

**АО «МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ АСТАНА»
КАФЕДРА ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ ПО ИНТЕРНАТУРЕ**

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИФА
У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**



ПЛАН

- Определение термина ИФА
- Что такое иммуноглобулин (антитело)
- Достоинства иммуноферментного анализа (ИФА)
- Недостатки ИФА анализа крови
- Область применения иммунологического анализа крови
- ОНКОМАРКЕРЫ
 - α -Фетопротейн в сыворотке крови
- Раково-эмбриональный антиген в сыворотке крови
- Карбогидратный антиген СА 19-9 в сыворотке крови
- Простатический специфический антиген в сыворотке крови
- Алгоритм исследования онкомаркёров



ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕРМИНА ИФА

Анализ ИФА лабораторный метод определения антигенов и/или антител. Иммуноферментный анализ (ИФА) может быть качественным (показывает наличие или отсутствие антигенов или антител) и количественным (определение количества антигенов или антител).

При проникновении в организм человека чужеродных агентов (антигенов) иммунная система вырабатывает к ним специфические белки – антитела (иммуноглобулины). Данные антитела способны избирательно связываться с соответствующим антигеном с образованием комплекса: антиген-антитело. Именно данный комплекс в ходе исследования подвергается качественному и количественному определению. Например: для выявления в крови антигена определенного вируса, необходимо в нее внести специфические для данного вируса антитела. И, наоборот: для определения в крови наличия и количества антител, необходимо внести в кровь специфические данному антителу антигены.

- Иммуноферментный анализ крови позволяет определять уровень гормонов, иммуноглобулинов (антител), иммунологических комплексов и других биологически активных веществ.

Что такое иммуноглобулин (антитело)?

- **Иммуноглобулины** - это иммунные молекулы, способные связываться и нейтрализовать большинство инфекционных возбудителей и токсинов в организме. При этом важнейшей характеристикой иммуноглобулинов является их специфичность, то есть способность связываться с определенным антигеном. Именно это свойство используется для проведения анализа крови на иммуноглобулин.
- Существует пять типов иммуноглобулинов, однако наиболее изученными являются иммуноглобулины А, М, и G. Иммуноглобулины М и G проявляют свою активность в крови. Иммуноглобулины А являются, своего рода, барьером на поверхности слизистых оболочек, так как присутствуют там в большом количестве.
- Иммунологический анализ крови позволяет определять тип иммуноглобулинов, благодаря этому ИФА позволяет не только диагностировать заболевание, но и определить стадию данного и отслеживать динамику заболевания:
- В первые 2 недели заболевания обнаруживаются только иммуноглобулины А.
- Со 2-й по 3-ю неделю заболевания в крови обнаруживаются иммуноглобулины А и М.
- С 3 по 4 неделю анализ крови на иммуноглобулин определяются все три типа.
- При выздоровлении в крови пропадают иммуноглобулины М, а количество А и G снижается в 2 – 4 раза.
- При наличии хронического процесса в крови обязательно присутствуют иммуноглобулины G, иммуноглобулины М отсутствуют, иммуноглобулины А могут как присутствовать, так и отсутствовать.



ДОСТОИНСТВА ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА (ИФА)

- Относительно высокая чувствительность (точность).
- Приемлемая стоимость.
- Позволяет проводить раннюю диагностику (благодаря возможности определения классов иммуноглобулинов при анализе).
- Позволяет отслеживать динамику инфекционного процесса (благодаря возможности определения классов иммуноглобулинов).
- Удобство в работе.
- Иммунологический анализ крови позволяет получить быстрый ответ.



Недостатки ИФА анализа крови:

- Иногда иммуноферментный анализ дает ложноположительные или ложноотрицательные результаты.



ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КРОВИ:

- Диагностика вирусных заболеваний: гепатиты, герпес, Эпштейн-Барр вирус, цитомегаловирус и др.
- Инфекции передающиеся половым путем: хламидиоз, гонорея, трихомонада, микоплазма, уреаплазма.
- Сифилис.
- Эндокринология (определение уровня гормонов).
- Онкомаркеры (диагностика онкологических заболеваний).
- Иммунология (диагностика иммунодефицита).
- Аллергология (диагностика и лечение аллергий).



ОНКОМАРКЕРЫ

- Опухолевые маркеры (онкомаркеры) - важная составляющая диагностического комплекса в онкологии. В настоящее время измерение уровня опухолевых маркеров широко используется в диагностике, лечении и при наблюдении за состоянием онкологических больных.
- Маркеры опухолевого роста можно подразделить на различные классы:
- иммунологические - ассоциированные с опухолью антигены или антитела к ним;
- гормоны - (ХГЧ, адренокортикотропный гормон);
- ферменты - фосфатазы, лактатдегидрогеназы и др.;
- продукты обмена - креатин, гидроксипролин, полиамины, свободная ДНК;
- белки плазмы - ферритин, церулоплазмин, β 2-микроглобулин;
- белковые продукты распада опухолей



А-ФЕТОПРОТЕИН В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

- *Референтные величины АФП в сыворотке крови: взрослые — до 10 МЕ/мл; у женщин во II–III триместре беременности — 28–120 МЕ/мл; новорождённые в первые сутки жизни — до 100 МЕ/мл. Период полужизни — 3–6 дней*
- АФП — гликопротеин, вырабатываемый желточным мешком эмбриона.
- АФП как онкомаркёр имеет следующее клиническое применение: во-первых, для выявления и мониторинга первичной гепатоцеллюлярной карциномы, которая возникает, как правило, в цирротической печени; во-вторых, для выявления тератобластомы яичка и, в-третьих, для оценки эффективности терапии этих заболеваний. Содержание АФП хорошо коррелирует с эффективностью химиотерапевтического лечения карциномы.



РАКОВО-ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ АНТИГЕН В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

- ▣ Референтные величины концентрации раково-эмбрионального Аг (РЭА) в сыворотке крови — 0–5 нг/мл; у страдающих алкоголизмом — 7–10 нг/мл; у курящих — 5–10 нг/мл. Период полужизни — 14 дней.
- ▣ РЭА — гликопротеин, образующийся при эмбриональном развитии в ЖКТ. Основное применение РЭА — мониторинг развития заболевания и эффективности терапии у больных с колоректальной карциномой.

Заболевания и состояния, при которых повышается уровень РЭА

Рак	Чувствительность, %
Толстая и прямая кишка	70-80
Поджелудочная железа	60-90
Легкие	65-75
Желудок	30-60
Молочная железа	50-65
Яичник	40
Другие карциномы	20-50



КАРБОГИДРАТНЫЙ АНТИГЕН СА 19-9 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

- ▣ *Референтные величины СА 19-9 в сыворотке крови — до 37 МЕ/мл. Период полужизни — 5 дней.*
- ▣ **СА 19-9 — гликопротеин**, обнаруживаемый в фетальном эпителии поджелудочной железы, желудка, печени, тонкой и толстой кишки, лёгких. У взрослых данный Аг является маркёром железистого эпителия большинства внутренних органов и продуктом их секреции. Как онкомаркёр карциномы поджелудочной железы СА 19-9 имеет чувствительность 82%. СА 19-9 имеет чувствительность 50–75% при гепатобилиарной карциноме. В настоящее время СА 19-9 является вторым по значимости маркёром (после РЭА) для диагностики карциномы желудка. Его повышение наблюдается у 42–62% больных раком желудка.



Муциноподобный ассоциированный антиген в сыворотке крови

- ▣ *Референтные величины МСА в сыворотке крови — до 11 МЕ/мл.*
- ▣ МСА — Аг, присутствующий в клетках молочной железы .
Представляет собой сывороточный муцин-гликопротеид.
Концентрация МСА в сыворотке крови увеличивается при раке молочной железы и в 20% при доброкачественных заболеваниях молочной железы. МСА применяется для мониторинга течения карциномы молочной железы. Исследование МСА применяется для мониторинга эффективности оперативного, химио- и лучевого лечения рака молочной железы.



РАКОВЫЙ АНТИГЕН СА-125 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

- ▣ *Референтные величины СА-125 у женщин в сыворотке до 35 МЕ/мл; при беременности — до 100 МЕ/мл; у мужчин — до 10 МЕ/мл. Период полужизни — 4 дня.*

- ▣ СА-125 — гликопротеин, присутствующий в серозных оболочках и тканях. Исследование СА-125 в крови применяют главным образом для мониторинга серозного рака яичников и диагностики его рецидивов. Определение содержания СА-125 в сыворотке применяют:
 - для диагностики рецидивов рака яичника;
 - для мониторинга лечения и контроля течения рака яичников;
 - для диагностики новообразований брюшины, плевры;
 - для диагностики серозного выпота в полости (перитонит, плеврит);
 - для диагностики эндометриоза.



КАРБОГИДРАТНЫЙ АНТИГЕН СА-72-4 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

- ▣ *Референтные величины концентрации СА-72-4 в сыворотке крови — 0–4,6 МЕ/мл.*
- ▣ СА-72-4 — муциноподобный гликопротеин с молекулярной массой 400 000. Он экспрессируется во многих тканях плода и практически не обнаруживается в тканях взрослого человека. Уровень СА-72-4 повышается в сыворотке крови больных, страдающих такими злокачественными опухолями железистого генеза, как карцинома желудка, толстой кишки, яичников, лёгких. Особенно высокая концентрация СА-72-4 в крови определяется при карциноме желудка.
- ▣ Определение содержания СА 72-4 в сыворотке применяют:
 - для мониторинга бронхогенного немелкоклеточного рака лёгкого;
 - для мониторинга лечения и контроля течения рака желудка;
 - для диагностики рецидивов рака желудка;
 - для дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей яичников;
 - для мониторинга лечения и контроля течения муцинозного рака яичников.



РАКОВЫЙ АНТИГЕН СА-15-3 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

- ▣ *Референтные величины концентрации СА-15-3 в сыворотке крови — до 27 МЕ/мл; в III триместре беременности — до 40 МЕ/мл. Период полужизни — 7 дней.*
- ▣ СА-15-3 — Аг мембраны клеток метастазирующей карциномы молочной железы. У здоровых лиц может определяться на эпителии секретирующих клеток и в секретах. СА-15-3 обладает достаточно высокой специфичностью по отношению карциномы молочной железы в сравнении с её доброкачественными заболеваниями. Определение концентрации СА-15-3 используют для мониторинга лечения и диагностики рецидивов рака молочной железы и лёгких.



ПРОСТАТИЧЕСКИЙ СПЕЦИФИЧЕСКИЙ АНТИГЕН В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

- ▣ *Референтные величины ПСА в сыворотке крови: мужчины до 40 лет — до 2,5 нг/мл, после 40 лет — до 4 нг/мл. Период полужизни — 2–3 дня.*
- ▣ ПСА — гликопротеид, выделяемый клетками эпителия канальцев предстательной железы. Исследование ПСА применяют для диагностики и мониторинга лечения рака предстательной железы, при котором его концентрация увеличивается, а также для мониторинга состояния пациентов с гипертрофией простаты в целях как можно более раннего обнаружения рака этого органа. Концентрацию ПСА в крови выше 4 нг/мл обнаруживают примерно у 80–90% больных раком и у 20% больных аденомой предстательной железы. Поэтому повышение уровня ПСА в крови не всегда свидетельствует о наличии злокачественного процесса.



АЛГОРИТМ ИССЛЕДОВАНИЯ ОНКОМАРКЁРОВ

Специфичность опухолевых маркёров — процент здоровых лиц и больных с доброкачественными новообразованиями, у которых тест дает отрицательный результат. Чувствительность онкомаркёра — процент результатов, которые являются истинноположительными в присутствии данной опухоли. Пороговая концентрация (точка разделения) — верхний предел концентрации онкомаркёра у здоровых лиц и больных незлокачественными новообразованиями.



ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ IN VITRO НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ОНКОМАРКЁРОВ В КРОВИ

- Условия хранения сыворотки крови (нужно хранить в холоде).
- Время между забором образца и центрифугированием (не более 1 ч).
- Гемолизированная сыворотка крови (повышается концентрация НСЕ).
- Контаминация образца (повышается концентрация РЭА и СА 19-9).
- Приём ЛС (повышают концентрацию ПСА аскорбиновая кислота, эстрадиол, ионы 2- и 3-валентных металлов, аналоги гуанидина, нитраты и др.).



ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ IN VIVO НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ОНКОМАРКЁРОВ В КРОВИ

- Продукция опухолью онкомаркёра.
- Выделение в кровь онкомаркёра.
- Масса опухоли.
- Кровоснабжение опухоли.
- Суточные вариации (необходимо взятие крови на исследование в одно и то же время).
- Положение тела в момент взятия крови.
- Влияние инструментальных исследований (рентгенография повышает концентрацию НСЕ; колоноскопия, пальцевое ректальное исследование — ПСА; биопсия — АФП).
- Катаболизм онкомаркёра (функционирование почек, печени, холестаза).
- Алкоголизм, курение.



Цели определения онкомаркёров в клинической практике

- Дополнительный метод диагностики онкологических заболеваний в комбинации с другими методами исследований.
- Ведение онкологических больных — мониторинг терапии и контроль течения заболевания, идентификация остатков опухоли, множественных опухолей и метастазов (концентрация онкомаркёра может быть повышена после лечения за счёт распада опухоли, поэтому исследование следует проводить спустя 14–21 день после начала лечения).
- Раннее обнаружение опухоли и метастазов (скрининг в группах риска — ПСА и АФП);
- Определение прогноза заболевания.



СХЕМА НАЗНАЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ОНКОМАРКЁРОВ

1. Определить уровень онкомаркёра перед лечением и в дальнейшем исследовать те онкомаркёры, которые были повышены.
2. После курса лечения (операции) исследовать через 2–10 дней (соответственно периоду полужизни маркёра) с целью установления исходного уровня для дальнейшего мониторинга.
3. Для оценки эффективности лечения (операции) провести исследование спустя 1 мес.
4. Дальнейшее изучение уровня онкомаркёра в крови проводить 1 раз в месяц в течение 1-го года после лечения, 1 раз в 2 месяца в течение 2-го года после лечения, 1 раз в 3 месяца в течение 3–5 лет (рекомендации ВОЗ).
5. Проводить исследование онкомаркёра перед любым изменением лечения.
6. Определять уровень онкомаркёра при подозрении на рецидив и метастазирование.
7. Определять уровень онкомаркёра через 3–4 нед после первого выявления его повышения.



ЛИТЕРАТУРА

- Имянитов Е.Н., Хансон К.П. Молекулярная онкология: Клинические аспекты. СПб, издательский дом СПбМАПО, 2007. – 211 с.
- Кишкун А.А. Иммунологические и серологические исследования в клинической практике – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006 – 536 с.
- Комлева Е.О., Лисянская А.С., Манихас Г.М. Диагностическая значимость СА-125 как маркера рака яичников. Клинико-лабораторный консилиум, 2009, №1, с. 75–79.
- Рак молочной железы. Под ред. чл.-корр. РАМН, проф. Семиглазова. В.Ф. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 176 с.
- Рак толстой кишки: пер. с англ./Под ред. Мейерхардта Дж., Сандерза. М. – М.: ООО «Рид Элсивер», 2009. – 186 с.



Спасибо за внимание

