. Динамический мониторинг сывороточного СА 15-3 в оптимальном варианте следует проводить в одной клинико-диагностической лаборатории. Основу такого мониторинга должен составлять аналитический метод, не отличающийся от использованного на старте лечебно-диагностического процесса. Следование сформулированным выше рекомендациям позволит объективно отслеживать динамику концентрации СА 15-3. Аналитические системы, которые применяются в КДЛ, достаточно разнообразны. На рынке много продукции разных производителей. Отсюда разброс результатов, получаемых при исследовании уровня СА 15-3 в одинаковых пробах, когда они анализируются различными КДЛ.
2. Многолетний опыт наших исследований позволяет рекомендовать при подозрении на РМЖ для повышения чувствительности и специфичности диагностики использовать сочетания онкомаркеров. Прежде всего, триаду онкомаркеров, объединяющую СА 15-3, МСА (маркеры — представители класса муциноподобных антигенов) и РЭА (раково-эмбриональный антиген), а так же гормональные исследования на эстрадиол, прогестерон и пролактин. Такой подход позволит исключить получение как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов исследований.
3. Динамика уровня сывороточного СА 15-3 более информативна, чем результат единичного определения данного анализата. Интерпретация наблюдаемого изменения СА 15-3 нуждается в постоянном консультационном участии клиницистов.

Ссылки на литературные источники сохраняются в издательстве и высылаются по просьбе читателей.