

I MARCATORI TUMORALI

La neoplasia e' sempre associata alla presenza nell'organismo di numerose sostanze di varia natura -proteine ,enzimi, ormoni , etc.- in relazione all'alterazione del metabolismo cellulare indotta dalla neoplasia stessa . Queste sostanze compaiono nei fluidi biologici quali sangue, urine, saliva, etc e sono rilevabili e dosabili mediante l'utilizzo di tecniche analitiche abbastanza complesse quali ad esp. l'immunometria con l'utilizzo dei radioisotopi o di altri traccianti . Quindi con il termine di marcatore tumorale indichiamo quel gruppo di sostanze rilevabili nei liquidi biologici che abbiano una relazione ~~causale~~ o probabilistica con una o piu' neoplasie . Essi rappresentano un segnale della presenza e della eventuale estensione della neoplasia . Il marcatore tumorale per eccellenza dovrebbe avere le seguenti caratteristiche :

- differenziazione certa tra soggetti sani e malati .
- identificazione di tutti i soggetti effettivamente malati
- specificita' di organo o di tessuto in modo da fornire indicazioni sulla localizzazione del tumore .
- correlazione tra stadio di malattia e livello del marcatore circolante .
- correlazione tra variazioni del quadro clinico manifestato dal paziente prima e dopo la terapia e livello del marcatore circolante .
- correlazione tra prognosi e concentrazione del marcatore circolante

Dopo una sperimentazione ormai datata di venti anni possiamo arrivare a concludere che : .

- i marcatori tumorali sono presenti nei fluidi biologici in quantita' significativa prevalentemente nelle fasi avanzate della malattia e non in quelle precoci .
- nessuno di essi e' valido per la totalita' delle neoplasie e nessuno di essi riveste una specificita' assoluta nei riguardi di un organo od apparato .
- la loro presenza in pazienti asintomatici , senza l'ausilio di alcun altro dato sperimentale , non autorizza a porre diagnosi di neoplasia ma impone una attenta valutazione nel tempo di questi soggetti con opportune indagini diagnostiche .
- e' ormai documentata nella letteratura mondiale l'utilita' clinica del dosaggio dei marcatori :
 - a) nella valutazione , in concorso con altri metodi diagnostici ,della prognosi (Vedi pazienti candidati a terapie piu' o meno aggressive o soltanto palliative .
 - b) nella valutazione della risposta alla terapia .
 - c) nel riconoscimento precoce di recidive in situ e metastasi a distanza .La loro determinazione nel follow-up spesso indica il persistere della malattia in loco o il presentarsi in altra sede , spesso in largo anticipo rispetto a qualsiasi altra indagine strumentale .

CLASSIFICAZIONE DEI MARCATORI TUMORALI

Possiamo distinguere 3 categorie di marcatori :

- sostanze normalmente presenti nei soggetti sani entro determinati valori , ma che per il loro significativo aumento in corso di patologie neoplastiche assumono il ruolo di marcatori tumorali . A questa categoria appartengono l'Antigene Prostatico Specifico (PSA) per il tumore della prostata , la Tireoglobulina (hTG) e la Calcitonina (hCT) per i tumori della tiroide , la Gonadotropina Corionica (hCG) per il tumore dei testicoli ed il corioncarcinoma .
- sostanze fisiologicamente presenti nella vita embrionale e/o fetale che dopo la nascita vanno incontro ad un rapido decremento ma tornano ad aumentare in caso di sviluppo di particolari neoplasie . A tali sostanze , chiamate Antigeni Oncofetali, appartengono ad esp. l'Alfafetoproteina (α FP) per le neoplasie del fegato e l'Antigene Carcinoembrionario (CEA) per i tumori del tratto gastroenterico .
- sostanze prodotte dalle cellule trasformate in senso neoplastico . A questo gruppo appartengono i cosiddetti " Antigeni Tumore-Associati" (TAA) ; sono un gruppo di sostanze originate dalla modificazione di glicoproteine o glicolipidi della membrana cellulare . Tale modificazione comporta l'attivazione del sistema immunitario nei loro confronti in quanto sono da considerarsi antigeni "non-self". Questi marcatori vengono identificati mediante una sigla ed una numerazione ; la sigla "C A" sta' ad indicare "Antigene Carboidratico" – poiche' si tratta di sostanze con un'alta percentuale di zuccheri – mentre la numerazione sta' ad indicare il clone cellulare verso il quale sono stati prodotti gli anticorpi specifici . Si annoverano in questa categoria : il CA125(tumore dell'ovaio) , il CA15-3 (tumore della mammella) , il CA50 ed il CA19-5 (tumori del colon e del pancreas) , il CA 19-9 (tumori del colon e pancreas) , il TAG-72 (sempre per i tumori del tratto gastroenterico) .

Si definisce "**specificita'**" di un marcatore , la capacita' di identificare i soggetti non affetti da neoplasia; di conseguenza vengono definiti " falsi positivi" i soggetti che presentano valori elevati del marcatore in assenza di malattia .

- Si definisce "**sensibilita'**" di un marcatore la capacita' del marcatore di rivelare il tumore nei soggetti affetti dalla malattia ; si definiscono "falsi negativi" i soggetti patologici con valori normali del marcatore .
- Un marcatore **ideale** dovrebbe quindi avere una sensibilita' e specificita' del 100%. E' chiaro che questa e' una situazione ad oggi utopica : il massimo che si riesce ad avere e' un test con specificita' del 95% e sensibilita' del 75%

- CEA

E' il piu' conosciuto tra tutti i marcatori tumorali ed e' stato descritto per la prima volta da Gold e Freedman nel 1965. E' una glicoproteina a p.m. 200.000 dalton , costituita da una unica catena polipeptidica . E' presente ad elevate conc. sia nel sangue che nella mucosa colica dell'embrione e del feto ; dopo la nascita la sua conc. sia nel sangue che negli estratti del colon va gradualmente riducendosi ; nel siero dei soggetti sani e' presente in conc. pari a 5 ng/ml , nei fumatori arriva anche a conc. doppie . Inizialmente l'interesse per tale glico-proteina era dovuta alla possibilita' che un suo aumento in circolo svelasse l'insorgenza di processi neoplastici a partenza della mucosa del colon . In realta' si e' potuto notare che **livelli normali di Cea** si riscontrano in oltre il 50% dei pazienti neoplastici mentre **livelli elevati di Cea** si riscontrano in circa il 10-15% di pazienti con patologie benigne . Questa evidenza ha impedito chiaramente l'utilizzo del marcatore nei programmi di screening. Le ragioni di tali evidenze risiedono sostanzialmente nella sua elevata eterogeneita' molecolare . Si sa' infatti che tale molecola possiede determinanti antigenici in comune con antigeni dei gruppi sanguigni nonche' con antigeni presenti in estratti di mucosa del colon normale . Oggigiorno si ritiene che la possibilita' di incrementare la specificita' di questo marcatore sia legata alla esatta conoscenza strutturale di quella parte della molecola che la differenzia dagli altri antigeni ..

Malgrado tutte le limitazioni di cui si e' fatto cenno in precedenza non c'e' dubbio che tale marcatore sia in grado di fornire utili elementi di valutazione sia in fase diagnostica che prognostica .E' stato infatti ampiamente dimostrato che dopo l'exeresi chirurgica del tumore , i valori di Cea , se inizialmente elevati , si riducono rapidamente fino addirittura a valori di conc. normali se l'intervento e' stato radicale ; viceversa ,dopo la resezione chirurgica , una riduzione solo parziale dei livelli o addirittura nulla indica il persistere della neoplasia e deve indurre il chirurgo in questo caso , anche con il conforto di ulteriori indagini strumentali , ad un successivo intervento .E' stato anche dimostrato che un innalzamento progressivo dei valori di Cea indica generalmente l'imminenza di una recidiva anche se tutte le indagini strumentali eseguibili non lo dimostrano .

ALFA₁-FETOPROTEINA

E' una glicoproteina di 64.000dalton. Viene sintetizzata nel sacco vitellino e nel fegato fetale e raggiunge nel siero del feto il suo valore massimo (circa 3 gr/lit) al terzo mese di vita intrauterina ; alla nascita la sua concentrazione e' compresa tra 15-150 ng/ml e tale valore diminuisce lentamente sino a stabilizzarsi a partire dal secondo anno di vita intorno a valori di 1- 5 ng/ml che rimarranno tali per tutta la vita .

Il suo dosaggio viene richiesto , oltre che nella diagnosi prenatale dei difetti del tubo neurale, principalmente nella diagnosi e monitoraggio del carcinoma primitivo del fegato .

Si distinguono due tipi di carcinoma primitivo epatico : uno , non secernente , in cui i valori di alfa-fetoproteina si mantengono entro i limiti della norma , l'altro , secernente , in cui i valori sono fortemente aumentati ed in relazione anche allo stadio della malattia (da 150 ng/ml fino a valori di oltre 10.000) . Questi due tipi di tumori sono indistinguibili per caratteri anatomico-patologici e clinici mentre lo sono per una diversa incidenza da popolazione a popolazione : piu' rari sono i non secernenti che hanno una incidenza del 10-15%.

L'alfa-fetoproteina viene utilizzata anche come marker per le neoplasie ovariche e nel teratoblastoma ; tale riscontro e' spiegabile con la presenza nella massa tumorale di residui embrionali del sacco vitellino . Nei teratoblastomi possono essere presenti anche cellule del sincizio-trofoblasto ,secernenti Gonadotropina Corionica (HCG) : difatti il dosaggio contemporaneo di questi due marcatori consente di diagnosticare il teratoblastoma in circa l'87% dei casi .

L'alfafetoproteina non e' dotata di specificita' assoluta ,difatti valori aumentati si riscontrano anche nell'1-3% dei tumori del tratto gastro-enterico , con o senza metastasi epatiche , nelle epatopatie acute (epatiti virali) e croniche (cirrosi , epatiti croniche aggressive e persistenti , epatiti alcoliche); in questi ultimi casi pero' il livello di alfa-FP raramente supera il valore di 50-100 ng/ml .

ANTIGENE POLIPEPTIDICO TISSUTALE (TPA)

E' una proteina prodotta dalla placenta e da altri tessuti in rapida crescita e per questo viene considerato marker di proliferazione neoplastica. Difatti elevati livelli di TPA si riscontrano in neoplasie dello stomaco , polmone , colon , retto , pancreas ma anche in processi infiammatori acuti e cronici , nelle epatiti e nelle cirrosi epatiche . La sua determinazione e' scarsamente utilizzabile come indice generico di neoplasia , tenendo conto del frequente riscontro di positivita' nelle malattie benigne , non pancreatiche, dell'apparato digerente. Sembra invece di buona utilita' nella diagnosi differenziale tra carcinoma del pancreas e pancreatite cronica in quanto il suo livello aumenta notevolmente nella prima patologia e non nella seconda : Tende sempre piu' a diffondersi l'utilizzo del dosaggio combinato di TPA e Cea nel monitoraggio dei pazienti neoplastici sottoposti a terapia chirurgica o chemioterapica . Il significato dei due markers non e' pero' lo stesso : infatti il **Cea e' correlato alla massa tumorale mentre il TPA e' un indice di attiva proliferazione tumorale** . Grandi masse tumorali quiescenti determinano elevati livelli circolanti di Cea mentre piccoli tumori in attiva proliferazione determinano elevati livelli circolanti di TPA .

Sono state evidenziate omologie immunologiche tra TPA e ed alcune citocheratine del sistema dei filamenti intermedi specifici delle cellule epiteliali che rivestono le cavita' interne . Le citocheratine sono caratterizzate dalla loro estrema insolubilita' in ambiente acquoso a pH fisiologico ed e' per questo motivo che si ritiene il TPA rinvenuto in circolo , derivare dalla frammentazione proteolitica delle citocheratine tissutali . Nel caso di lisi della membrana cellulare di cellule in proliferazione di tessuti epiteliali normali, si verifica il rilascio del loro contenuto nei dotti adiacenti e nulla passa in circolo ; invece le cellule dei tessuti in proliferazione maligna , che hanno la caratteristica di morire e dividersi durante il ciclo di divisione cellulare come conseguenza del loro contenuto genetico anormale , non trovandosi in vicinanza dei dotti , rilasciano il loro contenuto cellulare ai tessuti e di qui passano in circolo , dopo la modifica indotta dagli enzimi proteolitici presenti localmente . Le cellule ad alto grado di malignita' si dividono piu' frequentemente e la probabilita' di rottura durante la divisione cellulare e' quindi maggiore ; cio' porta quindi ad un incremento in circolo di contenuto cellulare e tra questo anche di citocheratine .

Il TPA e' un marcatore " generico " di neoplasia , in quanto riflette la crescita maligna in svariati organi .

MARCATORI TUMORALI NELLE NEOPLASIE MAMMARIE

Sebbene oggi giorno la ricerca di base sul cancro e' tutta rivolta allo studio sugli oncogeni e' altrettanto evidente che e' ancora importante indagare sulle strutture cellulari coinvolte nella crescita e nelle attivita' metaboliche e funzionali delle cellule a livello delle quali si esprimono le alterazioni genetiche che accompagnano il processo di trasformazione neoplastica.

Tra le varie strutture finora esaminate, particolare interesse riveste ancora oggi lo studio della membrana cellulare. Essa rappresenta la barriera tra strato interno e strato esterno, conferisce alla cellula l'identita' immunologica, chimica e recettoriale per tutte quelle molecole il cui segnale deve essere trasdotto all'interno della cellula stessa attraversando lo strato inerte lipidico che costituisce appunto la membrana cellulare.

Molti segni clinici della patologia neoplastica sono mediati se non causati da alterazioni a carico di determinate strutture cellulari: varie alterazioni dei componenti di membrana sono state descritte in associazione con la trasformazione neoplastica. In varie linee cellulari si e' osservata, nelle cellule trasformate, una componente carboidratica differente da quella osservata nelle rispettive cellule normali. Tali variazioni sono presenti in vari tipi di cellule indipendentemente dal tipo di cellula e dalla causa di trasformazione neoplastica e sono caratterizzate dalla comparsa di glicolipidi e glicoproteine a piu' alto P.M.

Tra le varie glicoproteine che in questi ultimi tempi hanno destato grande interesse come marcatori tumorali vanno considerate le Mucine per le loro caratteristiche peculiarita'. Infatti le mucine, che si trovano normalmente sulla superficie degli epiteli, rappresentano il maggior costituente del muco ed in condizioni normali si possono ritrovare in circolo a basse concentrazioni. In corso di neoplasie, per il sovrvertimento peculiare indotto sull'organizzazione tissutale, si ritrovano in circolo quantita' piu' elevate di dette sostanze e tali livelli correlano con la massa tumorale. Generalmente gli adenocarcinomi sintetizzano grosse quantita' di mucine. Esse sono caratterizzate da un elevato grado di glicosilazione e sono quindi glicoproteine ad elevato P.M. Sono una famiglia di molecole e solo alcune di esse sono state caratterizzate dal punto di vista chimico ed immunologico: ad esp. la mucina 1 e' stata la prima ad essere identificata ed e' stato dimostrato che il suo core proteico e' identico negli organi normali quali la mammella, pancreas, ovaio e nei rispettivi tessuti tumorali, ma il grado di glicosilazione varia a seconda dei diversi tessuti su menzionati. Vari anticorpi monoclonali sono stati preparati verso la mucina 1, sia diretti verso il core proteico sia verso la componente carboidratica e tra questi ricordiamo l'anticorpo monoclonale denominato b12 che riconosce una mucina associata al carcinoma mammario (Mucin-like Carcinoma associated antigen = MCA).

L'identificazione di questa molecola e' avvenuta in seguito alla selezione di diversi anticorpi monoclonali ottenuti dall'immunizzazione con linee cellulari di carcinoma mammario.

MARCATORI TUMORALI NEL CANCRO DELL'OVAIO

I tumori dell'ovaio costituiscono un gruppo di neoplasie eterogeneo per istogenesi, epidemiologia e storia naturale. Il 90% di essi è costituito dai carcinomi, che nascono dall'epitelio di rivestimento e sono tipici dell'età matura.

I tumori germinali rappresentano il 5% dei casi e sono pressochè esclusivi dell'infanzia e dell'adolescenza. I tumori dello stroma dell'ovaio costituiscono la restante quota e spesso si manifestano con femminilizzazione o virilizzazione in seguito cioè alla secrezione di ormoni sessuali estrogenici o androgenici.

I fattori di rischio dei carcinomi ovarici sono equivalenti a quelli del carcinoma mammario, visto che le gravidanze, numerose e precoci, la menopausa precoce ed il menarca tardivo sembrano proteggere da tale cancro.

Purtroppo la prognosi di questi tumori, per quanto enormi progressi sono stati fatti nel campo della strategia terapeutica chirurgica e chemioterapica resta condizionata dalla frequente tardiva diagnosi, dal momento che raramente la massa pelvica si rende sintomatologicamente evidente in fase precoce.

La scoperta che i differenti istotipi del tumore ovarico producono marcatori tumorali differenti, ha fatto a lungo sperare nell'utilizzo di tali sostanze per uno "screening" di massa. Infatti gli adenocarcinomi sierosi possono produrre grosse quantità di un marcatore mucinico individuato con un anticorpo monoclonale e denominato CA125; gli adenocarcinomi mucinici producono CEA; i tumori a cellule germinali secernono α -feto-proteina mentre questi ultimi ed i corioncarcinomi producono gonadotropina corionica HCG.

Da quanto detto sembrerebbe facile una diagnosi basata sul solo dato sierologico. Ma anche valutando parallelamente marcatori ed ecografia, è possibile fare diagnosi differenziale solo tra le forme benigne e due particolari istotipi: il corioncarcinoma che produce HCG ed il tumore a cellule germinali, che produce α -feto-proteina. L' α -feto-proteina (α FP) è una globulina fetale sintetizzata dal fegato, dal sacco vitellino e dal tubo digerente.

Risulta utile nel "follow-up" dell'epatocarcinoma e dei tumori germinali dell'ovaio e del testicolo. Essa può aumentare in corso di epatite acuta ed in gravidanza. Tuttavia data la grande eterogeneità istologica del ca ovarico, al fine di una corretta diagnosi, è fondamentale che il patologo abbia a disposizione sia l'intero pezzo operatorio che il livello dei 4 marcatori sopra riportati. Una volta sicuro della diagnosi istologica, il livello di base dei marcatori permette di effettuare un bilancio sull'estensione della malattia e sulla prognosi, mentre successive variazioni rispetto al valore di base consentono come per il ca mammario di valutare la risposta al trattamento scelto, ad un mese dalla terapia effettuata.

Nel successivo "follow-up" la concentrazione ematica dei marcatori consente di riconoscere precocemente la recidiva e di monitorare l'efficacia delle successive terapie praticate in caso di malattie avanzate.

NEOPLASIE MAMMARIE (sunto)

Sebbene oggi la ricerca sul cancro è tutta rivolta allo studio sugli oncogeni, è altrettanto vero che molte ricerche devono essere ancora indirizzate allo studio di quelle strutture cellulari direttamente coinvolte nella crescita e nella attività metabolica e funzionale delle cellule.

Particolare interesse desta ancora oggi lo studio della membrana cellulare che rappresenta la barriera tra interno ed esterno e conferisce alla cellula l'identità immunologica, chimica e recettoriale per tutte quelle molecole il cui segnale deve essere tradotto alla cellula attraverso lo strato lipidico della membrana.

Varie alterazioni dei componenti di membrana sono state descritte in associazione alla trasformazione neoplastica. Ad esempio una componente carboidratica diversa è stata sempre riscontrata analizzando linee cellulari trasformate e non.

Di solito si osserva la comparsa di glicoproteine e glicolipidi a più alto P.M. in linee cellulari trasformate rispetto ad analoghe linee normali.

Tra le varie glicoproteine che in questi ultimi tempi hanno destato grande interesse come marcatori tumorali, vanno considerate le mucine che normalmente si trovano sulla superficie degli epitelii e rappresentano il maggior costituente del muco; in condizioni normali si possono ritrovare in circolo a bassa concentrazione, ma in corso di neoplasie, per il sovvertimento dell'organizzazione tissutale indotta dalla neoplasia stessa, si ritrovano a più elevata concentrazione e la loro concentrazione correla con la massa tumorale. Generalmente gli adenocarcinomi secernono elevate concentrazioni di mucine. Esse sono caratterizzate da un elevato grado di glicosilazione e sono glicoproteine ad elevato P.M. Esse sono una famiglia di molecole e solo alcune di esse sono state ad oggi caratterizzate come ad esempio la mucina 1 e si è pure dimostrato che il suo core proteico è sempre lo stesso anche se si estrae da organi normali diversi quali la mammella, ovaio, pancreas o neoplastici mentre varia il grado di glicosilazione.

Vari anticorpi monoclonali sono stati preparati verso la mucina 1, sia diretti verso il core proteico sia verso la componente carboidratica e tra questi l'Ab b12 che riconosce una mucina associata al carcinoma mammario e denominata MCA.

L'identificazione di questa mucina è avvenuta in seguito alla selezione di diversi Ab monoclonali ottenuti dalla immunizzazione con linee cellulari di carcinoma mammario.