

Δείκτες Καρκίνου στον ορό: Ένζυμα, Ορμόνες, Αντιγόνα, Πρωτεΐνες, Δείκτες ανοσιακής απάντησης

Λαμπρινή Κυρίου-Μάλλη

Εισαγωγή

Κατά την εξαλλαγή ενός φυσιολογικού κυττάρου σε κακόηθες μεταβάλλεται η γονιδιακή έκφραση ποσοτικά ή/και ποιοτικά. Το καρκινικό κύτταρο που προκύπτει μπορεί να είναι λιγότερο εξειδικευμένο από τον ιστό προέλευσής του και να έχει αποκτήσει **χαρακτηριστικά των χαμηλότερης διαφοροποίησης** εμβρυϊκών κυττάρων, επομένως μπορεί να συνθέτει εμβρυϊκές πρωτεΐνες, μη απαντώμενες φυσιολογικά στον ενήλικα. Ο ρυθμός κυτταρικής ανάπτυξης μεταβάλλεται καθώς αυξάνεται ο μεταβολικός ρυθμός των κυττάρων, ενώ ο έλεγχος της κυτταρικής αύξησης και της παρεμπόδισης εξ επαφής χάνεται και αναπτύσσεται **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 ενισχύσεις (mutations-amplifications) ογκογονιδίων, τροποποιήσεις μικροδορυφορικού DNA, χρωμοσωμιακές μετατοπίσεις, επιγενετικές τροποποιήσεις DNA, DNA από ιούς που σχετίζονται με ανάπτυξη όγκων, μεταλλάξεις μιτοχονδριακού DNA, m-RNA που προέρχονται από ιούς ή από τον όγκο.

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

Κάθε βιομόριο που παράγεται, είτε *απ'ευθείας* από τα κακοήθη κύτταρα, είτε από *τα* καλοήθη, *ως απόκριση* στην παρουσία κακοήθους εξεργασίας και θεωρείται «δείκτης καρκίνου» ΔΚ (tumour marker) εκφράζεται και από τα φυσιολογικά κύτταρα και ιστούς σε άλλοτε άλλο **χρόνο** (έμβρυο, ενήλικας, φάσεις διαφοροποίησης) και **ποσότητα**. Τα βιομόρια αυτά ανευρίσκονται σε διάφορα σωματικά βιολογικά υγρά, φυσιολογικά (ορός, αμνιακό υγρό, γάλα, την τραχηλική βλέννη), αλλά και σε μη κακοήθεις καταστάσεις (κυστικά υγρά, εκχυματικά υγρά, όπως ασκίτικό και πλευριτικό κα.). Επισημαίνεται ότι η πρόσκαιρη αύξηση ΔΚ αποδίδεται σε καλοήθη νοσήματα, ενώ η *συνεχής* και *σταθερή αύξηση των ΔΚ* θέτει την βάσιμη υπόνοια ύπαρξης κακοήθειας.^{1-4a,6a,7a,7b,8,20-23}

Υπό το πρίσμα αυτό, στα πλαίσια του συνόλου «δείκτες καρκίνου», αναγνωρίζουμε²

A. Δείκτες ρυθμού κυτταρικής ανανέωσης (cell turn-over), όπως τα ένζυμα LDH,

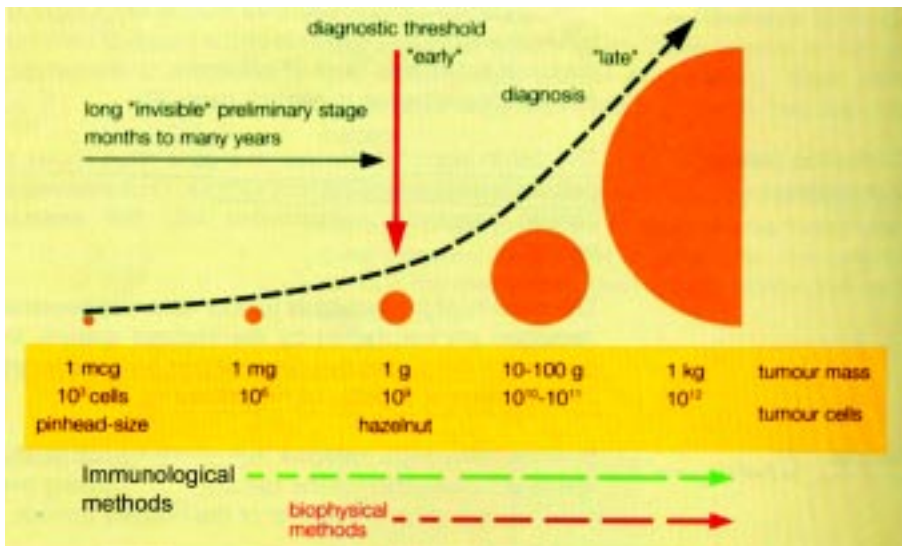
PLAP, CK-BB, GT II, καθώς και το σιαλικό οξύ, την φμπρονεκτίνη και τις πολυαμίνες. Οι δείκτες αυτοί χρησιμεύουν στην εκτίμηση της μάζας του όγκου και στην παρακολούθηση ασθενών με εκτεταμένη νόσο.

Β. Δείκτες διαφοροποίησης, όπως ACP, PSA, HCG, NSE, SCC, 5-HIIA, 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. Ογκοεμβρυικά 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 παρουσίας όγκου.

Δ. Δείκτες τραυματισμού οργάνου και απόκρισης ξενιστή, όπως τα ένζυμα ALP, LDH, γGT καθώς και πρωτεΐνες οξείας φάσης (β2-μικροσφαιρίνη, CRP, φερριτίνη, απτοσφαιρίνη, α2-μακροσφαιρίνη). Οι δείκτες αυτοί αυξάνονται ιδιαίτερα μόνο σε προχωρημένου βαθμού κακοήθεια και είναι ενδεικτικοί παρουσίας κακοήθειας εκεί όπου άλλα αίτια για την αύξησή τους αποκλείονται.

Στην κλινική πράξη έχει παρατηρηθεί ότι η αύξηση των επιπέδων ενός ΔΚ στον ορό (προερχόμενη από μέγεθος όγκου $>10^6$ κύτταρα) μπορεί να προηγείται της τεκμηρίωσης της υποτροπής με τις κλασσικές απεικονιστικές μεθόδους (απεικονιζόμενη από μέγεθος όγκου $>10^9$ κύτταρα) κατά 3-8 μήνες τουλάχιστον (lead-time), με συνέπεια την κινητοποίηση ασθενούς και ιατρού, μολονότι δεν έχει αποδειχθεί ότι η πρώιμη διάγνωση της υποτροπής βελτιώνει την πρόγνωση συγκεκριμένης ομάδος ασθενών²⁴ (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. Ανάπτυξη όγκων και διαγνωστική ανίχνευση μέσω ανοσοχημικών και βιοχημικών μεθόδων. (ενημερωτικό φυλλάδιο Boehringer Mannheim)

Επίσης δεν υπάρχουν έστω δύο τύποι καρκίνου με την ίδια βιολογία και επομένως δεν θα εκφράσουν απαραίτητα τον ίδιο ΔΚ. Κάθε ασθενής είναι δυνατόν να παράγει ένα μοναδικό σχήμα ΔΚ με απολύτως εξατομικευμένο ρυθμό παραγωγής τους. 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 μιας κακοήθειας και δυνατόν να κυμαίνεται σε διαφορετικά επίπεδα από το στατιστικά καθορισμένο ανώτατο επίπεδο τιμών του ΔΚ στους υγιείς. Επομένως, μετά από θεραπεία, ουσιαστικής σημασίας είναι οι κινητικές μεταβολές του ΔΚ σε κάθε ασθενή ξεχωριστά. Για το λόγο αυτό συστήνεται στα εργαστήρια μέτρησης ΔΚ και η δημιουργία τράπεζας δειγμάτων για κάθε ασθενή, ώστε να είναι εφικτή η επαναμέτρηση.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΔΚ ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΓΡΑ

Η παρουσία και η συγκέντρωση ενός ΔΚ στο αίμα σε μία δεδομένη χρονική στιγμή εξαρτάται από μια σειρά στοιχείων⁵:

1. Τον **ολικό αριθμό των κακοήθων κυττάρων που παράγουν τον συγκεκριμένο ΔΚ**, που σχετίζεται με την μάζα του όγκου, την εξάπλωση του όγκου και την σταδιοποίησή του.
2. Την **έκφραση του ΔΚ** από τα κακοήθη κύτταρα. Οι κακοήθεις όγκοι χαρακτηρίζονται συνήθως από ετερογένεια, αποτελούμενοι από υποπληθυσμούς οι οποίοι δεν εκφράζουν όλοι τους ίδιους ΔΚ. Εκεί οφείλεται η παρατηρούμενη ορισμένες φορές μεταβολή του σχήματος των ΔΚ ορού στον ασθενή μετά από θεραπεία, η οποία φαίνεται να υπήρξε αποτελεσματική έναντι ενός κυτταρικού κλώνου κι όχι έναντι ενός άλλου (στον ίδιο όγκο), που συνεχίζει να αναπτύσσεται και να συνθέτει τους δικούς του ΔΚ. Εξ άλλου κατά τις υποτροπές και τις μεταστάσεις όγκων πιθανόν να εμφανισθούν προφίλ έκκρισης ΔΚ εντελώς διαφορετικά από τον πρωτογενή όγκο. Αυτός είναι και ο λόγος που κατά την παρακολούθηση της θεραπείας ή την επιτήρηση των ασθενών για τυχόν εμφάνιση υποτροπής επιλέγονται δύο ή και περισσότεροι ΔΚ^{4f}. (βλ. Πίνακα 1) Ακόμη σε όλες τις παραπάνω περιπτώσεις, όπου είναι δυνατόν να μεταβληθεί το προφίλ έκφρασης των καρκινικών κυττάρων, πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψιν η αντίστοιχη πιθανή μεταβολή στις δυναμικές παραμέτρους των ΔΚ (χρόνος ημιζωής t1/2 και χρόνος διπλασιασμού DT).
3. Το **ύψος και το ρυθμό παραγωγής του ΔΚ** στα κύτταρα.
4. Τον **εντοπισμό του ΔΚ** στα κύτταρα. Τα αντιγόνα επιφανείας της μεμβράνης ή τα μόρια που αποτελούν προϊόντα κυτταρικής έκκρισης ελευθερώνονται ευκολότερα στον εξωκυττάριο χώρο και τα βιολογικά υγρά, ενώ τα μόρια που συνδέονται με ενδοκυττάρια δομές εμφανίζονται στην περιφέρεια μόνο μετά από κυτταρική

Πίνακας 1. Συνδυασμοί ΔΚ χρήσιμοι στην παρακολούθηση του γυναικολογικού καρκίνου

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

νέκρωση.

5. **Τη μεταβολή της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης** που επηρεάζει τον ρυθμό έκκρισης ενός ΔΚ από τα κύτταρα.
6. **Τη δυνατότητα διάβασης των ΔΚ μέσω της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας** (extracellular matrix) ή **της βασικής μεμβράνης** (basal membrane/laminae), δομές που 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 διόδo των ΔΚ στην κυκλοφορία με συνέπεια τα χαμηλά επίπεδά τους στον ορό. Αντίθετα **στους κακοήθεις όγκους** η προκαλούμενη διάβρωση/λύση της βασικής μεμβράνης, λόγω των διηθητικής ικανότητάς τους, οδηγεί στην εμφάνιση υψηλών επιπέδων ΔΚ στον ορό. Όπου υπάρχει **ασκίτης** τα επίπεδα των ΔΚ, και κυρίως του CA 125, στον ορό είναι ιδιαίτερα αυξημένα ανεξάρτητα από καλοήθεια ή κακοήθεια, διότι στον ασκίτη τα κύτταρα δεν περιβάλλονται από βασική μεμβράνη
7. **Τον βαθμό αγγείωσης** του ιστού όπου εντοπίζεται ο όγκος. Πχ. παρουσία ηπατικών μεταστάσεων τα επίπεδα των ΔΚ είναι σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με εντοπισμό μεταστάσεων σε άλλα όργανα.
8. **Τη διαδικασία μεταβολισμού του ΔΚ**, δηλ. τον τρόπο και τον ρυθμό κάθαρσης και τελικής απομάκρυνσής του από την κυκλοφορία²⁰. Η ύπαρξη νεφρικής ανεπάρκειας, ηπατικής δυσλειτουργίας ή χολοστάσεως δίδει αφορμή για δυσανάλογα υψηλές συγκεντρώσεις ΔΚ και μεταβάλλει τα κινητικά του δεδομένα (t1/2 και DT).
9. **Τον χρόνο ημιζωής του ΔΚ**, που εξαρτάται από το μέγεθος του μορίου, τα βιοχημικά του χαρακτηριστικά, τον τρόπο μεταβολισμού του, καθώς και τις μεταβολές στην έκφρασή του και είναι χαρακτηριστικός για κάθε δείκτη.
10. **Την ταχύτητα ανάπτυξης του όγκου** (ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού). Πχ. Η δραστηριότητα του ενζύμου κινάση της θυμιδίνης (TK), που είναι δείκτης κυτταρικού διπλασιασμού, είναι ιδιαίτερα αυξημένη σε περιπτώσεις όγκων με μεγάλη ταχύτητα ανάπτυξης.
11. **Την έκταση νέκρωσης 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 αύξησης του ρυθμού κυτταρικής ανανέωσης, αλλά πολύ περισσότερο στις περιπτώσεις ακτινοθεραπείας ή κυτταροτοξικής θεραπείας.
12. **Τα βιολογικά δεδομένα κάθε ασθενή**, που περιλαμβάνουν τα γενετικά/κληρονομικά και φυλετικά χαρακτηριστικά, το φύλο και την ηλικία (γήρανση) του ασθενή, τις συνθήκες διαβίωσης και διατροφής του, τις συνήθειες εξάρτησης που έχει αποκτήσει κλπ.

Κάθε παράγων που επιδρά στα προαναφερθέντα δεδομένα είναι δυνατόν να επηρεάσει σημαντικά τα επίπεδα συγκέντρωσης του δείκτη. Εφόσον δε η ερμηνεία των παρεχομένων αποτελεσμάτων δεν αφορά μόνο θετικότητα ή αρνητικότητα της παρουσίας του όγκου, αλλά αφορά τη σχέση των ποσοτικών αποτελεσμάτων με μια σειρά κλινικών εκδηλώσεων, είναι απαραίτητη η γνώση των συνθηκών που θα αποθούν αποφασιστικές για μια ορθή ερμηνεία.

A. Ένζυμα, Ορμόνες, Αντιγόνα, Πρωτεΐνες.

1. Ενζυμα – Αναστολείς Ενζύμων

Κλασσικά ένζυμα - Ισοένζυμα (ACP, ALP, LD, γ-GT, CK)^{1,2,6γ,10, 25,26}

Τα ένζυμα του πλάσματος είναι, είτε λειτουργικά με φυσιολογικά υψηλή συγκέντρωση (θρομβίνη, πλασμίνη, λιποπρωτεϊνική λιπάση), είτε μη λειτουργικά αναφορικά με το πλάσμα και χαμηλής συγκέντρωσης. Τα τελευταία είναι ιδιαίτερα σημαντικά στα νοσήματα ιστών και οργάνων, υπήρξαν δε από τις πρώτες παραμέτρους που μελετήθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν ως δείκτες καρκίνου. Έχει δειχθεί ότι η εμφάνιση κακοήθειας συνοδεύεται από αύξηση της συγκέντρωσης γλυκολυτικών κι άλλων ενζύμων στον ορό, η οποία μάλιστα είναι ανάλογη της μάζας του όγκου. Οιαδήποτε αύξηση των ενζύμων LD, ALP, CK, γGT, AMY στον ορό οδηγεί σε εκτεταμένη έρευνα παρουσίας νόσου, κακοήθους ή μη. Η απομόνωση ισοενζυμικών μορφών των ενζύμων- οι οποίες σχετίζονται με την διαφοροποίηση - συνετέλεσε στην βελτίωση της αξίας τους ως ΔΚ.

Όξινη προστατική φωσφατάση (ACP)². Σημαντικές ποσότητες του ενζύμου απαντώνται στο ήπαρ, τους νεφρούς, τα ερυθροκύτταρα, τα λευκοκύτταρα, τα αιμοπετάλια, τους οστεοκλάστες, το ανθρώπινο γάλα, το σπέρμα και τον προστατικό αδένα. Εκτός των ερυθροκυττάρων, όπου το ένζυμο είναι εξωλυσοσωμικό, στα υπόλοιπα κύτταρα είναι κύρια λυσοσωμικό. Η συγκέντρωση της ACP στον προστάτη είναι ~1000 φορές μεγαλύτερη εκείνης των άλλων ιστών, στους άνδρες δε ο προστάτης συνεισφέρει το 1/3 έως και 1/2 της συνολικής δραστηριότητας του ενζύμου στον ορό. Το υπόλοιπο θεωρείται ότι προέρχεται από αποσυντιθέμενα αιμοπετάλια, ερυθροκύτταρα, λευκοκύτταρα και οστεοκλάστες και αφορά και τα δύο φύλα. Τα δεδομένα αυτά εξηγούν το ενδιαφέρον για την δραστηριότητα ACP στον ορό σε σχέση με τις δυσλειτουργίες του προστάτη, αφού η πρώτη αναφορά μέτρησης του ενζύμου στον ορό ασθενών με καρκίνο προστάτη έγινε το 1938 από τους Gutman και Gutman. Τόσο η ολική ACP ορού, όσο και το προστατικό ισοένζυμό της αυξάνονται σε αδενοκαρκίνωμα προστάτη, προχωρημένου σταδίου (C και D) και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για προληπτικό έλεγχο ή διαγνωστικά (εξαιρέσιμοι όγκοι σταδίων A και B). Οι ανοσοχημικές μέθοδοι προσδιορισμού του προστατικού ισοενζύμου, παρ'ότι 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 ACP, οφειλόμενη στο ισοένζυμο των οστεοκλαστών. Επίσης σε ασθενείς με ορισμένα κακοήθη νοσήματα του αιμοποιητικού (χρόνια μυελογενής λευχαιμία, οξεία ή χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, λευχαιμία τριχωτών κυττάρων και πλασματοκυτταρικό μύελωμα) παρατηρείται αύξηση της λυσοσωμικής ACP, που θα μπορούσε να χρησιμεύσει στην παρακολούθηση της θεραπείας αυτών των ασθενών. Η ολική ACP χάνει το 1/2 της δραστηριότητάς της σε 1 ώρα παραμονής σε θερμοκρασία δωματίου και πρέπει να αναλυθεί το δείγμα άμεσα ή να οξινοσθεί και καταψυχθεί. Ο διαχωρισμός και προσδιορισμός του προστατικού ισοενζύμου γίνεται, είτε ενζυμικά με χρήση αναστολέων της μη προστατικής δραστηριότητας (τρυγικά ιόντα), είτε ανοσοχημικά (RIA, EIA).

Αλκαλική φωσφατάση (ALP)². Η ALP είναι ένζυμο συνδεδεμένο με την κυτταρική μεμβράνη και επομένως 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 σωληνάρια, 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 αληθή γενετικά καθορισμένα ισοένζυμα είναι τέσσερα, το *μη ειδικό των ιστών* -tissue nonspecific-(ηπατικό, οστικό και νεφρικό, καθένα με διαφορετικό βαθμό γλυκώσης), το *εντερικό*, το *πλακουντιακό*, και εκείνο *των γεννητικών κυττάρων* (όρχεων, θύμου και πνεύμονα). Στον πνεύμονα η ALP έχει εντοπισθεί στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και στα πεταλιώδη σωμάτια των βρογχοεπιθηλιακών κυττάρων τύπου II.

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

Αύξηση του ηπατικού ισοενζύμου παρατηρείται στους κίρρωτικούς ασθενείς και σ'εκείνους με πρωτοπαθή και μεταστατικό καρκίνο ήπατος. Στους τελευταίους μπορεί να εμφανισθεί και ταχύ ηπατικό κλάσμα. Το 1968 βρέθηκε από τον Fishman σε ορό ασθενών με βρογχικό καρκίνωμα ένα ισοένζυμο με εντυπωσιακή ομοιότητα προς το πλακουντιακό, που ονομάστηκε *ισοένζυμο Regan*. Το ισοένζυμο αυτό έχει βρεθεί και στον ορό ασθενών με καρκίνο μαστού, ωοθηκών 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, του χοληφόρου πόρου και με μεταστάσεις στον υπεζωκότα. Επίσης το *ισοένζυμο Kasahara*, έχει βρεθεί σε ορούς καρκινοπαθών. 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 τη χρήση ειδικών αντιορών έναντι των αληθών ισοενζύμων. Το οστικό κλάσμα αυξάνεται όταν υπάρχουν οστικές μεταστάσεις ή όγκοι στα οστά. Παρουσία εντερικού παρατηρείται σε άτομα με αλλοιώσεις του λεπτού εντέρου ή στους εκκρίνοντες τύπους ομάδας αίματος Β ή 0, ιδιαίτερα μετά από λιπαρό γεύμα.

Γ-Γλουταμυλο τρανσφεράση (γ-GT)²⁷. Η γ-GT είναι το μοναδικό ένζυμο που διασπά την ανέπαφη γλουταθειόνη μεταφέροντας μια γ-γλουτάμυλο-ομάδα σε άλλο πεπτίδιο ή αμινοξύ. Εντοπίζεται στην κυτταρική μεμβράνη και στο μικροσωμικό κλάσμα. Ιστοί πλούσιοι σε γ-GT είναι κύρια οι νεφροί και λιγότερο το πάγκρεας και το ήπαρ. Το ένζυμο ευρίσκεται στις μεμβράνες εκείνων των κυττάρων που χαρακτηρίζονται από υψηλή εκκριτική ή απορροφητική ικανότητα, όπως τα εγγύς εσπειραμένα σωληνάρια, ο λοβιώδης παγκρεατικός ιστός, τα παρεγχυματικά κύτταρα του ήπατος και το επιθήλιο των χοληφόρων πόρων. Στον ορό η δραστηριότητα του ενζύμου έχει ηπατοχολική προέλευση. Η διαφορά φυσιολογικών τιμών μεταξύ ανδρών και γυναικών αποδίδεται εν μέρει στα υψηλά επίπεδα του ενζύμου στον προστάτη. Ο καρκίνος του προστάτη είναι δυνατόν να προκαλέσει αύξηση της γ-GT στον ορό. Η γ-GT θεωρείται ο πλέον ευαίσθητος δείκτης ηπατοχολικής νόσου (85-99%). Υψηλά επίπεδα του ενζύμου συναντώνται σε πρωτοπαθή ή μεταστατικά νοσήματα του ήπατος. Η παρατηρούμενη αύξηση εμφανίζεται όχι μόνο ενωρίτερα από εκείνη των άλλων ενζύμων (SGOT, SGPT, ALP, 5'N), αλλά προηγείται και της μαρτυρίας των απεικονιστικών εξετάσεων. Επίσης το ύψος της αύξησης της γ-GT είναι ανάλογο τόσο του ρυθμού ανάπτυξης ενός μεταστατικού όγκου, όσο και της θέσης και του μεγέθους του. Σημαντική είναι η συνεισφορά της γ-GT στην διάγνωση του καρκίνου της κεφαλής του παγκρέατος που συνοδεύεται από

αποφρακτικό ίκτερο. Στην περίπτωση αυτή η αύξηση του ενζύμου μπορεί να κυμανθεί σε επίπεδα 10-20 φορές άνω του φυσιολογικού.

Η γ-GT εμφανίζει πολλαπλότητα μορφών, που όμως είναι προϊόντα μετα-μεταφραστικής τροποποίησης και όχι αληθή ισοένζυμα. Οι κυριότερες μορφές είναι η α1-γGT (μικροσωμικό κλάσμα ηπατικής προέλευσης - αύξηση κατά την εξωηπατική χολόσταση), η α2-GT (ηπατικού παρεγχύματος - αύξηση κατά την ενδοηπατική χολόσταση) και η β-GT (αύξηση παρουσία όγκων και ικτέρου) και εντοπίζονται στην ηλεκτροφόρηση στην περιοχή των α1-, α2- και β-σφαιρινών αντίστοιχα. Σε ασθενείς με ηπατώματα έχει ανιχνευθεί και μια ζώνη στην ηλεκτροφόρηση ακρυλαμιδίου με μεγάλη περιεκτικότητα σε σιαλικό οξύ και σημαντική ομοιότητα με την εμβρυϊκή ηπατική γ-GT. Έχει δείχθει ότι η υπερεκφραζόμενη από τα νεοπλασματικά ηπατοκύτταρα γ-GT σχηματίζει σύμπλοκα με τις λιποπρωτεΐνες LDL και VLDL. Μάλιστα τα σύμπλοκα με την LDL εμφανίζονται στον ορό ως συνέπεια της χολικής διαταραχής, που είναι τυπική για το νεοπλασματικό ήπαρ, και αποτελούν την γ-GTL ισομορφή, η οποία έχει υψηλή διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα (80-90%) στην διάγνωση μικρών ηπατοκυτταρικών καρκίνων.

Γαλακτική Αφυδρογονάση (LD)^{2,28,29}. Η LD είναι κυτταροπλασματικό ένζυμο και καταλύει την αντιστρεπτή οξειδωση του γαλακτικού οξέος σε πυροσταφυλικό στον κύκλο της γλυκόλυσης. Η LD συνδέθηκε με το φαινόμενο της κακοήθειας από τις παρατηρήσεις του Warburg (1923) σχετικά με την αύξηση της αναερόβιας γλυκόλυσης στους όγκους, φαινόμενο που κατά τις σύγχρονες απόψεις αποτελεί συνέπεια της αύξησης του ρυθμού ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων και της ανισομέρειας μεταξύ παροχής οξυγόνου και των απαιτήσεων αυτής της αποδιοργανωμένης ανάπτυξης. Η συγκέντρωση του ενζύμου είναι δυνατόν να αυξηθεί έως και 40 φορές άνω του φυσιολογικού στον ορό ασθενών είτε με εκτεταμένο όγκο της κοιλιακής χώρας ή των πνευμόνων, είτε με μεταστατικό καρκίνο. Αντίθετα σε ασθενείς με εντοπισμένους όγκους τα επίπεδα της LD είναι συχνά φυσιολογικά. Στη νόσο του Hodgkin παρατηρείται εντυπωσιακή αύξηση των επιπέδων της LD ορού, στην μυελογενή και την οξεία λευχαιμία μέτρια αύξηση, ενώ στην λεμφοκυτταρική τα επίπεδά της παραμένουν φυσιολογικά, εκτός αν συνοδεύεται από αιμολυτικά φαινόμενα.

Ως γνωστόν το μόριο της LD είναι τετραμερές, αποτελούμενο από συνδυασμό των υπομονάδων H (Heart/καρδιά) και M (Muscle/μυς), που είναι προϊόντα δύο διαφορετικών γονιδίων. Επομένως τα αληθή ισοένζυμα είναι 5 με σειρά φθίνουσας ηλεκτροφορητικής κινητικότητας, **LD1**(H₄) πλούσιο στο μυοκάρδιο, στα ερυθροκύτταρα, στους νεφρούς, στα γεννητικά κύτταρα, **LD2**(H₃M) ομοίως εκτός των γεννητικών κυττάρων, **LD3**(H₂M₂) πλούσιο στους πνεύμονες και άλλους ιστούς, **LD4**(HM₃) πλούσιο στα λευκοκύτταρα, λεμφοζίδια, μύες, ήπαρ **LD5**(M₄) πλούσιο στο ήπαρ και τους σκελετικούς μύες. Η κακοήθεια συνδέεται με μεταστροφή προς την έκφραση των βαρέων/ηλεκτροφορητικά καθοδικών εμβρυονικών και αναερόβιων ισοενζύμων LD4 και LD5. Σε ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο ήπατος ή με ηπατικές μεταστάσεις παρατηρείται αύξηση του ισοενζύμου LD5 στον ορό. Το ισοένζυμο LD1 αυξάνεται στον ορό ασθενών με καρκίνο γεννητικών κυττάρων (τεράτωμα, σεμίνωμα όρχεος, δυσγερμίνωμα ωθηκών). Σε 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.

Κρεατινοκινάση (CK)². Η κρεατινοκινάση καταλύει την αντιστρεπτή φωσφορυλίωση

της κρεατίνης από το ATP. Ιστοί πλούσιοι σε CK είναι εκείνοι με μεγάλες και κυμαινόμενες ενεργειακές απαιτήσεις, όπως οι σκελετικοί μύες, το μυοκάρδιο, ο εγκέφαλος, ο αμφιβληστροειδής και τα σπερματοζώαρια. Το μόριο του ενζύμου είναι διμερές, αποτελούμενο από δύο υπομονάδες, τα πολυπεπτίδια M και B (όπου: M=muscle/μυς και B=brain/εγκέφαλος), τα οποία είναι προϊόντα δύο διακριτών γονιδίων. Συνεπώς προκύπτουν 3 αληθή ισοένζυμα, το MM, το MB και το BB. Έχει επίσης ταυτοποιηθεί και ένας τέταρτος τύπος CK, το μιτοχονδριακό Mi-CK, που εμφανίζεται σε δύο ισομορφές, την ευρείας κατανομής Mi-CK και την σαρκομεριδιακή Mi-CK, που εντοπίζονται στον μιτοχονδριακό διαμεμβρανικό χώρο και σχηματίζουν αλληλομετατρέπομενα διμερή και οκταμερή. Η αναλογία του Mi-CK φαίνεται να συσχετίζεται με την οξειδωτική ικανότητα των γραμμωτών μυών, είναι δε υψηλότερη στο μυοκάρδιο από τους ταχέως συσπώμενους σκελετικούς μύες. Η παρουσία του Mi-CK στον ορό 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. Εν τούτοις αύξηση των επιπέδων του CK-BB στον ορό εμφανίζεται σε ασθενείς με καρκίνο νεφρού, ουροδόχου κύστεως, ωθηκών, μαστού, μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα και ιδιαίτερα σ' εκείνους με καρκίνο προστάτη προχωρημένου σταδίου.

Γαλακτοζυλοτρανσφεράση (GT)². Οι γαλακτοζυλοτρανσφεράσες είναι ένζυμα που καταλύουν την προσθήκη σακχάρων κατά την σύνθεση των γλυκοπρωτεϊνών και των γλυκολιπιδίων, μακρομόρια που είναι συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών. Έχει παρατηρηθεί αύξηση των επιπέδων του ισοενζύμου GT II στο 60-70% των ασθενών με καρκίνο πεπτικού, παγκρέατος, μαστού, και πνεύμονα. Το 1981 βρέθηκε από τον Rodolski ότι η GT II εμφανίζεται αυξημένη στο 70% των ασθενών με καρκίνο παγκρέατος, ενώ μόνο το 1.7% των ασθενών με καλοήθεις διαταραχές παρουσιάζει την εικόνα αυτή. Επομένως η GT II είναι δυνατόν να χρησιμεύσει στη διάκριση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων νοσημάτων του παγκρέατος, ιδιαίτερα σε συνδυασμό με απεικονιστικές τεχνικές.

Κινάση της θυμιδίνης (TK)^{30a}. Η TK καταλύει την μετατροπή της θυμιδίνης (dT) σε μονοφωσφορική θυμιδίνη (dTMP) σε μία ATP-εξαρτώμενη αντίδραση. Έχουν αναφερθεί δύο ισοένζυμα, το κυτοσολικό TK1 και το μιτοχονδριακό TK2. Η TK1 συνδέεται με τον κυτταρικό κύκλο, αυξανόμενη απότομα κατά το τέλος της G1-φάσης και την αρχή της S-φάσης, ενώ μειώνεται στην G2 και δεν ανιχνεύεται στην M-φάση. Η TK1 ευρίσκεται υπό αυστηρή ρύθμιση σε μεταγραφικό και μετα-μεταγραφικό επίπεδο και τα επίπεδά του TK1 mRNA επηρεάζονται από παράγοντες όπως οι: E2F, μεγάλο T-αντιγόνο του ιού πολυώματος, και πιθανά από τα c-myc, h-ras και p21. Αντίθετα η έκφραση και δραστικότητα της TK2 είναι σταθερή και ανεξάρτητη από τον κυτταρικό κύκλο. Στον ορό καρκινοπαθών έχει ταυτοποιηθεί ένα μεγάλο φάσμα πρωτεϊνικών συμπλόκων - όσον αφορά το μέγεθος - με δραστικότητα TK (s-TK), των οποίων η σταθερότητα διέφερε σημαντικά από εκείνη της TK1 που προήλθε από απομόνωση κυτταρικών εκχυλισμάτων (cytosol).

Θεωρείται ισχυρό προγνωστικό εργαλείο για πολλούς τύπους κακοήθειας, παρ'ότι δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητοί οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί της TK. Αύξηση των επιπέδων της s-TK σχετίζεται με ποικίλες κακοήθειες του αιμοποιητικού, για τις οποίες χαρακτηρίζεται αξιόλογη διαγνωστική και προγνωστική παράμετρος. Σημαντική είναι η

χρησιμότητά της στην αντιμετώπιση του μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (πρόγνωση έκβασης μεμονωμένων περιστατικών, πρόβλεψη έκτασης νόσου, επιτήρηση). Αναφορικά με τον καρκίνο προστάτη, ο συνδυασμός s-TK με το PSA έχει αναφερθεί ότι μπορεί να διακρίνει μεταξύ εντοπισμένης νόσου και μετάστασης στο 90% των μελετηθέντων ασθενών. Στον καρκίνο μαστού υψηλά επίπεδα του δείκτη s-TK συσχετίζονται με πρώιμα στάδια μετάστασης.

Ειδική Νευρωνική Ενολάση NSE-Neuron specific enolase^{1,2,3,6γ,8,11}

Η NSE είναι γλυκολυτικό ένζυμο (2-φωσφο-D-γλυκερική υδρολάση EC4.2.1.11), που πρωτοπεριγράφηκε το 1965 από τους Moore και McGregor το οποίο καταλύει την ενδομετατροπή του 2-φωσφογλυκερικού και του φωσφοενολπυροσταφυλικού. Απαντάται σε μορφή διμερών ισοενζύμων (ομο- και ετεροδιμερών), αποτελουμένων από 3 ανοσολογικά διακριτές υπομονάδες, τις **α**, **β**, **γ**. Η **α**-υπομονάδα ευρίσκεται σε πολλούς ιστούς, η **β**-υπομονάδα επικρατεί στους μυς, ενώ η **γ**-υπομονάδα ευρίσκεται φυσιολογικά - ως διμερές αγ ή γγ - μόνο στους νευρώνες και στους περιφερικούς νευροενδοκρινείς ιστούς, ιδιαίτερα της σειράς κυττάρων APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation). Ως εκ τούτου το διμερές **γγ** ονομάζεται ειδική νευρωνική ενολάση (**NSE**), ενώ το διμερές **αα** είναι γνωστό σαν μη νευρωνική ενολάση (**NNE**). Οι δοκιμασίες ανοσοπροσδιορισμού της NSE με μονοκλωνικά αντισώματα που κυκλοφορούν στην αγορά αναγνωρίζουν και το ομο-και το ετεροδιμερές (αγ, γγ).

Η NSE εκφράζεται σε όγκους νευροεξωδερμικής προέλευσης, όπως ο μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα, το νευροβλάστωμα, το μελάνωμα, καρκινοειδείς όγκοι του εντέρου, παγκρεατικοί ενδοκρινικοί όγκοι, ορισμένοι όγκοι του προστάτη και το μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς. Υπενθυμίζεται ότι τα νευροενδοκρινή κύτταρα χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός ή περισσότερων από τα παρακάτω μόρια: ορμονικά πεπτίδια και αμίνες σε εκκριτικά κοκκία, χρωμογρανίνες, ειδική νευρωνική ενολάση, ισοένζυμο BB της κρεατινοκινάσης, αντιγόνο leu-7, πρωτεΐνη 7B2.

Καμία συσχέτιση δεν έχει παρατηρηθεί μεταξύ των επιπέδων της NSE στον καρκινικό ιστό και της συγκέντρωσής της στην κυκλοφορία. Θεωρείται ότι η NSE, που είναι κυτταροπλασματικό ένζυμο, δεν εκκρίνεται στον εξωκυττάριο υγρό από το ίδιο το κύτταρο, αλλά μάλλον ελευθερώνεται στη κυκλοφορία κατά την κυτταρική καταστροφή. Έτσι η παρουσία της NSE στον ορό σχετίζεται με υψηλό ρυθμό κυτταρικού θανάτου των κυττάρων νευροενδοκρινούς διαφοροποίησης. Το φαινόμενο αυτό χαρακτηρίζει τα κακοήθη κύτταρα που παράγουν το ένζυμο, αλλά όχι τα φυσιολογικά κύτταρα με υψηλά επίπεδα NSE.

Ο ρόλος της NSE, ως δείκτη καρκίνου έχει εστιασθεί κυρίως στους ασθενείς με νευροβλάστωμα και μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (ΜΚΚΠ), όπου η μέτρηση της NSE στον ορό παρέχει πληροφορίες σχετικά με την έκταση της νόσου, την πρόγνωση του ασθενούς και την απόκρισή του στην θεραπεία.

Η NSE μπορεί να συνεισφέρει στη διαφορική διάγνωση του νευροβλαστώματος, διότι έχει βρεθεί ότι οι τιμές NSE ορού στην πλειονότητα των ασθενών με νευροβλάστωμα είναι >100 ng/ml, ενώ στον όγκο του Wilms και στον καρκίνο των νεφρών συνήθως είναι <100 ng/ml. Αύξηση των επιπέδων της NSE στον ορό παρατηρούνται επίσης σε καρκίνο των νεφρών, των κυττάρων Merkel, σε καρκινοειδείς όγκους, σε φαιοχρωμοκύττωμα, σε μελάνωμα, σε μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς, σε καρκίνο του προστάτου και σε ωρισμένους όγκους των γεννητικών κυττάρων. Μάλιστα σε

μία μελέτη ευρέθη ότι η ευαισθησία και ειδικότητα της NSE για το σεμίνωμα είναι της ίδιας τάξεως με εκείνες της HCG⁷⁶.

Στον μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα έχει δειχθεί ότι η NSE, μαζί με την αλβουμίνη του ορού, είναι μεταξύ των καλύτερων προγνωστικών δεικτών επιβίωσης. Αυξημένα ποσά της NSE έχουν ευρεθεί στο 52-85% των ασθενών με ΜΚΚΠ, ενώ μόνο στο 4-38% των ασθενών με μη ΜΚΚΠ. 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 επιτήρηση ασθενών με καλή πρόγνωση και όγκους χαμηλού ρυθμού ανάπτυξης

Ειδικό Προστατικό Αντιγόνο - PSA

Η εισαγωγή το 1986 της εξέτασης PSA στον εργαστηριακό έλεγχο έφερε σημαντικότερες αλλαγές στην αντιμετώπιση ασθενών με καρκίνο προστάτη (ΚΑΠ)³¹, δίνοντας τη δυνατότητα της διάγνωσης του ΚΑΠ σε πρωιμότερο στάδιο, αλλά και σε περισσότερους ασθενείς νεώτερης ηλικίας. Εν τούτοις δεν έχει ακόμη τεκμηριωθεί κατά πόσον η χρήση του PSA έχει συντελέσει στην μείωση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας λόγω ΚΑΠ. Η αύξηση του PSA στον ορό, δηλ. η «βιοχημική» επιδείνωση στον ΚΑΠ προπορεύεται της κλινικοπαθολογικά τεκμηριωμένης επιδείνωσης κατά αρκετούς μήνες. Αντίθετα, είναι σπάνια η κλινική επιδείνωση, χωρίς παράλληλη αύξηση της συγκέντρωσης του PSA στον ορό³².

Βιοχημικά, μοριακά χαρακτηριστικά και εντοπισμός PSA

Από βιοχημική άποψη το PSA είναι **γλυκοπρωτεΐνη μονής αλύσεως**, ΜΒ περίπου 34 kDa, με **δραστικότητα προσόμοια της χυμοθρυψίνης και της θρυψίνης**. Το γονίδιο του PSA (hKLK₃) ανήκει στην οικογένεια γονιδίων των καλλικρεϊνών ανθρώπινου ιστού (hKLK₁ παγκρεατική/νεφρική καλλικρεΐνη, hKLK₂ αδενική καλλικρεΐνη, hKLK₃ ειδικό προστατικό αντιγόνο)^{31,33}. Οι καλλικρεΐνες είναι πρωτεάσες σερίνης και συμμετέχουν στη μετα-μεταφραστική τροποποίηση διαφόρων προδρόμων πολυπεπτιδίων στις βιοδραστικές μορφές τους. Η καλλικρεΐνη hK₁ εκφράζεται στους σιελογόνους αδένες, στο πάγκρεας, και στους νεφρούς. Η hK₂ (hGK-1) εκφράζεται στον προστατικό ιστό και μάλιστα το hK₂-mRNA είναι περίπου 10-50% του hK₃ (PSA)-mRNA, θεωρείται δε ότι υπάρχει σε σημαντική ποσότητα και στο σπερματικό υγρό. Στον ορό η συγκέντρωση της hK₂ συνήθως είναι <3% της συγκέντρωσης του PSA. **Η hK₃ (PSA) εκφράζεται κύρια από τα κυλινδροειδή επιθήλια του προστάτη**. Τα επιθήλια δε του φυσιολογικού και του καλοήθους υπερπλαστικού προστατικού ιστού παράγουν περισσότερο PSA από εκείνα του κακοήθους.

Η συγκέντρωση του PSA στο σπέρμα είναι της τάξεως 10⁶ μg/L. Υπεισέρχεται στην ρευστοποίησή του μέσω πρωτεόλυσης των πρωτεϊνών του σπερματικού πύγματος (σεμινοζελίνες I, II και φμπρονεκτίνη) διευκολύνοντας έτσι την απελευθέρωση των σπερματοζωαρίων. Η συγκέντρωσή του στον ορό υγιών ανδρών είναι κάτω του 4 ng/ml.

Το PSA, έχει εντοπιστεί σε ίχνη, είτε με ανοσοϊστοχημεία, είτε με RT-PCR, είτε με υπερεισθητές ανοσοφθορισμομετρικές μεθόδους, τόσο σε ιστούς, εκτός του προστάτη, όσο και σε σωματικά υγρά^{31,33,34,35,36}.

Μοριακές μορφές και σύμπλοκα του PSA

Παρά την έλλειψη άμεσων πειραματικών αποδείξεων, θεωρείται ότι το γονίδιο του PSA (hKLK₃)³¹ μεταφράζεται στο προστατικό επιθήλιο σε μία αδρανή πρόδρομη μορφή, το **pre-pro-PSA**, το οποίο κατά τη δίοδό του από τη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου μετατρέπεται στο **ζυμογόνο pro-PSA** (Πίνακας 2). 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 (fPSA)**, η οποία ελευθερώνεται στο σπέρμα ή διαφεύγει στην κυκλοφορία.

Πίνακας 2. 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

Η α₁-αντιχυμοθρυψίνη (ACT) και η α₂-μακροσφαιρίνη (MG) σχηματίζουν τα **κύρια σύμπλοκα** PSA-ACT (70-90% του tPSA) και PSA-MG, ενώ ο αναστολέας της C-πρωτεΐνης (PCI), της ιντερ-α-θρυψίνης (ITI) και της α₁-αντιθρυψίνης σχηματίζουν **ελάσσονα σύμπλοκα σε ίχνη**. Το κύριο σύμπλοκο PSA-MG δεν εμφανίζει ανοσοδραστικότητα PSA διότι η MG κυριολεκτικά ενθυλακώνει το PSA. Ως εκ τούτου τα τρέχοντα εμπορικά kits ανοσοπροσδιορισμού PSA μπορούν να μετρήσουν μόνο fPSA και PSA-ACT.

Στον ορό το fPSA (10-30% του **ολικού PSA-tPSA**-του ορού) είναι εξ ολοκλήρου ανενεργό, διότι τη δραστική μορφή του δεσμεύουν ορισμένοι αναστολείς πρωτεΐνασών σερίνης. Επισημαίνεται ότι στα προστατικά κύτταρα το fPSA αποτελεί το κύριο κλάσμα, ενώ οι σύμπλοκες μορφές είναι <2% του tPSA. Το μεγαλύτερο ποσό του fPSA στον ορό αποτελείται κυρίως από τρεις διακριτές μορφές^{37,38}: το pro-PSA, το intact PSA (ανέπαφο ενζυμικά ανενεργό fPSA) και το bPSA (benign PSA), που αποτελεί μια μερικά αποικοδομημένη μορφή του PSA που εμφανίζει υψηλή συσχέτιση με την ΚΥΠ.

Αναφορικά με την μέτρηση tPSA, συνιστάται η χρήση ανοσοαναλύσεων, οι οποίες ανιχνεύουν τις ανοσολογικά ανιχνεύσιμες μορφές PSA σε ισομοριακή βάση (**equimolar assays**), δηλ. τα χρησιμοποιούμενα αντισώματα αναγνωρίζουν ισοδύναμα το ελεύθερο και το δεσμευμένο PSA. Η δυνατότητα χρήσης ισομοριακών δοκιμασιών αποδεδειγμένα βελτιώνει την διαγνωστική ικανότητα της εξέτασης.

Παράγωγες παράμετροι του PSA

Το γεγονός ότι η απελευθέρωση του PSA στην κυκλοφορία δεν οφείλεται ειδικά

στα κακοήθη κύτταρα του προστάτη, αν και θεωρείται ιστοειδικός δείκτης, θέτει εξ αρχής περιορισμούς τόσο στη χρήση του PSA στην ανίχνευση πρώιμων όγκων μικρού μεγέθους, όσο και στη διάκριση μεταξύ καλοήθους υπερπλασίας και ίσκιων ΚΑΠ αρχικού σταδίου. Το «μειονέκτημα» αυτό του PSA οδήγησε αφ'ενός σε ανάπτυξη νέων παραμέτρων, παραγώγων του PSA (π.χ. PSAD, PSAV κ.ά.)³⁹ και αφ'ετέρου στη λεπτομερή μελέτη των μοριακών μορφών του PSA (fPSA, cPSA, ισοένζυμα fPSA)⁴⁴ σε σχέση με τον ΚΑΠ.

Οι νέες προσεγγίσεις του PSA μπορούν να διακριθούν σε **στατικές** - χαρακτηρίζουν ένα συγκεκριμένο χρονικό σημείο - όπως η πυκνότης PSA (PSAD συγκέντρωση PSA/όγκο προστατικού αδένου), το PSA χαρακτηριστικό ηλικίας (PSA-ASRR), ο λόγος ελεύθερου προς συνολικό PSA (f/t PSA), τα ισοένζυμα PSA και **δυναμικές** - χαρακτηρίζουν παρακολούθηση ασθενών επί μία χρονική περίοδο - όπως η ταχύτης PSA (PSAV), ο χρόνος διπλασιασμού PSA (PSADT), ο χρόνος υποδιπλασιασμού PSA (PSAt $1/2$)³².

Έχει δειχθεί ότι οι ασθενείς με καλοήγη υπερπλασία προστάτη (ΚΥΠ) εμφανίζουν στον ορό υψηλότερα ποσά fPSA από εκείνους με ΚΑΠ, σε σχέση με το συνολικό PSA (tPSA). Επομένως **ο λόγος f/t PSA παρουσιάζει χαμηλότερες τιμές σε ασθενείς με ΚΑΠ σε σχέση με ασθενείς που πάσχουν από ΚΥΠ.**

Έχει ανακοινωθεί πλήθος εργασιών με θέμα τη βελτίωση της ικανότητας διάκρισης του πρώιμου ΚΑΠ από την ΚΥΠ μέσω της χρήσης του ηλικίου ελεύθερο PSA:ολικό PSA (f/t PSA)^{12,40,41} (Πίνακας 3α, 3β). Δείχθηκε επίσης ότι, για την περιοχή ολικών συγκεντρώσεων PSA 4-10 ng/ml, μία ουδός τιμών του ηλικίου 0.17-0.15 μπορεί να διαχωρίσει την ΚΥΠ από την ΚΑΠ με ευαισθησία 79-95%. Η περιοχή ολικών συγκεντρώσεων PSA 2-4 ng/ml παραμένει σκοτεινή με τη μεθοδολογία αυτή, διότι καμμία 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**, που πρακτικά σημαίνει **μείωση αριθμού μη απαραίτητων βιοψιών**. Πάντως συνεχίζονται οι προσπάθειες αναφορικά με την εύρεση ενός τρόπου βελτίωσης της διαγνωστικής ακρίβειας για τον ΚΑΠ στην περιοχή τιμών PSA<4mg/ml.

Μετά τον λόγο f/t PSA, μελετήθηκε η δυνατότητα της ανοσοανάλυσης complex ή **cPSA** (περιλαμβάνει όλα τα σύμπλοκα του PSA πλην του PSA-MG) ή του **λόγου cPSA/tPSA** να βελτιώσει την διαγνωστική ακρίβεια για τον ΚΑΠ και να μειώσει έτσι τον αριθμό των μη απαραίτητων βιοψιών προστάτη. Η προσπάθεια αυτή συνοδεύθηκε από

Πίνακας 3α. Πιθανότης παρουσίας ΚΑΠ σε σχέση με τα επίπεδα τιμών PSA του ορού. (Catalona 1998)

tPSA (ng/ml)	<2.0	2.0-4.0	4.0-10.0	>10.0
Πιθανότης ΚΑΠ	<1.5%	~15%	~25%	>50%

Πίνακας 3β. Πιθανότης 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
Πιθανότης ΚΑΠ	56%	28%	20%	16%	8%

αλληπάλληλες επιστημονικές ανακοινώσεις, ακόμη και με πολυκεντρικές μελέτες με αντικρουόμενα αποτελέσματα, μέχρι και πρόσφατα^{42,43}. Το αποτέλεσμα αυτής της επιστημονικής, αλλά και μεταξύ κατασκευαστριών εταιρειών, διαμάχης είναι ότι πολλά εργαστήρια βρίσκονται εγκλωβισμένα στο δίλημμα επιλογής μέτρησης fPSA ή cPSA. Λύση στο δίλημμα αυτό δεν έχει δοθεί και απ'ότι φαίνεται θα ξεπερασθεί από το γεγονός ότι νέα μόρια, όπως η hK2, το pro-PSA και το bPSA εισέρχονται δειλά στο χορό των προσδιοριζόμενων μορίων που προσβλέπουν στο να φωτίσουν την περιοχή τιμών PSA 2-4 ng/ml.

Προς το παρόν η πλειονότητα των εργαστηρίων προσδιορίζει τον λόγο f/t PSA, αφού εκεί αναφέρονται τα περισσότερα βιβλιογραφικά δεδομένα σε σχέση με τον ΚΑΠ, οι κλινικοί είναι περισσότερο εξοικειωμένοι με την χρήση του στην κλινική αξιολόγηση και η αλλαγή μεθόδου χωρίς βέβαιο πλεονέκτημα εγκυμονεί κινδύνους όσον αφορά στους ασθενείς. Το αναλυτικό πλεονέκτημα του cPSA έναντι του fPSA, λόγω της μεγαλύτερης συγκέντρωσής του στον ορό και της υποτιθέμενης μεγαλύτερης σταθερότητάς του, δεν συνεπάγεται ότι είναι και κλινικά χρησιμότερο του λόγου f/t PSA.

Αξίζει να προστεθεί ότι σε πρόσφατες μελέτες δείχθηκε ότι:

1. Η **αυξημένη συγκέντρωση hK2 στον ορό σχετίζεται με επιθετικό ΚΑΠ και στην περιοχή τιμών tPSA 2.5- 4.5 ng/ml**, για τιμή λόγου hK2/fPSA >1 υπάρχει 35% πιθανότητα ύπαρξης ΚΑΠ.
2. Στην περιοχή τιμών **ολικού tPSA 2-4ng/ml, ο λόγος proPSA/fPSA υπερτερεί στην ανίχνευση ΚΑΠ από τον λόγο f/t PSA ή του c/t PSA**
3. Τα επίπεδα του **bPSA** στον ορό σχετίζονται με την **πρόγνωση ΚΥΠ**.

Τέλος σημειώνεται ότι μετά από **ριζική προστατεκτομή** η συγκέντρωση του PSA ορού πρέπει να μειώνεται κάτω του **ορίου ανίχνευσης** που διαθέτουν τα τρέχοντα εμπορικά kits προσδιορισμού PSA (**<0.04 ng/ml**). 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 για τις ριζικές προστατεκτομές είναι η τιμή 0.4 ng/ml ή και 0.2 ng/ml, διότι παρά την ύπαρξη των υπερευαίσθητων μεθόδων PSA, έχουν εκφρασθεί επιφυλάξεις για την χρήση τους (ανίχνευση PSA από εξωπροστατικούς ιστούς, έλλειψη αποτελεσματικής συμπληρωματικής θεραπείας)^{45,46}.

2. ΟΓΚΟΕΜΒΡΥΪΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ

Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο – CEA

Το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο ανήκει στα αντιγόνα διαφοροποίησης, που εκφράζονται κατά την κυτταρική ανάπτυξη. Αρχικά θρέθηκε σε αδενοκαρκινώματα του πεπτικού και δείχθηκε ότι αποτελεί συστατικό της μεμβράνης. Είναι **γλυκοπρωτεΐνη επιφανείας** (με πρόσδεση γλυκοσουλφωσφατιδυλοϊνοσιτόλης GPI) που αλληλεπιδρά με τον μικροσκελετό του κυττάρου και μπορεί να ελευθερωθεί στον διάμεσο χώρο και στην κυκλοφορία των ασθενών με νεοπλασίες, όπου ανιχνεύεται ανοσοχημικά. Το CEA έχει MB 180 kDa, με πρωτεϊνικό πυρήνα μικρότερο του μισού μορίου, αφού αυτό εμφανίζει **υψηλό βαθμό γλυκοζυλίωσης**.

Το CEA αντιπροσωπεύει μια μεγάλη οικογένεια γλυκοπρωτεϊνών της μεμβράνης που διαθέτουν εξωκυττάρια δομές όμοιες με τις ανοσοσφαιρίνες, και πλέον έχει

εδραιωθεί ότι ανήκουν στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών. Η οικογένεια του CEA περιλαμβάνει 29 γονίδια που εντοπίζονται σε δύο συστάδες (clusters) του χρωμοσώματος 19. Τα γονίδια αυτά ομαδοποιούνται σ'εκείνα που κωδικοποιούν το CEA, τα γονίδια διασταυρούμενης αντίδρασης NCA (non-specific cross reacting antigen), της χολικής γλυκοπρωτεΐνης BGP (biliary glycoprotein), του αντιγόνου MA (meconium antigen), του αντιγόνου TEX (tumour extracted antigen) και εκείνων που κωδικοποιούν την β1-γλυκοπρωτεΐνη της εγκυμοσύνης PSG (pregnancy specific protein), η οποία βρίσκεται στον πλακούντα και σε όγκους τροφοβλαστικής προέλευσης.

Σχετικά με τον λειτουργικό ρόλο του, το CEA φαίνεται ότι είναι ένα **διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης**. Σχηματίζεται κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη, κύρια στον γαστρεντερικό σωλήνα και το πάγκρεας ως αντιγόνο επιφανείας και εκκρίνεται στα σωματικά υγρά. Επειδή δε κατά την καρκινική διήθηση και μετάσταση επιφέρονται μεταβολές στην κυτταρική προσκόλληση, θεωρείται ότι το CEA μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στην διαδικασία αυτή.

Σε δύο μεγάλες μελέτες το 85-87% του φυσιολογικού πληθυσμού οι τιμές του ευρέθηκαν κάτω των 2.5 ng/ml, το 95-98 % κάτω των 5 ng/ml και πρακτικά κανείς δεν υπερέβη τα 10 ng/ml. Η περιοχή τιμών 5-10 ng/ml θεωρείται οριακή, με την έννοια ότι εκεί συνυπάρχουν τιμές που συναντώνται σε καλοήθειες και κακοήθειες. Τιμές δε ανώτερες των 20 ng/ml αποτελούν σαφή ένδειξη κακοήθους εξεργασίας. Παρατηρείται αύξηση των συγκεντρώσεων του CEA στους καπνιστές, αλλά και σε ασθενείς με κίρρωση ήπατος, με ηπατοπάθεια από κατάχρηση οινοπνεύματος, με παγκρεατίτιδα, με πολύποδες εντέρου και με φλεγμονώδεις καταστάσεις του πεπτικού και των πνευμόνων. Σημειώνεται ότι **το ήπαρ είναι ο κύριος ιστός μεταβολισμού του CEA**, επομένως καλοήθη ηπατικά νοσήματα που παρεμποδίζουν την ηπατική λειτουργία - και την κάθαρση του CEA - είναι δυνατόν να προκαλέσουν αύξησή του στον ορό. Σε μελέτη που περιελάμβανε πάνω από 700 υγιή άτομα φάνηκε ότι τα επίπεδα του CEA στους άνδρες είναι υψηλότερα από εκείνα στις γυναίκες και ότι 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**.^{4b,47,48}

α-Εμβρυϊκή σφαιρίνη – AFP

Η AFP ανήκει στην ομάδα των εμβρυϊκών πρωτεϊνών, οι οποίες σχηματίζονται κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και στην συνέχεια, μετά την γέννηση, η συγκέντρωσή τους μειώνεται σε πολύ χαμηλά επίπεδα, ανήκει δε σε μια υπεροικογένεια πρωτεϊνών που περιλαμβάνει την αλβουμίνη και την πρωτεΐνη που συνδέεται με την βιταμίνη D. Η AFP είναι μια γλυκοπρωτεΐνη και λόγω της ομοιότητάς της με την αλβουμίνη σε ότι αφορά τις φυσικοχημικές ιδιότητες και την αμινοξική αλληλουχία θεωρείται ότι επέχει 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^η εβδομάδα της κύησης φθάνει στον ορό της

εγκίου σε μέγιστη τιμή ~250-300 ng/ml. Στους ενήλικες η συγκέντρωση της AFP συνήθως δεν ξεπερνά τα 15 ng/ml. Φαίνεται ότι **κατά την κακοήθη εξαλλαγή μεταβαλλεται ο έλεγχος της γονιδιακής έκφρασης 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 στην επιτυχή διάκριση του ιστού προέλευσης και της σχετιζόμενης νόσου με την εμφάνιση της αυξημένης συγκέντρωσης του μορίου στον ορό. Μάλιστα η διαφορά πρόσδεσης σε λεκτίνη σχετίζεται με την διαμόρφωση της υδατανθρακικής αλύσου της AFP. Στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (ΗΚΚ) εμφανίζεται αύξηση της φουκοζυλίωσης, με συνέπεια την αυξημένη συγγένεια προς τις λεκτίνες, και επομένως την διάκριση μεταξύ ΗΚΚ και καλοήθους ηπατικής νόσου. Εξ άλλου, ενώ είναι εδραιωμένη η πρόσδεση της AFP από ΗΚΚ σε κονκαναβαλίνη A, η AFP που προέρχεται από τον λεκιθικό ασκό δεν προσδένεται στην λεκτίνη αυτή. Με τη χρήση μιας ποικιλίας λεκτινών έχει γίνει εφικτή η **διάκριση 4 σχημάτων των ισομορφών AFP** (τύπου: ήπατος/καλοήθων ηπατικών νόσων, ΗΚΚ, γαστρεντερικού όγκου, λεκιθικού ασκού).

Η AFP κατέχει επίσης σημαντικό ρόλο ως δείκτης καρκίνου στον **πρωτοπαθή ΗΚΚ ενήλικα και στο παιδικό ηπατοβλάστωμα, στους όγκους γεννητικών κυττάρων** (όγκοι λεκιθικού ασκού, εμβρυϊκό καρκίνωμα) (Πίνακας 4), **στον καρκίνο των όρχεων και των ωοθηκών**, του στομάχου, του παγκρέατος του χοληδόχου πόρου, των βρόγχων και των ηπατικών μεταστάσεων.^{2,22,49,50,51}

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 προαναφερθέντων 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.

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-τηλαγγειεκτασία και η κληρονομική τυροσιναιμία, καθώς και στη χρόνια ενεργό ηπατίτιδα, στη χρόνια επιμένουσα ηπατίτιδα, σε φορείς HbsAg, σε οξεία ιογενή λευχαιμία, σε κίρρωση (προκαρκινική κατάσταση) ή ηπατίτιδα προκληθείσα από αλκοόλ, 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^{2,76}.

Πίνακας 4. Παρουσία AFP στον ορό σε καρκίνους γεννητικών κυττάρων

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

3. ΟΡΜΟΝΕΣ

Ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (HCG). Είναι σιαλογλυκοπρωτεϊνική ορμόνη, παράγεται από την πλακουντιακή τροφοβλάστη και ιδίως την συγκυτιοτροφοβλάστη, από τις πρώτες ημέρες της γονιμοποίησης. Αποτελείται από δύο πεπτιδικές αλυσούσ (υπομονάδες) την α- και την β-, που συνδέονται με μη ομοιοπολικούς δεσμούς. Η α-υπομονάδα της HCG είναι ταυτόσημη με τις αντίστοιχες υπομονάδες διαφόρων ορμονών της υπόφυσης, όπως η LH, FSH και TSH. Η β-υπομονάδα κάθε μιας των ορμονών αυτών προσδίδει και τις μοναδικές βιολογικές ιδιότητές τους. Η α-υπομονάδα κωδικοποιείται από ένα κοινό γονίδιο. Η β-υπομονάδα της HCG έχει διακριτούς αντιγονικούς καθοριστές στο καρβοξυτελικό άκρο της (γιαυτό και οι δοκιμασίες που χρησιμοποιούν αντισώματα κατά της β-HCG είναι πιο ειδικά για την ορμόνη αυτή) και καθορίζει τόσο την ανοσολογική, όσο και την ορμονική ειδικότητα του μορίου. Η β-υπομονάδα βρίσκεται υπό τον έλεγχο διαφόρων γονιδίων.

Οι τιμές αναφοράς της HCG έχουν 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^η εβδομάδα, σε 12000-270000 mIU/mL την 6^η-8^η εβδομάδα).

Κατά την εγκυμοσύνη, η **β-HCG** αποτελεί < 4% (σε ούρα ή ορό) της συνολικής HCG, που 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 σεμινωμάτωδεις όγκους των γεννητικών κυττάρων και σπανιότερα σε σεμίνωμα. Στους καρκινοπαθείς εμφανίζεται παραγωγή μεταβαλλόμενων ποσών α- και β- υπομονάδων, καθώς και τμήματα υπομονάδων και υπομονάδων με ελλείψεις (deletions) αμινοξέων (nicked HCG). Η β-HCG δεν ανευρίσκεται φυσιολογικά στον ορό των ανδρών και γιαυτό η παρουσία της είναι πάντοτε ενδεικτική κακοήθειας. Τόσο σε ασθενείς με καρκίνο των όρχεων, που έχουν υποστεί ορχεκτομή, όσο και σε ασθενείς με χοριοκαρκίνωμα, που έχουν υποστεί υστερεκτομή ή ωθηκτομή, η μετεγχειρητική παρουσία β-HCG επιβεβαιώνει την παρουσία υπολειμματικής νόσου.

Επίπεδα HCG > 10⁴ mIU/mL παρατηρούνται σε πάσχοντες από όγκους γεννητικών κυττάρων, τροφοβλαστική νόσο και τροφοβλαστική διαφοροποίηση πρωτοπαθών όγκων πνεύμονα και στομάχου. Ο συνδυασμός AFP και HCG είναι χρήσιμος στην διάγνωση, σταδιακή κίνηση και παρακολούθηση της εξέλιξης των μη σεμινωμάτωδων όγκων των γεννητικών κυττάρων. Ήπιες αυξήσεις των επιπέδων της HCG έχουν περιγραφεί σε καρκίνο πνεύμονος, γαστρεντερικού συστήματος, μαστού, ωθηκών και στο μελάνωμα. Επίσης παρατηρείται αύξηση της HCG σε ορισμένες μη κακοήθεις καταστάσεις όπως η κίρρωση, το δωδεκαδακτυλικό έλκος και φλεγμονώδης νόσος του εντέρου^{2,22,52-57}.

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

Η καλσιτονίνη ορού εφαρμόζεται ως δοκιμασία προληπτικού ελέγχου σε ασυμπτω-

ματικούς ασθενείς υψηλού κινδύνου, όπως οι συγγενείς ατόμων με ΜΚΘ και τα άτομα με οικογενειακό ιστορικό πολλαπλής ενδοκρινούς νεοπλασίας τύπου 2 (MEN 2), αφού το 25% των ΜΚΘ αποτελεί μέρος της MEN 2. Επίσης χρησιμεύει στην παρακολούθηση ασθενών μετά από θεραπεία και στην πρόγνωση, συσχετίζεται δε με την σταδιακή επιδείνωση. Αξιοσημείωτο είναι ότι η καλσιτονίνη (βασικών επιπέδων και μετά από επαγωγή με Ca^{++}) μπορεί να βοηθήσει στην ανίχνευση όγκων ΜΚΘ αρνητικών στο ραδιοϊσοτοπικό scanning και την ψηλάφηση του θυρεοειδούς αδένος κατά την κλινική εξέταση^{2,26}.

Θυρεοσφαιρίνη (Tg). Η θυρεοσφαιρίνη είναι διμερής γλυκοπρωτεΐνη MB 660 kDa και αποτελεί χαρακτηριστικό προϊόν σύνθεσης του θυρεοειδή αδένου. Χρησιμεύει τόσο ως υπόστρωμα για την παραγωγή των θυρεοειδικών ορμονών, όσο και ως αποθήκη αυτών, παραμένονσα υπό μορφή κολλοειδούς στον αυλό των θυλακίων του θυρεοειδούς (ιωδίωση-φύλαξη/διάσπαση μέσω λυσοσωματικών πρωτεασών-απελευθέρωση). Ποσοτικά αντιπροσωπεύει τη σημαντικότερη πρωτεΐνη του θυρεοειδή. Φυσιολογικά η συγκέντρωση της Tg στο πλάσμα είναι χαμηλή και αυξάνεται σε διαταραχές του θυρεοειδή, περιλαμβανομένου και του καρκίνου. Γι' αυτό δεν αποτελεί ειδική εξέταση στην διάγνωση του καρκίνου του θυρεοειδούς. Όμως, μετά την ολική αφαίρεση του θυρεοειδή αδένου σε περίπτωση κακοήθειας, δεν πρέπει να ανιχνεύεται θυρεοσφαιρίνη στο πλάσμα και τότε αποτελεί ΔΚ υψηλής κλινικής ευαισθησίας και ειδικότητας για την επιμένουσα παρουσία ή υποτροπή του όγκου. Σημειώνεται ότι τα αντιθυρεοειδικά αντισώματα παρεμβαίνουν στον προσδιορισμό της Tg⁸.

Ιστικές γαστρεντερικές ορμόνες³

Γαστρίνη. Παράγεται από τα G κύτταρα κυρίως στο άντρο του στομάχου και εμφανίζεται στο πλάσμα και τους ιστούς σε διαφορετικά μοριακά μεγέθη, που διαφέρουν ως προς την ένταση της δράσης τους στην έκκριση γαστρικού οξέος και στο χρόνο ημιζωής τους στο πλάσμα, διαθέτουν όμως όλα 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 συνοδεύεται από 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 γαστρίνωματος.

Αγγειενεργό εντερικό πολυπεπτίδιο (vasoactive intestinal peptide-VIP). Ανήκει στη οικογένεια της σεκρετίνης-γλυκαγόνης και κύρια δράση του είναι η αγγειοδιαστολή και η αύξηση των περιφερικών αγγείων του εντέρου. Υπερπαραγωγή του VIP παρατηρείται σε όγκους εντοπιζόμενους στο πάγκρεας που χαρακτηρίζονται σαν «όγκοι που δεν προέρχονται από τα Β-κύτταρα των νησιδίων». Οι όγκοι αυτοί συνοδεύονται από το σύνδρομο Verner-Morrison (**Watery Diarrhoea, Hypokalaemia, Achlorhydria-WDHA**)

Σωματοστατίνη. Εκτός από τον υποθάλαμο, όπου η έκκρισή της αναστέλλει την απελευθέρωση της αυξητικής ορμόνης, η σωματοστατίνη βρίσκεται σε σημαντικές συγκεντρώσεις στα τοιχώματα στομάχου και του εντέρου, καθώς και στο πάγκρεας. Το σωματοστατίνωμα είναι όγκος των D-κυττάρων του παγκρέατος, καταλήγει σε διαβήτη, διάρροια, στεατόρροια και σχηματισμό χολόλιθων, χαρακτηρίζεται δε από υπερπαραγωγή σωματοστατίνης.

Διήμεσες ουσίες

Σεροτονίνη. Οι καρκινοειδείς όγκοι είναι όγκοι των εντεροχρωμόφιλων κυττάρων (enterochromaffin cells) και εκκρίνουν σημαντικά ποσά σεροτονίνης (5-υδροξυτρυπταμίνης). Εμφανίζονται σε 1.2-2.2 /10000 άτομα και η πλειοψηφία τους αναπτύσσεται πρωτοπαθώς κύρια στο πεπτικό, αλλά και στο μαστό, στον θύμο, στο ήπαρ, στην ουροδόχο κύστη, στους πνεύμονες και στις ωσθήκες. Η σεροτονίνη φυσιολογικά παράγεται στα εντεροχρωμόφιλα κύτταρα του πεπτικού και στον εγκέφαλο και μεταβολίζεται 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 αποτελεί την σφραγίδα των καρκινοειδών όγκων και ανιχνεύεται με 3 δείκτες: το 5-HIAA και την σεροτονίνη στα ούρα, και την σεροτονίνη των αιμοπεταλίων στο αίμα. Η τελευταία δεν επηρεάζεται από την κατανάλωση δίαιτας πλούσιας σε σεροτονίνη, αντίθετα το 5-HIAA ούρων επηρεάζεται αρκετά και η σεροτονίνη ούρων ελαφρά. Το 5-HIAA ούρων - αν και έχει χαμηλή προβλεπτική αξία θετικού αποτελέσματος - είναι ένας χρήσιμος δείκτης για καρκινοειδείς όγκους του μεσεντερίου με υψηλό ρυθμό έκκρισης σεροτονίνης, ενώ η σεροτονίνη ούρων και η σεροτονίνη των αιμοπεταλίων αποτελούν πιο ευαίσθητους δείκτες των καρκινοειδών όγκων με μέτρια αύξηση της παραγωγής της σεροτονίνης⁷⁸.

4. ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΤΙΣ ΟΜΑΔΕΣ ΑΙΜΑΤΟΣ

CA 19-9

Το αντιγόνο CA 19-9 έχει ορισθεί ως το αντιγόνο που αντιδρά με το μονοκλωνικό αντίσωμα 1116 NS 19-9, το οποίο προήλθε μετά από ανοσοποίηση ποντικών BALB/c με μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά (SW1116) καρκινώματος του ορθού. Το μακρομόριο όπου βρίσκεται το CA 19-9 απαντάται ως μονοσιαλοαγγλιοζίτης στους ιστούς και ως βλεννίνη (γλυκοπρωτεΐνη πλούσια σε υδατάνθρακες) στον ορό, με MB>1000 kDa (λιπιδικό μέρος 36 kDa και βλεννινικό ~1000 kDa). Ο αντιγονικός καθοριστής του μορίου CA 19-9 είναι μία σιαλυλιωμένη λακτο-N-φουκοπεντανόζη II, συγκεκριμένα είναι η 2,3-σιαλυλιωμένη μορφή της δομής Lewis a (Le^a) του συστήματος ανθρώπινων ομάδων αίματος κατά Lewis. Τα άτομα που με φαινότυπο Le^{a-b} (~ 5% του πληθυσμού) δεν μπορούν να εκφράσουν το CA 19-9 και επομένως στην μειοψηφία αυτή δεν έχει νόημα η χρήση του.

Ο επίτοπος αυτός υπερεκφράζεται από αδενοκαρκινώματα του κόλου και του παγκρέατος. Έχει επιβεβαιωθεί η παρουσία του σε εμβρυϊκούς ιστούς (σιελογόνοι και δακρυϊκοί αδένες, αναπνευστική οδός, πάγκρεας, ήπαρ, στόμαχος, κόλον, λεπτό έντερο) και έχει βρεθεί ότι στον ενήλικα συνεχίζει να εκφράζεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις και από επιθηλιακά κύτταρα του παγκρέατος, των σιελογόνων αδένων, του στομάχου, του ήπατος, του βλεννογόνου της ουροδόχου κύστης 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 πολλά βιολογικά υγρά όπως το παγκρεατικό, το γαστρικό, το αμνιακό, τα ούρα, ο σίελος, το γάλα, και η τραχηλική βλέννη.^{1,2,8,9a}

Ο δείκτης CA 19-9 εμφανίζει τη μεγαλύτερη διαγνωστική ευαισθησία, ειδικότητα

και προβλεπτική αξία στους καρκίνους του παγκρέατος και του χοληφόρου πόρου. Εμφανίζεται αυξημένος στο 70–100% των ασθενών με καρκίνο παγκρέατος, όμως μειονέκτημά του είναι η μικρή ειδικότητα, διότι εμφανίζει επίσης σχετικά υψηλές τιμές στις παγκρεατίτιδες, όπου οι τιμές του CA 19-9 δεν υπερβαίνουν τις ~100 U/ml, ενώ στο 65% των παγκρεατικών καρκίνων οι τιμές του υπερβαίνουν τις 100 U/ml. Τα δεδομένα αυτά καθιστούν το CA 19-9 κατάλληλο δείκτη για τη διαφορική διάγνωση καλοήθους από κακοήθη παγκρεατική νόσο. Σημειώνεται πάντως ότι σε ορούς ασθενών με παγκρεατικούς όγκους, διαμέτρου μικρότερης των 3cm, τα επίπεδα του CA 19-9 μπορεί να είναι, σε μεγάλο ποσοστό, φυσιολογικά.

Η σχετικά υψηλή ευαισθησία του CA 19-9 στον καρκίνο του χοληφόρου πόρου (65%), σκιάζεται από το γεγονός ότι τόσο η χολόσταση, όσο και η εφαρμογή ανακουφιστικών τεχνικών (stents, χολικό bypass) προκαλούν μεταβολές των επιπέδων του, που δεν αντικατοπτρίζουν την απόκριση ή εξέλιξη του όγκου.

Αυξημένες τιμές του δείκτη αυτού στον ορό έχουν περιγραφεί στο 20-30% των ασθενών με νεοδιαγνωσμένους κολορθικούς καρκίνους προχωρημένου σταδίου (Dukes C, D), στο 22-51% των ασθενών με ηπατοκυτταρικό καρκίνο και στο 40-60% των ασθενών με προχωρημένο γαστρικό καρκίνο.

Καλοήθεις διαταραχές, όπως παγκρεατίτιδα, αποφρακτικός ίκτερος, κίρρωση ήπατος, χρόνια ενεργός ηπατίτιδα, πρωτοπαθής χολική κίρρωση και κυστική ίνωση, είναι δυνατόν να επιφέρουν αύξηση των επιπέδων του. Ο ρόλος του περιορίζεται κύρια ως διαγνωστικού βοηθήματος του παγκρεατικού καρκίνου και στην παρακολούθηση καρκίνων πεπτικού και παγκρέατος προχωρημένου σταδίου, αν και στο τελευταίο η συμβολή του είναι περιορισμένη λόγω της καθυστερημένης συνήθως διάγνωσης και της έλλειψης αποτελεσματικής θεραπείας του παγκρεατικού καρκίνου.

CA 50

Το αντιγόνο CA-50 είναι ο **άμεσος πρόδρομος του CA 19-9**, είναι δηλ. το σιαλυλιωμένο αντιγόνο κατά Lewis με απούσα την φουκόζη. Η ιδιότης αυτή καθιστά το CA 50 ικανό να **εκφράζεται από τα άτομα τα αρνητικά κατά Lewis**.

Η χρησιμότης του είναι παρόμοια με εκείνη του CA 19-9 στην παρακολούθηση καρκίνων πεπτικού και παγκρέατος. Μια διαφορά μεταξύ τους φαίνεται να είναι ότι το CA 50 αυξάνεται σε ένα μεγαλύτερο εύρος μη γαστρεντερικών καρκίνων σε σύγκριση με το CA 19-9. Σε σχέση με τον καρκίνο στομάχου, έχει βρεθεί ότι το CA 50 είναι ο πλέον ευαίσθητος δείκτης για όλα τα στάδια της νόσου, με ευαισθησία 60%, σε σύγκριση μια σειρά άλλων δεικτών που μελετήθηκαν (CEA, CA 19-9, CA 72-4, CA 195) και των οποίων η ευαισθησία δεν ξεπέρασε το 20-30%. Πάντως και το CA 50 αυξάνεται στον ορό ασθενών με ηπατοχολική νόσο ή οξεία παγκρεατίτιδα².

CA 72-4

Το αντιγόνο CA 72-4 ορίζεται ως εκείνο το αντιγόνο που αντιδρά με 2 Mab μονοκλωνικά αντισώματα, το CC 49, που είναι το 2^{ns} γενιάς μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του υψηλού βαθμού καθαρότητας αντιγονικού καθοριστή TAG 72 (tumour-associated-glycoprotein), και του B 72.3, που είναι το 1^{ns} γενιάς αντίστοιχο αντίσωμα.

Το Β 72.3 προήλθε από ανοσοποίηση με μεταστατικά κύτταρα μαστού εμπλουτισμένα σε μεμβράνες, ενώ το CC 49 από ανοσοποίηση με καθαρό TAG 72, ληφθέν από αλλομόσχευμα ανθρώπινου καρκίνου του κόλου. Το CA 72-4 έχει MB > 400-1000 kDa.

Αυξημένα επίπεδα του δείκτη CA 72-4 στον ορό έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με διάφορα επιθηλιακά καρκινώματα, όπως καρκίνος στομάχου, μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα, των ωθηκών, του μαστού, του παγκρέατος και του ορθού. Το CA 72-4 εμφανίζει υπεροχή έναντι των CEA και CA 19-9 σε σχέση με τον καρκίνο του στομάχου, επιδεικνύοντας ευαισθησία 50%, με ειδικότητα 100%. Αυξάνεται δε ακόμη περισσότερο η ευαισθησία του στον μεταστατικό καρκίνο του στομάχου. Το 24% των ασθενών με καρκίνο ωθηκών και το 36% των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα έχουν υψηλές τιμές του δείκτη^{4d}.

CA 125

Το αντιγόνο CA 125 ορίζεται ως εκείνο το αντιγόνο που αντιδρά με το μονοκλωνικό αντίσωμα OC 125, το οποίο προήλθε από ανοσοποίηση ποντικού με την **ανθρώπινη κυτταρική σειρά OVCA 433 ορώδους κυσταδενοκαρκινώματος ωθηκών**. 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 ένα **αντιγόνο διαφοροποίησης** και εκφράζεται στην εμβρυϊκή σπλαχνική κοιλότητα και στο άμνιο, συνεχίζει δε στους ενήλικες να εκφράζεται σε δομές παραγόμενες από τα παραπάνω, περιλαμβανομένης της αναπνευστικής οδού, του περικαρδίου, του πλευριτικού χώρου, του περιτοναίου και των επιθηλίων του ενδοτραχήλου, της κοιλότητας της μήτρας και των σαλπίνγων, όχι όμως των ωθηκών εμβρύου ή ενηλίκου γυναικός. Το CA 125, εκτός του ορού, ευρίσκεται φυσιολογικά σε αρκετά βιολογικά υγρά, όπως το γάλα, το σπερματικό υγρό, το αμνιακό υγρό, η τραχηλική βλέννη. Επίσης τα επίπεδα του CA 125 στον ορό μπορούν να αυξηθούν σε φυσιολογικές καταστάσεις, όπως η έμμηνος ρύση και η εγκυμοσύνη (πρώτο τρίμηνο).

Τα όργανα αναπαραγωγής καθώς και τα εξ αυτών μεσοθηλιακά κύτταρα μπορούν να εκκρίνουν CA 125 όταν εγκατασταθεί σε αυτά ένα καλόηθες νόσημα, όπως ενδομητρίωση, σαλπινγίτις, φυματίωση, περικαρδίτις, δημιουργία ασκίτη, κίρρωση. Το ίδιο φαινόμενο είναι δυνατόν να παρατηρηθεί σε κακοήθειες των οργάνων του πεπτικού, του πνεύμονα, του ενδομητρίου, του τραχήλου, του μαστού κλπ.

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω δεδομένα, το αντιγόνο CA 125 βρίσκει την σημαντικότερη εφαρμογή του: **(α)** στην συνεισφορά του στην **προεγχειρητική διαφοροδιάγνωση** διάκρισης μεταξύ καλοήθων και κακοήθων **διαταραχών των ωθηκών** (κυρίως στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες), **(β)** στην **παρακολούθηση της θεραπείας του επιθηλιακού καρκινώματος των ωθηκών** 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 θετικότητας του, δηλ. μια αρνητική τιμή δεν μπορεί να αποκλείσει την κακοήθεια .**

*Σε πρόσφατη μελέτη που αφορούσε 18748 υγιείς, μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, με σκοπό τον εντοπισμό δεδομένων που θα μπορούσαν να συμπεριληφθούν σε αλγόριθμους screening, παρατηρήθηκαν τα εξής:

1. Τα επίπεδα του CA 125 είναι σημαντικά χαμηλότερα στις γυναίκες που έχουν υποβληθεί σε **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).
3. Η **ηλικία έναρξης της εμμηνου ρύσεως, της εμμηνόπαυσης και το ιστορικό κύστεων στις ωθήκες** σχετίζονται με τα επίπεδα του CA 125.
4. Υπάρχει μεγάλη διακύμανση στις τιμές του CA 125 που σχετίζεται με τον τύπο της ανοσοανάλυσης, την κατασκευάστρια εταιρεία του kit και την γενιά - πχ η ανοσοανάλυση CA 125 II της Centocor παρέχει αποτελέσματα κατά αρκετές μονάδες υψηλότερα από εκείνη της ίδιας εταιρείας, αλλά της πρώτης γενιάς.

*Ενδιαφέρουσα είναι και άλλη πρόσφατη μελέτη screening 5550 γυναικών, όπου επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη σημαντικού κινδύνου και για κακοήθεια άλλη, εκτός του καρκίνου των ωθηκών, σε γυναίκες με υψηλή τιμή CA 125, με πιο πιθανή την κακοήθεια στο μαστού και στον πνεύμονα^{2,9c,9b,20,22,52,58-62}.

5. ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΒΛΕΝΝΙΝΗΣ MUC1

Η βλεννίνη MUC1 είναι προϊόν του γονιδίου MUC1 και άλλες ονομασίες της είναι PEM (polymorphic epithelial protein), EMA (epithelial membrane antigen) ή επισαλίνη. Η βλεννίνη MUC1 είναι μία διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη. Παρόλον ότι ο πρωτεϊνικός πυρήνας της MUC1 είναι ίδιος σε διαφορετικούς ιστούς, ο βαθμός γλυκοζυλίωσης μπορεί να διαφέρει. Στα **αδενικά επιθηλιακά κύτταρα του μαστού** η βλεννίνη αυτή εμφανίζεται με MB 250-500 kDa και περιέχει ~50% υδατάνθρακες. Οι διαφορές στην γλυκοζυλίωση αποδίδονται στα επίπεδα δραστηριότητας των γλυκοσυλοτρανσφερασών και των γλυκοσιδασών στους διάφορους ιστούς. Η φυσιολογική λειτουργία των βλεννινών αυτών πιστεύεται ότι είναι η κυτταρική προστασία και λίπανση. Πιθανόν οι βλεννίνες MUC1 να παίζουν ρόλο στην **κυτταρική προσκόλληση**.

Κατά τον κακοήθη μετασχηματισμό προκαλείται: (α) απώλεια της πολικότητας του κυττάρου και 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, (β) εκτροπή της γλυκοζυλίωσης του μορίου και (γ) εκτίθενται κρυμμένοι επίτοποι.

Μεταξύ των αντιγόνων που σχετίζονται με τη βλεννίνη MUC1 του μαστού, κυριότερος εκπρόσωπος είναι το αντιγόνο **CA 15-3**. Στην ομάδα αυτή συγκαταλέγονται επίσης και τα MCA, CA 27.29, MSA, CA 549, BR-MA, HMFG-1(human milk-fat globule), CA M26, CA M29 και CA M38^{4c,8,63-66}.

CA 15-3

Το CA 15-3 ορίζεται ως το αντιγόνο που αναγνωρίζεται από τα μονοκλωνικά αντισώματα 115 D8 (έναντι κλάσματος εμπλουτισμένου σε μεμβράνες HMFG) και DF3 (έναντι κλάσματος εμπλουτισμένου σε μεμβράνες από κύτταρα μεταστατικού καρκίνου

του μαστού). Προς το παρόν μόνο ο αντιγονικός επίτοπος με τον οποίο αντιδρά το DF3 έχει ταυτοποιηθεί ότι είναι η αμινοξική αλληλουχία **TRPAPGS** της επαναληπτικής αλληλουχίας του πρωτεϊνικού πυρήνα της MUC1.

Έχει βρεθεί ότι η συγκέντρωση του CA 15-3 στον ορό στο 94.5 % του πληθυσμού είναι <25 U/ml και στο 99% είναι <30 U/ml. Ακόμη φαίνεται ότι η συγκέντρωση του CA 15-3 δεν διαφέρει μεταξύ ανδρών και γυναικών. Σε μία μελέτη, που όμως δεν επιβεβαιώθηκε από άλλους, οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δείχθηκε ότι εμφανίζουν υψηλότερες τιμές του δείκτη.

Έχει παρατηρηθεί αύξηση του CA 15-3 στον ορό ασθενών με καλοήγη νοσήματα του μαστού, αλλά και σε άλλα μη κακοήγη νοσήματα, όπως οξεία ηπατίτις, χρόνια ενεργός ηπατίτις, κίρρωση ήπατος, σαρκοείδωση, φυματίωση και ερυθρηματώδη λύκο. Επίσης έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα του δείκτη σε ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα, κολου/ορθού, παγκρέατος, προστάτη και ωθηκών.

Όσον αφορά τον καρκίνο του μαστού, οι συγκεντρώσεις του CA 15-3 στον ορό τείνουν να συσχετίζονται θετικά με τη σταδιακή εξέλιξη ή το μέγεθος του πρωτοπαθούς όγκου. Μόνο μικρή αναλογία των τοπικών υποτροπών εμφανίζει υψηλές τιμές. Αντίθετα το 70% των ασθενών με απομακρυσμένες μεταστάσεις εμφανίζει υψηλές τιμές του δείκτη. Λόγω της χαμηλής ευαισθησίας και ειδικότητας του CA 15-3, δεν προτείνεται για προληπτικό έλεγχο, διάγνωση και πρόγνωση του καρκίνου του μαστού, παρά μόνο για παρακολούθηση της θεραπείας και επιτήρηση εμφάνισης υποτροπών.

MCA και CA 27.29

Το MCA ορίζεται ως το αντιγόνο που αντιδρά με 3 μονοκλωνικά Mab αντισώματα, το b12 έναντι ενός πεπτιδικού αντιγονικού καθοριστή και τα b8, b15 έναντι γλυκοπρωτεϊνικών καθοριστών.

Το CA27.29 αντιδρά με το μονοκλωνικό αντίσωμα B27.29, του οποίου ο αντιγονικός καθοριστής έχει ταυτοποιηθεί ότι είναι η αμινοξική αλληλουχία **DTRPAP** της επαναληπτικής αλληλουχίας του πρωτεϊνικού πυρήνα της MUC1.

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 καρκίνο του μαστού με αποτελέσματα παρόμοια με εκείνα του CA 15-3.**

Αύξηση του **MCA** παρατηρείται και σε ασθενείς με καρκίνο ωθηκών και μήτρας, με προχωρημένο καρκίνο του πνεύμονα και του ορθού. Αναφορικά με τα καλοήγη νοσήματα, αύξηση του MCA εμφανίζεται σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα, με κίρρωση ήπατος και χρόνια νοσήματα του πνεύμονα. Επίσης χρειάζεται προσοχή στις περιπτώσεις εγκυμοσύνης κατά το 3^ο τρίμηνο. 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. Ακόμη παρατηρείται αύξηση του MCA με την ηλικία καθώς και σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια.

Αύξηση των επιπέδων του **CA 27.29** στον ορό μπορεί επίσης να παρατηρηθεί σε καρκίνο κόλου, στομάχου, νεφρού, πνεύμονα, ωθηκών, παγκρέατος, ήπατος και μήτρας. Εκτός από το 1^ο τρίμηνο της εγκυμοσύνης, η ενδομητρίωση, οι κύστες ωθηκών,

οι καλοήθειες νόσοι μαστού, νόσοι των νεφρών και του ήπατος είναι μερικές από τις μη κακοήθειες καταστάσεις όπου μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση του CA 27.29.

6. ΚΥΤΤΑΡΟΚΕΡΑΤΙΝΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Οι κυτταροκερατίνες (CK) είναι πρωτεΐνες των ενδιάμεσων νηματίων των επιθηλιακών κυττάρων και παίζουν σημαντικό ρόλο στην αρτιότητά τους. Χαρακτηριστικά των κυτταροκερατινών είναι η ετερογένεια της αλληλουχίας τους και ο σχηματισμός **τετραμερών ετεροπολυμερών** που περιέχουν **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 κακοήθη εξαλλαγή τους, τα επιθήλια διατηρούν τον αρχικό συνδυασμό των κυτταροκερατινών τους. Από τις μέχρι σήμερα 25 χαρακτηρισμένες CK, οι **CK8, CK18 και CK19** είναι εκείνες που κυρίως απαντώνται σε καρκινώματα. Στο αίμα κυκλοφορούν σαν διαλυτά, μερικώς αποικοδομημένα σύμπλοκα, μετά από πρωτεόλυση, και με τη μορφή αυτή μπορούν να χρησιμεύουν σαν δείκτες καρκίνου. Οι κυριότεροι κυτταροκερατινικοί δείκτες είναι οι: TPA, TPS και CYFRA 21.1.

Μία σημαντική δυσκολία στην αξιολόγηση των δεικτών αυτών είναι η μεγάλη ευαισθησία τους σε αρκετά καλοήθη νοσήματα, αλλά 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/κυτταροδιαιρετική δραστηριότητα των κυττάρων, και μάλιστα εξ αυτών των δύο, μόνον ο επίτοπος M₃ είναι αυτός που χαρακτηρίζει το TPS. Τόσο το TPA, όσο και το TPS θεωρούνται χρήσιμοι δείκτες στην παρακολούθηση της θεραπευτικής αγωγής μιας κακοήθειας και την έγκαιρη αναγνώριση των υποτροπών και των μεταστάσεων. Στα πλαίσια αυτά ή πιο εντυπωσιακή εφαρμογή του **TPA** δείχνει να είναι ο **καρκίνος της ουροδόχου κύστεως**, όπου έχει μετρηθεί τόσο σε ορό, αλλά και σε ούρα. Χρησιμοποιείται και σε κακοήθειες μαστού, πνεύμονος, στομάχου. Ακόμη και σε ασθενείς με σάρκωμα ή και λέμφωμα έχουν καταγραφεί αυξημένα επίπεδα του TPA. Η μέτρηση του **TPS** εφαρμόζεται κύρια **στον καρκίνο του μαστού** (όπου σημειώνεται και υπερέκφραση της κυτταροκερατίνης CK18), αλλά και σε καρκίνους ωοθηκών, ουροδόχου κύστης, παγκρέατος.

Σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία, ο δείκτης **CYFRA 21.1 (Cytokeratin FRAGment)** θεωρείται **δείκτης πρώτης επιλογής σε μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα**, αν και αδυνατεί να αποτελέσει διαγνωστικό εργαλείο ή δοκιμασία προληπτικού ελέγχου στο είδος αυτής της κακοήθειας. Εν τούτοις βοηθά τον κλινικό στην ταξινόμηση των ασθενών πριν τη θεραπεία, στην παρακολούθηση της ανταπόκρισης των ασθενών στη θεραπεία και στην έγκαιρη διάγνωση των υποτροπών. Αξίζει να προστεθεί ότι η CK19 (που ανιχνεύει το CYFRA 21.1) υπερεκφράζεται σε όλους τους τύπους καρκίνου του πνεύμονα. Ο συνδυασμός CYFRA 21.1 και TPA αυξάνει σημαντικά την ευαισθησία για το μεγαλοκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα.

Επισημαίνεται ότι ενώ κανένας κυτταροκερατινικός δείκτης δεν μπορεί να υποκατα-

στήσει τον άλλο, η συνδυασμένη χρήση τους, παράλληλα με κάποιον άλλον «ιστοειδικό» δείκτη προτείνεται σαν η καλύτερη λύση.⁶⁷⁻⁷⁵

7. ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

S-100

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

Ένα σημαντικό κλάσμα του S100 εντοπίζεται στις κυτταρικές μεμβράνες, από όπου θεωρείται ότι υπεισέρχεται στην ρύθμιση/συγκρότηση του κυτταροσκελετού και την μεταγωγή σήματος (signal transduction). Επίσης θεωρείται ότι επιδρά σημαντικά στην διακυτταρική επικοινωνία. Τουλάχιστον 21 μέλη της πολυγονιδιακής οικογένειας των πρωτεϊνών S100 έχουν περιγραφεί, χωρίς όμως να έχει διευκρινισθεί ο ακριβής τους ρόλος. Το MB της κάθε υπομονάδος της S100 ανέρχεται σε ~10.5 kDa και ο χρόνος ημιζωής της S100B υπολογίζεται ~30 λεπτά.

Ενδοκυτταρικά ευρίσκεται υπό μορφή ομο- ή ετεροδιμερών των υπομονάδων α (S100A1) και β (S100B) ($\alpha\beta$ =S100A1, $\beta\beta$ =S100BB, $\alpha\beta$ =S100A1B) και με την μορφή αυτή έχει ικανότητα πρόσδεσης ασβεστίου, δρώντας σαν υποδοχέας ασβεστίου και ρυθμίζοντας έτσι τον ενδοκυτταρικό μεταβολισμό του. Σε πειραματικές μελέτες δείχθηκε ότι το ύψος της ενδοκυτταρικής έκφρασης του S100 σε κακοήθη κύτταρα (κυρίως μελανώματος, λιγότερο θυρεοειδούς και νεφρού) είναι ανάλογο του βαθμού κακοήθειας.

Τα υπάρχοντα εμπορικά kits ανοσοανάλυσης για το S100 ανιχνεύουν στην ουσία την S100B και το 95% των υγιών εμφανίζει τιμές στον ορό κάτω του 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 ΔΚ του ορού για το κακόηθες μελάνωμα (S100, LASA, NSE, β HCG), το S100B θεωρείται ο καλύτερος δείκτης για πρόγνωση, παρακολούθηση υποτροπής και ανταπόκρισης σε θεραπεία. Βρέθηκε ότι ασθενείς III και IV σταδίου μεταστατικού μελανώματος με φυσιολογικές τιμές S100B εμφάνιζαν ένα στατιστικά σημαντικό πλεονέκτημα επιβίωσης. Το S100B σχετίζεται άμεσα με το φορτίο του όγκου (tumour burden) και μία μεταβολή των τιμών του από φυσιολογικές σε παθολογικές, σε ασθενείς με μελάνωμα, είναι ενδεικτική μετάστασης τοπικής, είτε απομακρυσμένης.

Σημειώνεται ότι το S100 αυξάνεται στο ορό ασθενών με βλάβες στα εγκεφαλικά κύτταρα, όπως το ισχαιμικό εγκεφαλικό και οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις, όπου θεωρείται σημαντικός προγνωστικός δείκτης.⁷⁶⁻⁷⁹

Χρωμογρανίνη A – CgA

Οι χρωμογρανίνες και η νευροενδοκρινής εκκριτική πρωτεΐνη NESP55 αποτελούν

μια οικογένεια υδατοδιαλυτών, όξινων γλυκοπρωτεϊνών που εντοπίζονται στο υπόστρωμα των εκκριτικών κοκκίων. Η σημαντικότερη από αυτές είναι η **χρωμογρανίνη Α**, που αποτελείται από 439 αμινοξέα και έχει MB 48-60 kDa. Το γονίδιο της βρίσκεται στο χρωμόσωμα 14.

Η έκφραση της CgA γίνεται 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, παγκρεασίνη, WE-14, LL-33, GE-25 και παραστατίνη. Τα μόρια αυτά θεωρούνται ρυθμιστές (modulators) ενδοκρινούς και εξωκρινούς έκκρισης. Μετά την μετάφρασή του, το μόριο της CgA γλυκοζυλιώνεται και ακολουθούν διάφορες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις στα πεπτιδία που προκύπτουν. Το αμινοτελικό άκρο της CgA, που αντιστοιχεί στην βασοστατίνη, έχει ιδιότητες διμερισμού. Ο φυσιολογικός ρόλος της CgA δεν έχει διευκρινισθεί, πάντως θεωρείται ότι δεν περιορίζεται στην ρύθμιση της αποθήκευσης και έκκρισης ορμονών και βιογενών αμινών από τα νευροενδοκρινή κύτταρα, αλλά επεκτείνεται και στον έλεγχο της κυτταρικής προσκόλλησης.

Η CgA αξιολογείται **ως ο πλέον αξιόπιστος δείκτης για όγκους νευροενδοκρινούς προέλευσης κυρίως λόγω της ειδικότητας της CgA, αντικατοπτρίζοντας τόσο το φορτίο του όγκου, όσο και τον βαθμό νευροενδοκρινούς διαφοροποίησης**. Σημαντικό είναι επίσης ότι δεν επηρεάζεται από την αιμόλυση, όπως η NSE.

Αποτελεί χρήσιμο κλινικό εργαλείο για τον μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (ΜΚΚΠ), τους νευροενδοκρινείς όγκους του γαστρεντεροπαγκρεατικού συστήματος (πχ καρκινοειδείς όγκοι), το φαιοχρωμοκύττωμα, το νευροβλάστωμα, το μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς, ακόμη και το αδενοκαρκίνωμα προστάτη με εστιακή νευροενδοκρινή διαφοροποίηση. Η μέτρηση της CgA είτε υπερτερεί άλλων δεικτών στη παρακολούθηση ανταπόκρισης των ασθενών στη θεραπεία (ΜΚΚΠ, καρκινοειδές εντέρου), είτε συντελεί στην βελτίωση της διαγνωστικής ευαισθησίας σε συνδυασμό με άλλους ΔΚ (φαιοχρωμοκύττωμα), είτε αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη επιβίωσης (καρκινοειδές εντέρου, καρκίνος προστάτη).

Το πλήθος των πεπτιδίων που προκύπτει από την πρωτεολυτική σχάση της CgA και κυκλοφορεί στο αίμα δημιουργεί την απαίτηση το σύνολο αυτών των πεπτιδίων να ανιχνεύεται με τα υπάρχοντα εμπορικά kits ανοσοπροσδιορισμών. Όμως αυτό δεν συμβαίνει, με αποτέλεσμα η κλινική αξία των διαφόρων προσδιορισμών CgA να ποικίλλει ανάλογα με τις δυνατότητες των αντισωμάτων του εκάστοτε kit. Το πρόβλημα αυτό φαίνεται να ξεπερνιέται με την παραγωγή ενός ανοσοπροσδιορισμού sandwich, όπου δύο μονοκλωνικά αντισώματα κατευθύνονται έναντι της μεσαίας περιοχής του μορίου, η οποία εκτίθεται λιγότερο σε πρωτεολυτική σχάση.

Σημειώνεται ότι κλινικές καταστάσεις όπως η νεφρική ανεπάρκεια και η χρόνια ατροφική γαστρίτις επιφέρουν αύξηση στα επίπεδα της CgA στον ορό. Το ίδιο παρατηρείται και σε ασθενείς υπό θεραπεία με κορτικοστεροειδή (30%).⁸⁰⁻⁸³

Αναστολέας θρυψίνης σχετιζόμενος με όγκο TATI –Tumour –associated Trypsin inhibitor

Ο δείκτης TATI απομονώθηκε αρχικά από ούρα ασθενούς με καρκίνο ωοθηκών και

είναι ένας **ισχυρός αναστολέας της θρυψίνης**, χαμηλού MB 6 kDa, αποτελούμενος από 56 αμινοξέα, του οποίου το γονίδιο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 5. Ο TATI είναι ταυτόσημος με τον ενωρίτερα περιγραφέντα PSTI (αναστολέας θρυψίνης εκκρινόμενος εκ παγκρέατος), ο οποίος ονομάζεται και αναστολέας Kazal. Εκφράζεται ισχυρά μαζί με το θρυψινογόνο από τα παγκρεατικά κυψελοειδή κύτταρα και εκκρίνεται στο παγκρεατικό υγρό. Η έκφραση του TATI στο πάγκρεας θεωρείται ότι προστατεύει τα παγκρεατικά κύτταρα από την δράση του παράλληλα εκφραζόμενου θρυψινογόνου. Λόγω του μικρού του MB απεκκρίνεται από τα νεφρά και έχει χρόνο ημιζωής 6 λεπτά. Ως εκ τούτου η νεφρική ανεπάρκεια προκαλεί αύξηση του TATI, όπως επίσης και η παγκρεατίτιδα, τα οξέα φλεγμονώδη νοσήματα και οι οξείες τραυματισμοί.

Η συγκέντρωσή του στον ορό προέρχεται κατά ένα μέρος από το πάγκρεας, ενώ άλλες πηγές είναι το ήπαρ και ο γαστρεντερικός βλεννογόσος. Εκφράζεται σε μικρότερες συγκεντρώσεις και σε άλλους υγείς ιστούς, ιδιαίτερα του γαστρεντερικού και του ουροποιογεννητικού συστήματος, αλλά και στην ουροδόχο κύστη, στα χοληφόρα, στους νεφρούς, στον πνεύμονα, στο ήπαρ και στον μαστό.

Τα καρκινώματα που προέρχονται 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 στις ωοθήκες, το δε ύψος της τιμής του TATI στις ασθενείς III και IV σταδίου αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα κακής κατάληξης. Τα υψηλά επίπεδα του TATI επίσης αποτελούν ένδειξη κακής πρόγνωσης για τον καρκίνο του στομάχου και του νεφρού, πιθανότατα δε και για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης. Θεωρείται επίσης χρήσιμος δείκτης στους ασθενείς με ΗΚΚ και αρνητική AFP.

Η προγνωστική του αξία φαίνεται να σχετίζεται με την παράλληλη έκφραση και της θρυψίνης σε πολλούς όγκους. Έτσι η έκφραση του TATI πιθανόν να αντικατοπτρίζει την έκφραση της θρυψίνης στον όγκο. Υπενθυμίζεται ότι η θρυψίνη ενεργοποιεί πρωτεάσες που σχετίζονται με την διήθηση των νεοπλασμάτων, πχ. την προουροκινάση, και τις MMP-2 και MMP-9, οι οποίες συχνά συναντώνται στους ίδιους όγκους με την θρυψίνη. Είναι λοιπόν πιθανόν ότι η θρυψίνη συμμετέχει σε καταρράκτη πρωτεασών που σχετίζονται με την νεοπλασματική διήθηση και εξ αυτού να ερμηνεύεται και ο προγνωστικός ρόλος του TATI⁸⁴.

Αντιγόνο εκ καρκινώματος πλακωδών κυττάρων SCC - Squamous cell carcinoma antigen

Το αντιγόνο εκ καρκινώματος πλακωδών κυττάρων SCC πρωτοπεριγράφηκε το 1977 από τους Kato και Torigue και αρχικά ονομάσθηκε TA-4. Απομονώθηκε από κύτταρα ανθρώπινου καρκινώματος του τραχήλου της μήτρας και αποτελείται από τουλάχιστον 10 κλάσματα, διαφορετικών ισοηλεκτρικών σημείων, MB 42-48 kDa, που χονδρικά διακρίνονται σε δύο ομάδες, εκείνη με $pI < 6.5$ και εκείνη με $pI = 6.5$. Τα μεν μόρια SCC της αλκαλικής ομάδος ευρίσκονται γενικά ενδοκυτταρικά, ενώ τα μόρια SCC της όξινης συχνά αυξάνονται σε περιπτώσεις επιθηλιακού καρκίνου ή σε ορισμένες μη κακοήθεις αλλοιώσεις των επιθηλίων και εύκολα ελευθερώνονται στον εξωκυττάριο χώρο. Σε επίπεδο γονιδίων έχουν βρεθεί δύο γονίδια, το SCCA1 και το SCCA2

στο 18q21.3 γονιδιακό τόπο. Έχει βρεθεί ότι το γονίδιο SCCA1 κωδικοποιεί την ουδέτερη ομάδα του πρωτεϊνών SCC και το SCCA2 την όξινη.

Η αμινοξική αλληλουχία του SCC αποκάλυψε μεγάλη ομολογία του μορίου με την οικογένεια των αναστολεων των πρωτεασών σερίνης (serpins–serine protease inhibitors). Το SCC αναστέλλει την χυμοθρυψίνη και παρεμβαίνει στη δράση των πρωτεασών κυστεΐνης, όπως η παπαΐνη, η καλπαΐνη 1 και η καθεψίνη D. Σημειώνεται ότι διάφορες πρωτεάσες κυστεΐνης θεωρείται ότι διαμορφώνουν την τελική διαφοροποίηση του επιθηλίου της επιδερμίδος. Η παραγωγή του SCC και η εκροή των όξινων μορφών του επηρεάζεται από την συγκέντρωση του ασβεστίου, καθώς και του TNFα, δηλ. επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Εν τέλει το SCC φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην βιολογική συμπεριφορά των επιθηλιακών κυττάρων και εικάζεται ότι υπεισέρχεται στην **κυτταρική συγκόλληση και την απόπτωση**.

Οι τιμές του SCC του ορού στο 95% περίπου των υγιών γυναικών είναι μικρότερες του 1.5 ng/ml. Αύξηση των τιμών του δείκτη συμβαίνει σε διάφορες καλοήθειες αλλοιώσεις των επιθηλιακών κυττάρων, όπως πνευμονική νόσος (οξείες λοιμώξεις), φλεγμονώδη δερματικά νοσήματα (πέμφιγα, ψωρίαση, γενικευμένο έκζεμα). Επίσης νεφρικές και ηπατικές δυσλειτουργίες μπορούν να επιφέρουν αύξηση των επιπέδων του στον ορό.

Ο δείκτης έχει αποδειχθεί χρήσιμος κυρίως στην παρακολούθηση ασθενών με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και επιθηλιακό καρκίνο του πνεύμονα.^{2,4e,85,86}

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΚΛΑΣΣΙΚΩΝ ΔΚ

Οι ανοσοαναλύσεις που έχουν επιλεγεί 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 αυτή οφείλεται τόσο στο υψηλό MB των προσδιοριζόμενων μορίων (ΔΚ), όσο και στις μεγάλες απαιτήσεις για ευαισθησία. Άμεσες συνέπειες της αυτοματοποίησης των ανοσοαναλύσεων είναι η ευκολία και η ταχύτητα του χειρισμού των δειγμάτων, το χαμηλό κόστος και η δυνατότητα συχνής επανάληψης 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 πανάκεια, και στην αντίδραση Ag-Ab, μπορούν να παρέμβουν πολλοί παράγοντες και να αλλοιώσουν τα αποτελέσματα προς ψευδώς θετικά ή ψευδώς αρνητικά.

Τα κύρια προβλήματα στους προσδιορισμούς των ΔΚ προέρχονται από παρεμβολή **ποικιλίας προαναλυτικών και αναλυτικών παραγόντων** (Πίνακας 5), σημαντικότεροι των οποίων είναι^{13,20,87-90}:

A. α1. Το ίδιο το δείγμα του αίματος. Η *παρατεταμένη φλεβική στάση* κατά την αιμοληψία μπορεί να αυξήσει την συγκέντρωση των πρωτεϊνών του πλάσματος κατά 5%, και κατά συνέπεια και των αντιγόνων που σχετίζονται με αυτές. Συνήθως για την μέτρηση ΔΚ επιλέγεται δείγμα ορού, όμως αναφορικά με την χρήση πλάσματος, ενώ συνήθως το αντιπηκτικό ηπαρίνης–λιθίου είναι κατάλληλο, εκείνο του *EDTA* απαιτεί προσεκτική χρήση λόγω των χηλικών ιδιοτήτων του ως προς τα μεταλλικά ιόντα, είτε ως σημάτων (labels), είτε ως συμπαραγόντων δραστηριότητας ενζύμων.

Πίνακας 5. Παράγοντες αύξησης των δεικτών καρκίνου ανεξαρτήτως παρουσίας όγκου

Φυσιολογικά φαινόμενα								
Γενε- τικοί Κληρ/ μικοί	Φυλε- τικοί	Ηλικία	Κιρκ/ κος ρυθ- μός	Εμμ. ρύση	Εγκ/σύνη	Συνή- θειες εξάρτη- σης	Θεραπευτικοί παράγοντες	Διαγνωστικές τεχνικές
AFP PLAP	CEA	B ₂ M CA-125 CA-15.3 CAM26 CAM29 CEA TATI UGP ALP	CEA CA- 15.3 PSA PAP TK	CA-125	AFP CA-125 CA-19.9 CEA Φερριτίνη HCG MCA PLAP hTG SP-I TPA TPS	αλκοόλ: CEA καπνός: CEA PLAP hTG	Μεταγγίσεις: Φερριτίνη Κύτταρα: AFP CEA HCG PLAP SP-I β-IFN: B ₂ M γ-IFN: B ₂ M α2-rec-IFN: B ₂ M	Δακτυλική προστάτου: PSA, PAP Ανοσοσπινθηρογράφημα/HAMA: CEA CA-19.9 CA-125 Βρογχοκόπηση: TPA Χολαγγειογραφία, Λιθοτριψία CA-19.9 Βιοψία λεπτής βελόνης Θυρεοειδούς: hTG Προστάτου: PSA, PAP

Η αιμόλυση και η υπερχολερυθριναιμία επιδρούν λιγότερο στις ανοσοαναλύσεις απ'ότι στις κλασικές μεθόδους οπτικής απορρόφησης, αν και ικτερικοί οροί είναι δυνατόν να εμφανίσουν αυξημένες τιμές PSA. Η *λιπαιμία* μπορεί να επιφέρει παρεμβολές είτε στον προσδιορισμό λιποδιαλυτών ουσιών, όπως τα στεροειδή, είτε στις ανοσοαναλύσεις που χρησιμοποιούν θολωσιμετρία.

α2. Η ίδια την φύση των ΔΚ, όπως,

1. Η παρουσία διαφόρων μορίων συγγενών της HCG αναλόγως του ιστολογικού τύπου του όγκου (ελεύθερη β-HCG, ελεύθερη α-HCG υπομονάδα, κλάσμα β-core).
2. Η ύπαρξη διαφόρων μοριακών μορφών PSA (ολικό, ελεύθερο, σύμπλοκο PSA), καθώς και εξωπροστατικών πηγών PSA.
3. Μεταβολές στην πεπτιδική ή/και την υδατανθρακική άλυσση των μορίων των ΔΚ, αποδιδόμενες σε φυσιολογικές ή κακοήθεις λειτουργίες, π.χ. HCG, AFP.
- 4α. Λόγω παρουσίας της NSE στα ερυθροκύτταρα, τα πλάσματοκύτταρα και τα αιμοπετάλια, η έστω και ελαφρά αιμόλυση προκαλεί σε διάφορο βαθμό διαφυγή του δείκτη στον ορό και συνεπώς σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα.
- 4β. Επειδή η NSE ελευθερώνεται και από τα αιμοπετάλια, κάθε καθυστέρηση διαχωρισμού του ορού από το ληφθέν πύγμα πέραν της 1 ώρας οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων της
- 5α. Η παρουσία του SCC φυσιολογικά στον ιδρώτα, τον σίελο και άλλα βιολογικά υγρά του σώματος σε σημαντικά επίπεδα μπορεί, λόγω απρόσεκτων χειρισμών, να επιμο-

λύνει τα δείγματα όπου ο δείκτης αυτός πρόκειται να προσδιορισθεί με συνέπεια ψευδώς θετικά αποτελέσματα.

56. Επίσης το CA 19-9 και σε μικρότερο βαθμό το CEA περιέχονται στο σίελο.

B. 61. Το πλήθος και την ποικιλία των αναδυομένων εμπορικών kits

62. Τα χρησιμοποιούμενα αντιδραστήρια στην ανοσοανάλυση, όπως το pH και η ιονική ισχύς των buffer, το είδος των αντισωμάτων, η σήμανση (ιδιαίτερα η ραδιενεργός), ο διαχωρισμός του συμπλόκου αντιγόνου-αντισώματος από τα ελεύθερα συστατικά.

63. Η «επίδραση αγκίστρου» ή “hook-effect”, που χαρακτηρίζεται από παραγωγή τεχνητά χαμηλών αποτελεσμάτων σε δείγματα με εξαιρετικά υψηλή τιμή, η οποία υπερβαίνει κατά πολύ την συγκέντρωση του ανώτερου βαθμονομητού (calibrator) της ανοσοανάλυσης. Οι εξετάσεις που περισσότερο επηρεάζονται είναι όσες είναι δυνατόν να εμφανίσουν εύρος συγκεντρώσεων πολλών τάξεων μεγέθους, όπως η AFP, το CA 125, η HCG, η φερριτίνη, η προλακτίνη, η TSH και το PSA. Η εμφάνιση του “hook-effect” μπορεί να μειωθεί (αλλά όχι να εξαλειφθεί) με προσεκτικό σχεδιασμό της ανάλυσης.

Γ. Οι ατομικοί παράγοντες κάθε ασθενούς.

γ1. Κατά την παρακολούθηση ενός κακοήθους νοσήματος είναι δυνατόν να παρατηρηθούν μη ειδικές μεταβολές των επιπέδων των ΔΚ λόγω μιας ποικιλίας καλοήθων παθολογιών. Π.χ. οι **φλεγμονώδεις καταστάσεις** αποτελούν συχνό αίτιο αύξησης των ΔΚ. Διαδικασίες που οδηγούν σε **αιμοαραίωση**, όπως η παρεντερική διατροφή και η μετάγγιση αίματος, μπορούν να προκαλέσουν ψευδή μείωση των προσδιοριζόμενων των ΔΚ.

Επί πλέον η **παρουσία αυτοαντισωμάτων, ρευματοειδών παραγόντων, πρωτεϊνών του συμπληρώματος, της λυσοζύμης και ετεροφιλικών αντισωμάτων γενικών** (αντισώματα έναντι ζωικών επιτόπων από επαφή με ζώα) ή **ειδικών** (αντισώματα HAMA-human anti-mouse antibodies από ανοσοσπινθηρογράφημα, αντισώματα λόγω εμβολιασμού) προκαλούν παρεμβολές στις ανοσοαναλύσεις, οι οποίες οδηγούν σε ψευδώς θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα.

Προβλήματα μπορεί να προκύψουν σε δείγματα ασθενών με **παραπρωτεϊναιμία**, όπου λόγω του χαμηλού ιξώδους και λειψής δειγματοληψίας οδηγούμαστε σε πλασματικά χαμηλές τιμές ΔΚ. Οι **παραπρωτεΐνες** μπορούν επίσης να προσδεθούν μη ειδικά στα αντιδραστήρια και στα υπό ανίχνευση αντιγόνα και να επηρεάσουν το αποτέλεσμα.

γ2. Η χορήγηση θεραπευτικών φαρμάκων Παρεμβολές είναι δυνατόν να προκληθούν και από την παρουσία ραδιοϊσοτόπων (στα RIA), προσμείξεις ιχνηθετών, αλλά ακόμη και από την χρήση ενδοφλεβίων φθοριζουσών ουσιών για οφθαλμικές εξετάσεις. Επίσης στον ορό ασθενών που λαμβάνουν φαρμακευτικά σκευάσματα που περιέχουν δικά και τρισθενή μεταλλικά ιόντα, ανάλογα πουρινών, ινδολών και γουανιδινών (Isoket, Isortin), βιταμίνη C, cis-πλατίνη, μιτομυκίνη, οιστραδιόλη, επιρουβικίνη μπορεί να παρατηρηθούν ψευδώς αυξημένα επίπεδα PSA.

γ3. Επιθετικές χημειοθεραπείες και ακτινοθεραπείες μπορούν να προκαλέσουν μαζική καταστροφή καρκινικών κυττάρων, φαινόμενο που συνεπάγεται μεν την πρόσκαιρη αύξηση των κυκλοφορούντων ΔΚ, όμως δεν θα πρέπει να ερμηνεύεται σαν αντίσταση στην θεραπεία. Επίσης ορισμένες θεραπείες διεγείρουν την σύνθεση των ΔΚ, π.χ. έχει παρατηρηθεί αύξηση της σύνθεσης του CEA κατά την θεραπεία με ιντερφερόνη. Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι η ταξόλη τροποποιεί την σύνθεση του CA 125 στον καρκίνο των ωοθηκών. Η έκφραση του PSA στον προστάτη ελέγχεται από τα ανδρογόνα και την

GnRH (gonadotropin releasing hormone). Τα ανδρογόνα προκαλούν αύξηση της έκφρασης του PSA επιδρώντας στην περιοχή του υποκινητού του γονιδίου του PSA.

γ4. Η λύση των κυττάρων μετά από εγχείρηση μπορεί επίσης να ενισχύσει την εκροή των ΔΚ στην κυκλοφορία, επιφέροντας πρόσκαιρα ψευδώς θετικές αυξήσεις των επιπέδων των ΔΚ. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται στην αποτίμηση των επιπέδων του CA 125 μετά από χειρουργείο κοιλίας, ειδικά στους ασθενείς με προεγχειρητική τιμή CA 125 εντός των τιμών αναφοράς ή μέτρια αυξημένο.

γ5. Οι διαγνωστικές τεχνικές που επηρεάζουν το ύψος των τιμών των ΔΚ μπορεί να είναι είτε μη παρεμβατικές, όπως η δακτυλική εξέταση του προστάτη και το ανοσοσπινθηρογράφημα (παρουσία HAMA στον ορό), είτε παρεμβατικές, όπως η βρογχοσκόπηση, η λιθοτριψία, η χολαγγειογραφία, η βιοψία λεπτής βελόνης του θυρεοειδούς ή του προστάτη (Πίνακας 5).

Ειδικότερα για το PSA, που συχνά χρησιμοποιείται πλέον και σαν δείκτης μαζικού προληπτικού ελέγχου για τον καρκίνο του προστάτη, σημειώνεται ότι⁹⁰:

- A. Το φαινόμενο της αύξησης του PSA με την ηλικία αποδίδεται κύρια στην αντίστοιχη αύξηση του όγκου του προστατικού αδένου, των φλεγμονών, των εμφράκτων, στη φυσιολογική γήρανση του αδένου που μπορεί να επιτρέπει τη διαρροή (leakage) PSA στον ορό (Πίνακας 6).
- B. Η αύξηση της διακύμανσης του PSA με την ηλικία αποδίδεται στη μεγαλύτερη αντίστοιχα μεταβλητότητα των επιπέδων των ανδρογόνων στην κυκλοφορία, σε διάφορες ενδογενείς προσβολές του προστάτη και σε άλλους φυσιολογικούς παράγοντες που επηρεάζονται από το περιβάλλον. Πάντως ο λόγος free/total PSA δείχνει να είναι ανεξάρτητος από την ηλικία. Η χρήση ορίων tPSA σχετιζόμενων με την ηλικία (age-related reference ranges) συνηθίζεται σε άνδρες νεώτερους των 60 ετών, κατηγορία στην οποία η αύξηση του ποσοστού διάγνωσης του καρκίνου του προστάτη θα επιφέρει ουσιαστική ωφέλεια από την αντίστοιχη θεραπεία.
- Γ. Ενδιαφέρον είναι ότι υπάρχουν διαφορές στις συγκεντρώσεις του PSA του ορού μεταξύ φυλετικών ομάδων. Οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί 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 6.
- Δ. Αναφορικά με τη συλλογή και τη φύλαξη ορού για μέτρηση tPSA και fPSA, σημειώνεται ότι εάν πρόκειται να μετρηθεί tPSA, το δείγμα μπορεί να φυλαχτεί μέχρι 7 ημέρες στους 4°C ή μέχρι 2 έτη στους -70 °C. Εάν όμως θα μετρηθεί και fPSA ή complex PSA, το δείγμα δεν μπορεί να φυλαχτεί για περισσότερο από 2 ημέρες

Πίνακας 6. 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

στους 4°C και μέχρι 2 έτη στους -70°C. Επί πλέον συνιστάται ο αποχωρισμός του ορού να επισπευσθεί στα παραπάνω δείγματα.

Τέλος, πέρα από τις κλινικές οδηγίες, **η συνεχής επικοινωνία και συνεργασία κλινικών και εργαστηρίου** έχει μεγάλη σημασία. Όπως είναι γνωστό, οι δείκτες καρκίνου δεν είναι εξετάσεις αδρού ελέγχου και η συμβολή τους στη διάγνωση είναι συμπληρωματική. Επομένως, η αποστολή στο εργαστήριο δειγμάτων ασθενών για εξετάσεις δεικτών καρκίνου πρέπει να περιορίζεται στα περιστατικά όπου πραγματικά στοιχειοθετείται μία τέτοια αναγκαιότητα.

B. Δείκτες ανοσιακής απάντησης

a. Ανοσιακή αναγνώριση των όγκων

Η ανάπτυξη γενετικών και βιοχημικών τεχνικών χαρακτηρισμού των αντιγόνων που σχετίζονται με όγκους απετέλεσε τη βάση πολύ χρήσιμων εργαλείων για την ανοσολογία του καρκίνου και συνετέλεσε σημαντικά στη σύγχρονη αντίληψη ότι η ανοσιακή αναγνώριση των όγκων συμβαίνει συχνά, αν όχι πάντα, σε άτομα που εμφανίζουν όγκους. Ενδεικτικά σημειώνεται ότι η ανάπτυξη καρκίνου συστηματικά συνοδεύεται από (α) υψηλό τίτλο IgG αντισωμάτων έναντι μεγάλης ποικιλίας προϊόντων γονιδίων σχετιζομένων με όγκους, (β) παρουσία CD4+ και CD8+ T-λεμφοκυττάρων που αντιδρούν με αντιγόνα όγκων τόσο στο περιφερικό αίμα, όσο και στα λεμφοζίδια και τους όγκους διαφόρων ασθενών, (γ) έκφραση οικογένειας γονιδίων που σχετίζονται με το στρες, τα προϊόντα των οποίων προκαλούν αποκρίσεις των NK κυττάρων και άλλων κυτταροτοξικών κυττάρων. Αναφορικά με την αντιγονικότητα των όγκων, μπορούμε να 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)¹⁴. (Πίνακας 7)

Επιδημιολογικά δεδομένα δείχνουν ότι ασθενείς με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα είτε από γενετικές, είτε από επίκτητες αιτίες (μόλυνση βακτηριακή ή παρασιτική, ανοσοκαταστολή κλπ) εμφανίζουν αυξημένη συχνότητα ορισμένων τύπων κακοήθειας (λεμφώματα, σάρκωμα Kaposi, επιθηλιακά καρκινώματα αιδοίου, περινέου, δέρματος, τραχήλου μήτρας καρκινώματα στομάχου, ουροδόχου κύστης και ηπατοχολικής οδού) οι οποίοι συχνά σχετίζονται με τόσο με ιούς και όσο και με μικροβιακούς παράγοντες, (EBV, HBV, HCV, PV, HV, helicobacter pylori, σχιστοσωμίαση). Αντίθετα στους ασθενείς αυτούς η συχνότητα των καρκίνων που συνήθως παρατηρούνται και στον γενικό πληθυσμό (καρκίνοι πνεύμονα, προστάτη, μαστού, κολοορθικοί καρκίνοι) δεν είναι αυξημένη. Θεωρείται ότι μέχρι και 15% των κακοήθων νόσων μπορεί να αποδοθεί σε μολύνσεις. Άλλες γνωστές αιτίες χρόνιας φλεγμονής που σχετίζεται με την εμφάνιση κακοήθειας είναι οι χημικές ερεθιστικές ουσίες και τα μη πεπτόμενα σωματίδια.

Αρκετές μελέτες της ανοσιακής απάντησης του ξενιστή σε καρκίνους αρχικού σταδίου υπογραμμίζουν τον πιθανό ρόλο της ανοσίας στην εξασθένηση της εξέλιξης του όγκου είτε/και υποστηρίζουν την ύπαρξη συστήματος ανοσοεπιτήρησης. Αν και υπάρχουν ενδείξεις ότι η ανοσοεπιτήρηση κατά όγκων στρέφεται μάλλον κατά ιικών ή λοιμογόνων παραγόντων, παρά κατά της ανάπτυξης αυτών καθ'εαυτών των νεοπλασματικών κυττάρων.

Πίνακας 7. Αντιγόνα Όγκων

Ειδικά αντιγόνα όγκων TSAs	Αντιγόνα σχετιζόμενα/συνδεόμενα με τους όγκους TAAs
1. TSAs που επάγονται από χημικά καρκινογόνα 2. TSAs που επάγονται από ιούς 3. TSAs των αυτομάτως εμφανιζομένων όγκων	1. Ογκοεμβρυικά αντιγόνα (πχ. CEA, AFP) 2. Αντιγόνα διαφοροποίησης (πχ. CD10/CALLA στις Β-κυτταρικές λευχαιμίες και λεμφώματα, CD34 στις μυελογενείς λευχαιμίες) 3. Φυσιολογικά αντιγόνα με τροποποιημένη γλυκοζυλίωση που εκφράζονται σε όγκους (πχ. θλεννίνη MUC1)
Τα TSAs προκαλούν δύσκολα αντισωματική αντίδραση και απομονώνονται δύσκολα με τεχνικές ανοσοκαθίζησης. 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

Επιδημιολογικές μελέτες τονίζουν την στενή σχέση μεταξύ **χρόνιας φλεγμονώδους νόσου** και καρκίνου. Γενικά θεωρείται ότι ο κίνδυνος ανάπτυξης νεοπλασίας αυξάνεται με την παρουσία μιας επιμένουσας φλεγμονής, και όχι με την οξεία φλεγμονώδη αντίδραση λόγω μιας πρόσκαιρης λοίμωξης, παρότι και στις δύο περιπτώσεις παράγονται οι ίδιοι μοριακοί διαμεσολαθητές. Η φλεγμονή προκαλεί σημαντική αύξηση στην ανανέωση των φυσιολογικών κυττάρων, φαινόμενο - που σε συνδυασμό με την ικανότητα των φαγοκυττάρων να επιφέρουν βλάβες στο DNA μέσω έκθεσής του στα δραστικά ενδιάμεσα O και N που παράγουν τα φαγοκύτταρα - μπορεί εν τέλει να οδηγήσει σε κακοήθεια. Επί πλέον είναι γνωστό ότι μη στεροειδείς αντιφλεγμονώδεις παράγοντες μειώνουν σημαντικά την πιθανότητα ανάπτυξης όγκων σε ασθενείς με σύνδρομο πολυποδιάσης.

Κλειδί στις λειτουργίες της φλεγμονώδους διεργασίας αποτελεί η οικογένεια των **κυτταροκινών**. Η φυσιολογική φλεγμονή είναι αυτοπεριοριζόμενη αφού την παραγωγή των κυτταροκινών που προάγουν την φλεγμονή (κυτταροκίνες T_H1 πχ. IL-1, TNF- α , IFN- γ), ακολουθεί η παραγωγή των αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών (κυτταροκίνες T_H2 πχ. IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13). Εν τούτοις η χρόνια φλεγμονή φαίνεται να οφείλεται στην επιμονή των παραγόντων έναρξης ή στην αδυναμία των μηχανισμών που απαιτούνται για την διάλυση της φλεγμονώδους απόκρισης.

Οι κυτταροκίνες ασκούν ρόλους-κλειδιά και στην καρκινογένεση. Αφ' ενός μπορούν να υπεισέλθουν στην ενεργοποίηση των μηχανισμών ανοσίας για τον περιορισμό της ανάπτυξης ενός όγκου, αφ' ετέρου μπορούν να υπεισέλθουν στον κακοήθη μετασχηματισμό, την ανάπτυξη του όγκου, τη διήθηση και τη μετάσταση.

(α) Οι κυτταροκίνες παράγονται από τα κύτταρα του στρώματος (extracellular matrix) και τα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος του ξενιστή σε απάντηση των μορίων που εκκρίνουν τα καρκινικά κύτταρα ή ως στοιχείο της φλεγμονής που συχνά συνοδεύει την ανάπτυξη ενός όγκου. Ο φλεγμονώδης βραχίονας ενός αναπτυσσόμενου καρκίνου, εκτός

του ότι ευοδώνει την παραγωγή **πρωτεϊνών οξείας φάσεως** (αμυλοειδές Α, CRP κ.α.) περιλαμβάνει ένα ποικίλο πληθυσμό λευκοκυττάρων που μεταβαλλόμενα εκκρίνει ένα φάσμα **κυτταροκινών** (πχ. TGF-β, TNF, IL-1 που προάγουν την αγγειογένεση), κυτταροτοξικών διαμεσολαθτητών, όπως **μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος, χημειοκίνες, ελεύθερες ρίζες** ενεργών μορίων O και N (προκαλούν μόνιμες βλάβες στο DNA), **πρωτεάσες** σερίνης, κυστεΐνης και μεταλλοπρωτεάσες (πχ. MMP-9), **παράγοντες διάτρησης της μεμβράνης** και διαλυτές κυτταροκίνες που προάγουν την κυτταρο-διαμεσολαβούμενη κυτταροτοξικότητα, όπως οι IFNs, TNF και διάφορες ιντερλευκίνες.

β) Συγχρόνως όμως και τα κακοήθη κύτταρα μπορούν επίσης να παράγουν διάφορες κυτταροκίνες και χημειοκίνες στο ίδιο περιβάλλον, προσελκύνοντας 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.

Σύμφωνα με το «μοντέλο κινδύνου» τα δένδριτικά κύτταρα (DC) δρουν ως κύτταρα - φρουροί που παρακολουθούν το ιστικό στρες, τη βλάβη ή/και τον ιστικό μετασχηματισμό και αναλόγως διαμορφώνουν την ανοσιακή απάντηση. Τα σήματα κινδύνου μπορούν να δράσουν επί των προδρόμων DC και να προάγουν τη διαφοροποίηση και ενεργοποίησή τους. Τα σήματα αυτά μπορεί να είναι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (heat shock proteins) εκκρινόμενες μετά από βλάβη ή νέκρωση του καρκινικού κυττάρου, παράγοντες που προάγουν την φλεγμονή, όπως κυτταροκίνες εκκρινόμενες από εκφυλιζόμενα καρκινικά κύτταρα, καθώς και δραστικά κύτταρα του ξενιστή, όπως μακροφάγα, φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα (NK) και άλλα κύτταρα χαρακτηριστικά της φυσικής ανοσίας. Τα **ογκοσχετιζόμενα αντιγόνα** (TAAs) συλλαμβάνονται από τα DC με διάφορους μηχανισμούς. Τα DC στη συνέχεια αποκτούν ένα ενεργοποιημένο ώριμο, φαινότυπο με την έκθεσή τους σε συγκεκριμένες χημειοκίνες ή/και κυτταροκίνες, μεταναστεύουν στα λεμφοζύδια, όπου επιτελείται η παρουσίαση των πεπτιδίων των προερχομένων από τα TAA στα CD4⁺ και CD8⁺ T κύτταρα. Ενεργοποιούνται επίσης και τα Β κύτταρα. Εν τέλει το περιβάλλον των κυτταροκινών που δημιουργήθηκε στο μικροπεριβάλλον του όγκου μπορεί να προσανατολίσει την ανοσιακή απάντηση στην κατεύθυνση της **ανοχής** ή της **ανοσίας**. Οι κυτταροκίνες τύπου 1 (Th 1 ανοσιακή απάντηση) κύρια επάγουν την κυτταρική ανοσία, σε αντιδιαστολή με τις κυτταροκίνες τύπου 2 (Th2 ανοσιακή απάντηση) προάγουν την χυμική ανοσία έναντι των όγκων και/ή κατευθύνουν προς μια μη προστατευτική ανοσιακή απάντηση (ανοχή).

Έχει αναφερθεί η ύπαρξη T κυττάρων ειδικών για τα TAA σε ασθενείς με μελάνωμα, λευχαιμίες και καρκινώματα, αν και είναι συχνότερη σε ασθενείς με μεταστάσεις, παρά με περιορισμένη νόσο. Παραμένει αδιευκρίνιστο κατά πόσον τα παραπάνω κύτταρα είναι σε θέση να θανατώσουν τα καρκινικά κύτταρα in vivo ή να επιδράσουν στην κλινική πορεία της νόσου.⁹¹⁻⁹⁵

6. Μόρια και μηχανισμοί που σχετίζονται με την ανοσιακή αναγνώριση των όγκων

Πρωτεΐνες Οξείας Φάσεως

β2-Μικροσφαιρίνη (B2M): Απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1968 από ούρα ασθε-

νούς πάσχοντος από σκληροδερμία πρωτεΐνουρία. Η Β2Μ σχηματίζει την ελαφρά άλυσσο των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας HLA και συνεπώς απαντάται στην κυτταρική επιφάνεια όλων των εμπύρηνων κυττάρων, και ιδιαίτερα των λεμφοκυττάρων. Η Β2Μ 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.

Η Β2Μ ανήκει στις πρωτεΐνες που σχετίζονται με οξείες και χρόνιες φάσεις φλεγμονής (Β2Μ, Α2Μακροσφαιρίνη, απτοσφαιρίνη, CRP, φερριτίνη). Η αύξηση των πρωτεϊνών αυτών στον ορό των καρκινοπαθών θεωρείται ότι αντικατοπτρίζει την απόκριση του οργανισμού στην κακοήθεια, ιδίως στα προχωρημένα στάδια της νόσου. Η Β2Μ μπορεί να θεωρηθεί σαν δείκτης κακής πρόγνωσης σε ασθενείς με χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία και πολλαπλούν μυέλωμα.

Η αύξηση των επιπέδων της Β2Μ στον ορό στις λεμφοϋπερπλαστικές νόσους είτε στις μη κακοήθεις νόσους, όπως ρευματοειδής αρθρίτις, συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, σύνδρομο Sjogren και νόσος του Crohn που συνοδεύονται από φλεγμονή, είναι και ένδειξη αύξησης του ρυθμού σύνθεσής της. Αντίθετα, στην νεφρική ανεπάρκεια η παρατηρούμενη αύξηση της Β2Μ οφείλεται σε μείωση του ρυθμού κάθαρσής της. Συγκεκριμένα, η Β2Μ απεκκρίνεται μέσω των νεφρών και, μετά από παθητική διήθηση από την σπειραματική μεμβράνη, επαναροφάται σε ποσοστό 99.8 % στο εγγύς σκληρόνιο. Επομένως η μεν παρεμπόδιση της σπειραματικής διήθησης οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων της Β2Μ στον ορό, η δε παρεμπόδιση της σκληροδερμικής λειτουργίας προκαλεί αύξηση της Β2Μ στα ούρα^{2,10}.

Φερριτίνη: Είναι μια αποθηκευτική πρωτεΐνη για τον σίδηρο, αποτελούμενη από ένα αποπρωτεϊνικό κέλυφος και μια κεντρική κοιλότητα. Το κέλυφος σχηματίζεται από 24 υπομονάδες δύο τύπων - Η και L - που το συγκροτούν σε μεταβαλλόμενες αναλογίες, ώστε να εμφανίζεται ευρύ φάσμα ισομορφών. Η αναλογία Η/L υπομονάδων εξαρτάται από τον τύπο του ιστού προέλευσης και μπορεί να μεταβληθεί σε απόκριση προς διάφορες φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις, περιλαμβανομένης και της νεοπλασίας. Χαμηλά επίπεδα φερριτίνης είναι ενδεικτικά καλής πρόγνωσης για τους καρκίνους κεφαλής και τραχήλου (head and neck). Υψηλά επίπεδα φερριτίνης παρατηρούνται σε λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα. Η φερριτίνη που ελευθερώνεται από κακοήθεις όγκους διαθέτει περισσότερο όξινο ισοηλεκτρικό σημείο από την φυσιολογική, και με βάση αυτό το στοιχείο είναι δυνατόν να διαχωριστεί με ισοηλεκτρική εστίαση.^{2,30b}

C-Αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP): Το μόριο της CRP έχει ΜΒ 105 kDa και είναι πενταμερές. Το γονίδιο που κωδικοποιεί το απλό μονομερές εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1. Η σύνθεση της CRP γίνεται αποκλειστικά στο ήπαρ και αυξάνεται ακόμη και 1000 φορές πάνω από το φυσιολογικό, έπειτα από ερέθισμα τραυματικό, λοιμώδες, αντιγονικό, φλεγμονώδες, παρουσία ισχαιμίας ή ένεκα νεοπλασίας. Θεωρείται ότι τα ηπατοκύτταρα διεγείρονται για σύνθεση CRP από την IL-1 που παράγεται από τα μονοκύτταρα και μακροφάγα ή και τα τοπικά ηπατοκύτταρα Kupffer, συμμετέχουν δε πιθανά και άλλες κυτταροκίνες στο φαινόμενο, όπως η IL-6, ο TNFα και η ιντερφερόνη.

Η CRP, λειτουργικά, έχει ικανότητα σύνδεσης με την φωσφορυλοχολίνη και τα συναφή φωσφολιπίδια, τις γαλακτάνες και τις σύνθετες πολυσακχαρίδες των μικροβίων, μυκήτων ή παρασίτων, με διάφορα πολυανιόντα, όπως το DNA, με πολυκατιόντα, όπως η ιστόνη, κα. Πάντως η CRP δεν μπορεί να συνδεθεί με ανέπαφη μεμβράνη υγιών κυττάρων, αλλά πρέπει να προηγηθεί ωσμωτική λύση της. Μπορεί όμως να

συνδεθεί - σχηματίζοντας συμπλέγματα - με διαλυτά μόρια ή τμήματά τους, με τα οποία έχει συγγένεια, και να ενεργοποιήσει τον μηχανισμό του συμπληρώματος. Η συναθροισμένη (aggregated) CRP μπορεί να διεγείρει την συγκόλληση των αιμοπεταλίων και τη λειτουργία των πολυμορφοπύρηνων. Μπορεί ακόμη να συνδεθεί με το Fc τμήμα της ανοσοσφαιρίνης των Β-λεμφοκυττάρων, καθώς και με τις λιποπρωτεΐνες LDL/VLDL του πλάσματος. Εν τέλει, η CRP λόγω των ιδιοτήτων σύνδεσης που εμφανίζει, θεωρείται ότι δρα ως «απορριματοσυλλέκτης» (scavenger) των μορίων που απελευθερώνονται κατά την ιστική βλάβη διευκολύνοντας την κάθαρσή τους. Είναι μη ειδικός δείκτης φλεγμονής και η αύξησή της στον ορό αποτελεί απόδειξη ότι ο οργανισμός άρχισε να κινητοποιεί τις μη ειδικές άμυνές του.

Στα κακοήθη νοσήματα είναι δυνατόν να εμφανισθεί αύξηση της CRP που αντανάκλα την έκταση της ιστικής καταστροφής, το μέγεθος του όγκου και την μεταστατική επέκτασή του. Στην περίπτωση αυτή συνήθως δεν ξεπερνά τα 10 mg/dl, ενώ κάθε απότομη αύξηση υποσημαίνει παρεμπόδιουσα λοίμωξη. Στον καρκίνο πεπτικού/ορθού η προεγχειρητικά αυξημένη τιμή της CRP αποτελεί δείκτη επιθετικότητας του όγκου και προγνωστικό παράγοντα της νόσου. Έχει βρεθεί ότι η CRP αυξάνεται στο 97,5% των καρκίνων ήπατος, στο 88,5% των καρκίνων ρινοφάρυγγα, στο 90,3% των καρκίνων στομάχου, στο 70% των καρκίνων μαστού, στο 58,1% των καρκίνων κόλου, στο 82,6% των λεμφωμάτων και στο 73,5% των λευχαιμιών.^{15,16}

Πρωτεολυτικά ένζυμα

Τα πρωτεολυτικά ένζυμα θεωρείται ότι παίζουν βασικό ρόλο στην κακοήθη εξαλλαγή και μάλιστα ο ρόλος τους εντοπίζεται στη φάση της μετάστασης και της αγγειογένεσης. Τα κακοήθη κύτταρα με ικανότητα διήθησης έχουν τη δυνατότητα να διαπερνούν τα σύνορα του ιστού. Η συνεχής βασική μεμβράνη είναι ένα πλέγμα κολλαγόνου, γλυκοπρωτεϊνών και πρωτεογλυκανών που φυσιολογικά δεν προσφέρεται για παθητική διήθηση. Η διαδικασία αυτή πρέπει να γίνει ενεργητικά από τα κύτταρα του όγκου.

Τα εκκρινόμενα και εμπλεκόμενα πρωτεολυτικά ένζυμα κατά τη διαδικασία διάλυσης του πλέγματος μπορεί να είναι:

- (1) Πρωτεϊνάσες σερίνης (πχ Ελαστάση, Πλασμίνη).
- (2) Πρωτεϊνάσες θειόλης (πχ Καθεψίνη Β και L).
- (3) Μεταλλοπρωτεϊνάσες (πχ Ενδιάμεσες Κολλαγενάσες, Κολλαγενάση τύπου IV και Στρομελυσίνες).
- (4) Πρωτεϊνάσες ασπαραγίνης (πχ Καθεψίνη D).
- (5) Ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (πχ uPA).

Μεταλλοπρωτεϊνάσες και αναστολείς τους: Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες ανήκουν στην κατηγορία των ενδογενών πρωτεασών. Τα ένζυμα αυτά υπεισέρχονται στις φυσιολογικές διεργασίες που συμβαίνουν κατά την αναδιαμόρφωση και επιδιόρθωση ιστών και παίζουν σημαντικό ρόλο σε παθολογικές καταστάσεις, όπως η ρευματοειδής αρθρίτις, η καρκινική διήθηση και η μετάσταση. Έχει βρεθεί θετική συσχέτιση μεταξύ της διηθητικής ικανότητας διάφορων ανθρώπινων όγκων και της έκφρασης των MMPs. Μάλιστα, με βάση πειραματικά δεδομένα, θεωρείται ότι οι MMPs, εκτός από τους ιστούς, μπορούν να προσδιορισθούν ανοσοχημικά και σε βιολογικά υγρά, όπως αίμα (πλάσμα) ή ούρα .

Ενδιαφέρον στην ογκολογία παρουσιάζουν οι MMP-2 και MMP-9. Τα επίπεδα της MMP-2 στον ορό ασθενών με καρκίνο ωοθηκών υποδεικνύουν ότι η MMP-2 μπορεί να χρησιμεύσει ως προγνωστικός δείκτης σε ασθενείς σταδίου III, αφού εμφανίζουν σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο υποτροπής. Αν και υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα αναφορικά με την MMP-2 και την θετική συσχέτισή της με τον καρκίνο των ωοθηκών, θεωρείται ότι τα μέχρι τώρα αποτελέσματα δείχνουν ότι η MMP-2 μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στη διήθηση και μετάσταση του καρκίνου των ωοθηκών. Στον ορό η μέτρηση του αναστολέα των μεταλλοπρωτεϊνών TIMP είναι χρήσιμη για την εκτίμηση της ηπατικής ίνωσης σε χρόνια νοσήματα του ήπατος καθώς και στην ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος^{105,106}.

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 και δεν έχει κάποια γνωστή φυσιολογική λειτουργία στο πλάσμα, ευρίσκεται δε στα ούρα. Το σύστημα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης¹⁰⁷ αποτελείται από την πρωτεάση σερίνης uPA, τον επιφανειακό υποδοχέα της uPAR και 2 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 της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (extracellular matrix) και της βασικής μεμβράνης. Ο διαλυτός υποδοχέας suPAR υπάρχει στην κυκλοφορία φυσιολογικά.

Η παρουσία του uPA έχει συσχετισθεί με φλεγμονώδεις καταστάσεις και/ή με αποικοδόμηση ιστών. Παράλληλα έχει εδραιωθεί στενή συσχέτιση μεταξύ κακοήθους μετασχηματισμού από ογκογόνους ιούς και της σύνθεσης του uPA. Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι τα μόρια Ura, PAI-1 και uPAR παίζουν κρίσιμο ρόλο στην καρκινική διήθηση και μετάσταση. Μάλιστα υψηλά επίπεδα των τριών αυτών μορίων σε κυτταρικά εκχυλίσματα διαφόρων τύπων καρκίνου συσχετίζονται με κακή πρόγνωση των ασθενών. Στον καρκίνο του μαστού, αυξημένα επίπεδα του uPA και του PAI-1 φαίνεται να σχετίζονται με προτίμηση στην απόκριση ανοσοενισχυτικής χημειοθεραπείας (adjuvant chemotherapy) και σχετική αντίσταση σε ορμονοθεραπεία. Έχει αναφερθεί ότι τα επίπεδα του suPAR στον ορό συσχετίζονται με χαμηλή επιβίωση σε ασθενείς με καρκίνο κόλου/ορθού, καθώς και σε ασθενείς με καρκίνο ωοθηκών¹⁰⁷.

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 συμβάλλουν 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 κύρια στα φλεγμονώδη μονοκύτταρα και μακροφάγα, καθώς και σε μη φλεγμονώδη κύτταρα, όπως οι ινοβλάστες, τα επιθηλιακά και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. In vitro η έκφραση της COX-2 επάγε-

ται από βακτηριακά κυτταρικά προϊόντα, φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, και υπεροξυνιτρώδες (peroxynitrite).⁹²

Ισχυρές ενδείξεις υπέρ της άποψης ότι οι προσταγλανδίνες διαμεσολαβούν την καρκινογένεση που σχετίζεται με φλεγμονή αποτελούν τα εξής: (1) Η εμφάνιση και ανάπτυξη καρκίνου του κόλου μειώνεται με την χρόνια χορήγηση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (NSAIDs). Τα φάρμακα αυτά αναστέλλουν την σύνθεση τόσο των κυκλοοξυγενασών, όσο και την σύνθεση προσταγλανδινών. (2) Η COX-2 αυξάνεται στα φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου και σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου του κόλου. Επίσης η COX-2 υπερεκφράζεται στο 85% των αδενοκαρκινωμάτων και στα πλακώδη καρκινώματα του οισοφάγου και του δέρματος. Η PGE2 είναι αυξημένη στον καρκινικό ιστό, καθώς και στο αίμα των ασθενών με καρκίνο κόλου. Επιπλέον βρέθηκε ότι η PGE2 παρεμποδίζει την απόπτωση και ρυθμίζει θετικά (upregulate) την έκφραση της Bcl-2 σε ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκίνου του κόλου.

Χημειοκίνες

Οι χημειοκίνες αποτελούν μια μεγάλη οικογένεια 45-50 πρωτεϊνών που χαρακτηρίζονται από δομική ομολογία βασισμένη στην διατήρηση μορίων κυστεΐνης (C) και σύνδεση με ειδικούς υποδοχείς συζευγμένους με πρωτεΐνη G (GPCR G protein-coupled receptors).⁹⁷ Έχουν περιγραφεί 4 οικογένειες χημειοκινών, ανάλογα με την σχετική θέση των διατηρημένων μορίων κυστεΐνης : CC, CXC (πχ. **IL-8**), XC και CX₃C. 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 τους υποδοχείς τους. Οι χημειοκίνες εμπλέκονται στις διεργασίες έναρξης της φλεγμονής και συμμετέχουν στην απάντηση του ξενιστή ρυθμίζοντας την κυτταρική κυκλοφορία και ελέγχοντας την αγγειογένεση. Οι μηχανισμοί αυτοί λειτουργούν και στον καρκίνο. Χαρακτηριστικές καταστάσεις, όπου οι χημειοκίνες υποστηρίζουν και προάγουν την ανάπτυξη του όγκου, αποτελούν ειδικά η διέγερση της αγγειογένεσης και της ανάπτυξης του όγκου - άμεσα, μέσω δράσης τύπου παραγόντων ανάπτυξης, ή έμμεσα, μέσω στρατολόγησης των μακροφάγων που σχετίζονται με τον όγκο (tumour associated macrophages TAMs) και του παρέχουν παράγοντες ανάπτυξης, τροφής και χημειοταξίας -, καθώς και του ελέγχου της πλοήγησης των μεταστατικών κυττάρων. Από την άλλη πλευρά, η ικανότης των χημειοκινών να στρατολογούν DC και εκτελεστικά (effector) κύτταρα T και NK, αποτελεί ένδειξη απάντησης του ξενιστή κατά του όγκου, αν και στα πλαίσια του τραχέως περιβάλλοντος του όγκου τέτοιες ανοσιακές απαντήσεις τείνουν να εγκαταλειφθούν.

Αυξημένες συγκεντρώσεις **IL-8** στον ορό συσχετίζονται στο κακόηθες μελάνωμα με προχωρημένο στάδιο νόσου, με κακή πρόγνωση και μικρό διάστημα ελεύθερο νόσου^{16,97}.

Κυτταροκίνες

Οι κυτταροκίνες είναι γλυκοπρωτεϊνικά μόρια παροδικά συντιθέμενα και εκκρινόμενα από κατάλληλα διεγερμένα κύτταρα, που ανήκουν ή όχι στο ανοσοποιητικό σύστημα,

και τα οποία παίζουν ρόλο στην εκλυτική και εκτελεστική φάση των ανοσοαπαντήσεων. Η αυτοκρινής ή/και παρακρινής δράση των κυτταροκινών διαμεσολαβείται με τη σύνδεσή τους στους αντίστοιχους υποδοχείς στα κύτταρα στόχους και χαρακτηρίζεται από πλειοτροπισμό. Οι κυτταροκίνες επηρεάζουν τόσο τη σύνθεση, όσο και τη λειτουργία άλλων κυτταροκινών εγκαθιστώντας δυναμικά δίκτυα δράσης.¹⁸

Η πολυπλοκότητα του δικτύου των κυτταροκινών και των υποδοχέων τους, καθώς και των κυττάρων που τις εκκρίνουν, μας αναγκάζει, εκτός από τις κλασσικές μεθόδους ELISA, να χρησιμοποιήσουμε και μεθόδους προσδιορισμού της λειτουργικότητάς τους (βιολογικές μέθοδοι), της μεταγραφής τους (μέθοδοι μοριακής βιολογίας) και μεθόδους ταυτοποίησης, απαρίθμησης και χαρακτηρισμού των κυττάρων που τις παράγουν (κυτταρομετρία ροής).⁹⁶ Η χρήση όμως όλων αυτών των μεθοδολογιών για διαγνωστικούς σκοπούς (πχ. για προσδιορισμό των κυτταροκινών ως δεικτών καρκίνου) φαίνεται προς το παρόν ασύμφορη στην καθημερινή κλινική πράξη, ένεκα και της πολυπλοκότητας των αλληλεπιδράσεων των κυτταροκινών και του παροδικού χαρακτήρα της παραγωγής τους. Ωστόσο αυτή η σημερινή αδυναμία δεν αναιρεί την ουσιαστική σημασία της ανοσιακής απάντησης στην εξέλιξη του καρκίνου, η οποία κατευθύνει τις ερευνητικές προσπάθειες σε ριζικές αλλαγές στη θεραπευτική αντιμετώπιση του. Ανεξάρτητα λοιπόν από την πρακτική χρησιμότητα, είναι απαραίτητη η ενημέρωσή μας σχετικά με τα νεώτερα κάθε φορά δεδομένα στο ενδιαφέρον αυτό πεδίο.

Ιντερλευκίνη -1 (IL-1): Η IL-1 αποτελεί συνδυασμό των IL-1α και IL-1β, οι οποίες μαζί με τον TNF, ανήκουν στις «κυτταροκίνες συναγερού» που εκκρίνονται από τα μακροφάγα προκειμένου να αρχίσει η φλεγμονή. Η IL-1 και ο TNF αυτό- και αλληλοεπάγουν την παραγωγή τους (ενίσχυση φλεγμονώδους απόκρισης), επάγουν δε επίσης και μόρια προσκόλλησης που προάγουν την λευοκυτταρική διήθηση (leucocyte infiltration) από το αίμα στους ιστούς.

Στους γαστρικούς καρκίνους, 55% των δειγμάτων δείχθηκε ότι εκφράζουν την IL-1 (ιδιαίτερα οι διαφοροποιημένοι όγκοι) και ότι εμφανίζουν σημαντική συσχέτιση με ηπατική μετάσταση. Συγκριτικά με τον καλοήγη ιστό, στους γαστρικούς όγκους η έκφραση του ανταγωνιστή του υποδοχέα της IL-1(IL-1Ra) είναι κυρίαρχη και συσχετίζεται με λεμφαδενική και ηπατική μετάσταση. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι εκείνοι οι πολυμορφισμοί στη συστάδα γονιδίων της IL-1, οι οποίοι επιταχύνουν την παραγωγή IL-1β, σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο υπερχλωρδρίας από το *H.pylori*, αλλά και ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου.

Κυτταροκίνες κοινής γ-αλυσίδας(γ_c-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)⁹⁵.

Η **IL-2** αποτελεί την πρώτη ιντερλευκίνη που απομονώθηκε και χαρακτηρίστηκε σε μοριακό επίπεδο. Παράγεται από τα Τ λεμφοκύτταρα μετά από επίδραση αντιγονικού ερεθίσματος και δρα παρακρινικά, οδηγώντας στην εξάπλωση και διατήρηση των αντιγονοειδικών κυττάρων (CD4+, CD8+) και των κυτταρολυτικών Τ κυττάρων (CTLs) και συνεπώς στηρίζει την κυτταρική μνήμη. Λόγω του κεντρικού της ρόλου στην διαμεσολάβηση της ανοσιακής απάντησης έχει σημαντικές διαγνωστικές και θεραπευτικές εφαρμογές στον καρκίνο, σε λοιμώδεις νόσους (HIV λοίμωξη) και στις μεταμοσχεύσεις.

Ο διαλυτός υποδοχέας της IL-2, **sIL-2R**, εκκρίνεται στον ορό από τα ενεργοποιημέ-

να φυσιολογικά περιφερικά μονοπύρηνια κύτταρα του αίματος και από ορισμένες σειρές από T- και B-προέλευσης. Τα υψηλά επίπεδα του sIL-2R στον ορό συσχετίζονται με καλύτερη πρόγνωση από τα επίπεδά του σε φυσιολογικά όρια στους ασθενείς με καρκίνο ωοθηκών. Αντίθετα στον καρκίνο μαστού, στην λευχαιμία εκ τριχτών κυττάρων, στο μελάνωμα, στον καρκίνο κεφαλής και τραχήλου και στον καρκίνο του πνεύμονος τα υψηλά επίπεδα του sIL-2R στον ορό συσχετίζονται με κακή πρόγνωση.^{16,100}

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

Ιντερφερόνες: Αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη οικογένεια πρωτεϊνών με αντίκη δράση που εκκρίνονται από τα κύτταρα σε απόκριση ποικιλίας ερεθισμάτων.⁹⁸ Διακρίνονται στις ιντερφερόνες *τύπου I* (IFNα, IFNβ), που κύρια επάγονται από ιική μόλυνση, και *τύπου II* δηλ. την IFNγ, που παράγεται από τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα (CD4+, CD8+), τα NKT κύτταρα και τα NK κύτταρα με την επίδραση ανοσογόνων και φλεγμονωδών ερεθισμάτων. Προς το παρόν δεν έχουν εντοπισθεί άτομα με έλλειψη των γονιδίων του υποδοχέα των IFN τύπου I, στοιχείο που υποδηλώνει ότι είναι μόρια απαραίτητα για την επιβίωση. Η IFNγ ασκεί τις δράσεις της μέσω αλληλεπίδρασης 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 γονιδίων που επάγονται από την IFNγ. 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 IFNγ καθιστά τα άτομα ευπαθή σε μυκοβακτηριακή μόλυνση, χωρίς να επηρεάζει την συχνότητα στις 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 ενδογενώς παραγόμενη IFNγ φαίνεται να παίζει κρίσιμο ρόλο στην ανοσιακή αναγνώριση και καταστροφή ενός αναπτυσσόμενου όγκου, μάλιστα θεωρείται ότι τα κακοήθη κύτταρα είναι ένας από τους κύριους στόχους της. Η IFNγ διαθέτει επίσης αντιπολλαπλασιαστική και προαποπτωτική δράση, αντιαγγειογόνο δράση, ενεργοποιεί την φυσική ανοσιακή απάντηση ενεργοποιώντας τα μακροφάγα, επιταχύνει την ειδική ανοσιακή απάντηση κατά του όγκου και υπεισέρχεται στη ρύθμιση της ισορροπίας Th1/Th2 κατά την ανάπτυξη μιας ανοσιακής απάντησης κατά του όγκου. Φαίνεται ότι η δράση της IFNγ σε συνεργασία με τα λεμφοκύτταρα επί της ανάπτυξης ενός όγκου δεν αφορά μόνο προστατευτικό ρόλο (ανοσοεπιτήρηση-immunosurveillance), αλλά και την

άσκηση μιας πίεσης για την διαμόρφωση ενός ανοσοφαινότυπου των καρκινικών κυττάρων μειωμένης ανοσογονικότητας (με έκφραση χαμηλών επιπέδων τάξης I MHC) και επομένως με δυνατότητα διαφυγής από την ανοσοαναγνώριση. Έτσι, για την περιγραφή των φαινομένων αυτών, θεωρείται καταλληλότερος ο γενικός όρος ανοσοδιαμόρφωση-immunoediting.

Η **ιντερλευκίνη-6** (IL-6 ή IFN-β2) ρυθμίζει τη σύνθεση των πρωτεϊνών οξείας φάσεως (CRP, αμυλοειδές ορού, α1-αντιθρυψίνη, ινωδογόνο) απαντώντας σε ιστικό τραύμα ή μόλυνση. Παράγεται κυρίως από τα μακροφάγα, τους ινοβλάστες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, διεγείρεται δε από τον TNF και την IL-1. Η IL-6 επάγει έμμεσα την αγγειογένεση προκαλώντας έκφραση του **VEGF** (vascular endothelial growth factor). Φυσιολογικά η παρουσία της στον ορό είναι μηδαμινή ή μη ανιχνεύσιμη, σε περίπτωση όμως μόλυνσης ή τραύματος η σύνθεσή της επάγεται ταχύτατα, φαίνεται δε να είναι βασικός διαμεσολαβητής της φλεγμονώδους απάντησης σε *τοπικό επίπεδο*. Έτσι η συγκέντρωσή της στον ορό αποτελεί *πρώιμο δείκτη φλεγμονής*, αν και η παρουσία του διαλυτού της υποδοχέα IL-6R μπορεί να παρεμποδίσει τον προσδιορισμό της. Η IL-6 έχει ανιχνευθεί στο μελάνωμα και στο 50% των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο νεφρού. Αυξημένα επίπεδα του διαλυτού IL-6R έχουν ανιχνευθεί στο μελάνωμα¹⁶.

Παράγων νέκρωσης όγκου (TNF - tumour necrosis factor ή καχεκτίνη): Είναι μείζων διαμεσολαβητής φλεγμονής που δρα στην κατεύθυνση της ιστικής καταστροφής και της ανάρρωσης από την βλάβη, ενορχηστρώνοντας μεταβολές της αρχιτεκτονικής των ιστών. Είναι ένα πολυπεπτιδίο 17 kDa με βιολογική δράση υπο τριμερή μορφή.⁹⁹ Ο TNF-α παράγεται κύρια από τα μονοκύτταρα ή/και τα μακροφάγα, ενώ ο TNF-β (ή λεμφοτοξίνη - LT) είναι προϊόν των λεμφοειδών κυττάρων. Ανάμεσα στις δράσεις του TNF συγκαταλέγονται : (1) η βλάβη του DNA και η παρεμπόδιση των επιδιορθωτικών ενζύμων μέσω επαγωγής σχηματισμού ελευθέρων ριζών οξυγόνου και μέσω παρεμπόδισης του κυτοχρώματος P-450 ή των ισοενζύμων της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης, (2) η συμβολή στην αύξηση της ανάπτυξης και επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων, (3) η επαγωγή παραγόντων αγγειογένεσης (πχ. VEGF), (4) η απώλεια απόκρισης στα ανδρογόνα (καρκίνος προστάτη) και (5) η αντίσταση σε κυτταροτοξικά φάρμακα. Ο TNF ενεργοποιεί πολλαπλά μονοπάτια μεταγωγής σήματος (signal transduction), κινάσες και μεταγραφικούς παράγοντες. Η καχεκτίνη απαντάται τόσο σε διαλυτή, όσο 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 αρθρίτις, η νόσος του Crohn και η ψωρίαση. Στα κακοήθη νοσήματα θεωρείται αντικαρκινικός παράγων κατά την κλασική άποψη. Κλινικές μελέτες έδειξαν ότι η τοπική χορήγηση υψηλών δόσεων TNF-α καταστρέφει ειδικά τα αιμοφόρα αγγεία του όγκου ασκώντας αντικαρκινική δράση. Παραδόξως όμως έχει δειχθεί ότι, αν υπάρχει χρόνια παραγωγή του, είναι δυνατόν να ασκεί δράση προαγωγής του όγκου ενδογενώς, συμβάλλοντας στην αναδιαμόρφωση ιστού και στην κατάλληλη ανάπτυξη του στρώματος για την αύξηση και εξάπλωση του όγκου.

Η έκφραση του TNF-α σε πολλούς τύπους καρκίνου (ωθηκών, μαστού, ουροδόχου κύστης, προστάτη, κόλου, ορθού, λεμφώματος και λευχαιμίας) συσχετίζεται με κακή

πρόγνωση. Πιθανώς να παίζει ρόλο στην ανάπτυξη καρκίνου επιθηλιακού τύπου, αφού η ακτινοβολία UV είναι ισχυρός επαγωγέας του TNF-α. Σε πρόσφατη μελέτη δείχθηκε ότι η θεραπεία με αντι-TNF-α αντισώμα μείωσε τα επίπεδα της MMP-9 και του GM-CSF (αυξητικός παράγων κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων), που θεωρούνται σημαντικές πρωτεΐνες στην ανάπτυξη και εξάπλωση των καρκίνων του δέρματος.

Φυσιολογικά η καχεκτική δεν ανευρίσκεται στον ορό. Τα επίπεδα παραγωγής του TNF είναι χαμηλά και ποικίλλουν μεταξύ των ατόμων, γεγονός που πιθανά 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 την ευπάθεια στον καρκίνο (πχ λέμφωμα, μυέλωμα, καρκίνος προστάτη). Έχουν ανιχνευθεί μικρά ποσά TNF σε ορό ασθενών με γυναικολογικό καρκίνο καθώς και στο 36.5% των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο νεφρού. Στο λέμφωμα non-Hodgkin's, στην οξεία και χρόνια μυελογενή λευχαιμία και στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία τα υψηλά κυκλοφορούντα επίπεδα του TNF και των διαλυτών υποδοχέων του έχουν συσχετισθεί με κακή πρόγνωση και αντίσταση στη θεραπεία.

Το μόριο **Fas** (ή Apo-1 ή CD-95) είναι ένας υποδοχέας κυτταρικής επιφανείας που ανήκει στην υπεροικογένεια υποδοχέων των TNF / NGF (nerve growth factor) και υπάρχει σε δύο μορφές, την διαμεμβρανική και την διαλυτή **sFas**. Η διαμεμβρανική μορφή εκφράζεται ευρέως σε φυσιολογικά και κακοήθη κύτταρα. Η sFas συνδεδεμένη με την επιφανειακή Fas αφ' ενός αποτρέπει την μεταγωγή σήματος μέσω Fas, αφ'ετέρου παρεμποδίζει, μέσω αδρανοποίησης του **FasL** (Fas-ligand), την διαμεσολαβούμενη από το Fas **απόπτωση**. Αυξημένα επίπεδα sFas ανιχνεύονται στον ορό ασθενών με λευχαιμία, καρκίνο ορθού, μαστού, ουροδόχου κύστης, στομάχου, ωθηκών, τραχήλου μήτρας, μαστού, συσχετίζονται δε με κακή πρόγνωση. Ωστόσο ο sFas δεν μπορεί να θεωρηθεί ως πρώιμος δείκτης, διότι τα επίπεδα του sFas σε ασθενείς με τοπικό καρκίνο δεν διαφέρουν των φυσιολογικών ατόμων.

Το μόριο **FasL** ανήκει και αυτό στην οικογένεια TNF και εκφράζεται κύρια στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων T-κυττάρων 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 κατά των καρκινικών κυττάρων. Εν τούτοις η απόκτηση δυνατότητας έκφρασης του FasL και από τα καρκινικά κύτταρα τα καθιστά ικανά να μεταδώσουν σήματα θανάτου σε Fas-θετικά T-κύτταρα του ξενιστή. Μπορεί με την επίδραση μεταλλοπρωτεϊνών από το διαμεμβρανικό FasL να αποκοπεί το διαλυτό FasL (**sFasL**) σαν διαλυτός διαμεσολαβητής διάδοσης της απόπτωσης, με αποτέλεσμα την αναστολή της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων και την απόκτηση αντοχής τους έναντι της απόπτωσης που διαμεσολαβείται από τα T- κυτταροτοξικά κύτταρα. Αυξημένα επίπεδα sFasL έχουν ανιχνευθεί σε ορό καρκινοπαθών και συσχετίστηκαν με την πρόοδο της νόσου και την σταδιοποίησή της (πχ. καρκίνος ουροδόχου κύστης και στομάχου)¹⁶.

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 υποστήριξης του πολλαπλασιασμού (μιτογόνος δράση), της επιβίωσης (αντιαποπτωτική δράση) και της κινητικότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων.^{16,103} Παράγεται σε υψηλά επίπεδα τόσο από τα μη κακοήθη κύτταρα σε απάντηση στην υποξία και τη φλεγμονή, όσο και από τα κακοήθη κύτταρα, και έχει την ικανότητα να διαχέεται ελεύθερα. Επισημαίνεται ότι η χρόνια φλεγμονή σχετίζεται στενά με την αγγειογένεση, καθώς ο σχηματισμός κοκκιδώδους ιστού απαιτεί εκτεταμένη αγγειακή τροφοδότηση. Οι πρωτεΐνες VEGF παίζουν σημαντικό ρόλο, όχι μόνο στην αγγειογένεση των όγκων, αλλά παράγόμενες από τους συμπαγείς όγκους, αποτελούν καίριο θήμα στην παρεμπόδιση της αναγνώρισης και της καταστροφής των καρκινικών κυττάρων από το ανοσιακό σύστημα. Ο VEGF παρεμποδίζει την λειτουργική ωρίμανση των DC κυττάρων. Η υπερέκφρασή του σε μεγάλο ποσοστό των συμπαγών όγκων σχετίζεται στενά με κακή πρόγνωση.

Αυξημένα επίπεδα VEGF ανιχνεύονται σε διαφόρους καρκίνους, όπως ορθού, μαστού, ωθηκών, τραχήλου, νεφρού, κεφαλής και τραχήλου, υπόφυσης κα. Ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα του VEGF έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με λευχαιμίες και συμπαγείς όγκους του αιμοποιητικού. Η μέτρηση του VEGF μπορεί να χρησιμεύσει στον προσδιορισμό του κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου, στην ανίχνευση πρωίμων όγκων και στην διάκριση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων νοσημάτων. Σε διαγνωσμένους όγκους μπορεί να χρησιμεύσει στην πρόγνωση, στην πρόβλεψη απόκρισης στη θεραπεία και στην παρακολούθηση της κλινικής πορείας των ασθενών. Τα επίπεδα του VEGF, τόσο στο πλάσμα, όσο και στα ούρα καρκινοπαθών προ θεραπείας, συσχετίζονται με μικρή μέση επιβίωση. Επιπλέον οι προσδιορισμοί του VEGF στον ορό δεν έχουν μόνο διαγνωστική και προγνωστική αξία στις κακοήθειες, αλλά και στις καρδιαγγειακές ανεπάρκειες και τα φλεγμονώδη νοσήματα.

Προβλήματα στους ανοσοπροσδιορισμούς του VEGF προκύπτουν λόγω σύγχρονης παρουσίας τόσο του διαλυτού υποδοχέα του, sFlk-1, όσο και ισομορφών του VEGF, προς τις οποίες τα αντισώματα δεν διαθέτουν την ίδια ειδικότητα. Επιπλέον, επειδή κατά την πήξη τα αιμοπετάλια και τα λευκοκύτταρα απελευθερώνουν VEGF, είναι προτιμότερο να προσδιορίζεται στο πλάσμα.

Μηχανισμοί καταστολής της απόπτωσης

Επαναλαμβανόμενο, όσο και κυρίαρχο μοτίβο, ανάμεσα στα όσα προαναφέρθηκαν σχετικά με την ανοσιακή απάντηση/ανοχή στον καρκίνο, φαίνεται να είναι η καταστολή της απόπτωσης ως προϋπόθεση για την ανάπτυξη καρκίνου. Υπό την έννοια αυτή ακολουθεί η σύντομη περιγραφή των μορίων και μηχανισμών που υπεισέρχονται στην κυτταρική αυτή λειτουργία.

Η απόπτωση, δηλ. ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, επιτελείται με ελάχιστη διαταραχή του τοπικού περιβάλλοντος και χωρίς επαγωγή φλεγμονής, ενώ η κυτταρική νέκρωση επιφέρει λύση των κυττάρων προκαλώντας φλεγμονώδη αντίδραση και πιθανή βλάβη στον περιβάλλοντα ιστό. Επί πλέον η καταστολή της απόπτωσης συνεισφέρει στην καρκινογένεση καθώς και στην αντοχή σε χημειο- και ακτινοθεραπεία. Μεταξύ των μορίων που εμπλέκονται στην απόπτωση περιλαμβάνονται οι κασπάσες, οι πρωτεΐνες Bcl-2 και οι ογκοκατασταλτικές πρωτεΐνες p53 και Rb.

A. Οι κασπάσες αποτελούν μια μεγάλη οικογένεια πρωτεασών κυστεΐνης και φυσιολογικά εκφράζονται ως ζυμογόνα (προκασπάσες), τα οποία στην συνέχεια ενεργοποιού-

νται.^{101,102} Οι κασπάσες καταλαμβάνουν κρίσιμη θέση στην - μέσω μεταγωγής σήματος- πρόκληση καταρράκτου φαινομένων που συνδέονται με ανοσιακές απαντήσεις. Είναι γνωστές τουλάχιστον 14 κασπάσες, εκ των οποίων τα 2/3 παίζουν ρόλο στην **απόπτωση**.

Οι κασπάσες που σχετίζονται με την απόπτωση «απογυμνώνουν» το κύτταρο από τα μέσα. Διακρίνονται σε **εναρκτήριες** (initiator caspases) πχ. κασπάσες -8, -9, -10, και **εκτελεστικές** (downstream effector / executioner caspases) πχ. κασπάσες -2, -3, -6, -7. Οι **εναρκτήριες** κασπάσες αυτοδιασπώνται και αυτοενεργοποιούνται και τελικά ενεργοποιούν τις **εκτελεστικές** κασπάσες, που διασπών ενδοκυτταρικούς στόχους καταστρέφοντας φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες, ενεργοποιούν άλλους αποπτωτικούς παράγοντες, απενεργοποιούν αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες και τελικά οδηγούν σε αποπτωτικό θάνατο.

Προς το παρόν έχουν διαλευκανθεί **3 κύρια μονοπάτια** που οδηγούν στην ενεργοποίηση κασπασών που σχετίζονται με την απόπτωση :

(1) Το οδηγούμενο από την απελευθέρωση κυτοχρώματος C από τα μιτοχόνδρια.

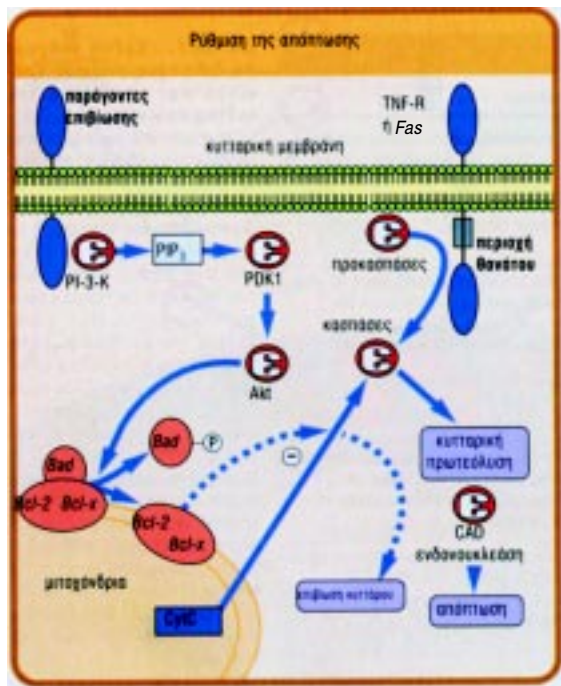
Η επίδραση ερεθισμάτων, όπως κυτταροτοξικά φάρμακα, ιονίζουσα ακτινοβολία, θερμικό ή άλλο κυτταρικό στρες καθιστά διαπερατή την έξω μεμβράνη των μιτοχονδρίων και απελευθερώνει στο κυτταρόπλασμα το κυτόχρωμα-C, το οποίο ενεργοποιεί την προκασπάση-9, σχηματίζοντας με αυτήν, το dATP και την Araf (apoptosis protease-activating factor) ένα επταμερές σύμπλοκο, το αποπτόσωμα. Τα γεγονότα αυτά τα ανταγωνίζονται **αντιαποπτωτικά μέλη** της οικογένειας Bcl-2 (πρωτεΐνες Bcl-2 και Bcl-x_l), ενώ τα προάγουν τα **προαποπτωτικά μέλη** της (Bax, Bak, και Bid, Bad, Bim). Σημειώνεται ότι φυσιολογικά τα προ- και αντιαποπτωτικά μέλη της οικογένειας Bcl-2 ελέγχουν και ρυθμίζουν την διαπερατότητα της έξω μεμβράνης των μιτοχονδρίων και ρυθμίζουν την έκκριση κυτοχρώματος-C και άλλων συστατικών της^{17,102} (Σχήμα 2).

(2) Το διαμεσολαβούμενο από τους υποδοχείς θανάτου (TNFR, Fas/CD95/Apo1, Apo2).

Εξωκυτταρίες κυτταροκίνες της οικογένειας TNF (TNFα, FasL, Apo-2L/TRAIL) συνδέονται με τους αντίστοιχους υποδοχείς τους στην επιφάνεια των κυττάρων, ακολουθεί, ενδοκυτταρικά, σειρά αλληλεπιδράσεων πρωτεϊνών, σχηματίζεται το σύμπλοκο DISC (death inducing signaling complex), το οποίο ενεργοποιεί τελικά τις **εναρκτήριες** κασπάσες 8 και 10.

(3) Το εξαρτώμενο από τα CTL/NK κύτταρα.

Τα CTL(κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα) και τα κύτταρα NK επάγουν την απόπτωση σε μολυσμένα με ιούς ή καρκινικά κύτταρα-στόχους με πολ-



Σχήμα 2. Από την «Ιατρική Βιοχημεία» Κεφ. 39, σελ. 520¹⁷

λους τρόπους, ο κυριότερος των οποίων αφορά στην απελευθέρωση κυτταρολυτικών κοκκίων που περιέχουν ποικιλία ενζύμων ικανών να προκαλέσουν απόπτωση των κυττάρων-στόχων. Τέτοια ένζυμα είναι η *διατρητίνη ή περφορίνη* (perforin), που σχηματίζει πόρους στην κυτταρική μεμβράνη για να εισχωρήσουν τα κυτταρολυτικά κοκκία, και το *κοκκιοένζυμο Β* (granzyme Β), που είναι πρωτεάση σερίνης με υποστρώματα κατά σειρά προτίμησης τις πρωτεΐνες Bid, κασπάση 8 και κασπάση 3.

Εξ άλλου αναφορικά με τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις η **κασπάση 1** τροποποιεί πρωτεολυτικά την προ-φλεγμονώδη κυτταροκίνη IL-1 β , ενεργοποιεί την κυτταροκίνη IL-18 (ή παράγων επαγωγής της IFN γ) και είναι απαραίτητη για την ικανή παραγωγή της IL-1 α .

Β. Η αντιαποπτωτική πρωτεΐνη Bcl-2 εντοπίζεται, εκτός από την έξω μιτοχονδριακή μεμβράνη, στην πυρηνική μεμβράνη (nuclear envelope) και στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Η στενή σχέση μεταξύ μειωμένης απόπτωσης και καρκίνου υπογραμμίστηκε από το εύρημα ότι το ογκογονίδιο της Bcl-2, που διαμεσολαβεί τη λευχαιμία των Β-κυττάρων, δρα αναστέλλοντας την απόπτωση των Β-κυττάρων, που διαφορετικά θα πέθαιναν. Η υπερέκφραση της Bcl-2 προάγει τον κακοήγη μετασχηματισμό και επιφέρει χημειοαντοχή των όγκων μέσω διαφυγής από την απόπτωση (πχ. καρκίνωμα ωσθηκών). Συνήθως η έκφρασή της σε όγκους σχετίζεται με πλεονέκτημα επιβίωσής τους. Παρότι η Bcl-2 είναι ανιχνεύσιμη στον ορό, οι περισσότεροι προσδιορισμοί της έχουν πραγματοποιηθεί σε ιστικά εκχυλίσματα όγκων¹⁶.

Γ. Οι φυσιολογικές ογκοκατασταλτικές πρωτεΐνες p53 και Rb (retinoblastoma) προάγουν την απόπτωση, σε απάντηση τοξικών ερεθισμάτων επάγοντας θάνατο στα αλλοιωμένα κύτταρα. Μάλιστα 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 πιο κοινές γενετικές αλλοιώσεις που ανευρίσκονται στις ανθρώπινες κακοήθειες. Περισσότεροι από το 50% των ανθρώπινων καρκίνων περιέχουν μεταλλάξεις του p53. Η ανίχνευση μεταλλαγμένων πρωτεϊνών p53 σχετίζεται με επιθετικούς καρκινικούς φαινότυπους. Αρκετές μελέτες υποδεικνύουν ότι η μεταλλαγμένη p53 μπορεί να είναι ένας πολλά υποσχόμενος πρώιμος δείκτης στον εντοπισμό ατόμων υψηλού κινδύνου για τον καρκίνο του οισοφάγου¹⁶.

Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών στην υπηρεσία του καρκίνου

Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών (πρωτεϊνών είτε DNA) ανήκει στις μεθόδους ολιστικής ανάλυσης των βιολογικών σημάτων. Η μελέτη του καρκίνου είναι από τους πρώτους στόχους 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 και την θέση της τιμής ενός ΔΚ λαμβάνει η «μοριακή υπογραφή». Στην διαμόρφωση μιας μοριακής υπογραφής συμμετέχουν πολλαπλάσιες της μιας παράμετροι με διαφορετική βαρύτητα. Μάλιστα πρόσφατα αναφέρθηκε η ανάπτυξη ενός συστήματος παράλληλης ανίχνευσης ΔΚ ως εργαλείου υποστήριξης της διάγνωσης και του προληπτικού ελέγχου σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου.^{19,104}

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 καρκίνου.

ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΒΙΒΛΙΑ

1. "Clinical Chemistry. Concepts and Applications" Anderson SC, Cockayne S.H.B.J. Int.Eds., Editor: W.B. Saunders. (1993) Chapter 16: Tumor Markers.
2. "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.
3. "Cancer and Clinical Biochemistry ". P.Pannal and D.Kotasek. ACB Venture Publications, Eds.G.McCreanor, W.Marshall (1997)
4. "Serological Cancer Markers", editor: Stewart Sell,1992, The Humana Press, Totowa, NJ.
 - a. Stewart S. Chapter 1 "Cancer markers of the 1990s", p.1.
 - b. Sikorska HM, Fuks A and Gold P Chapter 4, "Carcinoembryonic Antigen", p.47-97.
 - c. Bombardieri E and Gion M Chapter 15: "MCA as available circulating tumor marker for breast cancer", p.341-53.
 - d. Schlom J et al, Chapter 18, "TAG-72 as a tumor marker", p.387-415.
 - e. Kato H. Chapter 21: "Squamous Cell Carcinoma Antigen", p.437-451.
 - f. Pohl A. Chapter 23, " Multiple testing with cancer markers", p.473-93.
5. "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.
6. 8^ο σεμινάριο ΕΕΚΧ-ΚΒ 1995 – «Δείκτες καρκίνου. Εργαστηριακή διερεύνηση και κλινική αξιολόγηση».
 - a. Βάρσου-Παπαδημητρίου Λ. «Χαρακτηριστικά και διαγνωστική αξία δεικτών καρκίνου σε βιολογικά υγρά.»
 - β. Σκάρλος Δ.«Αξιολόγηση καρκινικών δεικτών στην κλινική πράξη
 - γ. Κυρίου-Μάλλη Λ.«Τα ένζυμα ως δείκτες καρκίνου»,
7. Κλινικό φροντιστήριο 5^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Κλινικής Χημείας της ΕΕΚΧ-ΚΒ, «Οι δείκτες καρκίνου στα βιολογικά υγρά».
 - a. Βασιλαματζής ΜΜ και Κατριτζόγλου ΝΑ «Η προγνωστική σημασία των κυκλοφορούντων νεοπλασματικών δεικτών σ ασθενείς με κακοήγη συμπαγή νεοπλάσματα»
 - β. Κυρίου-Μάλλη Λ. «Δείκτες καρκίνου στα βιολογικά υγρά»
8. "Clinical Laboratory Diagnostics. Use and assessment of Clinical Laboratory results". By Lothar Thomas, first edition, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main, Germany.
9. "New tumour markers and their monoclonal antibodies", 4TH symposium on tumour markers, Hamburg 1987. Edited by R.Klapdor, Georg Thieme Verlag Stuttgart.New York
 - a. Ochi Y., Okabe H.,Imokawa M. p.97.
 - b. Mezger J., Lamerz R. p.149.
 - c. De Bruijn HWA, et al. p.335-341.
10. "Clinical Guide to Laboratory Tests", editor: Tietz N., 2nd edition 1990, WB Saunders Company
11. "NSE: Marker of neuroendocrine differentiation as a tumor marker" Fischer L, p.264-266, in: "Recent results in tumor diagnosis and therapy" 1990, editor: R.Klapdor, Wuckschwerdt Verlag.
12. «Το PSA, τα μοριακά του κλάσματα και το PSMA στον καρκίνο του προστάτη» Γιαννοπουλος Α., Γρηγοράκης Α., Αθήνα 2000, εκδ.Ιατρικές Εκδόσεις Ζήτα.
13. "Immunoassay", Chapter 21 by D.W.Chan, p.133-154, Editors Diamandis & Christopoulos 1996, Academic Press.
14. «Περίληψη Ιατρικής Ανοσολογίας» Δρόσος Γ., Β' έκδοση 2005.
15. «Πρωτεΐνες οξειάς φάσεως», Κλινικά Φροντιστήρια Ιατρικής Εταιρείας Αθηνών, τόμος 3, τεύχος 3, 1991, Επιμέλεια Φ.Κακλαμάνης
16. "Circulating tumor markers of the new millennium. Target therapy, early detection and prognosis" by James T. Wu. 2002, AACCC Press.

17. «Ιατρική Βιοχημεία», Baynes- Dominiczak, Επιμέλεια Α. Καλοφρούτε, Εκδόσεις Παρισιάνου ΑΕ, Πρωτότυπη έκδοση στην αγγλική γλώσσα με τον τίτλο: Medical Biochemistry, by J. Baynes, M. Dominiczak, Harcourt Brace and Company Limited 1999
18. «Κυτταροκίνες στον ορό των νεογνών» Διδ.Διατριβή Ε.Π.Πρωτονοτάριου, 2003, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.
19. «Καρκινικοί Δείκτες. Στοχευμένη θεραπεία», Επιμέλεια Αγνάτη Ν., Σκάρλος Δ., Ελληνική Εταιρεία Δεικτών Καρκίνου και Στοχευμένης Θεραπείας, 2004 (σε μορφή CD), κεφ.3, «Μικροσωστοιχίες και νέα γονίδια στον καρκίνο» Καφετζόπουλος Δ.

ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

20. Magdelenat H «Tumour markers in oncology: past, present and future». J of Immunol Met 1992; 150:133-143.
21. Suresh MR «Classification of tumor markers». Anticancer Res 1996;16:2273-2278.
22. Swartz MK Diag Endo &Metab 1997;15(12): 211-221.
23. Johnson PJ and Dennis L “YM “Plasma nucleic acids in the diagnosis and management of malignant disease”. Clin Chem 2002; 48:1186-1193.
24. Βασλαματζής ΜΜ, Δασκαλοπούλου ΣΣΕ Νοσοκομειακά Χρονικά 2000; Τόμος 62, Συμπλήρωμα, σ.177-190.
25. Αναγνώστου-Κακκαρά Ε, Ζουλλιέν Ζ, Δήμα Κ Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας 1988; 33:571-591.
26. Bates S and Longo DL Seminars in Oncology 1987; 14(2):102-138.
27. Castaldo G et al. “Serum γ-GT isoform complexed to LDL in the diagnosis of small hepatocellular carcinoma”, Clin Chem 1999; 45; 1100A-1102.
28. Otsu N et al. “Abnormal LDH isoenzyme in serum and tumor tissue of a patient with neuroblastoma”, Clin Chem 1985; 31: 318-320.
29. Giannoulaki EE et al., “LDH isoenzyme pattern in sera of patients with malignant diseases”, Cli Chem 1989; 35: 396-399.
30. a.“Thymidine kinase, a new cancer diagnostic marker” εύρεση στο δικτυακό τόπο: <http://www.celticbio.com/thy.doc>
b. “Tumor markers” εύρεση στο δικτυακό τόπο: http://training.seer.cancer.gov/module_diagnostic/unito3_tumor_markers.html
31. McCormack et al. «Molecular forms of prostate specific antigen and the human kallikrein gene family: a new era». Urology 1995; 45: 729-744.
32. Schmid H.P. «PSA doubling time in diagnosis and follow-up of patients with prostate cancer». Tumour Marker Update 1995; 8(3): 71-77.
33. Diamandis E.P., Yu H. «New biological functions of PSA?» J Clin Endocrinol Metab 1995;80:1515-1517.
34. Vessela et al. «Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) detects metastatic prostate cancer cells in lymph nodes, blood and potentially in bone marrow using PSA-mRNA as template». J.Urol.1994;151:412A.
35. Clements A. and Mukhtar A. «Glandular kallikreins and PSA are expressed in the human endometrium». J Clin Endocrinol Metab 1994;78:1536-1539.
36. Olsson et al. «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.
37. Mikolajczyk SD et al. “Proenzyme forms of PSA in serum improve the detection of prostate cancer” Clin Chem 2004;50: 1017-1025.
38. Linton HJ et al. “Benign PSA in serum is increased in benign prostate disease” Clin Chem 2003;49:253-259.
39. Kardamakis D «Tumour serum markers: Clinical and economical aspects» Anticancer Res 1996;16: 2285-2288.

40. Klein E. «Editorial: Can PSA derivatives reduce frequency of unnecessary prostate biopsies?» J Urology 1996; 56: 443-444.
41. Prestigiacomo A.F. et al. «A comparison of the free fraction of serum PSA in men with benign and cancerous prostates: the best scenario». J Urol 1996;156:350-354.
42. Horninger W et al. Urology 2002; 60(4): 31-5.
43. Lein M et al. J Urol 2003; 170 (4): 1175-9.
44. Huber P.R. et al. «Serum free prostate specific antigen: isoenzymes in benign hyperplasia and cancer of the prostate». Prostatic 1995; 27(4):212-219.
45. Stephan C et al. Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention 2000; 9:1133-47.
46. Grossfeld GD, Carroll PR Epidemiol Rev 2001; 23 (1): 173-80 review.
47. Gold P and Goldenberg N. MJM 1997;3: 46.
48. Duffy MJ. Clin Chem 2001; 47: 624-630.
49. Lamerz R. Anticancer Res 1997;17(4B):2927-30.
50. Doherty AP, Bower M and Christmas TJ Br J Urol 1997;79:247-252.
51. Tsai J-F et al. Br J Cancer 1995; 72: 442-6.
52. Thomas CMG, Sweep CGJ The International Journal of Biological Markers 2001;16(2): 73-86.
53. "Tumor markers", εύρεση στο δικτυακό τόπο: http://training.seer.cancer.gov/module_diagnostic/unito3_tumor_markers.html
54. Bidart J-M. et al Clinical Chemistry 1999 ;45(10):1695-1707.
55. Doherty AP, Bower M and Christmas TJ Br J Urol 1997;79:247-252.
56. Meyers ML and Bosl GL Tumour marker update 1994; 6(5): 149-153.
57. Bower M Tumour marker update 1996;8(1):1-7.
58. Duffy MJ Ann Clin Biochem 1989; 26:379-387.
59. Bates SE Drugs 1989; 38(1): 9-18.
60. Engelen MJA et al. Gynecologic Oncology 2000; 78;16-20.
61. Pauler DK et al. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 2001; 10(5);489-493.
62. Sjövall K, Nilsson B and Einhorn N Gynecologic Oncology 2002; 85: 175-178.
63. Thomas H and McCormack M Tumour Marker Update 1998; 10(4): 107-9.
64. Van Dalen A and Molina R Tumour Marker Update 1999; 11(1): 1-4.
65. Duffy MJ Ann Clin Biochem 1999; 36: 579-586.
66. Educational Commentary-2004 1st Test Event (Chemistry) CA 15-3 and CA 27.29, American Proficiency Institute.
67. Mellerich D.M. et al. «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; 5:1007-1017.
68. Sundström B.E. et al. «Cytokeratins and cancer» J. Tumor Marker Oncol 1993;8(3), p.43. 10th IATMO Conference Abstracts.
69. Marrink J «TP(A) or not TP(S): what's the question?» Tumour Marker Update 1993;5(4):71-73.
70. Bjurklund B «Tumour markers TPA, TPA-S and cytokeratins. A working hypothesis». Tumordiagn Ther 1992; 13:78-80.
71. Van Dalen A «Significance of cytokeratin markers TPA, TPA(CYK), TPS and CYFRA 21.1 in metastatic disease». Anticancer Res.1996;16:2345-2350.
72. Bodenmuöller H. et al. «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; 9:70-74.
73. Stieber P et al. «Comparison of CYFRA 21.1, TPA and TPS as tumour markers in lung cancer». Cancer 1993; 72: 688-694.
74. Eskelinen M et al. «A prospective study of TPS». Anticancer Res 1992;12:2033-2036.
75. 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.

76. Joseph E et al. *Tumour Marker Update* 1997; 9(5): 157-163.
77. Hauschild A et al. *Oncology* 1999; 56:338-344.
78. Jury CS et al. *Br J Dermatol* 2000; 143: 269-274.
79. Ghanem G et al. *Int J Cancer* 2001; 94(4): 586-90.
80. Kimura N et al. *J Urol* 1997; 157: 565-568.
81. Ferrari L, Seregini E and Bombardieri E *Tumour Marker Update* 1999; 11(4): 187-193.
82. Giovanella C *Luca Chromogranin, a circulating neuroendocrine marker (monograph)* Oct 2003, Ed.CIS bio international.
83. Degorce F et al. *Br J Cancer* 1999; 79: 65-71.
84. Stenman U-H *Clin Chem* 2002; 48:1206-9.
85. Kato H *Anticancer Res* 1996; 16: 2149-2154.
86. Kato H *Tumour Marker Update* 1996; 8(6): 177-179.
87. Lindblom A, Liljegren A "Tumour markers in malignancies" *BMJ* 2000; 320:424-427.
88. Selby C. *Ann Clin Biochem* 1999; 36:704-721.
89. Culig Z. et al. *Cancer Res* 1994 ;54: 5474-8.
90. Price CP et al. "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.
91. Coussens LM & Werb Z "Inflammation and cancer" *Nature* 2002; 420(19):860-7.
92. Shacter E, Wetzman SA "Chronic inflammation and Cancer", *Oncology*, 2002; 16(2): p.217.
93. Nagorsen D et al. "Natural T cell immunity against cancer", *Clinical Cancer Research*, 2003; 9: 4296-4303.
94. Dranoff G "Tumour immunology. Immune recognition and tumour protection", *Current Opinion in Immunology* 2002; 14:161-164.
95. Smith MJ, Cretney E et al. " Cytokines in cancer immunity and immunotherapy" *Immunological Reviews*, 2004; 202(1): p.275.
96. Ψαρρά Α. «Οι κυτταροκίνες και ο προσδιορισμός τους. Μύθος και πραγματικότητα.» *Ενημερωτικό Δελτίο ΕΕΚΧ-ΚΒ*, 1999; 11: σ. 3.
97. Vicari AP, Caux C "Chemokines in cancer" *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 2002;13: 143-154.
98. Hiroaki Ikeda, Old LJ, Schreiber RD "The roles of IFN γ in protection against tumor development and cancer immunoediting" *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 2002;13: 95-109.
99. Balkwill F "Tumor necrosis factor or promoting factor?" *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2002; 13: 135-141.
100. Sarandakou A et al. "sIL-2R and NSE in small cell carcinomas" *Anticancer Res*, 1993; 13: 173-176.
101. Creagh EM, Conroy H, Martin SJ "Caspase-activation pathways in apoptosis and immunity" *Immunological Reviews*, 2003; 193(1): p.1.
102. Xuejun Jiang and Xiadong Wang "Cytochrome C-mediated apoptosis" *Annu Rev Biochem*, 2004; 73:87-106.
103. Jelkmann W "Pitfalls in the measurement of circulating VEGF" *Clin Chem*, 2001;47: 617-623.
104. 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): 1159-65.
105. Murawaki Y. et al. «Serum tissue inhibitor of metalloproteinases in patients with chronic liver disease and with hepatocellular carcinoma». *Clin. Chim. Acta* 1993;218:47-58.
106. Garzetti G.G. et al. «Increased serum 72 kDa MMP in serous ovarian cancer: comparison with CA 125». *Anticancer Res*1996;16(4A):2123-2128.
107. Riisbro R 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