

نشریه علمی آزمایشگاه - نوبت هجدهم (بهمن ماه 1403)

مدیریت امور آزمایشگاه‌های معاونت درمان دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

مقدمه

تومورمارکرها ترکیباتی هستند که یا در بافت تومور ایجاد شده و از آنجا ممکن است به داخل مایعات بدن ترشح شوند و یا اینکه در پاسخ به وجود بافت تومورال توسط سایر بافت‌های بدن میزبان تولید می‌گردند. نوع و ساختار آن‌ها بسیار متنوع بوده و می‌توانند مولکول‌های ساده (مانند کاتکولامین‌ها)، پروتئین‌های اختصاصی (مانند هورمون‌ها، آنزیم‌ها و محصولات ژنی)، گلیکوپروتئین‌ها و موسین‌های ناهمگن بسیار بزرگ (مانند CA125) و نیز جهش یا تقویت (amplification) ژن‌های خاص در ساختمان ژنومی سلول را شامل شوند. برخی از آن‌ها مثل AFP, CEA و hCG اگرچه به طور طبیعی در دوره جنینی وجود دارند (آنتی ژن‌های انکوفتال) ولی در بزرگسالی ممکن است به عنوان تومورمارکر کاربرد داشته باشند. بسیاری از آن‌ها از طیف متنوعی از تومورها ترشح می‌شوند اما برخی نیز اختصاص به یک نوع بدخیمی داشته و یا منحصر به یک ارگان بخصوص در بدن می‌باشند. از میانه قرن نوزده میلادی که پروتئین بنس جونز به عنوان اولین تومورمارکر برای شناسایی بیماری مولتیپل میلوما معرفی شد تا به امروز پیشرفت‌های چشمگیری در زمینه شناسایی، روش‌های اندازه‌گیری و کاربرد این ترکیبات رخ داده است. هدف از این نوشتار آشنایی مختصر با کاربردهای کلی تومورمارکرها در بالین و نیز نکات مهم آزمایشگاهی در اندازه‌گیری و تفسیر نتایج برخی از این مارکرها است که آزمایشگاه‌های غیر رفرانس بیشتر با آن‌ها سر و کار دارند.

تعریف تومورمارکر ایده‌ال:

برای اینکه یک تومورمارکر کارکرد صد درصدی و بدون نقص داشته باشد باید دارای شرایط زیر باشد:

1- برای بدخیمی مورد نظر اختصاصی بوده و در افراد طبیعی یا بدخیمی‌های دیگر افزایش نیابد.

2- در بافت‌های در دسترس (مثل خون، ادرار،...) وجود داشته باشد.

3- مقدار آن با اندازه بافت تومور متناسب باشد.

4- با روش‌های ساده، در دسترس، ارزان و تکرار پذیر قابل اندازه‌گیری باشد.

5- سنجش آن، در بهبود سیر بیماری موثر باشد.

با توجه به موارد فوق، هیچ‌یک از تومورمارکرها را هیچ واحد تمام این شرایط نبوده و شاید تنها اندازه‌گیری سطح سرمی hCG به عنوان غربالگری و مانیتورینگ در زنانی که حاملگی مول داشته و ریسک پیدایش کوریوکارسینوما در آن‌ها وجود دارد تا حدی خصوصیات یک مارکر ایده‌آل را داشته باشد.

کاربردهای بالینی تومورمارکرها:

1. **غربالگری سرطان:** باید دقت نمود که مفهوم غربالگری برای یک بیماری با تشخیص بیماری متفاوت است و هدف از آن یافتن بیماری در افراد بدون علامت می‌باشد. به کار بردن تست غربالگری با خصوصیات مناسب می‌تواند منجر به تشخیص زودهنگام بدخیمی و به دنبال آن مداخله و درمان به موقع گردد. برای اینکه یک تست با هدف غربالگری مورد استفاده قرار گیرد باید ویژگی‌های خاصی داشته باشد. از مهم‌ترین این خصوصیات، حساسیت بالای تست (نتایج منفی کاذب کم)، ویژگی بالای آن (نتایج مثبت کاذب کم) و همچنین شیوع نسبتاً بالای بیماری در جمعیت تحت غربالگری (برای افزایش ارزش اخباری مثبت تست) است. با مطالعه عملکرد این تست‌ها در غلظت‌های مختلف و بین جمعیت افراد بیمار و سالم، میزان مناسب cut off با توجه به شیوع بیماری تعیین می‌گردد. جابجایی مقدار cut off می‌تواند هم موارد مثبت کاذب و هم منفی کاذب را تغییر دهد اما نمی‌تواند همزمان هر دو را کاهش دهد. واقعیت این است که با توجه به شیوع نسبتاً کم اکثر سرطان‌ها (حتی در یک گروه سنی پرخطر) همراه با پایین بودن ویژگی و حساسیت در بیشتر تومورمارک‌هایی که امروزه مورد استفاده قرار می‌گیرند، کاربرد آن‌ها را به عنوان تست غربالگری در بدخیمی‌ها محدود کرده است.

از جمله تست‌های غربالگری مورد استفاده، می‌توان به انجام تست FIT (fecal immunochemical test for hemoglobin) برای تشخیص سرطان کولورکتال، اندازه‌گیری سطح سرمی hCG

نتوپلازی های جفتی)، CA19-9 (کانسر پانکراس) و کلسی تونین (سرطان مدولاری تیروئید) اشاره نمود.

3. ارزیابی پیش‌آگهی: برخی از این تست‌ها می‌توانند سیر بیماری را از نظر احتمال خطر عود یا پیشرفت بیماری پیش بینی کنند. بیشترین کاربرد این تومورمارکرها در زمان تشخیص اولیه بدخیمی می‌باشد که برخی از آنها بیانگر درمان پذیر بودن بیماری و بقای بیشتر بیمار و برعکس بعضی از این مارکرها حکایت از پیش‌آگهی بد و احتمال عود زودرس بدخیمی دارد. اندازه‌گیری تعدادی از این مارکرها از طریق پیش بینی میزان تهاجمی بودن تومور می‌تواند مانع از درمان غیرضروری و بیش از اندازه در یک تومور کمتر مهاجم و یا تصمیم به شروع درمان وسیع و تمام عیار در یک بدخیمی با خصوصیات تهاجمی بالا گردد. البته باید توجه شود که پیش بینی پیش‌آگهی مربوط به طیفی کاملاً ناهمگون از بیماران می‌باشد و هیچ مارکری وجود ندارد که نتیجه را به طور دقیق برای هر بیمار خاص پیش بینی نماید. از تومورمارکهای مفید در تعیین پیش‌آگهی می‌توان به این موارد اشاره نمود:

اندازه‌گیری hCG، AFP و LDH سرم برای تعیین پیش‌آگهی و تصمیم‌گیری در مورد انجام شیمی درمانی در بیماران مبتلا به سرطان ژرم سل غیر سمنیوماتوزی (GCT) متاستاتیک الزامی است. بررسی اکثر تومورمارکهای مربوط به پیش‌آگهی بر روی بافت تومورال انجام می‌گردد. مثلاً تست Oncotype DX که بیان 21 ژن مختلف را در بافت پستان اندازه‌گیری می‌کند میزان ریسک عود بیماری را در مدت 10 سال در یکسری از بیماران سرطان سینه فراهم می‌نماید. علاوه بر این اندازه‌گیری سطح سرمی AFP، CA125، CEA، CA19-9، hCG و PSA در برخی بدخیمی‌های خاص و در کنار فاکتورهای دیگر برای تعیین پیش‌آگهی کاربرد دارند.

4. پیش‌بینی پاسخ تومور به درمان: ماهیت هتروژنی سرطان به گونه‌ای است که پاسخ به درمان در یک نوع سرطان (با منشأ بافتی یکسان) ممکن است در افراد مختلف بسیار متفاوت بوده و در مورد بیشتر بدخیمی‌ها یک درمان بخصوص فقط در برخی از افراد موثر است. برخی از تومورمارکرها می‌توانند منجر به شناسایی

برای کوریوکارسینوما در زنان با حاملگی مول، سطح CA125 برای تومورهای تخمدان و اندازه‌گیری AFP در کارسینوم سلول‌های کبدی اشاره نمود.

2. تشخیص سرطان: بیشتر تومورمارکرها مختص یک نوع سرطان و یک ارگان خاص بدن نبوده و ممکن است در بدخیمی‌های مختلف یا حتی بیماری‌های غیربدخیم نیز دیده شوند. بنابراین کاربرد آنها برای تشخیص بدخیمی بسیار محدود می‌باشد. همانند تومورمارکهای غربالگری، در به کار بردن تومورمارکرها برای تشخیص بدخیمی نیز شرط حساسیت و ویژگی بالا باید وجود داشته باشد. تومورمارکرها برای تشخیص در بیماران با علائم غیراختصاصی مفید نبوده و نمی‌توانند جایگزین بیوپسی برای تشخیص اولیه سرطان شوند. در برخی بیماران خاص و با ریسک بالای وجود بدخیمی که امکان تشخیص وجود ندارد (مثل بیمار مشکوک به سرطان روده که تمایل به انجام کولونوسکوپی ندارد و یا انجام آن امکان‌پذیر نیست) اطلاع از افزایش غلظت این تومورمارکرها مفید بوده و ممکن است به تشخیص کمک نماید. به طور کلی هر چه غلظت تومورمارکهای سرمی بالاتر باشد، احتمال بدخیمی بیشتر است اما باید به این نکته توجه نمود که نتایج در محدوده نرمال وجود بدخیمی را رد نمی‌کند و همان‌گونه که پیش‌تر اشاره گردید افزایش غلظت تومورمارکرها لزوماً نشان دهنده بدخیمی نیست. استفاده از پانل تومورمارکرها به صورت گسترده در تمام بیماران با هدف کشف یک بدخیمی، بدون در نظر گرفتن محدودیت‌های ذاتی این تست‌ها علاوه بر تحمیل هزینه غیرضروری و ایجاد استرس در بیمار ممکن است منجر به انجام روش‌های تشخیصی تهاجمی غیرضروری و آسیب به بیمار گردد.

از جمله موارد بکارگیری تومورمارکرها به عنوان تست‌های تشخیصی می‌توان به انجام آزمایش AFP سرمی (در تومورهای بیضه و سرطان سلول‌های کبدی در بیماران با سیروز کبدی)، CA125 در توده‌های لگنی (برای محاسبه "شاخص خطر بدخیمی")، PSA، پاراپروتئین‌ها، hCG (ژرم‌سل تومورها و

تواند مانع از نیاز به انجام سی تی اسکن و قرار گرفتن بیمار در معرض اشعه گردد.

6. تشخیص زودهنگام عود و یا پیشرفت بیماری پس از درمان: افزایش سطح برخی تومورمارکرها بعد از درمان، حتی ماه‌ها قبل از بروز علائم بالینی بیماری می‌تواند نشانگر عود تومور باشد. اما مفید بودن اندازه‌گیری مستمر تومورمارکرها پس از درمان به پاسخ این سوالات بستگی دارد: آیا افزایش تومورمارکر موجب یک اقدام کلینیکی برای بیمار (مثل انجام سی تی اسکن زودهنگام) خواهد شد؟ آیا در صورت کشف عود تومور امکان درمان مجدد و یا استفاده از درمانی متفاوت وجود دارد؟ و آیا این درمان را می‌توان فقط بر اساس افزایش تومورمارکر شروع نمود؟

تومورمارکرهاى سرمى متعددى برای تشخیص زودهنگام عود و پیشرفت تومور پس از درمان مورد استفاده قرار می‌گیرند. به عنوان مثال اندازه‌گیری CEA برای پیگیری بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال غیرمتاستاتیک برای تشخیص زودهنگام عودهای بدون علامت بیماری موثر است. همچنین اندازه‌گیری AFP، کلسی-تونین، تیروگلوبولین، پاراپروتئین ها، PSA، CA125، CA19-9، CA15-3 و hCG در سرطان‌های مربوطه می‌تواند چنین کارکردی را داشته باشد.

- در جدول زیر خواص و کاربردهای برخی از تومورمارکرهاى سرمى مشاهده می‌شود:

بیمارانی شوند که به نوع خاصی از درمان پاسخ مناسب خواهند داد و بنابراین در برنامه‌ریزی برای روند درمان و جلوگیری از اقدامات غیرضروری مفید می‌باشند. به عنوان مثال، اندازه‌گیری ER (گیرنده استروژن) برای پیش‌بینی پاسخ به درمان با آنتی‌استروژن برای تمامی بیماران تازه تشخیص داده شده سرطان تهاجمی سینه الزامی است. همچنین اندازه‌گیری همزمان PR (گیرنده پروژسترون) می‌تواند دقت این پیش‌بینی را افزایش دهد. اندازه‌گیری HER2 نیز برای شناسایی بیماران مبتلا به سرطان پستان که کاندید مناسبی برای درمان با آنتی‌بادی منوکلونال ضد HER2 هستند مفید می‌باشد.

5. کنترل پاسخ به درمان در طول مداوای بیماری و یا اندکی

پس از قطع درمان: برخی از این تست‌ها برای نظارت بر روند درمان به کار می‌روند. پاسخ به سوالاتی نظیر باقی ماندن بافت تومورال پس از درمان، موثر بودن درمان انتخاب شده، امکان قطع دارو و یا تغییر دادن داروهای بی‌اثر، از مواردی است که اندازه‌گیری این مارکرها می‌تواند کمک‌کننده باشد. در حقیقت کاربرد اصلی بیشتر تومورمارکرهاى سرمى در نظارت بر روند درمان است. برای اکثر بیماران مبتلا به سرطان، اندازه‌گیری این تومورمارکرها پیش از شروع به اقدام درمانی (برای داشتن یک مبنا و مقایسه با مقادیر بعد از شروع درمان) و همچنین اندازه‌گیری آن‌ها در طول دوره درمان و کمی بعد از پایان آن می‌تواند مفید باشد. به طور کلی کاهش در غلظت تومورمارکرها پس از درمان و رسیدن سطح آن به مقادیر طبیعی یک علامت مطلوب است. از مهم‌ترین نمونه‌های کاربرد تومورمارکرها در کنترل پاسخ به درمان می‌توان به اندازه‌گیری مقدار سرمی PSA و تیروگلوبولین به ترتیب بعد از جراحی پروستات و غده تیروئید در سرطان‌های این دو بافت اشاره نمود. همچنین اندازه‌گیری AFP و hCG سرمی قبل از عمل جراحی بر روی ژرم‌سل تومورها اجباری می‌باشد زیرا این مقادیر برای محاسبه نیمه‌عمر کاهش تومورمارکرها بعد از شروع شیمی‌درمانی ضروری است. در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و با متاستاز کبدی نیز به منظور بررسی پاسخ به شیمی‌درمانی از اندازه‌گیری سریالی CEA و CA 19-9 سرمی استفاده می‌شود. این بررسی می‌-

نوع تومور مارکر	کاربرد اصلی تومور مارکر
آلکالن فسفاتاز	افزایش در متاستازهای کبدی و یا استخوانی
آلفا فیتوپروتئین	تشخیص، تعیین پیش آگهی و مانیتورینگ* ژرم سل تومورها و کارسینوم هیپاتوسلولار اولیه و علاوه بر این در غربالگری کارسینوم هیپاتوسلولار اولیه در بیماران با ریسک بالا (مثل سیروز یا عفونت مزمن HCV و HBV)
CA125	غربالگری (فقط در بیماران با ریسک بالا و همراه با سونوگرافی)، تشخیص (استفاده در تعیین شاخص خطر بدخیمی RMI برای توده های تخمدان)، تعیین پیش آگهی و مانیتورینگ تومور های تخمدان
CEA	تعیین پیش آگهی و مانیتورینگ در کانسر کولورکتال
hCG	تشخیص، تعیین پیش آگهی و مانیتورینگ در ژرم سل تومورها و نئوپلازی تروفوبلاستیک حاملگی
PSA	تشخیص، تعیین پیش آگهی، ارزیابی ریسک و مانیتورینگ سرطان پروستات + نسبت Free PSA/Total PSA در سرطان پروستات در مقایسه با هیپرتروفی خوش خیم پروستات پایین است.
LDH	تشخیص، تعیین پیش آگهی و مانیتورینگ ژرم سل تومورها. همچنین در مانیتور کردن طیف گسترده ای از بدخیمی های دیگر (بخصوص بدخیمی های خونی) مورد استفاده قرار می گیرد.
پارا پروتئین ها	بسیار متنوع هستند. مثلا اندازه گیری پروتئین M در تشخیص و مانیتورینگ بیماری مالتیپل میلوما کاربرد دارد.
کلسی تونین	در تشخیص و مانیتورینگ کارسینوم مدولاری تیروئید کاربرد دارد.
HE4	تشخیص (استفاده در تعیین شاخص خطر بدخیمی RMI برای توده های تخمدان) و مانیتورینگ سرطان تخمدان
$\beta 2$ میکروگلوبولین	تعیین پیش آگهی برای بیماران مالتیپل میلوما
CA 15-3 و BR 27.29	مانیتورینگ سرطان پستان
CA 19-9	تشخیص و مانیتورینگ سرطان پانکراس
Inhibin A,B	مانیتور تومورهای گرانولوزای تخمدان و تومورهای سرتولی و Leydig بیضه
تیروگلوبین	مانیتورینگ سرطان تیروئید

* منظور از مانیتورینگ در این جدول بررسی وضعیت پاسخ به درمان و عود بیماری می باشد.

♣ تومور مارکرهای زیر اگرچه در کشور ما به طور شایع مورد استفاده قرار نمی گیرند اما آشنایی با آن ها خالی از لطف نیست:

ایزوفرم 3 پرولاکتین: مشاهده این هورمون در نوعی سرطان سینه

1-21 CYFRA: مانیتور سرطان ریه

TPA: مانیتور سرطان مثانه و ریه

کاتکولامین ها: در برخی از سرطان ها از جمله نوروبلاستوما، فئوکروموسیتوما، پاراگانگلیوما و...

SCC: مانیتور کارسینومای سلول های سنگفرشی مانند سرطان دهانه رحم

♣ برخی از این تومور مارکرها، علاوه بر اینکه اختصاصی یک بافت خاص هستند اما می توانند در سایر سرطان ها نیز افزایش داشته باشند. از جمله:

AFP: سرطان های معده، کولورکتال، صفرا، پانکراس، ریه

CEA: سرطان سینه، معده، ریه، مزوتلیوم، مری، پانکراس

CA125: سرطان سینه، آندومتر، دهانه رحم، صفاق، رحم، ریه، پانکراس، سلول های کبدی، لنفوم غیرهوجکین

hCG: سرطان ریه

الزامات کیفیت در اندازه‌گیری تومور مارکرها:

برخی موارد باید از به کار بردن لوله ژل دار اجتناب کرد. الزامات مربوط به اندازه‌گیری این مارکرها با توجه به شرایط هر تست از روی بروشور مربوط به کیت و منابع معتبر باید رعایت شود. اغلب تومورمارکرهای متداول، در صورت جداسازی سرم از RBC پایدار هستند و جهت نگهداری برای کوتاه مدت، دمای 4°C و یا $^{\circ}\text{C}$ $30-$ و برای زمان‌های طولانی دمای $^{\circ}\text{C}$ $70-$ مناسب است. از حرارت دادن سرم (به منظور غیرفعال کردن کمپلمان یا ویروس HIV) به ویژه برای اندازه‌گیری hCG (در حرارت بالا زیر واحدهای α و β مربوط به hCG از هم جدا می‌شوند) و PSA باید خودداری شود. باید تأثیر بالقوه زمان انتقال نمونه‌هایی که در معرض افزایش دما قرار دارند، بر روی نتایج آنالیت در نظر گرفته شود. رعایت استاندارد جمع‌آوری نمونه‌های بافتی و ماده فیکساتیو مورد استفاده در بررسی‌های ایمونوهیستوشیمی (IHC) بسیار مهم است.

* الزامات حین انجام آزمایش (Analytical Requirements)

اعتبار سنجی روش اندازه‌گیری

همانند سایر تست‌های آزمایشگاهی قبل از به کارگیری روتین در آزمایشگاه‌ها، هر دو روش ایمونواسی و ایمونوهیستوشیمی برای اندازه‌گیری تومورمارکرها باید با استفاده از پروتکل‌های استاندارد (مانند FDA در آمریکا و CE در اروپا) صحه‌گذاری شوند. هر آزمایشگاه نیز لازم است قبل از استفاده و انجام روتین این تست‌ها، آن‌ها را تصدیق نمایند.

کنترل کیفیت داخلی

برای تمامی تست‌های آزمایشگاهی انتخاب و اجرای یک برنامه مناسب و اصولی برای کنترل کیفیت داخلی الزامی است. بطور کلی با به کارگیری آنالیزهای اتوماتیک رسیدن به نتایجی با تغییرات کمتر از 5٪ در یک ران کاری و کمتر از 10٪ در بین ران‌های کاری مختلف در سنجش تومورمارکرها به راحتی امکان‌پذیر می‌باشد. هر آزمایشگاه باید برای خود معیارهای قابل قبول بودن نتایج نمونه کنترل را بر اساس اصولی منطقی مثل استفاده از قوانین وستگارد مشخص نماید. با توجه به اینکه مراقبت و پایش بیماران سرطانی معمولاً در یک بازه زمانی نسبتاً طولانی انجام می‌گردد، بنابراین در

از آنجا که نتایج اندازه‌گیری تومورمارکرها اطلاعات ارزشمندی برای کاربرد بالینی در اختیار پزشکان قرار می‌دهد، بنابراین انتخاب تومورمارکر مناسب و دقت در انجام تست اهمیت فراوانی دارد. آزمایشگاه باید اطلاعات لازم در ارتباط با کاربرد و میزان مفید بودن هریک از تومورمارکرها در بدخیمی‌های مختلف و انتخاب بهترین آن‌ها با توجه به هدف مورد نظر برای بیمار را در اختیار پزشکان بالینی قرار دهد. همچنین آزمایشگاه باید (همانند سایر آزمایش‌ها) با تدوین و اجرای دستورالعمل‌ها و الزامات مناسب و نیز نظارت مستمر بر آن‌ها از صحت و دقت نتایج گزارش شده اطمینان یابد. همچون سایر تست‌های آزمایشگاهی می‌توان فرآیند اندازه‌گیری تومورمارکرها و الزامات کیفیت مورد نیاز را به سه مرحله تقسیم نمود:

* الزامات پیش از آزمایش (Preanalytical Requirements)

زمان نمونه‌گیری: شواهد ناچیزی مبنی بر تغییر قابل ملاحظه سطح تومورمارکرها در طی شبانه روز وجود دارد، بنابراین ساعت دقیق نمونه‌گیری معمولاً چندان مهم نیست. اندازه‌گیری تومورمارکر قبل از شروع معالجه می‌تواند در تفسیر نتایج بعد از درمان بسیار مفید باشد. همچنین انجام بعضی از مداخلات درمانی خاص می‌تواند منجر به آزاد شدن موقت این مارکرها شود. در نتیجه نمونه‌گیری برای تومورمارکر باید قبل از چنین اقداماتی (به عنوان مثال، CEA قبل از کولونوسکوپی و PSA قبل از بیوپسی پروستات یا معاینه دیجیتالی رکتوم [DRE]) و یا با یک فاصله زمانی مناسب پس از آن (CA125 پس از جراحی بر روی شکم) صورت گیرد. در برخی از شرایط غیر بدخیم نیز افزایش گذرای تومورمارکرها مشاهده می‌شود و اجتناب از نمونه‌گیری در این مواقع مانع تفسیر غلط نتایج آزمایش خواهد شد. مثل عدم نمونه‌گیری برای CA125 در زمان قاعدگی زنان، آزمایش PSA در مردان مبتلا به عفونت ادراری و اندازه‌گیری CA 19-9 در یک فرد مبتلا به کلستاز.

مدیریت نمونه: معمولاً (ولی نه همیشه) نمونه سرم و پلاسما به یک اندازه برای اندازه‌گیری تومورمارکرها مناسب می‌باشند اما در

استانداردسازی:

تلاش‌های بین‌المللی در جریان است تا شرکت‌های تولیدکننده کیت را برای کالیبر کردن روش‌های سنجش خود با استفاده از استانداردهای بین‌المللی (IS) مرتبط و یا مواد مرجع ترغیب نمایند. اگر چه وجود چنین استانداردهایی لزوماً سازگاری نتایج بین روش‌های مختلف اندازه‌گیری را تضمین نمی‌کند اما (بخصوص در صورت استفاده از نمونه‌های هم‌رفتار با نمونه بیمار) می‌تواند معیاری برای سنجش دقت کالیبراسیون فراهم نماید. برای مثال بعد از پذیرش استاندارد بین‌المللی (IS) برای اندازه‌گیری PSA توسط تولیدکنندگان کیت در بریتانیا، میزان CV (عدم دقت) نتایج آزمایشگاه‌های شرکت‌کننده در برنامه ارزیابی خارجی برای این تست تقریباً به نصف کاهش یافت (از 20٪ در سال 1995 به 9.5٪ در 2005).

تداخلات مهم بالینی:

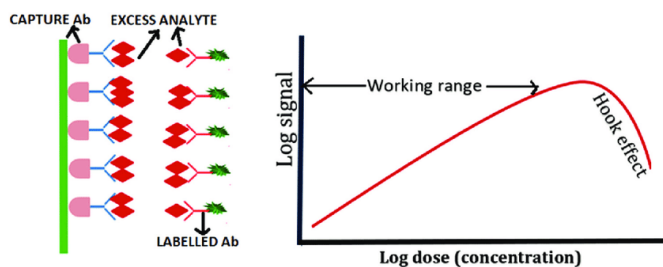
* پدیده Hook: در غلظت‌های خیلی بالای تومورمارکرها ممکن است (به علت پدیده پروزون) اندازه‌گیری درست انجام نشده و نتیجه منفی کاذب گزارش شود (شکل زیر). آزمایشگاه باید برنامه مشخصی برای کشف اثر Hook و جلوگیری از گزارش نتایج اشتباه ناشی از آن داشته باشد. این امر به ویژه در مورد بیمارانی که هیچ سابقه قبلی نداشته و تست برای اولین بار برای آن‌ها انجام می‌شود از اهمیت بیشتری برخوردار است. میزان تاثیر این پدیده در روش‌های مختلف اندازه‌گیری متفاوت بوده و در روش‌هایی که از آنتی-بادی‌های فاز جامد با قدرت اتصال بیشتری استفاده می‌کنند و نیز روش‌های چند مرحله‌ای که شامل یک مرحله شستشو هستند کمتر دیده می‌شود. همچنین آزمایشگاه می‌تواند با انجام سنجش در دو رقت مختلف میزان بروز آن را به حداقل برساند.

اندازه‌گیری تومورمارکرها اطمینان از پایداری کیفیت انجام آزمایش اهمیت ویژه‌ای دارد. همچنین آزمایشگاه باید تغییرات مربوط به روش انجام تست، تغییر لات کیت و یا هر تغییر دیگری که ممکن است بر نتایج بالینی تاثیر منفی بگذارد را مورد توجه قرار دهد. استفاده از نمونه کنترل غیرمرتبط با شرکت سازنده کیت نسبت به کنترلی که همراه کیت و توسط سازنده عرضه می‌شود ارجحیت دارد.

برای تمامی تومورمارکرها استفاده از کنترل منفی و کنترل مثبت ضعیف که غلظت‌های دارای اهمیت در تصمیم‌گیری بالینی را نیز شامل شود الزامی است. برای مثال بهتر است برای اندازه‌گیری PSA سرم از کنترل‌های با غلظت 0.1 و 3 یا 4، برای AFP از کنترل 4-7 $\mu\text{g/L}$ و برای hCG از کنترل 5 U/L استفاده گردد. از طرفی باید از دقت سنجش تومورمارکر در تمامی محدوده وسیع غلظت قابل اندازه‌گیری نیز اطمینان حاصل کرده و به صورت ایده-آل با به کار بردن هرچند وقت یکبار کنترلی با غلظت خیلی بالا دقت در رقیق‌سازی دستی یا دستگاهی نمونه را مورد ارزیابی قرار داد.

کنترل کیفی خارجی

بهترین نمونه برای کنترل کیفی خارجی تومورمارکهای سرمی، نمونه هم‌رفتار (Commutable) با نمونه بیمار و به صورت کاملاً ایده‌آل سرم انسانی است. در برنامه ارزیابی خارجی برای برخی تومورمارکرها استفاده از نمونه کنترل با مقادیر بسیار پایین نیز برای بررسی عملکرد روش مورد استفاده در آزمایشگاه ضروری می‌باشد. برای مثال دقت در اندازه‌گیری AFP و hCG پس از درمان ژرم‌سل تومورها و PSA در سرطان پروستات پس از پروستاتکتومی اهمیتی غیرقابل انکار دارد زیرا صرفاً افزایشی اندک در مقادیر این تومورمارکرها ممکن است منجر به شروع مجدد یا ادامه روند درمان گردد. از طرفی برنامه ارزیابی کیفیت خارجی باید بتواند تاثیر مداخله‌گرها بر روی نتایج اندازه‌گیری تومورمارکها را نیز بررسی نماید. از جمله این موارد اثر Hook در سطوح بالای غلظت آنالیت، تاثیر مصرف بیوتین، تاثیر وجود آنتی‌بادی‌های هتروفیل و یا سایر آنتی‌بادی‌ها در سرم بیمار می‌باشد.



- استفاده از سرم موش غیر ایمن: با انکوبه کردن سرم بیمار با سرم موش، آنتی‌بادی‌های انسانی ضد آنتی‌بادی‌های موشی مصرف شده و در آزمایش تداخل نخواهند کرد.

- استفاده از یک روش و یا متد دیگر برای اندازه‌گیری: همانطور که می‌دانیم میزان تاثیر عوامل مداخله‌گر در روش‌های مختلف اندازه‌گیری متفاوت بوده و تغییر نوع کیت یا دستگاه (آنتی‌بادی‌های متفاوت) و یا استفاده از یک متد اندازه‌گیری متفاوت (مثلاً استفاده از RIA به جای الایزا) ممکن است میزان تداخل را کاهش داده و به نتایج صحیح تری منجر شود.

الزامات بعد از انجام آزمایش:

داشتن اطلاعات بالینی مختصر از بیمار در خصوص نوع بدخیمی مورد نظر و نیز مرحله‌ای از درمان که بیمار در آن قرار دارد (به عنوان مثال قبل از عمل، بعد از عمل، قبل از شیمی‌درمانی) بسیار مفید خواهد بود. این اطلاعات بالینی باید هم در سیستم کامپیوتری آزمایشگاه و هم در برگه گزارش نتایج توسط آزمایشگاه ثبت گردد. جواب آزمایشگاه باید شامل نتایج قبلی تست برای بیمار (گزارش تجمیعی) و ترجیحاً به صورت گرافیکی باشد. چنین گزارشی علاوه بر اینکه موجب تفسیر بهتر روند نتایج می‌شود می‌تواند به شناسایی خطاهای احتمالی راندوم در مرحله درخواست یا انجام آزمایش کمک کند (به عنوان مثال، شناسایی لیبل نادرست نمونه یا خطا در برداشتن نمونه توسط پروب دستگاه). همچنین این نوع گزارش نتایج غیرمنتظره‌ای که نیاز به تایید و بررسی بیشتر دارند را برجسته می‌نماید (مانند تغییر ناگهانی در غلظت تومورمارکر که متناسب با وضعیت بالینی بیمار نیست). گذاشتن کامنت‌های (نظرات) کوتاه در مورد تفسیر نتایج (به عنوان مثال، آیا افزایش در غلظت تومورمارکر با توجه به مشخصات فنی نوع روش اندازه‌گیری مانند میزان CV، معنی‌دار است یا خیر) و یا توصیه در مورد مواردی مثل فواصل زمانی مناسب برای مانیتورینگ و یا نیاز به نمونه مجدد در جهت تایید جواب نیز می‌تواند مفید واقع شود. نوع متد اندازه‌گیری در گزارش جواب مشخص شده و آزمایشگاه باید دستورالعمل معینی برای مواقعی که روش اندازه‌گیری تغییر می‌کند داشته باشد و از وجود و یا عدم وجود تفاوت در غلظت گزارش

* Carryover بین نمونه‌ها: در مواردی که سطح غلظتی تومورمارکر در یک نمونه خیلی بالا باشد حتی انتقال مقادیر بسیار جزئی از آن و آلوده شدن نمونه بعدی می‌تواند موجب نتایج اشتباه (مثبت کاذب) گردد. برای مثال تومورمارکری مثل hCG می‌تواند تا 10^5 برابر افزایش داشته باشد و در نتیجه انتقال حتی $1/10000$ به نمونه مجاور منجر به نتیجه مثبت کاذب خواهد شد. بنابراین آزمایشگاه باید برنامه مشخصی برای بررسی دوره‌ای میزان carryover داشته باشد.

* تداخل بواسطه وجود آنتی‌بادی‌های ضد موش و یا هتروفیل در نمونه بیمار: در سرم برخی افراد آنتی‌بادی (اغلب از جنس IgG) بر علیه بعضی از ایمنوگلوبولین‌ها وجود دارد که ممکن است با آنتی‌بادی‌های به کار رفته در روش ایمنواسی برای اندازه‌گیری تومورمارکرها واکنش نشان داده و موجب نتایج غیرواقعی شود. همچنین امکان دارد پیدایش آنتی‌بادی‌های انسانی بر علیه آنتی‌بادی‌های موشی (HAMAS) که در سرم بیمار بدلیل اهداف درمانی (مثل استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال با منشا موشی در ایمنوتراپی بیماران سرطانی) مورد استفاده قرار گرفته‌اند موجب تداخل گردد. آگاهی از وجود این آنتی‌بادی‌های مداخله‌گر و احتمال اشتباه در اندازه‌گیری تومور مارکر به درجه بالایی از ظن بالینی و داشتن اطلاعات کافی از شرح حال و سابقه بیمار نیاز دارد.

در صورت شک به وجود این آنتی‌بادی‌ها و تداخل در آزمایش می‌توان از روش‌های مختلفی برای اطمینان از صحت اندازه‌گیری و نتیجه آزمایش استفاده کرد. از جمله:

- تکرار تست در رقت‌های مختلف: خطی بودن نتایج به نفع عدم وجود آنتی‌بادی مداخله‌گر است (البته قطعی نیست) و نتایج غیر-خطی احتمال تداخل با آنتی‌بادی‌ها را مطرح می‌کند.

- تکرار تست بعد از استفاده از یک عامل بلوک‌کننده تجاری: برخی تولیدکنندگان کیت‌های ایمنواسی، همراه با کیت یک محلول حاوی مواد بلوک‌کننده آنتی‌بادی‌های مداخله‌گر (به خصوص هتروفیل) را در اختیار مصرف‌کننده قرار می‌دهند که در صورت شک به وجود این آنتی‌بادی‌ها سرم بیمار قبل از آزمایش با این محلول انکوبه می‌شود.

آزمایشگاه‌ها باید قادر باشند برای برخی تومورمارکرها خاص (مثل AFP و hCG) امکان محاسبه نیمه عمر (زمانی که طول می‌کشد بعد از برداشتن تومور، سطح سرمی تومورمارکر نصف شود) و زمان دو برابر شدن (Doubling time) غلظت تومورمارکرها را فراهم نمایند.

شکل صفحه آخر نمونه ای از گزارش استاندارد نتیجه تست تومورمارکر برای یک بیمار می باشد. همانطور که مشاهده می شود گزارش گرافیکی نتایج در طول درمان با توجه به زمان، نوع درمان و نوع روش آزمایشگاهی و محل انجام آزمایش و هرگونه اقدام درمانی از جمله دریافت دارو یا جراحی و... در آن ثبت شده است.

به یاد داشته باشید:

سرطان‌ها گروهی از بیماری‌های هتروژن می‌باشند که علی‌رغم رشد چشمگیر در درمان آن‌ها طی دهه‌های اخیر، هنوز از عوامل اصلی مرگ و میر به شمار می‌روند. تومورمارکرها شاخص‌هایی هستند که می‌توانند در تشخیص یا تایید تشخیص، روند و اثر-بخشی درمان، سیر بیماری، تخمین پیش آگهی و پیش بینی موثر بودن یک درمان خاص کمک‌کننده باشند. نتایج تست‌های تومور-مارکر به ندرت تشخیصی بوده و نمی‌توانند جایگزین روش‌های اصلی تشخیص سرطان مثل بیوپسی بشوند. اندازه‌گیری آن‌ها با هدف تشخیص سرطان در بیماران بی علامت و یا با علائم مبهم در جمعیتی که بدخیمی مورد نظر شیوع پایینی دارد توصیه نمی‌شود. باید دقت نمود که افزایش تومورمارکر لزوماً به معنای بدخیمی نیست، همان‌طور که نرمال بودن آن نمی‌تواند وجود بدخیمی را رد کند. همان‌گونه که پیش‌تر بیان شد هر تومورمارکر کارکرد و قابلیت ویژه‌ای دارد (جدول صفحه 4) و استفاده عمومی از تومورمارکرها برای اهدافی که کارایی لازم در آن مورد را ندارند صحیح نیست (مثل درخواست CA15.3 برای تشخیص زودرس سرطان پستان در جمعیت عمومی).

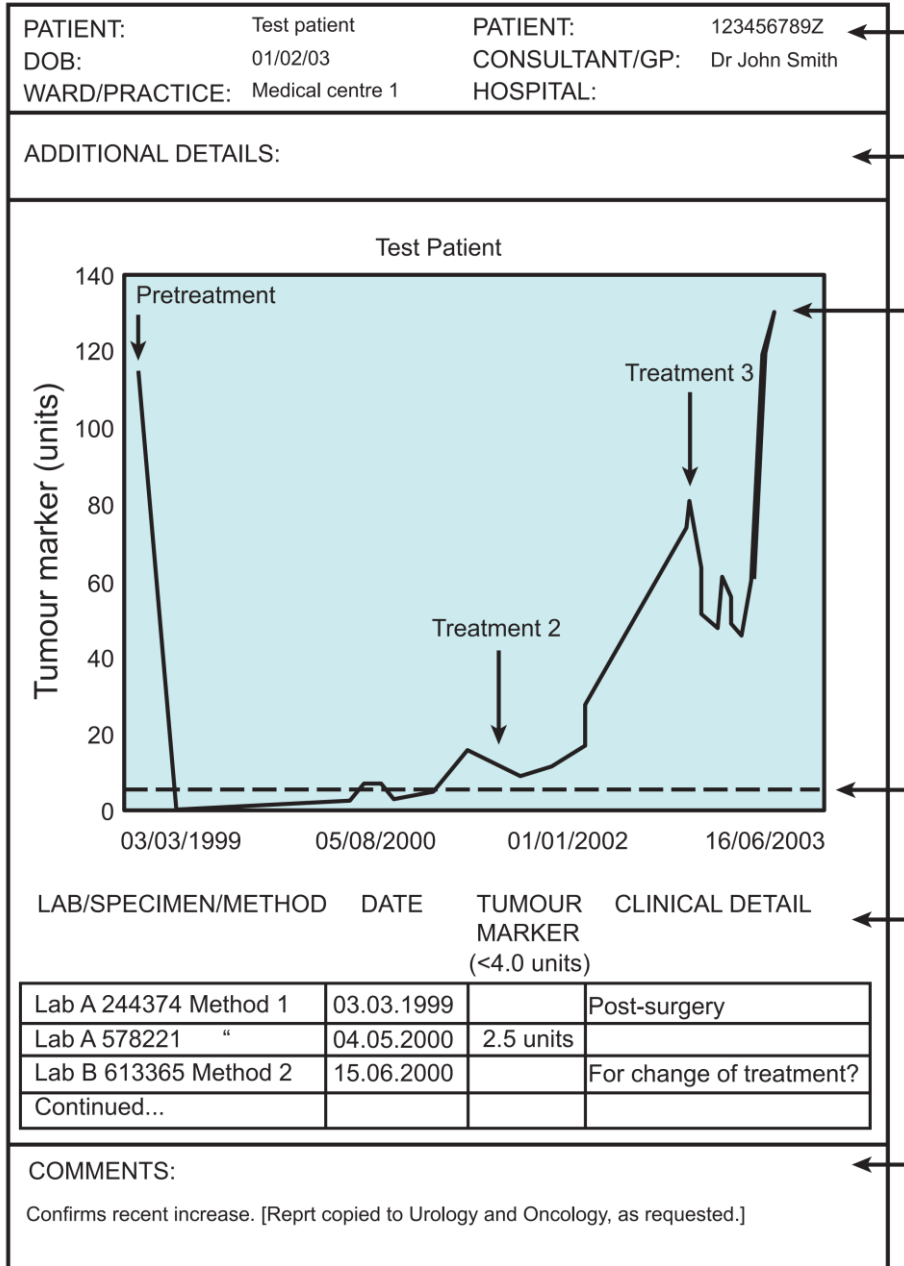
توجه: در صورتی که نتیجه آزمایش تومورمارکر در درمان و یا انتخاب نوع درمان تاثیر داشته باشد باید با تکرار نمونه‌گیری از نتیجه آن اطمینان حاصل نمود.

شده تومورمارکرها به دلیل تغییر روش اندازه‌گیری اطمینان حاصل کند (مثلاً با تکرار نمونه‌های قبلی با متد جدید) و پزشک را برای تفسیر درست نتایج در جریان قرار دهد. نتایج بحرانی در برخی تومورمارکرها می‌تواند برای تشخیص مرحله پیشرفته بیماری در بیماران بدحال (اما قابل درمان) مفید باشد و باید توسط آزمایشگاه سریعاً به پزشک مربوطه اطلاع داده شود. از جمله این موارد می‌توان به گزارش AFP در هیپاتوبلاستوما، hCG در کوریوکارسینوما، AFP و hCG در ژرم سل تومورهای غیرسمینوماتوز و PSA در مردان با سرطان پیشرفته پروستات اشاره نمود.

مقادیر نرمال برای تومور مارکرها باید از مطالعه بر روی تعداد کافی از جمعیت سالم جامعه و با توجه به نوع روش اندازه‌گیری تعیین گردد. کاربرد چنین مقادیری بیشتر قبل از شروع درمان بوده و استفاده از آن‌ها پس از درمان گاهی ممکن است گمراه‌کننده نیز باشد. به عنوان مثال 6 ماه بعد از برداشتن پروستات، اگر نتیجه PSA برابر با $2\mu\text{g/L}$ باشد، با اینکه این عدد در محدوده رنج نرمال افراد سالم قرار دارد اما در بیمار جراحی و درمان شده می‌تواند نشان دهنده باقی ماندن بقایای تومور، پیشرفت و یا عود آن باشد. بنابراین در بیماران تحت درمان، نتایج اندازه‌گیری تومورمارکرها باید با نتایج قبلی در همان بیمار مقایسه شده و مورد تفسیر قرار گیرد.

برای اینکه مقدار افزایش یک تومورمارکر، قابل اهمیت و معنی‌دار در نظر گرفته شده و موجب تشخیص زودهنگام عود بدخیمی گردد ضروری است به قابلیت‌های فنی روش انجام آزمایش (مثل CV تست)، تغییرات بیولوژیک طبیعی سطح تومورمارکر در افراد و دامنه مقادیر نرمال در هر فرد توجه شود.

بطور کلی افزایش یا کاهش 25 درصدی در غلظت تومورمارکرها از نظر بالینی مهم در نظر گرفته می‌شود ولی این میزان تغییر، باید برای هر تومورمارکر و بر اساس خصوصیات فنی روش آزمایش، تغییرات بیولوژیک طبیعی، فاصله بین نمونه‌گیری‌ها و میزان قابل انتظار تغییر غلظت برای تومورهای خوش خیم و بدخیم تعریف و مشخص گردد.



منبع: