

KARCINOM PLUĆA – KLINIČKE IMPLIKACIJE

LUNG CANCER – CLINICAL IMPLICATIONS

Dragana Jovanović

*Institute for Pulmonary Disease and Tuberculosis,
Clinical Center of Serbia and School of Medicine, Belgrade, Serbia*

Kratak sadržaj: Karcinom pluća je najčešće maligno oboljenje kod muškog pola, a u žena na drugom mestu (nakon raka dojke). Klinička podela na nemikrocelularni (NSCLC) i mikrocelularni (SCLC) odražava različito biološko ponašanje i sledstveno razlike u terapijskom pristupu. Od velike važnosti bi bilo postojanje biomarkera koji bi omogućili razlikovanje ova dva tipa karcinoma pluća, naročito u slučajeva kada nije izvodljiva invazivna dijagnostika kao i u praćenju efekata terapije i ranom otkrivanju relapsa bolesti. Rezultati velikih retrospektivnih ili prospektivnih studija ukazuju na izvesnu vrednost specifičnih markera ili kombinacija ovih markera za dijagnostičke i diferencijalno dijagnostičke svrhe. Merenje četiri serum tumor markera, CYFRA 21-1, CEA, NSE i ProGRP ima opravdanja da bi se identifikovao vodeći marker i na taj način pretpostavio verovatni histološki tip tumora. Serijska određivanja odgovarajućeg tumor markera može takođe biti od pomoći da se utvrdi kompletnost uklanjanja tumora i utvrdi relaps bolesti u okultnom kliničkom stadijumu.

Ključne reči: karcinom pluća, CEA, hromogranin A, NSE, gastrin oslobađajući peptid, CYFRA 21-1, antigen skvamocelularnog karcinoma (SCCA)

Uvod

Karcinogeneza je višestepeni proces koji podrazumeva promene u najmanje 10–20 poznatih gena uključenih u sve aspekte ćelijske funkcije, uključujući reparaciju DNK, ćelijski rast, transdukciju signala, adheziju ćelija, migraciju ćelija i kontrolu ćelijskog ciklusa. Brojni faktori rasta i receptora faktora rasta su

Summary: Lung cancer is the most frequent malignancy among men, and the second frequent among women (after breast cancer). Clinical classification of lung cancer to non-small cell lung cancer (NSCLC) and small cell lung cancer (SCLC) type reflects their different biological behaviour and consequently differences in treatment management. Biomarkers that would allow differentiation between these two tumor types, especially for diagnosis of the cases not eligible for invasive diagnostic procedures, and in monitoring the treatment effect as well as for early detection of disease relapse would be of enormous importance. Large retrospective and prospective clinical trials have proved certain usefulness of serum tumor markers for lung cancer diagnosis and differential diagnosis. Serum measurement of four tumor markers concentrations, CYFRA 21-1, CEA, NSE i ProGRP is reasonable in order to identify the leading marker thus highly suggestive of specific lung tumor histology. Serial determinations of the appropriate tumor marker may help assess the completeness of tumor removal and provide early indication of disease recurrence.

Keywords: lung cancer, CEA, chromogranin A, NSE, gastrin releasing peptide, CYFRA 21-1, squamous cell cancer antigen (SCCA)

aberantno ekspresivani u karcinomu pluća. Mnoge kancerske ćelije ispoljavaju prekomernu ekspresiju ili disregulaciju (poremećenu regulaciju) receptora faktora rasta vezanih za ključne puteve intracelularne signalizacije koji kontrolišu ćelijski rast i diferencijaciju ćelija. Da bi se razvijao proces dalje invazije tumorom, tumorske ćelije moraju da probiju u ekstracelularni matriks i lokalne bazalne membrane. Metaloproteinaze su od ključnog značaja za ovaj korak, a njihovo delovanje omogućava i penetraciju tumorskih ćelija u lokalne kapilarne mreže. Nakon inicijalnog rasta tumora, kada dostignu veličinu od par milimetara, da bi se nastavio dalji njegov razvoj, neophodan je proces njegove vaskularizacije. Ukoliko se on ne javi, tumor ostaje indolentan tokom celog života, odnosno u »uspavanom stanju«. Sinteza i sekrecija nekoliko angio-

Adresa autora:

Dragana Jovanović
Institut za plućne bolesti i tuberkulozu
Klinički centar Srbije i Medicinski fakultet
Univerziteta u Beogradu
Višegradska 26, 11000 Beograd, Srbija
e-mail: dragjov@eunet.yu

geneznih faktora od strane tumora i ćelija domaćina imaju važnu ulogu u uspostavljanju kapilarne mreže koja snabdeva tumor iz okolnog tkiva domaćina. Kada jednom započne proces angiogeneze, tumorske ćelije ulaze u cirkulaciju, vodeći i razvoju udaljenih metastaza, tj. metastaziranju tumora.

Karcinom pluća je najčešće maligno oboljenje od koga više umiru muškarci nego žene, ali u mnogim zemljama broj obolelih žena od ove bolesti izjednačava se sa brojem obolelih od raka dojke. To je najučestaliji karcinom i sa aspekta incidence (1,2 miliona novih slučajeva ili 12,3% svih u svetu) i sa aspekta mortaliteta (1,1 milion smrti ili 17,8% sveukupno). Trendovi incidence i mortaliteta karcinoma pluća uveliko odražavaju pre svega pušačke navike stanovnika ali i ekspoziciju drugim okolnim ili profesionalnim karcinogenima. Stopa incidence je 34,9 na 100 000 sa najvišim stopama zabeleženim u razvijenijim zemljama mada u onim zemljama gde je konzumiranje duvana opalo, incidenca i mortalitet od karcinoma pluća takođe polako opadaju. U žena, stope incidence je niža (11,1 na 100 000) ali je rastući trend i incidence i mortaliteta (1).

Odražavajući različito kliničko ponašanje i senzitivnost na hemo- i radioterapiju, karcinomi pluća se klinički grupišu u dva glavna histološka tipa, nemikrocelularni (NSCLC) i mikrocelularni karcinom pluća (SCLC). Nemikrocelularni karcinom pluća obuhvata oko 75–85% obolelih i sastoji se od nekoliko podtipova, dominantno skvamocelularnog, adenokarcinoma i krupnoćelijskog karcinoma, koji se leče svi na isti način. Mikrocelularni obuhvataju 15–25% obolelih od karcinoma pluća, često imaju neuroendokrine karakteristike ili komponente, i pre svega leče se hemoterapijom i radioterapijom. Mnogi plućni karcinomi se sastoje histološki od miksnih tumorskih tipova sadržavajući komponente i mikro- i nemikrocelularnog karcinoma (2, 3). Histološka diferencijacija i »staging« karcinoma pluća su neophodni za određivanje terapijskog pristupa.

Klinička slika karcinoma pluća obuhvata:

1. Simptome lokalnog rasta tumora: kašalj, dispneju, hemoptizije, sviranje (zviždanje) u grudima, iskašljavanje i dr.
2. Simptome i znake intratorakalnog širenja tumora: promuklost (zbog lezije n. rekurensa), bolne sindrome, pleuralni izliv, maligne promene na srcu i perikardu sa svojim manifestacijama do tamponade srca, poremećaja srčanog ritma i dr., disfagiju, znake limfatične karcinoze pluća i neke specifične kliničke slike karcinoma pluća poput Pankoaast tumora sa Hornerovim sindromom, bolnom i hipotrofičnom rukom obolele strane, sindrom kompresije gornje šuplje vene, obostrani bronhioloalveolarni karcinom, karcinom velikih, glavnih disajnih puteva (traheje i glavnih bronhija) sa pratećim stridoroznim disanjem i dr.
3. Simptome i znake metastaza koji mogu dominirati kliničkom slikom ili pak biti inicijalna manifestacija oboljenja kao npr. neurološki simptomi kod metastaza u mozgu kao prve manifestacije karcinoma pluća i dr.
4. Paraneoplastične sindrome, kojima karcinom pluća obiluje i koji mogu prethoditi otkrivanju tumora pluća mesecima pa i godinama: od endokrinih (Kušing sindrom, hiperkalcemija, hipoglikemija, ginekomastija, ektopično lučenje STH, ektopično lučenje tj. sindrom SIADH), preko obilja neuroloških (Lambert-Eaton-ov sindrom, senzorne neuropatije, encefalopatija, mijelopatije, demencija i drugo), muskuloskeletni (maljičasti prsti, hronična osteoartropatija, miopatije i drugo), sistemski (groznica, anoreksija/kaheksija, hipo- ili hipertenzija), hematološki (trombocitoza, hemolizna anemija, leukemoidna reakcija, leukocitoza/eozinofilija, anemija, trombocitopenična purpura), koagulopatije – često migrirajući tromboflebitisi, zatim arterijska tromboza, DIC, zatim sindromi koji imaju sliku različitih sistemskih bolesti, itd.

Simptomatologija je dakle raznolika, a oboleli može biti i bez ikakvih simptoma duže vreme npr. ukoliko »periferni tumor« lagano raste. Najučestaliji simptomi karcinoma pluća su kašalj (40–75%), dispneja (30–40%), bol u toraksu (25–40%), hemoptizije (35%), gubitak telesne mase (40–50%), malaksalost i anoreksija (oko 35%), i dr. Kašalj, suv ili sa iskašljavanjem sekreta, otežano disanje ili gušenje, bol u grudnom košu, neobjašnjiv umor, otok vrata i lica, osećaj nedostatka vazduha, gubitak apetita i telesne težine, promuklost, perzistirajući bol u grudima, ramenu ili leđima, sve su simptomi koji mogu ukazivati na pojavu karcinoma pluća. Ovi simptomi se ne javljaju uvek u ranim stadijima plućnog karcinoma. Lekari ponekad otkriju promene radeći rutinski snimak pluća ili iz sasvim drugih razloga, ali se bolest češće otkriva kada je tumor već u odmakloj fazi. Ukoliko karcinom nastane u većim disajnim putevima, dovodi do otežanog disanja, dispnoje – osećaja gušenja pa i do stridora. Često se javlja istovremeno promuklost, a neretko i iskašljavanje krvi. Osobe sa plućnim karcinomom sklonije su i nastanku respiratornih infekcija poput pneumonije (distalno od tumora) ili čestim »bronhitisima«, i mogu biti i jedina manifestacija postojećeg karcinoma. Simptomi poput umora ili gubitka apetita često su prateći znak raka pluća. Najmanje jedna trećina pacijenata sa plućnim karcinomom ima izraženiji gubitak telesne mase i malaksalost.

Dijagnostika karcinoma pluća

Minimum dijagnostičkih postupaka obuhvata pored dobro uzete anamneze, fizički pregled, radiografije toraksa i poželjno CT toraksa, ultrazvučni pregled abdomena, kardiološki pregled i ispitivanje plućne funkcije. Ukoliko postoje i simptomi koji ukazuju na moguću diseminaciju u kosti ili CNS, tada je

obavezna scintigrafija skeleta, radiografije-ciljani snimci kostiju kao i CT ili NMR CNS-a i dr. Definitivna histološka dijagnoza se postavlja pregledom biopsije koja je najčešće dobijena pri bronhoskopiji, ređe perkutanom biopsijom pluća, ili periferne limfne žlezde ili pak biopsijom ili punkcijom pleure ukoliko se razvio i maligni pleuralni izliv. Kada invazivna dijagnostika nije moguća, u ređim slučajevima i sama citologija sputuma može dati dijagnozu karinoma pluća ali većinom bez tipizacije. Serumski tumorski markeri takođe potencijalno imaju ulogu kako u dijagnostici tako i u »steidžingu«.

Za obolele od NSCLC, naročito u ranom stadijumu bolesti (stadijumi I do IIIA), hirurgija je osnovni terapijski pristup. Dodatna primena adjuvantne radioili hemoterapije nakon resekcije tumora, ranije se smatralo da nije indikovana osim eventualno u sklopu kliničkih studija. Ali nedavno završene kvalitetne studije na velikom broju slučajeva, ukazuju na značajno popravljavanje ukupnog preživljavanja primenom savremenih adjuvantnih hemoterapijskih protokola (4). Primena neoadjuvantne tj. indukcione sistemske terapije pre operacije da bi se smanjio tumor i radi rane eradikacije sistemskih mikrometastaza još uvek ne predstavlja terapijski standard. Stope 5-godišnjeg preživljavanja zavise veoma puno i prevashodno od stadijuma bolesti, pa tako iznose 60–70% za obolele u stadijumu I, 40–50% za stadijum II, i 15–30% za stadijum IIIA. Za sada, mali broj pacijenata sa neresektabilnim NSCLC u uznapredovaloj fazi bolesti (stadijumi IIIB i IV) biva izlečen. Prosečno vreme preživljavanja za stadijum IV je isto već godinama tj. 8 do 10 meseci.

Većina bolesnika sa nemikrocelularnim karcinomom bronha se otkriva u lokalno uznapredovalom, inoperabilnom stadijumu bolesti (stadijum IIIB). Optimalni pristup ovim bolesnicima je bio predmet istraživanja u prethodnoj dekadi. Do pre desetak godina, osnovni tretman ovih bolesnika je bila radioterapija. Podaci iz velikih kliničkih ispitivanja pokazuju da je postignut terapijski napredak primenom kombinacije hemo- i radioterapije kod ovih bolesnika. Kombinacija hemo- i radioterapije ima nekoliko prednosti. Lokalna terapija zračenjem ima za cilj kontrolu i sterilizaciju bolesti u grudnom košu, dok hemoterapija ima za cilj eradikaciju sistemskih mikrometastaza. Različite vrste kombinacija hemoterapije i radioterapije su korišćene uključujući: sekvencijalnu hemoterapiju i radioterapiju, konkurentnu hemoradioterapiju, indukciju hemoterapiju praćenu konkurentnom hemoradioterapijom i konkurentnu hemoradioterapiju praćenu konsolidacionom hemoterapijom (pritom su korišćeni različiti hemoterapijski agensi i načini frakcionisanja). Konkurentna hemoradioterapija je pokazala bolje preživljavanje u poređenju sa radioterapijom i sekvencijalnom hemoterapijom/radioterapijom. U toku su i dalje opsežna klinička ispitivanja radi iznalaženja optimalne kombinacije ovih terapija u tretmanu bolesnika sa lokalno uznapredovalim, inoperabilnim

nemikrocelularnim karcinomom pluća imajući u vidu efikasnost ovih terapijskih modaliteta ali i njihovu toksičnost tj. nusefekte koji bitno utiču na kvalitet života obolelih.

Kada se govori o hemoterapiji NSCLC, terapijski standard danas predstavljaju hemoterapijski režimi zasnovani na platini, koji u sebi sadrže i neki od lekova treće generacije – gemcitabin, docetaxel, paclitaxel, vinorelbin ili irinotecan. Novi režimi su se pokazali efikasnijim u odnosu na režime druge generacije u smislu stope odgovora, vremena do progresije, a neki trajali su pokazali i bolje preživljavanje. Podnošljivost ovih kombinacija lekova takođe je bolja u odnosu na starije režime. Među novim režimima ne postoji značajna razlika u efikasnosti i toksičnosti. Stoga izbor režima u pojedinačnoj situaciji zavisi od faktora rizika, profila toksičnosti, pridruženih oboljenja, cene, iskustva lekara.

Oko 60% bolesnika sa nemikrocelularnim karcinomom pluća (NSCLC) u momentu dijagnoze ima uznapredovalu, ili metastatsku bolest sa stopom petogodišnjeg preživljavanja koja ne prelazi 1%. Smatra se da je uznapredovala bolest kod NSCLC ona koja se ne može lečiti lokalnom terapijom – radioterapijom ili hirurški. Ona ne uključuje samo metastatsku bolest (IV stadijum – najčešća mesta metastaziranja: jetra, kosti, nadbubrežne žlezde, CNS, kontralateralno pluće), već i neke oblike IIIB stadijuma, kao npr. sa malignim perikardnim ili pleuralnim izlivom. Prognoza za bolesnike sa odmaklim IIIB i IV stadijumom NSCLC je loša; nelečeni bolesnici u IV stadijumu NSCLC imaju prosečno vreme preživljavanja od oko 4 meseca. Hemoterapija kod uznapredovale bolesti je donedavno bila kontroverzna tema. Publikovano je petnaestak randomizovanih studija koje se bave upoređivanjem hemoterapije i najbolje potporne nege (BSC) i pet meta analiza (*Grilli et al., 1993, Souquet et al., 1993, Marino et al., 1994, 1995, Sculier et al., 1999*) je pokazalo se bolje preživljavanje vezano za primenu hemoterapije u odnosu na najbolju potpornu negu, bilo da su sve studije kombinovane, bilo da je analiza ograničena samo na studije sa hemoterapijskim režimima koji sadrže cisplatin. Mada su stope odgovora relativno niske, dokazan umeren benefit kada se tiče preživljavanja, vremena do progresije bolesti i naročito kvaliteta života, u poređenju sa najboljom potpornom negom je doveo do konsenzusa da je i kod ovih uznapredovanih NSCLC indikovana primena hemoterapije. Razvoj hemoterapijskih protokola, zasnovanih na platini i njenim derivatima, rezultovao je u apsolutnom povećanju stope jednogodišnjeg preživljavanja za 10–25% u poređenju sa najboljom potpornom negom, kao i u većim stopama tumorskog odgovora i poboljšanju kvaliteta života.

Izbor bolesnika sa uznapredovalim NSCLC za hemoterapiju

Odluka o hemoterapiji je kompleksna. Neophodna je procena ravnoteže između koristi i rizika od

hemoterapije. Postoji velika potreba za objektivnom procenom koji su pacijenti podobni za hemoterapiju, naročito kada se zna da hemoterapija za ovu grupu obolelih nije kurativna. Međutim, isto tako se zna da dobro odabrani pacijenti imaju koristi od hemoterapije posmatrano sa dva aspekta:

- a) vremena preživljavanja, i
- b) palijacije (smanjenje simptoma i poboljšanje kvaliteta života)

Najveći broj kliničkih studija faze tri uznapređovalog NSCLC dokazuje značajno bolje preživljavanje kod primene hemoterapije u odnosu na najbolju potpornu negu (BSC): prosečno vreme preživljavanja u lečenih sa hemoterapijom iznosi 8 do 10 meseci, a stopa jednogodišnjeg preživljavanja 30–35%.

Prognostički faktori u selekciji pacijenata za hemoterapiju

Individualne karakteristike bolesnika značajne za odluku o hemoterapiji su:

- »performans status« (Karnofsky, ECOG)
- gubitak u telesnoj težini
- pol
- starost
- kvalitet života
- prisustvo simptoma udaljenih metastaza
- stadijum bolesti u momentu postavljanja dijagnoze
- histološki tip tumora
- neuroendokrini markeri
- biohemijski markeri

Sva dosadašnja klinička istraživanja nedvosmisleno su pokazala da se jedino »performans status« PS u momentu dijagnoze izdvaja kao prognostički faktor od značaja za preživljavanje bolesnika i za uključivanje u hemoterapiju. Smatra se da je primena hemoterapije opravdana i indikovana uvek u bolesnika sa PS 0 i 1, zatim kod nekih odabranih sa PS 2, dok u bolesnika sa lošim PS 3 i 4 uključivanje hemoterapije uglavnom nema opravdanja.

Treba napomenuti da napreci u kliničkoj praksi poslednjih godina dolaze i od uvođenja ciljane molekularne antikancerske terapije koja se primenjuje sa standardnom hemoterapijom, ili kao monoterapija, naročito u uznapređovaloj fazi bolesti. Za izvesne klase lekova molekularna istraživanja i dokazi antitumorske aktivnosti izvesnih agenasa u prekliničkim studijama praćeni su uspešnim kliničkim trajalima, koji su dokazali klinički »benefit« u bolesnika sa uznapređovalim NSCLC. Ovi ciljani molekularni lekovi su se pokazali podjednako efikasnim kao i hemoterapija, u drugoj ili trećoj terapijskoj liniji, ali sa boljim profilom nusefekata, tj. boljim profilom toksičnosti, i stoga boljom terapijskom opcijom za obolele u uznapređovaloj fazi bolesti. Do sada su najveći napreci postignuti

primenom agenasa koji ciljaju na proces angiogeneze i izvesne receptore faktora rasta tumora.

Svakako da je dugotrajna prognoza ovih bolesnika generalno ipak loša i svaka primenjena terapija ima isključivo palijativni karakter. Terapija uznapređovalog NSCLC po svojoj koncepciji ima za cilj da obezbedi pre svega adekvatnu kontrolu simptoma, poboljša kvalitet života i ukoliko je moguće produži preživljavanje.

Mikrocelularni karcinom se razlikuje od drugih histoloških tipova plućnog karcinoma po svojim biološkim i kliničkim karakteristikama, rezpozivnosti na citostatsku terapiju, terapijskom pristupu i prognozi. Karakteriše ga rapidni rast tumora tj. brza progresija i rana sistemska diseminacija (metastaziranje). U više od 70% zahvaćene su medijastinumske limfne žlezde u vreme postavljanja dijagnoze, a oko 60% novodijagnostikovanih obolelih ima evidentne udaljene metastaze (ekstenzivnu bolest).

U kliničkoj praksi samo dva stadijuma SCLC se razlikuju: ograničena bolest sa tumorom koji je samo u jednom hemitoraksu (LD SCLC), i ekstenzivna bolest sa metastazama kontralateralno ili u udaljenim mestima i organima (ED SCLC). Oko 20 do 25% obolelih imaju ograničenu bolest, koja se leči sa kurativnim ciljem. Ipak, stope 5-godišnjeg preživljavanja su još uvek niske (15–25%, u poređenju sa manje od 5% kod ekstenzivne bolesti).

Pre odluke o lečenju potrebna je procena stadijuma bolesti i opšteg stanja bolesnika, određivanja mogućih prognostičkih faktora sa ciljem što celishodnijeg terapijskog pristupa. Neophodan minimum u sklopu »staging«-a obuhvata patohistološku dijagnozu, procenu raširenosti procesa na osnovu fizikalnog pregleda, radiološke obrade, UZ ili/i CT pregleda abdomena, biohemijskih parametara, procena »performans statusa«, ev. CT ili NMR CNS-a, scintigrafije skeleta i punkcije kostne srži.

Neophodna je i procena funkcije drugih organa koji nisu u vezi sa osnovnim oboljenjem, a mogu ugroziti sposobnost bolesnika da toleriše intenzivnu hemoterapiju, sa sledstvenim težim komplikacijama, pa i letalnim ishodom.

SCLC je i hemosenzitivan i radiosenzitivan. Dok je u nelečenih bolesnika sa ograničenim SCLC prosečno vreme preživljavanja 12 nedelja, a sa proširenim SCLC 5 nedelja, lećeni pak imaju vreme preživljavanja 5–8 puta duže.

Kombinovan pristup hemoradijacijom predstavlja standard lećenja za pacijente sa LD SCLC, a poslednjih godina i uz profilaktičko zraćenje endokranijuma u cilju sprečavanja razvoja metastaza u mozgu. Optimalno vreme, doza i frakcioniranje radioterapijskog pristupa nisu tačno definisani. Kod ED SCLC zračna terapija dolazi u obzir samo za palijaciju lokalnih simptoma, uključujući i bolne koštane metastaze.

Osnovni pristup je i za ograničenu i za ekstenzivnu bolest, kombinovana hemoterapija sa citostatcima uglavnom različitih mehanizama dejstva i bez preklapanja toksičnosti. Hemoterapijski standard predstavljaju dvojni režimi bazirani na platini i etopozid, a savremeni pristupi uključuju i mogućnost primene novih lekova poput inhibitora topoizomerase I i taksana (2, 3).

Inicijalna hemoterapija se ne menja dok postoji povoljan radiografski i klinički odgovor na terapiju. Nakon 2 serije, evaluira se odgovor na hemoterapijski režim. U slučaju stacionarnog nalaza ili progresije tumora, menja se hemoterapijski protokol. Kombinovani hemoterapijski režimi u ograničenom SCLC daju ukupnu stopu odgovora 80–90%, stopu kompletnog odgovora 50–60%, prosečno vreme preživljavanja od 12–20 meseci i stopu 2-godišnjeg preživljavanja 15–40%.

Veliku većinu pacijenata sa ED SCLC treba lečiti sa kombinovanom hemoterapijom, uključujući i starije pacijente, i za razliku od nemikrocelularog karcinoma i neke pacijente sa lošim »performans statusom«. U grupi sa proširenim SCLC ukupna stopa odgovora je 60–80%, kompletnog 15–20%, a prosečno vreme preživljavanja 7–11 meseci, uz retke slučajeve koji žive duže od 2 godine. Za pacijente sa dobrim »performans« skorom indikovana je terapija druge linije (5).

Lečenje relapsa

Relaps je rezistentan na dalju terapiju u preko 75% slučajeva. Ukoliko je bolesnik duže od 3 meseci bio u remisiji ponovno uvođenje hemoterapije može biti indukcionom kombinacijom citostatika. Kod kraćeg slobodnog intervala, lečenje se nastavlja tzv. sekundarnim citostatskim režimom (do tada neprimenjenim).

Lekovi koji su visoko aktivni u nelečenih bolesnika mogu ispoljavati samo marginalnu aktivnost u onih sa relapsom SCLC. Bolesnici koji pokazuju progresiju procesa tokom ili kratko vreme nakon inicijalne hemioterapije obično imaju tumore rezistentne na lekove korišćene u primarnom protokolu i stoga treba da budu tretirani lekovima koji nemaju unakrsnu rezistenciju sa lekovima primarnog protokola.

Za bolesnike sa relapsom nakon dužeg perioda po završetku terapije (> 3 meseca), pošto oni obično imaju tumore još senzitivne na primarni režim ili analoge korišćenih lekova, opravdana je primena tog »primarnog režima«. Grupisanje bolesnika sa relapsom, u 2 kategorije, senzitivnih i rezistentnih, koristan je vodič za lečenje relapsa. Jedna važna dodatna prednost ovih definicija kliničke rezistencije ili senzitivnosti tumora, jeste mogućnost evaluiranja novih lekova u različitim situacijama, a time i utvrđivanja postojanja unakrsne rezistencije sa lekovima iz primarnog protokola.

Inače, u zemljama sa limitiranim zdravstvenim reusursima poput naše, standard hemoterapije druge

linije za SCLC predstavlja CAV režim (kombinacija ciklofosfamida, adriablastina i vinkristina), a u razvijenim zemljama – monoterapija topotekanom.

Pored navedene kliničke podele u dva glavna tipa, nemikrocelularni (NSCLC) i mikrocelularni karcinom pluća (SCLC), postoji i patološka klasifikacija malignih tumora pluća (WHO) u četiri grupe: mikrocelularni karcinom, skvamocelularni karcinom, primarni adenokarcinom i karcinom velikih ćelija. Mikrocelularni karcinom ima neuroendokrina svojstva što mu određuje biološke i kliničke osobine. Sa prognostičkog i terapijskog stanovišta, skvamocelularni karcinomi, adenokarcinomi i karcinomi velikih ćelija se svrstavaju u grupu nemikrocelularnih karcinoma. Ovaj previše pojednostavljeni koncept je pre par godina promenjen zahvaljujući rezultatima detaljnih patoloških studija, koje su pokazale da su mešani mikro i nemikrocelularni karcinomi pluća ipak česti. Studija serumskih markera kod nemikrocelularnog karcinoma pluća bi morala da uzme u obzir ovu heterogenost karcinoma pluća.

Tumorski markeri

Primena molekularnih tehnika u »staging«-u tj. određivanju stadijuma maligne bolesti može pomoći u predviđanju prognoze i određivanju odgovarajuće terapije za pacijente sa karcinomom pluća. Aktuelni »staging« sistem teži da potceni stadijum bolesti tj. nalazi raniji stadijum bolesti nego što je to zaista slučaj, pri tom je klinički »staging« još manje pouzdan nego patohistološki (postoperativni). Molekularni, biološki »substaging« može se primeniti na primarni tumor da bi se utvrdila prognoza ili hemorezistencija, ali i na limfne čvorove, serum, ili kostnu srž da bi se ustanovile okultne sistemske metastaze. Ako bi bilo moguće da se utvrdi koji će pacijenti sa karcinomom pluća imati sistemski relaps, pre nastanka kliničkih ili radiografskih manifestacija, sistemska terapija mogla bi biti mnogo efikasnija i poboljšati ishod nakon resekcije. Molekularne analize primarnog tumora su pokazale kapacitet da identifikuju pacijente sa povećanim rizikom od relapsa bolesti NSCLC, mada ova tehnologija nije još istražena kroz kliničke trajale faza III. Proteini vezani za tumorski proces mogu se izlučivati u perifernu cirkulaciju i meriti odgovarajućim analizama. Merenje ovih serumskih tumorskih markera, uključenih u patofiziologiju invazije tumora i metastaziranja može biti efikasno u pružanju prognostičke informacije i omogućiti raniju terapijsku intervenciju.

Jednostavna klasifikacija tumorskih markera u kliničkoj praksi bi mogla biti sledeća:

1. Onkofetalni markeri koji su tipični indikatori karcinskog fenotipa (npr. karcinoembriogeni antigen)
2. Marker diferencijacije ćelijskih linija (npr. neuron specifična enolaza koja detektuje neuroendokrini fenotip, marker citokeratin 19 koji ukazuje na liniju epitelnih ćelija i dr.)

3. Markeri ćelijske proliferacije (npr. tirozin kinaza, tkivni polipeptidni specifični antigen)
4. Funkcionalni tumorski markeri

Ova poslednja kategorija uključuje važne signalne puteve ćelijske proliferacije, diferencijacije, metastatska svojstva, antiapoptotsku aktivnost i angiogenezu. Ova oblast je u eksponencijalnom porastu zbog razvoja novih ciljanih terapijskih agenasa i novih tumorskih markera kao što su adhezioni molekuli, ekstracelularni domen receptora za epidermalni faktor rasta (Erb B1) ili Erb2 (HER2neu) i anti-p53 antitela koji spadaju u kategoriju funkcionalnih tumorskih markera.

Adhezioni molekuli

Adhezioni molekuli obuhvataju CEA, integrine, kadhherine, adhezione molekule, među kojima sve više dobija na značaju ugljenohidratni antigen – Sijalij Lewis x.

Karcinoembriogeni antigen (CEA)

Ovaj 180- kilodaltonski transmembranski glikoprotein pripada super familiji imunoglobulina. CEA je kompleks sačinjen od samog CEA, nespecifičnog ukršteno reagujućeg antigena (NCA) i bilijarnog glikoproteina 1. Svi geni koji pripadaju ovoj familiji se nalaze na hromozomu 19. *In vitro*, ćelijske linije i mikrocelularnog i nemikrocelularnog karcinoma pokazuju ekspresiju CEA, sa posebno visokim nivoom mRNA i proteina u klasičnim linijama mikrocelularnog karcinoma. S ovog aspekta, NCA predstavlja najistaknutiji CEA imunoreaktivni molekul.

CEA je dosta ispitivan kao serumski tumor marker kod mnogih humanih maligniteta, uključujući i karcinom pluća. Koncentracije CEA u serumu su naročito visoke u adenokarcinomu i karcinomu velikih ćelija, ali povišene vrednosti ovog proteina se nalaze i u različitim benignim stanjima pa tako i u pušača, kao i u drugim malignitetima. Time je ograničen njegov značaj u »skriningu« karcinoma pluća i to istovremeno limitira njegovu primenu u dijagnostičke svrhe u ovoj bolesti. Iako njegov serumski nivo korelira sa stadijumom tumora i mikrocelularnog i nemikrocelularnog karcinoma pluća, prognostički i terapijski značaj ovog markera je dugo bio kontroverzan. Šta više, imunoscintigrafija antiCEA obeleženih jodom ¹³¹I nije doprinosila informaciji CT-a grudnog koša u proceni stadijuma karcinoma pluća, naročito po pitanju metastaza u limfnim žlezdama. Ipak, interes za CEA kod nemikrocelularnog karcinoma pluća je unazad nekoliko godina obnovljen sa mogućnošću detekcije mRNA CEA u cirkulišućim tumorskim ćelijama preko PCR reverzne transkriptaze.

Sprovedene kliničke studije su pokazale da CEA može pružiti prognostičku informaciju u NSCLC, naročito u adenokarcinomu pluća (6–14). Molekulska

detekcija mRNA CEA u perifernoj krvi preoperativno bi mogla biti nezavisni negativni prognostički faktor kod pacijenata sa NSCLC kod kojih se planira operativno lečenje. CEA može takođe biti od pomoći i u diferencijalnoj dijagnozi nemikrocelularnog karcinoma, poželjno u kombinaciji sa CYFRA 21-1 (15). Nadalje može imati ulogu u monitoringu terapijskog efekta u uznapredovalom stadijumu bolesti (11, 15, 16), kao i u detekciji relapsa adenokarcinoma pluća (15, 17).

Neuroendokrini serumski tumorski markeri

Iako se smatra da je neuroendokrini diferencijacija bitna komponenta kliničkog ponašanja mikrocelularnog karcinoma pluća, upotreba serumskih neuroendokrinih markera kao prognostičkih varijabli nije prihvaćena kao standardna praksa. Različiti molekuli koji se mogu otkriti u serumu pacijenata sa mikrocelularnim karcinomom pluća, mogu se ponašati kao markeri bolesti, uključujući *gastrin-releasing peptide* (GRP) antipod kod sisara *bombesinu* kod vodozemaca, neuron-specifičnu enolazu (NSE) g-g izomer ubikvitarnog enzima enolaze, hromogranin A tj. CgA, sinaptofizin, kreatinin kinazu BB, i veći broj prethodno pomenutih adhezivnih molekula. Među ovim molekulima, za GRP i *neural cell adhesion molecule* (NCAM), kao i za neke druge, smatra se da učestvuju u procesu metastaziranja, autokrinom aktivnošću ili ćelija-ćelija interakcijom.

Jasno ustanovljene (prognostičke) varijable, kao što je »performans« status, nivo serumske LDH, alkalne fosfataze, serumski kalijum kao i proširenost bolesti, nisu dovoljne da tačno odrede prognozu.

Tumorski markeri su potvrđene prognostičke determinante mikrocelularnog karcinoma. Oni nude nekoliko prednosti u poređenju s drugim biološkim varijablama: visok stepen karakterizacije specifičnih tipova molekula, kao i reproducibilnost rezultata primenom ili imuno RIA ili ELISA metoda. Mikrocelularni karcinom pokazuje neuroendokrine osobine za koje se smatra da su deo njegovog agresivnog kliničkog ponašanja. ProGRP, NSE i CgA su stoga uveliko potvrđeni značajni serumski markeri kod ove bolesti. Svaki od ovih markera pruža značajan uvid u neuroendokrinu diferencijaciju karcinoma pluća.

Hromogranin A

Hromogranin A (CgA), 49 kilodaltonski kiseli rastvorljivi protein je inicijalno bio prepoznat kao glavni solubilni protein u jedru hromafinih vezikula srži nadubrežne žlezde. Neposredno posle toga, CgA imunoreaktivnost je uočena kod većeg broja sekretornih neuroendokrinih vezikula. Ovaj sekretorni protein je podjednako prisutan u neuroendokrinim ćelijama i oslobađa se u serum pacijenata obolelih od mikro-

celularnog karcinoma pluća. Smatra se da serumski CgA može efikasno da razlikuje neuroendokrine od ne-neuroendokrinih tumora ili *in situ* (histohemijski) ili određivanjem serumskog nivoa.

Neuron specifična enolaza (NSE)

Donedavno, najšire upotrebljavan neuroendokrini serumski marker u kliničkoj praksi je bila NSE, gg izomer ubikvitarnog enzima enolaze. Uzimajući u obzir činjenicu da NSE imuno RIA ne detektuje samo gg neuroendokrini specifični izomer, već i ga ne-neuron specifični izomer enolaze (prisutan npr, u trombocitima), serumski nivo NSE nije apsolutno indikativan za neuronalnu neuroendokrinu diferencijaciju.

NSE nažalost nema potrebnu osetljivost i specifičnost da bi bio korišćen u »skriningu«, ali brojne studije podržavaju njegovu primenu kao pomoćnog parametra u dijagnostici SCLC. Visoke serumske vrednosti NSE (veće od 100 µg/L) u pacijenata sumnjivih na malignitet sugerišu postojanje SCLC sa velikom verovatnoćom, pri čemu diferencijalna dijagnoza uključuje i druge neuroendokrine tumore tj. druge primarne lokalizacije, karcinom jetre, limfom i seminom. Umereno povećane serumske vrednosti ovog enzima mogu se naći kako u nekim benignim plućnim bolestima, tako i u nekim karcinomima: pankreasa, želuca, kolorektalnom i karcinomu dojke. Nekoliko autora je objavilo dokaze o mogućnosti dijagnostičke diskriminacije ukoliko se NSE kombinuje sa merenjem progastin-oslobađajućeg peptida (ProGRP) (15, 18–22).

Prognostički značaj NSE je dokazan multivarijantnim trajalima i za SCLC i za NSCLC (23–26). Pokazalo se da NSE ima značajan potencijal u monitoringu SCLC nakon završene terapije (15, 18, 20, 27–29) kao i u detekciji relapsa bolesti nakon inicijalne hemoterapije (15,18).

Gastrin oslobađajući peptid (GRP) i ProGRP

GRP je crevni hormon, prisutan u nervnim vlaknima, mozgu i neuroendokrinim ćelijama fetalnih pluća. Čelije mikrocelularnog karcinoma pluća proizvode GRP u velikim količinama, pa su nivoi GRP često povišeni kod ovih bolesnika. Smatra se da se GRP ponaša kao autokrini proliferativni signal u ćelijskim linijama tj. tkivnim kulturama mikrocelularnog karcinoma. Nestabilnost GRP u serumu i teškoće u izdvajanju ovog molekula sprečavaju njegovu upotrebu u rutinskoj dijagnostici. ProGRP fragment (30) je prepoznat kao zajednički region u tri tipa prethodno kloniranih humnanih ProGRP molekula pa je kao mnogo stabilniji, rekombinantni ProGRP razvijen kao serumski parametar. Potrebno je ipak imati na umu da vrednosti ProGRP mogu biti signifikantno povišene i kod bubrežne insuficijencije.

ProGRP predstavlja pouzdan marker za SCLC, sa dobrom specifičnošću i osetljivošću (30, 31), ma-

da u svetlu incidence SCLC u opštoj populaciji, one nisu dovoljno visoke da dozvole njegovu primenu u »skriningu«. Ipak, retko je povećan u drugim malignitetima, i ako i jeste, obično samo blago. Bubrežna bolest može uzrokovati povišene vrednosti do 300 ng/L, ali povećane koncentracije se ne sreću u drugim benignim bolestima. Koncentracije ProGRP veće od 200 ng/L su visoko suspektne za karcinom pluća, a koncentracije veće od 300 ng/L upravo za SCLC, ukoliko nema oštećenja bubrežne funkcije (30, 31).

ProGRP se pokazao od pomoći u diferencijalnoj dijagnostici, naročito u razlikovanju SCLC od drugih plućnih karcinoma. Kada se koristi kao pojedinačan marker, on je superioran u odnosu na NSE, dok kombinacija ova dva markera pruža dodatne informacije. ProGRP se oslobađa u merljivim količinama u ranom stadijumu SCLC i ne korelira sa raširenošću tumora tj. stadijumom bolesti (6, 15, 19, 20, 30–32). Sa prognostičkog aspekta, samo je jedan rad koji podržava primenu ProGRP u prognozi. Međutim, nekoliko studija sugeriše da on može biti od koristi u monitoringu SCLC (15, 30, 32–35) ili u detekciji relapsa bolesti nakon primarne terapije (15, 35, 36).

Neuroendokrini tumorski markeri u dijagnostičkoj upotrebi

U dijagnostičkoj upotrebi, poređeni su ProGRP, NSE i CgA, a u cilju određivanja koji od njih ima najbolji odnos osetljivosti i specifičnosti. U značajnoj publikaciji Lamy i sar., ProGRP pokazuje najbolju odnos osetljivosti budući da je njegova površina ispod krive (AUC-ROC) bila značajno veća nego izračunata kod NSE i CgA (32). Rezultati su bili slični i kada je testirana specifičnost u odnosu na populaciju nemikrocelularnih karcinoma pluća ili benignih plućnih bolesti.

Iako je AUC ROC ProGRP-a bila najveća među različitim neuroendokrinim markerima, bilo bi opasno smatrati visoku vrednost ProGRP u serumu zamenom za histološku dijagnozu. Prtethodne studije su takođe ukazivale da je Pro GRP superiorniji u odnosu na druge markere u razlikovanju mikro- i nemikrocelularnog karcinoma pluća.

Neuroendokrini markeri i prognoza mikrocelularnog karcinoma pluća

Sve do sada poređenje prethodno pomenutih markera kao prognostičkih indikatora u ovoj bolesti je ukazivalo da su serumski nivoi NSE ili CgA nezavisne prognostičke determinante, dok u suprotnosti s tim, ProGRP nije uspeo da ukaže na ishod (36). Prognostička vrednost neuroendokrinih tumorskih markera je izgleda obrnuto srazmerna njihovoj dijagnostičkoj tačnosti. To nije paradoksn podatak kao što na prvi pogled izgleda, jer je tumorski marker s visokom osetljivošću kao Pro GRP prisutan u serumu velike većine pacijenata s mikrocelularnim karcinomom pluća.

Nasuprot tome, tumorski markeri kao CgA ili NSE sa manjom osetljivošću, verovatno identifikuju podgrupe pacijanta s lošijom prognozom. U randomizovanoj multicentričnoj studiji faze III pacijenata sa proširenim mikrocelularnim karcinomom pluća, poređeni su standardni etopozid/cisplatin hemoterapijski režim sa intenzivnom kombinacijom 4 leka koja se sastojala od etopozida i cisplatina plus ciklofosfamid i 4 epidoksorubicin (26). Prema Coxovom modelu, sledeće varijable su bile značajne determinante bolje prognoze: inicijalno normalni serumski nivo NSE, »performans status« 0 ili 1. i terapijska kombinacija 4 leka. Ovo predstavlja primer opšte prihvaćene uloge neuroendokrinih markera u istraživačkoj postavci. Njihova primena omogućava bolju tačnost u interpretaciji rezultata preživljavanja.

Citokeratinski markeri kod nemikrocelularnog karcinoma pluća kao serumski markeri

Citokeratini su intermedijarni filamenti koji predstavljaju deo citoskeleta kako normalnog epitela, tako i malignog. Imunohistohemijske studije koje su koristile citokeratinska antitela širokog spektra, ukazale su na ekspresiju citokeratina kako kod mikro- tako i kod nemikrocelularnog karcinoma pluća, sugerišući tako zajedničko endodermalno poreklo. Nasuprot drugom intermedijarnim filamentima, citokeratini su familija polipeptida, a neki od njih imaju i ćelijsku specifičnost. Među njima, citokeratin 19 je kisela (tip I) podjedinica ekspresivana na svim prostim epitelima i karcinomima kao što je karcinom pluća, koji i potiče iz prostih epitelnih ćelija.

CYFRA 21-1

Fragment citokeratinske subjedinice 19 se može meriti u serumu imunoradiometrijskim testom CYFRA 21-1, koji koristi dva mišja monoklonska antitela (MoAb) KS 19-1 i BM 19-21. Termin CYFRA 21-1 se odnosi na fragment citokeratina 19. Poslednjih par godina pojavljuju se interesantni podaci o genetskoj regulaciji ekspresije mRNK citokeratina 19 sa razlikama koje zavise od ćelijske linije, tj. tkivne kulture karcinoma pluća.

Primenljivost CYFRA 21-1 u tretmanu NSCLC je bila istraživana u puno studija i sugerisana je prognostička vrednost ovog citokeratinskog markera. Prognostičke informacije dobijene serumskim CYFRA 21-1 su izgleda tačnije od onih dobijenih citokeratin 18–markerom, koji je tkivni polipeptid-specifični antigen (TPSA) (26, 37). CYFRA 21-1 ostaje najosetljiviji tumorski marker za NSCLC, naročito skvamocelularni tip. Pošto se njime određuju samo fragmenti citokeratina 19, testovi pokazuju veću specifičnost od tkivnog polipeptidnog antigena (TPA), koji određuje postojanje mešavine citokeratina 8, 18 i 19.

Kako je CYFRA 21-1 povećana i u urološkim malignitetima, gastrointestinalnim i ginekološkim karcinomima, a u manjoj količini i u različitim benignim bolestima, to ne dopušta njegovu primenu u »skriningu« karcinoma pluća, istovremeno limitirajući primenu i u dijagnostici ove bolesti. Brojni autori sugerišu da u izvesnim okolnostima CYFRA 21-1 može pomoći u dijagnostici karcinoma pluća (15, 19, 24, 38, 39). Njegovo merenje može biti od pomoći u diferencijalnoj dijagnostici suspektnih tumorske mase, naročito ako biopsija nije moguća.

CYFRA 21-1 kao nezavisna determinanta preživljavanja kod NSCLC

Jedna velika studija publikovana 2001. godine, dizajnirana je da što je tačnije moguće, odredi nivo relativnog rizika povezanog s visokim vrednostima CYFRA 21-1 u serumu u vreme dijagnoze (uzimajući u obzir kovarijable koje definišu prognozu ove bolesti). Ova studija je uključivala populaciju od preko 600 prospektivno praćenih pacijenata (26). U skladu s manjim, prethodno objavljenim studijama, Pujolova studija (26) je potvrdila da marker zadržava svoju prognostičku informaciju u velikoj populaciji pacijenata obolelih od nemikrocelularnog karcinoma kao i u podgrupi pacijenata sa IV stadijumom metastatske bolesti. Šta više, simultana evaluacija svih opšte prihvaćenih kliničkih i rutinskih bioloških varijabli u modelu proporcionalnog rizika, ukazuje da CYFRA 21-1 zaslužuje da bude prognostički faktor za NSCLC. Efekat preterapijskog nivoa u serumu na preživljavanje je nepromenljiv. Rezultati praćenja vrednosti ovog markera ukazuju da je varijabla zadržala svoju prognostičku vrednost i u toku dugog praćenja.

Pošto je CYFRA 21-1 jako povezana sa stadijumom bolesti i »performans statusom«, nije iznenađujuće da pacijenti sa visokim vrednostima CYFRA 21-1 imaju dokazano lošiju prognozu, u poredjenju s onima koji su imali normalan preterapijski nivo. Cox-ov model je dokazao da je CYFRA 21-1 nezavisna prognostička determinanta preživljavanja i u opštoj populaciji obolelih od karcinoma pluća i u obolelih u IV, metastatskom stadijumu bolesti. Ovi podaci ukazuju da se prognostički značaj visokog nivoa CYFRA 21-1 ne može isključivo objasniti njenom korelacijom sa stadijumom bolesti i »performans statusom«. U skladu sa ovim moguće je postaviti hipotezu da visoki serumski nivo CYFRA 21-1 može odražavati visoku frakciju tumora, kao što je bilo sugerisano za druge citokeratinske markere. Sa prognostičkog aspekta, nedavna meta-analiza sakupljenih podataka iz devet centara na preko 2000 pacijenata, ukazuje da CYFRA 21-1 predstavlja nezavisnu prognostički faktor u oba, i u ranom i u kasnom stadijumu NSCLC (40) potvrđujući time ranije multivarijantne studije koje su već bile dokazale njegov prognostički značaj (24, 40–46). Ovaj biomarker, prema rezultatima istraživanja, može takođe imati prognostički značaj i u SCLC (37, 39, 46, 47).

CYFRA 21-1 ima znatan potencijal i za monitoring terapijskog efekta NSCLC u uznapredovaloj fazi bolesti (15, 43, 48) kao i u detekciji relapsa bolesti nakon primarne terapije, naročito kad je u pitanju skvamocelularni tip procesa (15, 17, 49–51). Nedavni objavljeni radovi sugerišu da u obolelih od uznapredovalog stadijuma NSCLC koji se leče hemoterapijom, trend vrednosti CYFRA 21-1 tokom inicijalne faze lečenja može biti prediktor odgovora na sledeću terapiju (46).

Antigen skvamocelularnog karcinoma

Mada značajno manje osetljiv u NSCLC od CYFRA 21-1, i iako nije pogodan za »skrining«, antigen skvamocelularnog karcinoma (*squamous cell carcinoma antigen*, SCCA) ima superiornu specifičnost za skvamocelularni karcinom i može se koristiti za histološku suptipizaciju karcinoma pluća. Međutim, on može biti značajno povišen i u skvamoznim tumorima grlića, ezofagusa, glava, vrata, pluća, kao i u dermatološkim oboljenjima. SCCA može se koristiti u diferencijalnoj dijagnostici NSCLC, naročito za skvamocelularni karcinom, poželjno u kombinaciji sa CEA i CYFRA 21-1 (6). Na potencijalnu prognostičku vrednost SCCA za NSCLC je ukazano u nekim radovima (38, 52, 53).

p53 – mutacija ili akumulacija

Gen p53 predstavlja glavni tumor supresorski gen čija je mutacija važan momenat u karcinogenezi karcinoma pluća. Mutacije p53 se pojavljuju kod svih histoloških tipova uključujući i mikrocelularni sa učestalošću od 50–70%. Sam p53 se smatra opšteprihvaćenim faktorom karcinoma pluća. Činjenica je da mutacija p53 rezultuje inaktivnim proteinom sugeriše gubitak kontrole u ćelijskoj proliferaciji preko inhibicije aresta u ćelijskom ciklusu u Gap 1 fazi. U suštini, tumorske ćelije sa ovim fenotipom (abnormalnim p53 proteinom) su genetski nestabilne. Pošto je ova poslednja karakteristika povezana sa ćelijskom diferencijacijom i tumorskom progresijom, upotreba p53 mutacije kao prognostičkog faktora puno je istraživana. Međutim, literatura daje kontroverzne podatke po ovom pitanju: detekcija p53-mutacija ili p53-akumulacija u tumorima pluća je izgleda slabo povezana sa ishodom bolesti. Jedna validna meta-analiza ukazuje da je kod NSCLC abnormalni p53 status udružen sa lošijom prognozom bez obzira na stadijum bolesti. S druge strane nekoliko studija nakon toga ima kontradiktorne rezultate o uticaju p53 mutacije na preživljavanje obolelih od karcinoma pluća.

Detekcija anti-p53 antitela u serumu

Razlog za detekciju anti-p53 antitela u serumu je zasnovan na zapažanju da se mutirani p53 proteini nakupljaju i pokreću imunu reakciju. Detekcija serum-

skih anti-p53 antitela je visokospecifična za karcinom, međutim, indeks koji ukazuje na pozitivan test varira od jedne do druge studije što komplikuje određivanje najniže vrednosti za pozitivan test. Posledica je da je osetljivost niska (15, 22, 24–26, 54–57) i da varira među studijama. Prognostički uticaj anti-p53 antitela u serumu pacijenata sa mikrocelularnim karcinomom pluća je bio predmet više različitih studija. Rezultati su zbuñujući budući da jedna studija ukazuje da pacijenti sa visokim nivoom ovih antitela imaju bolju prognozu, druga nalazi negativan uticaj, dok npr. treća studija nije našla nikakvu razliku između pacijenata pozitivnih i negativnih na anti-p53 antitela u serumu.

Markeri ćelijske proliferacije

Detekcija ekstralcelularnog domena HER receptora tirozin kinaze

Receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR), član HER familije, jeste tirozin kinaza glikoprotein, koji je u karcinomu pluća abnormalno eksprimovan putem amplifikacije gena ili putem prekomerne ekspresije produkta normalnog ili mutiranog gena receptora. HER2 igra važnu ulogu u procesu heterodimerizacije receptora koji u zamenu aktiviraju intracelularni domen tirozin kinaze u pravcu proliferacije ćelija, njihove migracije, angiogeneze tj. u pravcu proliferacije tumora i njegovom metastaziranju.

Značajna pažnja se sada ukazuje familiji erbB receptora tirozin kinaze, jer su se novija klinička istraživanja fokusirala na razvijanje bioloških (molekularnih) terapija tj. inhibitora faktora rasta ili njihovih receptora. Stoga je od najvećeg značaja pravilna selekcija subpopulacije pacijenata koji bi imali najviše koristi od ove molekularne terapije. Pored kliničkih parametara koji su analog genetskim analizama ili/i imunohistochemijskim, čine se pokušaji da se i na osnovu testova krvi postigne ista distinkcija pacijenata.

Kako prevelika ekspresija HER2 u tkivu može biti povezana sa cepanjem ekstralcelularnog domena, razvijen je ELISA metod za detekciju ekstralcelularnog domena (monoklonski za izolaciju i poliklonski za detekciju). U jednoj studiji na 84 pacijenta sa uznapredovalim NSCLC koji su primali hemoterapijski protokol baziran na platini, analiza je vršena kako bi se odredilo prisustvo u serumu ekstralcelularnog domena HER 2. Prema Cox-ovom modelu prisustvo ovog fragmenta tirozin kinaze je bilo povezano sa lošom prognozom (58). Ostaje još neizvesno da li bi ovakva ili slična metoda mogla upotrebiti u određivanju pacijenata koji su dobri kandidati za anti HER2 terapiju.

Uloga pojedinačnih i panela serum tumorskih markera u ranoj detekciji karcinoma pluća

U dosadašnjim studijama nema potvrde u prilog primene pojedinačnog markera ili njihove kombinaci-

je u ranoj dijagnostici karcinoma pluća kod asimptomatskih populacija ili u specifičnim visokorizičnim grupama kao što su pušači. Pokazalo se, međutim, da tumorski markeri imaju značajan potencijal u diferencijalnoj dijagnostici i histološkoj subtipizaciji, naročito u plućnim tumorima nejasnog porekla. Uprkos preklapanju sa zdravim kontrolama i pacijentima sa različitim benignim oboljenjima, izrazito povišene serumske vrednosti CEA, CYFRA 21-1, NSE, SCCA i ProGRP su sugestivne za malignu bolest. Unutar profila markera, vodeći markeri sugerišu verovatnu histologiju: u adenokarcinomu CEA; u skvamocelularnom karcinomu CYFRA 21-1 i SCCA; u krupnoćelijskom karcinomu CYFRA 21-1 i NSE; u sitnoćelijskom karcinomu NSE i ProGRP.

Najveći broj markera uključujući CYFRA 21-1, CEA, NSE i SCC, dobro korelira sa stepenom tumorskog opterećenja. Samo ProGRP može dostići visoke vrednosti čak i u ograničenom SCLC («limited SCLC»). Međutim, normalne ili samo lako povišene serumske koncentracije markera ne isključuju bilo koju vrstu tumorskog oboljenja ili progresiju postojećeg tumora. Uprkos ovim limitima, određivanje serumskih tumorskih markera u vreme postavljanja dijagnoze karcinoma pluća može biti od koristi iz nekoliko razloga. Vrsta oslobođenih tumorskih markera može ukazati na histološku prirodu tumora i može otkriti miksne tj. histološki mešovite tumore pluća koji su prilično česti. To ima važne implikacije u određivanju terapijskih pristupa.

Tumorski markeri ekspresivani i oslobođeni u vreme dijagnoze, dobijaju na značaju i verovatno su i najrelevantniji markeri za monitoring naročito pacijenta koji pokazuju klinički stacionaran nalaz na primenju terapiju. Tada mogu inicirati odluku o promeni hemoterapijskog protokola zbog njegove nedovoljne efikasnosti. CYFRA 21-1, CEA, NSE i LDH su nesumnjivo nezavisni prognostički faktori koji imaju visoku značajnost za NSCLC, kao što to imaju NSE, LDH i CYFRA 21-1 u SCLC.

Stopa i nivo opadanja preoperativno oslobođenih serumskih markera nakon same operacije pružaju korisnu informaciju o preostalom tumorskom opterećenju organizma naročito kod granično resektabilnih slučajeva, kao i o efikasnosti terapije. Posebno mogu biti korisni pri donošenju odluke o adjuvantnoj (postoperativnoj) terapiji i o broju potrebnih hemoterapijskih ciklusa u okviru iste.

ProGRP pri visokim vrednostima nivoa dostiže 100% specifičnosti za SCLC i služi kao vredno dijagnostičko sredstvo – npr. u diferencijalnoj dijagnostici plućne tumorske mase gde biopsija nije moguća, a naročito u razlikovanju SCLC od drugih plućnih karcinoma i samim tim je od pomoći u određivanju adekvatnog terapijskog pristupa.

U svim tipovima NSCLC, uključujući skvamocelularni subtip, najveća dijagnostička osetljivost je

utvrđena za CYFRA 21-1 u velikom broju studija (24, 28, 31, 43). Mada SCCA ima nižu osetljivost od CYFRA 21-1, njegova visoka specifičnost za skvamocelularni karcinom je od posebnog značaja za diferencijalnu dijagnozu. Koncentracije SCC veće od 2 µg/L su vezane za 95% verovatnoće da se radi o NSCLC i 80% verovatnoće da se radi o skvamocelularnom tipu (6). Ako je CEA veće vrednosti od 10 µg/L i CA125 veće od 100 U/mL, verovatno je postojanje adenokarcinoma ili karcinoma velikih ćelija. Zbog aditivne dijagnostičke senzitivnosti CEA i CYFRA 21-1, kombinovana primena oba markera može biti od pomoći u NSCLC.

U SCLC, NSE i ProGRP su superiorni u odnosu na CEA i CYFRA 21-1, sa aspekta specifičnosti za tumor i organ. Dijagnostička osetljivost ProGRP je viša (20, 31) ili komparabilna (22) u odnosu na NSE. Zbog različite patofiziološke osnove, oba markera pokazuju aditivnu osetljivost i igraju komplementarnu ulogu u dijagnozi SCLC (22, 31). Kako ProGRP dostiže visoke nivoe već kod ograničenog stadijuma bolesti i kako su blago povišene vrednosti zapažene samo retko u drugim benignim i malignim oboljenjima, ProGRP vrednosti viši od 500 ng/L smatraju se dijagnostičkim sredstvom za SCLC.

Vezano za diferenciranje suspektne plućne mase, kompjuterizovani algoritmi kombinacija markera pružaju dodatno povećanje dijagnostičke osetljivosti: za 10% poređenjem sa CYFRA 21-1 kao najboljim pojedinačnim markerom kada se vrši multipla regresiona analiza i za 20% kada se koristi »fuzzy-logic based classification system«.

Dijagnostička vrednost koncentracija CEA, NSE i CYFRA 21-1 u serumu i pleuralnoj tečnosti obolelih od karcinoma pluća sa malignim pleuralnim izlivom

Poznato je da je oko 20% svih pleuralnih izliva u sklopu maligne bolesti, a 50% od tih upravo kod karcinoma pluća. Maligni pleuralni izlivi se javljaju kao inicijalna manifestacija karcinoma u 10% do 50% obolelih. Citološki pregled pleuralnog punktata je standardna metoda za dijagnozu malignog izliva. Iako ponavljane punkcije mogu povećati osetljivost citologije, to iznosi samo 50–70%. Slepa biopsija pleure kao dodatna invazivna procedura u citološki negativnih samo u 7% do 13% dokazuje maligno poreklo. Iako torakoskopija utvrđuje dijagnozu u oko 90%, ona može da bude preterano invazivna za obolele sa lošim »performans statusom« ili nekim komorbiditetima koji predstavljaju i kontraindikaciju za ovu metodu. Stoga je evaluirano nekoliko serumskih tumorskih markera za razlikovanje malignih od benignih izliva. Pokazalo se da je CEA vrlo specifičan, ali njegova osetljivost ostaje oko 29% do 77%. Osetljivost NSE je prilično niska, a CYFRA 21-1 iznosi od 22%

do 91%. U nedavnoj studiji evaluirane su vrednosti ova tri markera u malignom izlivu u odnosu na tuberkulozni izliv, u serumu i pleuralnoj tečnosti, a takođe je procenjivan klinički značaj kombinacije ovih tumorskih markera (59). Rezultati su pokazali da ovakav pristup može biti od pomoći i kao komplementarni metod za diferencijalnu dijagnozu pleuralnog izliva. Naročito kombinacija pleuralnog CEA i NSE pokazuje visoku dijagnostičku pouzdanost od 93,9% za maligni pleuralni izliv kod karinoma pluća, naročito adenokarcinoma. Ipak, još uvek nije definisano tačno mesto i značaj ovih tumorskih markera u dijagnostici malignih pleuralnih izliva, najpre zbog nedostatka dovoljnog broja sprovedenih (konfirmatornih) studija.

Uloga serum tumorskih markera u proceni prognoze

Iako brojne objavljene studije ukazuju na prognostičku vrednost jednog ili nekoliko tumorskih markera zajedno sa kliničkim i/ili laboratorijskim parametrima, njihovo pravo mesto tek treba da se odredi. Po-teškoće proizilaze iz nemogućnosti adekvatnog poređenja rezultata ovih studija kako zbog heterogenosti populacije – mešavina stadijuma i različitih histoloških tipova, tako i zbog primene različitih metoda i vrsta analiza, nemogućnosti da se poredi pojedinačan parametar sa već utvrđenim prognostičkim parametrima, naročito sa kliničkim varijablama, kao i da se definišu kriterijumi za opseg vrednosti i dr.

Od svih markera evaluiranih u NSCLC, CYFRA 21-1 je izgleda najbolji prognostički marker za obolele od NSCLC, kako za one sa ranom fazom operabilne bolesti, tako i za one sa uznapredovalim oboljenjem, kako je već pokazano nedavno u meta-analizi svih sakupljenih podataka (40). Pored ovog tumorskog markera, LDH, albumin, kalcijum, NSE, CEA, CA 125, TPS (*tissue polypeptide specific-antigen*) i DNK su se pokazali kao nezavisni prognostički faktori u različitim studijama i trebalo bi da budu integrisani u buduće prognostičke trajale.

U SCLC, tumorski markeri koji su dokazali svoj prognostički značaj u multivarijantnim analizama su LDH, natrijum, albumini i NSE. Nedavni rad sugerise da CYFRA 21-1 i hromogranin A (37), i CYFRA 21-1 i NSE (47) mogu takođe biti jaki prognostički indikatori.

Mesto tumorskih markera u praćenju oboljenja

Glavne indikacije za određivanje tumorskih markera u karcinomu pluća bi bile: postoperativno praćenje, kontrola efikasnosti terapije i detekcija relapsa tj. rekurentne bolesti.

Postoperativno praćenje

Brzina kojom opada vrednost tumorskog markera i kompletnost tog procesa nakon operacije jesu indikativni za dalji ishod bolesti kod pacijenata sa karcinomom pluća. Nakon kratkotrajnog porasta odmah nakon intervencije, zbog oslobađanja tumorskih markera iz operacijom oštećenog normalnog i tumorskog tkiva, sam proces opadanja zavisi i od poluživota biološkog markera i od rezidualnih tumorskih ćelija (60, 61). Nakon kurativne resekcije, nivoi CYFRA 21-1, TPA (*tissue polypeptide antigen*) i SCC (poluživot 1,5–3 sata) trebalo bi da opadaju rapidno dostižući vrednosti onih kao kod zdravih osoba, unutar 1–2 dana, dok opadanje vrednosti CEA se javlja sa izvesnim zakašljenjem zavisan od inicijalnih vrednosti markera (poluživot 1–4 dana) (60, 61). Ako se isključi postojanja bubrežne insuficijencije ili disfunkcije jetre, koji mogu značajno produžiti poluživot tumorskih markera, sporiji klirens i/ili povišen plato mogu se smatrati indikativnim za prisustvo rezidualnih tumorskih ćelija i prediktor su ranog tj. brzog relapsa bolesti (60). Stoga ovi markeri mogu imati poseban značaj pri donošenju odluke o potrebi adjuvantne terapije i o potrebnom broju hemoterapijskih ciklusa u okviru iste.

Kontrola sistemske terapije

Kada se vrši monitoring efikasnosti hemo- ili radioterapije pomoću tumorskih markera, značajno opadanje vrednosti često korelira sa odgovorom na terapiju dok je povećanje ili nedovoljno opadanje vrednosti tumorskih markera generalno vezano za progresnu bolest. U NSCLC, CYFRA 21-1 imala je najbolje podudaranje sa tumorskim odgovorom (59% do 75%). U detekciji progresivne bolesti, specifičnost je bila 100%, a osetljivost 52% (43, 48) dok je podudarnost sa remisijom tumora bila niža (42%). Rane promene vrednosti CYFRA 21-1 nakon jednog ciklusa hemoterapije se po nekim autorima smatraju prediktivnim za dalji ishod (46), mada jedna druga grupa nije zabeležila isti efekat.

Ipak treba naglasiti da su još uvek u svim ovim situacijama nezamenljivi jednostavni klinički parametri (radiografija, ultrazvučni pregled abdomena i sl.) i da možda kod stacionarnog odgovora na hemoterapiju vrednosti markera mogu poslužiti dodatno pri odlučivanju o promeni hemoterapijskog protokola.

U SCLC, NSE i ProGRP reflektuju klinički tok i odgovor na terapiju (29, 36). Tokom hemoterapije, njihovi nivoi mogu porasti privremeno 24 do 72 sata po aplikaciji citostatika kao rezultat citolize tumora ali potom se smanjuju rapidno do individualnih bazalnih vrednosti. Nasuprot tome, neuspeh terapije povlači za sobom perzistentno povećane vrednosti ili pak nedovoljno smanjenje koncentracija markera. Svako tada mogu imati značaj u donošenju odluke o potrebi da se što pre promeni hemoterapijski protokol ukoliko drugi, rutinski klinički parametri nisu dovoljno

indikativni za to tj. ukoliko se procenjuje nalaz kao stacionaran. U slučajeva kada su istovremeno povećane vrednosti NSE i ProGRP, kombinovano određivanje oba pruža dodatnu vrednu informaciju (36).

Detekcija rekurentne bolesti (relapsa)

Postterapijski nadzor pacijenata se može obavljati i određivanjem tumorskih markera koji su osetljivi indikatori relapsa bolesti, često nekoliko meseci ranije u odnosu na »imidžing« metode. U NSCLC, CYFRA 21-1 pokazuje osetljivost od 79% koja raste nadalje na 100% za pacijente sa preoperativnim vrednostima većim od 3,3 µg/L. To je prethodilo pozitivnim nalazima »imidžing« metoda 2–15 meseci (62). Kako CYFRA 21-1 (50), tako je i za TPS i SCCA objavljeno da su potencijalno korisni u detekciji relapsa skvamocelularnog suptipa karcinoma, dok TPS i CEA predstavljaju najbolje markere za adenokarcinom (63).

U SCLC, NSE, ProGRP i CEA mogu poslužiti kao relevantni markeri u detekciji rekurentne bolesti (36). Među njima, ProGRP otkriva najveću stopu detekcije sa osetljivošću od 67% (NSE – 20% i CEA – 38%), ali postoji jasan aditivni efekat osetljivost do 79% kada se kombinuju ProGRP i NSE. Prosečno vreme koje prethodi pozitivnim nalazima drugim metodama je 35 dana za ProGRP, dok se za NSE ne zna. Slično dijagnostičkom pristupu, kompjuterizovani algoritam kombinacija markera kao što je »fuzzy-logic based classification system«, pruža povećanu osetljivost u detekciji relapsa bolesti (29).

Zaključak

Rutinska primena serum tumorskih markera ne može u bliskoj budućnosti da se široko implementira iz kliničkih i/ili finansijskih razloga. Ali tamo gde se

odluče da ih koriste, opravdano je da se slede za sada preporuke Nacionalne Akademije Kliničke Biohemije (NACB) za primenu serum tumorskih markera u karcinomu pluća.

Pošto nijedna studija o pojedinačnom tumorskom markeru nije dostigla najviši nivo dokaza, primena ovih markera u kliničkoj praksi verovatno će se povećati kako postaju dostupne i bolje terapijske opcije.

Rezultati iz dosadašnjih velikih retrospektivnih ili prospektivnih studija ukazuju na vrednost specifičnih markera ili kombinacija ovih markera za dijagnostičke i diferencijalno dijagnostičke svrhe. Kada se ne može utvrditi histološki tip pre operacije, određivanje četiri tumorska markera tj. određivanje serumskih vrednosti CYFRA 21-1, CEA, NSE i/ili ProGRP ima opravdanja da bi se identifikovao vodeći marker (obično prisutan u najvećoj koncentraciji) i na taj način predpostavio verovatni histološki tip tumora. Kod sumnje na inoperabilni karcinom pluća, kad ne može da se utvrdi histološki tip, povišene serumske vrednosti NSE i naročito ProGRP su visoko sugestivne za SCLC, dok su povišene serumske vrednosti SCCA sugestivne za skvamocelularni tip procesa. Serijska određivanja odgovarajućih tumorskih markera mogu takođe biti od pomoći da se utvrdi kompletnost uklanjanja tumora tj. radikalnost operacije i rano ustanove indicije za relapsa bolesti.

Generalno, biomarkeri koji su najvažniji i koji najviše obećavaju u budućoj kliničkoj praksi karcinoma pluća verovatno ipak pripadaju kategoriji funkcionalnih markera, zahvaljujući eksponencijalnom rastu istraživanja koja se odnose na nove ciljane molekularne terapije. Stoga su oni opšte prihvaćeni u određivanju subpopulacija pacijenata kod kojih se očekuje poboljšanje ishoda primenom ovih novih terapijskih strategija.

Literatura

- Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin* 2000; 50: 7–33.
- Spira A, Ettinger DS. Multidisciplinary management of lung cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 379–92.
- Stupp R, Monnerat C, Turrisi AT 3rd, Perry MC, Leyvraz S. Small cell lung cancer: state of the art and future perspectives. *Lung Cancer* 2004; 45: 105–7.
- Booth CM, Shepherd F. Adjuvant chemotherapy for resected non-small cell lung cancer. *J Thoracic Oncol* 2006; 1: 180–7.
- Pfister DG, Johnson DH, Azzoli CG, Sause W, Smith TJ, Baker S Jr, et al. American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology treatment of unresectable non-small-cell lung cancer guideline: update 2003. *J Clin Oncol* 2004; 22: 330–53.
- Molina R, Filella X, Auge JM, Fuentes R, Bover I, Rifa J, et al. Tumor markers (CEA, CA 125, CYFRA 21-1, SCC and NSE) in patients with non-small cell lung cancer as an aid in histological diagnosis and prognosis. Comparison with the main clinical and pathological prognostic factors. *Tumour Biol* 2003; 24: 209–18.
- Barlesi F, Gimenez C, Torre JP, Doddoli C, Mancini J, Greillier L, et al. Prognostic value of combination of CYFRA 21-1, CEA and NSE in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Respir Med* 2004; 98: 357–62.
- Muley T, Dienemann H, Ebert W. Increased CYFRA 21-1 and CEA levels are negative predictors of outcome in p-stage I NSCLC. *Anticancer Res* 2003; 23: 4085–93.
- Muley T, Dienemann H, Ebert W. CYFRA 21-1 and CEA are independent prognostic factors in 153 operated stage I NSCLC patients. *Anticancer Res* 2004; 24: 195–6.
- Okada M, Nishio W, Sakamoto T, Uchino K, Yuki T, Nakagawa A, et al. Prognostic significance of perioperative

- relative serum carcinoembryonic antigen in non-small cell lung cancer: analysis of 1,000 consecutive resections for clinical stage I disease. *Ann Thorac Surg* 2004; 78: 216–21.
11. Pollan M, Varela G, Torres A, de la Torre M, Ludena MD, Ortega MD, et al. Clinical value of p53, c-erbB-2, CEA and CA125 regarding relapse metastasis and death in resectable non-small cell lung cancer. *Int J Cancer* 2003; 107: 781–90.
 12. Sakao Y, Nakazono T, Sakuragi T, Natsuaki M, Itoh T. Predictive factors for survival in surgically resected clinical IA peripheral adenocarcinoma of the lung. *Ann Thorac Surg* 2004; 77: 1157–61.
 13. Sawabata N, Maeda H, Yokota S, Takeda S, Koma M, Tokunaga T, et al. Postoperative serum carcinoembryonic antigen levels in patients with pathologic stage IA nonsmall cell lung carcinoma: subnormal levels as an indicator of favorable prognosis. *Cancer* 2004; 101: 803–9.
 14. Tomita M, Matsuzaki Y, Edagawa M, Shimizu T, Hara M, Onitsuka T. Prognostic significance of preoperative serum carcinoembryonic antigen level in lung adenocarcinoma but not squamous cell carcinoma. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 10: 76–80.
 15. Schalhorn A, Fuerst H, Stieber P. Tumor markers in lung cancer. *J Lab Med* 2001; 25: 353–61.
 16. Salgia R, Harpole D, Herndon JE 2nd, Pisick E, Elias A, Skarin AT. Role of serum tumor markers CA 125 and CEA in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2001; 21: 1241–6.
 17. Kao CH, Hsieh JF, Ho YJ, Ding HJ. Cytokeratin fragment 19 (CYFRA 21-1) and carcinoembryonic antigen for early prediction of recurrence of lung adenocarcinoma. *Lung* 1999; 177: 333–7.
 18. Pinson P, Joos G, Watrion P, Brusselle G, Pauwels R. Serum neuron-specific enolase as tumor marker in the diagnosis and follow-up of small-cell lung cancer. *Respiration* 1997; 64: 102–7.
 19. Stieber P, Dienemann H, Schaihorn A, Schmitt UM, Reinmiedl J, Hofmann K, et al. Pro-gastrin-releasing peptide (ProGRP) – a useful marker in small cell lung carcinomas. *Anticancer Res* 1999; 19: 2673–8.
 20. Shibayama T, Ueoka H, Nishii K, Kiura K, Tabata M, Miyatake K, et al. Complementary roles of pro-gastrin-releasing peptide (ProGRP) and neuron specific enolase (NSE) in diagnosis and prognosis of small-cell lung cancer (SCLC). *Lung Cancer* 2001; 32: 61–9.
 21. Satoh H, Ishikawa H, Kurishima K, Yamashita YT, Ohtsuka M, Sekizawa K. Cut-off levels of NSE to differentiate SCLC from NSCLC. *Oncol Rep* 2002; 9: 581–3.
 22. Schneider J, Philipp M, Velcovsky HG, Morr H, Katz N. Pro-gastrin-releasing peptide (ProGRP), neuron specific enolase (NSE), carcinoembryonic antigen (CEA) and cytokeratin 19-fragments (CYFRA 21-1) in patients with lung cancer in comparison to other lung diseases. *Anticancer Res* 2003; 23: 885–93.
 23. Ferrigno D, Buccheri G, Giordano C. Neuron-specific enolase is an effective tumour marker in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2003; 41: 311–20.
 24. Kulpa J, Wojcik E, Reinfuss M, Kolodziejcki L. Carcinoembryonic antigen, squamous cell carcinoma antigen, CYFRA 21-1, and neuron-specific enolase in squamous cell lung cancer patients. *Clin Chem* 2002; 48: 1931–7.
 25. Maeda T, Ueoka H, Tabata M, Kiura K, Shibayama T, Gemba K, et al. Prognostic factors in advanced non-small cell lung cancer: elevated serum levels of neuron specific enolase indicate poor prognosis. *Jpn J Clin Oncol* 2000; 30: 534–41.
 26. Pujol JL, Boher JM, Grenier J, Quantin X. CYFRA 21-1, neuron specific enolase and prognosis of non-small cell lung cancer: prospective study in 621 patients. *Lung Cancer* 2001; 31: 221–31.
 27. Ebert W, Muley T, Trainer C, Dienemann H, Drings P. Comparison of changes in the NSE levels with clinical assessment in the therapy monitoring of patients with SCLC. *Anticancer Res* 2002; 22: 1083–9.
 28. Giovannella L, Ceriani L, Bandera M, Garancini S. Immunoradiometric assay of chromogranin A in the diagnosis of small cell lung cancer: comparative evaluation with neuron-specific enolase. *Int J Biol Markers* 2001; 16: 50–5.
 29. Schneider J, Philipp M, Salewski L, Velcovsky HG. Pro-gastrin-releasing peptide (ProGRP) and neuron specific enolase (NSE) in therapy control of patients with small-cell lung cancer. *Clin Lab* 2003; 49: 35–42.
 30. Molina R, Auge JM, Alicarte J, Filella X, Vinolas N, Ballesta AM. Pro-gastrin-releasing peptide in patients with benign and malignant diseases. *Tumour Biol* 2004; 25: 56–61.
 31. Molina R, Filella X, Auge JM. ProGRP: a new biomarker for small cell lung cancer. *Clin Biochem* 2004; 37: 505–11.
 32. Lamy P, Grenier J, Kramar A, Pujol JL. Pro-gastrin-releasing peptide, neuron specific enolase and chromogranin A as serum markers of small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2000; 29: 197–203.
 33. Goto K, Kodama T, Hojo F, Kubota K, Kakinuma R, Matsumoto T, et al. Clinicopathologic characteristics of patients with nonsmall cell lung carcinoma with elevated serum progastrin-releasing peptide levels. *Cancer* 1998; 82: 1056–61.
 34. Massacesi C, Rocchi MB, Marcucci F, Pilone A, Galeazzi M, Bonsignori M. Serum tumor markers may precede instrumental response to chemotherapy in patients with metastatic cancer. *Int J Biol Markers* 2003; 18: 295–300.
 35. Sunaga N, Tsuchiya S, Minato K, Watanabe S, Fueki N, Hoshino H, et al. Serum pro-gastrin-releasing peptide is a useful marker for treatment monitoring and survival in small-cell lung cancer. *Oncology* 1999; 57: 143–8.
 36. Niho S, Nishiwaki Y, Goto K, Ohmatsu H, Matsumoto T, Hojo F, et al. Significance of serum pro-gastrin-releasing peptide as a predictor of relapse of small cell lung cancer: comparative evaluation with neuron-specific enolase and carcinoembryonic antigen. *Lung Cancer* 2000; 27: 159–67.
 37. Pujol JL, Quantin X, Jacot W, Boher JM, Grenier J, Lamy PJ. Neuroendocrine and cytokeratin serum mar-

- kers as prognostic determinants of small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2003; 39: 131–8.
38. Barak V, Goike H, Panaretakis KW, Einarsson R. Clinical utility of cytokeratins as tumor markers. *Clin Biochem* 2004; 37: 529–40.
 39. Buccheri G, Torchio P, Ferrigno D. Clinical equivalence of two cytokeratin markers in non-small cell lung cancer: a study of tissue polypeptide antigen and cytokeratin 19 fragments. *Chest* 2003; 124: 622–32.
 40. Pujol JL, Molinier O, Ebert W, Daures JP, Barlesi F, Buccheri G, et al. CYFRA 21-1 is a prognostic determinant in non-small-cell lung cancer: results of a meta-analysis in 2063 patients. *Br J Cancer* 2004; 90: 2097–105.
 41. Ando S, Kimura H, Iwai N, Yamamoto N, Lida T. Positive reactions for both Cyfra21-1 and CA125 indicate worst prognosis in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2003; 23: 2869–74.
 42. Foa P, Fomier M, Miceli R, Seregini E, Santambrogio L, Nosotti M, et al. Tumour markers CEA, NSE, SCC, TPA and CYFRA 21.1 in resectable non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 1999; 19: 3613–8.
 43. Nisman B, Lafair J, Heching N, Lyass O, Baras M, Peretz T, et al. Evaluation of tissue polypeptide specific antigen, CYFRA 21-1 and carcinoembryonic antigen, in nonsmall cell lung carcinoma. Does the combined use of cytokeratin markers give any additional information? *Cancer* 1998; 82: 1850–9.
 44. Niklinski J, Burzykowski T, Niklinska W, Laudanski J, Chyczewski L, Rapellino M, et al. Preoperative CYFRA 21-1 level as a prognostic indicator in resected non-small cell lung cancer. *Eur Respir J* 1998; 12: 1424–8.
 45. Reinmuth N, Brandt B, Semik M, Kunze WP, Achatz R, Scheld HH, et al. Prognostic impact of Cyfra21-1 and other serum markers in completely resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2002; 36: 265–70.
 46. Vollmer RT, Govindan R, Graziano SL, Gamble G, Garst J, Kelley MJ, et al. Serum CYFRA 21-1 in advanced stage non-small cell lung cancer: an early measure of response. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1728–33.
 47. Ando S, Suzuki M, Yamamoto N, Lida T, Kimura H. The prognostic value of both neuron-specific enolase (NSE) and CYFRA 21-1 in small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2004; 24: 1941–6.
 48. Ebert W, Muley T. CYFRA 21-1 in the follow-up of inoperable non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy. *Anticancer Res* 1999; 19: 2669–72.
 49. Kashiwabara K, Nakamura H, Esaki T. Prognosis in bronchogenic squamous cell carcinoma groups divided according to serum squamous cell carcinoma-related antigen and cytokeratin 19 fragment levels. *Clin Chim Acta* 2000; 294: 105–13.
 50. Sun SS, Hsieh JF, Tsai SC, Ho YJ, Lee JK, Kao CH. Cytokeratin fragment 19 and squamous cell carcinoma antigen for early prediction of recurrence of squamous cell lung carcinoma. *Am J Clin Oncol* 2000; 23: 241–3.
 51. Yeh JJ, Liu FY, Hsu WH, Wang JJ, Ho ST, Kao A. Monitoring cytokeratin fragment 19 (CYFRA 21-1) serum levels for early prediction of recurrence of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in the lung after surgical resection. *Lung* 2002; 180: 273–9.
 52. Hatzakis KD, Froudarakis ME, Bouros D, Tzanakis N, Karkavitsas N, Siafakas NM. Prognostic value of serum tumor markers in patients with lung cancer. *Respiration* 2002; 69: 25–9.
 53. Takeuchi S, Nonaka M, Kadokura M, Takaba T. Prognostic significance of serum squamous cell carcinoma antigen in surgically treated lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 9: 98–104.
 54. Bonner JA, Sloan JA, Rowland KM Jr, Klee GG, Kugler JW, Mailliard JA, et al. Significance of neuron-specific enolase levels before and during therapy for small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 597–601.
 55. Bremnes RM, Sundstrom S, Aasebo U, Kaasa S, Hatlevoll R, Aamdal S. Norwegian Lung Cancer Study Group. The value of prognostic factors in small cell lung cancer: results from a randomised multicenter study with minimum 5 year follow-up. *Lung Cancer* 2003; 39: 303–13.
 56. Fizazi K, Cojean I, Pignon JP, Rixe O, Gatineau M, Hadeif S, et al. Normal serum neuron specific enolase (NSE) value after the first cycle of chemotherapy: an early predictor of complete response and survival in patients with small cell lung carcinoma. *Cancer* 1998; 82: 1049–55.
 57. Jorgensen LG, Osterlind K, Genolla J, Gomm SA, Hernandez JR, Johnson PW, et al. Serum neuron-specific enolase (S-NSE) and the prognosis in small-cell lung cancer (SCLC): a combined multivariable analysis on data from nine centres. *Br J Cancer* 1996; 74: 463–7.
 58. Ardizzoni A, Cafferata MA, Paganuzzi M, Filiberti R, Marroni P, Neri M, et al. Study of pretreatment serum levels of HER-2/neu oncoprotein as a prognostic and predictive factor in patients with advanced non-small cell lung carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 1896–904.
 59. Lee JH, Chang JH. Diagnostic utility of Serum and Pleural Fluid CEA, NSE and Cytokeratin 19 fragments in patients with effusions from primary Lung Cancer. *Chest* 2005; 128: 2298–303.
 60. Yoshimasu T, Miyoshi S, Maebeya S, Suzuma T, Bessho T, Hirai I, et al. Analysis of the early postoperative serum carcinoembryonic antigen time-course as a prognostic tool for bronchogenic carcinoma. *Cancer* 1997; 79: 1533–40.
 61. Yoshimasu T, Maebeya S, Suzuma T, Bessho T, Tanino H, Arimoto J, et al. Disappearance curves for tumor markers after resection of intrathoracic malignancies. *Int J Biol Markers* 1999; 14: 99–105.
 62. Stieber P, Zimmermann A, Reinmiedl J, Muller C, Hoffmann H, Dienemann H. CYFRA 21-1 in the early diagnosis of recurrent disease in non small cell lung carcinomas (NSCLC). *Anticancer Res* 1999; 19: 2665–8.
 63. Sun SS, Hsieh JF, Tsai SC, Ho YJ, Kao CH. Tissue polypeptide-specific antigen and carcinoembryonic antigen for early prediction of recurrence in lung adenocarcinoma. *Am J Clin Oncol* 2000; 23: 605–8.

Rad primljen: 15. 01. 2007.

Prihvaćen za štampu: 16. 03. 2007.