

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В СОВРЕМЕННОЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ ПРАКТИКЕ

М. С. Калишьян¹

¹ Ветеринарная клиника «Веллвет» (г. Москва, Российская Федерация)

Ключевые слова: биологические маркеры, онкомаркеры, валидация, иммуногистохимическое исследование, химиотерапия, собаки, кошки.

Резюме: Успех лечебных мероприятий зависит от доступности для практикующих врачей современных методов диагностики, понимания ими преимуществ и существующих ограничений каждого метода. Биологические маркеры (БМ) получили широкое применение в научной и практической медицине в качестве метода определения наличия или отсутствия заболевания, ответа на лечение, реакции организма на вмешательство или лечебное воздействие, прогноза развития заболевания. БМ предоставляют уникальную возможность для ранней малоинвазивной диагностики в онкологии, нефрологии, эндокринологии и других дисциплинах. Несмотря на определённый прогресс, в ветеринарии используется значительно меньшее количество биологических маркеров по сравнению с гуманной медициной. Некоторые БМ не актуальны для ветеринарии, другие недостаточно исследованы. От момента открытия молекулы, потенциально важной в качестве БМ, до внедрения её в практику может пройти очень много времени, или же это не произойдёт никогда. Данная работа посвящена обобщению имеющихся данных о наиболее широко используемых в ветеринарии БМ. В обзоре систематизирована информация о принципах поиска новых БМ, этапах валидации, а также факторах, препятствующих широкому внедрению БМ в клиническую лабораторную диагностику. Приведены сведения об используемых в настоящее время в различных областях клинической практики БМ и панелях БМ. Проанализированы 46 зарубежных и отечественных ветеринарных и биомедицинских публикаций за последние 10 лет.

Введение. Термин биологический маркер впервые появился в конце 60-х годов прошлого века и к 90-м годам стал использоваться в научной литературе повсеместно [1]. Основной областью применения БМ в диагностике заболеваний считается онкология, однако само понятие БМ гораздо шире. В качестве известных клиницистам БМ из других дисциплин можно привести СДМА в нефрологии, тропонин в кардиологии и ТЛГ в эндокринологии. Более традиционные БМ представляют собой простые характеристики состояния здоровья человека и животных: величина артериального давления, объём лёгких, концентрация глюкозы в сыворотке/плазме крови, объём мочи, клеточные метаболиты, липиды и другие физические и биохимические измеряемые величины [2]. Принципиально важной характеристикой БМ является возможность их количественной оценки [3]. Наличие и количество БМ могут быть определены в биологических жидкостях – крови и моче, в фекалиях, в мокроте, в образцах тканей и клеток и даже в выдыхаемом воздухе [4]. Областью применения БМ являет-

ся ветеринария мелких домашних животных-компаньонов, сельскохозяйственных животных и обеспечение продовольственной безопасности в целом. Ключевое различие между ветеринарными и медицинскими БМ заключается в том, что разработанный для одного вида животных БМ необязательно будет применим для другого вида. Существует несколько определённых БМ, используемых зарубежными исследователями:

«БМ – отличительные биологические индикаторы, используемые для идентификации, в том числе на основании косвенных признаков, что у животного произошло интересующее событие или физиологический процесс» [5].

«БМ – определённая количественная характеристика нормальных биологических процессов, патологических процессов или реакции на воздействие или вмешательство, включая терапевтическое лечение» [6].

«БМ – биологическая молекула, обнаруживаемая в крови, других жидкостях или тканях организма, являющаяся признаком нормального или патологического процес-

са, состояния или заболевания» [4].

Для успешного клинического применения биомаркер необходимо выбрать, изучить и валидировать [2]. Для поиска биомаркеров существуют две основные стратегии: стратегия, основанная на гипотезе или основанная на открытии. Идентификация биомаркеров на основе гипотезы осуществляется в результате анализа механизмов развития болезни. Выбор, основанный на открытии, является результатом скрининга множества молекул, потенциально связанных с изучаемой болезнью [7].

Несмотря на то, что за прошедшие десятилетия были открыты тысячи биологических маркеров, клиническое применение в медицине нашли менее ста, а в ветеринарии немногим более десяти молекулярных БМ.

Причиной этому являются неудачи в валидации, что, в свою очередь, является следствием отсутствия широкомасштабных когортных исследований вновь открытых потенциальных БМ и их панелей.

Под валидацией понимают процесс документированного подтверждения достижения разумной степени уверенности в том, что выбранный биомаркер выполняет свое функциональное назначение, а его использование приводит к ожидаемым результатам [7].

Этапы валидации:

оценка существующего или разработка нового метода определения БМ, включая преаналитическую подготовку.

клинические исследования, подтверждающие, что тест на определение БМ приемлемо идентифицирует, измеряет или предсказывает интересующие событие. Этот шаг включает установление чувствительности и специфичности БМ, референсных интервалов и пороговых значений для особей разного возраста, пола, породы и/или стадии заболевания.

Подтверждение клинической полезности. Этот этап включает определение прогностической ценности позитивного и негативного значения, оценку риска и преимуществ, связанных с использованием БМ [5].

Существуют классификации БМ по биологической роли в организме, по основной задаче, решаемой с их помощью, по медицинской дисциплине, в которой преимущественно реализуются возможности БМ.

БМ риска – указывающий на возможность развития заболевания или возмож-

ный ответ на воздействие у клинически здорового организма.

Диагностический БМ – используемый для выявления или подтверждения наличия заболевания, состояния и для уточнения нозологической формы.

Мониторинговый БМ – измеряемый массово и используемый для обнаружения изменения стадии или степени заболевания. Также может использоваться для определения токсичности, оценки безопасности или для предоставления доказательств воздействия, включая воздействие медицинских продуктов.

Определяющий – БМ, определяющий благоприятный или неблагоприятный эффект от конкретного вмешательства или воздействия.

Прогностический – БМ, используемый для определения вероятности клинического события, рецидива или прогрессирования заболевания.

Фармакодинамический/БМ ответа: – используемый для демонстрации биологической реакции на вмешательство или воздействие.

БМ безопасности – используемый для определения наличия токсичности или её степени в ответ на вмешательство или воздействие [6].

БМ в клинической онкологии

Ki-67 – ядерный белок, являющийся маркером пролиферации, уровень экспрессии которого изменяется в зависимости от фазы клеточного цикла с пиком в фазе митоза и минимальными значениями в фазе G0. Гиперэкспрессия Ki-67 определяется в различных опухолях собак, таких как РМЖ, саркомы мягких тканей, опухоли печени [8] и мастоцитомы [9]. Уровень экспрессии Ki-67 в опухолевой ткани определяется методом ИГХ с моноклональными антителами. Гиперэкспрессия Ki-67 коррелирует с неблагоприятными клиническими и гистопатологическими показателями тканей и с плохим прогнозом, но в то же время с хорошим ответом на химиотерапию, вероятно, из-за высокой пролиферативной активности [10]. Также экспрессия Ki-67 может быть определена в цитологических образцах, полученных методом ТИАБ, что создает возможность ранней диагностики опухолей [11].

Также в работах последних лет появились доказательства роли уровня экспрессии Ki-67 как предиктивного БМ эффективности адьювантной терапии РМЖ [11].

Уровень Ki-67 у старых собак, как пра-

вило, ниже, чем у молодых, вероятно, из-за того, что процессы опухолевой пролиферации с возрастом замедляются [12].

В исследовании Neumann с соавт. оценено содержание Ki-67 в сыворотке здоровых собак и собак с различными патологиями. Здоровые животные показали неопределяемые сывороточные концентрации Ki-67, а собаки со злокачественными новообразованиями имели значительно повышенную концентрацию Ki-67 в сыворотке по сравнению с собаками с неопухолевыми заболеваниями и с опухолями низкой злокачественности [10].

c-kit Ген c-kit кодирует рецепторную тирозинкиназу КИТ, которая играет центральную роль в пролиферации, дифференцировке и миграции тучных клеток и меланоцитов. В меланоцитах КИТ, кроме того, участвует в регуляции пигментации [13].

Наличие мутации в c-kit и гиперэкспрессия КИТ прогнозируют положительный ответ на лечение мастоцитом таргетными препаратами – ингибиторами тирозинкиназы (TKI), такими как Иматиниб, Тозераниб или Маситиниб. В меланомах гиперэкспрессия КИТ или мутации c-kit чаще встречаются при локализации на слизистой оболочке, чем в кожных меланомах. Однако роль КИТ в меланоцитарных клетках опухолей человека сильно варьируется в зависимости от подтипа меланоцитарного новообразования, а различные типы мутаций **c-kit** могут оказывать противоположное влияние на пролиферацию меланоцитов и ответ на терапию TKI. Терапия TKI может быть противопоказана для лечения некоторых типов меланоцитарных новообразований человека и привести к ускоренному прогрессированию меланомы на ранних стадиях [14].

Мутации c-kit могут быть наиболее информативными в случае идентификации опухолей, которые имеют гистологически низкую степень злокачественности, но могут быть биологически агрессивными, в то время как мембранная локализация КИТ с большей вероятностью позволяет идентифицировать опухоли, которые с меньшей вероятностью будут иметь прогрессирующее заболевание [15].

На сегодняшний день мало данных, свидетельствующих об эффективности применения ингибиторов тирозинкиназы для лечения меланомы собак с мутантным c-kit и гиперэкспрессией КИТ.

Гиперэкспрессия КИТ была также установлена в тканях мягкотканной фибросар-

комы кошек [16], мастоцитомы кошек, а также злокачественных опухолях хорьков, лошадей и коров [17].

HER-2 входят в семейство тирозинкиназных рецепторов эпидермальных факторов роста человека (erbB, или HER), включающее EGFR (HER-1), HER-2/neu, HER-3 и HER-4. Все они состоят из трех доменов: экстрацеллюлярного, который связывается с лигандом (фактором роста), трансмембранного (отвечает за промежуточную передачу сигнала) и внутриклеточного (тирозинкиназного). HER2 является мишенью для противоопухолевой терапии гуманизированными антителами, первым из которых является трастузумаб. [18]. Идентифицированный у собак гомологичный человеческому рецептор эпидермального фактора роста собак (HER2) также представляет собой тирозинкиназный рецептор, участвующий в процессах клеточной пролиферации и дифференциации [19]. Его роль в канцерогенезе была установлена в злокачественных опухолях собак и кошек, в том числе РМЖ, раке лёгкого и карциноме щитовидной железы [19, 20]. У собак частота гиперэкспрессии в злокачественных опухолях молочной железы варьируется от отсутствующей до 10 % случаев, и его прогностическая роль остается спорной. В ряде исследований была показана гомологичность и эволюционная консервативность HER-1 и HER-2/neu собак по сравнению с человеческими аналогами, включая эпитопы для антител трастузумаб и цетуксимаб. Клинические результаты применения МАТ у собак с карциномой молочной железы пока недоступны, однако подтверждено ингибирование трастузумабом роста клеточных линий карциномы собак [20].

Белок P53 является важным биомаркером неопластической трансформации клеток, деления клеток и апоптоза. Его биологическая роль заключается в обеспечении стабильности генома и генетической однородности клеток в целостном организме [21].

P53 отвечает за контроль клеточного цикла и апоптоз, и он является опухолевым супрессором, а при мутации кодирующего его гена он начинает играть роль онкогена. Мутации гена p53 считаются наиболее распространенным генетическим изменением в РМЖ человека и собак, связанным с опухолевой прогрессией [22].

И в медицине и в ветеринарии мутация p53 в основном оценивается с помощью ИГХ в опухолевых тканях.

У пациентов-людей мутация p53 обнаруживается в большинстве случаев РМЖ, особенно с агрессивным фенотипом, таких как тройной негативный РМЖ. Гиперэкспрессия P53 положительно коррелирует с худшим прогнозом заболевания и более короткой продолжительностью жизни [21].

В ветеринарии гиперэкспрессия P53 также обычно связана с плохой общей выживаемостью. Недавние исследования показали более высокую экспрессию P53 у крупных пород собак, с пока не подтверждённым предположением о существовании наследственной и породной предрасположенности к мутации в кодирующем гене [22].

Хотя P53 является хорошо изученным онкобелком, его экспрессия в мастоцитомах собак недостаточно исследована. Ряд авторов не обнаружил корреляции между иммунореактивностью P53 и биологическим поведением этого новообразования, и белок считался плохим прогностическим индикатором для проанализированных случаев. В противоположность этому было установлено, что экспрессия p53 коррелировала с экспрессией c-kit, что указывает на то, что экспрессия p53 также может использоваться для оценки прогноза мастоцитомы собак [23].

P63, гомолог P53, играет важную роль в клеточных процессах, включая морфогенез, пролиферацию и дифференцировку эпителиальных клеток [24]. P63, можно использовать в качестве биомаркера прогноза чувствительности к цисплатину в неoadъювантном и лечебном режимах ХТ РМЖ человека [25]. В этом контексте многие исследователи сосредоточились на определении профилей экспрессии P63 при различных видах рака, и были получены противоречивые результаты. Этот белок сверхэкспрессируется во многих опухолевых клетках или тканях, хотя потеря его экспрессии также была обнаружена в других исследованиях. Эти противоречивые результаты могут быть связаны с наличием множества изоформ P63 с противоположными функциями, которые могут действовать как онкогены, так и опухолевые супрессоры опухолей [24].

Тем не менее, на сегодняшний день экспрессия P63 была оценена в таких новообразованиях собак, как РМЖ, опухоль слюнной железы, аденокарциномах параанальных желёз, ПКР [26]. Также была показана возможная значимость P63 как БМ РМЖ кошек на небольшой выборке [27].

Альфа-фетопротейн – онкофетальный антиген, гликопротеин с молекулярной массой около 70 кДа, образующийся при внутриутробном развитии в желточном мешке, печени и желудочно-кишечном тракте плода, в норме отсутствующий в постнатальном периоде. Функциональная роль АФП многообразна и заключается в регуляции процессов клеточной пролиферации, апоптоза, обеспечения клетки энергетическим и пластическим материалом, индукции регуляторных сигналов через усиление экспрессии рецепторов и обеспечения синтеза простагландинов, тромбосанов и лейкотриенов, взаимодействия со структурами экстрацеллюлярного матрикса, иммуномодулирующих эффектов. Существенное увеличение концентрации АФП в сыворотке (плазме) крови наблюдается при злокачественных опухолях, в том числе при первичном гепатоцеллюлярном раке и герминогенных опухолях, некоторое увеличение — при острых и хронических гепатитах. При первичном раке печени усиленное образование АФП осуществляется в гепатоцитах (персистирующих гепатобластах), что приводит к увеличению концентрации АФП в сыворотке крови [28].

По данным ряда исследований, гиперэкспрессия АФП наблюдается в сыворотке крови собак со спонтанными опухолями печени, в то время как при гемобластозах диагностически значимое повышение сывороточного АФП (> 225 нг/мл) наблюдалось только при вторичном поражении печени. [29].

Значения АФП в сыворотке, измеренные с помощью антител к человеческому АФП составляют примерно 220 нг/мл у новорожденных щенков и 30–60 нг/мл у взрослых собак, однако также отмечена низкая чувствительность ELISA с использованием антител к АФП человека и значительный процент ложноположительных результатов [30].

Определённый интерес для использования в ветеринарной онкологии представляет рецептор к АФП, раковый антиген СА-62 – N-гликопротеин с N-асгликозидной связью и разветвленными антеннами полисахаридов, который в больших количествах образуется на поверхности эпителиальных клеток на ранних стадиях малигнизации. Гликопротеин СА-62 встроен в поверхностную мембрану и присоединяет АФП при помощи особой комбинации олигосахаридов, а также связывается с цитоплазматическими белками и

способствует рецептор-опосредованному эндцитозу внутрь клетки [31].

Ag-ЯОР – район ядрышкового организатора – это участок хромосомной ДНК, кодирующей рибосомную РНК и представленный множественными копиями генов рРНК, на каждом из которых синтезируются высокомолекулярные РНК-предшественники, которые превращаются в короткие молекулы РНК, входящие в состав субъединиц рибосом [32]. В рутинных гистологических и цитологических исследованиях применяется метод серебрения, который визуализирует материал белковой или липопротеидной природы, ассоциированный с AgЯО и принимающий участие в их функционировании. Ряд исследований, проведённых на различных типах опухолей, продемонстрировал, что злокачественные клетки часто содержат большее количество белка AgЯОР, чем соответствующие незлокачественные клетки. В раковых тканях экспрессия белка AgЯОР коррелирует со скоростью дупликации клеток. В настоящее время протокол окрашивания серебром стандартизирован, что позволяет избежать противоречивых результатов исследований разными авторами одного и того же биологического материала.

В исследовании Бокарева А. В. с соавт. было показано, что клетки ТВС собак имеют характерную морфологию ядрышка и ЯОР, отличающуюся от новообразований сходной локализации и гистогенеза при окраске серебром. На основании этого автором было предложено использовать AgЯОР в качестве БМ для мониторинга эффективности подавления опухолевого роста ТВС в процессе лечения, планирования продолжительности курса химиотерапии и цитологического подтверждения полной редукции опухоли [33].

БМ в других дисциплинах

Определённым успехом в нефрологии считается методика раннего выявления хронических заболеваний почек у кошек и собак с помощью симметричного диметиларгинина (СДМА).

СДМА представляет собой метилированную аминокислоту аргинин, схожую по размерам с креатинином. СДМА образуется при посттрансляционном метилировании аргинина аргининметилтрансферазой и практически полностью выделяется почками, что делает СДМА наиболее точным маркером для оценки их функции [34]. В качестве БМ для оценки функции почек

у кошек и собак имеет ряд преимуществ перед креатинином. Уровень СДМА повышается раньше уровня креатинина у собак и кошек с ХБП, а также не зависит от мышечной массы [34]. В отличие от СДМА у истощённых пожилых животных с ХБП уровень креатинина может оставаться в норме. Повышенный уровень СДМА и нормальный уровень креатинина могут также отмечаться у животных с обратимым поражением почек, если причину обнаружили и устранили или она разрешилась самопроизвольно.

В 1-2 % случаев ХБП собак и кошек возможна ситуация, когда уровень креатинина повышен, а СДМА в норме. Показатели СДМА и креатинина, вероятно, совпадут при контрольном исследовании спустя некоторое время. В целом вероятность такого сочетания показателей является крайне малой и отмечается лишь в 1 % образцов кошек и в 1 % образцов собак.

Прямое измерение СКФ является золотым стандартом для количественной оценки фильтрационной способности почек. Для этого используется введение инулина, цистатина С, Омнипака и некоторых других веществ с последующим получением нескольких синхронизированных образцов крови и/или мочи и сложной процедурой анализа. Уровень СДМА вторично повышается при падении СКФ у животных с преренальной и постренальной азотемией. Исследования по оценке влияния этих патологий на уровень СДМА в сравнении с креатинином продолжаются [35, 36].

Тропонин

Сердечные тропонины – высокоспецифичные для миокарда регуляторные белки, ассоциированные с контрактильным элементом миофиламентов кардиомиоцитов [37]. Тропоныны являются количественными маркерами повреждения миокарда, которые можно достоверно измерить у человека, собак, кошек и дающие прогностическую информацию независимо от степени обратимости поражения миокарда, этиологии, острого или хронического течения заболевания [38].

Три основные субъединицы тропонина, cTnI, TnC и cTnT имеют разное диагностическое значение в ветеринарии. Субъединицы тропонина I и T имеют тканеспецифичные изоформы для миокарда и скелетной мускулатуры. Сердечная изоформа тропонина C полностью гомологична, что делает данную субъединицу непригодной в качестве БМ. Изоформы сердечного тропонина T более чем на

50 % гомологичны скелетным изоформам, но могут быть идентифицированы отдельно. Высвобождение сTnT свидетельствует о тяжёлом повреждении миокарда [37].

Острый инфаркт редок у собак и кошек, а хронические заболевания сердца, как правило, не сопровождаются обширным некрозом миокарда и гибелью кардиомиоцитов. Первые тесты на определение тропонина I и T были предложены ещё в 80-х годах прошлого века, но в настоящий момент в ветеринарных лабораториях доступно определение только тропонина I [38].

TLI-тест – это определение трипсиногена, трипсина, а также связанного с ингибиторами протеаз трипсина методом иммуноферментного анализа. [39]

Этот метод для оценки функции поджелудочной железы является видоспецифичным: у собак определяют сTLI, у кошек – fTLI. У собак значения ниже 2,5 мкг/л считаются подтверждением диагноза ЭНПЖ. Если результаты неоднозначные (в диапазоне 2,5–2,7 мкг/л), повторное тестирование проводят через месяц. Такое бывает при генетической предрасположенности к атрофии ацинусов поджелудочной железы, а также в субклинических случаях, когда ткань поджелудочной железы ещё не полностью атрофирована [40]. Специфичность сTLI как БМ ставится некоторыми авторами под сомнение, поскольку концентрация сTLI в сыворотке может быть увеличена у собак с почечной недостаточностью. Также нет единого мнения о значимости TLI для диагностики панкреатита у кошек. С экспериментально индуцированным панкреатитом TLI у кошек (fTLI) концентрация резко возрастает после индукции панкреатита, но возвращается ниже порогового значения в течение 48 часов. В целом у собак и кошек значительно повышенная концентрация TLI в сыворотке в отсутствие азотемии свидетельствует о панкреатите. В то же время только на основании нормального уровня TLI панкреатит исключить нельзя и требуется дополнительная диагностика. В качестве альтернативного биомаркера панкреатита и ЭНПЖ предлагается использовать иммунореактивность панкреатической липазы (PLI). Мнение о преимуществе PLI основано на том, что PLI имеет исключительно панкреатическое происхождение, а иммунологическое исследование PLI количественно определяет исключительно липазу панкреатического происхождения на основе её уникальной структуры [41].

Диагностические панели. В ряде случаев панель превосходит один маркер, но иногда один или два маркера могут прекрасно работать для решения конкретных задач. Наличие различных сопутствующих заболеваний у пациентов также может затруднить точный диагноз, что приводит к необходимости сбора дополнительной информации, которую зачастую можно получить только анализируя панель биомаркеров. Вместе с тем добавление дополнительных маркеров может повысить чувствительность за счёт снижения специфичности. Таким образом, ни один прогностический маркер не может считаться имеющим 100 % положительную или отрицательную прогностическую ценность. Вместо этого все прогностические маркеры могут обеспечивать различные уровни оценки риска или соотношения рисков. Сопутствующие заболевания, неоднородность заболевания, мультигенные влияния, непереносимость различных побочных эффектов и способность лечить – всё это будет влиять на клиническое течение заболевания данного пациента. Следовательно, наибольшая прогностическая выгода, вероятно, будет связана с совместным использованием нескольких прогностических маркеров [42, 43].

Большинство опубликованных исследований мультимаркерных панелей в ветеринарии до настоящего момента не нашло практического применения и имеет преимущественно научную ценность.

Мультимаркерные панели также предложены для диагностики заболеваний сердца. Потенциально в панель помимо тропонина могут быть включены:

маркеры гемодинамического стресса – натрийуретические пептиды. Основным механизмом повышения уровней НУП в сыворотке крови является секреция в ответ на растяжение стенки миокарда, сопутствующей повышению внутрисердечного давления и ДКМП [44].

другие БМ повреждения кардиомиоцитов (например, белок, связывающий жирные кислоты, H-FABP, который можно использовать для выявления стратификации риска в подтверждённых случаях лёгочной эмболии [45].

маркеры ремоделирования миокарда, например, матриксные металлопротеиназы. Ремоделирование представляет собой процесс комплексного нарушения структуры и функции сердца, являющийся следствием перегрузки или утраты части жизнеспособного миокарда [46].

Заключение. Лабораторное определение БМ даёт клиницистам широкие возможности для скрининга, ранней диагностики, прогнозирования и выбора тактики лечения животных-компаньонов. Также БМ способствуют обеспечению качества и безопасности продукции животного происхождения. Оптимальным является использование панелей БМ с высокой чувствительностью и специфичностью и комбинация их с другими диагностическими процедурами. Широкому распространению БМ препятствует необходимость валидации для каждого вида животных, от-

сутствие финансирования, научной базы и скоординированных широкомасштабных исследований в ветеринарии. Количество животных в большинстве проводимых исследований исчисляется десятками и недостаточно для получения однозначных воспроизводимых результатов. В ближайшей перспективе внедрение современных инструментов взаимодействия специалистов на базе нейросетей, цифровизация патоморфологических исследований дают надежду на развитие комплексной БМ диагностики в ветеринарии.

Библиографический список:

- Myers M. J. Biomarkers in Veterinary Medicine / M. J. Myers [et al.] // *Annu Rev Anim Biosci.* (2017) 5:65–87. doi: 10.1146/annurev-animal-021815-111431
- Robb M. A. Biomarkers and surrogate endpoints: developing common terminology and definitions / M. A. Robb [et al.] // *JAMA* 2016;315:1107–8
- Hess S. Biomarker Definition and Validation During Drug Development / S. Hess [et al.] // Berlin: Springer; 2011
- Mobasher A. Biomarkers in veterinary medicine: Towards targeted, individualised therapies for companion animals / A. Mobasher, J. P. Cassidy // *Vet. J.* (2010) 185:1–3. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.04.003
- Fry T. L. A review of biomarkers used for wildlife damage and disease management / T. L. Fry, M. R. Dunbar // Presented at 12th Wildl. Damage Manag. Conf., Corpus Christi, Tex. 2007
- BEST (Biomarkers, Endpoints, and other Tools). FDA-NIH Biomarker Working Group. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); Bethesda (MD): National Institutes of Health (US); 2016
- Дон Е. С. Биомаркеры в медицине: поиск, выбор, изучение и валидация / Е. С. Дон и др. // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2017. – № 62 (1). – С. 52–59. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-1-52-59>
- Neumann Stephan -SMA and Ki-67 Immunohistochemistry as Indicators for the Fibrotic Remodeling Process in the Liver of Dogs / Stephan Neumann, Franz-Josef Kaup // *Journal of Advanced Veterinary Research*. 2. 2012
- Zuccari D. A. Immunocytochemical study of Ki-67 as a prognostic marker in canine mammary neoplasia / D. A. Zuccari, A. E. Santana, P. M. Cury, J. A. Cordeiro // *Vet. Clin. Pathol.* – 2004. – № 33 (1). – P. 23–28.
- Neumann S. Investigation of serum Ki-67 as a biomarker in tumor-bearing dogs / S. Neumann [et al.] // (2016). doi: 10.1016/j.rvsc.2016.10.012
- Kaszak I. Current biomarkers of canine mammary tumors / I. Kaszak [et al.] // *Acta. Vet. Scand.* 2018 Oct 29;60(1):66. doi: 10.1186/s13028-018-0417-1. PMID: 30373614
- Nowak M. Expression of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2), E-cadherin and Ki-67 in metastatic and non-metastatic canine mammary carcinomas / M. Nowak, J. A. Madej, B. Pula // *Ir. Vet. J.* 2015;69:9.
- Gomes J. Study of c-kit immunoeexpression in canine cutaneous melanocytic tumors / J. Gomes, F. L. Queiroga, J. Prada, I. Pires // *Melanoma Res.* 2012;22:195–201.
- Smedley R. C. Correlation Between KIT Expression and c-Kit Mutations in 2 Subtypes of Canine Oral Melanocytic Neoplasms / R. C. Smedley, T. Thaiwong, L. E. Deeth, M. Kiupel // *Vet. Pathol.* 2021;58:683–691. doi: 10.1177/03009858211009784.
- Thamm D. H. Prognostic and Predictive Significance of KIT Protein Expression and C-Kit Gene Mutation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumours / D. H. Thamm [et al.] // A Consensus of the Oncology-Pathology Working Group. *Vet. Comp. Oncol.* 2019;17:451–455. doi: 10.1111/vco.12518.
- Smith A. J. Immunohistochemical expression of c-KIT protein in feline soft tissue fibrosarcomas / A. J. Smith, B. L. Njaa, C. G. Lamm // *Vet. Pathol.* 2009 Sep;46(5):934–9. doi: 10.1354/vp.08-VP-0219-L-FL. Epub. 2009 May 9. PMID: 19429996.
- Tamlin V. S. Comparative aspects of mast cell neoplasia in animals and the role of KIT in prognosis and treatment / V. S. Tamlin, C. D. K. Bottema, A. E. Peaston // *Vet. Med. Sci.* 2020 Feb;6(1):3-18. doi: 10.1002/vms3.201. Epub 2019 Oct 24. PMID: 31650704; PMCID: PMC7036313.
- Имянитов Е. Н. Спорные аспекты HER2-диагностики / Е. Н. Имянитов // *Современная онкология*. – Санкт-Петербург. – 2010. – № 3. – Т. 12. – С. 55.
- Brunetti B. Immunohistochemical Screening of HER2 in Canine Carcinomas: A Preliminary Study / B. Brunetti [et al.] // *Animals (Basel)*. 2021 Apr 3;11(4):1006. doi: 10.3390/ani11041006. PMID: 33916691; PMCID: PMC8065471.
- Singer J. Comparative oncology: ErbB-1 and ErbB-2 homologues in canine cancer are susceptible to cetuximab and trastuzumab targeting / J. Singer [et al.] // *Mol. Immunol.* 2012 Apr;50(4):200–9. doi: 10.1016/j.molimm.2012.01.002. PMID: 22424313; PMCID: PMC3318186.
- Чумаков П. М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме / П. М. Чумаков // *Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН. Успехи биологической химии*. – Москва. – Т. 47. – 2007. – С. 3–52.
- Brunetti B. P53, ER, and Ki67 Expression in Canine Mammary Carcinomas and Correlation with Pathological Variables and Prognosis / B. Brunetti [et al.] // *Vet. Pathol.* 2020 doi: 10.1177/0300985820973462.
- Sledge D. G. Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection / D. G. Sledge, J. Webster, M. Kiupel // *Vet. J.* – 2016 Sep; 215:43–54. doi: 10.1016/j.tvjl.2016.06.003. Epub 2016 Jun 15. PMID: 27372911.
- Steurer S. p63 expression in human tumors and normal tissues: a tissue microarray study on 10,200 tumors / S. Steurer [et al.] // *Biomarker research*. – 2021. 9 (1), 7. <https://doi.org/10.1186/s40364-021-00260-5>

25. Rocca A. Pathologic complete remission rate after cisplatin-based primary chemotherapy in breast cancer: correlation with p63 expression / A. Rocca [et al.] // *Cancer Chemother Pharmacol*. 2008 May;61(6):965-71. doi: 10.1007/s00280-007-0551-3. Epub 2007 Jul 18. PMID: 17639392.
26. Kim S. Increased p63 Expression in Canine Perianal Gland Tumours / S. Kim [et al.] // *Journal of veterinary research*. – 2018. – № 62 (2). – P. 229–235.
27. Sammarco A. Biphasic Feline Mammary Carcinomas Including Carcinoma and Malignant Myoepithelioma / A. Sammarco [et al.] // *Vet. Pathol*. 2020 May;57(3):377-387. doi: 10.1177/0300985820908792. Epub 2020 Feb 26. PMID: 32100640.
28. Черешнев В. А. Альфа-фетопротеин / В. А. Черешнев, С. Ю. Родионов, В. А. Черкасов, Н. Н. Малыгина, О. А. Орлов // Екатеринбург: УрО РАН, 2004. – 376 с.
29. Hahn K. A. Detection of Serum Alpha-Fetoprotein in Dogs with Naturally Occurring Malignant Neoplasia / K. A. Hahn, R. C. Richardson // *Veterinary Clinical Pathology*. – 1995. – № 24 (1). – P. 18–21. doi:10.1111/j.1939-165x.1995.tb00929.x
30. Yamada T. Serum alpha-fetoprotein values in dogs with various hepatic diseases / T. Yamada T. [et al.] // *J. Vet. Med. Sci*. 1999 Jun;61(6):657-9. doi: 10.1292/jvms.61.657 PMID: 10423688.
31. Хакимова Г. Г. Пилотное клиническое исследование по мониторингу эффективности химиотерапии злокачественных опухолей у пациентов с помощью маркера эпителиальных карцином СА-62 / Г. Г. Хакимова и др. // *Сибирский онкологический журнал*. – 2019. – № 18 (5). – P. 18–28. – doi:10.21294/1814-4861-2019-18-5-18-28.
32. Райхлин Н. Т. Значение экспрессии ядрышковых аргирофильных белков и антигена Ki-67 в определении пролиферативной активности клеток и прогноза «малого» (T1) рака лёгкого / Н. Т. Райхлин, И. А. Букаева, Е. А. Смирнова, Л. Е. Гуревич, В. В. Делекторская, Б. Е. Полоцкий, К. К. Лактионов, М. С. Ардзинба // *Архив патологии*. – 2008. – № 3. – С. 15–18.
33. Бокарев А. В. Морфология ядрышка и ядрышковых организаторов в клетках саркомы штиккера – интактных и при лечении противоопухолевым препаратом винкристин / А. В. Бокарев, Е. А. Лаковников, И. В. Дашаев // *Международный вестник ветеринарии*. – Санкт-Петербург: – 2009. – С. 59–62.
34. Relford R. Symmetric Dimethylarginine: Improving the Diagnosis and Staging of Chronic Kidney Disease in Small Animals. *Veterinary Clinics of North America* / Roberta Relford [et al.] // *Small Animal Practice*. – 2016. – Vol. 46. – Issue 6. – P. 941–960.
35. Hokamp J. A. Renal biomarkers in domestic species / J. A. Hokamp, M. B. Nabity // *Vet. Clin. Pathol*. 2016 Mar;45(1):28-56. doi: 10.1111/vcp.12333. Epub. 2016 Feb. 26. PMID: 26918420.
36. Ernst R. Comparative performance of IDEXX SDMA Test and the DLD SDMA ELISA for the measurement of SDMA in canine and feline serum / R. Ernst R. [et al.] // *PLoS One*. 2018 Oct 15;13(10):e0205030. doi: 10.1371/journal.pone.0205030. PMID: 30321185; PMCID: PMC6188631.
37. Farza H. Genomic organisation, alternative splicing and polymorphisms of the human cardiac troponin T gene / H. Farza, [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol*. 1998 Jun;30(6):1247-53. doi: 10.1006/jmcc.1998.0698. PMID: 9689598.
38. Langhorn R. Cardiac Troponins in Dogs and Cats / R. Langhorn, J. L. Willesen // *J. Vet. Intern. Med*. 2016 Jan-Feb;30(1):36-50. doi: 10.1111/jvim.13801. Epub. 2015 Dec 17. PMID: 26681537; PMCID: PMC4913658.
39. Steiner J. M. Review of commonly used clinical pathology parameters for general gastrointestinal disease with emphasis on small animals / J. M. Steiner // *Toxicol. Pathol*. 2014 Jan;42(1):189-94. doi: 10.1177/0192623313506793. Epub. 2013 Oct 15. PMID: 24129757.
40. Mansfield C. (2012) Acute pancreatitis in dogs: advances in understanding, diagnostics, and treatment / C. Mansfield // *Topics in Companion Animal Medicine* 27, 123–32.
41. Xenoulis P. G. Diagnosis of pancreatitis in dogs and cats / P. G. Xenoulis // *J. Small Anim. Pract*. 2015 Jan;56(1):13-26. doi: 10.1111/jsap.12274. PMID: 25586803.
42. Wang H-Y. (2016) Cancers Screening in an Asymptomatic Population by Using Multiple Tumour Markers / H-Y. Wang H-Y [et al.] // *PLoS ONE* 11(6): e0158285. doi:10.1371/journal.pone.0158285
43. Wen Y. H. Cancer screening through a multi-analyte serum biomarker panel during health check-up examinations: Results from a 12-year experience / Y. H. Wen [et al.] // *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2015; 450:273–6. doi: 10.1016/j.cca.2015.09.004 PMID: 26344337
44. Чаулин А. М. Повышение натрийуретических пептидов, не ассоциированное с сердечной недостаточностью / А. М. Чаулин, Д. В. Дуляков // *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(S4):4140. Doi:10.15829/1560-4071-2020-4140
45. Bivona G. Diagnostic and prognostic value of H-FABP in acute coronary syndrome: Still evidence to bring / G. Bivona, L. Agnello, C. Bellia, B. Lo Sasso, M. Ciccio // *Clin. Biochem*. 2018 Aug;58:1-4. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.04.021. Epub 2018 Apr 24. PMID: 29698621.
46. Сатаева Т. П. Исследование маркеров ремоделирования миокарда при экспериментальной гипобарической гипоксии на фоне коррекции препаратом цитофлавином / Т. П. Сатаева, И. В. Заднипрный // *Архив патологии*. – № 6. – 2018.

References:

- 1–6. Vide supra.
7. Don E. S. Biomarkery v medicine: poisk, vybor, izucheniye i validaciya [Biomarkers in medicine: search, selection, study and validation] / E. S. Don i dr. // *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. – 2017. – № 62 (1).
- 8–17. Vide supra.
18. Imyanotov E. N. Spornye aspekty HER2-diagnostics [Controversial aspects of HER2 diagnostics] / E. N. Imyanotov // *Sovremennaya onkologiya*. – Sankt-Peterburg. – 2010. – № 3. – T. 12. – S. 55
- 19–27. Vide supra.
28. Chereshev V. A. Al'fa-fetoprotein [Alpha-fetoprotein] / V. A. Chereshev, S. Yu. Rodionov, V. A. Cherkasov, N. N. Malyutina, O. A. Orlov // Екатеринбург: УрО РАН, 2004. – 376 с.
- 29–30. Vide supra.
31. Hakimova G. G. Pilotnoe klinicheskoe issledovanie po monitoringu effektivnosti himioterapii zlokachestvennyh opuholej u pacientov s pomoshch'yu markera epiteliyal'nyh karcinom SA-62 [Pilot clinical study on monitoring the effectiveness of chemotherapy of malignant tumors in patients using the marker of epithelial carcinomas CA-62] / G. G. Hakimova i dr. // *Sibirskij onkologicheskij zhurnal*. – 2019. – № 18 (5). – P. 18–28. – doi:10.21294/1814-

- 4861-2019-18-5-18-28.
32. Rajhlin N. T. Znachenie ekspressii yadryshkovykh argirofil'nykh belkov i antigena Ki-67 v opredelenii proliferativnoj aktivnosti kletok i prognoza «malogo» (T1) raka lyogkogo [The significance of the expression of nucleolar argyrophilic proteins and the Ki-67 antigen in determining the proliferative activity of cells and the prognosis of «small» (T1) lung cancer] / N. T. Rajhlin, I. A. Bukaeva, E. A. Smirnova, L. E. Gurevich, V. V. Delektorskaya, B. E. Polockij, K. K. Laktionov, M. S. Ardzinba // Arhiv patologii. – 2008. – № 3. – S. 15–18.
 33. Bokarev A. V. Morfologiya yadryshka i yadryshkovykh organizatorov v kletkah sarkomy shtikkera – intaktnykh i pri lechenii protivopuholevykh preparatov vinkristin [Morphology of the nucleolus and nucleolar organizers in Sticker sarcoma cells – intact and treated with the antitumor drug vincristine] / A. V. Bokarev, E. A. Lakovnikov, I. V. Dashaev // Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii. – Sankt-Peterburg. – 2009. – S. 59–62.
 - 34–43. Vide supra.
 44. Chaulin A. M. Povyshenie natriureticheskikh peptidov, ne associirovannoe s serdechnoj nedostatochnost'yu [Elevation of natriuretic peptides not associated with heart failure] / A. M. Chaulin, D. V. Duplyakov // Rossijskij kardiologicheskij zhurnal. 2020;25(S4):4140. Doi:10.15829/1560-4071-2020-4140.
 45. Vide supra.
 46. Sataeva T. P. Issledovanie markerov remodelirovaniya miokarda pri eksperimental'noj gipobaricheskoy gipoksii na fone korrekciipreparatom citoflavinom [Study of markers of myocardial remodeling in experimental hypobaric hypoxia against the background of correction with Cytoflavin] / T. P. Sataeva, I. V. Zadnipyanyj // Arhiv patologii. – № 6. – 2018.

DOI 10.23947/1682-5616-2022-4-40-48

BIOLOGICAL MARKERS IN MODERN VETERINARY PRACTICE

M. S. Kalishyan¹

¹ Veterinary clinic «Vellvet» (Moscow, Russian Federation)

Key words: biological markers, tumour markers, validation, immunohistochemical test, chemotherapy, dogs, cats.

Abstract: The success of therapeutic measures depends on the availability of the modern methods of diagnostics to practitioners, understanding by them the advantages and existing limitations of each method. Biological markers (BMs) are widely used in scientific and practical medicine as a method for diagnosing the presence or absence of disease, the response to treatment, the reaction of organism to an intervention or therapeutic manipulation, for the disease progress prognosis. BMs provide a unique opportunity for early minimally invasive diagnostics in oncology, nephrology, endocrinology and other specialities. In spite of certain progress much less biological markers are used in veterinary medicine compared to human medicine. Some BMs are not relevant for veterinary medicine others are not studied enough. It may take a very long time from the moment of discovering a molecule potentially significant as a BM to its implementation into practice, or this may never happen at all. This work is aimed at reviewing the available data on the BMs most widely used in veterinary medicine. In the review the data referring to the principles of finding new BMs, the stages of validation, as well as the factors hindering wide implementation of BMs into clinical laboratory diagnostics was systemised. The information about the BMs currently used in the various fields of clinical practice and the BMs panels, was presented. 46 foreign and domestic veterinary and biomedical publications for the last 10 years were analysed.

Сведения об авторе:

Калишьян Михаил Сергеевич, канд. биол. наук, ветеринарный врач ветеринарной клиники «Веллвет»; д. 26, корпус 2, ул. Крылатские Холмы, г. Москва, Российская Федерация, 121614; тел.: +7 (925) 517-32-25; e-mail: 5173225@mail.ru

Author affiliation:

Kalish'yan Mikhail Sergeevich, Ph. D. in Biology, Veterinarian of the Veterinary Clinic «Wellvet»; house 26, building 2, Krylatsky Hills str, Moscow city, Russian Federation, 121614;