

## Κεφάλαιο 18

# Δείκτες ορού επί κακοήθων συμπαγών νεοπλασμάτων

Α. Κυρίου - Μάλλη

Μ. Μ. Βασιλαματζής

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ιστορία προσδιορισμού νεοπλασματικών δεικτών ξεκινά το 1848 με την ανακάλυψη της μυελωματικής πρωτεΐνης από τον Bence-Jones και της ανθρώπινης χοριονικής γοναδοτροφίνης από τους Asheim και Zondek το 1928 και της συσχετίσεώς της με τους ανθρώπινους τροφολαστικούς όγκους. Στο ενδιαμέσο διάστημα ποικίλλες βιοχημικές και ενδοκρινολογικές διαταραχές συνδέθηκαν με κακοήθη νεοπλάσματα. Από την ανακάλυψη της ανθρώπινης χοριονικής γοναδοτροφίνης το 1928 και στην συνέχεια, μεγάλος αριθμός πρωτεϊνών και μικρών πεπτιδίων συσχετίστηκε με πολλά κακοήθη νεοπλάσματα<sup>1,2</sup>.

Προς την κατεύθυνση αυτή βοήθησε η γνώση ότι κατά την εξαλλαγή ενός φυσιολογικού κυττάρου σε καρκινικό μεταβάλλεται η γονιδιακή έκφρασή του ποσοτικά ή/και ποιοτικά με αποτέλεσμα απώλεια της εξειδικεύσεώς του σε σχέση με τον ιστό προελεύσεώς του, ώστε να αποκτά χαρακτηριστικά των χαμηλότερης διαφοροποίησης εμβρυϊκών κυττάρων και να μπορεί να συνθέτει εμβρυϊκές πρωτεΐνες, μη απαντωμένες φυσιολογικά στον ενήλικα. Κατά την εξαλλαγή των κυττάρων αλλάζει ο μεταβολικός ρυθμός των, ενώ ο έλεγχος της κυτταρικής αυξήσεως χάνεται και τελικά αποκτάται διηθητική και μεταστατική ικανότητα. Το φαινόμενο της κακοήθους

εξαλλαγής συνδέεται με:

A. Την παρουσία τροποποιημένων νουκλεϊνικών οξέων (DNA και RNA) στα οποία είναι δυνατόν να ανιχνευθούν γενετικές μεταβολές, όπως: μεταλλάξεις και πολλαπλασιασμός (mutations-amplifications) ογκογονιδίων, τροποποιήσεις μικροδορυφορικού DNA, χρωμοσωμιακές μεταθέσεις, προσθήκη στο γενετικό υλικό DNA καρκινογόνων ιών και μεταλλάξεις στο κυτταρικό μιτοχονδριακό DNA, m-RNA ή ανίχνευση ογκογονιδίων<sup>3</sup>.

B. Τροποποιημένη γονιδιακή έκφραση των κυττάρων, η οποία είναι δυνατόν να επηρεάσει ή/και να προκαλέσει παραγωγή ενζύμων, ορμονών, υποδοχέων, πρωτεϊνών, μεταβολιτών και προϊόντων ογκογονιδίων.

Κάθε βιομόριο το οποίο παράγεται, είτε απ' ευθείας από τα κακοήθη κύτταρα, είτε από τα καλοήθη, ως απάντηση στην παρουσία κακοήθους εξεργασίας αποτελεί «δείκτη καρκίνου» (tumour marker) και εκφράζεται σε άλλοτε άλλο χρόνο (έμβρυο, ενήλικας, φάσεις διαφοροποίησης) και ποσότητα. Οι καρκινικοί δείκτες (ΔΚ) ανιχνεύονται κυρίως σε διάφορα σωματικά βιολογικά υγρά, συνήθως έχουν περιορισμένη ευαισθησία και ειδικότητα στην ταυτοποίηση κακοήθων νεοπλασμάτων είτε διότι βρίσκονται φυσιολογικά σε υγρά του σώματος (ορός, αμνιακό υγρό, γάλα, τραχηλική βλέννη),

είτε διότι μετρώνται σε αυξημένα επίπεδα και σε μη κακοήθεις καταστάσεις (κυστικά υγρά, περιτοναϊκές ή ασκτικές συλλογές). Επισημαίνεται ότι ενώ η πρόσκαιρη αύξηση ΔΚ συνδέεται συνήθως με καλοήγη νοσήματα, η συνεχής και σταθερή αύξησή τους θέτει βασίμως την υπόνοια υπάρξεως κακοήθους νόσου<sup>4,5,6,7a,8a,9a,9b,10,11,12,13</sup>.

Οι κυριότερες κατηγορίες χρησιμοποιούμενων νεοπλασματικών δεικτών στην κλινική πράξη είναι<sup>5</sup>:

Α. Δείκτες κυτταρικού ρυθμού ανακυκλώσεως, όπως τα ένζυμα και ισοένζυμα LDH, PLAP, CK-BB, GT II, το σιαλικό οξύ, η φιμπρονεκτίνη και οι πολυαμίνες. Οι δείκτες αυτοί χρησιμεύουν στην εκτίμηση της μάζας του όγκου και στην παρακολούθηση ασθενών με εκτεταμένη νόσο.

Β. Δείκτες διαφοροποιήσεως, όπως ACP, PSA, HCG, NSE, SCC, 5-HIA, κατεχολαμίνες, καλσιτονίνη, sr IL-2. Πολύ σημαντική είναι η συμβολή των δεικτών αυτών στην αναγνώριση της εστίας του πρωτοπαθούς όγκου σε ασθενείς με εκτεταμένη μεταστατική νόσο. Σε μερικές περιπτώσεις αποτελούν προγνωστικούς δείκτες, σπάνια δε χρησιμοποιούνται σε προληπτικό έλεγχο.

Γ. Ογκοεμβρυϊκά αντιγόνα, όπως CEA, AFP, CA 19-9, CA 125, CA 50, CA 15-3, TPA. Μερικοί από τους δείκτες αυτούς διαθέτουν κάποιου βαθμού ιστοειδικότητα. Δεν διαθέτουν επαρκή ειδικότητα για χρήση σε προληπτικό έλεγχο του γενικού πληθυσμού, όμως η σταδιακή αύξησή τους ή πολύ υψηλά επίπεδα συγκεντρώσεών τους είναι ιδιαίτερα υπαινικτικά υπάρξεως κακοήθους όγκου.

Δ. Δείκτες τραυματισμού οργάνου και απαντήσεως ξενιστή, όπως τα ένζυμα ALP, LDH, γGT και πρωτεΐνες οξείας

φάσεως (β2-μικροσφαιρίνη, CRP, φερριτίνη, απτοσφαιρίνη, α2-μακροσφαιρίνη). Οι δείκτες αυτοί αυξάνονται ιδιαίτερα μόνο σε προχωρημένου βαθμού κακοήθεια και είναι ενδεικτικοί παρουσίας κακοήθειας όταν άλλα αίτια αυξησεώς των αποκλείονται.

Η ταυτοποίηση ορολογικών δεικτών νόσου σε ασθενείς με κακοήγη νεοπλασμάτα επιχειρήθηκε και επιτεύχθηκε σε συμβατικά εργαστήρια χημείας έως τις αρχές της δεκαετίας του 1980 και με χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων την τελευταία 25ετία. Μολονότι μεγάλος αριθμός ΔΚ έχει ταυτοποιηθεί σε πολλά νεοπλασμάτα, μόνον λίγοι αποδείχθηκαν χρήσιμοι στην διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με κακοήγη νεοπλασμάτα. Νέοι δείκτες είναι πιθανόν να υπάρξουν από τεχνικές μοριακής γενετικής, οι οποίοι ελπίζεται να έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα από τους ήδη υπάρχοντες<sup>2</sup>.

Στην κλινική πράξη έχει παρατηρηθεί ότι η αύξηση των επιπέδων ενός ΔΚ στον ορό μπορεί να προηγείται της τεκμηριώσεως της κλινικής υποτροπής με τις κλασσικές απεικονιστικές μεθόδους κατά διάμεσο χρονικό διάστημα 3-8 μηνών (lead-time). Εντούτοις για τα περισσότερα κακοήγη συμπαγή νεοπλασμάτα δεν έχει αποδειχθεί ότι η πρόωμη διάγνωση της υποτροπής βελτιώνει την πρόγνωση συγκεκριμένης ομάδος ασθενών<sup>2</sup>.

Είναι σαφές ότι δεν υπάρχουν έστω δύο τύποι καρκίνου με την ίδια βιολογική συμπεριφορά και επομένως δεν θα εκφράσουν απαραίτητα τον ίδιο ΔΚ, ενώ και κάθε ασθενής παράγει ένα απολύτως εξατομικευμένο ρυθμό παραγωγής καρκινικού δείκτη. Αυτό σημαίνει ότι κάθε ασθενής έχει το «δικό του» ατομικό

βασικό επίπεδο τιμών (baseline level) για τους διαφόρους ΔΚ, το οποίο είναι συνήθως άγνωστο πριν την εμφάνιση κακοήθους νόσου και συνήθως κυμαίνεται σε διαφορετικά επίπεδα από το στατιστικά καθορισμένο ανώτατο επίπεδο τιμών του ΔΚ στους υγιείς. Επομένως, μετά από θεραπεία, είναι ουσιαστικής σημασίας η εξατομικευμένη μελέτη των κινητικών μεταβολών του υπό παρατήρηση ΔΚ. Για το λόγο αυτό συστήνεται ώστε στα εργαστήρια προσδιορισμού ΔΚ να υπάρχει τράπεζα δειγμάτων για κάθε ασθενή, ώστε να είναι δυνατή η επαναμέτρηση<sup>8α, 8β, 9β, 10,14</sup>.

### ΙΔΕΑΤΑ ΟΦΕΛΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Η επιλογή ΔΚ στην κλινική πράξη, γίνεται με βάση ορισμένες εξειδικευμένες ιδιότητες, σχετικά με την τεκμηρίωση κακοήθους νεοπλασματικής νόσου και την παρακολούθηση των ασθενών, οι οποίες δίνονται στον Πίνακα 1<sup>15</sup>.

Πίνακας 1. Ιδεατά οφέλη από την χρησιμοποίηση δεικτών καρκίνου

Καθορισμός του κινδύνου αναπτύξεως κακοήθους νόσου

Μαζικοί προληπτικοί πληθυσμιακοί έλεγχοι  
Συμβολή στην διαφορική διάγνωση νοσημάτων

Πρόβλεψη της προγνώσεως ή/και της ανταποκρίσεως στην θεραπεία

Ανίχνευση πρώιμης υποτροπής της νόσου  
Ακριβής παρακολούθηση της πορείας της μεταστατικής νόσου

### ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΔΚ ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΓΡΑ

Η παρουσία και η συγκέντρωση ενός ΔΚ στην αιματική κυκλοφορία σε δεδομένη χρονική στιγμή εξαρτάται από:

1. τον συνολικό αριθμό των κακοήθων κυττάρων τα οποία παράγουν τον συ-

γκεκριμένο ΔΚ. Οι κακοήθεις όγκοι χαρακτηρίζονται συνήθως από *ετερογένεια*, αποτελούμενοι από υποπληθυσμούς οι οποίοι δεν έχουν τα ίδια χαρακτηριστικά. Για τον λόγο αυτό η ανταπόκριση του κακοήθους νεοπλασματος ενός ασθενούς στην θεραπεία, δεν συνοδεύεται πάντοτε από αντίστοιχη μείωση του (ή των) ΔΚ ορού. Εξ άλλου σε φάσεις υποτροπής ή προϋστάς νεοπλασματικής νόσου είναι πιθανή η εμφάνιση προφίλ εκκρίσεως ΔΚ εντελώς διαφορετικού από τον πρωτοπαθή όγκο. Είναι συνεπώς προφανές ότι κατά την παρακολούθηση των αποτελεσμάτων της θεραπείας ή την επιτήρηση των ασθενών για ενδεχόμενη εμφάνιση υποτροπής είναι καλύτερο να επιλέγονται δύο ή και περισσότεροι ΔΚ (Πίνακας 2).

Σε όλες τις περιπτώσεις εκτιμήσεως των νεοπλασματικών δεικτών και συσχετίσεών των με την εξέλιξη της νόσου ή τα αποτελέσματα της θεραπείας θα πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψη ο χρόνος ημιζωής ( $t_{1/2}$ ) των ΔΚ και ο χρόνος διπλασιασμού των νεοπλασματικών κυττάρων (DT). Ο χρόνος ημιζωής του ΔΚ, εξαρτάται από το μέγεθος του μορίου, τα βιοχημικά του χαρακτηριστικά, τον τρόπο μεταβολισμού του και τις μεταβολές στην έκφρασή του και είναι χαρακτηριστικός για κάθε δείκτη (Πίνακας 3)<sup>16α</sup>.

Ο ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού προσδιορίζεται συνήθως με χρησιμοποίηση του ενζύμου κινάση της θυμιδίνης (TK).

2. τον ρυθμό παραγωγής του ΔΚ από τα κύτταρα.

3. τον εντοπισμό του ΔΚ στα κύτταρα. Τα αντιγόνα επιφανείας της μεμβράνης ή τα μόρια τα οποία αποτελούν

προϊόντα κυτταρικής εκκρίσεως ελευθερώνονται ευκολότερα στον εξωκυττάριο χώρο και τα βιολογικά υγρά, ενώ όσα μόρια συνδέονται με ενδο-

κυττάρια δομές εμφανίζονται στον ορό μόνο μετά από κυτταρική νέκρωση.

Πίνακας 2. Συνδυασμοί ΔΚ χρήσιμοι στην παρακολούθηση του γυναικολογικού καρκίνου

Τύπος Γυναικολογικού Καρκίνου	Συνδυασμοί ΔΚ
Οσθηκών (επιθηλιακός)	CA 125+ Inhibin+CEA+TPS+CA 15-3
Ενδομητρίου	CA 125+CA15-3+CEA+TPS
Τραχήλου : α. Εκ πλακακωδών κυττάρων	SCC+CEA+TPS
β. Αδενοκαρκίνωμα	CEA+CA 125+TPS

Πίνακας 3. Βιολογικοί χρόνοι ημίσειας ζωής

Δείκτης καρκίνου	Χρόνος ημίσειας ζωής (μέρες)
AFP	2-8
CA 125	5
CA 19-9	4-8
CA 15-3	5-7
CA 72-4	3-7
CEA	2-8
CYFRA 21-1	1
HCG	0,5-1,5
NSE	1
PSA	2-3
SCC	1

4. την μεταβολή της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης η οποία επηρεάζει τον ρυθμό εκκρίσεως του ΔΚ από τα κύτταρα.

5. την δυνατότητα διαβάσεως των ΔΚ μέσω της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (extracellular matrix) ή της βασικής μεμβράνης (basal membrane/laminae), οι οποίες αποτελούν λειτουργικό φραγμό για την μεταφορά των ΔΚ από τον τόπο παραγωγής στην περιφέρεια. Σε καλοήθεις όγκους η συνέχεια της βασικής μεμβράνης διατηρείται αδιατάρακτη, παρεμποδίζοντας την διόδο των ΔΚ στην κυκλοφορία με συνέπεια χαμηλά επίπεδά τους στον ορό. Αντίθετα στους κακοήθεις

όγκους συμβαίνει διάβρωση ή λύση της βασικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα εμφάνιση υψηλών επιπέδων ΔΚ στον ορό.

6. τον βαθμό αγγειώσεως του ιστού στον οποίο εντοπίζεται ο όγκος. Έτσι η παρουσία ηπατικών μεταστάσεων συνοδεύεται από υψηλότερα επίπεδα ΔΚ σε σχέση με μεταστάσεις σε άλλα όργανα.

7. την διαδικασία μεταβολισμού του ΔΚ, τον τρόπο και τον ρυθμό καθάρσεως και τελικής απομακρύνσεως του από την κυκλοφορία <sup>(11)</sup>. Επομένως η ύπαρξη νεφρικής ανεπάρκειας, ηπατικής δυσλειτουργίας ή χολοστάσεως μπορεί να επάγει δυσανάλογα υψηλές συγκεντρώσεις ΔΚ μεταβάλλοντας τα σχετικά κινητικά τους δεδομένα ( $t_{1/2}$  και DT).

8. την έκταση νεκρώσεως του καρκινικού ιστού. Η κυτταρική λύση είναι δυνατόν να προκαλέσει δυσανάλογα μεγάλη αύξηση των επιπέδων ενός ΔΚ σε σχέση με το μέγεθος του υπάρχοντος όγκου, όταν αυτός εμφανίζει μεγάλη ενδοκυττάρια συγκέντρωση. Νέκρωση καρκινικών κυττάρων δυνατόν να συμβεί λόγω αυξήσεως του ρυθμού κυτταρικού πολλαπλασιασμού, αλλά κυρίως μετά ακτινοθεραπεία ή κυτταροτοξική θεραπεία.

9. τα βιολογικά δεδομένα κάθε ασθηνή, στα οποία περιλαμβάνονται πρωσωπικά γενετικά/κληρονομικά και φυλετικά χαρακτηριστικά, το φύλο, η ηλικία (γήρανση), οι τρόποι και οι συνθήκες διαβίωσης και διατροφής του, οι συνήθειες του, κλπ<sup>17</sup>.

Όπως είναι προφανές κάθε παράγοντας ο οποίος επιδρά στα προαναφερθέντα δεδομένα είναι δυνατόν να επηρεάσει σημαντικά τα επίπεδα συγκεντρώσεως του δείκτη.

## **A. Ένζυμα, Ορμόνες, Αντιγόνα, Πρωτεΐνες**

### **1. Ενζυμα – Αναστολείς Ενζύμων Κλασσικά ένζυμα - Ισοένζυμα (ACP, ALP, LDH, γ-GT, CK)**

Τα ένζυμα του πλάσματος είναι, λειτουργικά με φυσιολογικά υψηλές συγκέντρωση (θρομβίνη, πλασμίνη, λιποπρωτεϊνική λιπάση) ή μη λειτουργικά αναφορικά με το πλάσμα σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Τα τελευταία είναι ιδιαίτερα σημαντικά στα νοσήματα ιστών και οργάνων, υπήρξαν δε από τις πρώτες παραμέτρους οι οποίες μελετήθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν ως ΔΚ.

Έχειδειχθεί ότι η εμφάνιση κακοήθειας συνοδεύεται από αύξηση συγκεντρώσεως γλυκολυτικών και άλλων ενζύμων στον ορό, η οποία είναι ανάλογη της μάζας του όγκου. Οποιαδήποτε αύξηση των ενζύμων LDH, ALP, CK, γGT, AMY στον ορό πρέπει να οδηγεί σε εκτεταμένη έρευνα παρουσίας νόσου, κακοήθους ή μη. Πάντως η απομόνωση ισοενζυμικών μορφών των ενζύμων - οι οποίες σχετίζονται με την διαφοροποίηση - συνετέλεσε στην βελτίωση της αξίας τους ως ΔΚ<sup>4,5,8γ,18,19</sup>.

**Οξίνη προστατική φωσφατάση (ΟΠΦ)**<sup>5</sup>. Σημαντικές ποσότητες του εν-

ζύμου βρίσκονται στο ήπαρ, τους νεφρούς, τα ερυθροκύτταρα, τα λευκοκύτταρα, τα αιμοπετάλια, τους οστεοκλάστες, το ανθρώπινο γάλα, το σπέρμα και τον προστατικό αδένα. Εκτός των ερυθροκυττάρων, στα οποία το ένζυμο είναι εξωλυσοσωμικό, στα υπόλοιπα κύτταρα κυρίως είναι λυσοσωμικό.

Η συγκέντρωση της ΟΠΦ στον προστάτη είναι ~1000 φορές μεγαλύτερη εκείνης των άλλων ιστών, στους άνδρες δε ο προστάτης συνεισφέρει το 1/3 - 1/2 της συνολικής δραστηριότητας του ενζύμου στον ορό. Το υπόλοιπο θεωρείται ότι προέρχεται από αποσυντιθέμενα αιμοπετάλια, ερυθροκύτταρα, λευκοκύτταρα και οστεοκλάστες και προφανώς αφορά και στα δύο φύλα. Τα δεδομένα αυτά εξηγούν το ενδιαφέρον για την δραστηριότητα ΟΠΦ στον ορό σε σχέση με νόσους του προστάτη, ενώ η πρώτη αναφορά προσδιορισμού του ενζύμου στον ορό ασθενών με καρκίνωμα προστάτη έγινε το 1938 από τους Gutman και Gutman<sup>20</sup>.

Η ολική ΟΠΦ ορού και το προστατικό ισοένζυμο της αυξάνονται σε αδενοκαρκίνωμα προστάτη, προχωρημένου σταδίου (C ή D), αλλά μόνον στο 30% των ασθενών με νόσο σταδίου I. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με το υψηλό ποσοστό (6%) των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων της εξέτασεως (Πίνακας 4) καθιστούν την εξέταση μη εφαρμόσιμη στα πλαίσια μαζικού προληπτικού ελέγχου ή αναδείξεως εξαιρεσίμης νόσου σταδίων I, II. Εξάλλου σε πολλές περιπτώσεις, ασθενείς με προχωρημένη νόσο έχουν φυσιολογική ΟΠΦ ορού<sup>21</sup>. Οι ανοσοχημικές μέθοδοι προσδιορισμού του προστατικού ισοενζύμου, παρότι ακριβέστερες των ενζυμικών, δεν βοήθησαν στη βελτίωση του ρόλου του ως ΔΚ, λόγω της χαμηλής προβλεπτικής

αξίας του. Ασθενείς με οστικές μεταστάσεις εμφανίζουν αύξηση της ΟΠΦ, οφειλόμενη στο ισοένζυμο των οστεοκλαστών. Επίσης σε ασθενείς με ορισμένα κακοήθη νοσήματα του αιμοποιητικού (χρόνια κοκκιοκυτταρική λευχαιμία, οξεία ή χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, λευχαιμία τριχωτών κυττάρων και πλασματοκυτταρικό μύελωμα) παρατηρείται αύξηση της λυσοσωμικής ΟΠΦ, που θα μπορούσε να χρησιμεύσει στην παρακολούθηση της θεραπείας αυτών των ασθενών. Η ΟΠΦ χάνει το 50% της δραστηρότητάς της επί παραμονής του ορού για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου, ώστε το προς εξέταση δείγμα πρέπει να αναλύεται αμέσως ή να οξινίζεται και να καταψύχεται.

Ο διαχωρισμός και προσδιορισμός του προστατικού ισοενζύμου γίνεται ενζυμικά με χρήση αναστολέων της μη προστατικής δραστηρότητας (τρυγικά ιόντα) ή ανοσοχημικά (RIA, EIA).<sup>(5,22)</sup>

Πίνακας 4. Καταστάσεις με αυξημένη ΟΠΦ εκτός καρκινώματος προστάτου

---

Μεταθέσεις ή τρισωμία του χρωμοσώματος 21  
Νόσοι των οστών  
Προχωρημένη νόσος Paget  
Μεταστατικό καρκίνωμα στα οστά  
Πολλαπλούν μύελωμα  
Υπερπαραθυρεοειδισμός  
Νόσοι του ήπατος  
Ηπατίτιδα  
Αποφρακτικός ίκτερος  
Κίρρωση Laennec  
Οξεία νεφρική βλάβη  
Νόσοι του ΔΕΣ με προσβολή ήπατος και οστών (πχ η Niemann-Pick)  
In vitro αιμόλυση

---

**Αλκαλική φωσφατάση (ALP)<sup>5</sup>.** Η ALP είναι ένζυμο συνδεδεμένο με την κυτταρική μεμβράνη και συνεπώς υπάρχει σε όλα τα κύτταρα. Οι πλουσιότερες πηγές ALP είναι οι οστεοβλάστες

των οστών, τα χοληφόρα του ήπατος, το επιθήλιο του λεπτού εντέρου, τα εγγύς ουροφόρα σωληνάκια, οι νεφροί, ο πλακούντας και ο μαστός κατά την γαλουχία.

Έχουν ταυτοποιηθεί πολλαπλά κλάσματα της ALP όπως το ηπατικό, το ταχύ ηπατικό, το οστικό, το εντερικό, το πλακουντιακό, το νεφρικό. Από αυτά τα γενετικά καθορισμένα ισοένζυμα είναι τέσσερα, το μη ειδικό των ιστών -tissue nonspecific - (ηπατικό, οστικό και νεφρικό, το κάθε ένα με διαφορετικό βαθμό γλυκώσεως), το εντερικό, το πλακουντιακό και των γεννητικών κυττάρων (νομότοπων ή έκτοπων). Στον πνεύμονα η ALP βρίσκεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και στα πεταλιώδη σωματίδια των βρογχοεπιθηλιακών κυττάρων τύπου II.

Η ολική ALP αυξάνεται στο πρωτοπαθές ΗΚΚ και σε δευτεροπαθείς μεταστατικούς όγκους του ήπατος. Η αύξηση του ενζύμου συσχετίζεται ευθέως με την οστεοβλαστική δραστηριότητα και μπορεί να χρησιμεύσει στην παρακολούθηση της θεραπείας και στην ανίχνευση υποτροπών, σε ασθενείς με οστεοσάρκωμα.

Αύξηση του ηπατικού ισοενζύμου παρατηρείται σε ασθενείς με κίρρωση ήπατος ή με πρωτοπαθές και μεταστατικό καρκίνωμα ήπατος στους οποίους μπορεί να εμφανισθεί και ταχύ ηπατικό κλάσμα.

Το 1968 βρέθηκε από τον Fishman σε ορό ασθενών με βρογχικό καρκίνωμα ισοένζυμο με εντυπωσιακή ομοιότητα προς το πλακουντιακό, το οποίο ονομάζεται *ισοένζυμο Regan*. Το ισοένζυμο αυτό έχει βρεθεί και στον ορό ασθενών με καρκινώματα μαστού, ωθηκών και παχέως εντέρου και αναφέρεται και ως *καρκινοπλακουντιακό*. Μία άλλη μορφή,

το *ισοένζυμο Nagao*, αποτελεί ποικιλία του *Regan* και η παρουσία του στον ορό σχετίζεται με αδενοκαρκίνωμα του παγκρέατος, των χοληφόρων και με μεταστάσεις στον υπεζωκότα. Σε ορούς καρκινοπαθών έχει βρεθεί και το *ισοένζυμο Kasahara*. Ο διαχωρισμός και προσδιορισμός των ισοενζύμων της ALP επιτυγχάνεται με ηλεκτροφόρηση (κατόπιν προκατεργασίας ή μη με νευραμινιδάση και θερμική αδρανοποίηση), θερμική αδρανοποίηση, αναστολή με ουρία ή αμινοξέα και με ανοσοχημικές μεθόδους με χρήση ειδικών αντισωρών έναντι των αληθών ισοενζύμων. Το οστικό κλάσμα αυξάνεται επί πρωτοπαθών ή μεταστατικών όγκων των οστών. Παρουσία εντερικού ισοενζύμου παρατηρείται σε άτομα με αλλοιώσεις του λεπτού εντέρου ή στους εκκρίνοντες τύπους ομάδας αίματος Β ή Ο, ιδιαίτερα κατά από λιπαρό γεύμα<sup>5,18</sup>.

### ΠΛΑΚΟΥΝΤΙΑΚΗ ΑΛΚΑΛΙΚΗ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗ

Είναι εμβρυϊκό ισοένζυμο της αλκαλικής φωσφατάσης των ενηλίκων και έχει σχέση με τον μεταβολισμό του φωσφόρου. Αύξηση της πλακουντιακής αλκαλικής φωσφατάσης είναι συνήθης σε ασθενείς με σεμίνωμα και παρατηρείται σχεδόν στο 100% επί προχωρημένου σταδίου νόσου. Αύξηση του ενζύμου είναι λιγότερο συχνή σε μη σεμινωμάτωδεις όγκους των όρχεων, σε καρκινώματα πεπτικού, ωοθηκών, μαστού, πνεύμονα και σε βαρείς καπνιστές<sup>2</sup>.

**Γ-Γλουταμυλο τρανσφεράση (γ-GT)<sup>23</sup>.** Η γ-GT είναι το μοναδικό ένζυμο το οποίο διασπά την ανέπαφη γλουταθειόνη μεταφέροντας μια γ-γλουταμυλο-ομάδα σε άλλο πεπτίδιο ή αμινοξύ. Εντοπίζεται στην κυτταρική μεμβράνη και στο μικροσωμικό κλάσμα. Ι-

στοί πλούσιοι σε γ-GT είναι κυρίως οι νεφροί και λιγότερο το πάγκρεας και το ήπαρ. Το ένζυμο ευρίσκεται στις μεμβράνες των κυττάρων με υψηλή εκκριτική ή απορροφητική ικανότητα, όπως τα εγγύς εσπειραμένα σωληνάκια, ο λοβιώδης παγκρεατικός ιστός, τα παρεγχυματικά κύτταρα του ήπατος και το επιθήλιο των χοληφόρων πόρων.

Στον ορό η δραστικότητα της γ-GT έχει ηπατοχολική προέλευση. Η διαφορά φυσιολογικών τιμών μεταξύ ανδρών και γυναικών αποδίδεται εν μέρει στα υψηλά επίπεδα του ενζύμου στον προστάτη και το καρκίνωμα του προστάτη μπορεί να προκαλέσει αύξηση της γ-GT στον ορό. Η γ-GT θεωρείται ο πλέον ευαίσθητος δείκτης ηπατοχολικής νόσου (85-99%). Υψηλά επίπεδα της βρίσκονται σε πρωτοπαθή ή μεταστατικά καρκινώματα του ήπατος. Η παρατηρούμενη αύξηση εμφανίζεται ενωρίτερα εκείνης των άλλων ενζύμων (SGOT, SGPT, ALP, 5-Nd), αλλά μπορεί να προηγείται και των απεικονιστικών ευρημάτων. Οι διακυμάνσεις αυξήσεως της γ-GT είναι ανάλογες του ρυθμού αναπτύξεως ενός μεταστατικού όγκου, της θέσεως και του μεγέθους του. Σημαντική είναι η συνεισφορά της γ-GT στην διάγνωση καρκινωμάτων της κεφαλής του παγκρέατος με αποφρακτικό ίκτερο. Στην περίπτωση αυτή οι τιμές του ενζύμου μπορεί είναι 10-20 φορές ανώτερες του φυσιολογικού.

Η γ-GT εμφανίζει πολλαπλότητα μορφών, οι οποίες είναι προϊόντα μεταμεταφραστικής τροποποίησης αλλά όχι αληθή ισοένζυμα. Οι κυριότερες μορφές είναι η α1-γGT (μικροσωμικό ηπατικής προελεύσεως-αυξανόμενη σε εξωηπατική χολόσταση), η α2-GT (ηπατικής προελεύσεως- αυξανόμενη σε ενδοηπατική χολόσταση) και η β-GT (αυ-

ξανόμενη σε κακοήθεις όγκους και ίκτερο) οι οποίες στην ηλεκτροφόρηση εντοπίζονται στην περιοχή των  $\alpha 1$ -,  $\alpha 2$ - και  $\beta$ -σφαιρινών αντίστοιχα. Σε ασθενείς με ηπατώματα έχει ανιχνευθεί στην ηλεκτροφόρηση ακρυλαμιδίου άλλη μια ζώνη με μεγάλη περιεκτικότητα σε σιαλικό οξύ και σημαντική ομοιότητα με την εμβρυϊκή ηπατική  $\gamma$ -GT.

Έχει δειχθεί ότι η υπερεκφραζόμενη από τα νεοπλασματικά ηπατοκύτταρα  $\gamma$ -GT σχηματίζει σύμπλοκα με τις λιποπρωτεΐνες LDL και VLDL. Μάλιστα τα σύμπλοκα με την LDL εμφανίζονται στον ορό ως αποτέλεσμα της χολικής διαταραχής, τυπικής για το νεοπλασματικό ήπαρ και αποτελούν την  $\gamma$ -GTL ισομορφή, η οποία έχει υψηλή διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα (80-90%) στην διάγνωση μικρών ηπατοκυτταρικών καρκινωμάτων<sup>5,23</sup>.

**Γαλακτική Αφυδρογονάση (LDH).** Η LDH είναι κυτταροπλασματικό ένζυμο η οποία καταλύει την αντιστρεπτή οξείδωση του γαλακτικού οξέος σε πυροσταφυλικό στον κύκλο της γλυκολύσεως. Η LDH συνδέθηκε με τις κακοήθεις νόσους από τις παρατηρήσεις του Warburg το 1923, ο οποίος παρατήρησε αύξηση της αναερόβιας γλυκολύσεως στους όγκους. Σήμερα το φαινόμενο αποδίδεται στην αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων και την ανισομέρεια παροχής οξυγόνου και των απαιτήσεων αυτής στα σημεία της αποδιοργανωμένης αναπτύξεως. Η συγκέντρωση του ενζύμου είναι δυνατόν να αυξηθεί έως και 40 φορές πάνω από το φυσιολογικό στον ορό ασθενών με εκτεταμένο πρωτοπαθή ή μεταστατικό ενδοκοιλιακό ή ενδοθωρακικό όγκο.

Αντίθετα σε ασθενείς με εντοπισμένους όγκους τα επίπεδα της LDH είναι συχνά φυσιολογικά. Στην νόσο του Hodgkin παρατηρείται εντυπωσιακή αύξηση των επιπέδων της LDH ορού, στην οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία μέτρια αύξηση, ενώ στην λεμφοκυτταρική τα επίπεδα της LDH παραμένουν φυσιολογικά, εκτός αν συνυπάρχει αιμόλυση.

Ως γνωστόν το μόριο της LD είναι τετραμερές αποτελούμενο από συνδυασμό των υπομονάδων H (Heart/καρδιά) και M (Muscle/μυς), τα οποία είναι προϊόντα δύο διαφορετικών γονιδίων. Επομένως τα αληθή ισοένζυμα είναι 5 με σειρά φθίνουσας ηλεκτροφορητικής κινητικότητας, LD1(H<sub>4</sub>) πλούσιο στο μυοκάρδιο, στα ερυθροκύτταρα, στους νεφρούς, στα γεννητικά κύτταρα, LD2(H<sub>3</sub>M) ομοίως εκτός των γεννητικών κυττάρων, LD3(H<sub>2</sub>M<sub>2</sub>) πλούσιο στους πνεύμονες και άλλους ιστούς, LD4(HM<sub>3</sub>) πλούσιο στα λευκοκύτταρα, λεμφοζίδια, μύες, ήπαρ LD5(M<sub>4</sub>) πλούσιο στο ήπαρ και τους σκελετικούς μύες<sup>5,22</sup>.

Η κακοήθεια συνδέεται με μεταστροφή προς την έκφραση των βαρέων/ηλεκτροφορητικά καθοδικών εμβρυονικών και αναερόβιων ισοενζύμων LD4 και LD5. Σε ασθενείς με πρωτοπαθές ηπάτωμα ή με ηπατικές μεταστάσεις παρατηρείται αύξηση του ισοενζύμου LD5 στον ορό. Το ισοένζυμο LD1 αυξάνεται στον ορό ασθενών με καρκινώματα εκ γεννητικών κυττάρων. Στον ορό ασθενών με νευροβλάστωμα έχει βρεθεί ένα ανώμαλο ισοένζυμο LD προερχόμενο από τον όγκο, κινούμενο μεταξύ της LD2 και LD3, με κινητικότητα όμοια με εκείνη του extra LD ισοενζύμου των φυσιολογικών ερυθροκυττάρων<sup>5,24,25</sup>.

Πρόσφατα αποδείχθηκε ότι οι τιμές



ορού της LDH, της gamma glutamyl transpeptidase και της superoxide dismutase είναι αυξημένες σε ασθενείς με καρκινώματα μαστού σε σχέση με φυσιολογικές γυναίκες και σε ασθενείς με προχωρημένα στάδια της νόσου σε σχέση με αρχικά<sup>26</sup>.

**Κρεατινοκινάση (CK).** Η κρεατινοκινάση καταλύει την αντιστρεπτή φωσφορλίωση της κρεατίνης από το ATP. Ιστοί πλούσιοι σε CK είναι όσοι έχουν μεγάλες και κυμαινόμενες ενεργειακές απαιτήσεις, όπως οι σκελετικοί μύες, το μυοκάρδιο, ο εγκέφαλος, ο αμφιβληστροειδής και τα σπερματοζώαρια.

Το μόριο της CK είναι διμερές, αποτελούμενο από δύο υπομονάδες, τα πολυπεπίδια M και B (M=muscle/μυς, B=brain/εγκέφαλος), τα οποία είναι προϊόντα δύο διακριτών γονιδίων. Συνεπώς προκύπτουν 3 αληθνή ισoenζυμα, το MM, το MB και το BB. Πρόσφατα ταυτοποιήθηκε και τέταρτος τύπος CK, το μιτοχονδριακό Mi-CK το οποίο εμφανίζεται σε δύο isoμορφές, την ubiquitous Mi-CK και την sarcomeric Mi-CK στον μιτοχονδριακό διαμεμβρανικό χώρο και σχηματίζουν αλληλομετατρέπόμενα διμερή και οκταμερή. Η Mi-CK φαίνεται να συσχετίζεται με την οξειδωτική ικανότητα των γραμμωτών μυών και τα επίπεδά της είναι υψηλότερη στο μυοκάρδιο και τους ταχέως συσπώμενους σκελετικούς μύες. Η παρουσία της Mi-CK σηματοδοτεί κακή πρόγνωση για τον ασθενή και αποτελεί ένδειξη εκτεταμένης ιστικής βλάβης. Το CK-BB εντοπίζεται στον εγκέφαλο και φυσιολογικά δεν διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό λόγω του μεγάλου μεγέθους του. Εντούτοις αύξηση των επιπέδων της CK-BB στον ορό εμφανίζεται σε ασθενείς με καρκινώματα νεφρού, ουροδόχου κύ-

στεως, ωσθηκών, μαστού, μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα και ιδιαίτερα σέκεινους με καρκίνο προστάτη προχωρημένου σταδίου<sup>5</sup>.

**Γαλακτοζυλοτρανσφεράση (GT).** Οι γαλακτοζυλοτρανσφεράσες είναι ένζυμα τα οποία καταλύουν την προσθήκη σακχάρων κατά την σύνθεση γλυκοπρωτεϊνών και γλυκολιπιδίων, μακρομορίων συστατικών των κυτταρικών μεμβρανών. Έχει παρατηρηθεί αύξηση των επιπέδων του isoenζύμου GT II στο 60-70% των ασθενών με καρκινώματα πεπτικού, παγκρέατος, μαστού και πνεύμονα, έναντι μόνον του 1,7% των ασθενών με καλοήθεις νόσους, συνεπώς ο δείκτης μπορεί να χρησιμεύσει με αξιοπιστία στην διάκριση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων νοσημάτων, ιδιαίτερα σε συνδυασμό με απεικονιστικές εξετάσεις<sup>5</sup>.

**Κινάση της θυμιδίνης (TK).** Η TK καταλύει την μετατροπή της διφωσφορικής θυμιδίνης (dT) σε μονοφωσφορική (dTMP) μέσω ATP-εξαρτώμενης αντιδράσεως. Έχουν περιγραφεί το κυτοσολικό TK1 και το μιτοχονδριακό TK2 isoenζυμα της TK. Η TK1 συνδέεται με τον κυτταρικό κύκλο, αυξανόμενη απότομα στο τέλος της G1 και την αρχή της S-φάσεων, ενώ μειώνεται στην G2 και δεν ανιχνεύεται στην M-φάση. Ευρίσκεται υπό αυστηρή ρύθμιση σε μεταγραφικό και μετα-μεταγραφικό επίπεδο και τα επίπεδά του TK1 mRNA επηρεάζονται από παράγοντες όπως οι: E2F, το T-αντιγόνο του ιού πολυώματος και ενδεχομένως από τα c-myc, h-ras και p21.

Αντίθετα η έκφραση και δραστηριότητα της TK2 είναι σταθερή και ανεξάρτητη των φάσεων του κυτταρικού κύκλου. Στον ορό καρκινοπαθών έχει ταυτοποιηθεί μεγάλο φάσμα πρωτεϊνικών

συμπλόκων με δραστικότητα TK (s-TK), των οποίων η σταθερότητα διέφερε εκείνης της TK1 η οποία προήρχετο από απομόνωση κυτταρικών εκχυλισμάτων. Η TK θεωρείται ισχυρός προγνωστικός δείκτης για πολλά κακοήθη νεοπλασμάτα, παρ'ότι δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητοί οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί της. Αύξηση των επιπέδων της s-TK εκτιμώνται ως αξιόλογος διαγνωστικός και προγνωστικός δείκτης σε αιματολογικές κακοήθειες. Σημαντική είναι η προγνωστική και προβλεπτική χρησιμότητά της στην αντιμετώπιση μεμονωμένων περιστατικών μικροκυτταρικού καρκινώματος του πνεύμονα και η παρακολούθηση της εκβάσεως των ασθενών.

Στο καρκίνωμα του προστάτη, ο συνδυασμός s-TK και PSA αναφέρεται ότι μπορεί να διακρίνει μεταξύ εντοπισμένης και μεταστατικής νόσου στο 90% των μελετηθέντων ασθενών. Στον καρκίνωμα μαστού υψηλά επίπεδα s-TK συσχετίζονται με ταχεία υποτροπή<sup>27</sup>.

### **ΕΙΔΙΚΗ ΝΕΥΡΩΝΙΚΗ ΕΝΟΛΑΣΗ (NSE-NEURON SPECIFIC ENOLASE)**

Η NSE είναι κυτταροπλασματικό γλυκολυτικό ένζυμο (2-φωσφο-D-γλυκερική υδρολάση EC4.2.1.11), περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1965 από τους Moore και McGregor και καταλύει την ενδομετατροπή του 2-φωσφογλυκερικού και του φωσφοενολπυροσταφυλικού.

Βρίσκεται στα κύτταρα του συστήματος APUD (amine precursor uptake and decarboxylation cells) και σε όλα τα κύτταρα τα προερχόμενα από την αρχέγονη νευρική ακρολοφία κύτταρα του νευρικού ιστού<sup>(21)</sup>. Η NSE απαντάται σε μορφή διμερών ισοενζύμων (ομο- και ετεροδιμερών), αποτελούμενων από 3 ανοσολογικά διακριτές υπομονάδες, τις  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . Η  $\alpha$ -υπομονάδα ευρίσκεται σε πολλούς

ιστούς, η  $\beta$ -υπομονάδα κυρίως στους μυς, ενώ η  $\gamma$ -υπομονάδα ευρίσκεται φυσιολογικά- ως διμερές αγ ή  $\gamma\gamma$ -μόνο στους νευρώνες και στους περιφερικούς νευροενδοκρινείς ιστούς, ιδιαίτερα της σειράς κυττάρων APUD. Ως εκ τούτου το διμερές  $\gamma\gamma$  ονομάζεται ειδική νευρωνική ενολάση (NSE), ενώ το διμερές  $\alpha\alpha$  είναι γνωστό ως μη νευρωνική ενολάση (NNE).

Οι δοκιμασίες ανοσοπροσδιορισμού της NSE με τα κυκλοφορούντα στο εμπόριο μονοκλωνικά αντισώματα αναγνωρίζουν το ομο-και το ετεροδιμερές (αγ,  $\gamma\gamma$ )<sup>9b</sup>.

Δεν έχει παρατηρηθεί συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της NSE στον καρκινικό ιστό και της συγκεντρώσεώς της στο πλάσμα, πιθανόν διότι το ένζυμο δεν εκκρίνεται στον εξωκυττάριο υγρό από το ίδιο το κύτταρο, αλλά ελευθερώνεται στην κυκλοφορία κατά την καταστροφή του. Εξ αυτού συνάγεται ότι η παρουσία της NSE στον ορό συνδέεται με υψηλό ποσοστό θανάτου κυττάρων νευροενδοκρινούς διαφοροποίησης. Είναι ενδιαφέρον ότι το φαινόμενο αυτό χαρακτηρίζει τα κακοήθη κύτταρα τα οποία παράγουν το ένζυμο, αλλά όχι τα φυσιολογικά κύτταρα με υψηλά επίπεδα NSE<sup>4,5,6,8γ,10,28</sup>.

Υψηλά επίπεδα της NSE έχουν γενικά διαγνωστική αξία κακοήθους νόσου ενώ ψευδώς θετικά αποτελέσματα του δείκτη παρατηρούνται επί λύσεως ερυθροκυττάρων<sup>21</sup>.

Ο ρόλος της NSE, ως δείκτη για την παρακολούθηση ειδικών τύπων καρκινωμάτων εστιάζεται σε ασθενείς με όγκους νευροεξωδερμικής προελεύσεως (μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα (ΜΚΠ), νευροβλάστωμα, μελάνωμα, καρκινοειδείς όγκους, παγκρεατικούς

ενδοκρινικούς όγκους, κακοήθεις όγκους από κύτταρα Merkel, καρκινώματα προστάτη, νεφρού, μαστού, μη-μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα (ΜΜΚΠ) με αυξημένη νευροενδοκρινική συνιστώσα, μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς, όγκους του Wilm, φαιοχρωμοκύττωμα, μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς και σε ορισμένους όγκους των γεννητικών κυττάρων).

Ειδικότερα σε ασθενείς με νευροβλάστωμα και μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα, επανειλημμένες μελέτες ανεδεικνύουν ευθεία συσχέτιση τιμών NSE στον ορό με την έκταση της νόσου, την πρόγνωση του ασθενούς και την ανταπόκριση στην θεραπεία, ενώ σε μελέτη βρέθηκε ότι η ευαισθησία και ειδικότητα της NSE για το σεμίνωμα είναι ανάλογη εκείνης της HCG. Υπενθυμίζεται ότι όγκοι με αυξημένο νευροενδοκρινικό στοιχείο εκτός αυξημένης NSE ορού μπορεί να εμφανίζουν και ορμονικά πεπτιδία και αμίνες σε εκκριτικά κοκκία, χρωμογρανίνη, ισόένζυμο BB της κρεατινοκινάσης, αντιγόνο leu-7 και πρωτεΐνη 7B2.

Η NSE μπορεί να συμβάλλει στην διαφορική διάγνωση του νευροβλαστώματος, από όγκους του Wilm και αδενοκαρκίνωμα νεφρού δεδομένου ότι στην μεγίστη πλειοψηφία των ασθενών με νευροβλάστωμα οι τιμές NSE ορού είναι >100 ng/ml, ενώ στις άλλες περιπτώσεις οι τιμές συνήθως είναι <100 ng/ml<sup>98</sup>.

Πρέπει να σημειωθεί ότι σε νευροενδοκρινικούς όγκους η NSE ορού είναι αυξημένη, ανεξαρτήτως ιστογενετικής προελεύσεως του νεοπλασματος, από το ανώτερο, το μέσο ή το κατώτερο έντερο. Σε καρκινοειδείς όγκους η NSE ορού αποτελεί δείκτη νόσου, αλλά με μικρότε-

ρη ευαισθησία (περί το 17%-47% των ασθενών) από την χρωμογρανίνη A<sup>29</sup>.

Στο ΜΚΠ έχει δειχθεί ότι η NSE, με την αλβουμίνη ορού, είναι μεταξύ των καλύτερων προγνωστικών δεικτών για την επιβίωση των ασθενών. Αυξημένα ποσά της NSE έχουν ευρεθεί στο 52%-85% των ασθενών με ΜΚΠ, ενώ μόνο στο 4%-38% των ασθενών με μη ΜΚΠ (ΜΜΚΠ). Έχει επίσης αναφερθεί αύξηση των επιπέδων του NSE στο 1-18% ασθενών με μη κακοήθη νοσήματα του πνεύμονα. Ίσως η μεγαλύτερη αξία της NSE να έγκειται στην παρακολούθηση ασθενών με καλή πρόγνωση και όγκους με χαμηλό ρυθμό αναπτύξεως<sup>98</sup>.

Ασθενείς με ορμονοαθεκτικό καρκίνωμα προστάτου εμφανίζουν υψηλά ποσοστά NSE και χρωμογρανίνη A (Chromogranin A - CgA) στον ορό. Σε πρόσφατη μελέτη αποδείχθηκε ότι οι τιμές της NSE αποτελούν αξιόπιστο προγνωστικό δείκτη για την συγκεκριμένη ομάδα των ασθενών<sup>30</sup>.

#### **ΑΛΛΟΙ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΕΣ ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΠΙ ΝΕΥΡΟΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΩΝ ΟΓΚΩΝ**

Η αρχική διάγνωση (κυρίως) των εκκριτικών νευροενδοκρινικών όγκων είναι κλινική, η οποία ενισχύεται από τον προσδιορισμό βιοχημικών δεικτών και δη της χρωμογρανίνης A. Η χρωμογρανίνη είναι γλυκοπρωτεΐνη, βρίσκεται σε όλα τα νευροενδοκρινικά κύτταρα και εμφανίζεται αυξημένη στον ορό του αίματος ασθενών με νευροενδοκρινικούς όγκους (καρκινοειδή, φαιοχρωμοκυττώματα, γαγγλιονευρώματα, νευροβλάστωματα, μικροκυτταρικά καρκινώματα πνεύμονα).

Οι χρησιμοποιούμενοι νευροενδοκρινικοί ορολογικοί δείκτες στην μελέτη των νευροενδοκρινικών όγκων η συχνότητα

ανευρέσεώς των και η συσχέτισή τους με το τμήμα του αρχεγόνου εντέρου από το οποίο προέρχονται δίδονται στον Πίνακα 5<sup>31</sup>.

Πίνακας 5. Συχνότητα ανευρέσεως δεικτών όγκου σε 301 ασθενείς με νευροενδοκρινείς όγκους του γαστρεντερικού ανάλογα με την ιστογένεσή τους

Προέλευση	Αύξηση (%)
<b>Πρόσθιο έντερο</b>	
5 ΗΙΑΑ ούρων	31
Χρωμογρανίνη Α πλάσματος	79
Νευροπεπτίδιο Κ πλάσματος	9
<b>Μέσο έντερο</b>	
5 ΗΙΑΑ ούρων	75
Χρωμογρανίνη Α πλάσματος	87
Νευροπεπτίδιο Κ πλάσματος	46
<b>Τελικό έντερο</b>	
5 ΗΙΑΑ ούρων	0
Χρωμογρανίνη Α πλάσματος	100
Νευροπεπτίδιο Κ πλάσματος	0

#### ΧΡΩΜΟΓΡΑΝΙΝΗ Α – CgA /GRN-A

Οι χρωμογρανίνες και η νευροενδοκρινής εκκριτική πρωτεΐνη NESP55 αποτελούν μια οικογένεια υδατοδιαλυτών, όξινων γλυκοπρωτεϊνών οι οποίες εντοπίζονται στο υπόστρωμα των εκκριτικών κοκκίων. Η σημαντικότερη από αυτές είναι η χρωμογρανίνη Α, η οποία αποτελείται από 439 αμινοξέα, έχει MB 48-60 kDa και το γονίδιο της βρίσκεται στο χρωμόσωμα 14.

Η CgA εκφράζεται αποκλειστικά στα νευροενδοκρινή κύτταρα και χαρακτηρίζεται από παράλληλη έκφραση ορμονών ή νευροδιαβιβαστών. Πειραματικά δεδομένα επιβεβαίωσαν ότι από την ειδική πρωτεόλυση της χρωμογρανίνης Α προκύπτουν συγκεκριμένα πεπτιδία: βασοστατίνη, β-γρανίνη, χρωμοστατίνη, παγκρεαστίνη, WE-14, LL-33, GE-25 και παραστατίνη. Τα μόρια αυτά θεωρούνται ρυθμιστές της ενδοκρινούς και ε-

ξωκρινούς εκκρίσεως. Μετά την μετάφρασή του, το μόριο της CgA γλυκοζυλιώνεται και παρατηρούνται διάφορες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις στα πεπτιδία τα οποία προκύπτουν. Το αμινοτελικό άκρο της CgA, αντιστοιχεί στην βασοστατίνη και έχει ιδιότητες διμερισμού.

Ο φυσιολογικός ρόλος της CgA δεν έχει διεκρινισθεί, εντούτοις θεωρείται ότι δεν περιορίζεται στην ρύθμιση της αποθηκεύσεως και εκκρίσεως ορμονών και βιογενών αμινών από τα νευροενδοκρινή κύτταρα, αλλά επεκτείνεται στον έλεγχο της κυτταρικής προσκολλησεως.

Η CgA αξιολογείται ως ο πλέον αξιόπιστος δείκτης για νευροενδοκρινείς όγκους κυρίως λόγω της ειδικότητας της CgA, αντικατοπτρίζοντας το φορτίο του όγκου και τον βαθμό νευροενδοκρινούς διαφοροποιήσεως. Είναι ενδιαφέρον ότι η μέτρηση της CgA δεν επηρεάζεται από την αιμόλυση, όπως η NSE.

Η CgA αποτελεί αξιόπιστο δείκτη για το μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα (ΜΚΠ), τους νευροενδοκρινείς όγκους του γαστρεντεροπαγκρεατικού συστήματος, το φαιοχρωμοκύττωμα, το νευροβλάστωμα, το μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς και το αδενοκαρκίνωμα προστάτη με εστιακή νευροενδοκρινή διαφοροποίηση. Η μέτρηση της CgA είτε υπερτερεί άλλων δεικτών στη παρακολούθηση ανταποκρίσεως των ασθενών στην θεραπεία (ΜΚΠ, καρκινοειδές εντέρου), είτε συντελεί στην βελτίωση της διαγνωστικής ευαισθησίας σε συνδυασμό με άλλους ΔΚ (φαιοχρωμοκύττωμα), είτε αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη επιβιώσεως (καρκινοειδές εντέρου, καρκίνωμα προστάτη).

Το πλήθος των πεπτιδίων εκ της πρωτεολυτικής σχάσεως της CgA κυκλοφο-

ρεί στο αίμα και γίνεται προσπάθεια να ανιχνεύονται με τα υπάρχοντα εμπορικά kits ανοσοπροσδιορισμών, πράγμα το οποίο δεν συμβαίνει στην κλινική πράξη. Για λύση του προβλήματος εφαρμόζεται ένα μοντέλο ανοσοπροσδιορισμού sandwich, όπου δύο μονοκλωνικά αντισώματα κατευθύνονται κατά της μεσαίας περιοχής του μορίου, η οποία εκτίθεται λιγότερο σε πρωτεολυτική σήψη.

Παθολογικές τιμές CgA στον ορό παρατηρούνται επί νεφρική ανεπάρκειας, χρόνιας ατροφικής γαστρίτιδας και στο 30% των ασθενών υπό θεραπεία με κορτικοστεροειδή<sup>32-35</sup>.

### S-100

Η πρωτεΐνη S100 απομονώθηκε αρχικά από εγκέφαλο βοός και η ονομασία της οφείλεται στην 100% διαλυτότητά της σε κορεσμένο διάλυμα  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Εκφράζεται κυρίως στα κύτταρα του ΚΝΣ, στα μελανοκύτταρα και σε πλείστους μη νευρογενείς ιστούς (μελανοκύτταρα και κύτταρα Langerhans επιδερμίδος, αστροκύτταρα και ολιγοδενδρογλοιοκύτταρα νευρικού ιστού, χονδροκύτταρα των χόνδρων, μυελοκύτταρα επινεφριδίων και μυοεπιθηλιακά κύτταρα μαστού, ιδρωτοποιών και σιελογόνων αδένων) καθώς και σε όγκους προερχόμενους από τους ιστούς αυτούς.

Σημαντικό κλάσμα της S100 εντοπίζεται στις κυτταρικές μεμβράνες, απ' όπου θεωρείται ότι υπεισέρχεται στην ρύθμιση/συγκρότηση του κυτταροσκελετού, την μετάδοση του σήματος (signal transduction) και επιδρά σημαντικά στην διακυτταρική επικοινωνία. Έχουν περιγραφεί τουλάχιστον 21 μέλη της πολυγονιδιακής οικογένειας των πρωτεϊνών S100, χωρίς όμως να έχει διευκρινισθεί ο ακριβής τους ρόλος.

Ενδοκυτταρικά ευρίσκεται υπό μορφή ομο- ή ετεροδιμερών των υπομονάδων  $\alpha$  (S100A1) και  $\beta$  (S100B) ( $\alpha\beta$ =S100A1,  $\beta\beta$ =S100BB,  $\alpha\beta$ =S100A1B). Το MB της κάθε υπομονάδος της S100 ανέρχεται σε ~10.5 kDa και ο χρόνος ημιζωής της S100B υπολογίζεται ~30 λεπτά.

Η S100 εκφράζει ρόλο υποδοχέα ασβεστίου συνδέεται με αυτό και ρυθμίζει τον ενδοκυττάριο μεταβολισμό του. Σε πειραματικές μελέτες αποδείχθηκε ότι το ύψος της ενδοκυττάριας εκφράσεως του S100 σε κακοήγη κύτταρα, κυρίως μελανώματος, λιγότερο θυρεοειδούς και του νεφρού είναι ανάλογο του βαθμού κακοήθειας.

Τα υπάρχοντα εμπορικά kits ανοσοαναλύσεως για την S100, πρακτικά την S100B και το 95% των υγιών ατόμων εμφανίζει τιμές δείκτη στον ορό <0.15 ng/ml.

Τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100B στον ορό ασθενών με μελάνωμα θεωρείται ότι προέρχονται από κυτταρικό θάνατο των μελανοκυττάρων και των κυττάρων του ενδοθηλίου. Εξ όλων των χρησιμοποιούμενων ΔΚ του ορού για το κακοήθες μελάνωμα (S100, LASA, NSE,  $\beta$ HCG), το S100B είναι ο καλύτερος δείκτης για πρόγνωση, παρακολούθηση υποτροπής και ανταποκρίσεως στην θεραπεία. Βρέθηκε ότι ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα και φυσιολογικές τιμές S100B εμφάνιζαν στατιστικά σημαντικό πλεονέκτημα επιβιώσεως. Το S100B σχετίζεται ευθέως με το φορτίο του όγκου (tumour burden) και οποιαδήποτε αύξηση των τιμών του από φυσιολογικά σε παθολογικά επίπεδα, σε ασθενείς με μελάνωμα, πρέπει να αξιολογούνται ως ενδεικτικές μεταστάσεως τοπικής ή απομακρυσμένης.

Η S100 αυξάνει εξάλλου στον ορό ασθενών με βλάβες στα εγκεφαλικά κύτταρα, όπως το ισχαιμικό εγκεφαλικό και οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις, στις οποίες θεωρείται σημαντικός προγνωστικός δείκτης<sup>36-40</sup>.

### **ΕΙΔΙΚΟ ΠΡΟΣΤΑΤΙΚΟ ΑΝΤΙΓΟΝΟ - PSA**

Η εισαγωγή το 1986 του προσδιορισμού του ειδικού προστατικού αντιγόνου (Prostatic Specific Antigen – PSA) ορού στον εργαστηριακό έλεγχο έφερε σημαντικότερες αλλαγές στην αντιμετώπιση ασθενών με καρκίνωμα προστάτη<sup>(41)</sup>, δίνοντας την δυνατότητα διαγνώσεως της νόσου σε πρωιμότερο στάδιο και σε περισσότερους ασθενείς νεώτερης ηλικίας. Εν τούτοις δεν έχει ακόμη τεκμηριωθεί εάν η χρήση του PSA έχει συντελέσει στην μείωση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας από καρκίνωμα προστάτη (ΚΑΠ).

Σε ασθενείς με ΚΑΠ υπό παρακολούθηση, η αύξηση μόνον του PSA ορού, ονομάζεται «βιοχημική» υποτροπή και συνήθως προηγείται της κλινικής τεκμηριώσεως προϊούσας νόσου κατά αρκετούς μήνες. Αντίθετα, η κλινική επιδείνωση, χωρίς παράλληλη αύξηση της συγκέντρωσης του PSA στον ορό είναι σπάνια<sup>42</sup>.

### **ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ, ΜΟΡΙΑΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ PSA**

Από βιοχημική άποψη το PSA είναι γλυκοπρωτεΐνη μονής αλύσεως, MB περίπου 28 kD. Ανήκει στην οικογένεια των καλλικρεϊνών, ομάδας των πρωτεασών της σερίνης, των οποίων το γονίδιο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19q13.<sup>(43)</sup> Το γονίδιο του PSA (hKLK<sub>3</sub>) ανήκει στην οικογένεια γονιδίων των

καλλικρεϊνών ανθρώπινου ιστού μερικές από τις οποίες είναι η hKLK<sub>1</sub> παγκρεατική/νεφρική καλλικρεΐνη, η hKLK<sub>2</sub> αδενική καλλικρεΐνη, και η hKLK<sub>3</sub> ή ειδικό προστατικό αντιγόνο. Η hK<sub>3</sub> (PSA) εκφράζεται κυρίως από τα κυλινδροειδή επιθήλια του προστάτη.

Τα επιθήλια τόσο του φυσιολογικού, όσο και του καλοήθους υπερπλαστικού, αλλά και του κακοήθους προστατικού ιστού συνθέτουν PSA, μάλιστα τα καρκινικά κύτταρα συνθέτουν λιγότερο PSA<sup>41,44,45</sup>. Επιπλέον η έκφραση αυτή, ανοσοϊστοχημικά, έχει παρατηρηθεί ότι μειώνεται αυξανόμενου του ιστολογικού βαθμού κακοήθειας (Grade)<sup>46</sup>. Το γεγονός αυτό εξηγεί την σημαντική αλληλοεπικάλυψη των τιμών PSA ορού μεταξύ ασθενών με καρκινώματα προστάτου και καλοήθεις καταστάσεις, όπως η καλοήθης προστατική υπερπλασία και η προστατίτιδα. Η οξεία κατακράτηση ούρων και χειρισμοί στον προστάτη (βιοψία με βελόνα, διουρηθρική εκτομή), μπορεί να αυξήσουν εντυπωσιακά την τιμή του δείκτη.

Κάτω από παθολογικές συνθήκες το PSA φθάνει στον ορό, μετά από διάσπαση της βασικής μεμβράνης των επιθηλίων, περνά μέσα στα τριχοειδή και τα λεμφαγγεία. Υπολογίζεται ότι 1gr καρκινώματος προστάτου μπορεί να αυξήσει την τιμή PSA ορού έως 3 ng/ml, ενώ κάθε gr καλοήθους υπερπλαστικού προστατικού ιστού μπορεί αντιστοίχως να αυξήσει την τιμή του δείκτη έως 0.3 ng/ml<sup>2,47</sup>.

Η συγκέντρωση του PSA στο σπέρμα είναι της τάξεως 10<sup>6</sup> μg/L. Υπείσρχεται στην ρευστοποίησή του μέσω πρωτεολύσεως των πρωτεϊνών του

σπερματικού πήγματος (σεμινοζελίνες I, II και φιμπρονεκτίνη) διευκολύνοντας έτσι την απελευθέρωση των σπερματοζωαρίων. Η συγκέντρωσή του στον ορό υγιών ανδρών είναι <4 ng/ml.

Το PSA, έχει εντοπιστεί σε ίχνη, είτε με ανοσοϊστοχημεία, είτε με RT-PCR, είτε με υπερευαίσθητες ανοσοφθορισμομετρικές μεθόδους και σε ιστούς, εκτός του προστάτη και σε σωματικά υγρά<sup>41,45,48,49,50</sup>.

Το PSA συντίθεται στο σωληνώδες και το κυψελιδώδες επιθήλιο του προστάτου και εκκρίνεται στον αυλό του οργάνου. Ο δείκτης είναι ειδικός του οργάνου, αλλά όχι ειδικός καρκίνου, δεδομένου ότι σε καλοήγη προστατική υπερπλασία και καλά διαφοροποιημένους όγκους ο λόγος PSA/gr ιστού μπορεί να είναι μεγαλύτερος σε σχέση με καρκίνωμα προστάτου και πτωχά διαφοροποιημένους όγκους, αντιστοίχως<sup>51</sup>.

### **ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΤΟΥ PSA**

Παρά την έλλειψη άμεσων πειραματικών αποδείξεων, θεωρείται ότι το γονίδιο του PSA (hKLK3) <sup>(40)</sup> δίνει γένεση στο προστατικό επιθήλιο σε μία αδρανή πρόδρομη μορφή, το pro-PSA, το οποίο κατά τη δίοδό του από τη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου μετατρέπεται στο ζυμογόνο pro-PSA (Πίνακας 6). Αυτό εκκρίνεται στις κοιλότητες των προστατικών πόρων. Με αποκοπή και της pro- περιοχής σχηματίζεται η ώριμη εξωκυττάρια, ενζυμικά ενεργή μορφή του PSA, το ελεύθερο PSA (free-fPSA), η οποία ελευθερώνεται στο σπέρμα ή εισέρχεται στην κυκλοφορία.

Το PSA αναγνωρίζεται στην αιματική κυκλοφορία υπό την μορφή τριών κύριων μοριακών μορφών: ως ελεύθερο (fPSA), το οποίο αποτελεί μικρό τμήμα του συνολικού PSA (10-30% total - tPSA), ως συνδεδεμένο με α1-αντιχυμοθρυψίνη (α1-antichymotrypsin, PSA-ACT) (70-90 % tPSA ή συνδεδεμένο με α2-μακροσφαιρίνη (α2-macroglobulin, PSA-AMG). Το μεγαλύτερο τμήμα του κυκλοφορούντος PSA συνδέεται με ορισμένους αναστολείς πρωτεασών της σερίνης.

Οι μορφές του PSA διαχωρίζονται με ειδικές ανοσοϊστοχημικές εξετάσεις με τις οποίες διακρίνονται 5 επίτοποι του fPSA. Από το σύμπλοκο PSA-ACT υπάρχουν 3 «καλυμμένοι» επίτοποι και 2 οι οποίοι αναγνωρίζονται με χρήση αντισωμάτων. Αντιθέτως για το σύμπλοκο PSA-AMG, όλοι οι επίτοποι είναι «καλυμμένοι» και δεν υπάρχουν στο εμπόριο διαγνωστικές εξετάσεις για την ανίχνευσή του<sup>(52)</sup>. Από τις αρχές της 10ετίας αποδείχθηκε ότι το PSA-ACT είναι η κύρια μορφή υπό την οποία ανιχνεύεται το PSA, ενώ ο συνδυασμός προσδιορισμού PSA-ACT, PSA ολικού και ελεύθερου (fPSA) επάγει ευαισθησία και ειδικότητα στην ανακάλυψη καρκινώματος προστάτου, σε ποσοστά 90% και 50% αντιστοίχως<sup>53,54</sup>.

Το μεγαλύτερο ποσό του fPSA στον ορό αποτελείται κυρίως από τρεις διακριτές μορφές: το pro-PSA, το intact PSA (ανέπαφο και ενζυμικά ανενεργό fPSA) και το bPSA (benign PSA), το οποίο αποτελεί μερικά αποδομημένη μορφή του PSA με υψηλά ποσοστά εμφάνισης στην καλοήγη προστατική υπερτροφία<sup>55,56</sup>.

Επισημαίνεται ότι στα προστατικά κύτταρα το fPSA αποτελεί το κύριο κλάσμα, ενώ οι σύμπλοκες μορφές είναι <2% του tPSA.

Για την μέτρηση του συνολικού (total – tPSA), συνιστάται η χρήση ανοσοαναλύσεων, οι οποίες ανιχνεύουν

τις ανοσολογικά ανιχνεύσιμες μορφές PSA σε ισομοριακή βάση (equimolar assays), με συνέπεια να αναγνωρίζονται ακριβέστερα το ελεύθερο και το δεσμευμένο PSA και να βελτιώνεται η διαγνωστική ικανότητα της εξετάσεως.

#### Πίνακας 6. Έκφραση και πορεία απελευθέρωσης του PSA

**Κυλινδροειδή επιθηλιακά κύτταρα προστάτου: pre-pro-PSA**

↓

**Μεμβράνη ενδοπλασματικού δικτύου: pro-PSA**

↓

**fPSA → → Εξωκυττάριος χώρος → Διάχυση στην κυκλοφορία**

↓

Φυσ. προστάτης → Αργή διαδικασία, δράση πρωτεασών, ↓ACT-PSA

↓

ΚΥΠ → nicked PSA, ↓ ACT-PSA

↓

ΚΑΠ → Ταχεία διαδικασία, ↑ ACT-PSA

**Προστατικοί πόροι**

↓

**Σπέρμα**

Εξ αρχής πρέπει να τονισθεί ότι ο προσδιορισμός του PSA ορού δεν προσφέρει στην μελέτη ασθενών με πτωχά διαφοροποιημένα καρκινώματα προστάτου, τα οποία συνιστούν ορμονοανθεκτικούς όγκους στην συντριπτική τους πλειοψηφία<sup>57</sup>.

Πρόσφατα αποδείχθηκε ότι ο προσδιορισμός του ηλικίου fPSA/ tPSA είναι στατιστικά πολύ αξιολογότερος του προσδιορισμού μόνον του tPSA, εφόσον η τιμή αυτή κυμαίνεται μεταξύ 4-10 ng/ml, στην διάκριση του καρκινώματος, από την καλοήγη υπερπλασία του προστάτου<sup>52</sup>.

Η συγκεκριμένη ομάδα ατόμων με τιμές tPSA ορού μεταξύ 4-10 ng/ml, προκαλεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον διότι περιλαμβάνει ασθενείς με καρκίνωμα προστάτου ή καλοήθεις νόσους του οργάνου.

Σε ασθενείς με καρκίνωμα προστάτου, η διακύμανση του PSA ορού σε σύντομο χρονικό διάστημα είναι μικρότερη σε σχέση με την καλοήγη προστατική

υπερπλασία, πιθανότατα διότι στην τελευταία ο βασικός μηχανισμός αύξησης του δείκτη είναι η ψηλάφηση και μάλαξη του οργάνου. Εκτιμάται ότι η αύξηση του PSA ορού στην καλοήγη υπερπλασία προστάτου, οφείλεται σε βραχείας διάρκειας, έκλυση του δείκτη και με τον τρόπο αυτό εξηγείται η δυσανάλογα μεγάλη αύξηση του fPSA σε βραχύ χρονικό διάστημα, στην συγκεκριμένη κατάσταση. Δεδομένου ότι η κάθαρση του fPSA γίνεται σε <2 ώρες, ενώ ο χρόνος ημισείας ζωής των συμπλόκων μορφών είναι περίπου 3 ημέρες, γίνεται σαφής ο λόγος για τον οποίο η διακύμανση των τιμών του PSA ορού σε άνδρες με καρκίνωμα προστάτου είναι ελάχιστη σε σχέση με τους έχοντες καλοήγη υπερπλασία προστάτου<sup>58</sup>.

Πρόσφατα μελέτη σε 33 ασθενείς με μεταστατικό καρκίνωμα προστάτου και τιμές PSA ορού <10ng/ml έδειξε ότι για την συγκεκριμένη ομάδα είναι απαραίτητες η ανοσοϊστοχημική εκτί-



μηση για PSMA και ανδρογονικούς υποδοχείς για να τεθεί με ακρίβεια η ορθή διάγνωση<sup>59</sup>.

### ΠΑΡΑΓΩΓΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΤΟΥ PSA

Για βελτίωση των χαρακτηριστικών και των αποτελεσμάτων της εξέτασης του PSA ορού, ώστε να περιορισθεί ο αριθμός των ατόμων τα οποία υφίστανται ασκόπως σε βιοψίες προστάτου και να διαγιγνώσκεται η νόσος σε αρχικά, ιάσιμα στάδια, ανεπτύχθησαν τροποποιήσεις του προσδιορισμού του δείκτη. Σ' αυτές περιλαμβάνονται η λεπτομερής μελέτη των μοριακών μορφών του PSA (fPSA, cPSA, ισοένζυμα fPSA)<sup>60</sup> και η συσχέτιση των τιμών του με την ηλικία των εξεταζομένων ανδρών, η ταχύτητα μεταβολής του, η πυκνότητά του και το πηλίκον ελευθέρου/ συνολικό PSA<sup>61,62,63</sup>.

Οι νέες παράμετροι του PSA διακρίνονται σε στατικές – όταν ο προσδιορισμός αναφέρεται σε συγκεκριμένο χρονικό σημείο και δυναμικές – όταν

οι ασθενείς παρακολουθούνται για συγκεκριμένη χρονική περίοδο. Στις πρώτες περιλαμβάνεται η πυκνότητα PSA (PSA density – PSAD), η συσχέτιση του PSA με την ηλικία (age specific reference ranges - ASRR), ο λόγος f/t PSA και τα ισοένζυμα του PSA – ενώ στις δυναμικές παραμέτρους περιλαμβάνονται η ταχύτητα (velocity –V) PSA (PSAV), ο χρόνος διπλασιασμού (double time – DT) PSA (PSADT) και ο χρόνος υποδιπλασιασμού PSA (PSAt<sup>1/2</sup>)<sup>42</sup>.

Κατά τον έλεγχο και την αξιολόγηση των τιμών του PSA ορού πρέπει να υπομνησθεί ότι υπάρχουν διαφορές στις συγκεντρώσεις του μεταξύ φυλετικών ομάδων. Οι μελέτες δείχνουν ότι οι Ασιάτες παρουσιάζουν τις χαμηλότερες τιμές PSA, ακολουθούν οι Καυκάσιοι με τους Λατίνους, ενώ η μαύρη φυλή διακρίνεται για τις υψηλότερες τιμές PSA, όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 7<sup>64</sup>.

Πίνακας 7. Ανώτατες αναφερόμενες τιμές TPSA (ng/ml) σχετιζόμενες με την ηλικία ανά φυλετική ομάδα

Εύρος ηλικίας (έτη)	40-49	50-59	60-69	70-79
Φυλετική ομάδα				
Ασιάτες	1,9-2,6	2,4-4,5	4,0-5,5	5,0-6,8
Καυκάσιοι	1,5-2,5	2,3-4,2	3,5-7,0	3,5-9,4
Λατίνοι	2,1	4,3	6,0	6,6
Μαύροι	2,0-2,8	3,5-5,4	4,5-9,5	5,5-15,5

### Η ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ PSA

Το πηλίκον συγκεντρώσεως PSA ορού/όγκο προστατικού αδένος μετρωμένο σε ng/ml/cc, ορίζεται ως πυκνότητα PSA. Επανεξιλημμένες μελέτες από τα τέλη της 10ετίας του 1980 έδειξαν την σημασία του προσδιορισμού της PSAD επί καλοήθους προστατικής υπερπλασίας<sup>52</sup>.

Το 1989 δημοσιεύθηκε η πρώτη μελέτη, σύμφωνα με την οποία επί καρκινώματος του προστάτου σταδίου D0, ο προσδιορισμός της PSAD έχει μεγαλύτερη προβλεπτική αξία σε σχέση με μόνον την τιμή του PSA ορού<sup>65</sup>. Το επόμενο έτος μετρήθηκε η PSAD σε 33 ασθενείς με καρκίνωμα του προστάτου και 75 άτομα με καλοήγη προστατική υπερπλασία ή

τική υπερπλασία ή προστατίτιδα. Ο όγκος του προστάτου εκτιμήθηκε με διορθικό υπερηχογράφημα. Οι διάμεσες τιμές PSAD ήταν 0.090, 0.099 και 1.73 για φυσιολογικά άτομα, έχοντα καλοήγη προστατική υπερπλασία και καρκίνωμα προστάτου, αντιστοίχως<sup>66</sup>.

Άλλη μελέτη έδειξε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά ( $p < 0.002$ ) στις διάμεσες τιμές και αποκλίσεις της PSAD ( $0.044 \pm 0.027$ , έναντι  $0.581 \pm 0.739$ ) σε ασθενείς με καλοήγη προστατική υπερπλασία και καρκίνωμα προστάτου αντιστοίχως<sup>67</sup>.

Η πιθανότερη εξήγηση των διαφορών στις τιμές PSAD σε κακοήθειες από καλοήθειες νόσους του προστάτου έγκειται στο ότι επί καρκινώματος προστάτου μεγαλύτερες ποσότητες PSA (3 ng/g) εισέρχονται στην κυκλοφορία σε σχέση με την καλοήγη προστατική υπερπλασία (0.3 ng/g), ώστε ο προσδιορισμός της PSAD, μπορεί να διακρίνει τις δύο καταστάσεις. Εντούτοις επειδή τα αποτελέσματα ποικίλλουν ευρέως, η εξέταση αντικαθίσταται από την μέτρηση του f/t PSA<sup>63</sup>.

#### Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ PSA ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ

Τα επίπεδα του PSA ορού αυξάνουν προοιούσης της ηλικίας των εξεταζομένων, δεδομένου ότι στην συγκεκριμένη ομάδα αυξάνει η επίπτωση της καλοήθους προστατικής υπερπλασίας και συνεπώς ο όγκος του οργάνου και η πιθανότητα φλεγμονών και εμφράκτων του αδένου. Ποικίλλες μελέτες σχεδιάστηκαν για τον καθορισμό επί μέρους ανώτερων φυσιολογικών τιμών σε σχέση με την ηλικία των ασθενών και κατέληξαν σε αποτελέσματα τα οποία δίδονται στον Πίνακα 8<sup>68</sup>.

Πίνακας 8

Ηλικία	Ανώτερη φυσιολογική τιμή PSA ορού
40-49	<2.5 ng/ml
50-59	<3.5 ng/ml
60-69	<4.5 ng/ml
70-79	<6.5 ng/ml

Οι αυξημένες διακυμάνσεις του PSA με την πάροδο της ηλικίας αποδίδονται στην μεγαλύτερη αντίστοιχα μεταβλητότητα των επιπέδων των ανδρογόνων στην κυκλοφορία. Πάντως ο λόγος free/total PSA φαίνεται ότι είναι ανεξάρτητος από την ηλικία<sup>64</sup>.

Αποτελεί ενδιαφέρουσα πρόκληση η χρησιμοποίηση του δείκτη ASRR (age specific relative ratio) σε προγράμματα μαζικού προληπτικού πληθυσμιακού ελέγχου, δεδομένου ότι σε άνδρες προχωρημένης ηλικίας, μικρή αύξηση της ειδικότητας της εξέτασης, οδηγεί σε απώλεια της ευαισθησίας της<sup>69</sup>.

#### Η ΤΑΧΥΤΗΤΑ PSA

Σε άνδρες με καρκίνωμα προστάτου η αύξηση των τιμών του PSA ορού είναι ταχύτερη σε σχέση με άτομα με καλοήθειες παθήσεις του οργάνου. Σε μελέτη στις αρχές της προηγούμενης 10ετίας, το ετήσιο ποσοστό μεταβολών του PSA σε ng/ml ήταν 0.03, 0.12 και 0.88 σε άνδρες χωρίς προστατική νόσο, με καλοήγη υπερπλασία προστάτου και καρκίνωμα προστάτου, αντιστοίχως<sup>70</sup>. Έχει υπολογισθεί ότι η πρόγνωση ενός άνδρα ο οποίος εμφανίζει σε ελάχιστο χρονικό διάστημα παρακολούθησεως 18 μηνών, αύξηση του PSA ορού μεγαλύτερη των 0.75 ng/ml/έτος, είναι συγκρίσιμη με άτομο με PSA 4 ng/ml<sup>71</sup>.

Οι περισσότεροι ειδικοί επί του θέματος συμφωνούν, ότι η πυκνότητα και η ταχύτητα PSA και η ηλικία των

εξεταζομένων, πρέπει να συνεκτιμώνται επί τιμών tPSA μεταξύ 4-10 ng/ml για την έκφραση τελικής αξιολογικής κρίσεως<sup>52</sup>.

#### **Ο ΛΟΓΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΟΥ ΠΡΟΣ ΤΟ ΣΥΝΟΛΙΚΟ PSA (f/T PSA)**

Η μεγαλύτερη ποσότητα (65%-90%) του κυκλοφορούντος PSA δεσμεύεται με μόνιμους δεσμούς με την αι-αντιχυμοθρουψίνη (ACT) η οποία είναι αναστολέας της πρωτεάσης και καλύπτει ειδικό επίτοπο της αγκύλης της καλλικρεΐνης, επιτρέποντας την ανίχνευση της ελεύθερης μορφής με ανοσολογικές μεθόδους. Η μορφή αυτή αποτελεί το 10%-35% του συνολικού PSA<sup>72</sup>. Η επικρατούσα μορφή του PSA στην καλοήγη προστατική υπερπλασία είναι, μη δραστική (ανενεργός) μορφή, η οποία δεν αντιδρά με την αι-αντιχυμοθρουψίνη.

Έχει αποδειχθεί ότι οι ασθενείς με καλοήγη υπερπλασία προστάτη εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά fPSA στον ορό σε σχέση με τους έχοντες φυσιολογικό προστάτη ή καρκίνωμα του οργάνου. Ποσοστά fPSA <10% είναι υπαινικτικά καρκινώματος προστάτου με την ίδια πιθανότητα την οποία προδικάζουν τιμές του δείκτη 4-10 ng/ml<sup>63</sup>.

Για την κατανόηση των μηχανισμών παραγωγής PSA ορού και την διαφορική κατάσταση των καταστάσεων επιχειρήθηκε η χρησιμοποίηση διαφόρων ορολογικών δεικτών με ή χωρίς κλινικά στοιχεία. Στην προσπάθεια αυτή έχουν αποδειχθεί ότι:

Πηλίκον fPSA/ tPSA  $\geq 0.23$  επάγει προβλεπτικό ποσοστό 31% καλοήθους αποτελέσματος στις τυχαίες βιοψίες του οργάνου.

Ο συνδυασμός του λόγου fPSA/

tPSA, αποκτά μεγαλύτερη σημαντικότητα όταν συνδυάζεται με άλλες παραμέτρους, όπως είναι το tPSA και ο όγκος του οργάνου<sup>73</sup>.

Έχει ανακοινωθεί πλήθος εργασιών με θέμα την βελτίωση της ικανότητας διακρίσεως του πρώιμου ΚΑΠ από την καλοήγη προστατική υπερτροφία μέσω χρήσεως του πηλίκου ελευθέρου PSA /ολικό PSA (f/t PSA)<sup>74,75</sup> (πίνακες 9α, 9β)<sup>77</sup>. Η ευαισθησία για ανίχνευση καρκινωμάτων προστάτου σε άνδρες με τιμές PSA ορού > 4 ng/ml είναι περίπου 80%, έναντι 20% των ατόμων με φυσιολογική δακτυλική εξέταση και PSA ορού 2.5-4 ng/ml<sup>62</sup>.

Σε άνδρες με τιμές PSA ορού 4-10 ng/ml, βιοψίες προστάτου υπό υπερηχογραφικό έλεγχο αναδεικνύουν καρκίνωμα στο 25% των περιπτώσεων, από τις οποίες στο 75% η νόσος περιορίζεται εντός του οργάνου. Άτομα με τιμές PSA ορού >10 ng/ml έχουν καρκίνωμα προστάτου σε ποσοστό 60%, αλλά μόνον το 40%-50% αυτών είναι περιορισμένο στο όργανο.

Η ειδικότητα του προσδιορισμού του PSA ορού ανέρχεται στο 15%-20%, ήτοι 1 στους 5 ή 6 άνδρες με αυξημένο PSA δεν έχουν καρκίνωμα προστάτου. Εξάλλου έχει αποδειχθεί ότι άνδρες με τιμές PSA ορού 2-3 ng/ml έχουν 5.5 φορές περισσότερες πιθανότητες να αναπτύξουν καρκίνωμα προστάτου εντός 5 ετών σε σχέση με άνδρες με τιμές PSA ορού 1 ng/ml<sup>76</sup>. Είναι ενδιαφέρον ότι, για την περιοχή ολικών συγκεντρώσεων του δείκτη 4-10 ng/ml, ουδός τιμών του πηλίκου f/tPSA 0.17-0.15 μπορεί να διαχωρίσει την καλοήγη προστατική υπερτροφία από το αδενοκαρκίνωμα του προστάτου με ευαισθησία 79-95%.

Η περιοχή ολικών συγκεντρώσεων PSA 2-4 ng/ml παραμένει σκοτεινή με τη μεθοδολογία αυτή, διότι καμία τιμή του ηλικίου δεν μπορεί να χρησιμεύσει στην παραπάνω διάκριση με ασφάλεια. Θεωρείται ότι η χρήση του λόγου f/t PSA στην περιοχή τιμών tPSA 3-4 ng/ml αυξάνει την ευαισθησία του PSA στη διάγνωση ΚΑΠ, ενώ στην περιοχή τιμών tPSA 4-10 ng/ml αυξάνει την ειδικότητα, το οποίο πρακτικά μεταφράζεται σε μείωση αριθμού μη απαραίτητων βιοψιών. Οι προσπάθειες σχετικά με την εύρεση τρόπου βελτιώσεως της διαγνωστικής ακρίβειας για ανάδειξη ΚΑΠ σε ασθενείς με τιμές PSA <4mg/ml, ήδη συνεχίζονται.

Μετά τον λόγο f/t PSA, μελετήθηκε

Πίνακας 9α. Πιθανότητας παρουσίας ΚΑΠ σε σχέση με τα επίπεδα τιμών PSA του ορού<sup>(77)</sup>

tPSA (ng/ml)	<2,0	2,0 - 4,0	4,0 - 10,0	>10,0
Πιθανότητα ΚΑΠ	<1,5%	~15%	~25%	>50%

Πίνακας 9β. Πιθανότητας παρουσίας ΚΑΠ σε σχέση με την τιμή του λόγου f/t PSA στην περιοχή τιμών tPSA 4 - 10 ng/ml

Ratio f/t PSA	0 - 0,10	0,10 - 0,15	0,15 - 0,20	0,20 - 0,25	>0,25
Πιθανότητα ΚΑΠ	56%	28%	20%	16%	8%

Προς το παρόν η πλειονότητα των εργαστηρίων προσδιορίζει τον λόγο f/t PSA, δεδομένης της πλούσιας σχετικής βιβλιογραφικής και κλινικής εμπειρίας. Το αναλυτικό πλεονέκτημα του cPSA έναντι του fPSA, λόγω της μεγαλύτερης συγκεντρώσεως του στον ορό και της υποτιθέμενης μεγαλύτερης σταθερότητάς του, δεν απεδείχθη πάντοτε, ότι είναι και κλινικά χρησιμότερο του λόγου f/t PSA<sup>80</sup>.

Εν τούτοις πρόσφατα ανακοινώθηκε ότι, με βάση μια νέα μαθηματική ανάλυση, την DAC (Discordance Analysis Characteristics), το cPSA διαθέτει, σε σχέση με το tPSA, καλύτερα κριτή-

η δυνατότητα της ανοσοαναλύσεως complex ή cPSA (περιλαμβάνει όλα τα σύμπλοκα του PSA πλην του PSA-MG) ή του λόγου cPSA/tPSA ώστε να βελτιωθεί η διαγνωστική ακρίβεια για τον ΚΑΠ και να μειωθεί ο αριθμός των μη απαραίτητων βιοψιών προστάτη. Η προσπάθεια αυτή κατέληξε σε πληθώρα επιστημονικών ανακοινώσεων με αντικρουόμενα αποτελέσματα, μέχρι πρόσφατα<sup>78,79</sup>. Δεδομένου αυτού, το δίλημμα επιλογής προσδιορισμού fPSA ή cPSA εξακολουθεί να υφίσταται. Λύση πιθανόν να δοθεί από την κλινική εφαρμογή νέων μορίων όπως η hK2, το pro-PSA και το bPSA τα οποία ελπίζεται να διευκρινίσουν την περιοχή τιμών PSA 2-4 ng/ml<sup>55,56,80</sup>.

για διαγνωστικής ειδικότητας και θετικής προγνωστικής αξίας. Μάλιστα προτείνεται η συγκριτική ανάλυση DAC να αντικαταστήσει την ROC (Receiver Operating Characteristics) στην εκτίμηση της διαγνωστικής χρησιμότητας των δεικτών καρκίνου<sup>81</sup>. Αξίζει να προστεθεί ότι σε πρόσφατες μελέτες δείχθηκε ότι:

1. Η αυξημένη συγκέντρωση hK2 στον ορό σχετίζεται με επιθετικό ΚΑΠ. Ασθενής με τιμές tPSA 2.5- 4.5 ng/ml και ηλικίον hK2/fPSA >1 έχει ΚΑΠ με πιθανότητα 35%.
2. Στην περιοχή τιμών tPSA 2-4ng/ml, ο λόγος proPSA/fPSA υπερτερεί στην

ανίχνευση ΚΑΠ από τον λόγο f/t PSA ή τον c/t PSA

3. Τα επίπεδα του bPSA στον ορό σχετίζονται με την πρόγνωση καλοήθους υπερτροφίας προστάτου<sup>55,56,60</sup>.

Τέλος σημειώνεται ότι μετά από ριζική προστατεκτομή η συγκέντρωση του PSA ορού πρέπει να μειώνεται κάτω από το όριο ανιχνεύσεως προσδιορισμού PSA (<0.04 ng/ml) το οποίο διαθέτουν τα τρέχοντα εμπορικά kits. Ο χρόνος ημιζωής του PSA μετά από προστατεκτομή υπολογίζεται σε 2-3 ημέρες, ενώ μετά από εφαρμογή ακτινοθεραπείας σε 1,9-4,2 μήνες. Συνηθέστερο όριο βιοχημικής υποτροπής της νόσου μετά από ριζική προστατεκτομή είναι η τιμή 0.2-0.4 ng/ml<sup>82,83</sup>.

Πρέπει να υπομνησθεί ότι έχουν εκφρασθεί επιφυλάξεις για την χρήση των υπερουαίσθητων μεθόδων ανιχνεύσεως του PSA λόγω μειωμένης ειδικότητάς των με αποτέλεσμα την ανίχνευση PSA από εξωπροστατικούς

ιστούς, ή/και την έλλειψη αποτελεσματικής συμπληρωματικής θεραπείας<sup>80,84</sup>.

### ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ

Αναφορικά με την συλλογή και φύλαξη ορού για μέτρηση tPSA και fPSA, σημειώνεται ότι εάν πρόκειται να μετρηθεί tPSA, το δείγμα μπορεί να φυλάσσεται μέχρι 7 ημέρες στους 4°C ή μέχρι 2 έτη στους -70 °C. Εάν όμως πρόκειται να μετρηθεί και το fPSA ή το complex PSA, το δείγμα δεν μπορεί να φυλάσσεται για περισσότερο από 2 ημέρες στους 4°C και περισσότερο από 2 έτη στους -70°C. Επί πλέον συνιστάται ο αποχωρισμός του ορού να επισπευσθεί στα παραπάνω δείγματα<sup>64</sup>.

Στον Πίνακα 10 δίδονται οι κατευθυντήριες οδηγίες διαφόρων γνωστών επιστημονικών ομάδων σχετικά με τις ενδείξεις χρήσεως του PSA σε ασθενείς με καρκίνωμα προστάτου<sup>57</sup>.

Πίνακας 10. Περίληψη ενδείξεων χρήσεως του PSA σε ασθενείς με καρκίνωμα προστάτου

PSA για	ACBI	ACS	AJCC	AUA	EAU	EGTM	NACB
Screening, με Δ.Ε.	Όχι	Ναι*		Ναι*		Ναι**	Ναι
Βοηθητικό της διαγνώσεως, με Δ.Ε.	Ναι	Ναι		Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
Πρόγνωση	Όχι	Ναι	Όχι#			Ναι	
Παρακολούθηση των ασθενών, μετά την διάγνωση	Ναι	Ναι			Ναι	Ναι(?)	
% Ελεύθερο/ Συνολικό PSA							
Βοηθητικό της διαγνώσεως, όταν το PSA είναι μεταξύ 4-10ng/ml και η Δ.Ε. αρνητική	Ναι					Ναι	Ναι
Παρακολούθηση των ασθενών.						Όχι	
Διόρθωση με την ηλικία						Όχι	Ναι

Όχι= δεν συνιστάται, Ναι= συνιστάται, Δ.Ε.= δακτυλική εξέταση.

ACBI= Association of Clinical Biochemists in Ireland, ACS= American Cancer Society, AJCC= American Joint Committee on Cancer, AUA= American Urological Association, EAU= European Association of Urology, EGTM= European Group on Tumour Markers, NACB= National Academy of Clinical Biochemistry.

\*= Έλεγχος κατ' έτος για άνδρες >50 ετών, με προσδόκιμο επιβιώσεως >10 ετών.

\*\*= Έλεγχος σε επιλεγμένες ομάδες, #= Το σταδιεκτιμητικό σύστημα κατά TNM μπορεί να βελτιώνεται με σύγχρονη χρήση του PSA και του Gleason score. Ιδιαίτερος χρήσιμη είναι η μέτρηση του PSA σε ασυμπτωματικούς ασθενείς, οι οποίοι υπεβλήθησαν σε έλεγχο με βιοψία προστάτου, λόγω αυξανόμενης τιμής του δείκτη και σταδιεκτιμήθηκαν ως έχοντες νόσο T1c

## ΥΠΟΨΗΦΙΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΧΡΗΣΙ- ΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥΣ ΣΤΟ ΑΜΕΣΟ ΜΕΛΛΟΝ ΣΤΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΟΥ

Ήδη δοκιμάζονται πολλοί νέοι δείκτες για την διάγνωση και πρόγνωση ασθενών με καρκίνωμα προστάτου. Από αυτήν την ομάδα φαίνεται ότι ορισμένοι πληρούν προϋποθέσεις με βάση τις οποίες πιθανόν να χρησιμοποιηθούν στο άμεσο μέλλον στην κλινική πράξη.

**GRN-A** (Chromogranin A). Είναι μέλος της οικογένειας των granins και δρα ως προορμόνη. Σε πολυπαραγοντιακή μελέτη αποδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ θετικότητας του δείκτη και κινδύνου θανάτου των ασθενών από την νόσο<sup>85</sup>.

**GSTP1** (GlutathioneS-transferase π1). Είναι μέλος της μεγάλης οικογένειας των glutathione transferases. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει υψηλή ευαισθησία του δείκτη στην ταυτοποίηση προστατικής ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας και καρκινώματος προστάτου<sup>86</sup>.

**PSCA** (Prostate stem cell antigen). Είναι αντιγόνο επιφανείας, βρίσκεται κυρίως στον προστάτη και έχει ρόλο στην λειτουργία των αρχηγόνων κυττάρων, όπως ο πολλαπλασιασμός και η μετάδοση του κυτταρικού σήματος<sup>87</sup>. Πολλές πολυπαραγοντικές μελέτες έδειξαν ότι η έκφραση του PSCA διατηρείται σε ανδρογονοανεξάρτητο καρκίνωμα προστάτου και βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα επί μεταστατικής νόσου<sup>86</sup>.

**PSMA** (Prostate-specific membrane antigen). Είναι πρωτεϊνικό αντιγόνο της κυτταρικής μεμβράνης με πολλές ενζυματικές δραστηριότητες, το οποίο έχει μελετηθεί ιδιαίτερος σε ασθενείς με καρκίνωμα προστάτου. Ο δείκτης αυξάνει σε άνδρες ηλικίας >50 ετών και πολλές

μελέτες έχουν καταλήξει ότι τα επίπεδα ορού του PSMA βρίσκονται αυξημένα σε ποσοστό >90% σε ασθενείς με καρκίνωμα προστάτου. Ο δείκτης είναι υψηλότερος σε ασθενείς με καρκίνωμα προστάτου σε σύγκριση με πάσχοντες από καλοήγη προστατική υπερτροφία<sup>86</sup>.

## ΑΝΘΡΩΠΙΝΕΣ ΚΑΛΛΙΚΡΕΪΝΕΣ

Οι ανθρώπινες ιστικές καλλικρεΐνες κωδικοποιούνται από γονίδια της χρωμοσωμικής περιοχής 19q13.4, 300-kB. Έχει αποδειχθεί ότι η συγκεκριμένη γονιδιακή περιοχή φιλοξενεί βιολογικούς δείκτες, οι οποίοι εκφράζονται σε κακοήγη νεοπλασμάτα<sup>88</sup>.

Οι καλλικρεΐνες συμμετέχουν στην μετα-μεταφραστική τροποποίηση διαφόρων προδρόμων πολυπεπτιδίων στις βιοδραστικές μορφές τους. Η καλλικρεΐνη hK<sub>1</sub> εκφράζεται στους σιελογόνους αδένες, στο πάγκρεας και στους νεφρούς. Η hK<sub>2</sub> (hGK-1) εκφράζεται στον προστατικό ιστό. Το hK<sub>2</sub>-mRNA είναι περίπου 10-50% του hK<sub>3</sub> (PSA)-mRNA και αποδείχθηκε ότι υπάρχει σε σημαντική ποσότητα και στο σπερματικό υγρό. Στον ορό η συγκέντρωση της hK<sub>2</sub> συνήθως είναι <3% της συγκέντρωσης του PSA. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι hK<sub>2</sub>, hK<sub>5</sub>, hK<sub>6</sub>, hK<sub>10</sub> και hK<sub>11</sub> μπορεί να χρησιμοποιούνται στην διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με καρκινώματα, ωθηκών, μαστού και προστάτου. Ειδικότερα οι καλλικρεΐνες hK<sub>6</sub>, hK<sub>10</sub> εκτιμώνται ως δυνητικώς χρήσιμοι δείκτες στην διάγνωση και παρακολούθηση γυναικών με καρκίνωμα ωθηκών. Για την hK<sub>5</sub>, αποδείχθηκε ότι έχει πρωτεολυτικές ικανότητες, δεν βρίσκεται στον ορό υγίων ατόμων ενώ μετρήθηκε αυξημένη στο 69% και 49% ασθενών με καρκινώματα των ωθηκών και του μαστού αντιστοίχως. Αυξημένα επίπεδα

hK11, παρατηρήθηκαν στο 70% των γυναικών με καρκίνωμα ωοθηκών και το 60% των ανδρών με καρκίνωμα προστάτου. Συνολικά έχει αποδειχθεί ότι 13 από τις 15 γνωστές καλλικρεΐνες έχουν προγνωστική και προβλεπτική σημασία για πολλά κακοήθη νεοπλασμάτα και κυρίως για το καρκίνωμα των ωοθηκών<sup>89-96</sup>. Πρόσφατα, μελέτη στο νέο μέλος της ομάδας την καλλικρεΐνη 14, έδειξε ότι οι τιμές της ήταν αυξημένες στο 65% και 40%, σε γυναίκες με καρκίνωμα ωοθηκών και μαστού αντιστοίχως<sup>97</sup>.

## 2. Ογκοεμβρυϊκά αντιγόνα

### ΚΑΡΚΙΝΟΕΜΒΡΥΪΚΟ ΑΝΤΙΓΟΝΟ – CEA

Το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο ανήκει στα αντιγόνα διαφοροποιήσεως τα οποία εκφράζονται κατά την κυτταρική ανάπτυξη. Αρχικά βρέθηκε σε αδενοκαρκινώματα του πεπτικού και αποδείχθηκε ότι αποτελεί συστατικό της κυτταρικής μεμβράνης. Είναι γλυκοπρωτεΐνη επιφανείας (με πρόσδεση γλυκοσυλοφωσφατιδυλοϊνοσιτόλης GPI) η οποία αλληλεπιδρά με τον μικροσκελετό του κυττάρου και μπορεί να ελευθερωθεί στον διάμεσο χώρο και στην συστηματική κυκλοφορία των ασθενών με νεοπλασίες, όπου ανιχνεύεται ανοσοχημικά. Το CEA έχει MB 180-200 kDa, με πρωτεϊνικό πυρήνα μικρότερο του μισού μορίου, δεδομένου ότι εμφανίζει υψηλό βαθμό γλυκοζυλίωσης.

Το CEA αντιπροσωπεύει μεγάλη οικογένεια γλυκοπρωτεϊνών της μεμβράνης με εξωκυττάρια δομές όμοιες των ανοσοσφαιρινών στην υπεροικογένεια των οποίων ανήκει. Η οικογένεια του CEA περιλαμβάνει 29 γονίδια τα οποία εντοπίζονται σε δύο συστάδες (clusters) του χρωμοσώματος 19. Τα γονίδια αυτά ομαδοποιούνται σε εκείνα τα οποία κωδι-

κοποιούν το CEA, τα γονίδια διασταυρούμενης αντιδράσεως NCA (non-specific cross reacting antigen), της χολικής γλυκοπρωτεΐνης BGP (biliary glycoprotein), του αντιγόνου MA (meconium antigen), του αντιγόνου TEX (tumour extracted antigen) και στα κωδικοποιούνται την β1-γλυκοπρωτεΐνη της εγκυμοσύνης PSG (pregnancy specific protein). Η τελευταία βρίσκεται στον πλακούντα και σε όγκους τροφοβλαστικής προελεύσεως.

Λειτουργικά το CEA φαίνεται ότι έχει ρόλο διακυτταρικού μορίου προσκολλησεως. Σχηματίζεται κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη, κυρίως στον γαστρεντερικό σωλήνα και το αρχέγονο πάγκρεας ως αντιγόνο επιφανείας και εκκρίνεται στα σωματικά υγρά. Επειδή κατά την καρκινική διήθηση και τις μεταστάσεις επιφέρονται μεταβολές στην κυτταρική προσκόλληση, θεωρείται ότι το CEA μπορεί να έχει κάποιο ρόλο στην διαδικασία αυτή.

Σε δύο μεγάλες μελέτες το 85-87% του φυσιολογικού πληθυσμού είχε τιμές του CEA κάτω των 2.5 ng/ml, το 95-98 % κάτω των 5 ng/ml και πρακτικά κανείς δεν υπερέβαινε τα 10 ng/ml. Η περιοχή τιμών 5-10 ng/ml θεωρείται οριακή, δεδομένου ότι καλύπτει φάσμα καλοήθων και κακοήθων παθήσεων, ενώ τιμές  $\geq 20$  ng/ml αποτελούν σαφή ένδειξη κακοήθους εξεργασίας. Αύξηση των συγκεκριμένων του CEA παρατηρείται στους καπνιστές, και σε ασθενείς με αλκοολική κίρρωση του ήπατος, χρόνια ενεργό ηπατίτιδα, αποφρακτικό ίκτερο μη κακοήθους αιτιολογίας, εκτεταμένη πολυποδίαση του εντέρου ή με φλεγμονώδεις νόσους του πεπτικού (ελκώδης κολίτιδα, νόσος του Crohn, εκκολπωματίτιδα, πεπτικό έλκος, χρόνια παγκρεατίτιδα) ή

των πνευμόνων.

Σπανίως, αυξημένες τιμές του δείκτη παρατηρούνται επί χρονίας νεφρικής ανεπαρκείας και ινοκυστικής μαστοπάθειας. Σημειώνεται ότι το ήπαρ είναι ο κύριος ιστός μεταβολισμού του CEA, επομένως καλοήγη ηπατικά νοσήματα τα οποία επηρεάζουν την ηπατική λειτουργία - και την κάθαρση του CEA - είναι δυνατόν να προκαλέσουν αύξηση του στον ορό. Σε μελέτη με περισσότερα από 700 υγιή άτομα φάνηκε ότι τα επίπεδα του CEA στους άνδρες είναι υψηλότερα των γυναικών ενώ οι διάμεσες τιμές στους καπνιστές γενικά είναι διπλάσιες από τους μη καπνιστές.

Το CEA, παρότι δεν είναι ούτε ιστοειδικός, ούτε ογκοειδικός δείκτης, παραμένει ένας από τους γνωστότερους δείκτες για μεγάλη ποικιλία όγκων, αναγνωριζόμενος ως γενικός δείκτης καρκίνου<sup>7b,2,98,99</sup>. Συνήθη κακοήγη νεοπλασμάτα με αυξημένη τιμή CEA ορού κατά την διαδρομή της νόσου είναι συνήθως τα ενδοδερμικής προελεύσεως (εντέρου, στομάχου, πνεύμονα, παγκρέατος) και λιγότερο συχνά τα μη ενδοδερμικής προελεύσεως (μαστού, ωθηκών, κεφαλής-τραχήλου) και σπανιότερα τα μη επιθηλιακά καρκινώματα<sup>2</sup>.

Σε ασθενείς με καρκινώματα του παχέος εντέρου-ορθού ο προσδιορισμός του CEA ορού συνιστάται από την ASCO, με σκοπό τον καλύτερο προγραμματισμό της εγχειρήσεως και την συμπλήρωση της ιστολογικής σταδιοκτιμήσεως<sup>100,101</sup>. Αντίστοιχες είναι και οι οδηγίες της AJCC και του College of American Pathologists. Οι συγκεκριμένες οδηγίες βρίσκονται σε συμφωνία με την κλινική εμπειρία και τα αποτελέσματα των περισσότερων μελετών τα οποία καταλήγουν ότι υψηλές προεγχειρητικές

τιμές CEA ορού σχετίζονται με υψηλότερο κίνδυνο υποτροπών. Έως τώρα δεν υπάρχει απόδειξη ότι οφελούνται ασθενείς, οι οποίοι υποβάλλονται σε μετεγχειρητική συμπληρωματική χημειοθεραπεία με μόνο κριτήριο τις υψηλές προεγχειρητικές τιμές CEA ορού<sup>57</sup>.

Μη επάνοδος στο φυσιολογικό, αρχικά αυξημένης τιμής CEA ορού, μετά «θεραπευτική» εγχείρηση καρκινώματος του εντέρου, πρέπει να θέτει σε αμφισβήτηση την ριζικότητα της παρεμβάσεως. Σε ασθενείς με καρκινώματα του εντέρου έχει επανειλημμένα αποδειχθεί σχέση τιμών CEA ορού και σταδίου νόσου. Ασθενείς με νόσο σταδίου A κατά Dukes, έχουν αυξημένες τιμές του δείκτη σε ποσοστό  $\leq 28\%$ . Αντιστοίχως ασθενείς με στάδιο B και ασθενείς με απομακρυσμένες μεταστάσεις έχουν αυξημένο CEA ορού σε ποσοστά 45% και  $\geq 65\%$  αντιστοίχως. Αυξημένες τιμές για δεδομένο στάδιο νόσου συνδέονται με χειρότερη πρόγνωση. Αύξηση του CEA ορού σε ασθενείς οι οποίοι υποβλήθηκαν σε ριζική θεραπεία για καρκίνωμα παχέος εντέρου-ορθού, μπορεί να προηγείται έως και 2-6 μήνες της κλινικής τεκμηρίωσης της υποτροπής<sup>2</sup>.

Εντούτοις ο ακριβής ρόλος του δείκτη στην διάγνωση της πρώιμης υποτροπής σε ασθενείς με καρκινώματα του παχέος εντέρου - ορθού, παραμένει ασαφής και αυτό οφείλεται στην διαφορά των κατευθυντηρίων οδηγιών των μελετών, δεδομένου ότι λίγες από αυτές υποστηρίζουν ότι θεραπείες σε αρχικά στάδια υποτροπής βελτιώνουν την συνολική έκβαση των ασθενών. Εντούτοις δύο μετα-αναλύσεις στα τέλη της προηγούμενης 10ετίας κατέληξαν ότι ασθενείς οι οποίοι τέθηκαν σε κλειστή, τακτική παρακολούθηση είχαν στατιστικά σημα-



ντική καλύτερη επιβίωση<sup>102,103</sup>.

Σε ασθενείς οι οποίοι υποβάλλονται σε εξαίρεση μονήρους ηπατικής εστίας, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες των ASCO, EGTM και NACB, το CEA ορού θα πρέπει να προσδιορίζεται ανά 2-3 μήνες, τα πρώτα 2 χρόνια. Εφόσον παρατηρηθεί παθολογική τιμή του δείκτη, ο ασθενής θα πρέπει να υποβάλλεται σε λεπτομερή έλεγχο για αναζήτηση νέας, μεταστατικής εστίας<sup>57</sup>.

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες των ομάδων EGTM και SOR συνι-

στάται η χρήση του CEA ορού στην παρακολούθηση γυναικών με καρκίνωμα μαστού. Είναι εντούτοις ενδιαφέρον ότι η SOR συνιστά τον προσδιορισμό του CEA, μόνον εφόσον η τιμή του CA15-3 δεν είναι αυξημένη στην διάγνωση της νόσου<sup>104</sup>.

Στον πίνακα 11 δίδονται οι κατευθυντήριες οδηγίες διαφόρων γνωστών επιστημονικών ομάδων σχετικά με τις ενδείξεις χρήσεως του CEA ορού σε ασθενείς με καρκίνωμα του παχέος εντέρου-ορθού<sup>57</sup>.

Πίνακας 11. Περίληψη ενδείξεων χρήσεως του CEA ορού σε ασθενείς με καρκίνωμα παχέος εντέρου-ορθού

CEA ορού για	ACBI	AJCC	ASCO	EGTM	ESMO	NACB	SIGN	SOR
Screening	Όχι		Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Διάγνωση	Όχι		Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Σταδιοεκτίμηση/ Πρόγνωση		Ναι	Ναι	Ναι		Ναι	Όχι	Ναι
Διάγνωση υποτροπής	?		Ναι	Ναι	*	Ναι	Όχι	Ναι <sup>^</sup>
Παρακολούθηση της θεραπείας	?		Ναι	Ναι	*	Ναι	Όχι	Ναι <sup>^</sup>
Screening για ηπατικές μεταστάσεις			Ναι	Ναι		Ναι		Ναι

Όχι= δεν συνιστάται, Ναι= συνιστάται.

ACBI= Association of Clinical Biochemists in Ireland, AJCC= American Joint Committee on Cancer, ASCO= American Society of Clinical Oncology, EGTM= European Group on Tumour Markers, ESMO= European Society of Medical Oncology, NACB= National Academy of Clinical Biochemistry, SIGN= Scottish Intercollegiate Guidelines Network, SOR= Standards, Options and Recommendations for tumor markers.

? = Το όφελος από τον προσδιορισμό του CEA ορού, είναι αμφίβολο, \* = Το όφελος είναι αναμφισβήτητο μόνον για την ομάδα ασθενών με ύποπτη συμπτωματολογία, ^ = Το όφελος από τον προσδιορισμό του CEA ορού, είναι αμφίβολο δεδομένου ότι δεν έχει αποδειχθεί όφελος στην επιβίωση των ασθενών.

#### A-ΕΜΒΡΥΪΚΗ ΣΦΑΙΡΙΝΗ – AFP

Η AFP ανήκει στην ομάδα των εμβρυϊκών πρωτεϊνών, οι οποίες σχηματίζονται κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και μετά την γέννηση, η συγκέντρωσή τους μειώνεται σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Η AFP είναι μέλος υπεροικογένειας πρωτεϊνών η οποία περιλαμβάνει την αλβουμίνη και την πρωτεΐνη την συνδεόμενη με την βιταμίνη D. Η AFP είναι γλυκοπρωτεΐνη η οποία λόγω της ομοιότητάς της με την αλβουμίνη ως προς τις φυσικοχημικές ιδιότητες και την αμινοξική αλληλουχία, θεωρείται ότι έχει ρόλο μεταφορικής πρωτεΐνης στο έμβρυο

π.χ. για τα οιστρογόνα ή τα λιπαρά οξέα και ότι υπεισέρχεται στην εμβρυϊκή αιμοποίηση. Συντίθεται στα κύτταρα του λεκιθικού ασκού, του ήπατος και του γαστρεντερικού σωλήνα του φυσιολογικού εμβρύου 12-15 εβδομάδων, μεταφέρεται, μέσω του εμβρυϊκού αίματος στο αμνιακό υγρό από όπου περνά στην κυκλοφορία της μητέρας.

Κατά την 30<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης οι τιμές στον ορό της εγκύου φθάνουν στα μέγιστα επίπεδα των ~250-300 ng/ml. Στους φυσιολογικούς ενήλικες η συγκέντρωση της AFP συνήθως δεν ξεπερνά τα 15 ng/ml. Φαίνεται ότι κατά την κα-

κοήθη εξαλλαγή μεταβαλλεται ο έλεγχος της γονιδιακής εκφράσεως της AFP και επανενεργοποιείται η σύνθεσή της στα κακοήθη ηπατικά κύτταρα και στα κύτταρα των όγκων των γεννητικών οργάνων.

Η πρόσδεση της υδατανθρακικής αλύσου της AFP (2.5-5%) σε διάφορες λεκτίνες (κονκαναβαλίνη A, LCA) και η ισοηλεκτρική εστίαση έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την διάκριση του ιστού προελεύσεως και της σχετιζόμενης νόσου με την εμφάνιση αυξημένης συγκέντρωσεως του μορίου στον ορό. Έχει αποδειχθεί ότι η διαφορά συνδέσεως με λεκτίνη σχετίζεται με την διαμόρφωση της υδατανθρακικής αλύσου της AFP. Στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (ΗΚΚ) εμφανίζεται αύξηση της φουκοζυλιώσεως, με συνέπεια αυξημένη συγγένεια προς τις λεκτίνες και την εύκολη διάκριση μεταξύ ΗΚΚ και καλοήθους ηπατικής νόσου.

Εξ άλλου, ενώ είναι αποδεδειγμένο ότι σε ΗΚΚ, η AFP συνδέεται με κονκαναβαλίνη A, η AFP η οποία προέρχεται από τον λεκιθικό ασκό δεν προσδένεται στην λεκτίνη αυτή. Με την χρήση ποικίλων λεκτινών έχει γίνει εφικτή η διάκριση 4 σχημάτων των ισομορφών AFP (τύπου: ήπατος/καλοήθων ηπατικών νόσων, ΗΚΚ, γαστρεντερικού όγκου, λεκιθικού ασκού)<sup>5,12,105,106,107</sup>.

Η AFP είναι σημαντικός δείκτης καρκίνου **στους** όγκους εκ γεννητικών κυττάρων των όρχεων και των ωοθηκών (όγκοι λεκιθικού ασκού, εμβρυϊκό καρκίνωμα), στον πρωτοπαθή ΗΚΚ σε ενήλικες και στο παιδικό ηπατοβλάστωμα (πίνακας 3), στο καρκίνωμα του στομάχου, του παγκρέατος του χοληδόχου πόρου, των βρόγχων και επί ηπατικών μεταστάσεων<sup>5,12,105,106,107</sup>. Ο χρόνος ημισείας

ζωής του δείκτη είναι <7 ημέρες<sup>2</sup>.

Η AFP αποτελεί δείκτη πρώτης επιλογής για το πρωτοπαθές ΗΚΚ με ευαισθησία 98% και ειδικότητα 65% (cut-off 10 ng/ml). Μόνο το 5 % των ηπατωμάτων δεν παράγει AFP. Τα επίπεδα της AFP στις νεοπλασίες του ήπατος ή των γεννητικών κυττάρων μπορεί να φθάσουν μέχρι 3000 ng/ml, ενώ στα άλλα είδη των προαναφερθεισών κακοήθων νεοπλασιών φθάνουν μέχρι 350-400 ng/ml, γεγονός που βοηθά στη διαφορική διάγνωση. Επίσης το ύψος των τιμών της στον ορό κατά τη διάγνωση αποτελούν προγνωστικό δείκτη για το ΗΚΚ<sup>5,98</sup>.

Εξάλλου τιμές AFP >400-500 ng/ml θεωρούνται διαγνωστικές ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε κιρρωτικούς ασθενείς με εστιακές ηπατικές βλάβες. Εντούτοις μόνον το 1/3 των ασθενών με πρωτοπαθές καρκίνωμα ήπατος, έχουν τιμές του δείκτη >100 ng/ml, ενώ τιμές >400 ng/ml είναι εξαιρετικά ασυνήθεις σε ασθενείς με όγκους <5cm<sup>108</sup>.

Το γεγονός ότι η μέτρηση της AFP ορού δεν αποτελεί χρήσιμο δείκτη για ανίχνευση αρχικών σταδίων ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, αποδείχθηκε σε καλά σχεδιασμένη πρόσφατη μελέτη, η οποία κατέληξε ότι ποσοστό έως και 80% των ασθενών της συγκεκριμένης ομάδας, έχουν τιμές 10-20ng/ml, ενώ ασθενείς με υψηλή αναγεννητικότητα του ήπατος χωρίς καρκίνωμα, μπορεί να έχουν τιμές AFP ορού υψηλότερες του φυσιολογικού<sup>109</sup>.

Κατά τον χρόνο της διαγνώσεως του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, ο προσδιορισμός της AFP ορού έχει προγνωστική αξία. Αυτό οφείλεται στο ότι καλά διαφοροποιημένοι όγκοι εκφράζουν χαμηλότερες τιμές AFP στον ορό, ενώ ασθενείς με φυσιολογικό τον δεί-

κτη, έχουν όγκους με μικρότερη πιθανότητα αγγειακής διηθήσεως και φυσιολογική ηπατική λειτουργία. Έχει αποδειχθεί ότι οι συγκεκριμένοι παράγοντες αποτελούν καλούς προγνωστικούς δείκτες νόσου<sup>110</sup>.

Η des-gamma carboxyprothrombin (DCP), η glutamate carboxypeptidase, η serine/threonine kinase 15, η interleukin-2, ο urinary tumor growth factor β1 και ο προσδιορισμός των υποδοχέων της MAGE-4 και δύο φωσφολιπάσες η PLA2G13 και η PLA2G7 έχουν δοκιμασθεί σε συνδυασμό με την AFP με άλλοτε άλλη επιτυχία στην διάγνωση του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος<sup>108,111</sup>.

Αναπαραγωγικοί παράγοντες και ειδικότερα ο αριθμός των κυήσεων και ο χρόνος των τοκετών, είναι καλά τεκμηριωμένοι παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη καρκινώματος μαστού. Οι βιολογικοί μηχανισμοί με τους οποίους μια τελειόμηνος εγκυμοσύνη μπορεί να επιδρά στην ανάπτυξη καρκινώματος μαστού στην μητέρα δεν είναι πλήρως διευκρινισμένοι. Ως πλέον αποδεκτή υπόθεση εκτιμάται ότι η διαφοροποίηση των μητρικών αδενικών κυττάρων του μαστού η οποία συμβαίνει στα τελικά στάδια της εγκυμοσύνης ελαττώνει τον κίνδυνο αναπτύξεως της νόσου. Έχει αποδειχθεί ότι υψηλά επίπεδα ορού της AFP σε γυναίκες κατά την διάρκεια οποιασδήποτε εγκυμοσύνης τους, συνοδεύονται από μειωμένη συχνότητα αναπτύξεως καρκινώματος μαστού στην διάρκεια του βίου τους ή/και μειωμένη συχνότητα αρχικής διαγνώσεως της νόσου σε προχωρημένα στάδια<sup>112</sup>.

Εκτός των αυξημένων τιμών της AFP στην κύηση, οι οποίες πρέπει να λαμβάνονται υπόψη, η AFP είναι δυνατόν να εμφανίσει αυξημένες τιμές – συνήθως

<200 ng/ml - και σε ασθενείς με μη κακοήθη νοσήματα, όπως η κυστική ίνωση, η αιμοχρωμάτωση, η αταξία-τηλαγγεικτασία και η κληρονομική τυροσιναιμία, καθώς και στη χρόνια ενεργό ηπατίτιδα, στη χρόνια επιμένουσα ηπατίτιδα, σε φορείς HbsAg, σε οξεία ιογενή λευχαιμία, σε αλκοολική ηπατική κίρρωση ή ηπατίτιδα, σε νόσο του Crohn και σε πολυποδίαση. Σημειώνεται ότι μετά από μερική ηπατεκτομή (όπου συμβαίνει φυσιολογική ηπατοκυτταρική αναγέννηση) δεν εμφανίζεται αύξηση της AFP του ορού<sup>5,9β</sup>.

Ο προσδιορισμός της AFP στα πλαίσια μαζικού προληπτικού ελέγχου για ΗΚΚ, χρησιμοποιείται σε περιοχές αυξημένου κινδύνου για την νόσο (Κίνα, Αλάσκα) ή σε πληθυσμούς με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα ή κίρρωση και θετικό Αυστραλιανό αντιγόνο<sup>2</sup>.

Αυξημένη τιμή AFP προ θεραπείας, σε ασθενείς με μη σεμινωματώδεις όγκους των όρχεων αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα κακής τελικής εκβάσεως. Ο δείκτης πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με την b-HCG, την LDH και την LDH 1. Σε ασθενείς με καρκινώματα εκ γεννητικών κυττάρων, οι οποίοι βρίσκονται σε κλινική πλήρη ύφεση μετά την θεραπεία, η αύξηση της AFP κατά την παρακολούθηση προδικάζει υποτροπή και μπορεί να προηγείται της απεικονιστικής τεκμηριώσεώς της<sup>2</sup>.

Πίνακας 12. Παρουσία AFP στον ορό σε καρκίνους γεννητικών κυττάρων

---

AFP (-)	Σεμίνωμα, δυσγερμίνωμα, διαφοροποιημένο τεράτωμα
AFP(+)	Αμιγείς όγκοι λεκιθικού ασκού
AFP(+/-)	Εμβρυονικό καρκίνωμα, Συνδυασμένοι όγκοι

---

### 3. ΟΡΜΟΝΕΣ

#### ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΧΟΡΙΑΚΗ ΓΟΝΑΔΟ- ΤΡΟΠΙΝΗ (HCG)

Είναι σιαλογλυκοπρωτεϊνική ορμόνη, παράγεται από την πλακουντιακή τροφοβλάστη και ιδίως την συγκυτιοτροφοβλάστη, από τις πρώτες ημέρες της γονιμοποίησης. Ο χρόνος ημισείας ζωής της HCG είναι μικρότερος από 3 ημέρες. Η ορμόνη αποτελείται από δύο πεπτιδικές αλυσίδες (υποομάδες) την  $\alpha$ - και την  $\beta$ -, οι οποίες συνδέονται με μη ομοιολογικούς δεσμούς. Η  $\alpha$ -υποομάδα της HCG είναι ταυτόσημη με τις αντίστοιχες διαφόρων ορμονών της υποφύσεως, όπως η LH, FSH και TSH κωδικοποιείται από κοινό γονίδιο και ανιχνεύεται κυρίως στην πρώτη φάση της κύησης. Η  $\beta$ -υποομάδα της HCG έχει μοναδική δομή η οποία της προσδίδει μοναδικές βιολογικές ιδιότητες. Η  $\beta$ -υποομάδα της HCG βρίσκεται υπό τον έλεγχο διαφόρων γονιδίων έχει διακριτούς αντιγονικούς καθοριστές στο καρβοξυτελικό άκρο της οι οποίοι και καθορίζουν την ανοσολογική και την ορμονική ειδικότητα του μορίου.

Οι τιμές αναφοράς της HCG έχουν ανώτερο όριο τα 5 mIU/mL για άνδρες και μη έγκυες γυναίκες. Κατά την κύηση εμφανίζεται αύξηση, αλλά και σταδιακή διαφοροποίηση των τιμών της HCG ανάλογα με την εβδομάδα κύησης από 5-50 mIU/mL την 1<sup>η</sup> εβδομάδα, σε 12000-270000 mIU/mL την 6<sup>η</sup>-8<sup>η</sup> εβδομάδα.

Κατά την εγκυμοσύνη, η  $\beta$ -HCG αποτελεί < 4% (στα ούρα ή τον ορό) της συνολικής HCG, ο οποίος είναι ο κύριος δείκτης εγκυμοσύνης. Επειδή παράγεται από την τροφοβλάστη, εμφανίζει αυξημένα επίπεδα σε όλους τους ασθενείς με τροφοβλαστικούς όγκους, στο 70% εκείνων με μη σεμινωμάτωσης όγκους των γεννητικών κυττάρων και σπανιότερα

σε σεμίνωμα. Στους καρκινοπαθείς εμφανίζεται παραγωγή μεταβαλλόμενων ποσών  $\alpha$ - και  $\beta$ - υποομάδων, καθώς και τμήματα υποομάδων και υποομάδων με ελλείψεις (deletions) αμινοξέων (nicked HCG). Η  $\beta$ -HCG δεν ανιχνεύεται ποτέ φυσιολογικά στον ορό των ανδρών, ώστε μετρητές τιμές της είναι πάντοτε ενδεικτικές κακοήθειας. Ασθενείς με καρκίνωμα των όρχεων μετά από ορχεκτομή και ασθενείς με χοριοκαρκίνωμα, οι οποίες υποβλήθηκαν σε υστερεκτομή ή ωθηκεκτομή, όταν εμφανίζουν μεταγχειρητικά, επίπεδα  $\beta$ -HCG πρέπει να ελέγχονται για υπολειμματική νόσο.

Επίπεδα HCG > 10<sup>4</sup> mIU/mL παρατηρούνται σε πάσχοντες από νομότοπους ή έκτοπους όγκους εκ γεννητικών κυττάρων, τροφοβλαστική νόσο ή έχουν τροφοβλαστική διαφοροποίηση πρωτοπαθών όγκων πνεύμονα και στομάχου.

Ήπιες αυξήσεις των επιπέδων της HCG έχουν περιγραφεί σε καρκίνωμα πνεύμονος, γαστρεντερικού συστήματος, μαστού, ωθηκών και στο μελάνωμα. Αύξηση της HCG παρατηρείται και σε ορισμένες μη κακοήθεις καταστάσεις όπως η κίρρωση, το δωδεκαδακτυλικό έλκος και η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου<sup>2,5, 12,14,113-116</sup>. Στον πίνακα 13 παρουσιάζεται η σχέση της AFP και της  $\beta$ -HCG με όγκους ωθηκών και όρχεων από γεννητικά κύτταρα<sup>2</sup>.

#### ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΚΟΗΘΗ ΝΕΟ- ΠΛΑΣΜΑΤΑ ΕΚ ΓΕΝΝΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Μελέτες από το International Germ Cell Cancer Collaborative Group, έχουν επιβεβαιώσει την προγνωστική αξία των δεικτών AFP, hCG και LDH στην μελέτη ασθενών με καρκινώματα όρχεων. Οι συγκεκριμένοι δείκτες ήδη περιλαμβάνονται

νονται στο σταδιακτικητικό σύστημα της American Joint Committee on Cancer (AJCC) και της Union International Centre le Cancer (UICC) επί ασθενών με κακοήγη νεοπλάσματα εκ γεννητικών

κυττάρων. Οι τιμές προ θεραπείας των δεικτών συνεκτιμώνται για την κατάταξη ασθενών με μεταστατικά καρκινώματα των όρχεων σε καλής, ενδιάμεσης και κακής προγνώσεως<sup>117, 118</sup>.

Πίνακας 13. Όγκοι όρχεων και ωθηκών από γεννητικά κύτταρα

Όγκος	AFP	b-HCG
Σεμίνωμα	-	+
Σεμίνωμα με συγκυτιοτροφοβλαστικά αρχέγονα κύτταρα	-	+
Εμβρυϊκό καρκίνωμα	+	-
Εμβρυϊκό καρκίνωμα με συγκυτιοτροφοβλαστικά αρχέγονα κύτταρα	+	+
Εκ του λεκιθικού ασκού	+	-
Εκ του λεκιθικού ασκού με συγκυτιοτροφοβλαστικά αρχέγονα κύτταρα	+	+
Χοριοκαρκίνωμα	-	+
Ωριμο τεράτωμα	-	-

Η εκτίμηση των δεικτών μετά την θεραπεία είναι ουσιώδης για τον καθορισμό του είδους της ανταποκρίσεως. Γενικώς σε ασθενείς υπό θεραπεία, οι δείκτες πρέπει να μετρώνται κάθε εβδομάδα και να εκτιμάται η ταχύτητα μειώσεως των, ιδίως τις πρώτες 6 εβδομάδες.

Τον πρώτο χρόνο μετά την θεραπεία, οι δείκτες πρέπει να προσδιορίζονται

ανά μήνα, τον 2<sup>ο</sup> χρόνο, ανά δίμηνο, τον 3<sup>ο</sup> ανά τρίμηνο και στην συνέχεια ανά 6μηνο, μέχρι συμπληρώσεως της πενταετίας<sup>119</sup>. Στον πίνακα 14 δίδονται οι κατευθυντήριες οδηγίες διαφόρων γνωστών επιστημονικών ομάδων σχετικά με τις ενδείξεις χρήσεως δεικτών ορού σε ασθενείς με καρκινώματα εκ γεννητικών κυττάρων<sup>57</sup>.

Πίνακας 14. Περίληψη ενδείξεων χρήσεως δεικτών ορού σε ασθενείς με καρκίνωμα εκ γεννητικών κυττάρων

AFP και hCG για	ACBI	AJCC	EAU	EGTM	ESMO	NACB	SIGN
Screening			Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Διάγνωση			Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
Σταδιακτικηση/ Πρόγνωση	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
Διάγνωση υποτροπής	Ναι		Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
Παρακολούθηση της θεραπείας	Ναι		Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
AFP για Δ.Δ., από ΜΣΟΟ			Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
LDH, για			Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
Screening			Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
Σταδιακτικηση/ Πρόγνωση			Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
Διάγνωση υποτροπής			Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
Παρακολούθηση της θεραπείας			Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι

Όχι= δεν συνιστάται, Ναι= συνιστάται.

ACBI= Association of Clinical Biochemists in Ireland, AJCC= American Joint Committee on Cancer, EAU= European Association of Urology, EGTM= European Group on Tumour Markers, ESMO= European Society of Medical Oncology, NACB= National Academy of Clinical Biochemistry, SIGN= Scottish Intercollegiate Guidelines Network.

ΜΣΟΟ= Μη Σεμινωματώδεις Όγκοι των Όρχεων.

## ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗ (HCT).

Η καλσιτονίνη είναι πεπτίδιο 32 αμινοξέων, το οποίο παράγεται από τα κύτταρα C κυρίως του θυρεοειδή, αλλά και των παραθυρεοειδών αδένων και του θύμου. Τα κύτταρα C είναι κύτταρα του συστήματος APUD (κύτταρα ικανά για πρόσληψη προδρόμων αμινών και αποκαρβοξυλίωση) και προέρχονται από την αρχέγονη νευρική ακρολοφία (neural crest). Ο μυελοειδής καρκίνος του θυρεοειδούς (ΜΚΘ), προέρχεται από τα κύτταρα C και εμφανίζει υψηλά επίπεδα της καλσιτονίνης στον ορό, τα οποία συνήθως διαδράμουν ασυμπτωματικά.

Η καλσιτονίνη ορού συνιστάται και εφαρμόζεται σε πληθυσμιακούς προληπτικούς ελέγχους σε ασυμπτωματικά άτομα, τα οποία έχουν αυξημένο κίνδυνο κληρονομικών μορφών της νόσου, όπως οι συγγενείς ατόμων με ΜΚΘ και τα άτομα με οικογενειακό ιστορικό πολλαπλής ενδοκρινούς νεοπλασίας τύπου 2 (MEN 2), στο 25% των οποίων υπάρχει ΜΚΘ<sup>120</sup>. Πολλοί συνιστούν την μέτρηση της καλσιτονίνης στην σταδιακή εξέταση, στην παρακολούθηση ασθενών μετά από θεραπεία και στην διατύπωση προγνωστικής κρίσεως για αυτούς. Σε ορισμένες περιπτώσεις η καλσιτονίνη (βασικών επιπέδων και μετά από επαγωγή με Ca<sup>++</sup>) φαίνεται ότι μπορεί να βοηθήσει στην ανίχνευση ΜΚΘ αρνητικών στο ραδιοϊσοτοπικό scanning και την κλινική ψηλάφηση του θυρεοειδούς αδένος<sup>5,19</sup>. Η National Academy of Clinical Biochemistry και η British Thyroid Association, συνιστούν τον προσδιορισμό της καλσιτονίνης για την διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με μυελοειδείς καρκίνωμα του θυρεοειδούς πριν και υπό θεραπεία<sup>121,122,57</sup>.

## ΘΥΡΕΟΣΦΑΙΡΙΝΗ (TG)

Η θυρεοσφαιρίνη είναι διμερής γλυκοπρωτεΐνη MB 660 kDa και χαρακτηριστικό προϊόν συνθέσεως του θυρεοειδή αδένου. Χρησιμεύει ως υπόστρωμα για την παραγωγή των θυρεοειδικών ορμονών και ως αποθήκη αυτών, παραμένοντας υπό μορφή κολλοειδούς στον αυλό των θυλακίων του θυρεοειδούς (ιωδίωση-φύλαξη/διάσπαση μέσω λυσοσωματικών πρωτεασών-απελευθέρωση).

Ποσοτικά αντιπροσωπεύει την σημαντικότερη πρωτεΐνη του θυρεοειδή. Φυσιολογικά η συγκέντρωση της Tg στο πλάσμα είναι χαμηλή και αυξάνεται σε διαταραχές του θυρεοειδή, περιλαμβανομένων των κακοήθων νόσων και για τον λόγο αυτό δεν αποτελεί ειδική διαγνωστική εξέταση του καρκινώματος του θυρεοειδούς. Εντούτοις μετά ολική αφαίρεση του θυρεοειδούς επί κακοήθους νόσου, η ανίχνευση Tg στο πλάσμα αποτελεί νεοπλασματικό δείκτη υψηλής κλινικής ευαισθησίας και ειδικότητας για υπολειμματική ή προϊούσα νόσο. Σημειώνεται ότι τα αντιθυρεοειδικά αντισώματα παρεμβαίνουν στον προσδιορισμό της Tg<sup>10</sup>. Η National Academy of Clinical Biochemistry και η British Thyroid Association, συνιστούν τον προσδιορισμό της θυρεοσφαιρίνης για την διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με καρκίνωμα του θυρεοειδούς<sup>121,122,57</sup>.

## ΙΣΤΙΚΕΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΕΣ

### ΟΡΜΟΝΕΣ

#### ΓΑΣΤΡΙΝΗ

Παράγεται από τα G κύτταρα κυρίως στο άντρο του στομάχου και εμφανίζεται στο πλάσμα και τους ιστούς σε διαφορετικά μοριακά μεγέθη, τα οποία διαφέρουν ως προς την ένταση της δράσεώς τους στην έκκριση γαστρικού οξέος και στον χρόνο ημισείας ζωής τους στο

πλάσμα. Όλα τα ανωτέρω ισομερή διαθέτουν το υπεύθυνο για την δράση τους τετραπεπτίδιο στο C-τελικό άκρο. Το γαστρίνωμα εμφανίζεται συνήθως σε πολύ μικρό μέγεθος στο δωδεκαδάκτυλο, στο πάγκρεας και στο ήπαρ, χαρακτηρίζεται από αυξημένη παραγωγή

γαστρίνης και συνήθως προκαλεί το σύνδρομο Zollinger-Ellison (υπερχλωρδρία, πεπτικά έλκη, διάρροια). Η διάγνωση γίνεται με τον προσδιορισμό γαστρίνης στο πλάσμα. Επίπεδα γαστρίνης πάνω από 1000 pg/ml είναι διαγνωστικά γαστρινώματος<sup>6</sup>.

Πίνακας 15

Καρκίνος όρχεων -Ταξινόμηση		Εξωγοναδικοί όγκοι εκ σπερμοκυττάρων
<i>Εκ σπερμοκυττάρων (~90-95%)</i>		<i>Εκ κυττάρων Leydig, Sertoli και κοκκιωδών (~5-10%)</i>
1. <u>Σεμίνωμα(40%)</u>		<u>Καρκινώματα χαμηλής διαφοροποίησης και αγνώστου πρωτοπαθούς εστίας</u>
α.εκ τροφοβλαστικών γιγαντοκυττάρων (5-10%)	HCG, PLAP	
β. καθαρό σεμίνωμα	NSE, ισσένζυμο ALP γενν.κυττάρων	A.οπισθοπεριτοναίου B. μεσοθωρακίου Γ. ΚΝΣ
2. <u>Μη Σεμίνωμα (60%)</u>		HCG/AFP(+/-) Κυτταρογενετική ανάλυση ισοχρωμοσώματος 12p (LD1)
α. χοριοκαρκίνωμα	HCG	
β. Λεκιθικού ασκού		
γ. αδιαφοροποίητο εμβρυονικό καρκίνωμα, τερατοκαρκίνωμα	AFP	
δ. εμβρυονικό τεράτωμα, αδιαφοροποίητο δυσγεμίνωμα	AFP/HCG (-)	

### ΑΓΓΕΙΟΕΝΕΡΓΟ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΠΟΛΥΠΕΠΤΙΔΙΟ (VASOACTIVE INTESTINAL PEPTIDE-VIP)

Ανήκει στην οικογένεια της σεκρετίνης-γλυκαγόνης και κύρια δράση της είναι αγγειοδιαστολή και αύξηση των περιφερικών αγγείων του εντέρου. Υπερπαραγωγή του VIP παρατηρείται σε όγκους εντοπιζόμενους στο πάγκρεας οι οποίοι χαρακτηρίζονται ως «όγκοι μη προερχόμενοι από τα Β-κύτταρα των νησιδίων». Οι όγκοι αυτοί συνοδεύονται από το σύνδρομο Verner-Morrison (**Watery Diarrhoea, Hypokaliaemia, Achlorhydria-WDHA**)<sup>6</sup>.

### ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗ

Εκτός από τον υποθάλαμο, όπου η έκκρισή της αναστέλλει την απελευθέρωση της αυξητικής ορμόνης, η σωματοστατίνη βρίσκεται σε σημαντικές συγκε-

ντρώσεις στα τοιχώματα στομάχου, του εντέρου και στο πάγκρεας. Το σωματοστατίνωμα είναι όγκος των D-κυττάρων του παγκρέατος, χαρακτηρίζεται από υπερπαραγωγή σωματοστατίνης και προκαλεί διαβήτη, διάρροια, στεατόρροια και σχηματισμό χολόλιθων<sup>6</sup>.

### ΔΙΑΜΕΣΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

#### ΣΕΡΟΤΟΝΙΝΗ

Οι καρκινοειδείς όγκοι είναι όγκοι των εντεροχρωμιόφιλων κυττάρων (enterochromaffin cells) οι οποίοι εκκρίνουν σημαντικά ποσά σεροτονίνης (5-υδροξυτρυπταμίνης). Εμφανίζονται σε 1,2 ως 2,2/10000 άτομα η πλειοψηφία τους αναπτύσσεται πρωτοπαθώς κυρίως στο πεπτικό, στον μαστό στον θύμο, στο ήπαρ, στην ουροδόχο κύστη, στους πνεύμονες και στις ωοθήκες. Η σεροτονίνη φυσιολογικά παράγεται στα εντεροχρωμιόφι-

λα κύτταρα του πεπτικού και στον εγκέφαλο, μεταβολίζεται δε σε 5-HIAA στους πνεύμονες. Είναι ισχυρό αγγειοσυσταλτικό, μεταφέρεται σε υψηλές συγκεντρώσεις από τα αιμοπετάλια και απελευθερώνεται κατά την πήξη. Ο αυξημένος μεταβολισμός της σεροτονίνης είναι παρών στο σύνολο των καρκινοειδών όγκων και ανιχνεύεται με το 5-HIAA και την σεροτονίνη στα ούρα και την σεροτονίνη των αιμοπεταλίων στο αίμα. Τα επίπεδα της τελευταίας είναι ανεξάρτητα διαίτας πλούσιας σε σεροτονίνη, σε αντίθεση με τους άλλους δύο δείκτες.

Το 5-HIAA ούρων μολονότι έχει χαμηλή προβλεπτική αξία θετικού αποτελέσματος, είναι χρήσιμος δείκτης για την παρακολούθηση καρκινοειδών όγκων του μεσεντέρου με υψηλό ρυθμό εκκρίσεως σεροτονίνης, ενώ η σεροτονίνη ούρων και η σεροτονίνη των αιμοπεταλίων αποτελούν πλέον ευαίσθητους δείκτες καρκινοειδών όγκων με μέτρια αύξηση της παραγωγής της σεροτονίνης<sup>4,5,6,123</sup>.

#### **4. ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΤΙΣ ΟΜΑΔΕΣ ΑΙΜΑΤΟΣ**

##### **CA 19-9**

Το CA 19-9 είναι το αντιγόνο το οποίο προέρχεται από ανοσοποίηση ποντικών BALB/c με την ανθρώπινη κυτταρική σειρά (SW1116) καρκινώματος του εντέρου και αντιδρά με το μονοκλωνικό αντίσωμα 1116 NS 19-9. Έχει MB>1000 kDa με λιπιδικό τμήμα 36 kDa και βλεννινικό ~1000 kDa. Ο αντιγονικός καθοριστής του μορίου του CA 19-9 είναι μία σιαλυλιωμένη λακτο-N-φουκοπεντανόζη II και συγκεκριμένα η 2,3-σιαλυλιωμένη μορφή της δομής Lewis a (Le<sup>a</sup>) του συστήματος ανθρώπινων ομάδων αίματος κατά Lewis.

Τα άτομα με φαινότυπο Le<sup>a-b</sup> συνι-

στούν περίπου το 5% του συνολικού πληθυσμού και δεν μπορούν να εκφράσουν το CA 19-9 και συνεπώς στην συγκεκριμένη μειοψηφία των ατόμων δεν έχει νόημα η χρήση του δείκτη.

Το CA 19-9 υπερεκφράζεται στα αδενοκαρκινώματα του εντέρου και του παγκρέατος. Ανιχνεύεται σε εμβρυϊκούς ιστούς (σιελογόνους και δακρυϊκούς αδένες, αναπνευστική οδός, πάγκρεας, ήπαρ, στόμαχος, έντερο) και στον ενήλικα σε χαμηλές συγκεντρώσεις από τα επιθηλιακά κύτταρα του παγκρέατος, των σιελογόνων αδένων, του στομάχου, του ήπατος, του βλεννογόνου της ουροδόχου κύστεως και του πνεύμονος. Η επίδραση της νευραμινιδάσης στο CA 19-9 προκαλεί πλήρη απώλεια της αντιγονικότητας του μορίου.

Το CA 19-9 ανευρίσκεται, εκτός του ορού και σε άλλα βιολογικά υγρά όπως το παγκρεατικό, το γαστρικό, το αμνιακό, τα ούρα, ο σπείλος, το γάλα, και η τραχηλική βλέννη<sup>4,5,10,124a</sup>.

Ο δείκτης CA 19-9 εμφανίζει την μεγαλύτερη διαγνωστική ευαισθησία, ειδικότητα και προβλεπτική αξία στα καρκινώματα του παγκρέατος και των χοληφόρων πόρων. Είναι αυξημένος στο 70–100% των ασθενών με καρκίνωμα παγκρέατος, αλλά έχει μικρή ειδικότητα δεδομένου ότι σχετικά υψηλές τιμές του δείκτη παρατηρούνται σε παγκρεατίτιδες. Είναι εξάλλου ενδιαφέρον ότι οι τιμές του CA 19-9 δεν υπερβαίνουν το 100 U/ml σχεδόν στο σύνολο των «καλοήθων» παγκρεατικών νόσων, ενώ στο 65% των παγκρεατικών καρκινωμάτων οι τιμές του υπερβαίνουν το 100 U/ml και δεδομένου αυτού το CA 19-9, αποτελεί κατάλληλο δείκτη για διαφορική διάγνωση των συγκεκριμένων νοσολογικών οντοτήτων. Πρέπει εντούτοις να



σημειωθεί ότι ασθενείς με παγκρεατικούς όγκους διαμέτρου μικρότερης των 3cm, συχνότατα έχουν φυσιολογικά επίπεδα CA 19-9 ορού<sup>125</sup>. Πολύ υψηλές τιμές του δείκτη σε ασθενείς με καρκίνωμα του παγκρέατος προδικάζουν ανεγχείρητη νόσο στην συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων, ενώ μετεγχειρητική αύξηση του CA 19-9 μπορεί να προηγείται της κλινικής υποτροπής κατά 1-7 μήνες<sup>2</sup>.

Αυξημένες τιμές CA 19-9 παρατηρείται στο 65% των ασθενών με καρκίνωμα χοληφόρων πόρων, αλλά η χολόσταση ή η εφαρμογή ανακουφιστικών τεχνικών (stents, χολικό bypass) συνήθως συνοδεύονται από αυξημένες τιμές του δείκτη<sup>126</sup>.

Αυξημένες τιμές του δείκτη έχουν περιγραφεί στο 20-30% των ασθενών με καρκινώματα εντέρου αρχικού σταδίου στο 75% επί μεταστατικής νόσου, στο 22-51% των ασθενών με ΗΚΚ και στο 40-60% των ασθενών με προχωρημένο γαστρικό καρκίνωμα<sup>2</sup>.

Μη κακοήθεις καταστάσεις, όπως παγκρεατίτιδα, αποφρακτικός ίκτερος, κίρρωση ήπατος, χρόνια ενεργός ηπατίτιδα, πρωτοπαθής χολική κίρρωση και κυστική ίνωση, μπορεί να συνοδεύονται από μικρή έως μέτρια αύξηση των επιπέδων του, τα οποία σπανιότατα ξεπερνούν τιμές 100 – 120 U/ml<sup>2</sup>. Συνοπτικά ο ρόλος του CA 19-9 αφορά κυρίως στην διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με καρκινώματα παγκρέατος και πεπτικού σωλήνα.

### CA 50

Το αντιγόνο CA-50 είναι ο άμεσος πρόδρομος του CA 19-9, είναι δηλαδή το σιαλυλιωμένο αντιγόνο κατά Lewis με απύσα την φουκόζη. Η ιδιότης αυτή καθιστά το CA 50 ικανό να εκφράζεται

από τα άτομα τα αρνητικά κατά Lewis. Η χρησιμότητά του είναι αντίστοιχη (και ίσως μεγαλύτερη) εκείνης του CA 19-9 στην παρακολούθηση καρκινωμάτων πεπτικού και παγκρέατος. Αυξημένα επίπεδα του CA 50 παρατηρούνται σε μεγαλύτερο εύρος μη γαστρεντερικών καρκινωμάτων σε σύγκριση με το CA 19-9. Μελέτες δείχνουν ότι το CA 50 αποτελεί τον πλέον ευαίσθητο δείκτη για όλα τα στάδια της νόσου επί καρκινώματος του στομάχου με ευαισθησία περί το 60%, σε σύγκριση με άλλους δείκτες (CEA, CA 19-9, CA 72-4, CA 195) των οποίων η ευαισθησία δεν ξεπέρασε το 20-30%. Εντούτοις και το CA 50 αυξάνει στον ορό ασθενών με ηπατοχολική νόσο ή οξεία παγκρεατίτιδα<sup>2,5</sup>.

### CA 72-4

Το αντιγόνο CA 72-4 έχει ΜΒ >400-1.000 kDa και ορίζεται ως το ειδικό αντιγόνο έναντι 2 Mab μονοκλωνικών αντισωμάτων: του CC 49 (2<sup>ης</sup> γενεάς μονοκλωνικού αντισώματος έναντι του υψηλού βαθμού καθαρότητας αντιγονικού καθοριστή Tumour-Associated-Glycoprotein - TAG 72) και του B 72.3, το οποίο είναι 1<sup>ης</sup> γενιάς αντίστοιχο αντίσωμα. Το B 72.3 προέρχεται από ανοσοποίηση με μεταστατικά κύτταρα μαστού εμπλουτισμένα σε μεμβράνες, ενώ το CC 49 από ανοσοποίηση με κεκαθαρωμένο TAG 72, ληφθέν από ξενομόσχευμα ανθρώπινου καρκινώματος του εντέρου.

Αυξημένα επίπεδα του δείκτη CA 72-4 στον ορό έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με ποικίλλα επιθηλιακά καρκινώματα, όπως στομάχου, ΜΜΚΠ, ωθηκών, μαστού, παγκρέατος και ορθού. Το CA 72-4 εμφανίζει μεγαλύτερη ευαισθησία (50%) και ειδικότητα (100%) σε ασθενείς με καρκίνωμα στομάχου έναντι των CEA και CA 19-9. Η ευαισθησία της εξε-

τάσεως είναι μεγαλύτερη σε ασθενείς με μεταστατική νόσο. Το 24% των ασθενών με καρκίνωμα ωοθηκών και το 36% των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα έχουν υψηλές τιμές του δείκτη<sup>7d</sup>.

### CA 125

Το CA 125 είναι το αντιγόνο το οποίο αντιδρά με το μονοκλωνικό αντίσωμα OC 125, προερχόμενο από ανοσοποίηση ποντικού με την ανθρώπινη κυτταρική σειρά OVCA 433 ορώδους κυσταδενοκαρκινώματος ωοθηκών. Η φύση του επίτοπου αυτού του αντιγόνου είναι αμφιλεγόμενη, φαίνεται να περιέχει σιαλικό οξύ και βρίσκεται στην επιφάνεια μιας γλυκοπρωτεΐνης MB 200-250 kDa.

Το CA 125 είναι αντιγόνο διαφοροποίησης εκφράζεται στην αρχέγονη εμβρυϊκή σπλαχνική κοιλότητα και σε δομές ενηλίκων προερχόμενες εξ αυτής, μεταξύ των οποίων η αναπνευστική οδός, το περικάρδιο, ο υπεζωκότας, το περιτόναιο και τα επιθήλια του ενδοτραχήλου, της κοιλότητας της μήτρας και των σαλπίνγων, όχι όμως των ωοθηκών εμβρύου ή ενηλίκου γυναικός. Ο χρόνος ημισείας ζωής του δείκτη είναι 4.5 ημέρες. Το CA 125 εκτός του ορού, ευρίσκεται φυσιολογικά σε αρκετά βιολογικά υγρά, όπως το γάλα, το σπερματικό υγρό, το αμνιακό υγρό και η τραχηλική βλέννη. Επίσης τα επίπεδα του CA 125 στον ορό μπορούν να αυξηθούν σε φυσιολογικές καταστάσεις, όπως στην έμμηνο ρύση και το 1<sup>ο</sup> τρίμηνο της εγκυμοσύνης.

Τα όργανα αναπαραγωγής καθώς και τα εξ αυτών μεσοθηλιακά κύτταρα μπορούν να παράγουν αυξημένα ποσά CA 125 επί καλόηθων νοσημάτων, όπως ενδομητρίωση, σαλπινγίτιδα, φυματίωση, πλευρίτιδα, περικαρδίτιδα, ασκίτις, κίρρωση, νεφρική ανεπάρκεια<sup>124b,124c</sup>. Στον

Πίνακα 16 παρουσιάζονται οι κυριότερες κακοήθεις νόσοι οι οποίες μπορεί να προκαλέσουν αυξημένες τιμές CA 125 του ορού<sup>2</sup>.

Λαμβάνοντας υπόψιν τα παραπάνω δεδομένα, το αντιγόνο CA 125 βρίσκει την σημαντικότερη εφαρμογή του: α) στην διαφορική διάγνωση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων ενδοπυελικών μαζών, κυρίως στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, β) στην παρακολούθηση της θεραπείας του επιθηλιακού καρκινώματος των ωοθηκών και γ) στην ανίχνευση υποτροπών. Έχει παρατηρηθεί ότι τιμές του CA 125 >250 U/ml προ της χημειοθεραπείας είναι ενδεικτικές κακής πρόγνωσης.

Η αξία του δείκτη έγκειται στις περιπτώσεις θετικότητάς του, δεδομένου ότι αρνητική τιμή του, δεν μπορεί να αποκλείσει την κακοήθεια<sup>5,11,12,57,113,124c,129-133</sup>.

Σημαντικός αριθμός μελετών δείχνει την προγνωστική αξία του βαθμού μείωσης του CA 125 ορού, μετά από ογκομειωτική εγχείρηση ή κατά την διάρκεια της χημειοθεραπείας<sup>121</sup>.

Σε πρόσφατη μελέτη επί 18748 υγιών, μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών<sup>132</sup>, με σκοπό τον εντοπισμό δεδομένων μαζικού προληπτικού πληθυσμιακού ελέγχου, αξιολογήσιμων σε αλγόριθμους, παρατηρήθηκαν τα εξής:

1. Τα επίπεδα του CA 125 είναι σημαντικά χαμηλότερα σε γυναίκες μετά υστερεκτομή.
2. Υπάρχει σημαντική αύξηση των επιπέδων του δείκτη σε γυναίκες με ιστορικό κακοήθειας, γενικά.
3. Το ύψος των συγκεντρώσεων του CA 125 εμφανίζει υψηλή συσχέτιση με τη φυλετική καταγωγή (Καυκάσιες: 6.0-41.0 U/ml, Ασιάτισσες: 5.9-33.3 U/ml, Αφρικανίδες: 4.0-26.0 U/ml).

4. Η ηλικία ενάρξεως της εμμήνου ρύσεως, της εμμηνοπαύσεως και το ιστορικό κύστεων στις ωοθήκες σχετίζονται με τα επίπεδα του CA 125.

5. Υπάρχει μεγάλη διακύμανση στις τιμές του CA 125 η οποία σχετίζεται με τον τύπο της ανοσοαναλύσεως, την κα-

τασκευάστρια εταιρεία του kit και την γενιά του μηχανήματος, ώστε πχ η ανοσοανάλυση CA 125 με μηχανήμα 2ας γενεάς της εταιρείας Centocor παρέχει αποτελέσματα κατά αρκετές μονάδες υψηλότερα από τα αντίστοιχα μηχανήματος 1<sup>ης</sup> γενιάς της ίδιας εταιρείας.

Πίνακας 16. Κακοήθεις νόσοι δυνάμενες να προκαλέσουν αύξηση των τιμών CA 125 του ορού

Νόσος	Συχνότητα (%)
Μη βλεννώδη καρκινώματα ωοθήκης	85%
Καρκινώματα εκ του Φαλλοπιανού πόρου	100%
Αδενοκαρκινώματα του τραχήλου μήτρας	83%
Αδενοκαρκινώματα του ενδομητρίου	50%
Τροφοβλαστικοί όγκοι	45%
Πλακώδη καρκινώματα αιδοίου, τραχήλου της μήτρας	<15%
Μη μικροκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα*	45%
Κακοήθεις όγκοι του λεμφικού**	34%
Κακοήθη εξιδρωματικά υγρά	Άλλοτε άλλα ποσοστά

\* = Συσχετίζεται με το στάδιο της νόσου<sup>127</sup>

\*\* = Συνήθης η αύξηση επί συμμετοχής του περιτοναίου, του υπεζωκότα ή του περικαρδίου<sup>128</sup>

Ενδιαφέρουσα είναι πρόσφατη μελέτη μαζικού προληπτικού πληθυσμιακού ελέγχου σε 5550 γυναίκες στην οποία επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη σημαντικού κινδύνου για κακοήθη νόσο εκτός καρκινώματος των ωοθηκών, σε γυναίκες με υψηλή τιμή CA 125, με πιθανότερα τα καρκινώματα μαστού και πνεύμονα<sup>133</sup>.

Μολονότι υπάρχουν πολλές θετικές ενδείξεις για την χρησιμότητα του CA 125 ορού στην διάγνωση του καρκινώματος των ωοθηκών, το AJCC με ισχυρή επιχειρηματολογία δεν το χρησιμοποιεί στο σταδιοποιητικό σύστημα της νόσου (134).

Προοπτικές μελέτες κατέληξαν ότι ο συνδυασμός διακολπικού υπερηχογραφήματος και CA 125 ορού μπορεί να βοηθήσει στην ανίχνευση σημαντικού αριθμού προκλινικών καρκινωμάτων ωοθηκών. Εξάλλου προκαταρκτικά αποτελέσματα δείχνουν ότι πρωτόκολλα μαζικού πληθυσμιακού ελέγχου βασι-

σμένα στις παραπάνω εξετάσεις βελτιώνουν την επιβίωση των γυναικών, αλλά είναι αμφίβολο εάν μειώνουν την θνησιμότητα από την νόσο. Η εισαγωγή και η ευρεία χρήση πρωτεομικής τεχνολογίας σε προγράμματα μαζικού προληπτικού πληθυσμιακού ελέγχου, ελπίζεται ότι θα βελτιώσει τα αντίστοιχα αποτελέσματα<sup>135</sup>.

Δεδομένης της ελλείψεως ριζικής θεραπείας σε φάσεις υποτροπής του καρκινώματος των ωοθηκών, δεν υπάρχει απολύτως αποδεκτή θέση για το εάν και πόσο συχνά πρέπει να προσδιορίζεται το CA 125 στον ορό των συγκεκριμένων γυναικών. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της SOR εφόσον υπάρχει αύξηση προηγούμενα φυσιολογικής τιμής του δείκτη, αυτός πρέπει να επαναλαμβάνεται σε 2-3 εβδομάδες, ώστε να γίνεται δυνατός ο προσδιορισμός του χρόνου διπλασιασμού των νεοπλασματικών κυττάρων. Σε κάθε περίπτωση

πρέπει να συνεκτιμώνται οι τιμές του CA 125 με τα αποτελέσματα της αξονικής τομογραφίας. Υπενθυμίζεται ότι σε σημαντικό ποσοστό ασθενών, η υποτροπή της νόσου δεν συνδυάζεται με αύξηση του δείκτη<sup>14,57,118</sup>.

Επειδή στο 20%-50% των περιπτώσεων γυναικών με καρκίνωμα ωοθηκών αρχικών σταδίων οι τιμές του CA 125 ορού είναι φυσιολογικές, χρησιμοποιούνται βοηθητικοί δείκτες για την τεκμηρίωση της νόσου, μεταξύ των οποίων το CEA, το CA 19.9, ο OVX-1 και ο macrophage colony-stimulating factor. Το CA 19.9 βρίσκεται αυξημένο σε βλεννώδη καρκινώματα ωοθήκης ενώ το CEA ορού είναι αυξημένο στο 7%-37% των περιπτώσεων της νόσου. Σε μελέτες βρέθηκε ότι ο OVX-1 και ο M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor) ήταν αυξημένοι σε γυναίκες με καρκίνωμα ωοθηκών σταδίου I οι οποίες είχαν φυσιολογικό CA 125 ορού και ήδη οι δείκτες θεωρούνται ως υποβοηθητικοί για την διάγνωση της

νόσου. Εντούτοις πρέπει να σημειωθεί ότι η ραδιοανοσολογική ανίχνευση του OVX-1 εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από τον τρόπο της αιμοληψίας<sup>135,136</sup>. Το lysophosphatidic οξύ χρησιμοποιείται για την διάκριση ασθενών με καρκίνωμα ωοθηκών από φυσιολογικά άτομα με άλλοτε άλλη επιτυχία<sup>137</sup>.

Στον πίνακα 17 δίδονται οι κατευθυντήριες οδηγίες διαφόρων γνωστών επιστημονικών ομάδων, σχετικά με τις ενδείξεις χρήσεως των δεικτών ορού CA125, CEA, CA19.9, AFP και hCG σε ασθενείς με καρκινώματα ωοθηκών<sup>57</sup>.

## 5. ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΒΛΕΝΝΙΝΗΣ MUC1

Η βλεννίνη MUC1 είναι προϊόν του γονιδίου MUC1 και στην βιβλιογραφία φέρεται και ως PEM (polymorphic epithelial protein), EMA (Epithelial Membrane Antigen) ή επισαλίνη. Η βλεννίνη MUC1 είναι μία διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη.

Πίνακας 17. Περίληψη ενδείξεων χρήσεων δεικτών ορού CA125, CEA, CA19.9, AFP και HCG σε ασθενείς με καρκινώματα ωοθηκών

CA125 για	ACBI	AJCC	EGTM	ESMO	NACB	SOR
Screening	Όχι		Όχι*	Όχι	Όχι <sup>^</sup>	Όχι
Διάγνωση	Όχι*		Όχι*	Όχι	Όχι*	Ναι
Πρόβλεψη/ Πρόγνωση		Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι
Ανίχνευση υποτροπής	Ναι		Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
Παρακολούθηση της θεραπείας	Ναι		Όχι	Ναι	Ναι	Ναι
CEA ή CA19.9 εφόσον το CA125 δεν είναι αυξημένο κατά την διάγνωση						Ναι
AFP και hCG για αποκλεισμό ΚΕΓΚ σε νέες γυναίκες						Ναι

Όχι= δεν συνιστάται, Ναι= συνιστάται

ACBI= Association of Clinical Biochemists in Ireland, AJCC= American Joint Committee on Cancer, EGTM= European Group on Tumour Markers, ESMO= European Society of Medical Oncology, NACB= National Academy of Clinical Biochemistry, SOR= Standards, Options and Recommendations for tumor markers, ΚΕΓΚ= Καρκίνωμα εκ γεννητικών κυττάρων

\* = Σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, μπορεί να είναι χρήσιμο στην διαφορική διάγνωση καλοήθων από κακοήθεις μάζες της ελάσσονος πυέλου

<sup>^</sup> = Σε συνδυασμό με διακολπικό υπερηχογράφημα το CA125 μπορεί να είναι χρήσιμο στην πρόωμη διάγνωση καρκινώματος ωοθηκών σε γυναίκες με σύνδρομο κληρονομικού καρκινώματος ωοθηκών

Πίνακας 18. Καρκίνος ωοθηκών –Ταξινόμηση

Επιθηλιακού τύπου (~95%)	Εκ σπερμοκυττάρων (~1%)	Στρωματικοί όγκοι Εκ κοκκιοδών κυττάρων, Εκ κυττάρων Sertoli/Leydig
1. ορώδες CA 125 50-60%	1. χοριοκαρκίνωμα (ή χοριοεπιθηλίωμα) HCG	Inhibins Activins FSH, LH
2. βλενώδες TATI, CEA ~10%	2. λεκθικού ασκού AFP	
3. ενδομητριοειδές, clear-cell, αδιαφοροποίητο αδενόCA CEA, TPS 25-35%	3. εμβρυονικό καρκίνωμα πολυεμβρύωμα + - AFP/ + HCG 4. εμβρυονικό τεράτωμα, αδιαφοροποίητο δυσγερμίνωμα (-)	

Παρόλον ότι ο πρωτεϊνικός πυρήνας της MUC1 είναι ίδιος σε διαφορετικούς ιστούς, ο βαθμός γλυκοζυλιώσεως ποικίλλει. Στα αδενικά επιθηλιακά κύτταρα του μαστού η MUC1 εμφανίζεται με MB 250-500 kDa και περιέχει ~50% υδατάνθρακες. Οι διαφορές στην γλυκοζυλίωση αποδίδονται στα επίπεδα δραστηκότητας των γλυκοσυλοτρανσφερασών και των γλυκοσιδασών στους διάφορους ιστούς. Η φυσιολογική λειτουργία των βλεννινών αυτών πιθανότατα είναι η κυτταρική προστασία και λίπανση και ενδεχομένως η συμβολή τους στην κυτταρική προσκόλληση.

Κατά την κακοήθη κυτταρική εκτροπή προκαλείται:

1. απώλεια της πολικότητας του κυττάρου, με συνέπεια η έκφραση της MUC1 παύει να περιορίζεται στα κορυφαία σημεία της επιφανείας του και εκφράζεται σε όλη την επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης (υπερέκφραση), από εκεί δε μεταφέρεται στην κυκλοφορία,
2. εκτροπή της γλυκοζυλιώσεως του μορίου και
3. παρουσίαση κρυμμένων επιτόπων.

Μεταξύ των αντιγόνων τα οποία σχετίζονται με την βλεννίνη MUC1 του μα-

στού, κυριότερος εκπρόσωπος είναι το αντιγόνο CA 15-3. Στην ομάδα αυτή συγκαταλέγονται επίσης και τα MCA, CA 27.29 (αναφέρεται και ως BR 27.29 ή B 27.29), MSA, CA 549, BR-MA, HMFG-1(human milk-fat globule), CA M26, CA M29 και CA M38<sup>2,7c,10,138-141</sup>.

### CA 15-3

Το CA 15-3 είναι γλυκοπρωτεΐνη μεγάλου μοριακού βάρους της κατηγορίας των βλεννινών, συντίθεται από τα κύτταρα μαστού σε γαλοχία και ορίζεται ως το αντιγόνο το οποίο αναγνωρίζουν τα μονοκλωνικά αντισώματα 115 D8 (έναντι κλάσματος εμπλουτισμένου σε μεμβράνες HMFG) και DF3 (έναντι κλάσματος εμπλουτισμένου σε μεμβράνες από κύτταρα μεταστατικού καρκινώματος του μαστού). Προς το παρόν έχει ταυτοποιηθεί μόνον ο αντιγονικός επίτοπος με τον οποίο αντιδρά το DF3 και βρέθηκε ότι είναι η αμινοξική αλληλουχία TRPAPGS της επαναληπτικής αλληλουχίας του πρωτεϊνικού πυρήνα της MUC1<sup>140</sup>.

Έχει βρεθεί ότι η συγκέντρωση του CA 15-3 στον ορό υγιών ατόμων είναι <25 U/ml και <30 U/ml στο 94.5 % και στο 99% του πληθυσμού αντιστοίχως και δεν

διαφέρει μεταξύ ανδρών και γυναικών. Σε μία μελέτη, η οποία δεν επιβεβαιώθηκε, οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες εμφάνιζαν υψηλότερες τιμές του δείκτη<sup>(142)</sup>.

Σε ασθενείς με καρκίνωμα μαστού, οι συγκεντρώσεις του CA 15-3 στον ορό συσχετίζονται θετικά με το στάδιο της νόσου ή το μέγεθος του πρωτοπαθούς όγκου. Ενώ μικρό ποσοστό ασθενών με καρκίνωμα μαστού και τοπική υποτροπή εμφανίζει υψηλές τιμές του CA 15-3 στον ορό, το 70% με απομακρυσμένες μεταστάσεις εμφανίζει υψηλές τιμές του δείκτη. Λόγω της χαμηλής ευαισθησίας και ειδικότητας του CA 15-3, δεν προτείνεται για μαζικούς προληπτικούς πληθυσμιακούς ελέγχους, διάγνωση και πρόγνωση του καρκινώματος του μαστού, παρά μόνο για παρακολούθηση της θεραπείας και της εμφανίσεως υποτροπών<sup>11,141</sup>.

Με μαθηματικά πρότυπα υπολογίζεται ότι πτώση αρχικών τιμών του CA 15-3 μεγαλύτερη του 33%, η οποία επιτυγχάνεται με εγχείρηση, είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας πολύ σημαντικός ( $p < 0.001$ ), για μειωμένο κίνδυνο υποτροπής της νόσου. Με ανάλογους υπολογισμούς αποδείχθηκε ότι η πιθανότητα 5ετούς ελευθέρου νόσου διαστήματος μετά ριζική εγχείρηση, αφορά στο 44% και στο 65% των γυναικών με αρχικές αυξημένες και φυσιολογικές ( $p < 0,001$ ) τιμές του δείκτη<sup>2</sup>.

Έχει παρατηρηθεί αύξηση του CA 15-3 στον ορό ασθενών με καλοήγη νοσήματα του μαστού, αλλά και σε άλλα μη κακοήγη νοσήματα, όπως οξεία ηπατίτιδα, χρόνια ενεργός ηπατίτιδα, κίρρωση ήπατος, σαρκοείδωση, φυματίωση και ερυθηματώδης λύκος. Επίσης έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα του δείκτη

σε ασθενείς με καρκίνωμα πνεύμονα, παχέος εντέρου - ορθού, παγκρέατος, προστάτη και ωοθηκών<sup>141</sup>.

### **MCA ΚΑΙ CA 27.29**

Το MCA ορίζεται ως το αντιγόνο, το οποίο αντιδρά με 3 μονοκλωνικά Mab αντισώματα, το b12 έναντι ενός πεπτιδικού αντιγονικού καθοριστή και τα b8, b15 έναντι γλυκοπρωτεϊνικών καθοριστών<sup>7c</sup>.

Το CA 27.29 αντιδρά με το μονοκλωνικό αντίσωμα B 27.29, του οποίου ο αντιγονικός καθοριστής έχει ταυτοποιηθεί ότι είναι η αμινοξική αλληλουχία DTRPAP της επαναληπτικής αλληλουχίας του πρωτεϊνικού πυρήνα της MUC1<sup>139</sup>.

Οι δείκτες αυτοί είναι μετά το CA 15-3, οι γνωστότεροι της οικογενείας των βλεννινών MUC1 και ο προσδιορισμός τους εφαρμόζεται στην παρακολούθηση ασθενών με καρκίνωμα του μαστού με αποτελέσματα παρόμοια με εκείνα του CA 15-3<sup>11,140</sup>.

Αύξηση του MCA παρατηρείται και επί καρκινώματος ωοθηκών, μήτρας και σε ασθενείς με προχωρημένο καρκίνωμα πνεύμονα και ορθού. Σε μη κακοήγη νοσήματα, αύξηση του MCA παρατηρείται σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα, κίρρωση ήπατος, χρόνια νοσήματα του πνεύμονα και στο 3<sup>ο</sup> τρίμηνο της εγκυμοσύνης<sup>16β,143</sup>.

Έχει βρεθεί ότι το MCA υπερεκφράζεται στον μαστικό αδένα κατά την προετοιμασία του για την γαλουχία, εκτός δε από την έντονη αυξησή του στον ορό της εγκύου, ευρίσκεται και στο αμνιακό υγρό. Μετά τον τοκετό ανευρίσκεται στο γάλα, ενώ η συγκέντρωσή του στον ορό της μητέρας επανέρχεται στο φυσιολογικό εντός διμήνου. Αύξηση του MCA παρατηρείται αυξανομένης της ηλικίας

με την ηλικία και σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια<sup>7c</sup>.

Αύξηση των επιπέδων του CA 27.29 στον ορό μπορεί επίσης να παρατηρηθεί σε καρκινώματα εντέρου, στομάχου, νεφρού, πνεύμονα, ωοθηκών, παγκρέατος, ήπατος και μήτρας. Σε μη κακοήθεις νόσους αύξηση του CA 27.29 παρατηρείται στο 1<sup>ο</sup> τρίμηνο της εγκυμοσύνης, ενδομητρίωση, κύστες ωοθηκών, καλοήθεις νόσων μαστού, νόσων των νεφρών και του ήπατος<sup>144</sup>.

Πολλές μελέτες κατέληξαν ότι το CA 15.3 και το CA 27.29 αποτελούν τους καλύτερους δείκτες για παρακολούθηση του καρκινώματος του μαστού, μολονότι έχουν μικρή ευαισθησία στα αρχικά στάδια της νόσου, γενικώς χαμηλή ειδικότητα, ενώ δεν υπάρχει σαφής απόδειξη οφέλους στην επιβίωση ασθενών με καρκίνωμα μαστού, οι οποίοι παρακολουθούνται στενά με προσδιορισμό των συγκεκριμένων δεικτών. Για τους λόγους αυτούς δεν συνιστώνται σε προγράμματα μαζικού πληθυσμιακού ελέγχου ή για να τεθεί η διάγνωση και να σταδιακτικηθούν ασθενείς με καρκινώματα μαστού<sup>121</sup>.

Το FDA έκανε δεκτά το CA 15.3 και το CA 27.29 στην παρακολούθηση ασθενών με προχωρημένο καρκίνωμα μαστού, μολονότι η κλινική τους σημασία είναι περιορισμένη. Είναι ενδιαφέρον ότι οι οδηγίες της ASCO αναφέρουν ότι μολονότι οι δείκτες CA 15.3 και CA 27.29 δεν συνιστώνται για την εκτίμηση της ανταποκρίσεως ασθενών στην θεραπεία, μπορούν να χρησιμοποιούνται για την τεκμηρίωση αποτυχίας της θεραπευτικής αγωγής, όταν τα υπόλοιπα στοιχεία δεν καταλήγουν σε σαφές αποτέλεσμα<sup>100101145,146</sup>.

## Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΟΡΟΥ C-ERB-2

Είναι γνωστός ο προγνωστικός ρόλος της πρωτεΐνης c-erbB-2 (HER-2/neu) όταν βρίσκεται σε βιοπτικό υλικό ασθενών με κακοήθη νεοπλάσματα<sup>147</sup>. Το γονίδιο c-erbB-2 κωδικοποιεί για την αντίστοιχη 185-kDa πρωτεΐνη, η οποία έχει εκφράζει ενδοκυτταρική, εξωκυτταρική και διαμεμβρανική δραστηριότητα. Η πρωτεΐνη c-erbB-2 υπερεκφράζεται σε περίπου 20%-30% των κακοήθων νεοπλασμάτων του μαστού και χρησιμεύει στην μετεγχειρητική παρακολούθηση των ασθενών, ως ανεξάρτητος προβλεπτικός δείκτης μελλοντικής υποτροπής. Τα αποτελέσματα δημοσιευθείσα εργασία, αποδείχθηκε θετική συσχέτιση των τιμών ορού των πρωτεϊνών HER-2/neu και YKL-40 (human cartilage glycoprotein 39) με καρκίνωμα μαστού και προχωρημένα στάδια της νόσου<sup>149</sup>.

## ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΡΜΟΝΩΝ ΕΠΙ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΜΑΣΤΟΥ

Σε μελέτη γυναικών με καρκίνωμα του μαστού<sup>150</sup>, έγινε προσπάθεια συσχέτισεως των κυκλοφορικών ορμονών με τους δείκτες ορού της νόσου και βρέθηκε ότι:

Σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες τα υψηλά επίπεδα γοναδοτροπινών σχετίζονταν ευθέως με υπερέκφραση του c-erbB-2 στον όγκο ( $p=0,02$  και  $p=0,05$  για FSH και LH αντιστοίχως).

Υψηλά επίπεδα οιστραδιόλης συνδέονται αντιστρόφως ( $p=0.009$ ) με την έκφραση του δείκτη Ki67 ανεξαρτήτως της εμμηνορρυσιακής καταστάσεως των γυναικών. Σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες τα υψηλά επίπεδα οιστραδιόλης συνδέονται αντιστρόφως ( $p=0,03$ ) με την έκφραση του c-erbB-2 και τα υψηλά επί-

πεδα προγεστερόνης αντιστρόφως ( $p=0,05$ ) με την έκφραση του Ki67.

Τα επίπεδα FSH συνδέονται αντιστρόφως ( $p=0,02$ ) με τις τιμές του CEA ορού.

Στον πίνακα 19 δίδονται οι κατευθυντήριες οδηγίες διαφόρων γνωστών επιστημονικών ομάδων σχετικά με τις ενδείξεις χρήσεως των δεικτών ορού CEA, CA15-3 ή BR27.29 σε ασθενείς με καρκινώματα μαστού<sup>57</sup>.

## 6. ΚΥΤΤΑΡΟΚΕΡΑΤΙΝΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Οι κυτταροκερατίνες (CK) είναι πρωτεΐνες των ενδιάμεσων νηματίων των επιθηλιακών κυττάρων και έχουν σημαντικό ρόλο στην αρτιότητά τους. Χαρακτηριστικά των κυτταροκερατινών είναι η ετερογένεια της αλληλουχίας τους και ο σχηματισμός τετραμερών ετεροπολυμερών, τα οποία περιέ-

χουν δύο όξινες (τύπος I) και δύο βασικές (τύπος II) κερατίνες. Οι συνδυασμοί αυτοί είναι ειδικοί για κάθε τύπο επιθηλίου, αναλόγως του εντοπισμού του, δηλαδή εξαρτώνται από τη διαφοροποίηση των κυττάρων. Κατά την κακοήγη εξαλλαγή τους, τα επιθήλια διατηρούν τον αρχικό συνδυασμό των κυτταροκερατινών τους.

Από τις μέχρι σήμερα 25 χαρακτηρισμένες CK, οι CK8, CK18 και CK19 είναι οι κυρίως απαντώμενες σε καρκινώματα. Στο αίμα κυκλοφορούν υπό την μορφή διαλυτών, μερικώς αποικοδομημένων συμπλόκων, μετά από πρωτεόλυση και με τη μορφή αυτή χρησιμεύουν σαν δείκτες καρκίνου. Οι κυριότεροι κυτταροκερατινικοί δείκτες είναι οι: TPA, TPS και CYFRA 21.1.

Πίνακας 19. Περίληψη ενδείξεων χρήσεως δεικτών ορού CEA, CA15-3 ή BR27.29 σε ασθενείς με καρκίνωμα μαστού

CA15-3 ή BR27.29 για	ACBI	AJCC	EAU	EGTM	NACB	SIGN
Screening			Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Διάγνωση			Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Πρόβλεψη/ Πρόγνωση		Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Παρακολούθηση της θεραπείας CEA για	Ναι		Όχι*	Ναι	Ναι	Ναι
Screening			Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Διάγνωση			Όχι	Όχι**	Όχι	Ναι <sup>^</sup>
Πρόβλεψη/ Πρόγνωση		Ναι	Ναι	Όχι	Ναι	Ναι <sup>^</sup>
Παρακολούθηση της θεραπείας			Όχι <sup>+</sup>	Ναι	Ναι <sup>^^</sup>	Ναι <sup>^</sup>

Όχι= δεν συνιστάται, Ναι= συνιστάται.

ACBI= Association of Clinical Biochemists in Ireland, AJCC= American Joint Committee on Cancer, EAU= European Association of Urology, EGTM= European Group on Tumour Markers, ESMO= European Society of Medical Oncology, NACB= National Academy of Clinical Biochemistry, SIGN= Scottish Intercollegiate Guidelines Network.

\* = Επί απουσίας εύκολα μετρήσιμης νόσου, η αύξηση των CA15-3 ή BR27.29, μπορεί να είναι χρήσιμη στην ταυτοποίηση αποτυχίας της θεραπείας, \*\* = Πιθανόν να είναι χρήσιμα στην πρώιμη διάγνωση απομακρυσμένων μεταστάσεων, ^ = Μόνον εφόσον υπάρχει αύξηση του CEA, αλλά όχι του CA15-3, ^^ = Για πρώιμη διάγνωση σε ασθενείς οι οποίοι είναι ελεύθεροι νόσου και είχαν αντιμετωπισθεί σε προγενέστερο χρόνο για καρκινώματα σταδίου II ή III, + = Επί απουσίας εύκολα μετρήσιμης νόσου, η αύξηση του CEA μπορεί να συμβάλλει στην απόδειξη αστοχίας της θεραπείας



Σημαντική δυσκολία στην ευρεία χρήση αυτών των δεικτών σε κακοήθη νεοπλασμάτα είναι η μεγάλη ευαισθησία τους σε αρκετά καλοήθη νοσήματα και σε φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως η ηπατίτιδα και η νόσος του Crohn.

Θεωρείται ότι οι δείκτες TPA και TPS (TPA: πολυπεπτιδικό αντιγόνο ιστών, TPS: ειδικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο ιστών) αποτελούν δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού (proliferation markers). Η κύρια διαφορά μεταξύ τους είναι η αντιγονικότητα. Το TPA διαθέτει 35 επίτοπους, μόνο δύο εκ των οποίων σχετίζονται με την αυξητική και μιτωτική δραστηριότητα των κυττάρων και εξ αυτών, μόνον ο επίτοπος M<sub>3</sub> χαρακτηρίζει το TPS. Η εξέταση TPA χρησιμοποιεί πολυκλωνικό αντίσωμα και η εξέταση για το TPS, μονοκλωνικό. Το TPA και το TPS θεωρούνται χρήσιμοι δείκτες στην παρακολούθηση της θεραπευτικής αγωγής ενός κακοήθους νοσήματος και την έγκαιρη αναγνώριση υποτροπών και μεταστάσεων.

Στα πλαίσια αυτά ή πλέον εντυπωσιακή εφαρμογή του TPA είναι το καρκίνωμα εκ μεταβατικού επιθηλίου της ουροδόχου κύστεως, νόσημα στο οποίο ο δείκτης έχει μετρηθεί σε αυξημένα επίπεδα στον ορό και στα ούρα. Το TPA μετράται αυξημένο σε κακοήθειες μαστού, πνεύμονος, στομάχου, σε σάρκωμα ή λέμφωμα. Η μέτρηση του TPS εφαρμόζεται κυρίως στο καρκίνωμα του μαστού (όπου σημειώνεται και υπερέκφραση της κυτταροκερατίνης CK18), αλλά και σε καρκινώματα ωθηκών, ουροδόχου κύστεως και παγκρέατος<sup>151-154</sup>. Έχει αποδειχθεί ότι υψηλά επίπεδα TPS

προ θεραπείας σε ασθενείς με ΜΜΚΠ, συνιστούν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα κακής τελικής εκβάσεως<sup>127</sup>.

Σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία, ο δείκτης CYFRA 21.1 (Cytokeratin FRAGMENT) θεωρείται δείκτης πρώτης επιλογής σε μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα και βοηθά τον κλινικό στην εκτίμηση των ασθενών πριν από την θεραπεία, στην παρακολούθηση και την πρόγνωση των ασθενών<sup>127</sup>. Αξίζει να σημειωθεί ότι η CK19 (η οποία ανιχνεύει το CYFRA 21.1) υπερεκφράζεται σε όλους τους ιστολογικούς υποτύπους καρκινώματος πνεύμονα. Ο συνδυασμός CYFRA 21.1 και TPA αυξάνει σημαντικά την ευαισθησία για το καρκίνωμα του πνεύμονα εκ μεγάλων κυττάρων. Επισημαίνεται ότι κανένας κυτταροκερατινικός δείκτης δεν μπορεί να υποκαταστήσει άλλον και πρέπει να χρησιμοποιούνται συνδυασμένα<sup>155-159</sup>.

#### **ΑΝΑΣΤΟΛΕΑΣ ΘΡΥΨΙΝΗΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΟΣ ΜΕ ΟΓΚΟ ΤΑΤΙ –TUMOUR –ASSOCIATED TRYPSIN INHIBITOR**

Ο δείκτης TATI απομονώθηκε αρχικά από τα ούρα ασθενούς με καρκίνωμα ωθηκών, είναι ισχυρός αναστολέας της θρυψίνης, χαμηλού ΜΒ (6 kDa), αποτελείται από 56 αμινοξέα, του οποίου το γονίδιο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 5. Ο TATI είναι ταυτόσημος με τον εκκρινόμενο εκ του παγκρέατος αναστολέα της θρυψίνης, (PSTI), ο οποίος ονομάζεται και αναστολέας Kazal. Εκφράζεται έντονα με το θρυψινογόνο από τα παγκρεατικά κυψελοειδή κύτταρα και εκκρίνεται στο παγκρεατικό υγρό. Η δράση του TATI στο πάγκρεας συνίσταται στην προστασία των παγκρεατικών κυττάρων από την δράση του παράλληλα

εκφραζόμενου θρυψινογόνου. Λόγω του μικρού του ΜΒ, ο TATI απεκκρίνεται από τα νεφρά ενώ ο χρόνος ημισείας ζωής του είναι 6 λεπτά.

Η συγκέντρωσή του στον ορό προέρχεται κυρίως από το πάγκρεας και δευτερευόντως από το ήπαρ, τον γαστρεντερικό και ουροποιογεννητικό βλεννογόνο, την ουροδόχο κύστη, τα χοληφόρα, τους νεφρούς, τον πνεύμονα και τον μαστό. Τα καρκινώματα από τους παραπάνω ιστούς αυτούς συχνά εκφράζουν τον δείκτη TATI. Η χρησιμότερη εφαρμογή του TATI αφορά στην παρακολούθηση ασθενών με βλεννώδες καρκίνωμα των ωοθηκών. Η συνδυασμένη χρήση του με το CA 125 βελτιώνει την διάκριση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων μαζών της ελάσσονος πυέλου, ενώ το ύψος της τιμής του TATI σε ασθενείς σταδίου FIGO III και IV αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα κακής εκβάσεως.

Εξάλλου τα υψηλά επίπεδα του TATI αποτελούν ένδειξη κακής προγνώσεως σε καρκινώματα στομάχου, νεφρού και πιθανότατα ουροδόχου κύστεως. Θεωρείται επίσης χρήσιμος δείκτης στους ασθενείς με ΗΚΚ και αρνητική AFP. Αυξημένες τιμές του TATI σε μη κακοήθη νοσήματα παρατηρούνται σε νεφρική ανεπάρκεια, παγκρεατίτιδα, οξεία φλεγμονώδη νοσήματα και οξείς τραυματισμούς.

Η προγνωστική αξία του TATI φαίνεται να σχετίζεται με παράλληλη έκφραση της θρυψίνης σε πολλούς όγκους, ώστε η έκφραση του δείκτη είναι ανάλογη με την έκφραση της θρυψίνης στον όγκο. Υπενθυμίζεται ότι η θρυψίνη ενεργοποιεί πρωτεάσες σχετιζόμενες με την διήθηση των νεοπλασμάτων, όπως η προουροκινάση και οι μεταλλοπρωτεά-

σες MMP-2 και MMP-9, οι οποίες βρίσκονται συχνά στους ίδιους όγκους με την θρυψίνη. Δεδομένων αυτών είναι πιθανόν ότι η θρυψίνη συμμετέχει σε καταρράκτη πρωτεασών οι οποίες σχετίζονται με την νεοπλασματική διήθηση και εξ αυτού ερμηνεύεται ο προγνωστικός ρόλος του TATI<sup>160</sup>.

#### **ΑΝΤΙΓΟΝΟ ΕΚ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΠΛΑΚΩΔΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ - SQUAMOUS CELL CARCINOMA (SCC) ANTIGEN**

Το αντιγόνο εκ καρκινώματος πλακωδών κυττάρων SCC πρωτοπεριγράφηκε το 1977 από τους Kato και Torigue και αρχικά ονομάστηκε TA-4. Απομονώθηκε από κύτταρα ανθρώπινου καρκινώματος τραχήλου της μήτρας και αποτελείται από τουλάχιστον 10 κλάσματα, διαφορετικών ισοηλεκτρικών σημείων, ΜΒ 42-48 kDa, τα οποία αδρά διακρίνονται σε δύο ομάδες, με ΡΗ<6.5 και με ΡΗ≥6.5. Τα μόρια της αλκαλικής ομάδας του SCC ευρίσκονται γενικά ενδοκυτταρικά, ενώ τα μόρια της όξινης ομάδας του SCC, ελευθερώνονται εύκολα στον εξωκυττάριο χώρο και αυξάνονται συχνά σε επιθηλιακά καρκινώματα ή σε ορισμένες μη κακοήθεις αλλοιώσεις των επιθηλίων. Η γονιδιακή μελέτη αποκάλυψε δύο γονίδια, το SCCA1 και το SCCA2 στον γονιδιακό τόπο 18q21.3. Έχει βρεθεί ότι το γονίδιο SCCA1 κωδικοποιεί για την ουδέτερη και αλκαλική ομάδα του πρωτεϊνών SCC και το SCCA2 την όξινη<sup>161</sup>.

Η αμινοξική αλληλουχία του SCC αποκάλυψε μεγάλη συνάφεια του μορίου με την οικογένεια των αναστολέων των πρωτεασών σερίνης -σερπίνης (serpins-serine protease inhibitors). Το SCC αναστέλλει την χυμοθρυψίνη και παρεμβαίνει στην δράση των πρωτεασών της κυ-

στεΐνης, όπως η παπαΐνη, η καλπαΐνη 1 και η καθεψίνη D. Σημειώνεται ότι διάφορες πρωτεάσες της ομάδας της κυστεΐνης θεωρείται ότι διαμορφώνουν την τελική διαφοροποίηση του επιθηλίου της επιδερμίδας. Η παραγωγή του SCC και η αποβολή των όξινων μορφών του επηρεάζεται από την συγκέντρωση του ασβεστίου και του TNFα. Φαίνεται ότι το SCC παίζει σημαντικό ρόλο στην βιολογική συμπεριφορά των επιθηλιακών κυττάρων και εικάζεται ότι υπεισέρχεται στην ρύθμιση μηχανισμών κυτταρικής συγκολλησεως και αποπτώσεως<sup>162</sup>.

Οι τιμές του SCC του ορού στο 95% περιόπου των υγιών γυναικών είναι μικρότερες του 1.5 ng/ml. Αύξηση των τιμών του δείκτη συμβαίνει σε διάφορες καλοήθεις καταστάσεις και νόσους στις οποίες υπάρχει συμμετοχή του επιθηλίου, όπως οι οξείες πνευμονικές λοιμώξεις και φλεγμονώδη δερματικά νοσήματα (πέμφιγα, ψωρίαση, γενικευμένο έκζεμα). Αύξηση των επιπέδων του δείκτη στον ορό μπορεί να παρατηρηθεί σε εγκυμοσύνη, νεφρική και ηπατική δυσλειτουργία<sup>5,7e,161,162</sup>.

Επί κακοήθων νεοπλασμάτων το SCC χρησιμοποιείται για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων της θεραπείας και στην πρόωμη ανίχνευση της υποτροπής σε ασθενείς με πλακώδη καρκινώματα τραχήλου της μήτρας, κεφαλής-τραχήλου, οισοφάγου, πνεύμονα, δέρματος και πρωκτού.

Στο καρκίνωμα τραχήλου της μήτρας ο δείκτης είναι αυξημένος στο 29% ασθενών σταδίου I και στο 89% ασθενών σταδίου IV. Ασθενείς με κακόηθες νεόπλασμα και αυξημένα επίπεδα SCC ορού προ θεραπείας φαίνεται ότι έχουν περισσότερες πιθανότητες υποτροπής σε σχέση με ομάδα ασθενών αντιστοι-

χου σταδίου και φυσιολογικά επίπεδα SCC ορού<sup>24</sup>. Ειδικότερες μελέτες σε ασθενείς με κακόηθες νεόπλασμα του πνεύμονα από πλακώδη κύτταρα, οι οποίες σχεδιάστηκαν για να εκτιμήσουν την χρησιμότητα του δείκτη στην διάγνωση ή πρόγνωση της νόσου κατέληξαν σε αντικρουόμενα αποτελέσματα<sup>163</sup>. Ο δείκτης δεν έχει ευαισθησία στην αποκάλυψη μικρομεταστάσεων και συνεπώς δεν έχει αξία για μαζικό προληπτικό πληθυσμιακό έλεγχο<sup>2</sup>.

#### **ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΟΙ ΟΠΟΙΕΣ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΚΛΑΣΙΚΩΝ ΔΚ**

Οι ανοσοαναλύσεις για τον προσδιορισμό των κλασσικών ΔΚ είναι οι ετερογενείς ανοσοαναλύσεις μη ανταγωνιστικού τύπου με επισημασμένο αντίσωμα σε περίσσεια, με πλέον συνήθεις εκείνες τύπου Sandwich. Η επιλογή βασίζεται στο υψηλό MB των προσδιοριζόμενων ΔΚ και στην απαίτηση για υψηλή ευαισθησία της μεθόδου. Άμεσες συνέπειες της αυτοματοποιήσεως των ανοσοαναλύσεων είναι η ευκολία και η ταχύτητα του χειρισμού των δειγμάτων, το χαμηλό κόστος και η δυνατότητα συχνής επαναλήψεως των μετρήσεων σε σταθερά καθορισμένες συνθήκες, στοιχεία πολύ σημαντικά για τις μετρήσεις των ΔΚ, με τους οποίους οι ασθενείς παρακολουθούνται συστηματικά. Εν τούτοις η αυτοματοποίηση των ανοσοαναλύσεων δεν είναι πάντοτε η ιδανική λύση και ενίοτε στις εξετάσεις μπορεί να παρέμβουν πολλοί παράγοντες με συνέπεια κατάληξη σε ψευδώς θετικά ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα.

Τα κύρια προβλήματα στους προσδιορισμούς των ΔΚ προέρχονται από παρεμβολή ποικιλίας προαναλυτικών και αναλυτικών παραγόντων<sup>11,64,164-167</sup>, οι ο-

ποίοι φαίνονται στον πίνακα 20:

**Πίνακας 20. Παράγοντες αύξησης των δεικτών καρκίνου ανεξαρτήτως παρουσίας όγκου**

Γενετικοί Κληρομικοί	Φυλε- τικοί	Φυσιολογικά φαινόμενα				Συνήθειες εξάρτησης	Θεραπ/τικοί παράγοντες	Διαγνωστικές τεχνικές	
		Ηλικία	Κιρκ. ρυθ.	Εμμ. κύηση	Εγκ/σύνη				
	CEA	B <sub>2</sub> M	CEA	CA-125	AFP	αλκοόλ: CEA	Μεταγγίσεις:	Δακτυλική	PSA
		CA-125	CA-15.3		CA-125	καπνός: CEA	Φερριτίνη	προστάτου:	PAP
		CA-15.3	PSA		CA-19.9	PLAP	Κύτταρα:	Ανοσοσπινθηρογράφημα/	
AFP		CAM26	PAP		CEA	hTG	CEA	HAMA:	CEA
PLAP		CAM29	TK		Φερριτίνη		HCG		CA-19.9
		CEA			HCG		PLAP		CA-125
		TATI			MCA		SP-I	Βρογχοσκόπηση:	TPA
		UCP			PLAP		β-IFN: B <sub>2</sub> M	Χολαγγειογραφία:	CA-19.9
		SAP			hTG		γ-IFN: B <sub>2</sub> M	Διθρομψία	
					SP-I		α2-rec-IFN: B <sub>2</sub> M	Βιοψία Λεπτής βελόνης θυ- ροειδούς:	hTG
					TPA			Προστάτου:	PSA
					TPS				PAP

## ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ

### A. Ανοσιακή αναγνώριση των όγκων

Η εξέλιξη των γνώσεών μας στην ανοσολογία του καρκίνου συνετέλεσε σημαντικά στην διαμόρφωση της σύγχρονης αντιλήψεως ότι ανοσιακή αναγνώριση των όγκων από τον ξενιστή συμβαίνει συχνότατα, αν όχι πάντα, σε άτομα με κακοήθη νεοπλασμάτα. Ενδεικτικά σημειώνεται ότι:

**A.** η ανάπτυξη (μεταστατικού κυρίως) καρκινώματος συνοδεύεται από υψηλό τίτλο IgG αντισωμάτων έναντι πολλών προϊόντων γονιδίων σχετιζόμενων με όγκους,

**B.** παρατηρείται παρουσία CD4+ και CD8+ T-λεμφοκυττάρων τα οποία αντιδρούν με αντιγόνα όγκων στο περιφερικό αίμα, στα λεμφοζύδια και στους όγκους διαφόρων ασθενών,

**Γ.** βρίσκεται έκφραση οικογένειας γονιδίων σχετιζόμενων με το στρες, τα προϊόντα των οποίων προκαλούν απάντηση των NK και άλλων κυτταροτοξικών κυττάρων.

Αναφορικά με την αντιγονικότητα των όγκων, διακρίνουμε τα αντιγόνα των όγκων (tumour antigens) σε ογκοειδικά ή ειδικά αντιγόνα όγκων (tumour

specific antigens – TSAs) και σε ογκοσχετιζόμενα ή αντιγόνα σχετιζόμενα/συνδεόμενα με τους όγκους (tumour associated antigens-TAAs), όπως φαίνεται στον πίνακα 21<sup>168</sup>.

Στοιχεία από επιδημιολογικές μελέτες<sup>169</sup> δείχνουν ότι ασθενείς με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα από γενετικές ή επίκτητες αιτίες εμφανίζουν αυξημένη συχνότητα ορισμένων τύπων κακοήθων νόσων (λεμφώματα, σάρκωμα Kaposi, επιθηλιακά καρκινώματα αιδοίου, περινέου, δέρματος, τραχήλου μήτρας καρκινώματα στομάχου, ουροδόχου κύστεως και ήπατος χοληφόρων) οι οποίοι συχνά σχετίζονται με ιούς ή με μικροβιακούς παράγοντες, (EBV, HBV, HCV, PV, HV, helicobacter pylori, σχιστοσωμίαση). Αντίθετα η ομάδα των ασθενών αυτών δεν εμφανίζει αυξημένη συχνότητα των συνήθων καρκινωμάτων του γενικού πληθυσμού (πνεύμονα, προστάτη, μαστού, εντέρου).

Άλλες επιδημιολογικές μελέτες τονίζουν την στενή σχέση μεταξύ χρόνιας φλεγμονώδους νόσου και καρκινωμάτων. Γενικά θεωρείται ότι επιμένουσα φλεγμονή αυξάνει τον κίνδυνο αναπτύξεως νεοπλασίας. Η φλεγμονή προκαλεί σημαντική αύξηση στην ανακύκλωση

των φυσιολογικών κυττάρων, η οποία τελικώς, διά των φαγοκυττάρων τα οποία δυνατόν να επιφέρουν βλάβες στο DNA μέσω εκθέσεώς του στα δραστικά ενδιάμεσα O και N, μπορεί εν τέλει να οδηγήσει σε κακοήθεια. Εξάλλου έχει

αποδειχθεί ότι μη στεροειδείς αντιφλεγμονώδεις παράγοντες μειώνουν σημαντικά την πιθανότητα αναπτύξεως κακοήθων όγκων σε ασθενείς με σύνδρομα εντερικής πολυποδιάσεως<sup>170</sup>.

#### Πίνακας 21. Αντιγόνα Όγκων

Ειδικά αντιγόνα όγκων - TSAs	Αντιγόνα σχετιζόμενα/συνδεόμενα με τους όγκους - TAAs
1. TSAs που επάγονται από χημικά καρκινογόνα	1. Ογκοεμβρυϊκά αντιγόνα ( πχ. CEA, AFP)
2. TSAs που επάγονται από ιούς πχ. T αντιγόνο του ιού SV40	2. Αντιγόνα διαφοροποίησης (πχ. CD10/CALLA στις B-κυτταρικές λευχαιμίες και λεμφώματα, CD34 στις μυελογενείς λευχαιμίες)
3. TSAs των αυτομάτως εμφανιζομένων όγκων	3. Φυσιολογικά αντιγόνα με τροποποιημένη γλυκοσυλίωση που εκφράζονται σε όγκους (πχ. βλεννίνη MUC1)
Τα TSAs επάγουν δύσκολα αντισωματική αντίδραση και απομονώνονται δύσκολα με τεχνικές ανοσοκαθίξεσης. Η χρήση T-κυττάρων ειδικών έναντι TSAs μελετάται σαν θεραπευτική προσέγγιση του καρκίνου.	Τα TAAs έχουν αποδειχθεί χρήσιμα στην διάγνωση και κύρια στην παρακολούθηση του καρκίνου

Κλειδί στις λειτουργίες της φλεγμονώδους διεργασίας αποτελεί η οικογένεια των κυτταροκινών. Ο οργανισμός περιορίζει την φλεγμονή αφού την παραγωγή κυτταροκινών οι οποίες προάγουν την φλεγμονώδη αντίδραση (IL-1, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  της ομάδας Th1), ακολουθεί η παραγωγή αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, της ομάδας Th2). Η χρόνια φλεγμονή πιθανότατα οφείλεται στην επιμονή των παραγόντων ενάρξεως ή στην αδυναμία των μηχανισμών λύσεως της φλεγμονώδους διαδικασίας<sup>169,171</sup>.

Οι κυτταροκίνες έχουν ρόλους-κλειδιά και στην καρκινογένεση, είτε με την ενεργοποίηση των μηχανισμών ανοσίας για τον περιορισμό της αναπτύξεως ενός όγκου, είτε επηρεάζοντας την κακοήθη κυτταρική εξέλιξη, την ανάπτυξη του όγκου, την διήθηση και την μετα-

στατική ικανότητές του.

Στα κακοήθη νεοπλάσματα οι κυτταροκίνες παράγονται από τα κύτταρα του στρώματος και τα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος του ξενιστή σε απάντηση μορίων τα οποία εκκρίνουν τα καρκινικά κύτταρα ή ως στοιχείο της συνοδού φλεγμονής στην ανάπτυξη ενός όγκου. Έτσι επί αναπτυσσόμενου κακοήθους νεοπλάσματος παράγονται πρωτεΐνες οξείας φάσεως (αμυλοειδές A,  $\beta$ 2-μικροσφαιρίνη, A2-μακροσφαιρίνη, απτοσφαιρίνη, φερριτίνη), εξειδικευμένα λευκοκύτταρα εκκρίνοντα φάσμα κυτταροκινών (πχ. TGF- $\beta$ , TNF, IL-1), κυτταροτοξικοί διαμεσολαβητές, όπως μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος, χημειοκίνες, ελεύθερες ρίζες ενεργών μορίων O και N προκαλούσες μόνιμες βλάβες στο DNA, πρωτεάσες σερίνης, κυστεΐνης, μεταλλοπρωτεάσες (πχ.

MMP-9), παράγοντες διατήρησης της κυτταρικής μεμβράνης και διαλυτές κυτταροκίνες προάγουν την κυτταροδιαμεσολαβούμενη κυτταροτοξικότητα, όπως οι IFNs, TNF και διάφορες ιντερλευκίνες.

Παράλληλα και τα κακοήθη κύτταρα παράγουν διάφορες κυτταροκίνες και χημειοκίνες στο ίδιο περιβάλλον, προσελκύοντας λευκοκύτταρα.

Η λειτουργία του τοπικού αυτού δικτύου κυτταροκινών καθορίζεται από το φάσμα των εκφραζομένων κυτταροκινών, τις σχετικές τους συγκεντρώσεις και την έκφραση των υποδοχέων τους. Το τελικό περιβάλλον των κυτταροκινών φαίνεται ότι μεταβάλλεται κατά την διάρκεια των διαφόρων σταδίων της εξέλιξης του όγκου<sup>169-173</sup>.

## **Β. Μόρια και μηχανισμοί σχετιζόμενοι με την ανοσιακή αναγνώριση των όγκων**

### **ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΟΞΕΙΑΣ ΦΑΣΕΩΣ**

#### **B2-Μικροσφαιρίνη (B2M)**

Απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1968 από ούρα ασθενούς πάσχοντος από σκληροσπαστική πρωτεϊνουρία. Η B2M σχηματίζει την ελαφρά άλυσσο των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας HLA και συνεπώς απαντάται στην κυτταρική επιφάνεια όλων των εμπύρηνων κυττάρων, ιδιαίτερα των λεμφοκυττάρων. Έχει μοριακό βάρος 11.8 kDa, χρόνο ημιζωής 20 λεπτά -2.1 ώρες και ανιχνεύεται σε όλα τα σωματικά υγρά. Το ~95% των υγιών εμφανίζει τιμές <1900 ng/ml.

Αυξημένα επίπεδα B2M στον ορό παρατηρείται σε λεμφοϋπερπλαστικές νόσους, είτε μη κακοήθεις, όπως ρευματοειδής αρθρίτις, συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, σύνδρομο Sjögren και νόσος του Crohn οι οποίες συνοδεύονται από φλεγμονή και αποτε-

λούν ένδειξη ενεργότητάς της. Αντίθετα, στην νεφρική ανεπάρκεια η αύξηση της B2M οφείλεται σε μείωση του ρυθμού καθάρσεώς της, λόγω μειωμένης σπειραματικής διηθήσεως, ενώ η ελάττωση της σωληναριακής λειτουργίας προκαλεί αύξηση της B2M στα ούρα. Η B2M θεωρείται δείκτης κακής προγνώσεως σε ασθενείς με χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία και πολλαπλούν μυέλωμα<sup>5,174</sup>.

#### **Φερριτίνη**

Είναι αποθηκευτική πρωτεΐνη για τον σίδηρο, αποτελούμενη από ένα αποπρωτεϊνικό κέλυφος και μια κεντρική κοιλότητα. Το κέλυφος σχηματίζεται από 24 υπομονάδες δύο τύπων H και L υπό μεταβαλλόμενες αναλογίες, ώστε να εμφανίζεται ευρύ φάσμα ισομορφών. Η αναλογία H/L υπομονάδων εξαρτάται από τον τύπο του ιστού προελεύσεως και μεταβάλλεται σε απάντηση προς ποικίλες φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις, περιλαμβανομένης της νεοπλασίας. Χαμηλά επίπεδα φερριτίνης είναι ενδεικτικά καλής προγνώσεως σε ασθενείς με καρκινώματα κεφαλής και τραχήλου. Υψηλά επίπεδα φερριτίνης παρατηρούνται συχνά σε λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα. Στις περιπτώσεις κακοήθων όγκων η φερριτίνη η οποία ελευθερώνεται διαθέτει περισσότερο όξινο ισοηλεκτρικό σημείο από την φυσιολογική και με βάση αυτό το στοιχείο, διαχωρίζεται με ισοηλεκτρική εστίαση<sup>5,114</sup>.

#### **C-Αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)**

Το μόριο της CRP έχει MB 105 kDa, είναι πενταμερές και κωδικοποιείται από γονίδιο στο χρωμόσωμα 1. Η CRP συντίθεται αποκλειστικά στο ήπαρ και αυξάνει έως και 1000 φορές πάνω από το φυσιολογικό, έπειτα από τραυματικό, λοι-

μώδες, αντιγονικό, φλεγμονώδες ερέθισμα, ή παρουσία ισχαιμίας ή εξαιτίας νεοπλασίας. Τα ηπατοκύτταρα διεγείρονται για σύνθεση CRP από την IL-1 η οποία παράγεται από τα μονοκύτταρα και μακροφάγα ή/και τα τοπικά ηπατοκύτταρα Kupffer. Στην σύνθεση της CRP συμμετέχουν πιθανόν και άλλες κυτταροκίνες όπως η IL-6, ο TNFα και η ιντερφερόνη.

Στα κακοήθη νοσήματα η αύξηση της CRP σχετίζεται με την έκταση της ιστικής καταστροφής, το μέγεθος του όγκου και την μεταστατική διασπορά του. Στην περίπτωση αυτή συνήθως δεν ξεπερνά τα 10 mg/dl, ενώ κάθε απότομη αύξηση υποδηλώνει παρεμπόδιση λοίμωξη. Σε καρκινώματα εντέρου, προεγχειρητικά αυξημένη τιμή της CRP αποτελεί δείκτη επιθετικότητας του όγκου και προγνωστικό παράγοντα της νόσου. Έχει βρεθεί ότι η CRP είναι αυξημένη στο 97,5% των καρκινωμάτων ήπατος, στο 88,5% των καρκινωμάτων ρινοφάρυγγα, στο 90,3% των καρκινωμάτων στομάχου, στο 70% των καρκινωμάτων μαστού, στο 58,1% των καρκινωμάτων εντέρου, στο 82,6% των λεμφωμάτων και στο 73,5% των λευχαιμιών<sup>175,176</sup>.

### **ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΑ ΕΝΖΥΜΑ**

Τα πρωτεολυτικά ένζυμα θεωρείται ότι έχουν βασικό ρόλο στην κακοήθη εξαλλαγή και δη στις φάσεις μεταστάσεως και αγγειογενέσεως. Υπενθυμίζεται ότι τα κακοήθη κύτταρα διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη με ενεργητικό τρόπο και κυρίως με την παραγωγή και έκκριση πρωτεολυτικών ενζύμων τα οποία είναι:

Πρωτεϊνάσες σερίνης (Ελαστάση, Πλασμίνη, κ.ά)

Πρωτεϊνάσες θειόλης (Καθεψίνη Β και L, κ.ά).

Μεταλλοπρωτεϊνάσες (Ενδιάμεσες Κολλαγενάσες, Κολλαγενάση τύπου IV και Στρομελυσίνες, κ.ά)

Πρωτεϊνάσες ασπαραγίνης (Καθεψίνη D, κ.ά).

Ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (uPA).

Μεταλλοπρωτεϊνάσες και αναστολείς τους.

### **Μεταλλοπρωτεϊνάσες και αναστολείς τους**

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες ανήκουν στην κατηγορία των ενδογενών πρωτεασών. Τα ένζυμα αυτά υπεισέρχονται στις φυσιολογικές διεργασίες κατά την αναδιαμόρφωση και επιδιόρθωση ιστών και έχουν σημαντικό ρόλο σε παθολογικές καταστάσεις όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η καρκινική διήθηση και μετάσταση. Έχει βρεθεί θετική συσχέτιση μεταξύ της διηθητικής ικανότητας διάφορων ανθρώπινων όγκων και των MMPs. Με βάση πειραματικά δεδομένα, οι MMPs, εκτός των ιστών, προσδιορίζονται ανοσοχημικά στο πλάσμα και τα ούρα.

Ενδιαφέρον στην ογκολογία παρουσιάζουν κυρίως οι MMP-2 και MMP-9. Τα επίπεδα της MMP-2 στον ορό ασθενών με καρκίνωμα ωσθηκών σταδίου III μπορεί να χρησιμεύσουν ως προγνωστικός δείκτης, μολονότι υπάρχουν και αντίθετα αποτελέσματα. Η μέτρηση του αναστολέα των μεταλλοπρωτεϊνών TIMP στον ορό, είναι χρήσιμη για την εκτίμηση της ηπατικής ινώσεως σε χρόνια νοσήματα του ήπατος και στην ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος<sup>(177, 178)</sup>. Αυξημένες τιμές MMP-2 και MMP-9 αποτελούν προγνωστικούς δείκτες σε ασθενείς με καρκίνωμα ουροθηλίου<sup>179</sup>.

### Ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (uPA)

Ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (uPA) και ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tPA) είναι οι σημαντικότεροι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου. Ο tPA παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και υπάρχει στο πλάσμα, ενώ ο uPA παράγεται στα νεφρά, δεν έχει κάποια γνωστή φυσιολογική λειτουργία στο πλάσμα και ανιχνεύεται στα ούρα. Το σύστημα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης αποτελείται από την πρωτεΐνη σερίνης uPA, τον επιφανειακό υποδοχέα της uPAR και τους ειδικούς αναστολείς τους PAI-1 και PAI-2.

Η σύνδεση του uPA στον υποδοχέα uPAR εντοπίζει και επιταχύνει ισχυρά την ενεργοποίηση του επιφανειακά-συνδεδεμένου πλασμινογόνου σε πλασμίνη, η οποία αποικοδομεί τα περισσότερα συστατικά του εξωκυττάρου υποστρώματος (extracellular matrix) και της βασικής μεμβράνης. Ο διαλυτός υποδοχέας suPAR υπάρχει φυσιολογικά στην κυκλοφορία.

Η παρουσία του uPA έχει συσχετισθεί με φλεγμονώδεις καταστάσεις ή/ και με αποικοδόμηση ιστών. Παράλληλα έχει εδραιωθεί στενή συσχέτιση μεταξύ κακοήθους εκτροπής από ογκογόνους ιούς και συνθέσεως uPA. Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι τα μόρια Ura, PAI-1 και uPAR έχουν κρίσιμο ρόλο στην καρκινική διήθηση και μετάσταση. Υψηλά επίπεδα των τριών αυτών μορίων σε κυτταρικά εκχυλίσματα διαφόρων τύπων καρκινωμάτων συσχετίζονται με κακή πρόγνωση των ασθενών. Στο καρκίνωμα του μαστού, αυξημένα επίπεδα uPA και PAI-1 φαίνεται να σχετίζονται με καλύτερη έκβαση στην συμπληρω-

ματική χημειοθεραπείας και σχετική αντίσταση σε ορμονοθεραπεία. Έχει αναφερθεί ότι υψηλά επίπεδα του suPAR στον ορό συσχετίζονται με χαμηλή επιβίωση σε ασθενείς με καρκίνωμα εντέρου ή ωοθηκών<sup>180</sup>.

### Προσταγλανδίνες (PGE2) – Κυκλοοξυγενάσες (COX-1/COX-2)

Οι προσταγλανδίνες, όπως η PGE2, προέρχονται από τον οξειδωτικό μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος και είναι λιπιδικοί διαμεσολαβητές της φλεγμονώδους ανοσιακής απάντησης. Θεωρείται ότι οι προσταγλανδίνες συμβάλουν στην ανάπτυξη καρκίνου.

Οι κυκλοοξυγενάσες καταλύουν το πρώτο βήμα στην σύνθεση των προσταγλανδινών. Η COX-1 είναι δομικό (constitutive) ένζυμο και συντίθεται σχεδόν σε όλους τους κυτταρικούς τύπους. Η COX-2 εκφράζεται κατά την φλεγμονή κυρίως στα φλεγμονώδη μονοκύτταρα και μακροφάγα και σε μη φλεγμονώδη κύτταρα, όπως οι ινοβλαστες, τα επιθηλιακά και τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

In vitro η έκφραση της COX-2 επάγεται από βακτηριακά κυτταρικά προϊόντα, υπεροξυνιτρώδες (peroxynitrite) & φλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Ισχυρές ενδείξεις υπέρ του ότι οι προσταγλανδίνες μεσολαβούν στην καρκινογένεση από χρόνια φλεγμονή αποτελούν τα εξής:

1. Η εμφάνιση και ανάπτυξη καρκινώματος του εντέρου μειώνεται με χρόνια χορήγηση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων. Τα φάρμακα αυτά αναστέλλουν την σύνθεση των κυκλοοξυγενασών και των προσταγλανδινών.
2. Η COX-2 αυξάνει στα φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου και σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο καρκινώματος του εντέρου. Εξάλλου η COX-2 υπερεκφρά-



ζεται στο 85% των αδενοκαρκινωμάτων και πλακωδών καρκινωμάτων του οισοφάγου και του δέρματος. Η PGE2 είναι αυξημένη στον καρκινικό ιστό και στο αίμα ασθενών με καρκίνωμα εντέρου. Επιπλέον βρέθηκε ότι η PGE2 παρεμποδίζει την απόπτωση και αυξάνει (upregulate) την έκφραση της Bcl-2 σε ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκινώματος του εντέρου<sup>170</sup>.

### Χημειοκίνες

Οι χημειοκίνες αποτελούν οικογένειες 45-50 πρωτεϊνών με δομικές ομοιότητες βασισμένες στην διατήρηση μορίων κυστεΐνης (C), και σύνδεση με ειδικούς υποδοχείς συζευγμένους με πρωτεΐνη G (GPCR G protein- coupled receptors).

Έχουν περιγραφεί 4 οικογένειες χημειοκινών, ανάλογα με την σχετική θέση των διατηρημένων μορίων κυστεΐνης: CC, CXC (IL-8), XC και CX<sub>3</sub>C. Οι αντίστοιχες ομάδες υποδοχέων της οικογένειας GPCR διαμεσολαβούν τις λειτουργίες των χημειοκινών στα κύτταρα-στόχους. Πρακτικά όλα τα κύτταρα, περιλαμβανομένων και ορισμένων τύπων καρκινικών κυττάρων, μπορούν να εκφράσουν χημειοκίνες και υποδοχείς τους. Οι χημειοκίνες εμπλέκονται στις διεργασίες ενάρξεως της φλεγμονής και συμμετέχουν στην ανταπόκριση του ξενιστή ρυθμίζοντας την κυτταρική κυκλοφορία και ελέγχοντας την αγγειογένεση. Οι μηχανισμοί αυτοί λειτουργούν και επί καρκινωμάτων.

Οι χημειοκίνες υποστηρίζουν και προάγουν την ανάπτυξη του όγκου, αμέσως με διέγερση της αγγειογενέσεως και της αναπτύξεως, ή εμμέσως, με στρατολόγηση των μακροφάγων τα οποία σχετίζονται με τον όγκο (tumour associated macrophages TAMs) παρέχοντας παράγοντες αναπτύξεως, τροφής και χημειο-

ταξίας και ελέγχοντας την πλοήγηση των μεταστατικών κυττάρων. Η ικανότητα των χημειοκινών να στρατολογούν DC και εκτελεστικά (effector) κύτταρα T και NK, αποτελεί ένδειξη ανταποκρίσεως του ξενιστή κατά του όγκου<sup>181</sup>.

Αυξημένες συγκεντρώσεις της IL-8 στον ορό παρατηρούνται σε προχωρημένου σταδίου κακόηθες μελάνωμα, με κακή πρόγνωση και μικρό διάστημα ελεύθερο νόσου.

### Κυτταροκίνες

Οι κυτταροκίνες είναι γλυκοπρωτεϊνικά μόρια παροδικά συντιθέμενα και εκκρινόμενα από κατάλληλα διεγερμένα κύτταρα ανήκοντα ή όχι στο ανοσοποιητικό σύστημα τα οποία επηρεάζουν την εκλυτική και εκτελεστική φάση των ανοσοαπαντήσεων. Η αυτοκρινής ή/και παρακρινής δράση των κυτταροκινών ασκείται με την σύνδεσή τους στους αντίστοιχους υποδοχείς στα κύτταρα-στόχους και χαρακτηρίζεται από πλειοτροπισμό. Οι κυτταροκίνες επηρεάζουν την σύνθεση και λειτουργία άλλων κυτταροκινών εγκαθιστώντας δυναμικά δίκτυα δράσεως<sup>168,182</sup>.

Για τον προσδιορισμό των κυτταροκινών, των υποδοχέων τους και των κυττάρων τα οποία τις εκκρίνουν, χρησιμοποιούνται, εκτός από τις κλασσικές μεθόδους ELISA, βιολογικές μέθοδοι προσδιορισμού της λειτουργικότητάς τους μέθοδοι μοριακής βιολογίας για έλεγχο της μεταγραφής τους και μέθοδοι κυτταρομετρίας ροής για ταυτοποίηση, μέτρηση και χαρακτηρισμό των κυττάρων<sup>(183)</sup>. Η χρήση όλων αυτών των μεθόδων για διαγνωστικούς σκοπούς, όπως ο προσδιορισμός των κυτταροκινών ως ΔΚ, φαίνεται προς το παρόν οικονομικά ασύμφορη στην καθημερινή κλινική πράξη, αλλά και εξαιτίας της

πολυπλοκότητας των αλληλεπιδράσεων των κυτταροκινών και του παροδικού χαρακτήρα της παραγωγής τους.

**Ιντερλευκίνη-1 (IL-1):** Η IL-1 αποτελεί συνδυασμό των IL-1α και IL-1β, οι οποίες με τον TNF, ανήκουν στις «κυτταροκίνες συναγερμού» οι οποίες εκκρίνονται από τα μακροφάγα προκειμένου να αρχίσει η φλεγμονή. Η IL-1 και ο TNF αυτό- και αλληλοεπάγουν την παραγωγή τους και προκαλούν την παραγωγή μορίων προσκολλήσεως, τα οποία προάγουν την λευκοκυτταρική διήθηση (leucocyte infiltration) από το αίμα στους ιστούς.

Σε μελέτη βρέθηκε ότι το 55% των δειγμάτων αίματος ασθενών με γαστρικά καρκινώματα εξέφραζαν IL-1 (ιδιαίτερα οι διαφοροποιημένοι όγκοι) και αυτό συνδέεται με ύπαρξη ηπατικών μεταστάσεων.

**Κυτταροκίνες κοινής γ-αλυσίδας (γ-κυτταροκίνες):** Είναι κυτταροκίνες των οποίων οι υποδοχείς, εκτός των άλλων υπομονάδων τους, περιλαμβάνουν και υποδοχείς της οικογένειας των υποδοχέων κοινής γ-αλυσίδας. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν η ιντερλευκίνη-2 (IL-2) και η ιντερλευκίνη-4 (IL-4).

Η IL-2 αποτελεί την πρώτη ιντερλευκίνη η οποία απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε σε μοριακό επίπεδο. Παράγεται από τα T λεμφοκύτταρα μετά από επίδραση αντιγονικού ερεθίσματος δρα παρακρινικά και οδηγεί σε πολλαπλασιασμό και διατήρηση των αντιγονοειδικών κυττάρων (CD4+, CD8+) και των κυτταρολυτικών T κυττάρων (CTLs), ενισχύοντας την κυτταρική μνήμη. Λόγω του κεντρικού της ρόλου στην διαμεσολάβηση της ανοσιακής απαντήσεως έχει σημαντικές διαγνωστικές και θεραπευτικές εφαρμογές σε ασθενείς με καρκινώματα, λοιμώξεις νόσους (HIV λοίμω-

ξη) και στις μεταμοσχεύσεις.

Ο διαλυτός υποδοχέας της IL-2, sIL-2R, εκκρίνεται στον ορό από τα ενεργοποιημένα φυσιολογικά περιφερικά μονοκύτταρα του αίματος και από ορισμένες σειρές T- και B-κυττάρων. Υψηλά επίπεδα sIL-2R στον ορό συσχετίζονται με καλύτερη πρόγνωση σε ασθενείς με καρκίνωμα ωθηκών. Αντίθετα σε καρκινώματα μαστού, κεφαλής – τραχήλου, πνεύμονα στην λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων και στο μελάνωμα, υψηλά επίπεδα του sIL-2R στον ορό συνδέονται με κακή πρόγνωση<sup>184</sup>.

Η IL-4 είναι πλειοτροπική κυτταροκίνη με πολλές ανοσορυθμιστικές λειτουργίες σε διάφορους κυτταρικούς τύπους. Παράγεται από ορισμένους υποπληθυσμούς T λεμφοκυττάρων και ελέγχει την διαφοροποίηση των T και B κυττάρων. Η IL-4 ελαττώνει τις φλεγμονώδεις δράσεις των μονοκυττάρων και των μακροφάγων ενώ παράλληλα ενισχύει τις αντιγονοπαρουσιαστική τους ικανότητα. Επίσης μειώνει την έκφραση φλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α), αναστέλλει την απελευθέρωση υπεροξειδίου, ενώ ενισχύει την έκφραση του μορίου προσκολλήσεως VCAM-1. Οι υποδοχείς της IL-4, IL-4R, έχουν βρεθεί σε καρκινώματα μαστού, πνεύμονα, νεφρού και μελανώματα.

**Ιντερφερόνες:** Αντιπροσωπεύουν μεγάλη οικογένεια πρωτεϊνών με αντίικη δράση, οι οποίες εκκρίνονται από τα κύτταρα σε απάντηση ποικιλίας ερεθισμάτων. Διακρίνονται στις ιντερφερόνες τύπου I (IFNα, IFNβ), οι οποίες κυρίως επάγονται από ιική μόλυνση και τύπου II (IFNγ), παραγόμενη από τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα (CD4+, CD8+), τα NKT κύτταρα και τα NK κύτταρα μετά από επίδραση ανοσογόνων

και φλεγμονωδών ερεθισμάτων. Προς το παρόν δεν έχουν εντοπισθεί άτομα με έλλειψη των γονιδίων του υποδοχέα των IFN τύπου I, στοιχείο το οποίο υποδηλώνει ότι είναι μόρια απαραίτητα για την επιβίωση. Η IFN $\gamma$  ασκεί τις δράσεις της μέσω αλληλεπιδράσεων με τον υποδοχέα της (συνδυασμός των πολυπεπτιδίων IFNGR1 και IFNGR2) ο οποίος χρησιμοποιεί ειδικό μονοπάτι μεταγωγής σήματος, το JAK-STAT, για την ρύθμιση της μεταγραφής των επαγόμενων γονιδίων από την IFN $\gamma$ . Ο υποδοχέας αυτός εκφράζεται στην πράξη στην επιφάνεια όλων των φυσιολογικών κυττάρων, με μοναδική ίσως εξαίρεση τα ερυθροκύτταρα. Η, σπάνια, έλλειψη των γονιδίων του υποδοχέα IFN $\gamma$  καθιστά τα άτομα ευπαθή σε μόλυνση από μυκοβακτηρίδιο, αλλά όχι σε κακοήθειες.

Οι ιντερφερόνες τύπου I εμφανίζουν ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων σε κύτταρα του ανοσιακού συστήματος (T, NK, μονοκύτταρα, μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα), ώστε να αυξήσουν την έκφραση των επιφανειακών αντιγόνων TAAs, την ενεργοποίηση των τάξης I MHC αντιγόνων, την επαγωγή ή/και καταστολή προ-αποπτωτικών γονιδίων και πρωτεϊνών (πχ. κασπάσες), καταστολή αποπτωτικών γονιδίων(πχ. γονίδιο Bcl-2), την ρύθμιση της διαφοροποίησης και της αντιαγγειογόνου δράσης.

Η ιντερλευκίνη-6 (IL-6 ή IFN- $\beta$ 2) ρυθμίζει τη σύνθεση των πρωτεϊνών οξείας φάσεως (CRP, αμυλοειδές ορού,  $\alpha$ 1-αντιθρυσίνη, ινωδογόνο) απαντώντας σε ιστικό τραύμα ή μόλυνση. Παράγεται κυρίως από τα μακροφάγα, τους ινοβλάστες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, και διεγείρεται από τον TNF και την IL-1. Η IL-6 επάγει έμμεσα την αγγειογένεση προκαλώντας έκφραση του VEGF (vascu-

lar endothelial growth factor). Φυσιολογικά η παρουσία της στον ορό είναι μηδαμινή ή μη ανιχνεύσιμη, αλλά επί μολύνσεων ή τραύματος η σύνθεσή της επάγεται ταχύτατα, φαίνεται δε ότι είναι βασικός διαμεσολαβητής της προκλήσεως φλεγμονής απάντησης σε τοπικό επίπεδο, ώστε αυξημένα επίπεδά της στον ορό αποτελούν πρώιμο δείκτη φλεγμονής. Είναι ενδιαφέρον να υπομνησθεί ότι η παρουσία του διαλυτού της υποδοχέα sIL-6R μπορεί να παρεμποδίσει τον προσδιορισμό της. Η IL-6 έχει ανιχνευθεί στο μελάνωμα και στο 50% των ασθενών με μεταστατικό καρκίνωμα νεφρού, ενώ αυξημένα επίπεδα του sIL-6R έχουν ανιχνευθεί σε ασθενείς με μελάνωμα<sup>185</sup>.

#### **Παράγων νεκρώσεως του όγκου (TNF - tumour necrosis factor) ή καχεκτίνη**

Είναι μείζων διαμεσολαβητής φλεγμονής δρα επάγοντας ιστική καταστροφή και ανάκαμψη από την βλάβη, ενορχηστρώνοντας μεταβολές της αρχιτεκτονικής των ιστών. Είναι πολυπεπτίδιο 17 kDa με βιολογική δράση υπο τριμερή μορφή<sup>186</sup>. Ο TNF- $\alpha$  παράγεται κυρίως από τα μονοκύτταρα ή/και τα μακροφάγα, ενώ ο TNF- $\beta$  (ή λεμφοτοξίνη - LT) είναι προϊόν των λεμφικών κυττάρων. Στις δράσεις του TNF συγκαταλέγονται: η βλάβη του DNA και η παρεμπόδιση των επιδιορθωτικών ενζύμων μέσω επαγωγής σχηματισμού ελευθέρων ριζών οξυγόνου ή παρεμποδίσεως του κυτοχρώματος P-450 ή των ισοενζύμων της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης, η συμβολή στην ανάπτυξη και επιβίωση των καρκινικών κυττάρων, η επαγωγή παραγόντων αγγειογένεσεως (πχ. VEGF), η απώλεια ανταποκρίσεως στα ανδρογόνα επί καρκινώματος προστάτη, και η αντίσταση σε κυτταροτοξικά φάρμακα.

Ο TNF ενεργοποιεί πολλαπλά μονοπάτια μεταδόσεως του κυτταρικού σήματος, κινάσες και μεταγραφικούς παράγοντες. Η καχεκτική απαντάται σε διαλυτή και σε διαμεμβρανική μορφή και συνδέεται σε δύο διακριτούς επιφανειακούς υποδοχείς της, τον υποδοχέα p55 (TNFR1) και τον υποδοχέα p75 (TNFR2). Διάφοροι υποδοχείς της οικογένειας TNF αποτελούν συγχρόνως «υποδοχείς θανάτου» σηματοδοτώντας την απόπτωση σε ποικιλία κυττάρων.

Ο TNF-α κατέχει ρόλο κλειδί στην παθογένεια νόσων όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η νόσος του Crohn και η ψωρίαση. Επί κακοήθων νοσημάτων θεωρείται κλασσικός αντικαρκινικός παράγων. Κλινικές μελέτες έδειξαν ότι η τοπική χορήγηση υψηλών δόσεων TNF-α καταστρέφει ειδικά τα αιμοφόρα αγγεία του όγκου ασκώντας αντικαρκινική δράση. Παραδόξως όμως έχει δείχθει ότι, επί χρόνιας παραγωγής του, είναι δυνατόν να ασκεί ενδογενώς δράση προαγωγής του όγκου, συμβάλλοντας στην αναδιαμόρφωση του ιστού και στην κατάλληλη ανάπτυξη του στρώματος για την αύξηση και διασπορά του όγκου.

Η έκφραση του TNF-α σε καρκινώματα ωοθηκών, μαστού, ουροδόχου κύστεως, προστάτη, εντέρου, λεμφώματα και λευχαιμίες συσχετίζεται με κακή πρόγνωση. Ο TNF-α πιθανώς ευνοεί την ανάπτυξη πλακωδών καρκινωμάτων, όπως έδειξαν τα αποτελέσματα UV ακτινοβολίας, η οποία είναι ισχυρός επαγωγέας του.

Φυσιολογικά η καχεκτική δεν ανευρίσκεται στον ορό. Τα επίπεδα παραγωγής του TNF είναι χαμηλά και ποικίλλουν μεταξύ των ατόμων, γεγονός το οποίο μάλλον οφείλεται σε γενετικό υπόβαθρο. Πάντως τρεις πρόσφατες μελέτες

συσχέτισαν πολυμορφισμούς απλού νουκλεοτιδίου (SNPs- single nucleotide polymorphism) της επαγωγικής περιοχής των γονιδίων TNF και LT με ευπάθεια σε καρκίνωμα προστάτου, λέμφωμα ή μυέλωμα. Μικρά ποσά TNF έχουν ανιχνευθεί στον ορό ασθενών με γυναικολογικό καρκίνωμα και στο 36.5% των ασθενών με μεταστατικό καρκίνωμα νεφρού. Σε λεμφώματα, οξεία και χρόνια μυελογενή λευχαιμία και χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, υψηλά κυκλοφορούντα επίπεδα TNF και των διαλυτών υποδοχέων του συνδέονται με κακή πρόγνωση και αντίσταση στη θεραπεία<sup>176</sup>.

Το μόριο Fas (ή Apo-1 ή CD-95) είναι υποδοχέας κυτταρικής επιφανείας της υπεροικογένειας υποδοχέων των TNF / NGF (nerve growth factor) και υπάρχει ως διαμεμβρανική και διαλυτή (sFas) μορφή. Η διαμεμβρανική μορφή εκφράζεται ευρέως σε φυσιολογικά και κακοήθη κύτταρα. Η sFas συνδεόμενη με την επιφανειακή Fas αφ' ενός αποτρέπει την μεταγωγή σήματος μέσω Fas, αφ' ετέρου παρεμποδίζει, με αδρανοποίηση του FasL (Fas-ligand), την διαμεσολαβούμενη από το Fas απόπτωση. Αυξημένα επίπεδα sFas ανιχνεύονται στον ορό ασθενών με λευχαιμία, καρκίνωμα ορθού, μαστού, ουροδόχου κύστεως, στομάχου, ωοθηκών, τραχήλου μήτρας, μαστού και συσχετίζονται με κακή πρόγνωση. Εντούτοις ο sFas δεν αποτελεί πρόωμο δείκτη καρκινομάτων δεδομένου ότι τα επίπεδά του σε ασθενείς με τοπική νόσο δεν διαφέρουν των φυσιολογικών ατόμων<sup>171,176</sup>.

Το μόριο FasL ανήκει επίσης στην οικογένεια TNF και εκφράζεται κυρίως στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων T- και των NK-κυττάρων, επάγει δε την

απόπτωση συνδεδεμένο με τον υποδοχέα του, Fas στα κύτταρα στόχους. Η αλληλεπίδραση Fas-FasL παίζει σημαντικό ρόλο στην διαμεσολαβούμενη από τα κυτταροτοξικά T- και NK-κύτταρα απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Εν τούτοις η απόκτηση δυνατότητας εκφράσεως του FasL και από τα καρκινικά κύτταρα, τα καθιστά ικανά να μεταδώσουν σήματα θανάτου σε Fas-θετικά T-κύτταρα του ξενιστή. Αυξημένα επίπεδα sFasL έχουν ανιχνευθεί σε ορό καρκινοπαθών και συσχετίστηκαν με προχωρημένο στάδιο ή πρόοδο νόσου σε καρκινώματα ουροδόχου κύστεως και στομάχου<sup>171,176</sup>.

#### **VEGF (vascular endothelial growth factor – παράγων ανάπτυξης αγγειακού ενδοθηλίου)**

Ο VEGF, συνδεδεμένος με τον υποδοχέα του VEGF-R2 (ή KDR ή Flk-1), μεταδίδει σήματα ενισχύσεως του πολλαπλασιασμού (μιτογόνος δράση), της επιβιώσεως (αντιαποπτωτική δράση) και της κινητικότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων. Παράγεται σε υψηλά επίπεδα από μη κακοήγη κύτταρα ως απάντηση στην υποξία και την φλεγμονή και από τα κακοήγη κύτταρα στην προσπάθεια αυξήσεως και πολλαπλασιασμού των και έχει την ικανότητα να διαχέεται ελεύθερα. Επισημαίνεται ότι η χρόνια φλεγμονή σχετίζεται στενά με την αγγειογένεση, καθώς ο σχηματισμός κοκκώδους ιστού απαιτεί εκτεταμένη αγγειακή τροφοδότηση.

Οι πρωτεΐνες VEGF παίζουν σημαντικό ρόλο, στην αγγειογένεση των όγκων και στην έκφραση της μεταστατικής τους ικανότητας, κυρίως παρεμποδίζοντας την αναγνώριση και την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων από το ανοσοποιητικό σύστημα. Η υπερέκ-

φρασή του VEGF παρατηρείται σε μεγάλο ποσοστό των συμπαγών όγκων και σχετίζεται ευθέως με κακή πρόγνωση.

Αυξημένα επίπεδα VEGF ανιχνεύονται σε διάφορα καρκινώματα (ορθού, μαστού, ωθηκών, τραχήλου, νεφρού, κεφαλής - τραχήλου, υποφύσεως). Ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα του VEGF έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με λευχαιμίες και συμπαγείς όγκους του αιμοποιητικού<sup>18</sup>. Σε πρόσφατη μελέτη τα επίπεδα ορού VEGF και VEGF-C βρέθηκαν ότι ήταν υψηλότερα ( $p=0,0002$  και  $p=0,0007$ , αντιστοίχως) σε ασθενείς με καρκίνωμα τραχήλου της μήτρας σε σχέση με υγιείς μάρτυρες.

Στην στρωματοποίηση των ασθενών αποδείχθηκε ότι οι διαφορές ήταν μεγαλύτερες σε γυναίκες με πλακώδη καρκινώματα, ενώ δεν υφίσταντο σε γυναίκες με αδενοκαρκινώματα. Τα υψηλά επίπεδα του δείκτη συνδέθηκαν με συχνότερες υποτροπές και παραμονή νόσου μετά θεραπεία<sup>188</sup>. Η μέτρηση του VEGF μπορεί να χρησιμεύσει στον προσδιορισμό του κινδύνου για ανάπτυξη κακοήθων νεοπλασμάτων, στην ανίχνευση όγκων σε αρχικά στάδια και στην διάκριση καλοήθων και κακοήθων νοσημάτων. Σε διαγνωσμένους όγκους μπορεί να χρησιμεύσει στην πρόγνωση, στην πρόβλεψη ανταποκρίσεως στην θεραπεία και στην παρακολούθηση της κλινικής πορείας των ασθενών. Τα επίπεδα του VEGF στο πλάσμα και στα ούρα καρκινοπαθών προ θεραπείας, συσχετίζονται με μικρή διάμεση επιβίωση. Εκτός των κακοηθειών, οι προσδιορισμοί του VEGF στον ορό έχουν διαγνωστική και προγνωστική αξία στις καρδιαγγειακές ανεπάρκειες και τα φλεγμονώδη νοσήματα.

Προβλήματα στους ανοσοπροσδιορι-

σμούς του VEGF προκύπτουν λόγω σύγχρονης παρουσίας του διαλυτού υποδοχέα του, sFlk-1 και ισομορφών του VEGF, προς τις οποίες τα αντισώματα δεν διαθέτουν την ίδια ειδικότητα. Επιπλέον, Ο δείκτης είναι προτιμότερο να προσδιορίζεται στο πλάσμα, επειδή κατά την πήξη τα αιμοπετάλια και τα λευκοκύτταρα απελευθερώνουν VEGF<sup>187</sup>.

### **Μηχανισμοί καταστολής της αποπτώσεως**

Δεδομένου ότι η καταστολή της αποπτώσεως αποτελεί προϋπόθεση για ανάπτυξη και εξέλιξη κακοήθων νόσων, γίνεται σύντομη αναφορά και περιγραφή των μορίων και μηχανισμών οι οποίοι εμπλέκονται στην συγκεκριμένη κυτταρική λειτουργία.

Η *απόπτωση* (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος), συμβαίνει μετά ελάχιστη διαταραχή του τοπικού περιβάλλοντος και χωρίς επαγωγή φλεγμονής, ενώ η *κυτταρική νέκρωση* επιφέρει λύση των κυττάρων προκαλώντας φλεγμονώδη αντίδραση με πιθανή βλάβη στον περιβάλλοντα ιστό. Επί πλέον η καταστολή των αποπτωτικών μηχανισμών συνεισφέρει στην καρκινογένεση και στην αντοχή σε χημειο- και ακτινοθεραπεία.

A. Οι κασπάσες αποτελούν μεγάλη οικογένεια πρωτεασών κυστεΐνης και φυσιολογικά εκφράζονται ως ζυμογόνα (προκασπάσες), τα οποία στην συνέχεια ενεργοποιούνται<sup>189,190</sup>. Έχουν ουσιαστικό ρόλο στην μεταφορά του σήματος και την πρόκληση καταρράκτου φαινομένων τα οποία συνδέονται με ανοσιακές απαντήσεις. Είναι γνωστές τουλάχιστον 14 κασπάσες, εκ των οποίων τα 2/3 παίζουν ρόλο στην απόπτωση.

Οι κασπάσες οι οποίες σχετίζονται με την απόπτωση διακρίνονται σε εναρ-

κτήριες (initiator caspases: -8, -9, -10) και εκτελεστικές (downstream effector / executioner caspases: -2, -3, -6, -7). Οι εναρκτήριες αυτοδιασπώνται, αυτοενεργοποιούνται και τελικά ενεργοποιούν τις εκτελεστικές κασπάσες οι οποίες διασπών ενδοκυτταρικούς στόχους καταστρέφοντας φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες, ενεργοποιούν άλλους αποπτωτικούς παράγοντες, απενεργοποιούν αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες και τελικά οδηγούν σε θάνατο.

Έχει παρατηρηθεί ότι η κασπάση 1 τροποποιεί πρωτεολυτικά την προφλεγμονώδη κυτταροκίνη IL-1β, ενεργοποιεί την κυτταροκίνη IL-18 η οποία είναι παράγων επαγωγής της IFNγ και απαραίτητη για την ικανή παραγωγή της IL-1α.

B. Η αντιαποπτωτική πρωτεΐνη Bcl-2 εντοπίζεται, επί τα εκτός της έξω μιτοχονδριακής μεμβράνης, στην πυρηνική μεμβράνη και στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Η στενή σχέση μεταξύ μειωμένης αποπτώσεως και της εξελίξεως κακοήθων νόσων, ενισχύεται από το εύρημα ότι το ογκογονίδιο της Bcl-2, το οποίο διαμεσολαβεί στην λευχαιμία εκ Β-κυττάρων, δρα αναστέλλοντας την απόπτωση των Β-κυττάρων. Η υπερέκφραση της Bcl-2 προάγει τον κακοήθη μετασχηματισμό και επάγει χημειοαντοχή των όγκων μέσω διαφυγής τους από την απόπτωση, όπως παρατηρήθηκε στο καρκίνωμα των ωοθηκών, ώστε εκτιμάται ότι η έκφρασή της σε όγκους σχετίζεται με πλεονέκτημα επιβιώσεώς τους. Παρότι η Bcl-2 ανιχνεύεται στον ορό, οι περισσότεροι προσδιορισμοί της έχουν γίνει σε ιστικά εκχυλίσματα όγκων<sup>176</sup>.

Γ. Οι φυσιολογικές ογκοκατασταλτικές πρωτεΐνες p53 και Rb (retinoblastoma)

προάγουν την απόπτωση, σε απάντηση τοξικών ερεθισμάτων επάγοντας θάνατο στα αλλοιωμένα κύτταρα. Φαίνεται ότι η p53 ενεργοποιεί την απόπτωση, μειώνοντας τουλάχιστον μερικά, την έκφραση της Bcl-2. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου p53 προκαλούν λειτουργική αδρανοποίησή του και αποτελούν τις πλέον συνήθεις γενετικές αλλοιώσεις σε στις ανθρώπινες κακοήθεις νόσους. Μεταλλάξεις του p53 ανιχνεύονται σε > 50% των ανθρώπινων καρκινωμάτων και σχετίζονται με επιθετική νόσο. Αρκετές μελέτες υποδεικνύουν ότι η μεταλλαγμένη p53 μπορεί να αποτελεί πολύ ενδιαφέροντα πρώιμο δείκτη στον εντοπισμό ατόμων υψηλού κινδύνου για καρκίωμα του οισοφάγου<sup>176</sup>.

#### **Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών στην υπηρεσία του καρκίνου**

Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών (πρωτεϊνών ή DNA) ανήκει στις μεθόδους ολιστικής αναλύσεως των βιολογικών σημάτων και πέραν των ιστικών υλικών, ήδη χρησιμοποιείται στην μελέτη δειγμάτων αίματος. Η μελέτη των καρκινωμάτων αποτελεί κύριο στόχο της νέας αυτής τεχνολογίας λόγω της μεγάλης ετερογένειας της νόσου σε κυτταρικό, γενετικό και φαινοτυπικό επίπεδο. Επισημαίνεται ότι με την οπτική των μικροσυστοιχιών η έννοια του δείκτη καρκίνου αλλάζει, ώστε την θέση της τιμής ενός ΔΚ λαμβάνει η «μοριακή υπογραφή». Στην διαμόρφωση της μοριακής υπογραφής συμμετέχουν περισσότερες της μιας παράμετροι με διαφορετική βαρύτητα. Πρόσφατα αναφέρθηκε η ανάπτυξη συστήματος παράλληλης ανιχνεύσεως ΔΚ στα πλαίσια της διαγνώσεως και του αδρού ελέγχου σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου<sup>191,192</sup>. Με την προϋπόθεση της επαναληψιμότητας,

ακρίβειας και ποιοτικού ελέγχου τους, η διάδοση των μεθόδων αυτών φαίνεται ότι θα βοηθήσει με αλματώδη ρυθμό την μελέτη του κακοήθων νοσημάτων.

#### **ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΕΣ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ - ΑΠΟ ΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΡΑΞΗ**

Όπως είναι σαφές πολλοί δείκτες έχουν χρησιμοποιηθεί στην διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με κακοήθη συμπαγή νεοπλασμάτα. Ιδιαίτερα την τελευταία 20ετία η αναζήτηση, χρησιμοποίηση και το πεδίο εφαρμογής νεοπλασματικών δεικτών έχει αυξηθεί εντυπωσιακά και εξελίσσεται, ώστε το 1996 η American Society of Clinical Oncology πρότεινε την εκτίμηση των δεικτών με βάση ένα σύστημα συστηματικής αξιολογήσεως το Tumor Marker Utility Grading System (TMUGS). Ήδη το TMUGS χρησιμοποιείται ευρέως σε κλινικές μελέτες, ενώ είναι συνεχής η προσθήκη ενδιαφερόντων σχετικών στοιχείων.

Γενικώς, οι νεοπλασματικοί δείκτες θεωρούνται χρήσιμοι όταν βελτιώνουν την έκβαση ή την ποιότητα ζωής των ασθενών με καρκινώματα ή μειώνουν το κόστος νοσοκομειακής και εξωνοσοκομειακής φροντίδας των.

Ένας νεοπλασματικός δείκτης έχει ιδαίτερη χρησιμότητα όταν συμβάλλει στην διάγνωση της κακοήθους νόσου σε συγκεκριμένο ελεγχόμενο άτομο. Ο ιδανικός διαγνωστικός δείκτης πρέπει να έχει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα για την ανίχνευση συγκεκριμένων κακοήθων νεοπλασμάτων και να μην επηρεάζεται από καλοήθεις νόσους. Βασική προϋπόθεση ενός ιδανικού διαγνωστικού δείκτη με χρησιμότητα σε μαζικούς προληπτικούς ελέγχους είναι να ανιχνεύεται στα αρχικά στάδια της υπό διε-

ρεύνηση νόσου Ο ιδανικός προγνωστικός δείκτης πρέπει να παρέχει στον κλινικό την δυνατότητα εκτιμήσεως του κινδύνου υποτροπής της νόσου ή/ και την εξατομικευμένη πιθανότητα θανάτου από το συγκεκριμένο κακόηθες νεόπλασμα. Ο ιδανικός προβλεπτικός δείκτης πρέπει αναδεικνύει με ακρίβεια την πιθανότητα του ασθενούς να ανταποκριθεί στην θεραπεία. Δείκτες ορού οι οποίοι μπορεί να χρησιμοποιηθούν στην ανίχνευση της υποτροπής ή της παραμένουσας νόσου, ονομάζονται δείκτες παρακολούθησεως (monitoring markers). Η αξιοπιστία των δεικτών αυτών ελέγχεται κατά την παρακολούθηση νεοπλασματικών ασθενών οι οποίοι έλαβαν ή όχι θεραπεία. Ενδιαφέρον τομέας στην εφαρμογή νέων ορολογικών νεοπλασματικών δεικτών είναι τα εντοπισμένα καρκινώματα και η μεταφορά κυτταροστατικών για θεραπεία κατά ειδικών στόχων<sup>193</sup>. Όπως είναι προφανές, δεν υπάρχει δείκτης ο οποίος μπορεί να εφαρμόζεται στην κλινική πράξη με αξιοπιστία καλύπτοντας σε περισσότερες της μιας από τις παραπάνω υποκατηγορίες.

### **ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΜΑΖΙΚΟΥΣ ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΟΥΣ ΕΛΕΓΧΟΥΣ**

Συνιστούν υποκατηγορία των διαγνωστικών νεοπλασματικών δεικτών, οι οποίοι εφαρμοζόμενοι, θα πρέπει να έχουν υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Ο δείκτης ο οποίος βρίσκεται πλησιέστερα προς τις απαραίτητες προϋποθέσεις είναι το PSA. Χρησιμοποιούμενο σε μαζικούς πληθυσμιακούς ελέγχους το PSA αποδείχθηκε ότι έχει υψηλή ευαισθησία, αλλά σχετικώς χαμηλή ειδικότητα. Για τον λόγο αυτό στις περισσότερες περιπτώσεις ο σχεδιασμός αναλόγων προ-

τοκόλλων, περιλαμβάνει υποχρεωτική βιοψία προστάτου<sup>193</sup>.

### **ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ**

Το καλύτερο παράδειγμα προγνωστικού νεοπλασματικού δείκτη στην κλινική πρακτική αντιπροσωπεύει το σύστημα ενεργοποίησησεως του urokinase-type plasminogen (uPA) και ο plasminogen-activator inhibitor type-1 (PAI-1) στο καρκίνωμα του μαστού. Παράγοντες οι οποίοι συνδέονται με την διηθητικότητα, όπως ο uPA και αναστολέας του, όπως ο PAI-1, αποτελούν τους πλέον υποσχόμενους δείκτες της κατηγορίας αυτής. Τα κριτήρια για την προγνωστική αξιολόγηση των νεοπλασματικών δεικτών καθορίστηκαν στην τελική τους μορφή από τον McGuire WL το 1991 και περιλαμβάνουν τα εξής διαδικαστικά στάδια<sup>194</sup>:

1. Βιολογική Υπόθεση: Πολλά πειραματικά δεδομένα αποδεικνύουν τον ουσιαστικό ρόλο των uPA και PAI-1 στην ανάπτυξη διηθητικότητας και μεταστατικής ικανότητας<sup>195</sup>.
2. Τυποποίηση της μεθόδου: Τα επίπεδα αντιγόνων μετρώνται με δοκιμασίες οι οποίες τυποποιούνται αφού προηγουμένως υποστούν επιτυχώς, ποιοτικούς ελέγχους<sup>196</sup>.
3. Απόδειξη κλινικού οφέλους: Προηγούνται βιοστατιστικές αναλύσεις, συσχετίσεις με γνωστούς παράγοντες, μονοπαραγοντιακές και πολυπαραγοντιακές αναλύσεις, οι οποίες να έχουν καταλήξει σε θετικά αποτελέσματα.
4. Αξιολόγηση θεραπευτικών μελετών: Εκτιμώνται δεδομένα από πολυκεντρικές, προοπτικές μελέτες με τυχαία κατανομή ασθενών.
5. Μεταφορά των δεδομένων στην κλινι-



κή πρακτική.

Πρέπει να σημειωθεί ότι πολλές φορές προγνωστικοί δείκτες συνδεδεμένοι με επί μέρους έκβαση της νόσου, δεν έχουν κλινική χρησιμότητα. Παράδειγμα δεικτών χαμηλής κλινικής χρησιμότητας, αποτελούν δείκτες διακρίνοντες πληθυσμούς ασθενών σε δύο ομάδες χαμηλού ή υψηλού κινδύνου, από τις οποίες η μία είναι πολύ μεγάλη και η άλλη πολύ μικρή. Μικρή χρησιμότητα έχουν δείκτες όταν οι ομάδες υψηλού ή χαμηλού κινδύνου έχουν ελάχιστη πιθανότητα να ανταποκριθούν σε επιπρόσθετη θεραπεία<sup>195</sup>.

#### **ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΤΗΣ ΕΚΒΑΣΕΩΣ**

Στον σχεδιασμό μελετών οι οποίες αξιολογούν προβλεπτικούς δείκτες, πρέπει να γίνεται σαφής η διάκριση προβλεπτικής ή προγνωστικής αξίας. Ο προβλεπτικός παράγων προδικάζει την ανταπόκριση ή αντίσταση σε ειδική θεραπεία, ενώ ο προγνωστικός παράγων προδικάζει την μελλοντική υποτροπή ή πρόοδο νόσου ανεξαρτήτως θεραπείας<sup>197</sup>. Άμεσος τρόπος αξιολογήσεως της προβλεπτικότητας ενός νεοπλασματικού δείκτη, είναι η ανάλυση ανταποκρίσεως στην θεραπεία, ασθενών με τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό κακόηθες νόσημα. Το πλέον χαρακτηριστικό παράδειγμα προβλεπτικού δείκτη αποτελεί ο προσδιορισμός των οιστρογονικών και των προγεστερινικών υποδοχέων στο καρκίνωμα του μαστού. Είναι σαφές ότι οι περισσότεροι χρησιμοποιούμενοι στην κλινική πράξη δείκτες έχουν προγνωστική και προβλεπτική αξία<sup>193</sup>.

#### **ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΕΩΣ**

Είναι χρήσιμοι στις περισσότερες κλινικές μελέτες. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν οι δείκτες alpha-fetoprotein και beta chorionic gonadotropin στην παρακολούθηση ασθενών με καρκινώματα όρχεος. Σε ασθενείς με καρκινώματα του γαστρεντερικού σωλήνα ο προσδιορισμός των CEA και CA 19.9, χρησιμοποιείται μετά την θεραπεία 1ης γραμμής, με σκοπό την ανίχνευση υποτροπής σε αρχικά στάδια.

Αντίστοιχη χρησιμότητα έχει η μέτρηση του CA-125 σε γυναίκες με καρκίνωμα ωοθήκης. Πρέπει να τονισθεί ότι το όφελος από την ανάδειξη μικρού φορτίου νόσου μετά την θεραπεία 1ης γραμμής, εξικνείται σε καρκινώματα στα οποία η πρώιμη ανακάλυψη της υποτροπής έχει επίπτωση στην συνολική επιβίωση. Παράδειγμα εξ αντιθέτου αποτελεί το καρκίνωμα του μαστού στο οποίο κανένα όφελος στην συνολική επιβίωση δεν αποδείχθηκε, όταν οποιοσδήποτε δείκτης νόσου βρεθεί αυξημένος, κατά την διάρκεια της τακτικής παρακολούθησεως, μετά την θεραπεία 1ης γραμμής<sup>193</sup>.

#### **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Suresh MR ,Classification of tumor markers. Anticancer Res1996;16:2273-2278.
2. Βασιλαματζής ΜΜ, Δασκαλοπούλου ΣΣΕ, Η προγνωστική σημασία των κυκλοφορούντων νεοπλασματικών δεικτών σε ασθενείς με κακοήθη συμπαγή νεοπλασματά, Νοσοκομειακά Χρονικά 2000; Τόμος 62, (Συμπλήρωμα): 177-190.
3. Johnson PJ, Dennis LYM: Plasma nucleic acids in the diagnosis, management of malignant disease. Clin Chem 2002; 48:1186-1193.
4. Clinical Chemistry. Concepts, Applications: Anderson SC, Cockayne S. H.B.J.

- Int.Eds., Editor: W.B. Saunders. (1993) Chapter 16: Tumor Markers. p.322-336.
5. Clinical Diagnosis and Management By Laboratory Methods. J.B.Henry, MD. H. B. J., Int. Eds. W.B.Saunders. (1991) Chapter 14: Molecular markers of malignant transformation. p.285-307.
  6. Cancer and Clinical Biochemistry . Panall P, Kotasek D, ACB Venture Publications, Eds. G.McCreanor, W.Marshall (1997)
  7. Serological Cancer Markers. editor: Stewart Sell, 1992, The Humana Press, Totowa, NJ.
    - a. Stewart S. Chapter 1 Cancer markers of the 1990s. p.1-17.
    - 7b. Sikorska HM, Fuks A, Gold P: Chapter 4, Carcinoembryonic Antigen. p.47-97.
    - 7c. Bombardieri E, Gion M Chapter 15: MCA as available circulating tumor marker for breast cancer. p.341-53.
    - 7d. Schlom J et al, Chapter 18, TAG-72 as a tumor marker. p.387-415.
    - 7e. Kato H. Chapter 21: Squamous Cell Carcinoma Antigen. p.437-451.
    - 7f. Pohl A. Chapter 23, Multiple testing with cancer markers. p.473-93.
  8. 8ο σεμινάριο ΕΕΚΧ-ΚΒ 1995 – «Δείκτες καρκίνου. Εργαστηριακή διερεύνηση και κλινική αξιολόγηση.
    - 8α. Βάρσου-Παπαδημητρίου Λ. „Χαρακτηριστικά και διαγνωστική αξία δεικτών καρκίνου σε βιολογικά υγρά.. σ.10-38.
    - 8β. Σκάρλος Δ.,Αξιολόγηση καρκινικών δεικτών στην κλινική πράξη. σ.79-83.
    - 8γ. Κυρίου-Μάλλη Λ.,Τα ένζυμα ως δείκτες καρκίνου. σ.39-50.
  9. Κλινικό φροντιστήριο 5ου Πανελληνίου Συνεδρίου Κλινικής Χημείας της ΕΕΚΧ-ΚΒ,Οι δείκτες καρκίνου στα βιολογικά υγρά».
    - 9α. Βασλαματζής ΜΜ και Κατιρτζόγλου ΝΑ „Η προγνωστική σημασία των κυκλοφορούντων νεοπλασματικών δεικτών σε ασθενείς με κακοήγη συμπαγή νεοπλασματα. σ.64-90.
    - 9β. Κυρίου-Μάλλη Λ. Δείκτες καρκίνου στα βιολογικά υγρά. σ.7-63.
  10. Clinical Laboratory Diagnostics. Use and assessment of Clinical Laboratory results“. By Lothar Thomas, first edition, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main, Germany, Chapter 34: Tumor markers. p.936-996.
  11. Magdelenat H: Tumour markers in oncology: past, present and future. J of Immunol Met 1992, 150: 133-143.
  12. Swartz MK Tumor Markers. Diag Endo &Metab 1997, 15(12):367-379.
  13. Johnson PJ, Dennis L YM Plasma nucleic acids in the diagnosis and management of malignant disease“. Clin Chem 2002, 48: 1186-1193.
  14. Bidart JM, Thuillier F, Augereau C, Chalas J, Daver A, Jacob N, Labrousse F, Voitot H. Kinetics of serum tumor marker concentrations and usefulness in clinical monitoring.“ Clin Chem. 1999 Oct;45(10):1695-707. Review. bidart
  15. Hayes DF. What are tumor markers, and when should they be used. Educational Book of ASCO, 30th Annual Meeting. Dallas, Texas 1994, pp: 138-149.).
  16. 14ο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο ΕΕΚΧ-ΚΒ, 28/5/05-«Νεοπλασματικοί Δείκτες»
    - 16α. Β. Βυλλιώτου «Δείκτες καρκίνου: Γενικά χαρακτηριστικά-Ταξινόμηση-Εργαστηριακή αξιολόγηση. σελ.45-66.
    - 16β. Σαραντάκου Α. Δείκτες καρκίνου σε φυσιολογικά σωματικά υγρά . Ογκοεμβρυικά αντιγόνα.»
  17. Up Dating of Tumor Markers in Tissues and in Biological Fluids“. Ballesta AM, Torre GC, Bombardieri E, Gion M, Molina R. (1993) Edizioni Minerva Medica.
  18. Αναγνώστου-Κακκαρά Ε, Ζουλλιέν Ζ, Δήμα Κ Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας 1988; 33: 571-591.
  19. Bates SE, Longo DL Use of serum tumor markers in cancer diagnosis and management.“ Semin Oncol. 1987 Jun;14(2):102-38. Review.
  20. Kasper LM Significant developments in Biochemistry, Urinalysis, and Ligand Assays“ Clinical Laboratory Science 1998; 11(6):330-335.

21. Bagshawe KD, Rustin GJS. Circulating tumor markers. In: Oxford Textbook of Oncology ed. Peckham M, Pinedo H, Veronesi U. Oxford, New York, Tokyo. Oxford University Press 1995, pp 412-420.
22. Tietz NW Textbook of Clinical Chemistry" 1986, Ed. W.B. Saunders. Chapter 5 Enzymes. p.619-774.
23. Castaldo G, Intrieri M, Castellano L et al. Serum  $\gamma$ -GT isoform complexed to LDL in the diagnosis of small hepatocellular carcinoma. Clin Chem 1999; 45: 1100A-1102.
24. Otsu N, Hirata M, Miyazawa K, Tuboi S Abnormal LDH isoenzyme in serum and tumor tissue of a patient with neuroblastoma. Clin Chem 1985; 31: 318-320.
25. Giannoulaki EE, Kalpaxis DL, Tentas C, Fessas P, LDH isoenzyme pattern in sera of patients with malignant diseases". Clin Chem 1989; 35: 396-399.
26. Seth RK, Kharb S, Kharb DP. Serum biochemical markers in carcinoma breast. Indian J Med Sci 2003, 57: 350-354.)
27. O'Neill KL, Buckwalter MR, Murray BK Thymidine kinase: diagnostic and prognostic potential" Expert Rev Mol Diagn 2001; 1(4): 428-33.
28. Fischer L NSE: Marker of neuroendocrine differentiation as a tumor marker. p.264-266, in: Recent results in tumor diagnosis and therapy" 1990, editor: R.Klapdor, Wuckschwerdt Verlag.
29. Jensen RT, Doherty GM. Carcinoid tumors and carcinoid syndrome. In: De Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer Principles and Practice of Oncology, 7th edition. Lippincott Williams και Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo, 2005, p 1559-1574.
30. Hvamstad T, Jordan A, Hekmat N, et al. Neuroendocrine serum tumour markers in hormone-resistant prostate cancer. Eur Urol 2003, 44(2): 215-221.
31. Oberg K. Neuroendocrine gastrointestinal tumors-a condensed overview of diagnosis and treatment. Ann Oncol 1999, 10(Suppl 2): S3-S8.
32. Kimura N, Hoshi S, Takahashi M, Takeha S, Shizawa S, Nagura H. Plasma chromogranin A in prostatic carcinoma and neuroendocrine tumors." J Urol. 1997 Feb;157(2):565-8.
33. Ferrari L, Seregni E, Bombardieri E Chromogranin A: a useful marker for neuroendocrine tumours" Tumour Marker Update 1999; 11(4): 187-193.
34. Giovannella LC Chromogranin, a circulating neuroendocrine marker" (monograph) Oct 2003, Ed.CIS bio international.
35. Degorce F, Goumon Y, Jacquemart L, Vidaud C, Bellanger L, Pons-Anicet D, Seguin P, Metz-Boutigue MH, Aunis D A new human chromogranin A (CgA) immunoradiometric assay involving monoclonal antibodies raised against the unprocessed central domain (145-245)." Br J Cancer. 1999 Jan;79(1):65-71.
36. Joseph E, Lyman G, Messina J, Brobeil A, Reintgen DS Tumour markers in malignant melanoma: a review." Tumour Marker Update 1997; 9(5): 157-163.
37. Hauschild A, Engel G, Brenner W, Glaser R, Monig H, Henze E, Christophers E. S100B protein detection in serum is a significant prognostic factor in metastatic melanoma." Oncology. 1999;56(4):338-44.
38. Jury CS, McAllister EJ, MacKie RM. Rising levels of serum S100 protein precede other evidence of disease progression in patients with malignant melanoma." Br J Dermatol. 2000 Aug;143(2):269-74.
39. Ghanem G, Loir B, Morandini R, Sales F, Lienard D, Eggermont A, Lejeune F; EORTC Melanoma Group. On the release and half-life of S100B protein in the peripheral blood of melanoma patients." Int J Cancer. 2001 Nov; 94(4):586-90.
40. Prognostic factors in severe traumatic brain injury: The role of S-100B protein." Stranjalis G, Korfiatis S, Papapetrou C, Kouzounias C, Psachoulia C, Kiriou L, Tsamandouraki K, Singounas E, Sakas D. in: Proceedings of World Federation of Neurosurgical Sciences, p.455-458, 12th World Congress of Neurosurgery , 16-20

- September, 2001, Sydney, Australia, Editors: G.A.J. McCulloch, P.L. Reilly
41. McCormack et al. Molecular forms of prostate specific antigen and the human kallikrein gene family: a new era». *Urology* 1995; 45: 729-744.
  42. Schmid H.P. PSA doubling time in diagnosis and follow-up of patients with prostate cancer». *Tumour Marker Update* 1995; 8(3): 71-77.
  43. Scher HI, Leibel SA, Fuks Z, Codon-Carpo C, Scardino PT. Cancer of the prostate. In: De Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer Principles and Practice of Oncology*, 7th edition. Lippincott Williams και Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo, 2005, p 1192-1259.
  44. Partin AW, Oesterling JE The clinical usefulness of prostate specific antigen: update 1994" *J Urol* 1994;152:1358-68)
  45. Diamandis E.P., Yu H. New biological functions of PSA?» *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1515-1517.
  46. Abrahamson PA, Lilja H, Falkmer S, Wadstrom LB Immunohistochemical distribution of the three predominant secretory proteins in the parenchyma of hyperplastic and neoplastic prostate glands" *Prostate* 1988;12:39-46.)
  47. Graves HC. Nonprostatic sources of prostate specific antigen: a steroid hormone-dependent phenomenon? *Clin Chem* 1995, 41: 7-?
  48. Corey E, Arfman EW, Liu AX, Vessella RL «Improved reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) protocol with exogenous internal competitive control for PSA mRNA in blood and bone marrow ». *Clin Chem* 1997;43(3):443-52.
  49. Clements A., Mukhtar A. Glandular kallikreins and PSA are expressed in the human edometrium». *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:1536-1539.
  50. Olsson CA, de Vries GM, Benson MC, Raffo A, Buttyan R, Cama C, O'Toole K, Katz AE «The use of RT-PCR for PSA assay to predict potential surgical failures before radical prostatectomy: molecular staging of prostate cancer». *Br J Urol* 1996;77(3):411-7.
  51. Aihara M, Lebovitz RM, Weeler TM, et al. Prostate specific antigen and Gleason grade: an immunohistochemical study of prostate cancer. *J Urol* 1994, 151: p.1558.
  52. Siegal J, Brawer MK. Prostate-specific antigen. In *Textbook of Prostate Cancer*, eds Kaisary AV, Murphy GP, Denis L, Griffiths K, ed. Martin Dunitz Ltd 1999, pp 121-141.
  53. Stenman U, Leinonen J, Alfthan H, et al. A complex between PSA and α1-antichymotrypsin is the major form of PSA in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res* 1991, 51: 222-226.,
  54. Lilja H, Christensson A, Dahlen U, et al. PSA in human serum occurs predominantly in complex with alpha-1-antichymotrypsin. *Clin Chem* 1991, 37: 1618-1625.
  55. Mikolajczyk SD, Catalona WJ, Evans CL, Linton HJ, Millar LS, Marker KM, Katir D, Amirkhan A, Rittenhouse HG Proenzyme forms of PSA in serum improve the detection of prostate cancer" *Clin Chem* 2004;50: 1017-1025.
  56. Linton HJ, Marks LS, Millar LS, Knott CL, Rittenhouse HG, Mikolajczyk SD Benign PSA in serum is increased in benign prostate disease" *Clin Chem* 2003;49:253-259.
  57. Sturgeon C. Practice guidelines for tumor marker use in the Clinic. *Clin Chem* 2002, 48(8): 1151-1159.
  58. Nixon RG, Wener MH, Smith KM, et al. Biological variation of prostate-specific antigen levels in serum: an evaluation of day-to-day physiological fluctuations in well-defined cohort of 24 patients. *J Urol* 1997, 157: 2183-2190.
  59. Birtle AJ, Freeman A, Masters JR, et al. Tumor markers for managing men who present with metastatic prostate cancer and serum prostate-specific antigen levels of <10ng/ml. *BJU Int* 2005, 96(3): 303-307.
  60. Huber PR, Schmid HP, Mattarelli G, Strittmatter B, van Steenbrugge GJ, Maurer A «Serum free prostate specific antigen: iso-

- zymes in benign hyperplasia and cancer of the prostate». *Prostatitis* 1995; 27(4):212-219.
61. Kardamakis D «Tumour serum markers: Clinical and economical aspects» *Anticancer Res* 1996, 16: 2285-2288.
  62. Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK. Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/ml and benign prostate examination. Enhancement of specificity with free PSA measurements." *JAMA* 1997, 277: p.1452.
  63. Scher HI, Leibel SA, Fuks Z, Codon-Carpo C, Scardino PT. Cancer of the prostate. In: De Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer Principles and Practice of Oncology*, 7th edition. Lippincott Williams και Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo, 2005, p.1192-1259.
  64. Price CP, Allard J, Davies G, Dawnay A, Duffy MJ, France M, Mandarino G, Milford Ward A, Patel B, Sibley P, Sturgeon C Pre- and Post-analytical factors that may influence use of serum PSA and its isoforms in a screening programme for prostate cancer". *Ann. Clin.Biochem* 2001; 38: 188-216.
  65. Benson MC, Ring KS, Olsson CA. The determination of stage D0 carcinoma of the prostate using PSA density. *Urol Corres Club* 1989, 13: 7-9.
  66. Veneziano S, Pavlica P, Querze R, et al. Correlation between PSA and prostate volume, evaluated by transrectal ultrasonography: usefulness in diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol* 1990, 18: 112-116.
  67. Benson MC, Whang IS, Pantuck A, et al. Prostate-specific antigen density: a means of distinguishing benign prostatic hypertrophy and prostate cancer. *J Urol* 1992, 147: 815-816.
  68. Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chute CG, et al. Serum prostate-specific antigen in a community-based population-based population of healthy men: establishment of age specific reference ranges. *JAMA* 1993, 270: 860-864.
  69. Petteway J, Brawer MK. Age specific versus 4.0 ng/ml as a PSA cutoff in the screening population: impact on cancer detection. *J Urol* 1995, 153: 465A.
  70. Carter HB, Pearson JD, Metter EJ, et al. Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels with and without prostate disease. *JAMA* 1992, 267: p.2215.
  71. Smith DS, Catalona WJ. Rate of change in serum prostate-specific antigen levels as a method for prostate cancer detection. *J Urol* 1994, 152: p.1163
  72. Lilja H, Piironen TP, Rittenhouse HG, et al. Value of molecular forms of prostate-specific antigen and related kallikreins, hk2, in diagnosis and staging of prostate cancer. In: Vogelzang NA, Scardino PT, Shipley WU, et al, eds. *Comprehensive textbook of genitourinary oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 2000, p.638.
  73. Catalona WJ, Smith DS, Wolfert RL, et al. Evaluation of percentage of free serum PSA to improve specificity of prostate cancer screening. *JAMA* 1995, 274: 1214-1220.
  74. Klein E. Editorial: Can PSA derivatives reduce frequency of unnecessary prostate biopsies?" *J Urology* 1996; 56: 443-444.
  75. Prestigiacomo AF, Lilja H, Pettersson K, Wolfert RL, Stamey TA A comparison of the free fraction of serum PSA in men with benign and cancerous prostates: the best scenario". *J Urol* 1996;156(2 Pt1): 350-354.
  76. Gann PH, Hennekens CH, Stampfer PT. A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer. *JAMA* 1995, 273: 289-294.
  77. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanigan RC, et al Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of the prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial." *JAMA*, 1998;279(19): 1542-7.
  78. Horninger W, Cheli CD, Babaian RJ, Fritsche HA, Lepor H, Taneja SS, Childs S, Stamey TA, Sokoll LJ, Chan DW, Brawer MK, Partin AW, Bartsch G. Complexed prostate-specific antigen for early detection of prostate cancer in men with serum prostate-specific antigen levels of 2 to 4

- nanograms per milliliter." *Urology*. 2002 Oct;60(4 Suppl 1):31-5.
79. Lein M, Kwiatkowski M, Semjonow A, Luboldt HJ, Hammerer P, Stephan C, Klevecka V, Taymoorian K, Schnorr D, Recker F, Loening SA, Jung K. A multicenter clinical trial on the use of complexed prostate specific antigen in low prostate specific antigen concentrations." *J Urol*. 2003 Oct;170(4 Pt 1):1175-9.
  80. Stephan C, Jung K, Lein M, Sinha P, Schnorr D, Loening SA. Molecular forms of prostate-specific antigen and human kallikrein 2 as promising tools for early diagnosis of prostate cancer." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000 Nov;9(11):1133-47. Review.
  81. Jung K, Lein M, Butz H, Stephan C, Loening SA, Keller T. New insights into the diagnostic accuracy of complexed and total PSA using Discordance Analysis Characteristics." *J Urol* 2006; 175(4):1275-80.
  82. Αλεξόπουλος ΚΓ «Ειδικό προστατικό αντιγόνο» Νοσοκομειακά Χρονικά 1997, Πρακτικά 2ου Ετήσιου Σεμιναρίου Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης Νοσοκομείου «Ο Ευαγγελισμός. σελ.56-61.
  83. Γιαννοπουλος Α., Γρηγοράκης Α., Το PSA, τα μοριακά του κλάσματα και το PSMA στον καρκίνο του προστάτη» Αθήνα 2000, εκδ.Ιατρικές Εκδόσεις Ζήτα .
  84. Grossfeld GD, Carroll PR Prostate cancer early detection: a clinical perspective." *Epidemiol Rev* 2001; 23 (1): 173-80 review.
  85. Chevillat JC, Tindall D, Boelter C, et al. Metastatic prostate carcinoma to bone: clinical and pathologic features associated with cancer specific survival." *Cancer (Phila)* 2002, 95: 1028-1036.
  86. Tricoli JV, Schoenfeldt M,, Conley BA. Detection of prostate cancer and predicting progression: Current and future diagnostic markers." *Clin Cancer Res* 2004, 10: 3943-3953.
  87. Reiter RE, Gu Z, Watabe T, et al. Prostate stem cell antigen: a cell surface marker overexpressed in prostate cancer." *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95: 1735-1740.
  88. Diamandis EP,, Yousef GM. Human tissue kallikrein gene family: a rich source of novel disease biomarkers." *Exp Rev Mol Diagn* 2001, I: 182-190.
  89. Diamandis EP, Yousef GM, Soosaipillai AR, Bunting P. Human kallikrein 6 (zyme/protease M/neurosin): a new serum biomarker of ovarian carcinoma." *Clin Biochem* 2000, 33: 579-583.
  90. Luo LY, Bunting P, Scorilas A, Diamandis EP. Human kallikrein 10: a novel tumor marker for ovarian carcinoma?" *Clin Chim Acta* 2001, 306: 111-118,.
  91. Diamandis EP, Okui A, Mitsui S, et al. Human kallikrein 11: A novel biomarker of prostate and ovarian carcinoma." *Cancer Res* 2002, 62: 295-300,.
  92. Yousef GM, Diamandis EP. Kallikreins, steroid hormones and ovarian cancer: is there a link?" *Minerva Endocrinol* 2002, 27: 157-166,
  93. Diamandis EP, Scorilas A, Fracchioli S, et al. Human kallikrein 6(hK6): A new potential serum biomarker for diagnosis and prognosis of ovarian carcinoma." *J Clin Oncol* 2003, 21: 1035-1043,.
  94. Kishi T, Grass L, Soosaipillai A, et al. Human kallikrein 8, a novel biomarker for ovarian carcinoma." *Cancer Res* 2003, 63: 2771-2774,.
  95. Yousef GM, Polymeris ME, Grass L, et al. Human kallikrein 5: a potential novel serum biomarker for breast and ovarian cancer." *Cancer Res* 2003, 63: 3958-3965,.
  96. Petraki CD, Gregorakis AK, Vaslamatzis MM, et al. Prognostic implications of the immunohistochemical expression of human kallikreins 5,6,10 and 11 in renal cell carcinoma." *Tumour Biology* 2006, Vol 27(1): 1-7.
  97. Borgono CA, Grass L, Soosaipillai A, et al. Human kallikrein 14: A new potential biomarker for ovarian and breast cancer. *Cancer Res* 2003, 63: 9032-9041.
  98. Gold P., Goldenberg N. The carcinoembryonic antigen (CEA): past, present and future." *Mc Gill Journal of Medicine* 1997;3(1):46-83.

- ([www.medicine.mcgill.ca/mjm/issues/v03n01/cea.html](http://www.medicine.mcgill.ca/mjm/issues/v03n01/cea.html))
99. Duffy MJ. Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful?" *Clin Chem*. 2001 Apr;47(4):624-30. Review.
  100. Bast RC Jr, Radvin P, Hayes DF, et al. 2000 update of recommendations for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 2001, 19: 1865-1878.
  101. Bast RC Jr, Radvin P, Hayes DF, et al. 2000 update of recommendations for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. [Erratum]. *J Clin Oncol* 2001, 19: 4185-4188
  102. Rosen M, Chan L, Beart RW, et al. Follow-up of colorectal cancer: a meta-analysis. *Dis Colon Rectum* 1998, 41: 1116-1125.
  103. Pietra N, Sarli L, Costi R, et al. Role of follow-up in the management of local recurrence of colorectal cancer: a prospective, randomized study. *Dis Colon Rectum* 1998, 41: 1127-1133.
  104. Basuyau JP, Blanc-Vincent MP, Bidart JM, et al. Standards, options and recommendations (SOR) for tumor markers in breast cancer. SOR Working Group. *Bull Cancer* 2000, 87: 723-737.
  105. Lamerz R. AFP isoforms, their clinical significance (overview)". *Anticancer Res*. 1997 Jul-Aug;17(4B):2927-30. Review.
  106. Doherty AP, Bower M, Christmas TJ The role of tumour markers in the diagnosis and treatment of testicular germ cell cancers." *Br J Urol*. 1997 Feb;79(2):247-52. Review.
  107. Tsai JF, Jeng JE, Ho MS, Chang WY, Lin ZY, Tsai JH. Clinical evaluation of serum alpha-fetoprotein and circulating immune complexes as tumour markers of hepatocellular carcinoma." *Br J Cancer*. 1995 Aug;72(2):442-6.
  108. Franca AVC, Elias Junior J, Lima BLG, et al. Diagnosis, staging and treatment of hepatocellular carcinoma. *Braz J Med Biol Res* 2004, 37: 1689-1705.
  109. Llovet JM και Beaugrand M. Hepatocellular carcinoma: present status and future prospects. *J Hepatol* 2003, 38(Suppl): I-136-I-147.
  110. The Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) Investigators. Prospective validation of the CLIP score: A new prognostic system for patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2000, 31: 840-845.
  111. Smith MW, Yue ZN, Geiss GK, et al. Identification of novel tumor markers in hepatitis C virus associated hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2003, 63: 859-864.
  112. Melbye M, Wohlfahrt J, Lei U, et al. a-Fetoprotein levels in maternal serum during pregnancy and maternal breast cancer incidence. *J Natl Cancer Inst* 2000, 92(12): 1001-1005.
  113. Thomas CMG, Sweep CGJ Serum tumor markers: past, state of the art, and future." *The International Journal of Biological Markers* 2001;16(2): 73-86.
  114. Tumor markers. εύρεση στο δικτυακό τόπο:  
[http://training.seer.cancer.gov/module\\_diagnostic/unit03\\_tumor\\_markers.html](http://training.seer.cancer.gov/module_diagnostic/unit03_tumor_markers.html)
  115. Meyers ML, Bosl GL Tumor-specific markers in human germ cell tumors." *Tumour marker update* 1994; 6(5): 149-153. Review
  116. Bower M The value of tumour markers in ovarian germ cell tumours" *Tumour marker update* 1996;8(1):1-7. Review.
  117. International Germ Cell Cancer Collaborative Group (IGCCCG). International Germ Cell consensus classification: a prognostic factor-based staging system for metastatic germ cell cancers." *J Clin Oncol* 1997, 15: 594-603.
  118. Kerbrat P, Lhommé C, Fervers B, et al. Standards, options and recommendations: ovarian cancer. *Electronic J Oncol* 2001, 1: 32-42. <http://www.elecjoncol.org> (Accessed May 2002)
  119. Pilar Laguna M, Pizzocaro G, Klepp O, et al. EAU guidelines on testicular cancer. *Eur J Urol* 2001, 40: 102-110.
  120. Lairmore TC, Moley JF. Cancer of the endocrine system." In: De Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer Principles and Practice of Oncology*, 7th edition. Lippincott

- Williams και Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo, 2005, p 1489-1502.
121. Fleisher M, Dnistrian AM, Sturgeon CM, et al. Practice guidelines and recommendations for use of tumor markers in the clinic. In Diamandis EP, Fritsche H, Schwartz MK, Chan DW, eds. Tumor markers: physiology, technology and clinical applications. Chicago: AACCC Press 2002, 33-63.
  122. British Thyroid Association. Guidelines for the management of thyroid cancer in adults." London: Royal College of Physicians, 2002, <http://www.british-thyroid-association.org/guidelines.htm> (Accessed May 2002).
  123. Meijer WG, Kema IP, Volmer M, Willemse PHB, deVries EGE Discriminating Capacity of Indole Markers in the Diagnosis of Carcinoid Tumors" Clin Chem 2000; 46: 1588-1596.
  124. New tumour markers and their monoclonal antibodies. 4<sup>th</sup> symposium on tumour markers, Hamburg 1987. Edited by R.Clapdor, Georg Thieme Verlag Stuttgart. New York.
  - a. Ochi Y., Okabe H., Imokawa M. Antigen detection by the monoclonal antibodies, CA 19-9, CA 125 and CA 15-3 in serum and body fluids of cancer and non-cancerous state." p.97.
  - b. Mezger J., Lamerz R. Elevated CA 125 levels in sera from patients with benign ascitic or pleural effusions." p.149.
  - c. De Bruijn HWA, Aalders JG, Kauer FM, Duk MJ, Fleuren GJ The biodistribution of CA 125 in the female genital tract." p.335-341.
  125. Sakahara H, Endo K, Nakajima K, et al. Serum CA 19-9 concentration and computed tomography findings in patients with pancreatic carcinoma" Cancer 1986;57: p.1324.
  126. Maraveyas A, Mansi JL CA 19-9 in the prediction of response to systemic treatments in inoperable carcinoma of the pancreas" Tumour marker update 1999;11(2): 55-59.
  127. Vaslamatzis M, Papanikolaou F, Kyriou L, et al. Evaluation of serum tumour markers CEA, NSE, CA-125, SCC, TPS and Cyfra 21.1 in patients with Non Small Cell Lung Cancer. Preliminary results. 8th Central European Lung Cancer Conference. Vienna, Austria 1-4/9/2002. Editor Robert Pirker, 2002 by Monduzzi Editore S.p.A. – MEDIMOND Inc, International Proceedings Division, pp 87-97.
  128. Μ. Βασιλαματζής, Π. Στασινοπούλου, Ν. Αλεβιζόπουλος, Δ. Ροντογιάννη, Λ. Κυρίου, κ.ά. Η αξιολόγηση του δείκτη CA-125 ορού σε ασθενείς με Non Hodgkin's Lymphomas (NHL) στομάχου. Προκαταρκτικά αποτελέσματα». Annals of Gastroenterology" 2003, Vol 16(Supplement): p 16, No 022.
  129. Duffy MJ New cancer markers." Ann Clin Biochem. 1989 Sep;26 ( Pt 5):379-87. Review.
  130. Bates SE The use and potential of serum tumour markers, new and old." Drugs. 1989 Jul;38(1):9-18. Review.
  131. Engelen MJ, de Bruijn HW, Hollema H, ten Hoor KA, Willems PH, Aalders JG, van der Zee AG. Serum CA 125, carcinoembryonic antigen, and CA 19-9 as tumor markers in borderline ovarian tumors." Gynecol Oncol. 2000 Jul;78(1):16-20.
  132. Pauler DK, Menon U, McIntosh M, Symecko HL, Skates SJ, Jacobs IJ. Factors influencing serum CA125II levels in healthy postmenopausal women." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001 May;10(5):489-93.
  133. Sjövall K, Nilsson B, Einhorn N The significance of serum CA 125 elevation in malignant and nonmalignant diseases." Gynecol Oncol. 2002 Apr;85(1):175-8.
  134. Yarbo JW, Page DL, Fielding LP, et al. American Joint Committee on Cancer prognostic factors consensus conference. Cancer 1999, 86: 2436-2446.
  135. Jacobs IJ, Menon U. Progress and challenges in screening for early detection of ovarian cancer. Molecular και Cellular Proteomics 2004, 3: 355-366.
  136. Karlan BY, Markman MA, Eifel PJ. Ovarian cancer: Peritoneal carcinoma, and fallopian tube carcinoma. In De Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer Principles and



- Practice of Oncology, 7th edition. Lippincott Williams και Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo, 2005, p 1364-1397.
137. Xu Y, Shen Z, Wiper DW, et al. Lysophosphatidic acid as a potential biomarker for ovarian and other gynecologic cancers. *JAMA* 1998, 280: p.719.
  138. Thomas H, McCormack M Mucins as markers in breast cancer" *Tumour Marker Update* 1998; 10(4): 107-9. Review.
  139. Van Dalen A, Molina R Serum tumour markers in breast cancer: new MUC1 markers, c-erb-2 and cytokeratins." *Tumour Marker Update* 1999; 11(1): 1-4. Review.
  140. Duffy MJ CA 15-3 and related mucins as circulating markers in breast cancer." *Ann Clin Biochem.* 1999 Sep;36 ( Pt 5):579-86. Review.
  141. Educational Commentary-2004 1st Test Event (Chemistry) CA 15-3 and CA 27.29. American Proficiency Institute.
  142. Bon GG, Kenemans P, Verstraeten R, van Kamp GJ, Hilgers J Serum tumor marker immunoassays in gynecologic oncology: establishment of reference values" *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 107-14.
  143. Sarandakou A, Rizos D, Botsis D, Kassanos D, Thomopoulos P, Protonotariou E, Phocas I. Mucin-like carcinoma-associated antigen (MCA) during normal pregnancy." *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 96(1): 51-54.
  144. Way BA, Kessler G Tumor marker overview" *Laboratory Medicine Newsletter* 1996;4(9) (<http://medicine.wustl.edu/~labmed/1996vol4no9.html> accessed 6/3/2004)
  145. Tumor marker expert panel (ASCO). Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer." *J Clin Oncol* 1996, 14: 2843-2877.
  146. Lumachi F, Basso SM. Serum tumor markers in patients with breast cancer." *Expert Rev Anticancer Ther.* 2004, 4(5): 921-931.
  147. Ouyang X, Guilliford T, Doherty A, et al. Detection of erbB-2 oversignalling in a majority of breast cancers with phosphorylation-state-specific antibodies." *Lancet* 1999, 353: 1591-1592.
  148. Volas GH, Leitzel K, Teramoto Y, et al. Serial serum c-erbB-2 levels in patients with breast carcinoma." *Cancer* 1996, 78: 267-272.
  149. Jensen BV, Johansen JS,, Price PA. High levels of serum HER-2/neu and YKL-40 independently reflect aggressiveness of metastatic breast cancer." *Clin Cancer Res* 2003, 9: 4423-4434.
  150. Hernandez L, Nunez-Villar MJ, Martinez-Arribas F, et al. Circulating hormone levels in breast cancer patients, correlation with serum tumor markers and the clinical and biological features of the tumors." *Anticancer Res* 2005, 25(1B): 451-454.
  151. Mellerick DM, Osborn M, Weber K «On the nature of serological tissue polypeptide antigen (TPA); monoclonal keratin 8, 18 and 19 antibodies react differently with TPA prepared from human cultured carcinoma cells and TPA in human serum» *Oncogene* 1990; 5(7):1007-1017.
  152. Sundstrom BE, Stigbrand TI Cytokeratins and tissue polypeptide antigen" *Int J Biol Markers* 1994; 9(2): 102-8.
  153. Marrink J «TP(A) or not TP(S): what's the question?» *Tumour Marker Update* 1993;5(4):71-73.
  154. Björklund B. Tumour markers TPA, TPA-S and cytokeratins. A working hypothesis». *Tumor Diagn Ther* 1992; 13:78-80.
  155. Van Dalen A «Significance of cytokeratin markers TPA, TPA(CYK), TPS and CYFRA 21.1 in metastatic disease». *Anticancer Res.*1996;16:2345-2350.
  156. Bodenmuöller H, Donie F, Kaufmann M, Banauch D «The tumor markers TPA, TPS, TPS(CYK) and CYFRA 21.1 react different with the keratins 8, 18 and 19». *Int J Biol Markers* 1994; 9(2):70-74.
  157. Stieber P, Dienemann H, Hasholzner U, Muller C, Poley S, Hofmann K, Fateh-Moghadam A «Comparison of CYFRA 21.1, TPA and TPS as tumour markers in lung cancer». *Eur J Clin Biochem* 1993; 31(10): 689-694.

158. Eskelinen M, Hippelainen M, Salmela E, Partanen K, Pikkarainen P, Penttila I, Alhava E «A prospective study of TPS». *Anticancer Res* 1992;12:2033-2036.
159. Rastel D «Measurement of cytokeratin 19 fragments in serum: clinical application of a tumour marker called CYFRA 21.1.». *Tumour marker update* 1995;7:55-63.
160. Stenman U-H Tumor-associated trypsin inhibitor. *Clin Chem*. 2002 Aug;48(8):1206-9. Review.
161. Kato H Expression and function of squamous cell carcinoma antigen." *Anticancer Res*. 1996 Jul-Aug;16(4B):2149-53. Review.
162. Kato H Recent progress in biology and clinical use of squamous cell carcinoma antigen." *Tumour Marker Update* 1996; 8(6): 177-179. Review.
163. Vassilakopoulos Th, Troupis Th, Sotiropoulou Chr, et al. Diagnostic and prognostic significance of squamous cell carcinoma antigen in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2001, 32: 137-144.
164. Lindblom A, Liljegren A Tumour markers in malignancies" *BMJ* 2000, 320: 424-427.
165. Selby C. Interference in immunoassay." *Ann Clin Biochem*. 1999 Nov;36 ( Pt 6):704-21. Review.
166. Culig Z, Hobisch A, Cronauer MV, Radmayr C, Trapman J, Hittmair A, Bartsch G, Klocker H. Androgen receptor activation in prostatic tumor cell lines by insulin-like growth factor-I, keratinocyte growth factor, and epidermal growth factor." *Cancer Res*. 1994 Oct 15;54(20):5474-8.
167. Immunoassay. Chapter 21 by D.W.Chan, p.133-154, Editors Diamandis και Christopoulos 1996, Academic Press.
168. Δρόσος Γ «Περίληψη Ιατρικής Ανοσολογίας. Β' έκδοση 2005.
169. Coussens LM και Werb Z Inflammation and cancer" *Nature* 2002; 420(19):860-7.
170. Shacter E, Wetzman SA Chronic inflammation and Cancer". *Oncology* 2002; 16(2): p.217.
171. Smyth MJ, Cretney E, Kershaw MH, Haya-kawa Y Cytokines in cancer immunity and immunotherapy" *Immunological Reviews*, 2004; 202(1): p.275.
172. Nagorsen D, Scheibenbogen C, Marincola FM, Letsch A,, Keilholz U Natural T cell immunity against cancer". *Clinical Cancer Research* 2003, 9: 4296-4303.
173. Dranoff G Tumour immunology. Immune recognition and tumour protection. *Current Opinion in Immunology* 2002; 14:161-164.
174. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. editor: Tietz N., 2nd edition 1990, WB Saunders Company, p.400-401.
175. Βαϊόπουλος Γ «C-αντιδρώσα πρωτεΐνη» στο: «Πρωτεΐνες οξείας φάσεως. Κλινικά Φροντιστήρια Ιατρικής Εταιρείας Αθηνών, τόμος 3, τεύχος 3, σ.15-29, 1991, Επιμέλεια Φ.Κακλαμάνης
176. Circulating tumor markers of the new millennium. Target therapy, early detection and prognosis" by James T. Wu. 2002, AACC Press.
177. Murawaki Y, Yamamoto H, Kawasaki H, Shima H «Serum tissue inhibitor of metalloproteinases in patients with chronic liver disease and with hepatocellular carcinoma». *Clin. Chim. Acta* 1993;218(1): 47-58.
178. Garzetti GG, Ciavattini A, Lucarini G, Goteri G, Romanini C, Biagini G «Increased serum 72 kDa MMP in serous ovarian cancer: comparison with CA 125». *Anticancer Res*1996;16(4A):2123-2127.
179. Vaslamatzis MM, Petraki CD, Papatoma A, et al. Matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 as prognostic markers in urothelial carcinoma. *Ann Oncol* 2002, 13 (Supplement 5), page 93, No 334P.
180. Riisbro R, Christensen IJ, Piironen T, Greenall M, Larsen B et al. Prognostic significance of soluble uPAR in serum and cytosol of tumor tissue from patients with primary breast cancer" *Clin Chem* 2002; 8;1132-1141.
181. Vicari AP, Caux C. Chemokines in cancer" *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 2002;13: 143-154.
182. «Κυτταροκίνες στον ορό των νεογνών» Διδ.Διατριβή Ε.Π.Πρωτονοτάριου, 2003, Β'

- Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.
183. Ψαρρά Α. Οι κυτταροκίνες και ο προσδιορισμός τους. Μύθος και πραγματικότητα.» Ενημερωτικό Δελτίο ΕΕΚΧ-ΚΒ, 1999; 11: σ. 3.
  184. Sarandakou A et al. sIL-2R and NSE in small cell cancer." *Anticancer Res*, 1993; 13: 173-176.
  185. Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. The roles of IFN $\gamma$  in protection against tumor development and cancer immunoediting" *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 2002, 13: 95-109.
  186. Balkwill F Tumor necrosis factor or promoting factor?" *Cytokine και Growth Factor Reviews*, 2002; 13: 135-141.
  187. Jelkmann W Pitfalls in the measurement of circulating VEGF." *Clin Chem*, 2001; 47: 617-623.
  188. Mitsuhashi A, Suzuka K, Yamazawa K, et al. Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C levels as tumor markers in patients with cervical carcinoma. *Cancer* 2005, 103(4): 724-730.
  189. Creagh EM, Conroy H, Martin SJ Caspase-activation pathways in apoptosis and immunity" *Immunological Reviews*, 2003; 193(1): p.1.
  190. Xuejun Jiang, Xiadong Wang Cytochrome C-mediated apoptosis" *Annu Rev Biochem*, 2004; 73:87-106.
  191. Καφετζόπουλος Δ. Μικροσυστοιχίες και νέα γονίδια στον καρκίνο» στο: «Καρκινικοί Δείκτες. Στοχευμένη θεραπεία. Επιμέλεια Αγνάντη Ν., Σκάρλος Δ., Ελληνική Εταιρεία Δεικτών Καρκίνου και Στοχευμένης Θεραπείας, 2004 (σε μορφή CD), κεφ.3, σ.30-34.
  192. Sun Z et al. A protein chip system for parallel analysis of multi-tumor markers and its application in cancer detection." *Anticancer Res*, 2004; 24(2C): 1159-1165.
  193. Schrohl AS, Andersen MH, Sweep F, et al. Tumor markers. From laboratory to clinical utility. *Molec Cellular Prot* 2003, 2(6): 378-387.  
(<http://www.mcponline.org/cgi/content/full/2/6/378> accessed 21/4/2005)
  194. McGuire WL. Breast cancer prognostic factors: Evaluation guidelines. *J Natl Cancer Inst* 1991, 83: 154-155.
  195. Andreasen PA, Kjoller L, Christensen L,, Duffy MJ. The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis. A review. *Int J Cancer* 1997, 72: 1-22.
  196. Sweep CG, Geurts-Moespot J, Grebenschikov N, et al. External quality assessment of trans-European multicenter antigen determinations (enzyme-linked immunosorbent assay) of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its type 1 inhibitor (PAI-1) in human breast cancer tissue extracts. *Br J Cancer* 1998, 78: 1434-1441.
  197. Hayes DF, Isaacs C,, Stearns V. Prognostic factors in breast cancer: current and new predictors of metastasis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2001, 6: 375-392.