

Біомаркери в клінічній та експериментальній медицині

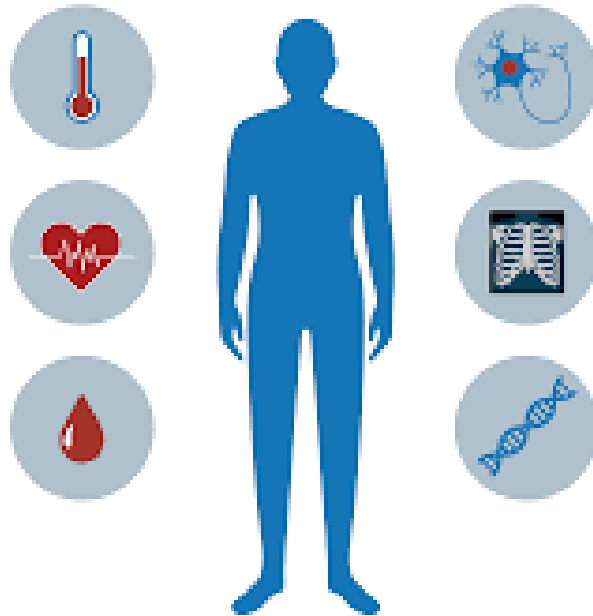
Професор Наталія Пентюк

Зміст лекції

- Класифікація біомаркерів.
- Методи виявлення та аналізу біомаркерів.
- Приклади застосування біомаркерів у різних галузях медицини.
- Розробка та валідація біомаркерів.
- Майбутнє біомаркерів

1. Вступ: що таке біомаркер і навіщо він потрібен

Робоче визначення (NIH/FDA):



Біомаркер – це характеристика, яку об'єктивно вимірюють і оцінюють як індикатор:



- нормальних біологічних процесів
- патологічних процесів
- фармакологічної відповіді на лікування.

1. Вступ: що таке біомаркер і навіщо він потрібен

**Біомаркером
можуть бути:**

молекули (білки, метаболіти, ДНК, РНК)

клітинні популяції

показники візуалізації (матове скло на КТ, об'єм інфаркту на МРТ)

фізіологічні сигнали (ЕКГ-параметри, варіабельність пульсу)

цифрові дані (частота серцевих скорочень, патерни сну) – digital biomarkers.

1. Вступ: що таке біомаркер і навіщо він потрібен

**Важливо
розрізнати:**

Біомаркер – це вимірюваний параметр.

Клінічна кінцева точка – «як пацієнт живе/почувається/функціонує/виживає» - смерть, виникнення захворювання, небажані явища (інфаркт, інсульт, рецидив, діаліз), якість життя.

Сурогатна кінцева точка – біомаркер, валідація якого довела, що зміна цього біомаркера надійно прогнозує зміну клінічної кінцевої точки.

2. Класифікація біомаркерів

Класифікація FDA–NIH BEST (7 категорій)

BEST-ресурс (Biomarkers, Endpoints and other Tools) запропонував універсальну таксономію з 7 типів біомаркерів за *контекстом використання* (context of use, COU).



Практичне значення BEST-ресурсу (Biomarkers, Endpoints and other Tools)

Можна використати при:

- розробці протоколу дослідження,
- грантовій заявці,
- при поданні до FDA/EMA,
- розробки лабораторних СОПів,
- при написанні статей, дисертації.

Спочатку визначити **контекст використання (Context of Use)**
Як формулюється COU?

Структура: «У [популяції] використання біомаркера (X) при порозі значення [] застосовується для [категорія BEST), щоб допомогти прийняти рішення про [клінічне втручання]».

Приклади

- **Діагностичний COU:** «У пацієнтів з гострим болем у грудях вимірювання вч тропоніну і з cut-off 99-го перцентилля використовується для діагностики гострого ІМ та рішення про госпіталізацію / реперфузію».
- **Прогностичний COU:** «У хворих на меланому ІІІ стадії рівень LDH вище [] ULN використовується як прогностичний біомаркер для оцінки ризику смерті та планування інтенсивності спостереження».
- **Предиктивний COU:** «У пацієнтів з недрібноклітинний рак легені тест на EGFR-мутації методом ПЛР використовується для відбору хворих, яким показаний гефітиніб».

Для клініциста - чітко розуміти, чи маркер каже про ризик, наявність хвороби чи реакцію на терапію.

Для регулятора (FDA/EMA) - приймати рішення про кваліфікацію біомаркера й затвердження м-ду визнач.

2. Класифікація біомаркерів

1. Susceptibility / Risk (сприйнятливість/ризик)

– Вказують на ймовірність розвитку захворювання в майбутньому у клінічно поки ще здорової особи.

Спадковий рак МЗ, яєчників	BRCA1,2 (гермін. мут.)	Високий довічний ризик раку → посилений скринінг, можливі проф. операції, PARP-інгібітори
Колоректальний рак	MMR-мутації	Ранній та частий ендоскопічний скринінг, нагляд за іншими пов'язаними пухлинами
ІХС, інсульт	ХС ЛПНЩ	Ключовий модифікований фактор ризику → визначає інтенсивність ліпідзнижувальної терапії
Атеросклероз / аорт. стеноз	Лп(а)	Додатковий незалежний ризик-фактор → аргумент для більш агресивної профілактики
Хвороба Альцгеймера	АРОЕ ε4	Підвищений ризик і більш ранній початок ХА → важливий для досліджень і стратифікації ризику
Спондилоартрити	HLA-B27	Суттєво підвищує ймовірність хвороби → підтримка ранньої діагностики в групах ризику
Цукровий діабет 2 типу	↑глю, HbA1c 5.7–6.4%	Високий ризик майбутнього ЦД2 → інтенсивна модифікація способу життя, превентивні втручання
ХОЗЛ, рак легень, ІХС	Куріння (пачко-роки)	Класичний кількісний ризик-маркер → показання до КТ, потужний таргет для профілактики

2. Класифікація біомаркерів

2. Diagnostic (діагностичні)

– Підтверджують/відкидають (rule in / rule out) наявність конкретного захворювання чи його підтипу.

- Приклади:

- **Високочутливі тропоніни (hs-cTn)** при гострому інфаркті міокарда.
- **HbA1c** для діагностики цукрового діабету.
- **TSH, вільний T4 (\pm T3)** – для діагностики гіпотиреозу / тиреотоксикозу
- **HER2 overexpression** - дозволяє виділити специфічний діагностичний підтип пухлини (HER2+ рак), що визначає терапію (trastuzumab).
- **Procalcitonin (PCT)** - допомагає відрізнити бактеріальну інфекцію від вірусної/неінфекційної запальної відповіді; діагностика та стратифікація сепсису.
- **вірусна РНК/ДНК** - діагностичний критерій активної інфекції.
- **RF, anti-CCP** - діагноз РА, входять у класифікаційні критерії
- **ANA, anti-dsDNA, anti-Sm**- діагноз СЧВ.
- **Еозинофіли крові/мокротиння, FeNO** - діагностика Т2-запального фенотипу астми.

2. Класифікація біомаркерів

3. Monitoring (моніторингові)

– Відображають **динаміку** захворювання або відповідь на лікування в часі.

- Приклади:
 - **NT-proBNP/BNP** для моніторингу серцевої недостатності.
 - **Креатинін/ШКФ** для моніторингу функції нирок.
 - **Рівень СРБ** – ефективність лікування РА
 - **Сироватковий креатинін, розрахункова ШКФ, альбумін/ креатинін сечі** - динаміка прогресування ХХН, підбір доз ліків, показання до діалізу.
 - **Пухлинні маркери** (СЕА, СА19-9, СА125, PSA тощо) - неідеальні для діагностики, але часто використовуються для моніторингу рецидиву/прогресії після первинного лікування
 - **CD4+ Т-клітини при ВІЛ** – моніторинг імунної реконституції та стадії захворювання
 - **Лактат** при критичних станах – моніторинг тканинної перфузії, ефективності реанімаційних заходів

2. Класифікація біомаркерів

4. Prognostic (прогностичні)

– Показують **ймовірність клінічної події** (рецидив, прогресування, смерть) незалежно від конкретної терапії.

- Приклади:

- Високий **NT-proBNP** – гірший прогноз при СН.
- **Фракція викиду ЛШ (LVEF)** після інфаркту - низька LVEF (<35–40%) → високий ризик раптової смерті, декомпенсації, показання до імплантації КД.
- Високий **Anti-CCP** –агресивний перебіг ревматоїдного артриту, ранні ерозії
- **HER2-overexpression** – гірший природний прогноз HER2+ раку молочної залози.
- **Рівень Ki-67** (проліферація) у пухлині - високий Ki-67 → вищий ризик рецидиву, коротший безрецидивний період (залежить від типу пухлини).
- **Рівень MRD** при лейкозах (Minimal Residual Disease) – це показник, що вимірює наявність навіть однієї чи кількох лейкомічних клітин, які залишилися в організмі після, здавалося б, успішного лікування та досягнення повної ремісії. Дозволяє оцінити ефективність терапії, спрогнозувати ризик рецидиву та визначити, чи потрібна подальша інтенсивна терапія

2. Класифікація біомаркерів

5. Predictive (предиктивні)

– Визначають, *хто відповідь або не відповідь* на конкретне лікування (є/немає користі, високий ризик токсичності).

- Приклади:

- **HER2** як предиктор ефективності трастузумаб.
- **EGFR-мутації, ALK-rearrangements** – відповідь на інгібітори ТК при раку легень.
- **PD-L1 експресія, TMB, ctDNA профілі** – відповідь на імунотерапію, зокрема інгібіторами контрольних точок, дозволяють персоналізувати лікування: висока експресія PD-L1 та висока TMB вказують на кращу відповідь, а моніторинг ctDNA допомагає оцінювати ефективність та ранні ознаки резистентності.

2. Класифікація біомаркерів

6. Pharmacodynamic / Response (фармакодинамічні / відповіді)

– Відображають **біологічну відповідь на втручання** (таргет-engagement, ефект на шляхи).

- Приклади:

- Зниження **фосфорильованого таргету** у пухлині після таргетної терапії.

Що відбувається з таргетом:

Зв'язування та інактивація: Препарат зв'язується з таргетом, перешкоджаючи його фосфорилуванню, що є ключовим для передачі сигналу росту клітині.

Фосфорилування як маркер резистентності: Якщо пухлина стає стійкою, таргет може знову фосфорилуватися, навіть за наявності препарату, або з'являються інші фосфорильовані білки, які обходять блокування.

Чому це важливо:

Вимірюючи рівень фосфорильованого таргету (наприклад, за допомогою біопсії пухлини або рідкої біопсії), лікарі бачать, чи препарат все ще працює, чи пухлина знайшла шлях для росту.

Це дозволяє вчасно змінити схему лікування на інший препарат (наприклад, інший таргетний препарат або інгібітор іншого сигнального шляху).

Отже, фосфорильований таргет після терапії часто є ознакою того, що пухлина знову активувалася, і необхідно переглянути стратегію лікування.

- Зниження **вірусного навантаження HIV** після початку АРТ.

2. Класифікація біомаркерів

7. Safety (безпекові)

– Відображають **ризик побічних ефектів** чи токсичності.

• Приклади:

- Підвищення **АЛТ/АСТ** як маркер лікарсько-індукованого ураження печінки (DILI).
- **Нейтропенія** як маркер токсичності хіміотерапії.
- **QTc (на ЕКГ)** - подовження QTc – безпековий біомаркер ризику torsades de pointes при прийомі антиаритміків, психотропних, макролідів тощо.
- **Креатинфосфокіназа (КФК)** - підвищення, особливо $>10 \times \text{ВМН}$, – маркер статин-асоційованої міопатії / рабдоміолізу, токсичності деяких антиретровірусних, протипухлинних, фторхінолонів.
- **МНО (INR)** при терапії варфарином - вихід за цільовий діапазон (INR $>3-4$) – підвищений ризик кровотеч (safety endpoint).
- **Рівень калію** при застосуванні інгібіторів РААС, калійзберігаючих діуретиків, деяких антибіотиків. Гіперкаліємія → ризик життєво небезпечних аритмій.

- У сучасній регуляторній термінології ключове поняття – **Context of Use (COU)**: одна й та ж молекула може виступати різними типами біомаркерів у різних контекстах

Приклад:

NT-proBNP – діагностичний, прогностичний і моніторинговий.

2.2. Інші осі класифікації

За природою аналізу:

- Генетичні (варіанти ДНК, полігенно-ризикові скоринги).
- Транскриптомні (mRNA, miRNA, lncRNA).
- Протеомні (білки плазми, цитокіни, ферменти).
- Метаболомні (метаболіти, ліпіди).
- Клітинні (імунні субпопуляції за проточною цитометрією).
- Візуалізаційні (SUV на PET, об'єм інфаркту за МРТ).
- Цифрові (wearables, смартфони, голос, патерни поведінки).

За часом: **trait vs state**

- *Trait-маркер* – відносно стабільний (генетичний ризик, структурні зміни).
- *State-маркер* – швидко змінюється при зміні стану (цитокіни, тропонін, CRP).

За джерелом зразка:

- кров, сеча, ліквор, слина, кал, тканина, видих, «рідка біопсія» (ctDNA, cfDNA, CTC) тощо.

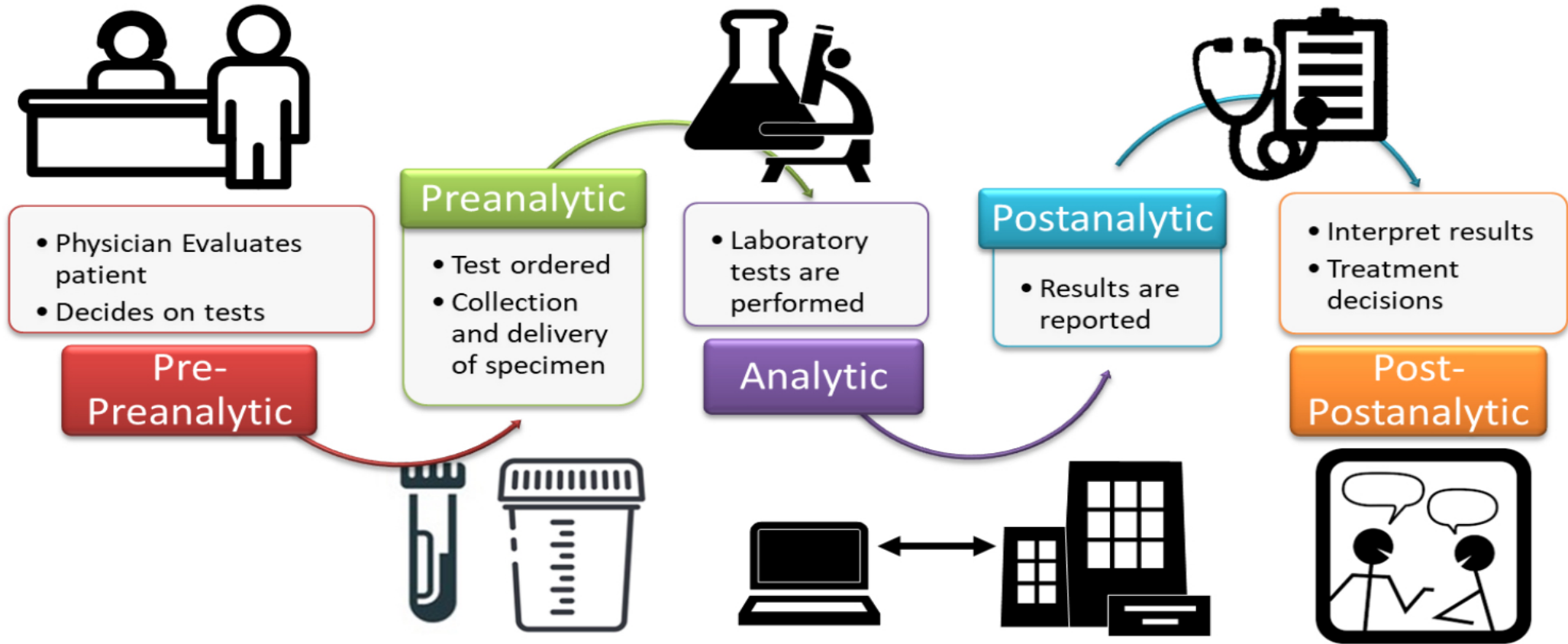
3. Методи виявлення та аналізу біомаркерів

Будь-який біомаркер – це не тільки «молекула», а й **тест**, що має:

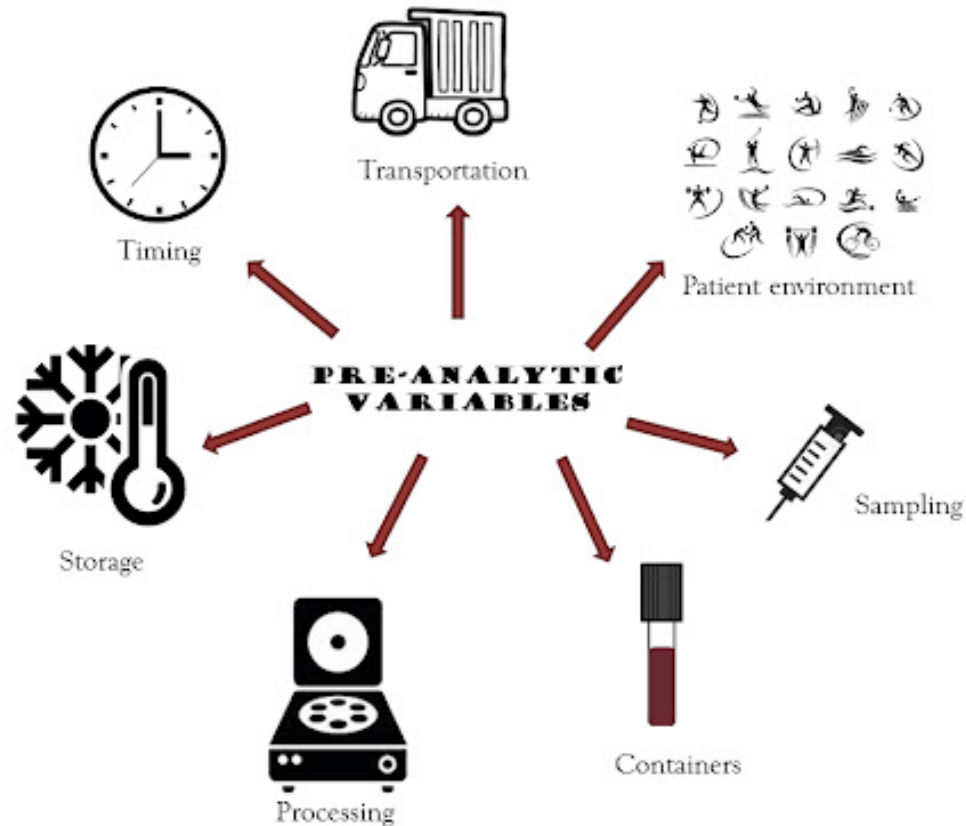
- **Аналітичну валідність** – наскільки точно й відтворювано ми вимірюємо параметр.
- **Клінічну валідність** – наскільки параметр асоційований із клінічним станом/подією.
- **Клінічну корисність** – чи змінює використання тесту клінічні рішення та *покращує* результати для пацієнта.

FDA/ICH-гайдлайни для біоаналітичної валідації описують ключові параметри: точність, прецизійність (наскільки варіюють вимірювання), лінійність, межі виявлення й кількісного визначення, селективність, стабільність, матричні ефекти тощо.

Diagnostic Process



Критично важливий: преаналітичний етап



- тип проби (цільна кров/плазма/сироватка, антикоагулянт),
- час до центрифугування, умови зберігання й транспортування,
- біологічні фактори (дієта, добовий ритм, фізичні навантаження, ліки).

Саме преаналітичні варіації часто «вбивають» перспективні біомаркери при переході в рутину.

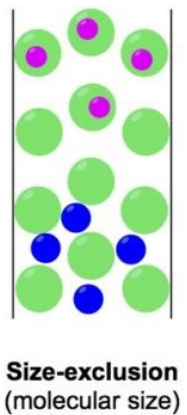
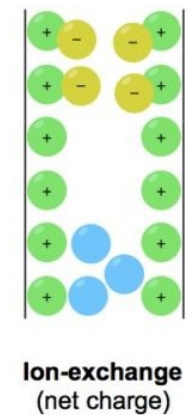
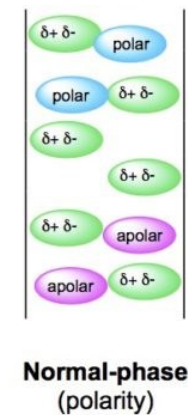
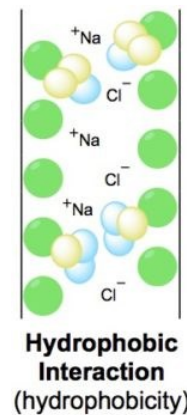
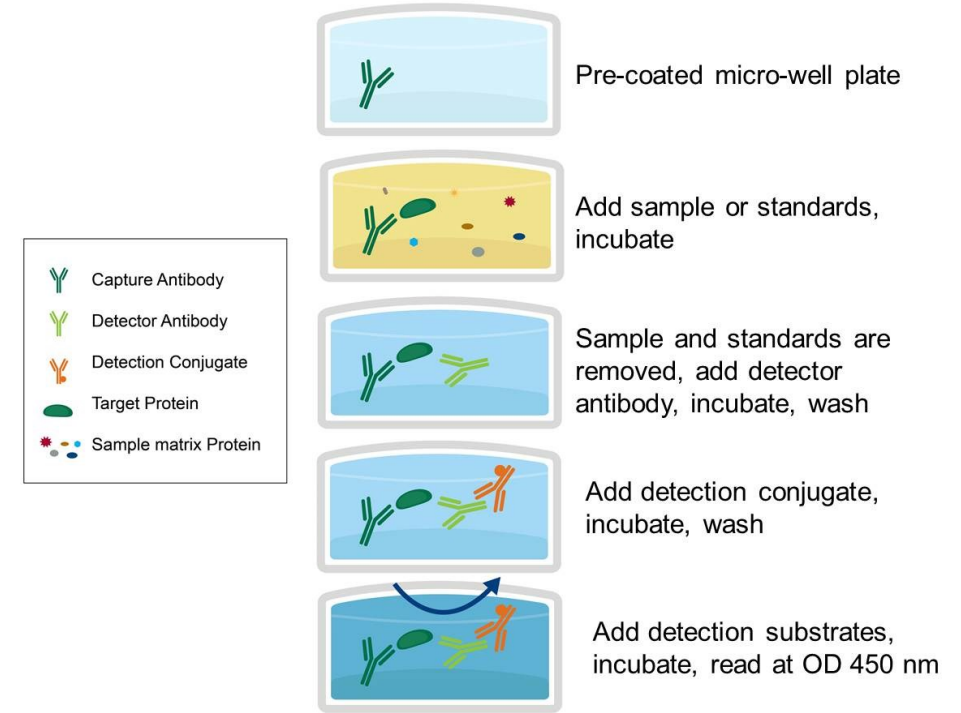
3.2. Основні аналітичні платформи

Імуноаналітичні методи

- ELISA, CLIA, ECL, lateral flow-тести.
- Переваги: відносна простота, висока чутливість, можливість автоматизації.
- Недоліки: перехресна реактивність антитіл, need for калібраторів, матричні ефекти.
- Приклади: тропонін, NT-proBNP, гормони, цитокіни.

Хроматографія + мас-спектрометрія (LC-MS/MS, GC-MS)

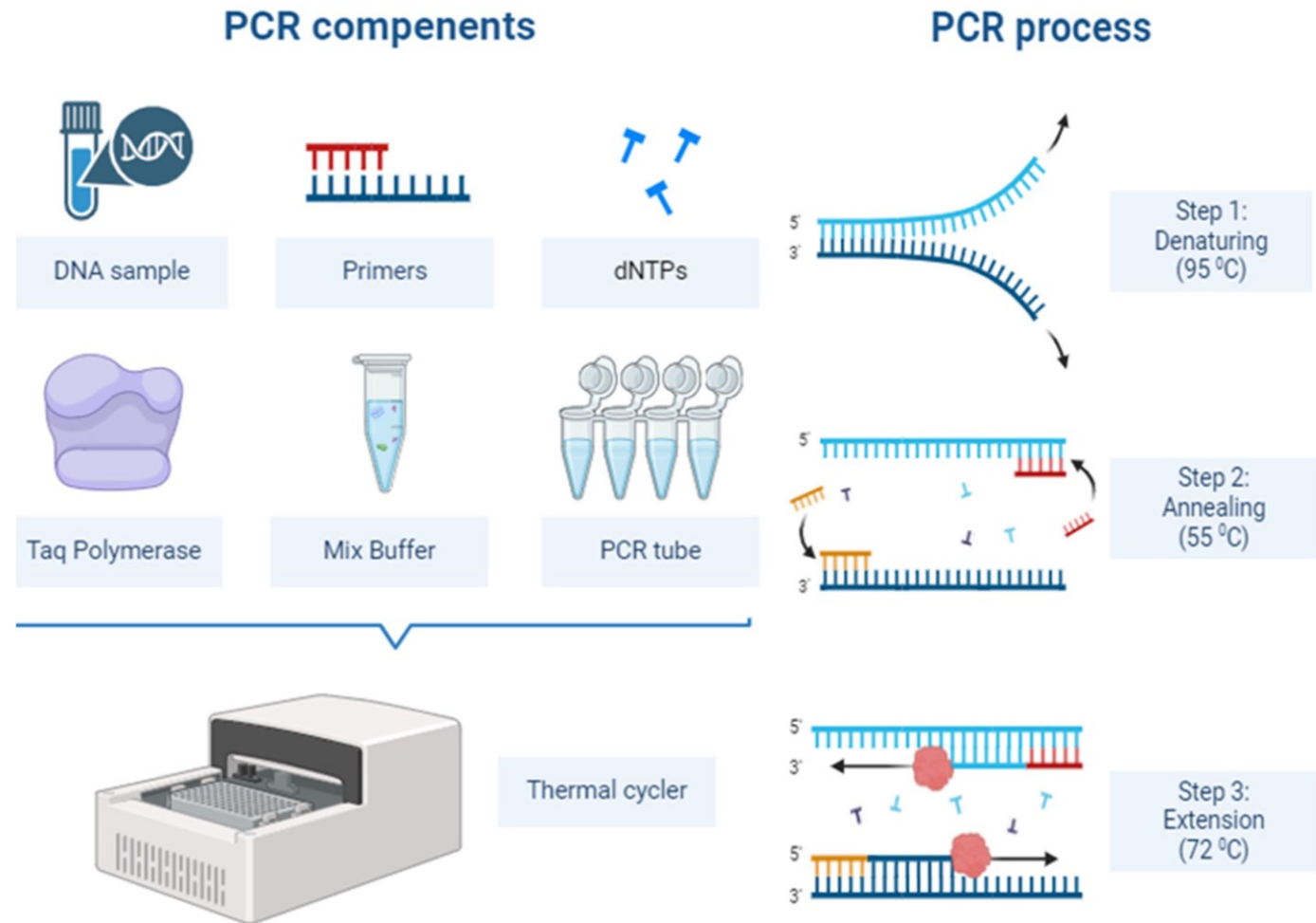
- «Золотий стандарт» для малих молекул, метаболітів, деяких пептидів.
- Висока специфічність, можливість мультиплексних панелей.
- Використовується для терапевтичного моніторингу, метаболоміки, точного кількісного визначення білків.



3.2. Основні аналітичні платформи

Молекулярна діагностика

- **qPCR, digital PCR** – кількісне визначення нуклеїнових кислот (вірусне навантаження, мутації).
- **NGS (next-generation sequencing)** – дозволяє паралельно читати тисячі–мільйони фрагментів ДНК/РНК - за один аналіз подивитись десятки/сотні генів, або взагалі весь геном
- **Мікрочипи, RNA-seq** – профіль експресії тисяч генів одразу (які гени «увімкнені / вимкнені»). Класичний інструмент для виявлення генних сигнатур (наприклад, підтипи раку молочної залози).



3.2. Основні аналітичні платформи

Проточна цитометрія та мас-цитометрія

- дозволяє швидко аналізувати в потоці велику кількість окремих клітин за їхніми фізичними та біохімічними властивостями.

Клітини потоком рідини проходять поодинці через лазерний промінь.

Детектори реєструють:

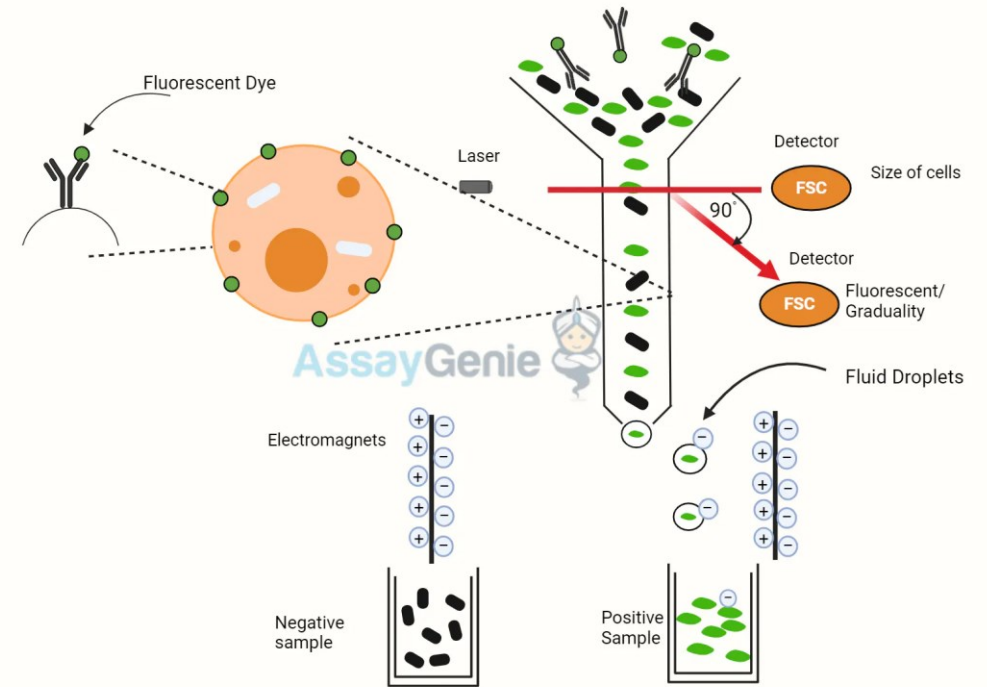
- розмір клітини;
- гранулярність;
- флуоресценцію флуорохромів, зв'язаних з антитілами до поверхневих/внутрішньоклітинних маркерів.

Результат – багатовимірний “портрет” кожної клітини (CD-маркери, розмір, гранулярність).

Для чого використовують:

- Імунний фенотип лейкоцитів (CD3, CD4, CD8, CD19, CD56 тощо) – діагностика імунodefіцитів, лімфом, лейкозів.
- Визначення мінімальної резидуальної хвороби (MRD) в онкогематології.
- Аналіз апоптозу, проліферації, циклу клітини, внутрішньоклітинних цитокінів (в дослідженнях).

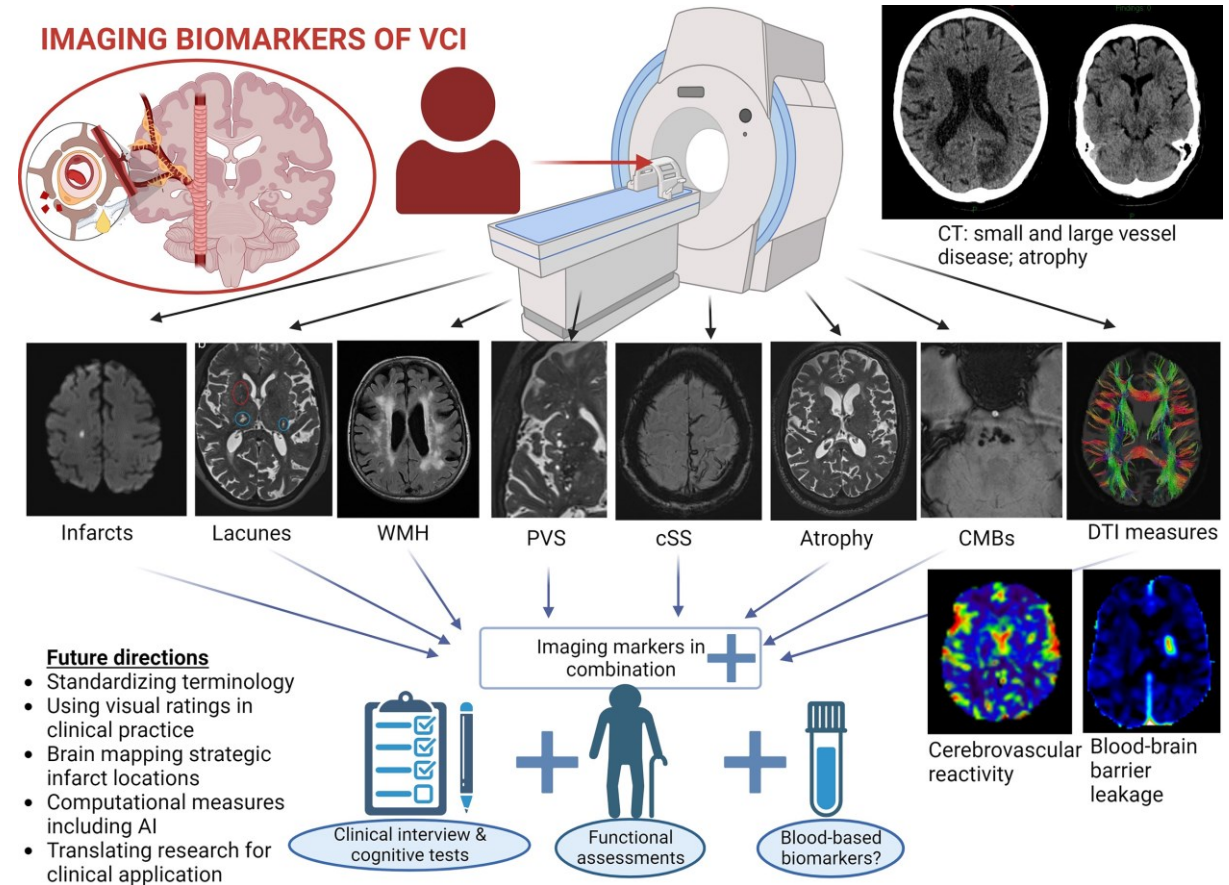
Flow Cytometry Principle



3.2. Основні аналітичні платформи

Візуалізаційні технології

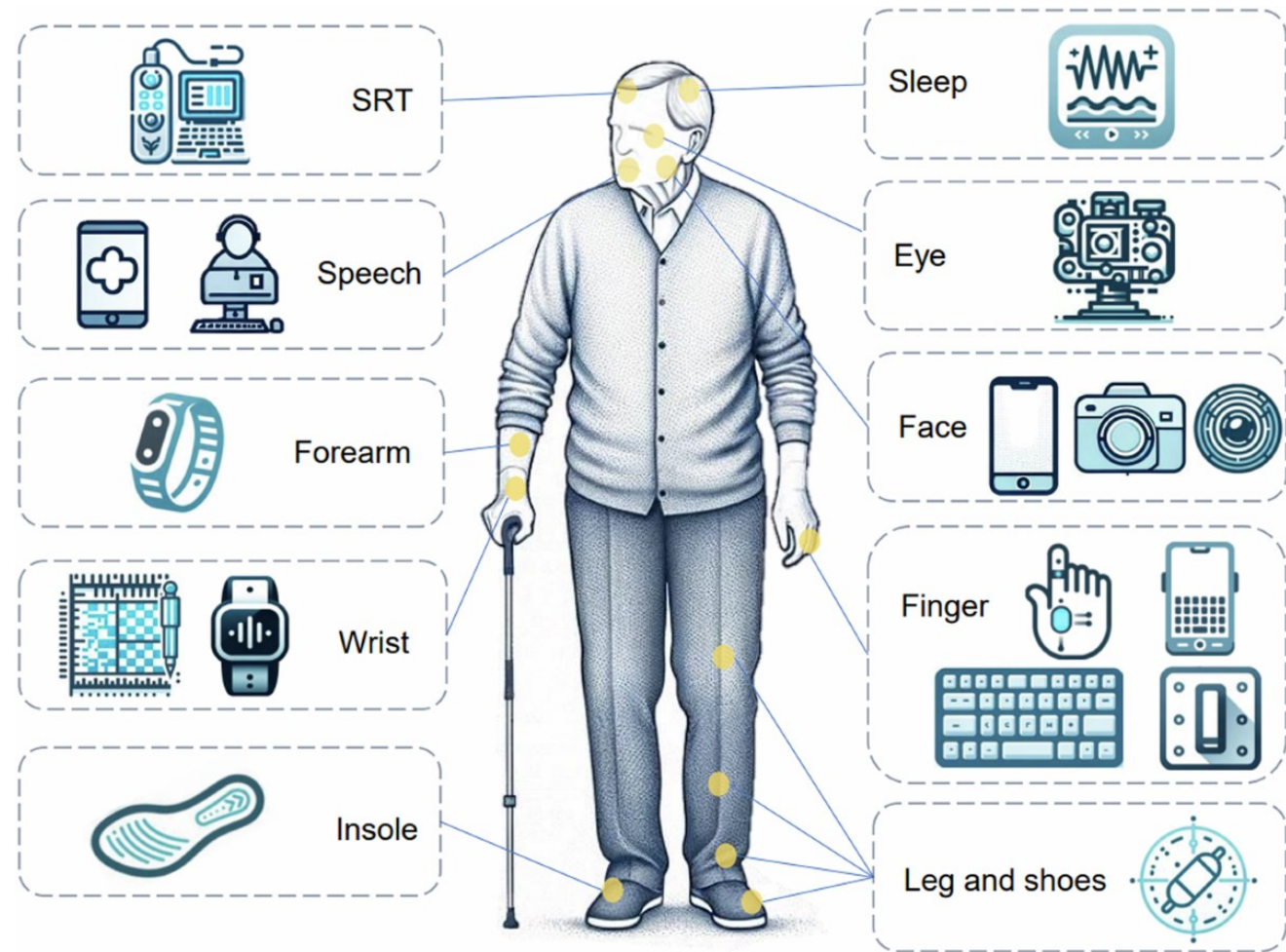
- СТ, MRI, PET, УЗД, SPECT, оптичні методи (OCT).
- Поняття **imaging biomarkers**: об'єм пухлини, SUVmax ("найгарячіший" пік - поглинання РФП), фракція викиду, brain atrophy index.
- Поєднання з ML/AI → **radiomics** – добування сотень кількісних ознак з зображень як біомаркерів.



3.2. Основні аналітичні платформи

Цифрові біомаркери

- Дані з **wearables, смартфонів, сенсорів, smart-rings, hearables**: частота серця, HRV, патерни руху, сон, голос, патерни використання телефону.
- Плюси: безперервний моніторинг, «реальний світ», низька інвазивність.
- Мінуси: шумні дані, гетерогенність пристроїв, питання приватності й регуляції.



5. Розробка та валідація біомаркерів

Відкриття

-omics-дослідження:
геноміка, транскриптоміка,
протеоміка, метаболоміка.
Пошук різниці між хворими /
здоровими, респондентами
/ нереспондентами



Верифікація / пріоритезація

Підтвердження асоціацій у
незалежних когортах менш
масштабними, але більш
таргетними методами



Аналітична валідація

Розробка стійкого методу
визнач. з чітко прописаною
СОП. Оцінка точності,
прецизійності, лінійності,
LoD/LoQ (межа виявл.),
селективності, стабільності



Типовий «життєвий цикл» біомаркера

Регуляторика / впровадж. в клінічну практику

FDA Biomarker Qualification
Program, де для конкретного
COU подається пакет доказів.
Паралельно: затвердження
діагн. тесту, рекомендації
проф. товариств, гайдлайни.



Доказ клінічної користі

Чи змінює використання БМ
діагностичний / лікувальний
алгоритм? Чи покращує це
виживаність, якість життя,
знижує витрати? Додаткові
рандом. дослідження.



Клінічна валідація

Демонстрація, що значення
БМ корелюють із клініч.
кінцевими точками.
Ретроспективні аналізи біо-
банків + проспект. когорти,
рандомізов. дослідження.

- Україні відсутні прямі аналоги FDA/EMA. IVD-тести (in vitro diagnostics) підлягають державній реєстрації як медичні вироби. Державний експертний центр МОЗ здійснює оцінку досьє на тест (аналітична валідність, клінічні дані, безпека). Біомаркер може бути використаний у клініці лише через затверджений assay (zareєстрований IVD). Для наукових досліджень часто застосовують лабораторні розробки (LDTs), але для рутинної практики потрібна офіційна державна реєстрація.

Психіатрія

Метааналіз 2020 р. у журналі Translational Psychiatry. «Evidence-based umbrella review of 162 peripheral biomarkers for major mental disorders»

Включає 110 публікацій; 162 різних негенетичних периферійних біомаркерів, пов'язаних із депресією, біполярним розладом, шизофренією, аутизмом.

Висновки:

Лише два біомаркери мали достатньо доказів для визнання їх валідними:

- **базальний рівень кортизолу у слині** в еутимічних пацієнтів (відсутні симптоми манії/депресії) з біполярним розладом порівняно з контрольною групою.
- **сироватковий піридоксаль** (віт. В6) у пацієнтів з шизофренією порівняно контрольною групою (порушення у one-carbon metabolism? Недостатнє харчування?).

«Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) has been extensively studied for its physiological role in cell survival and synaptic regulation in the central nervous system's (CNS's) neurons».

Неврологія

NfL - нейрофіламентарний легкий ланцюг (**neurofilament light chain**) - це білок, який є компонентом цитоскелету нейрона, зокрема - аксонів, особливо великих мієлінізованих волокон

При пошкодженні або дегенерації аксонів цей білок «виходить» з нейрона і потрапляє у спинномозкову рідину, а при масивному ушкодженні і в сироватку крові.

Патології, при яких може підвищуватися рівень NfL:

- Розсіяний склероз
- Хвороби мотонейрона
- ЧМТ
- Гострі та хронічні полірадикулонейропатії (см Гійєна-Барє, ХЗДП)
- Інсульт
- Хвороба дрібних судин
- Системні запальні хвороби з залученням нервової системи

Наразі найперспективнішою нішою використання NfL є моніторинг активності хвороби і оцінка відповіді на лікування при РС.

Неврологія

Біомаркери автоімунних енцефалітів:

- специфічні нейрональні антитіла (NMDAR, LGI1, CASPR2, GABABR, AMPAR, GAD, класичні onconeural) +
- підтримуючі зміни ліквору (плеоцитоз, ОКС, цитокіни)+
- МРТ (лімбічний патерн)+
- ЕЕГ.

Гастроентерологія

ГЕРХ

- **Слинний пепсин** - маркером потрапляння шлункового вмісту в глотку/ротову порожнину.
- **Леткі органічні сполуки видиху**: відбиток летких метаболітів у повітрі, що видихає пацієнт, як можливий неінвазивний скринінг ГЕРХ та передракових змін. Виявлено, що у пацієнтів із ГЕРХ та стравоходом Барретта підвищені рівні деяких летких сполук у видиху (сірководню, оцтової кислоти та ін.).
- **Cytosponge-TFF3** (капсула-губка + треоїловий фактор 3) - новітній метод діагностики стравоходу Барретта. Пацієнт проковтує капсулу на нитці, що розкривається у стравоході у губку, збираючи клітини слизової. Після вилучення губки проводять імуноцитохімічний аналіз на білок TFF3 (треоїловий фактор-3), який специфічно виявляє келихоподібні клітини інтестинальної метаплазії. Цей тест уже пройшов клінічні випробування у Британії: чутливість ~79-94%, специфічність ~92-95% для діагностики стравоходу Барретта.

Гастроентерологія

Виразкова хвороба шлунка і дванадцятипалої кишки

- **13C/14C-уреазний дихальний тест** - «золотий стандарт» неінвазивної діагностики активної *H. pylori*-інфекції завдяки найвищій точності - чутливість ~94% і специфічність ~95-97% (за умови відсутності недавнього прийому антибіотиків чи ІПП).
- **Тест на антиген *H. pylori* в калі** (чутливість -83-94%, специфічність -91-95%). Цей метод також затверджений для контролю ерадикації.

Аутоімунний та атрофічний гастрит

- **Пепсиноген I і II у крові.** Низький пепсиноген I (<70 нг/мл) та співвідношення PGI/PGII <3 свідчать про виражену атрофію слизової тіла шлунка. Комбінація тесту на *H. pylori* та рівнів пепсиногену - економічно ефективний скринінговий метод для раннього виявлення атрофії шлунку.
- **Антитіла до паріетальних клітин** - основний серологічний маркер аутоімунного гастриту. Позитивний результат у здорових людей асоційований з ризиком подальшого розвитку атрофії та B12 дефіцитної анемії.
- **Гастрин-17 (G-17).** При втраті кислотопродукуючих паріетальних клітин - ахлоргідрія - гіпергастринемія.

Гастроентерологія

Хвороба Крона та Виразковий коліт

Фекальний кальпротектин (FCP) - золотий стандарт.

- Кальпротектин - це білок, що вивільняється нейтрофілами; його високі концентрації в калі відображають міграцію нейтрофілів у просвіт кишки при запаленні. FCP має високу чутливість і дозволяє відрізнити запальну діарею від функціональних розладів. Регулярний моніторинг FCP широко впроваджено для оцінки відповіді на лікування (ціль treat-to-target - досягти нормалізації FCP, що асоціюється з ремісією слизової).
- Фекальний лактоферрин - маркер нейтрофільного запалення в кишечнику. Подібно до FCP, фекальний лактоферрин підвищений при активній ХК і використовується як альтернатива. Дослідження підтверджують високу чутливість і специфічність лактоферрину, хоча кальпротектин залишається більш валідованим.
- Антитіла (ASCA, pANCA). При ХК у ~50-70% пацієнтів виявляються антитіла до *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), тоді як при виразковому коліті часто позитивні перинуклеарні ANCA (pANCA). Ці тести історично застосовувались для диференціації ХК vs. НВК у неоднозначних випадках.

Метаболічно-асоційована стеатотична хвороба печінки

Комплексні сироваткові панелі

- **ELF (Enhanced Liver Fibrosis test):** Вимірює три матриксні білки: гіалуронову кислоту, проколаген III N-пептид та інгібітор металопротеїназ-1. ELF враховує процес ремоделювання печінки. Результат (від -7 до 11) корелює зі стадіями фіброзу: при ELF >9.8 імовірність фіброзу F3-F4 висока. У Великобританії ELF схвалений для використання в практиці.
- **FibroTest/FibroMeter:** панелі з 5-6 біохімічних показників (наприклад, альфа-2-макроглобулін, ГГТ, білірубін, АпоАІ, haptoglobin) для оцінки фіброзу. Вони досить точні, валідовані у вірусних гепатитах та НАСГ.
- **SteatoTest, NASH Test:** включають комбінацію біохімії, ІМТ та рівнів цитокінів для діагностики стеатозу і активності НАСГ.
- **NIS4 (NASHnext):** інноваційний біомаркерний комплекс, призначений для діагностики НАСГ з вираженим запаленням і фіброзом. Включає 4 компоненти: а2-макроглобулін, гемоглобін А1с, YKL-40 (хітотрипсидаза) та мікроРНК-34а.

- **Натрійуретичні пептиди (ANP, BNP, NT-proBNP)**
- Застосування:
 - - діагностика гострої та хронічної серцевої недостатності;
 - - стратифікації прогнозу при вже підтвердженій СН;
 - - моніторинг лікування СН (переважно, у дослідницькій практиці).
- Матеріал для дослідження:
 - - венозна кров.
- Методи визначення:
 - - імуноферментний аналіз;
 - - імунохемілюмінесцентний аналіз.
-
- **а) Atrial Natriuretic Peptide (ANP)**
 - - синтезується переважно кардіоміоцитами передсердь у вигляді прекурсора (pre-proANP);
 - - накопичується в секреторних гранулах передсердних кардіоміоцитів і швидко вивільняється у відповідь на розтягнення стінки передсердь;
 - - короткий період напіврозпаду – близько 2–5 хвилин.
-
- **б) B-type Natriuretic Peptide (BNP)**
- Застосування:
 - - синтезується переважно кардіоміоцитами шлуночків;
 - - у нормі утворюється в мінімальній кількості, не запасється у гранулах;
 - - при ураженні міокарда утворюється proBNP, який розщеплюється на активний гормон BNP-32 та неактивний N-кінцевий фрагмент NT-proBNP.
-
- - період напіврозпаду: BNP – 20 хв, NT-proBNP – 90-120 хв.
-
- Переваги NT-proBNP над іншими натрійуретичними пептидами:

- **Асиметричний диметиларгінін (ADMA)** – конкурентний інгібітор синтази оксиду азоту; прогностичний маркер ендотеліальної дисфункції.
- Застосування:
- Методи визначення:
 - - рідинна хроматографія або мас-спектрометрія (плазма крові).
- Інтерпретація результатів:
 - - підвищення > 0.5 мкмоль/л – виражена ендотеліальна дисфункція;
-

- **Циркулюючі мікроРНК (miRNA)** - короткі некодуючі РНК, які пригнічують трансляцію мішеней на рівні mRNA;
- - володіють тканинною специфічністю (кардіальні miR-1,-133,-208,-499; ендотеліальні miR-126 тощо);
- - відображають процеси некрозу, фіброзу, ремоделювання, ендотеліальної дисфункції;
- - перспективні ранні біомаркери, що потребують подальших стандартизованих досліджень;
- - на сьогоднішній день – використання лише у рамках клінічних досліджень.
- Застосування:
 - - коронарний атеросклероз;
 - - серцева недостатність;
 - - порушення серцевого ритму;
 - - кардіоміопатії, міокардит;
 - - гіпертонічна хвороба.
- Матеріал для дослідження:
 - - венозна кров.
 -
- Методи визначення:
 - - кількісна зворотня транскрипція ПЛР (RT-qPCR);
 - - секвенування мікроРНК.
- Інтерпритація результатів:
 - - стандартизовані клінічні порогові значення поки не розроблені (велика варіабельність дослідницьких результатів).
 - - необхідна подальша стандартизація преаналітики
 -

- Cardiac myosin-binding protein C (cMyC)
- Структурний білок саркомера кардіоміоцитів, вивільняється при некрозі. Зростає і виводиться з крові швидше, ніж тропоніни → потенційно кращий для надранньої діагностики ГІМ (0–1 год). Висока кардіоспецифічність. Потенційне застосування: комбінація hs-cTn + cMyC для одноразового забору крові й швидкого rule-in/rule-out NSTEMI.
-
- Copeptin (C-terminal pro-vasopressin)
- Стабільний фрагмент прекурсора вазопресину → маркер стресу та нейрогуморальної активації. Пік у перші години ішемії, коли тропонін ще може бути нормальний. Комбінація hs-cTn + copeptin дозволяє швидко виключати ГІМ у низькоризикових пацієнтів (стратегія «dual marker»).
-
- sST2 (soluble suppression of tumorigenicity-2)
- Рецептор до IL-33; відображає розтягнення та фіброз кардіоміоцитів.
- Незалежно прогнозує загальну та серцево-судинну смертність при хронічній СН. Динаміка рівнів (↑ за рік) пов'язана з гіршими наслідками → кандидат для моніторингу. sST2 vs NT-proBNP: менше залежить від віку, ожиріння, ФП, ниркової функції.
-
- Galectin-3
- Лектин, залучений у фіброз та ремоделювання. При СН: вищі рівні → гірший прогноз, вища смертність та частота госпіталізацій. Доволі неспецифічний (печінка, нирки, системні фібротичні процеси), тому частіше як додатковий маркер фіброзу.

- **Кардіальний тропонін (сТnI / сТnT)**
- Специфічний білок серцевого м'яза, який вивільняється в кров при ушкодженні кардіоміоцитів. сТnI та сТnT - комплекс білків, відповідальних за скорочення серцевого м'яза. Коли підвищується: гострий інфаркт, міокардит, тяжка серцева недостатність, тахі-/брадиаритмії, ТЕЛА, сепсис, ниркова недостатність та інші стани з ушкодженням міокарда.
- Високочутливі тести (hs-сТn): дозволяють виявити мінімальне пошкодження міокарда вже через кілька годин.

Гостре ураження нирок

1. Чому потрібні “нові” біомаркери?

Класичні критерії AKI (KDIGO) — **креатинін сироватки + діурез:**

- підвищення $sCr \geq 0,3$ мг/дл за 48 год або $\geq 1,5\times$ від вихідного
- або діурез $< 0,5$ мл/кг/год ≥ 6 год

Проблема:

креатинін — запізнений і нечутливий маркер (зростає через 24–48 год після реального ушкодження; залежить від м'язової маси, гідратації тощо).

Гостре ураження нирок

2. Умовна класифікація біомаркерів АКІ

За сучасними оглядами та KDIGO-апдейтами можна виділити

Функціональні (glomerular filtration)

- sCr, сечовина
- Цистатин С (сироватковий/сечовий)

Біомаркери ушкодження каналців (“damage biomarkers”)

- NGAL (нейтрофільний желатиназ-асоційований ліпокалін)
- KIM-1 (kidney injury molecule-1)
- IL-18
- L-FABP (liver fatty acid–binding protein)

Маркер(и) стресу/зупинки клітинного циклу

- [TIMP-2]·[IGFBP7] (комерційний тест NephroCheck)

Перспективні / дослідницькі

- CCL14, CH3L1 (chitinase-3 like protein 1)
- мітохондріальна ДНК у сечі (mtDNA)
- уромодулін,
- маркери апоптозу,
- метаболоміка/протеоміка тощо

Гостре ураження нирок

NephroCheck — це комерційний тест для ранньої оцінки ризику **ГУН (АКІ)** на основі вимірювання двох сечових біомаркерів **TIMP-2** та **IGFBP7**.

Тест визначає добуток концентрацій у сечі: $[TIMP-2] \times [IGFBP7]$ і видає AKI RISK Score

Це маркер “стресу”/зупинки клітинного циклу у клітинах ниркових канальців, тобто сигнал того, що канальцевий епітелій “гальмує поділ”, щоб захиститися від пошкодження.

- TIMP-2 – тканинний інгібітор металопротеїназ-2
- IGFBP7 – білок, що зв’язує інсуліноподібний фактор росту-7
- Обидва індуються при “стресі” проксимальних і дистальних канальців (ішемія, токсини, запалення).

NephroCheck затверджений FDA для використання у госпіталізованих дорослих з високим ризиком ГУН (реанімація, великі операції, сепсис тощо) для:

- прогнозу розвитку помірно-тяжкого/тяжкого ГУН (KDIGO 2–3) протягом найближчих ~12 годин,
- для допоміжної стратифікації ризику разом з креатиніном, діурезом та клінікою, а не замість них.

Гостре ураження нирок

NGAL (нейтрофільний желатиназ-асоційований ліпокалін)

- Білок, що швидко вивільняється з пошкоджених канальців та нейтрофілів. Один з найраніших маркерів ГУН: рівень у сечі/плазмі зростає вже через 2–6 год після ушкодження – на 1–2 доби раніше за креатинін. Високий NGAL прогнозує важкість ГУН, потребу в діалізі та летальність. >500 публікацій, мета-аналізи підтвердили ранню діагностичну цінність.

IL-18 (інтерлейкін-18)

- Прозапальний цитокін, що утворюється в нирках при ішемічному пошкодженні. Підвищення концентрації IL-18 в сечі відбувається на ранніх стадіях ГУН. В дослідженнях комбінування IL-18 з KIM-1 покращувало передбачення важкого ГУН. Помірна: продемонстровано діагностичну значущість у ряді досліджень, але є залежність від типу ушкодження (специфічніший для ішемії)

KIM-1 (Kidney Injury Molecule-1)

- Трансмембранний глікопротеїн, надекспресується у проксимальних канальцях після ішемічного/токсичного ушкодження. Підвищується в сечі протягом перших годин–доби після ушкодження, особливо при токсичній та ішемічному тубулярному некрозі. Клінічне значення: диференціація ішемічного/токсичного АКІ vs преренальна азотемія; маркер токсичності лікарських засобів у дослідженнях (наприклад, платина, аміноглікозиди).

Біомаркери запалення:

1. Класичні рутинні маркери

1.1. С-реактивний білок (CRP, hsCRP) - білок гострої фази, синтезується печінкою під дією IL-6, IL-1, TNF- α .

Кінетика: починає зростати через ~6–8 год після стимулу, пік через 24–48 год,

Клінічно: універсальний маркер гострого запалення (інфекція, автоімунні, травма, операція, інфаркт тощо); добре корелює з активністю багатьох запальних захворювань (ревматологія, інфекції).

- **hsCRP (high-sensitivity):** метод, що вимірює **дуже низькі рівні CRP** (0,1–10 мг/л); використовується для **кардіоваскулярного ризику**: підвищений hsCRP асоційований з вищим ризиком ІХС, інсульту та серцевої недостатності, навіть у людей без класичних факторів ризику

Практика: CRP — “робоча конячка” запалення; hsCRP — радше про **хронічне низькоградусне запалення та СС-ризик**.

1.2. Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) відображає схильність еритроцитів до агрегації → залежить від концентрації фібриногену та інших білків гострої фази.

Кінетика: повільно реагує (дні, а не години);

Клініка: “грубий” індикатор **хронічного запалення**

1.3. Лейкоцитоз, формула, NLR

Загальна кількість лейкоцитів, зсув формули вліво → класична реакція на запалення.

- **NLR (neutrophil-to-lymphocyte ratio):** ↑ NLR асоційований з бактеріальною інфекцією, тяжкістю системного запалення, гіршим прогнозом при ССЗ, онкопатології тощо (перспективний, але не стандартизований маркер).

Біомаркери запалення:

2. Специфічніші маркери інфекційного запалення

2.1. Прокальцитонін (PCT): попередник кальцитоніну, при бактеріальній інфекції синтезується багатьма тканинами у відповідь на LPS та цитокіни (IL-6, TNF- α).

Кінетика: підвищується протягом 4–6 годин, пік приблизно за 24 год

Клінічне значення: відносно специфічний для бактеріальної інфекції / сепсису (нижчий при вірусних інфекціях); використовується для диференціації бактеріальної vs небактеріальної причини запалення та для керування антибіотикотерапією (коли стартувати/скорочувати курс при респіраторних інфекціях і сепсисі; схвалено FDA/рекомендовано в гайдлайнах).

2.2. Presepsin (sCD14-ST): фрагмент CD14, що зростає при активації моноцитів/макрофагів; перспективний маркер сепсису (частіше у дослідженнях).

Біомаркери запалення:

3.1. Позитивні гострофазові білки

- Окрім CRP:
- Сироватковий амілоїд А (SAA):
- Фібриноген:
- Феритин:
- Гаптоглобін, α 1-антитрипсин, комплемент (C3, C4) — також позитивні гострофазові білки.

3.2. Негативні гострофазові білки

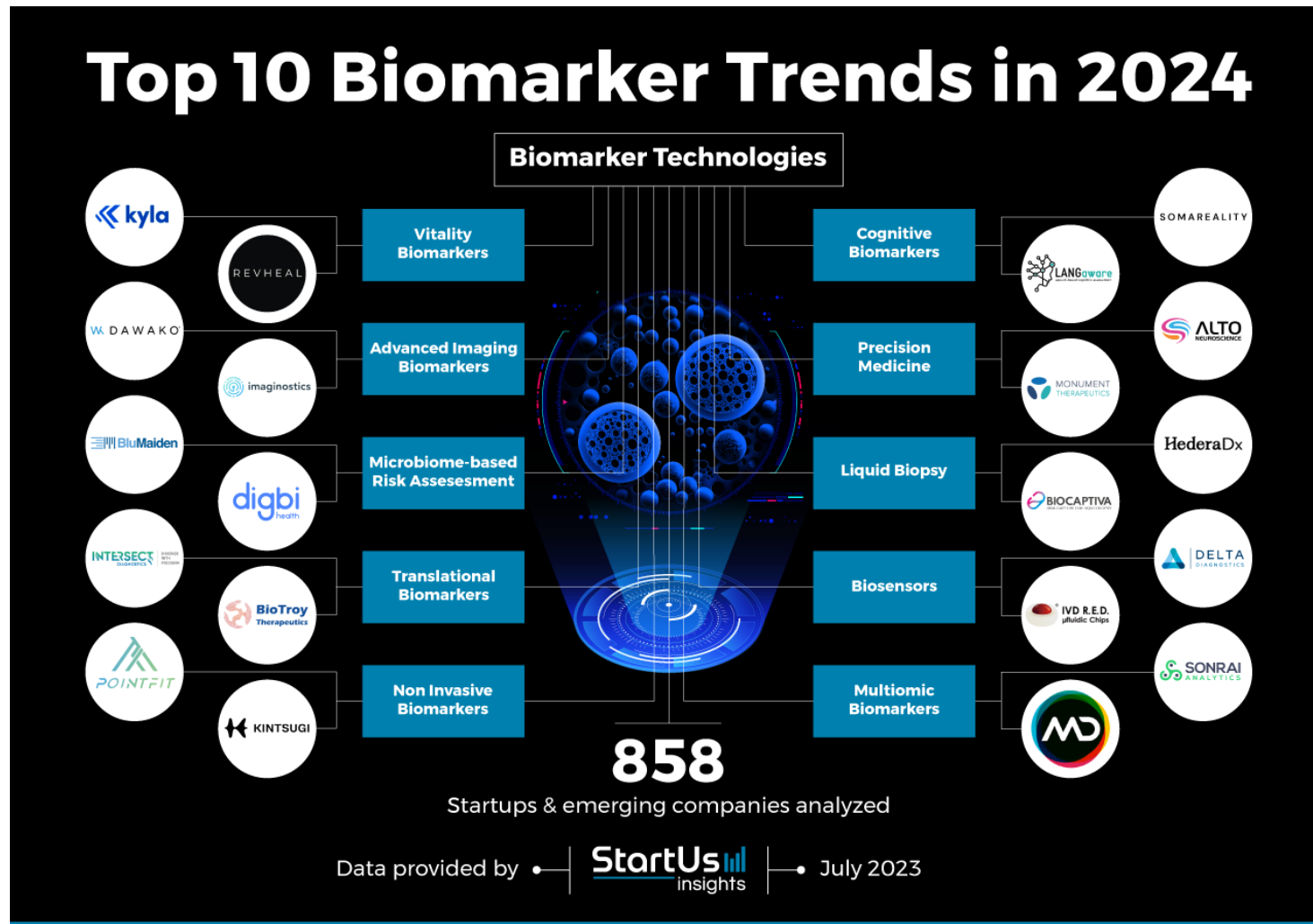
- Альбумін, преальбумін (транстретин), трансферин — їх рівень **знижується** при системному запаленні. Використовуються як **індикатори хронічного запалення/катаболізму**, але сильно залежать від нутритивного статусу, печінкової функції тощо.

4. Цитокіни як біомаркери запалення

- IL-6, IL-1 β , TNF- α — ключові **прозапальні цитокіни**, що запускають гострофазову реакцію (CRP, PCT, SAA, феритин і т.д.).

Пряме вимірювання IL-6, TNF- α : використовується переважно **в дослідженнях** або у спеціалізованих клінічних сценаріях (наприклад, моніторинг цитокінового шторму, оцінка активності деяких автоімунних хвороб).

10 Newest Trends in Biomarkers (2024)



1. Vitality Biomarkers
2. Advanced Imaging Biomarkers
3. Microbiome-based Risk Assessments
4. Translational Biomarkers
5. Non-Invasive Biomarkers
6. Cognitive Biomarkers
7. Biomarkers and Precision Medicine
8. Liquid Biopsy
9. Biosensors
10. Multiomic Biomarkers

Майбутнє біомаркерів

- **Від одиничних маркерів → до мульти-панелей та “omics”-підписів**
Геноміка, транскриптоміка, протеоміка, метаболоміка, мікробіом → інтегровані сигнатури хвороб.
- **AI/ML + big data = “розумні” біомаркери**
Моделі, що комбінують десятки показників, зображення, ЕМК, wearables → персоналізований ризик та прогноз.
- **Liquid biopsy та мінімально інвазивна діагностика**
cfDNA, ctDNA, екзосоми, клітинні та метаболічні маркери для раннього виявлення раку й моніторингу лікування.
- **Від діагнозу → до theranostics**
Thera” + “diagnostics” = theranostics Біомаркер не просто каже: “є хвороба”, а одразу відповідає на питання: яка саме таргетна терапія підходить, яка доза / тривалість, який ризик токсичності, як рано побачити, що лікування перестає працювати.
- **Point-of-care та домашній моніторинг**
Швидкі тести, сенсори, смартфон-платформи → динамічне ведення пацієнта в реальному часі.
- **Ключовий виклик: не лише знайти, а й довести**
Стандартизація, мультицентрова валідація, демонстрація клінічної користі, вартості-ефективності та етичної безпеки.
- **Підсумок**
Біомаркери стають мостом між фундаментальною наукою та клінічними рішеннями → основа прецизійної та персоналізованої медицини.