

## Il problema 'cancro'

- I tumori rappresentano una delle più importanti cause di mortalità
- Al di là degli enormi sforzi della ricerca, il tasso globale di mortalità per tumore non è praticamente cambiato, ma diminuzioni significative si sono segnalate per quei tumori in cui è possibile fare prevenzione o diagnosi precoce
- L'obiettivo principale dovrebbe essere una diagnosi precoce quando la resecabilità e curabilità del tumore può essere completa. I limiti sono rappresentati dall'asintomaticità della maggior parte dei tumori
- Il marker tumorale 'ideale' dovrebbe essere sia specifico per il tipo (sede) di tumore che sensibile per favorirne la diagnosi in fase precoce o di screening. Attualmente, i marcatori non soddisfano nessuna delle due necessità.

## Una prospettiva storica

M. Corvack, A. Paradiso, M. Quaranta

I markers tumorali

Anno	Autore	Evento
1846	Bence-Jones	Proteina di Bence-Jones
1930	Zondek	HCG
1938	Cutman & Cutman	PAP
1957	Bjorklund	TPA
1960	Yalow & Berson	Tecnica RIA
1963	Abelev	AFP
1965	Gold & Freedman	CEA
1968	Miles & Hales	Tecnica IRMA
1969	Huebner & Todaro	Oncogeni
1971	Addison & Hales	Tecnica IRMA Sandwich
1971	Engvall & Perlman	Tecnica ELISA
1972	Kohler & Milstein	Mo Abs
1976	Watson	Primo esempio di FPIA
1978	Schroeder & Yeager	Primo esempio di LIA
1979	Koprowski	CA19.9
1979	Wang	PSA
1981	Bast	CA125
1984	Kufe e Hilkens	CA15.3
1985	Mullis	Tecnica PCR
1989	Slamon	HER-2/neu
Fine anni '80		
Inizio anni '90		
1991	Ekins e Fodor	Prime ricerche sui Micro-array
1991	Stenman e Lilja	Forme molecolari del PSA
1991	Smith	RT-PCR per mRNAcellule tumorali
1993	Stamey e Vessella	PSA ultrasensibile
1993	Rivista "Science"	p53 - Molecola dell'anno
1994	Folkman e Fiedler	Angiogenesi
1996	Minna & Gazdar	Ricerca Trasazionale
1996	Rosenberg	Evidence - Based Medicine
1996	A.A.VV.	Proteomica
2000	Human Genoma Project	
2000	Celera Genomics	Sequenziamento Genoma Umano
2001	A.A.VV.	Era Post-Genomica

## **Che cosa sono i marcatori?**

- È una sostanza presente o rilasciata dal tumore, o prodotta dall'organismo in risposta allo sviluppo del tumore.
- È una sostanza che può essere utilizzata:
  - per differenziare il tumore dal tessuto normale
  - per diagnosticare un tumore basandosi sulla presenza nel sangue o secrezioni. Può trovarsi nelle cellule, nei tessuti o in altri fluidi corporei
- Può essere misurato quantitativamente e qualitativamente (con metodi chimici, immunologici, o di biologia molecolare)
- Sono la controparte chimica o immunologica dello stato di differenziazione del tumore
- Possono essere specifici per un tipo di tumore o per più tumori che interessano un solo tipo tissutale

## **Due sono i processi principali coinvolti nella crescita cellulare:**

- differenziazione
- proliferazione

**Quando si sviluppa un'eccessiva crescita cellulare all'interno di un tessuto due possono essere le cause:**

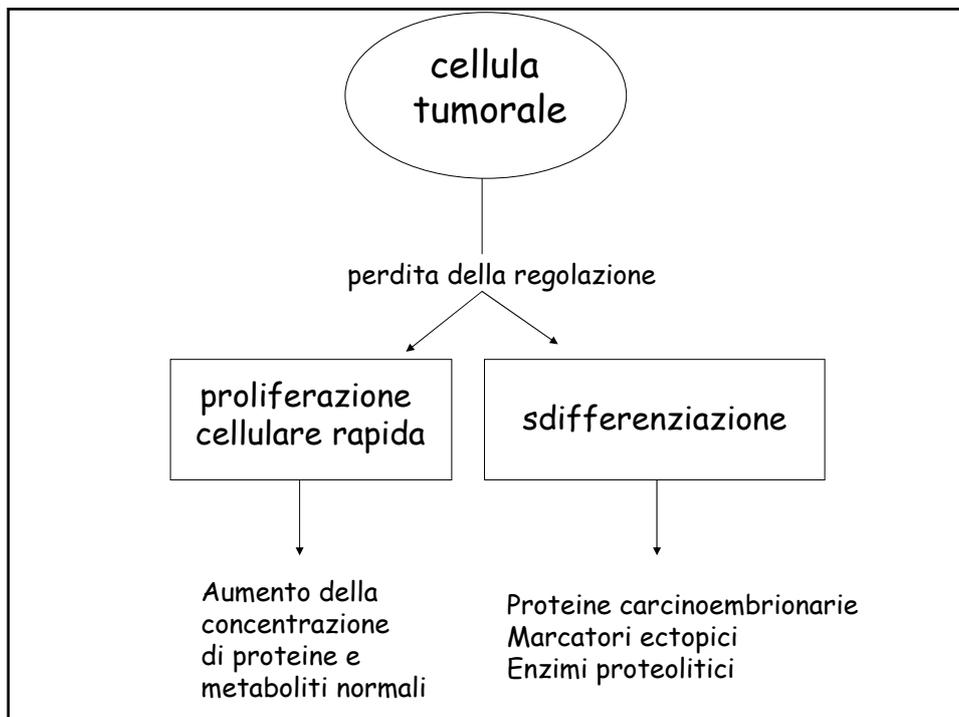
- iperplasia
- neoplasia
  - benigna
  - maligna

### **Neoplasia benigna:**

- proliferazione incontrollata ma limitata alla sede del tumore
- buone probabilità di guarigione dopo resezione chirurgica
- può evolvere in neoplasia maligna a causa di una maggiore instabilità genetica rispetto al tessuto sano

## Neoplasia maligna:

- proliferazione incontrollata con tendenza a diffondere direttamente o attraverso il circolo sanguigno e linfatico (metastasi)
- cattiva prognosi e tempi brevi di sopravvivenza del paziente
- spesso sono composte da cellule sdifferenziate oltre che in attiva proliferazione



## Caratteristiche dei tumori:

- solitamente di origine monoclonale
- derivano dall'accumulo di più mutazioni genetiche che sono responsabili della eterogeneità cellulare
- cellule isolate dallo stesso tumore possono differire per:
  - » velocità di crescita
  - » recettori di superficie
  - » immunogenicità
  - » marcatori tumorali espressi
  - » capacità di metastatizzare
  - » risposta al trattamento con farmaci citotossici

## Classificazione dei marcatori tumorali:

- Enzimi (*metodi spettrofotometrici, RIA...*)
- Ormoni (*RIA...*)
- Antigeni oncofetali (*immunoassorbimento...*)
- Antigeni tumorali (*anticorpi monoclonali...*)
- Marcatori genetici (*PCR...*)
  
- Marcatori correlati allo sviluppo tumorale

## Classificazione dei marcatori tumorali:

Tumour markers	Examples
Oncofetal antigens	CEA, AFP
Hormones	Calcitonin, BHCG
Glycoproteins	Ca-125, PSA
Tumour-associated antigens	
Viral antigens	Polyoma, SV 40
MHC-related antigens	H-2k antigen
Enzymes	PAP, NSE, PLAP
Oncogene products	c-myc, c-erbB2
Cytogenetic markers	Ph <sup>1</sup> chromosome
Tumour-associated markers	
Proteins	Immunoglobulins, beta-2 microglobulin
Enzymes	Lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase, pteridines, pterines
Acute-phase proteins	C-reactive protein, ferritin
Inflammatory markers	ESR, viscosity

## Classificazione dei marcatori tumorali:

- **Sostanze con struttura chimica ben definita**
  - Prodotti fetali (CEA, aFP)
  - Enzimi (HCG, Calcitonina)
  - Prodotti differenziati (PSA, NSE)
  - Citocheratine Cyfra, TPA)
- **Glicoproteine appartenenti al gruppo delle mucine**
  - CA19.9, CA125,
- **Marcatori tumorali circolanti legati ad alterazioni geniche**
  - C-erbB2, K-ras

## **Marcatori associati con la proliferazione cellulare:**

- enzimi (lattato deidrogenasi LDH e fosfatasi alcalina ALP) e loro metaboliti
  - ormoni (es. gonadotropina corionica hCG)
  - proteine sieriche
- utili per il monitoraggio dei pazienti durante il trattamento
- svantaggio: non consentono di fare diagnosi differenziale tra tumori benigni e maligni

## **Marcatori associati con la differenziazione cellulare:**

- proteine carcinoembrionarie o oncofetali
  - prodotte esclusivamente da tessuti embrionali e dai tumori
  - la loro concentrazione sierica correla bene con l'attività del tumore e sono utili anche per stabilire la prognosi
  - utili per il monitoraggio dei pazienti durante il trattamento e per rilevare recidive
- svantaggio: gli anticorpi contro queste proteine talvolta cross-reagiscono con proteine normali o queste proteine sono indicativi anche di patologie non maligne

### **Marcatori associati con il processo metastatico:**

- fattori implicati in tutti i passaggi del processo metastatico
- indicativi del rischio o della presenza di metastasi e quindi di cattiva prognosi
  - svantaggio: la misurazione di questi marcatori è al momento limitata al tessuto tumorale

### **Marcatori associati con altri meccanismi tumorali:**

- l'attività di alcune glicosiltransferasi appare alterata nei tumori
  - si può misurare un aumento di queste glicosiltransferasi
  - o la presenza di glicosilazioni anomale su alcune proteine come quelle dei gruppi sanguigni o le mucine

## **Marcatori associati con il meccanismo di trasformazione maligna:**

- oncoproteine
  - simili ai prodotti normali dei proto-oncogeni ad eccezione del fatto che hanno perso la capacità di essere regolate nella loro attività da parte di segnali di attivazione esterni
- la misurazione dell'espressione delle oncoproteine è un buon indicatore di prognosi
  - » es. p185 prodotto dell'oncogene *c-erbB-2* il cui dominio extracellulare viene tagliato e rilasciato nel sangue. L'espressione di p185 correla con il cambiamento della concentrazione di diversi marcatori tumorali

## **Marcatori associati con il meccanismo di trasformazione maligna:**

- soppressori tumorali
  - codificano per proteine che inibiscono la proliferazione cellulare
  - se accumulano delezioni o mutazioni perdono la loro funzione di controllo
    - » es. p53 (coinvolta in molti tipi di tumori)
    - » BRCA1 (responsabile del 50% dei tumori ereditari della mammella, aumenta il rischio di cancro dell'ovaio, del colon e della prostata)
    - » BRCA2 (responsabile del 70% dei tumori ereditari della mammella non causati da BRCA1, aumenta il rischio di tumore della mammella nell'uomo)

## **Il marcatore 'ideale'**

- Diagnosi precoce
- Test sensibile e specifico
- Indicare natura e localizzazione neoplasia
- Essere di facile esecuzione
- Essere di costo contenuto

## **Requisiti necessari per l'impiego clinico dei marcatori tumorali:**

- **sensibilità**  
capacità di individuare tutti i pazienti con tumore  
» misura della positività vera
- **specificità**  
capacità di distinguere i pazienti con tumore maligno da quelli con tumore benigno  
» misura della positività falsa

## **Incrementi aspecifici:**

- Cause Cliniche
- Eventi fisiologici e abitudini voluttuarie
- Patologie non tumorali
- Procedure diagnostico-terapeutiche

## **Incrementi aspecifici:**

### **Elementi fisiologici ed abitudini voluttuarie**

**Gravidanza                  AFP, HCG, CA125**

**Fumo                          CEA, TPA, TG**

**Ciclo Mestruale          CA125**

**Alcool                        CEA, TPA**

## Incrementi aspecifici:

### Patologie non tumorali

- EPATOPATIA CRONICA: TPA, CEA, CA50, CA125, CA19-9, CA15-3, Ferritina
- ITTERO: CEA, TPA, CA19-9, CA50, Ferritina
- BRONCOPNEUMOPATIA CRONICA: CEA, TPA
- PANCREATITE: CA19-9, CA50, A125
- NEFROPATIA CRONICA: CEA, TPA
- IPERTROFIA PROSTATICA: PSA, PAP
- VERSAMENTO PLEURICO: CA125
- ENDOMETRIOSI: CA125
- TIREOPATIE: TG

## Incrementi aspecifici:

### Procedure diagnostico-terapeutiche

#### **DIAGNOSTICHE**

Esplorazione rettale, Biopsia prostatica: PSA, PAP  
Ago aspirato: TG

#### **CHIRURGIA**

Processi di riparazione: TPA, CA125

#### **RADIOTERAPIA**

Ca Mammella: CA15-3

#### **CHEMIOTERAPIA**

Ca Metastatici Mammella: CA15-3, CEA

## Applicazione clinica dei marcatori tumorali

- Screening di popolazione 
- Diagnosi differenziale in pazienti sintomatici 
- Stadiazione clinica del tumore 
- Stima del volume tumorale 
- Indicazione prognostica della progressione 
- Monitoraggio della risposta al trattamento 
- Valutazione postoperatoria
- Sorveglianza di recidiva 
- Obiettivo per intervento terapeutico

## Screening della popolazione asintomatica con marcatori tumorali:

- nella maggior parte dei casi ha poco significato date le basse sensibilità e specificità dei marcatori tumorali e la bassa incidenza dei tumori nella popolazione asintomatica (es. tumore del colon)
- Può essere fonte di falsi positivi
- utile nello screening di epatomi nella popolazione cinese (ricerca dell'AFP)
- screening del tumore ovarico (CA 125)
- screening del tumore della prostata dopo i 50 anni (PSA) unito all'esplorazione digito-rettale, soprattutto nella popolazione afro-americana



## Utilizzo dei marcatori tumorali nella diagnosi:

- Date le basse sensibilità e specificità dei marcatori tumorali, da soli non bastano per escludere la presenza di un tumore e non sono in grado, spesso, di distinguere tra tumore benigno e maligno
- Possono talvolta essere utili per orientare verso una particolare forma tumorale
- approcci utili per migliorare il loro potere diagnostico:
  - utilizzare marcatori multipli (molto costoso)
  - misurare il loro aumento nel tempo (es. PSA per il carcinoma prostatico)
  - misurarne la densità (PSA concentrazione in rapporto al volume prostatico)



## Utilizzo dei marcatori tumorali nella diagnosi:

### *Definizione della estensione: Localizzato vs metastatico*

PSA (ng/mL)	% pazienti con malattia intracapsulare
0-4	64
4-10	50
10-20	35
20-30	18
30-40	16
40-50	13
>50	9



## Utilizzo dei marcatori tumorali nel monitoraggio del trattamento:

- in questo senso sono molto utili
  - se dopo asportazione chirurgica del tumore i livelli sierici di marcatori tumorali rimangono alti significa che l'asportazione non è stata completa o che siamo in presenza di metastasi
  - durante trattamento chemioterapico, valutare l'andamento dei marcatori è un'indicazione di efficacia della terapia e può essere utile anche per la scelta del farmaco più adatto ad ogni singolo caso



## Utilizzo dei marcatori tumorali nel monitoraggio del trattamento:

	<u>T (1/2)</u>	<u>TEMPO DI DIMEZZAMENTO</u>
C E A	2 -8 g g	
A F P	5 g g	
C A 19 -9	5 g g	
C A 125	4 -8 g g	
b -H C G	24 h	
P S A	36 -76 h	



## **Utilizzo dei marcatori tumorali nel monitoraggio del trattamento:**

- Possono essere molto utili: permettono di “risparmiare” esami strumentali
  - CA 19.9 nel carcinoma del pancreas
  - PSA nella prostata
- Problemi:
  - talvolta entro il range di normalita’
  - Alterati da problematiche concomitanti (CA19.9 ed ittero)



## **Utilizzo dei marcatori tumorali nella ricerca di recidive:**

- sono utili indicatori della presenza di recidive quando il loro livello nel sangue si alza di nuovo a distanza di tempo dall’asportazione chirurgica del tumore

### **Utilizzo dei marcatori tumorali nella ricerca di recidive:**

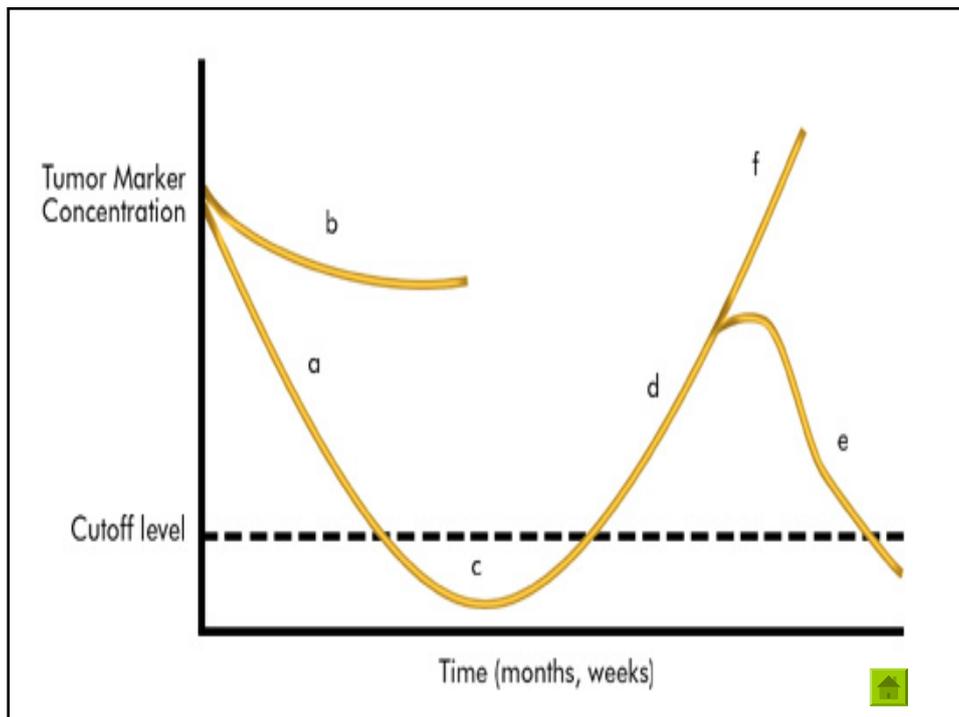
- Durante il follow-up, l'interpretazione dei livelli circolanti dei marcatori può essere ottimizzata utilizzando diversi criteri decisionali
- Numero di Incrementi (o decrementi) successivi: sono considerati clinicamente orientativi almeno 3 incrementi o decrementi consecutivi entro 1-3 mesi
- Percentuale di Incremento: una variazione entro 1-3 mesi superiore al 50% del valore basale, in assenza di cause non tumorali di innalzamento del marcatore, può essere considerata indicativa



### **Utilizzo dei marcatori tumorali nello stabilire la prognosi:**

- Legati al follow-up della malattia
- A questo scopo sono utili i marcatori associati con il processo metastatico come le proteasi e le molecole di adesione che però, ad oggi, possono essere rivelati solo nel tessuto tumorale stesso o nel citosol del tumore, ma non nel sangue





## LIVELLI DECISIONALI

### ▣ NORMALITA'

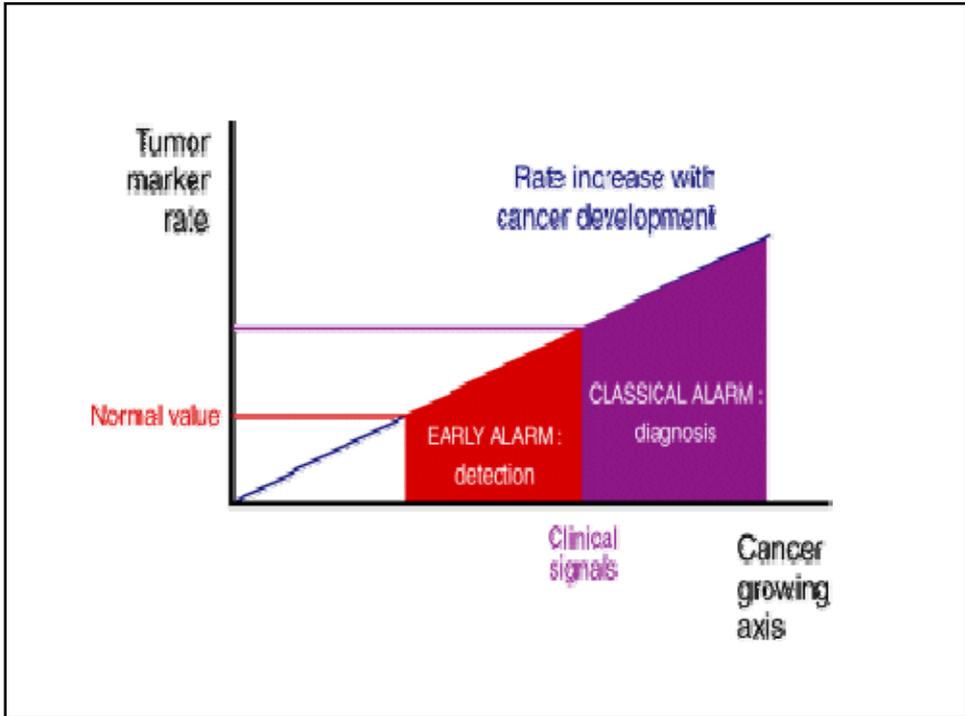
*E' il classico valore soglia, calcolato sulla base della distribuzione dei valori di un dato marcatore in soggetti sani*

### ▣ ALLARME

*Livello più elevato del livello di normalità (privilegia la specificità sulla sensibilità. Valori superiori a questo livello dovrebbero indicare con molta probabilità la presenza di una condizione patologica, benigna o maligna*

### ▣ PATOLOGIA

*Livello ancora più elevato per escludere i falsi positivi (massima specificità, minima sensibilità. Valori superiori a questo livello indicano con buona probabilità la presenza di un tumore*



	Livello Normalità	Livello Allarme	Livello Patologia
CEA (ng/mL)	3	10	20
AFP (ng/mL)	6	50	100
CA19-9 (U/mL)	37	65	90
CA125 (U/mL)	34	80	100
CA15-3 (U/mL)	30	40	50
CA72-4 (U/mL)	4	6	8
MCA (U/mL)	12	15	18
CYFRA21-1 (ng/mL)	3	5	6
SCC (mU/mL)	2	4	5
HCG (U/mL)	2	10	20
PSA (ng/mL)	4	8	12

## ROC (Receiver Operating Characteristic) curve

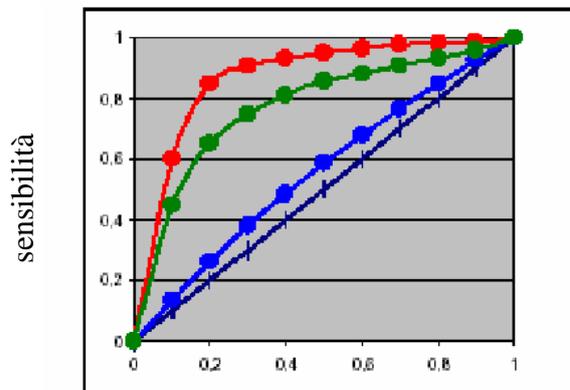


Figure 1: esempio di curva ROC

% falso positivo

<i>Localizzazione</i>	<i>prima scelta</i>	<i>seconda scelta</i>
CERVELLO	NSE, TK, TPA	CEA (metastasi)
IPOFISI	hPr (prolattinoma) hGH (agromegalia)	
NEUROBLASTOMA	NSE, TPA	
DISTR.CERVICOFACCIALE ED ESOFAGO	CA19-9, CA50, TPA, TA 4	
TIROIDE :		
- C. MIDOLLARE	Calcitonina, CEA, NSE, TPA	
- C. FOLLICOLARE	hTG, CEA, TPA	
- C. INDIFFERENZIATO	CEA, TPA	
PARATIROIDI	PTH	
MAMMELLA	CA15-3, MCA, CEA, TPA, CA549	CA50, NSE, B2Micr., SP1
POLMONE e BRONCHI		
- ADENOCARCINOMA	CEA, CA19-9, TPA	Ferritina
- SQUAMOSO EPIDERM	TPA, Ferritina, TA4	
- MICROCITOMA	TPA, NSE	
STOMACO	CA19-9, CA50, CA125, CEA, TPA CA72-4, TAG72	B2micr., NSE, AFP, CKBB, Gastrina, Aldolasi
FEGATO		
- C. EPATOCELLULARE	AFP, TPA, 5 NT	B2micr., ca50, ca19-9
- METASTASI T. PRIMITIVI	CEA, TPA	CA125, BhCG, Ferritina
- EPATOBLASTOMA	CEA, TPA	
VIE BILIARI	CA50, CA19-9, TPA	CA125
C.CIRROSI	CEA, CA19-9, CA125, TPA	AFP, CKBB, CA50
COLON RETTO	CA19-9, CA125, CEA, CA195, TPA	B2micr., CA50, CKBB
PANCREAS	CA19-9, CA125, CEA, CA195, TPA	CA50, NSE, CKBB
ISOLE LANGHEARS	Insulina, Glucagone	
SURRENE	ACTH, Cortisolo	

<b>Localizzazione</b>	<b>prima scelta</b>	<b>seconda</b>
<b>FECROMOCITOMA</b>	NSE, Catecolamine, VMA	
<b>RENE</b>	CA50, B2micr., TPA ur., Ferritina	CEA, CA19-9, Aldolasi
<b>VESCICA</b>	CA50, B2micr., TPA ur., CA19-9	CEA, SP1
<b>PROSTATATA</b>	PSA, PAP, TPA, F.Alcalina, 5 NT	CA50, CKBB, Aldolasi
<b>TESTICOLO</b>		
- A. NON SEMINOMATOSO	BhCG, AFP, TPA	SP1, LDH
- A. SEMINOMATOSO	BhCG, TPA	
<b>UTERO</b>		
- ENDOMETRIO	CA50, CA125, CA19-9, CEA	TPA, B2micr., Aldolasi
- CERVICE	CEA, TA4	
<b>OVAIO</b>		
- T. MUCINOSI	CEA, CA19-9	CA50, TPA, SP1
- T. EPITELIALI	CA125, CEA, CA72-4	
- T. CEL. GER. (Coriocarcinoma)	AFP, BhCG	
- SENO ENDODERMICO	AFP	
<b>TROFOBLASTO</b>	CEA, BhCG, TPA	
<b>LINFOMA NON ODGKIN</b>	B2micr., T-K, Ferritina	IgA, IgG, IgM, IgE
<b>MALATTIA DI ODGKIN</b>	T-K, TPA	
<b>LEUCEMIE</b>	T-K, B2micr., TdT, Ferritina	TPA, IgA, IgG, IgM, IgE
<b>METASTASI OSSEE</b>	Idrossiprolina, Osteocalcina, Fosf. Alcalina, 5 NT	
<b>NEOPLASIE</b>		
- N. EPITELIALI	Acido Sialico, TPA	
- N. MESENCHIMALI	Acido Sialico, TPA	

## Utilità dei markers più importanti nello screening, prognosi, monitoraggio e predizione di recidive

Disease	Marker	Marker in use			Marker still at experimental stage
		Screening	Detection and diagnosis	Staging and prognosis	
Colon cancer	Carcinoembryonic antigen			(X)	X
Breast cancer	Oestrogen receptor			X	
	CA15.3			X	X
	CA27.29				X
	Her-2/neu			X	X
Prostate cancer	Prostate specific antigen	(X)			X
Ovarian cancer	CA125		X		X
	CA19.9 (CA74.2)				X
Thyroid cancer	Thyroglobulin		X		X
Testicular cancer	Calcitonin		X		X
	Human chorionic gonadotrophin		X		X
	$\alpha$ Fetoprotein				X
<b>Sarcoma:</b>					
Synovial sarcoma	t(X;18)		X		X
Ewing's sarcoma	t(11;22)		X		
Alveolar rhabdomyosarcoma	t(2;13)		X		
Granulocytic sarcoma	t(9;11)		X		
Myxoid liposarcoma	t(12;16)		X		
Round cell liposarcoma	t(12;16)		X		
Congenital fibrosarcoma	t(2;15)		X		
Clear cell sarcoma	t(12;22)		X		
Dermatofibrosarcoma protuberans	t(17;22)		X		
Melanoma	Tyrosinase		X		
Adrenal carcinoma	Steroids		X		
	Catecholamines		X		
Lymphoma	t(8;14)		X		X
	t(11;14)		X		X
	t(2;5)		X		X
	t(3;14)		X		X
	sGD25				X
	sGD44				X
Leukaemia	Numerous cytogenetic alterations		X		X

(X)=occasional use (prostate specific antigen) or possible future use (carcinoembryonic antigen).

## Utilità dei markers più importanti nello screening, prognosi, monitoraggio e predizione di recidive

TUMOR	MARKER(s)	UTILITY OF MARKERS			
		Screening	Prognosis	Monitoring	Recurrence
Colorectal	CEA	No	Yes	Yes	Yes
Ovary	CA-125	No	No	Yes	Yes
Testicle	hCG, AFP	No	In some studies	Yes	Yes
Prostate	PSA	Yes?	Yes	Yes	Yes
Breast	CA15-3, CEA	No	No	Yes	Yes
Non-Hodgkin's lymphoma	LDH	No	Yes	No	Yes
Myeloma	beta <sub>2</sub> -M	No	Yes	Yes	Yes
Hepatoma	AFP	Yes, in high-risk patient -	No	Yes	Yes

CEA = carcinoembryonic antigen; hCG = human chorionic gonadotropin; AFP = alpha-fetoprotein; PSA = prostate-specific antigen; LDH = lactate dehydrogenase; beta<sub>2</sub>-M = beta<sub>2</sub>-microglobulin.

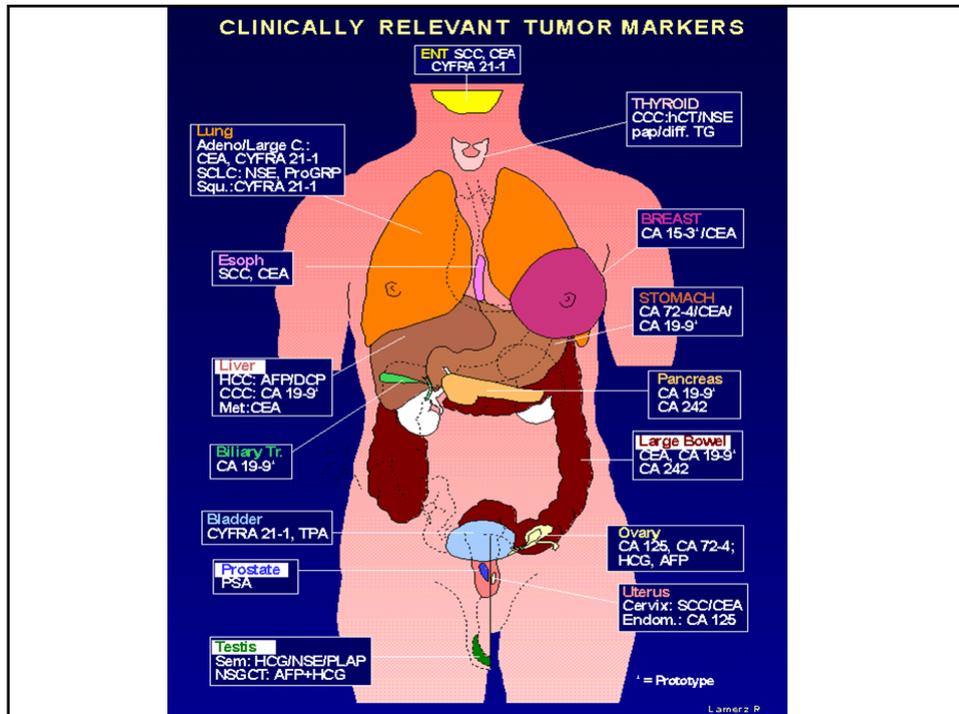
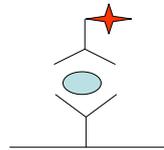
### Diagnostic sensitivity, specificity and cu-off values for the most common used serological markers in human pancreatic adenocarcinoma

Type of Marker	Sensitivity	Specificity	Value Cut-off
<b>Glycoproteins</b>			
POA	17-97 %	65-100 %	//
CEA	16-92 %	49- 93 %	5.0 ng/mL
<b>Cytokeratins</b>			
TPA	36-96 %	67- 92 %	140-320 U/L
TPS	50-98 %	22- 73 %	40.630 U/L
<b>Enzymatic proteins</b>			
Elastase-1	61-100%	91- 96 %	400 ng/dL
TATI	41- 95 %	58- 64 %	20-31 µg/L
<b>Mucins</b>			
DU-PAN-2	49-87 %	63- 80 %	150-200 U/mL
SPAN-1	78-93 %	58- 82 %	30 U/mL
<b>Carbohydrate antigens</b>			
CA19.9	69-93 %	46- 98 %	37 U/mL
CA50	65-96 %	58- 73 %	17 U/mL
CA242	57-83 %	79- 90 %	20-30 U/mL
CA125	45-60 %	76- 86 %	35 U/L
CA195	69-83 %	53- 92 %	9 U/mL

Eskelinen M. et al. Scan J Gastroenterol.1999;34:833-844

## Metodiche utilizzate:

- Dosaggio radioimmunologico competitivo (Radio Immuno Assay - RIA)
  - competizione tra una quantità nota di antigeni marcati radioattivamente e gli antigeni presenti nel campione per una quantità limitata di anticorpo
  - » possibilità d'interferenza da parte di altri ligandi dell'anticorpo
- Elisa (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) formato Sandwich
  - effetto uncino



## Enzimi

- L'aumento della concentrazione di un enzima o isoenzima non è sufficiente per la diagnosi di tumore o di sede (non unici per tessuto), ad eccezione del PSA
- Le anomalie enzimatiche possono essere legate alla distruzione o aumentata permeabilità tissutale, all'espressione di un isoenzima (forma fetale), alla produzione ectopica, o a conseguenza dello sviluppo della massa tumorale (insufficienza renale o blocco dei dotti biliari o pancreatici, ecc.)

## Enzimi

TABLE 23-5 | Enzymes as Tumor Markers

Enzyme	Assay	Type of Cancer
Alcohol dehydrogenase	Act	Liver
Aldolase	Act	Liver
Alkaline phosphatase	Act	Bone, liver, leukemia, sarcoma
Alkaline phosphatase-placental	Act	Ovarian, lung, trophoblastic, gastrointestinal, seminoma, Hodgkin's
Amylase	Act	Pancreatic, various
Aryl sulfatase B	Act	Colon, breast
Creatine kinase-BB	Act	Prostate, lung (small-cell), breast, colon, ovarian
Esterase	Act	Breast
Galactosyltransferase	Act	Colon, bladder, gastrointestinal, various
$\gamma$ -Glutamyltransferase	Act	Liver
Hexokinase	Act	Liver
Leucine aminopeptidase	Act	Pancreatic, liver
Lactate dehydrogenase	Act	Liver, lymphomas, leukemia, various
Neuron-specific enolase	RIA	Lung (small-cell), neuroblastoma, carcinoid, melanoma, pheochromocytoma, pancreatic
5'-Nucleotidase	Act	Liver
Prostatic acid phosphatase	Act/IMA	Prostate
PSA	IMA	Prostate
Pyruvate kinase	Act	Liver, various
Ribonuclease	Act	Various (ovarian, lung, large bowel)
Sialyltransferase	Act	Breast, colon, lung
Terminal deoxytransferase	Act	Leukemia
Thymidine kinase	RIA/Act	Various, leukemia, lymphomas, lung (small-cell)

## Enzimi

- ALP: può aumentare per tumori epatici primari o secondari, per metastasi ossee (lesioni osteoblastiche > osteolitiche), per altre forme tumorali (leucemia, linfomi, sarcoma. Può aiutare lo studio degli isoenzimi e di altre forme enzimatiche
- CK: aumento dell'isoenzima CK1(BB) per tumori prostatici o microcitomi
- LDH: aumento aspecifico in diverse forme tumorali, ma può correlare con la massa di tumori solidi e quindi con la progressione di malattia

## Enolasi neuro-specifica

- subunità gamma di un isoenzima enolasi della via glicolitica, presente soprattutto nei neuroni e nelle cellule neuroendocrine
- livelli elevati si trovano nei tumori di origine neuroendocrina (neuroblastoma, feocromocitoma, carcinoide, melanoma, pancreatici, ecc.)
- è un marcatore specifico del tumore del polmone a piccole cellule utile nel monitorare la risposta alla terapia e la presenza di recidive

## Antigene prostatico specifico

- Marcatore tumorale maggiormente organo- specifico
- Si trova nel tessuto prostatico normale, benigno, iperplasticono e nei tumori prostatici. Non discrimina sempre le formazioni benigne da quelle maligne.
- A questo proposito è utile misurare la percentuale di PSA libera – in circolo, il PSA si trova legato ad un inibitore della proteasi o in forma libera (componente minore ma il rapporto PSA libero/totale aumenta la probabilità di tumore )
- deve essere monitorato il suo andamento nel tempo
- è utilissimo per la rivelazione di metastasi o di recidive dopo asportazione chirurgica della prostata

## Antigene prostatico specifico

NEOPLASIA	OBIETTIVO CLINICO	MARCATORE PRIMA SCELTA
CA PROSTATA	DIAGNOSI DIFFERENZIALE	PSA TOTALE PSA FREE (RAPPORTO F/T)
	BILANCIO DI BASE (Estensione, Tipo Istologico, Prognosi)	PSA TOTALE
	RISPOSTA AL TRATTAMENTO PRIMARIO	PSA TOTALE
	RICONOSCIMENTO PRECOCE PROGRESSIONE	PSA TOTALE
	MONITORAGGIO TERAPIA MALATTIA AVANZATA	PSA TOTALE- PAP

# Antigene prostatico specifico

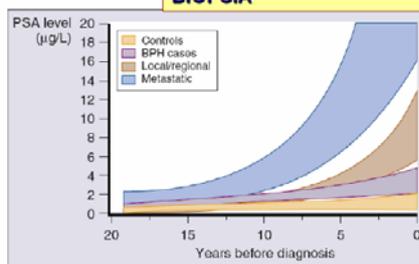
## ESAMI DIAGNOSTICI



**PSA** Distribuzione ghiandolare e passaggio di PSA nella circolazione

**IPERTROFIA PROSTATICA  
PROSTATITI  
CANCRO DELLA PROSTATA  
MASSAGGIO PROSTATICO  
BIOPSIA**

*Marcatore estremamente sensibile ma non specifico del cancro della prostata: i suoi livelli aumentano con l'età e le dimensioni della prostata*



Copyright © 2004, 2000, 1995 by Elsevier Inc.

**N.B.** Terapia radiante, ablazione chirurgica della prostata, terapia antiandrogenica inducono riduzione dei livelli sierici di PSA

# Antigene prostatico specifico

Per aumentare la specificità diagnostica ci si può avvalere di diversi parametri

PSA velocity Velocità di crescita annuale del PSA

PSA density Concentrazione del PSA rispetto al volume ghiandolare

Dosaggio del PSA libero

↑  
PSA libero

↓  
PSA libero/PSA totale

Correzione per l'età

# Antigene prostatico specifico

## ESAMI DIAGNOSTICI



PSA

**Cut-off**

PSA=4,0 ng/ml (sensibilità ≈ 80%)

V.N. 0-4 ng/ml

Rischio di tumore prostatico in relazione al livello di PSA	
PSA ≤ 4,0 ng/ml	5%
PSA tra 4,1 ng/ml e 9,9 ng/ml	25%
PSA ≥ 10 ng/ml	55%

Diviene un marcatore specifico dopo terapia radicale per il ca prostatico  
Estremamente utile nella valutazione della ripresa di malattia dopo terapia

## Ormoni

- L'aumento della concentrazione di un ormone non è sufficiente per la diagnosi di tumore o di sede
- Le anomalie ormonali possono essere legate all'aumentata produzione in sede o ectopica (es. ACTH, APUDomi)

## Calcitonina

- ormone peptidico circolante prodotto dalle cellule C della tiroide
- è elevato nel carcinoma midollare della tiroide
- aumenta nei pazienti con maggior turnover del tessuto osseo associato alla presenza di metastasi ossee
- si trova elevato in maniera ectopica anche nei carcinomi broncogenici
- è elevato in molte patologie non maligne (es. pancreatiti, pneumopatie, endocrinopatie, ecc.)

## Gonadotropina corionica (hCG)

- livelli elevati di questo ormone si trovano nei tumori della placenta (trofoblastici), nel coriocarcinoma e nei tumori testicolari.
- aumento della subunità beta può essere indice di metastasi da coriocarcinoma anche se la concentrazione della forma integra non cambia
- la subunità beta può essere indice di cancro uroteliale, mentre la alfa di tumore endocrino del pancreas
- è elevato in molte patologie non maligne (es. ulcere duodenali, cirrosi, ecc.)

## **Peptide associato all'ormone paratiroideo**

- aumenta nella maggior parte dei pazienti con ipercalcemia associata a cancro
- può essere utile nella diagnosi differenziale di ipercalcemia associata a tumore rispetto a quella dovuta a iperparatiroidismo, sarcoidosi, intossicazione da vitamina D
- pazienti con ridotta funzione renale possono avere un aumento di questo peptide anche senza la presenza di neoplasie

## **Recettori degli estrogeni e del progesterone**

- la misurazione dei livelli di questi due tipi di recettori serve per selezionare quelle pazienti con tumore della mammella che risponderanno alla terapia endocrina
- la positività ai recettori estrogenici e progestinici è indice di una buona prognosi e di una sopravvivenza maggiore

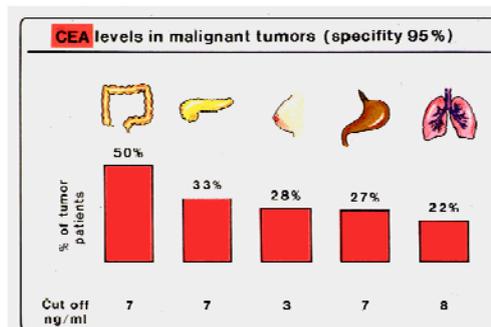
## **Antigeni Oncofetali**

### **alfa-fetoproteina (AFP)**

- Glicoproteina di 64 KDa con valori normali compresi tra 1-10 ng/ml
- in condizioni normali è prodotta solo nel sacco vitellino e dagli epatociti fetali e in misura minore dalle cellule del tratto gastrointestinale e renali fetali
- AFP aumentata può essere rilevata in pazienti con epatocarcinoma primario (utile anche nella prognosi e nel monitoraggio della terapia) o con tumori delle cellule germinali derivate dal sacco vitellino (insieme alla hCG)
- Può essere lievemente aumentata anche durante la gravidanza o a seguito di patologie benigne del fegato (epatite virale, cirrosi epatiche, epatopatia alcolica, ecc.)

## Antigene carcinoembrionario (CEA)

- glicoproteina con peso molecolare di circa 200 kDa
- il marcatore più utilizzato per i tumori gastrointestinali, colonrettali, polmonari e mammario
- isolato per prima volta nel 1965 nel siero di pazienti affetti da carcinoma del colon;
- prodotto durante il periodo fetale dalle cellule del tratto digerente e dal pancreas;



## Antigene carcinoembrionario (CEA)

NEOPLASIA	OBIETTIVO CLINICO	MARCATORE PRIMASCELTA
CA COLON RETTO	DIAGNOSI DIFFERENZIALE	NESSUNO
	BILANCIO DI BASE (Isterione, Tipo Istologico, Prognosi)	CEA, TPA
	RISPOSTA AL TRATTAMENTO PRIMARIO	CEA, TPA
	RICONOSCIMENTO PRECOCE PROGRESSIONE	CEA, TPA
	MONITORAGGIO TERAPIA MALATTIA AVANZATA	CEA, TPA

## Antigene carcinoembrionario (CEA)

- si associa con la presenza di metastasi (fase postoperatoria) e con una cattiva prognosi (fase preoperatoria)
  - la determinazione dei marcatori tumorali è opportuna prima del trattamento per avere un parametro di riferimento nel successivo follow-up
  - è consigliabile il dosaggio del CEA ogni 3 mesi per 3 anni (ASCO 2006)
  - in follow up un incremento del marcatore anche senza evidenza clinica o strumentale dovrebbe indirizzare all'esecuzione di una PET
  - Nella fase avanzata puo' essere utile per monitorare la terapia medica

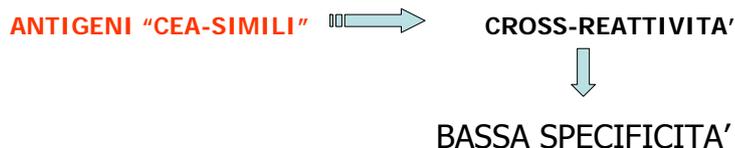
## Antigene carcinoembrionario (CEA)

### CONDIZIONI NON PATOLOGICHE

Fumatori <5.0 ng/ml  
Non fumatori <2.5ng/ml

### CONDIZIONI PATOLOGICHE NON NEOPLASTICHE

Colite ulcerosa  
Polmoniti  
Epatiti



## **Antigene polipeptidico tissutale (TPA)**

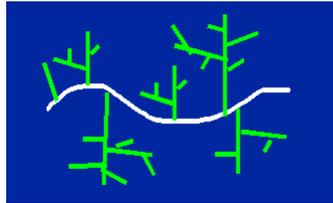
- mix di citocheratine epiteliali a basso peso molecolare
- abbondante nelle cellule in mitosi, molto meno nelle cellule in interfase, è un buon indicatore di proliferazione cellulare
- è sensibile ma aspecifico (aumento anche in gravidanza e in corso di malattie infiammatorie)
- in associazione con altri marcatori, soprattutto il CEA, serve per monitorare diversi tumori epiteliali: mammella, colon-retto, ovaio, vescica e polmone.
- è utile per discriminare tra colangiocarcinoma (positivo) e carcinoma epatocellulare (negativo)

## **Antigene del carcinoma a cellule squamose (SCC)**

- marcatore del tumore della cervice uterina
- utile per monitorare la terapia
- aumenta anche in caso di tumori a cellule squamose della testa e del collo, dei polmoni, dell'esofago e del canale anale
- può aumentare anche in caso di insufficienza renale

## Determinanti antigenici embrionali rivelati con anticorpi monoclonali, antigeni associati ai tumori, antigeni carboidrati

### MUCINE



### ANTIGENI DI GRUPPO EMATICO

glicoproteine ad elevata massa molecolare sintetizzate e secrete dalle cellule mucipare dei bronchi, dell'intestino, della cervice uterina, ecc.

## Determinanti antigenici embrionali rivelati con anticorpi monoclonali

- CA19-9, CA 50, CA 19-5
  - carcinomi del colon, del pancreas ed epatocellulari
- CA 72-4
  - unico marcatore del carcinoma gastrico
- CA 242
  - marcatore di tumori pancreatici e colonrettali
  
- CA 125
  - importante nel carcinoma ovarico
  - utilizzato anche per il follow up dei tumori uterini e di tumori benigni come le endometriosi
  - a seguito di chemioterapia si può avere una riduzione di questo marcatore che però non correla con l'andamento del tumore
- CA 15-3
  - importante nel tumore della mammella è presente anche in altri adenocarcinomi: colon, polmone, ovaio e pancreas
  - può essere elevato anche nell'epatite cronica, nella cirrosi epatica, nella sarcoidosi, tubercolosi e il lupus eritematoso sistemico
- CA 549 e CA 27.29 e MCA (mucinlike carcinoma associated antigen)
  - marcatore del tumore della mammella
- DU-PAN-2 (mucinlike carcinoma associated antigen)
  - marcatore del tumore del pancreas

## Determinanti antigenici embrionali rivelati con anticorpi monoclonali

**CA 125**

carcinoma ovarico di tipo sieroso  
Cut-off <35U/ml

### Altre Indicazioni

Carcinoma dell'endometrio  
Carcinoma della tuba  
Cistoadenocarcinomi

### CONDIZIONI NON PATOLOGICHE

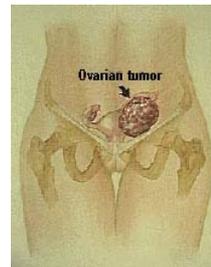
Mestruazioni, gravidanza

### CONDIZIONI PATOLOGICHE NON NEOPLASTICHE

Endometriosi, pericarditi, infiammazioni pelviche

### CONDIZIONI PATOLOGICHE NEOPLASTICHE

carcinoma del polmone, del pancreas, dello stomaco del colon-retto



## Determinanti antigenici embrionali rivelati con anticorpi monoclonali

**CA 72-4**

**Tumori dello stomaco**

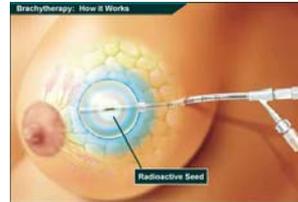
la determinazione dei livelli sierici dei marcatori tumorali riveste un ruolo importante per **diagnosticare precocemente la ripresa di malattia** e individuare i pazienti ancora suscettibili di trattamento chirurgico o di eventuali terapie adjuvanti



... "nella diagnosi delle recidive il CA 72-4 ha dimostrato la migliore sensibilità nel riconoscimento dei pz con ripresa di malattia: 68% (specificità 100%) vs 41.2% per il CEA e 59.7% per il CA 19-9. Livelli patologici sono stati riscontrati in anticipo rispetto alla diagnosi clinica nel 70% dei casi ( int medio 6.1 mesi " )

## Determinanti antigenici embrionali rivelati con anticorpi monoclonali

**CA 15-3** adenocarcinoma della mammella  
Cut-off 51 U/ml



70% pazienti in fase metastasica  
Applicazione diagnostica: monitoraggio del trattamento di questo tumore in fase avanzata

### CONDIZIONI PATOLOGICHE NON NEOPLASTICHE

Patologie benigne del seno, malattie autoimmuni, infezioni urinarie...

### CONDIZIONI PATOLOGICHE NEOPLASTICHE

Carcinoma dell'ovaio, del polmone, coloretta

## Determinanti antigenici embrionali rivelati con anticorpi monoclonali

NEOPLASIA	OBIETTIVO CLINICO	MARCATORE PRIMA SCELTA
CA PANCREAS	DIAGNOSI DIFFERENZIALE	NESSUNO
	BILANCIO DI BASE (Estensione, Tipo Istologico, Prognosi)	CA19-9 CA50
	RISPOSTA AL TRATTAMENTO PRIMARIO	CA19-9 CA50
	RICONOSCIMENTO PRECOCE PROGRESSIONE	CA19-9 CA50
	MONITORAGGIO TERAPIA MALATTIA AVANZATA	CA19-9 CA50

Il cut-off utilizzato per il CA 19-9 è di 37 U/ml, ma alcuni individui possono avere livelli di CA 19-9 superiori a 60 U/ml in assenza di tumore

## Determinanti antigenici embrionali rivelati con anticorpi monoclonali

### CA 19-9

### Rialzo in patologie non tumorali

LIVER (*)	ALCOHOLIC LIVER DISEASE	(73%)
	CHRONIC ACTIVE HEPATITIS	(71-84%)
	PRIMARY BILIARY CIRROSIS	(60%)
	AUTOIMMUNE HEPATITIS	(36%)
	PRIMARY SCEROSING CHOLANGITIS	(61%)
PANCREAS	ACUTE PANCREATITIS	40%
	CHRONIC PANCREATITIS	4%
LUNG	PULMONARY FIBROSIS	
	INTERSTITIAL PNEUMONIA	
RHEUMATIC DISEASE	POLY/DERMATOMYOSITIS	26.7%
	SYSTEMIC SCLEROSIS	11.8%
	RHEUMATOID ARTHRITIS	8% (§)
	(§) cut-off 100U/ml	

(\*) *Ann Clin Biochem 1998; 35:99-103*

## Marcatori genetici

- Lo sviluppo di un tumore è la conseguenza di alterazione genetiche multiple, dallo stato di normalità a quello di diffusione metastatica
- Possibilità di chiudere il gap tra i marker sierici di rischio e screening genetico?
- Due classi di geni per lo sviluppo tumorale:
  - Oncogeni (codificano per proteine coinvolte nella regolazione del ciclo cellulare)
  - Geni soppressori (perdita di questi geni)
- Possibile ruolo nella diagnosi e prognosi

## **Oncoproteina p185 (c-erbB-2)**

- principale marcatore per il tumore della mammella e dell'ovaio e del sistema gastrointestinale, aumenta nel 25-30% dei casi
- migliore indicatore prognostico sia per le recidive che come indice di sopravvivenza superato solo dalla presenza di linfonodi positivi
- utile per identificare quelle pazienti che risponderanno meglio ad alte dosi di chemioterapia adiuvante

## **p53**

- fosfoproteina responsabile dell'inibizione del ciclo cellulare, si lega direttamente al DNA in corrispondenza di siti di regolazione della trascrizione
- alterata in circa la metà dei tumori umani di diversa origine
- può essere misurata nei tessuti, nei fibroblasti, nei globuli bianchi o nel siero
- la proteina normale ha un'emivita molto breve (20 min) per cui non è rilevabile nel sangue

## **pS2**

- peptide ricco di cisteine indotto dagli estrogeni, è secreto dalle cellule della mammella
- serve per predire la risposta alla terapia endocrina del tumore alla mammella
- la sua presenza è indice di buona prognosi
  - ER+/PR+/pS2+ dall'85% al 97% ha buona prognosi
  - ER+/PR+/pS2- solo dal 50% al 54% ha buona prognosi

## **Altri marcatori**

## **Molecole di adesione cellulare (CAM)**

- le forme solubili possono essere rilevate nel siero di pazienti con tumori maligni
- possono essere suddivise in quattro gruppi principali:
  - caderine
  - selettine
  - una superfamiglia di immunoglobuline
  - integrine
- contribuiscono alla crescita cellulare e alla formazione di metastasi

## **Fattori angiogenetici**

- La neoformazione di vasi sanguigni fa parte del processo di sviluppo e di proliferazione dei tumori
- Diversi fattori angiogenetici sono stati trovati nel siero di pazienti neoplastici:
  - fattori di crescita dei fibroblasti sia acidi che basici
  - angiogenine
  - fattori di crescita trasformanti alfa e beta

## **beta2-microglobulina**

- è la catena leggera dell'antigene del complesso maggiore di istocompatibilità umano (HLA) ed è espressa sulla superficie della maggior parte delle cellule nucleate
- marcatore tumorale aspecifico non solo di tumori solidi ma anche di malattie linfoproliferative (leucemie e linfomi)
- buon indicatore della risposta del paziente al trattamento

## **Cromogranina A**

- principale proteina solubile dei granuli cromaffini
- viene rilasciata dalle cellule midollari del surrene insieme alle catecolamine dopo stimolazione del nervo splanchnico
- livelli aumentati si riscontrano nel feocromocitoma e nel carcinoma del polmone a piccole cellule

## **CYFRA 21-1**

- frammento della citocheratina 19
- un aumento indica cattiva prognosi nel caso di carcinoma a cellule squamose del polmone

### **Criteri da seguire per una corretta interpretazione dei risultati ottenuti con il dosaggio dei marcatori tumorali:**

1. ripetere il test più volte per distinguere i tumori maligni da quelli benigni o dalle malattie non-neoplastiche

nel caso di tumori benigni l'aumento dei marcatori può essere un fenomeno temporaneo, o può essere dovuto ad un errore nel test

Se l'aumento si ripresenta ai test successivi è poco probabile che si tratti di un falso positivo

**2. ripetere il test sempre nello stesso laboratorio e utilizzando lo stesso tipo di kit**

kit forniti da ditte diverse possono dare risultati leggermente diversi, che possono essere causa di confondimento

In questo modo si è sicuri che i cambiamenti osservati sono dovuti al tumore e non alla variabilità inter-laboratorio

**3. nel caso della ricerca di recidive assicurarsi che il marcatore rilevato fosse elevato anche prima dell'intervento chirurgico**

La buona pratica prevede lo screening di più marcatori prima dell'intervento in modo da selezionare quello più elevato da utilizzare successivamente per la ricerca di recidive

**4. tenere in considerazione il tempo di emivita del marcatore prima di dosarlo per valutare se la resezione chirurgica è stata completa**

Dopo l'intervento chirurgico è bene aspettare almeno due settimane, meglio un mese prima di dosare un marcatore presente prima dell'intervento.

Es. PSA ha un'emivita di 3-4 giorni per cui sono necessari almeno 20 giorni per far scendere una concentrazione di PSA da 50 ng/ml prima dell'intervento a livelli impercettibili.

5. tenere in considerazione come il marcatore viene metabolizzato e rimosso dal circolo sanguigno

In caso di malattie epatiche o renali concomitanti i marcatori vengono eliminati meno efficientemente e permangono più a lungo nel sangue (es. CEA e beta 2-microglobulina)

6. utilizzare più marcatori per aumentare la sensibilità e la specificità della diagnosi

A causa dell'eterogeneità delle cellule che compongono un tumore, l'utilizzo di un solo marcatore può non essere sufficiente per la sua identificazione

7. se lo scopo è soltanto monitorare l'andamento di una malattia si possono usare marcatori aspecifici molto meno costosi

Anche se perdono di specificità per il tipo di tumore sono molto sensibili ad ogni cambiamento nell'attività del tumore.

8. bisogna stare attenti al cosiddetto effetto uncino che si verifica negli immunoassay a sandwich

Può capitare che se la concentrazione di marcatore è molto alta si abbia un risultato falsamente negativo che mostra una concentrazione molto bassa.

Per ovviare a questo inconveniente è necessario ripetere il saggio con il campione diluito 1:10

9. allarmarsi nel caso in cui comincino ad essere prodotti marcatori ectopici ed embrionali da parte di tumori benigni.

I tumori benigni producono solo un eccesso di proteine normali. La presenza di marcatori ectopici e di proteine embrionali, normalmente non espresse dal tessuto adulto, è indice di trasformazione maligna, cattiva prognosi, presenza di metastasi.