

PREPORUKE ZA PRIMENU I ODREĐIVANJE TUMORSKIH MARKERA KOD NEOPLAZMI NEUROENDOKRINOLOGIJSKOG SISTEMA

RECOMMENDATION FOR APPLICATION AND DETERMINATION TUMOR MARKERS OF NEUROENDOCRINE SYSTEM

Duško Mirković

*Institute of Medical Biochemistry, Clinical Centre of Serbia and School Pharmacy,
University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

Kratak sadržaj: Neuroendokrini tumori vode poreklo iz neuroendokrinih ćelija, koji pod uslovima specifične stimulacije sekretuju hormone, regulišući niz različitih funkcija u organizmu. U radu je opisana grupa neuroendokrinih tumora koja se sastoji od: karcinoida endokrinih tumora pankreasa, neuroblastoma, medularnog karcinoma tiroidee i feohromocitoma. Biće diskutovani tumori koji potiču iz endokrinih žlezda, kao i oni koji vode poreklo iz takozvanog »difuznog« neuroendokrino ćelijskog sistema gastrointestinalnog trakta. Radi se o najvećem endokrinom organu u organizmu. Oko 50 različitih neuroendokrinih ćelijskih tipova gastrointestinalnog trakta je indentifikovano. Važan dijagnostički segment u tretmanu ovih tumora, je određivanje biogenih amina i peptida, čija je aktivnost izmenjena kod pojave neoplazmi. Širok je spektar kliničkih simptoma kod pojave ove vrste tumora, a svi su posledica sposobnosti tumora da sekretuju povećane količine peptidnih hormona i biogenih amina. Glavni ciljevi ovog teksta su procena važnosti ove grupe tumorskih markera, kao i predlozi za njihovo korišćenje u našim uslovima.

Ključne reči: neuroendokrini, tumor, markeri, karcinoid neuroblastom, feohromocitom, karcinom

Summary: Neuroendocrine tumors derive from neuroendocrine cells, which upon specific stimulation secrete stimulation secrete hormones regulating various bodily functions. We will discuss the group of neuroendocrine tumors which is consisted of: carcinoids, endocrine pancreatic tumors, neuroblastomas, medullary thyroid carcinomas and pheochromocytomas. The tumors which derived from endocrine glands will be discussed, as well as, we will pay attention on tumors which derived from so called »diffuse« neuroendocrine cell system of the gastrointestinal tract. In fact, this is the largest endocrine organ of the body. About 50 different neuroendocrine cell types of the gastrointestinal tract have been indentified. One of the currently recommended diagnostic approach to these lesions is the determination of characteristic bioactive amines and peptides of neuroendocrine activity, which is changed in neoplasms. The wide spectrum of clinical symptoms are associated with lesions of endocrine glands, and dispersed neuroendocrine system, results from their collective ability to secrete an extensive array of peptide hormones and bioactive amines, that differ according to the tumor type. The main aim of this discussion is evaluation of these potential tumor markers, and proposing using some of those markers in our conditions.

Keywords: neuroendocrine, markers tumors, carcinoid, neuroblastoma, pheochromocytoma, carcinoma

Uvod

Neuroendokrini tumori potiču iz neuroendokrinih, visoko specijalizovanih ćelija, koje po specifičnoj stimulaciji sekretuju odgovarajuće hormone, regulišući niz biohemijkih i fizioloških procesa u organizmu. Neuroendokrine ćelije su grupisane formirajući endokrine žlezde, ili se javljaju kao »difuzno« raspoređene, formirajući neuroendokrini ćelijski sistem gastrointestinalnog trakta (GI), koji je najveći endokrini

organ u telu (1). Tumori neuroendokrino sistema se javljaju kao relativno male benigne forme, kao i hormon sekretujuće forme sa više ili manje izraženim malignim potencijalom. Za razliku od klasičnih neuroendokrinih tumora, koje zahvataju konkretno određenu endokrinu žlezdu, tumori GI sistema su rasuti duž gastrointestinalnog trakta i pluća, a ređe zahvataju prostatu ili jajnike. Neuroendokrini tumori se dele na:
– karcinoidne tumore

- feohromocitome
- neuroblastome
- medularni tiroidni karcinom
- kancere malih ćelija pluća
- hipertiroidne adenome
- pitutarne tumore
- kancere prostate
- endokrine tumore pankreasa (multipla maligna neoplazija tipa 1 i 2).

U ovu grupu neoplazmi se mogu ubrojiti i sindromi ćelija pankreasnih ostrvaca: insulinomi, glukagonomi i somatostatini, kao i Zollinger-Ellisonov, odnosno Verner-Morrisonov sindrom.

Do danas je indentifikovano preko 50 neuroendokrinih ćelijskih vrsta na GI nivou. Svaka od njih ima svoju karakterističnu hormonsku produkciju, iz koje proističe i odgovarajuća regulatorna uloga. Prepoznato je takođe i preko 30 peptidno hormonskih gena, koji učestvuju u ekspresiji više od 100 bioaktivnih peptida. Zato se danas smatra da hormonski potencijal GI sistema predstavlja glavnog prenosioca informacija u organizmu, a ne samo na nivou gastrointestinalnog trakta (2, 3).

U citoplazmi endokrinih ćelija (EC), nalazi se veliki broj sekretornih granula, različite elektronske gustine, veličine i oblika. One predstavljaju mesto odlaganja karakterističnih sekretornih produkata EC ćelije. Na primer, serotonin (5-HT), se sintetise iz triptofana, hidrosilacijom i dekarboksilacijom istog (4). Ograničavajući faktor u pomenutom procesu je brzina konverzije triptofana u 5 hidroksitriptofan (5-HTP), proces koji je katalizovan 5-hidroksilazom, koja se nalazi u citoplazmi EC ćelije. Sintetisani serotonin biva dalje preuzet u sekretorne granule, procesom aktivnog transporta u kome učestvuje vezikularni monoaminski transporter. Nakon specifične stimulacije, sekretorne granule se translociraju do ćelijske membrane, gde svoj sadržaj oslobađaju egzocitozom. Oslobođeni serotonin sada može svojom parakrinom funkcijom da moduliše procese u ćeliji u kojoj je sintetisan, ili da svojim ekzokrinim hormonskim delovanjem to čini na nivou udaljenih ćelija. U karakterističnom slučaju serotonin najvećim delom biva preuzet od strane trombocita. Deo preostalog serotonina biva u jetri i plućima, pod dejstvom monoamino oksidaze preveden u inaktivnu 5-hidroksindol sirćetnu kiselinu (5-HIAA).

Peptidni prohormoni, hromogranin A i drugi granularni proteini, se sintetise na nivou Goldžijevog aparata. Hromogranini predstavljaju supstrate za proteolitike enzime. Produkti pomenute proteolitike razgradnje se transportuju u Goldžijev aparat gde se formiraju presekretorne granule, iz kojih nakon konačnog formiranja hromogranina A (CgA), nastaju sekretorne granule. CgA dalje biva hidrolizovan do fragmenata manje molekulske mase: vazostatina,

pankreastatina i drugih hromatostatina, koji se egzocitozom izlučuju, nakon odgovarajuće stimulacije (7, 8).

U hromogranine, ili kako se još nazivaju sekretogranini, spadaju CgA, hromogranin B (CgB, nekad nazivan sekretogranin I), hromatogranin C (CgC, nekada nazivan sekretogranin II), sekretogranin III, sekretogranin IV i sekretogranin V. CgA je prvi put izolovan iz hromafinih ćelija goveđe adrenalne medule. To je kiseli, u vodi lako rastvoran protein. Hromogranini su nađeni u neuroendokrinih ćelijama, široko rasprostranjenim u telu, formirajući neuroendokrini sistem. Takođe su lokalizovani u neurološkim ćelijama, centralnog i perifernog sistema (9, 11).

Različite ćelije neuroendokrinih sistema sadrže i različite količine karakterističnih hromogranina. Adrenalne hromafine granule sadrže oko 40 različitih proteina, a 40% rastvornih proteina su hromogranini. U adrenalnim hromafinim ćelijama CgA i CgB prisutni su u skoro istom odnosu, dok je sekretogranin II manje zastupljen. U paratirodnim ćelijama, odnosno enterohromafinim ćelijama stomaka, sadržaj CgA je mnogo veći u odnosu na CgB, dok je kod prostasoma, sekretornih produkata prostate, najzastupljenija CgB frakcija (12).

Svi predstavnici hromogranin-sekretogranin proteinske familije imaju zajedničke strukturne karakteristike. Svi sadrže N-terminalni signalni peptid, koji određuje put ka i kroz Goldžijev aparat. CgA i CgB imaju dva cisteinska ostatka u N-terminalnom delu, preko kojih grade disulfidne mostove. Ovo daje mnogo čvršću trodimenzionalnu strukturu N-terminalnog dela, što je od velike važnosti za ostvarivanje bioloških efekata molekule hromogranina u celini. To je hidrofilni deo molekule, karakterističan po visokom sadržaju glutaminske kiseline. Svi predstavnici takođe imaju naglašeno prisustvo baznih amino kiselina duž C-terminalnog dela molekule. Ovo su mesta potencijalnog cepanja molekule uz oslobađanje biološki aktivnih peptidnih fragmenata. Svi proteini ove grupe su termostabilni (ključanje ne izaziva denaturaciju istih). Lako vezuju kalcijum i druge dvovalentne katjone, što izaziva karakteristične konformacione promene. Podložni su O-glikolizaciji, fosforilizaciji i sulfataciji (13).

Za neke od peptida koji nastaju fragmentisanjem hromograninske molekule, poznata je i biološka funkcija koju modulišu. Tako N-terminalni deo CgA je odgovoran za vazodilataciju. Centralni i C-terminalni deo CgA ima autokrinu i parakrinu funkciju pri oslobađanju hormona. C-terminalni deo CgB ima antibakterijsku, a SgII (sekretoneurin), moduliše migraciju monocita (14).

Nespecifična degradacija hromogranina, koja vodi njihovoj dezaktivaciji i izlučivanu iz organizma, se obavlja na C-terminalnom, tako i na N-terminalnom delu molekule. Zbog svoje dovoljne veličine,

molekuli CgA se minimalno filtriraju u bubregu, a filtrirana frakcija reapsorbuje u proksimalnom tubulu i lizozomalnim putem razgrađuje. Veći deo CgA se fragmentiše, lako na nivou tubula filtrira, a na nivou proksimalnog tubula takođe reapsorbuje i lizozomalno razgrađuje. Kod oštećenja bubrega se zato mogu javiti povećane koncentracije hromogranina u krvi, koje nisu posledica endokrine neoplazije (15).

Najefikasniji način korišćenja hromogranina kao tumorskog markera je određivanje intaktne molekule, koja nije pretrpela nijedan oblik fragmentacije. Određivanje određenog fragmenta molekule hromogranina, ima manju senzitivnost pri pokušaju detekcije neuroendokrine neoplazije. Kod većine neuroendokrinih tumora, izraženije je povećanje koncentracije CgA, nego CgB, ali ima primera gde je odnos obrnut. Zato je najbolje rešenje, ako se hromogranini koriste kao tumorski markeri, određivati intakni CgA, kao i CgB (16).

U ovim slučajevima se pored gore pomenutog povećanja nivoa CgA pri oštećenju funkcije bubrega, mora voditi računa i o drugim stanjima koja dovode do povećanja koncentracije hromogranina u krvi, a nisu posledica prisustva endokrine neoplazije. Gastritis tipa A uz tretman inhibitorima protonске pumpe, je karakteristično stanje praćeno povećanjem CgA, pri čemu nema uticaja na vrednosti CgB. Vrednosti plazmatskog nivoa CgA rastu u funkciji neuroendokrine aktivnosti kod kongestivne bolesti srca. Ovo povećanje direktno korelira sa stadijumom srčane bolesti, pa je vrednost koncentracije CgA do 7 puta povećana kod ovakvih bolesnika. Tretmani derivatima somatostatina, daju karakteristično smanjenje vrednosti CgA, nezavisno od učinka ovih preparata na razvoj maligne bolesti.

Određivanje hromogranina

Određivanje hromogranina A danas postaje rutinski postupak, koji eksploatiše principe radioimunohemijskog određivanja. Takozvani »klasični« način određivanja podrazumeva kompetitivni imunohemijski princip, u kome se koristi jedno poliklonsko antitelo, koje ima jedno mesto za vezivanje na molekuli hromogranina. Druga grupa metoda su nekompetitivne, i podrazumevaju korišćenje monoklonskih ili poliklonskih antitela, koja se vezuju za različita mesta na molekuli hromogranina.

Karcinoidni tumori

Karcinoidni tumori su prvobitno izdvojeni u posebnu grupu zbog pretpostavke o specifičnom poreklu prekurzorskih ćelija (17). Na osnovu razlika u biološkim karakteristikama, kao i kliničkoj manifestaciji bolesti, u okviru karcinoidne grupe tumora postoji podela na:

- karcinoide gornje regije gastrointestinalnog trakta i pluća – »foregut« karcinoidi, generišu se na nivou duodenuma i pankreasa, odnosno stomaka;
- karcinoidi srednje regije gastrointestinalnog trakta – »midgut« karcinoidi, generišu se na nivou: jejunuma, ileuma, apendiksa, ili cekuma;
- karcinoidi donje regije gastrointestinalnog trakta – »hindgut« karcinoidi, generišu se na nivou kolona i rektuma.

Nova klasifikacija neuroendokrinih tumora, donekle menja gore navedenu podelu među podgrupama karcinoidnih tumora (18). Ova klasifikacija uzima u obzir: lokalizaciju, veličinu, angioin vazivnost, hormonsku produkciju, stepen neuroendokrine diferencijacije, histološke karakteristike i proliferativni indeks. Ova klasifikacija takođe uzima u obzir i kliničko ponašanje tumora: benigni, malog stepena malignosti, visokog stepena malignosti. Uzimajući u obzir ovu klasifikaciju razlikuju se tri glavne grupe tumora:

- dobro diferencirani endokrini tumori (klasični midgut karcinoidi),
- diferencirani endokrini karcinomi (atipični karcinoidi),
- slabo diferencirani karcinomi.

Foregut karcinoidi

»Foregut« karcinoidi ispoljavaju različitu kliničku sliku, koja velikim delom proističe iz različite hormonske produkcije, biološki aktivnih supstanci, koje tumorske ćelije sintetišu, odnosno kvantitativne zastupljenosti pomenutih medijatora (19). Ispoljavanje ove grupe simptoma daje sliku takozvanog karcinoidnog sindroma, a sastoji se iz: karakterističnog povremenog jakog crvenila u licu (»flushing«), diaree, teškog disanja, dispnee (u manje od 10%). Ovi simptomi su posledica pojačane produkcije serotonina i hikinina. U manjem broju slučajeva, javlja se produženi »flushing«, glavobolja i bronhokonstrikcija. Kod ovakvih slučajeva na formiranje kliničke slike pored serotonina utiče povećana koncentracija histamina. Međutim, čak i do 50% slučajeva, može biti asimptomatsko, a tumor se detektuje rutinskim X-ray snimanjem (20–22).

Plućni karcinoidi se često ispoljavaju sa Cushing-ovim sindromom, zbog ektopičnog lučenja ACTH, odnosno vrlo retko sa akromegalijom, zbog ektopičnog lučenja GNRH. Gastrični i duodenalni karcinoidi imaju osobinu pojačane sinteze i lučenja gastrina, dajući kliničku sliku Zollinger-Ellison-ovog sindroma, sa ponavljajućim ulkusom, diareom i gastričnim bolom (23, 24).

Vrlo važna egzokrina karakteristika »foregut« karcinoida je relativno mala sinteza i sekrecija serotonina. 5-HIAA zato ne može biti pouzdan marker za postavljanje dijagnoze i praćenje toka bolesti. Odre-

đivanje serotonina u trombocitima je najosetljiviji marker u ovakvim slučajevima, a određivanje serotonina u urinu takođe ima značaja.

Novija ispitivanja su pokazala veliku važnost CgA, koji ima veću osetljivost i od serotonina u trombocitima. Određivanje: CgB, gastrina, ACTH, GHRH i histamina, u specifičnim slučajevima može biti od koristi.

Midgut karcinoidi

Ovaj tip karcinoida je poznat i kao »klasični«. Klinička slika ovog tipa karcinoida je jasnija nego kod »foregut« karcinoida, i u ovom slučaju takođe podrazumeva: »flushing«, diareju, kardiačnu fibrozu i dispneu. Za razliku od »foregut« karcinoida, radi se o tumorima koji sintetišu i sekretuju relativno velike količine serotonina. Serotonin ima jak mitogeni efekat na fiofibroblaste, što rezultira kardiačnom fibrozom, vazokonstrikcijom, bronhokonstrikcijom i agregacijom trombocita (6). Učestalost malignosti je visoka, oko 60%.

Simptomi bolesti se pored pojačane produkcije serotonina, javljaju i kao posledica pojačane sinteze i lučenja: tahikinina, bradikinina i kalikreina. Postoji i učesće prostaglandina u razvoju diareje (20–21).

Kako se radi o tumorima koji sekretuju značajne količine serotonina, određivanje količine 5-HIAA u 24h-urinu može biti dovoljno za postavljanje dijagnoze. Određivanje serotonina u urinu, trombocitima i plazmi, takođe je na raspolaganju. Kako se kod produkcije velikih količina serotonina kapacitet trombocita za vezivanje istog zasićuje, određivanje serotonina u trombocitima se ne može koristiti za praćenje toka bolesti, što nije slučaj sa 5-HIAA.

Hindgut karcinoidi

»Hindgut« karcinoidi spadaju u nefunkcionalne tumore, što znači da nema izraženog povećanja produkcije hormona. U većini slučajeva se javlja na kolonu i rektumu, posle 70. godine života. Simptomi se javljaju kada tumor ima promer veći od 5 cm, sa pojavom metastaza. Simptomi su: abdominalni bol, gastrointestinalna krvarenja, uvećana jetra sa metastazama u istoj (6). Kao tumorski markeri sa ograničenom osetljivošću i specifičnošću, mogu se koristiti: CgA, pankreatični polipeptid (PP) i hCg- α , hCg- β fragmenti humanog horioničnog gonadotropina.

U specifičnim slučajevima, sve vrste karcinoidnih tumora gastrointestinalnog trakta, sekretuju povećane količine noradrenalina. U ovim slučajevima mogu se pored noradrenalina detektovati povećane količine VMA u urinu.

Određivanje tumorskih markera karcinoida

Relativno niske vrednost slobodnog serotonina su bile analitička prepreka za uspešno određivanje istog. Određivanje 5-HIAA, koja ima višestruko veće koncentracije u urinu, je bilo mnogo lakše izvodljivo, spektrofotometrijskim postupkom, te je predstavljalo isključivo rešenje kod postavljanja dijagnoze i praćenja toka bolesti. Spektrofotometrijsko određivanje 5-HIAA, nosi rizik od pozitivne interferencije, kao posledice karakterističnih sastojaka u ishrani.

Uvođenjem amperometrijske, odnosno fluorescentne detekcije, HPLC određivanje serotonina je postalo masovan analitički postupak. HPLC tehnika sa amperometrijskom detekcijom je takođe na raspolaganju za određivanje 5-HIAA u urinu, a od skora i u plazmi. Određivanje hromogranina je danas uobličeno u obliku komercijalnih reagens kompleta, te se sve više koristi.

Feohromocitomi

Feohromocitomi su tumori srži nadbubrežne žlezde, odnosno simpatičkih ganglija. Tumori koji nastaju na nivou ekstra-adrenalnih ćelija, nazivaju se još ekstra adrenalni feohromocitomi, ili paragangliomi.

Oko 80–90% ovih tumora su benignog tipa. Velika opasnost po pacijenta pretil zbog sposobnosti tumorskog tkiva da sintetiše relativno velike količine kateholamina, koje u kratkom vremenskom intervalu sekretuje u cirkulaciju, izazivajući teške hipertenzivne krize. Feohromocitomi su vrlo retki. Samo 1% od hipertenzivnih pacijenata ima tumor ovog tipa. Međutim, pravilna dijagnoza je vrlo važna, jer loše dijagnostifikovan feohromocitom, za pacijenta može biti fatalan.

Većina simptoma koji se javljaju kod feohromocitoma su posledica sekrecije kateholamina, ali su konkretne manifestacije od pacijenta do pacijenta različite. Hipertenzija se javlja u 90% pacijenata. Javlja se u obliku teških hipertenzivnih kriza, ali i bez njih. U oba slučaja je karakteristična rezistencija na uobičajenu farmakološku terapiju. Kod teških hipertenzija javlja se retinopatija i proteinurija. Iznenadne krize u najtežim slučajevima mogu biti praćene i gubitkom svesti, izraženom anksioznošću i hiperventilacijom. Naročito su opasne situacije podvrgavanja pacijenata kod kojih nije postavljena dijagnoza, hirurškim intervencijama. Najteže hipertenzivne krize se javljaju baš u ovakvim situacijama i često se završavaju fatalno (25, 26).

Biosinteza kateholamina kod feohromocitoma je izmenjena i pored činjenice da su hromafine ćelije tumora slične po svojim morfološkim, fizičkim i funkcionalnim karakteristikama normalnim ćelijama. Sintetski kateholaminski potencijal ćelija tumora je povećan, najverovatnije zbog nekontrolisanog katalitičkog

dejstva tirozin hidroksilaze. Promene u brzini protoka krvi u samoj adrenalnoj žlezdi, lekovi, hemijski agensi uopšte, provociraju izlučivanje kateholamina i dovede do ispoljavanja ranije opisanih simptoma (27).

Većina feohromocitoma sintetiše i luči mnogo više noradrenalina u odnosu na adrenalin. Kod normalne sinteze 85% sintetisanih kateholamina je u obliku adrenalina. Kod benignog feohromocitoma nikad se ne javlja povećana sinteza dopamina. Ekstra adrenalni feohromocitomi sintetišu i luče samo noradrenalin. Feohromocitomi sintetišu i neuropeptide, koji se nalaze i u normalnoj adrenalnoj meduli.

Feohromocitomi mogu biti udruženi u multiplu malignu neoplaziju tipa MEN 2A, u kom slučaju im je osnovna karakteristika, povećana sekrecija adrenalina. Feohromocitom može takođe biti uključen i u mukozalni neuroma sindrom, MEN 2B, zajedno sa medularnim karcinomom tiroidee i multiplim mukozalnim neuromom.

Među pacijentima sa feohromocitomom, 20% ima vonHippel-Lindau bolest, autosomalno dominantni poremećaj, praćen retinalnim angiomom, hemanjioblastomom centralnog nervnog sistema i renalnim karcinomom.

Biohemijski markeri za postavljanje dijagnoze u ovom slučaju su svi metaboliti kateholamina: VMA, metanefrin, normetanefrin, kao i direktno određivanje kateholamina. Korišćenje HPLC tehnike danas omogućava određivanje svakog od pomenutih jedinjenja, a kada se radi o kateholaminima, podrazumeva određivanje adrenalina i noradrenalina.

Određivanje VMA, HVA adrenalina i noradrenalina nosi rizik od pozitivne interferencije, koja se ogleda u činjenici da bilo kakva vrsta stresa u toku sakupljanja biološkog materijala, vodi ka pojačanoj sekreciji kateholamina i većine njihovih metabolita. Iz ovih razloga treba izbegavati određivanje kateholamina u krvi (28). Pomenuti uticaj stresa postoji i kod određivanja u urinu, ali ako se radi o sakupljanju u toku dužeg vremenskog perioda koji obuhvata vreme spavanja, kakav je 24 časovni, mogućnost greške se značajno smanjuje. Preporučuju se dve, a poželjno je sakupljati urin u tri odvojena 24 h perioda. Dobijene količine izlučenih markera feohromocitoma se izražavaju na 24h period uzorkovanja, ili na količinu ekskretornog kreatinina.

Od skora na značaju dobija određivane slobodnih metanefrina (O-metilovani derivati adrenalina i noradrenalina), prvo u urinu, a zatim i u plazmi. Radi se o kateholaminskim metabolitima koji se sintetišu u samim ćelijama tumora, za razliku od VMA i HVA. Na vrednosti koncentracija slobodnih metanefrina u plazmi uticaj stresa praktično ne postoji (29). Određivanje slobodnih metanefrina je takođe važno kod retkih slučajeva feohromocitoma u kome povećanje koncentracija kateholamina u urinu i plazmi ne postoje, ili je slabo izraženo. Zbog svega gore iznetog poten-

cijalno najosetljiviji parametar za postavljanje dijagnoze feohromocitom su baš plazmatski slobodni metanefrini.

Sve veći značaj dobija i određivanje CgA, nakon objavljenih podataka da senzitivnost ima vrednost i do 90%. Vrednosti koncentracija CgA su proporcionalne veličini tumora i mogu biti »screening« za familiarnu sklonost ka feohromocitomu. Vrednosti koncentracija CgB takođe imaju tendenciju porasta kod feohromocitoma, ali je ovo parametar sa manjom senzitivnošću od CgA (30).

Plazma koncentracije neuropeptida Y (NPY) i vazoaktivnog intestinalnog polipeptida (VIP), mogu biti povećane kod feohromocitoma. Značajan je podatak da su vrednosti koncentracija neuron-specifične enolaze (NSE), povećane kod malignih oblika feohromocitoma (31).

Određivanje tumorskih markera za feohromocitom

Slično analitičkoj problematici kod određivanja serotonina, kvantitativna analiza adrenalina, noradrenalina i dopamina je zahvaljujući amperimetrijskoj ili fluorescentnoj HPLC detekciji, danas rutinski postupak. Metaboliti kateholamina, VMA i HVA, slično 5-HIAA, imaju višestruko više koncentracije u urinu, u odnosu na slobodne kateholamine, te su stoga aspekti pogodni za spektrofotometrijski način određivanja. Pri tome, važi da postoji mogućnost pozitivne interferencije, od strane karakterističnih sastojaka u ishrani. Sve aktuelnije je i određivanje metanefrina i normetanefrina u 24 h urinu, takođe HPLC tehnikom sa amperometrijskom detekcijom. Za postupak određivanja istih u plazmi ne može se reci da je ušao u rutinsku praksu.

Neuroblastomi

Neuroblastomi su maligni tumori, koji se javljaju u ranom detinjstvu. Karakteristični su po brzom rastu, i velikoj brzini metastaziranja. Najveći broj pacijenata se otkriva sa metastazama. Primarno tumor vodi poreklo iz adrenalne medule i simpatičkih ganglija. Glavna biohemijska karakteristika neuroblastoma je povećana sinteza kateholamina i to dopamina.

Nediferentovane tumorske ćelije imaju sposobnost kasnije bolje diferencijacije, što za posledicu ima remisiju bolesti i bolju prognozu. Što je pacijent mlađi, tumor je agresivniji, a sposobnost spontane diferencijacije manja. Prognoza je lošija za tumore sa poreklom u adrenalnoj meduli i pored napretka u hemioterapijskom, radioterapijskom i hiruškom načinu lečenja, neuroblastomi imaju stepen mortaliteta 25-50% (32).

Biohemijski tumorski markeri koji se koriste za postavljanje dijagnoze i za praćenje toka bolesti su po

preporukama Evropske Neuroblastoma Grupe iz 1995. godine: vanilmandelična kiselina (VMA), homovanilinska kiselina (HVA) i dopamin. Pomenuti parametri se određuju u 24-h urinu, čije sakupljanje kod dece može biti problem. Najizraženije povećanje vrednosti se detektuje za HVA i dopamin. Urinarna koncentracija pomenutih parametara nije proporcionalna tumorskoj masi.

CgA ima visoku senzitivnost za neuroblastom, a koncentracija u plazmi je proporcionalna tumorskoj masi. Takođe ovaj parametar može da posluži u postavljanju prognoze bolesti. Učestalost korišćenja ovog parametra u slučaju tretiranja neuroblastoma nije još tako velika kao korišćenje kateholamina i njihovih metabolita, ali u skoroj budućnosti treba očekivati veće korišćenje hromogranina u ove svrhe (33).

Neuron specifična enolaza (NSE), je u povećanoj koncentraciji detektovana kod pacijenata s neuroblastomom, ali ostaje problem specifičnosti ovog markera, jer se povećane koncentracije NSE javljaju i kod: Wilmsovog tumora, Ewingsovog sarkoma i akutnih leukemija.

Medularni tiroidni karcinom

Medularni tiroidni karcinom je zastupljen u procentu od 10% od svih malignih bolesti tiroidee. Javlja se uglavnom posle 40. godine starosti, češće kod žena. Karcinom se razvija iz C-ćelija tiroidee, širi u intraglandularne limfne čvorove, a zatim i u ostale delove žlezde. Relativno lako metastazira u jetru, pluća i kosti. Bolest je udružena u MEN-2A i MEN 2B sindrome. Glavna karakteristika sekrecije ove vrste tumora, je hipersekrecija kalcitonina, ali je često i povećano lučenje karcinoembrionog antigena (CEA). Lučenje kalcitonina vodi ka ispoljavanju glavnog obeležja ovog sindroma, hiperkalcemiji (34).

Dijagnostička osetljivost je 75–90%, a može biti povećana stimulacijom kalcitoninske sekrecije, davanjem gastrina. U ovom slučaju određivanje kalcitonina treba obaviti pre i nakon stimulacije pentagastriinom. Mora se voditi računa o činjenicama da se povećane vrednosti koncentracija kalcitonina javljaju i kod: karcinoidnih tumora, kancera malih ćelija pluća, endokrinih tumora pankreasa, kao i kod neendokrinih tumora u abdomenu, plućima, jetri i bubregu (35).

Vrednosti CgA su povećane u samo oko 25% pacijenata i to samo u odmakloj fazi bolesti.

Endokrini tumori pankreasa

U ovu grupu tumora spadaju: insulinomi, gastrinomi, glukagonomi, somatostatini, vazoaktivni intestinalni polipeptidomi (VIP-omi) i nefunkcionalni pankreasni tumori. Tumori su dobili imena prema imenu glavnog sekretornog produkta. Svi predstavni-

ci ove grupe tumora se odlikuju značajnim malignim potencijalom (36).

Insulinomi su najčešći funkcionalni tumori pankreasa. U 80% slučajeva tumor je benignan. U 10–15% slučajeva tumor je malignan i produkuje insulin, proinsulin, a ponekad i gastrin, odnosno glukagon.

Gastrin produkujući tumori daju kliničku sliku »Zollinger Ellisovog sindroma«: ponavljajuće ulkuse, dijareu, abdominalni bol. Ovi tumori mogu biti nađeni u duodenumu i uglavnom su maligne prirode. Metastaze u jetru i limfnim nodusima su prisutni u 75–80% pacijenata u trenutku postavljanja dijagnoze. Glavni sekretorni produkt je gastrin, koji jako stimuliše kiselu sekreciju u stomaku, što daje karakterističnu kliničku sliku. Jedna trećina ovih pacijenata se može svrstati u grupu multiplih malignih neoplazija tipa 1 (MEN-1) (37).

Glukagonomi imaju frekvencu javljanja 4% od svih endokrinih tumora pankreasa. Daju karakterističnu sliku nekrolitičkog migratornog eritema, te su uglavnom diagnostifikovani od strane dermatologa. Lučenje glukagona je razlog i većine drugih znakova bolesti: diabetes mellitus, gubljenje u telesnoj masi, a javlja se i normocitna anemija, odnosno duboke venske tromboze (38).

Somatostatini su vrlo retki endokrini tumori pankreasa, koji uglavnom sekretuju somatostatin, a mogu se naći i u duodenumu. Karakteristike ovog sindroma su zučni konkrementi, diabetes mellitus, diareja i steatorea. Drugi, vrlo redak tip endokrinih tumora pankreasa je GRF-om po svom glavnom sekretornom produktu »growth hormone-realising« hormonu (GHRH), koji daje kliničku sliku akromegalije (39).

Prisustvo VIP-sekretujućih tumora, daje kliničku sliku *Verner-Morrisonovog* sindroma. Pored hipersekrecije VIP, nekada je prisutna produkcija histidin metionin peptida (PHM), ili kalcitonina. Ovaj sindrom je karakterističan po vodenoj diarei, koja vodi ka dehidraciji, a javljaju se i epizode sa »flushingom« (40).

Nefunkcionalni pankreasni tumori čine oko 30% svih endokrinih tumora pankreasa. Njihova simptomatologija se menja sa veličinom tumora. Kod početnih stadijuma otkrivanje tumora je obično slučajno. Kod odmaklih formi javljaju se metastaze, epigastrični bol, gubitak telesne mase i žutica. Prigušenje kliničkih simptoma u početku bolesti se javlja iz više razloga: smanjenog lučenja aktivnih peptida, lučenje inaktivnih peptida, sekrecija peptidnih inhibitora, inaktivnost perifernih receptora. U odmaklom stadijumu bolesti, tumor sekretuje: CgA, CgB, hCg- α i hCg- β , kao i pankreatični polipeptid, odnosno somatostatin (41).

Zahvalnost. Rad je finansiran na osnovu Ugovora br. 145010B sa MNTR Srbije.

Tabela I Pregled tumorskih markera kod različitih tipova neuroendokrinih tumora

Tumorski markeri	Karcinoidi	Feohromocitom	Neuroblastom	Medularni tiroidni karcinoid	Endokrini tumori pankreasa
Serumski markeri					
Cg (A)	*	*	*	*	*
Cg (B)	*	*			*
HCG- α	*				*
HCG- β	*				*
Metanefrin		*			
Normetanefrin		*			
Gastrin					*
Insulin					*
Proinsulin					*
Glukagon					*
Somatostatin					*
VIP		*	*		*
Kalcitonin				*	
NSE	*	*			*
Serotonin (trombociti)	*		*	*	
Urinarne markeri					
VMA		*			
HVA		*	*		
Adrenalin		*			
Noradrenalin		*			
Dopamin			*		
5-HIAA	*				
Serotonin	*				

Literatura

- Delellis RA, Tischler AS. Functional Endocrine Pathology. Boston: Blackwell, 1990: 493–508.
- Rindi G, Villanacci V, Ubiali A. Biological and molecular aspects of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Digestion* 2000; 62: 19–26.
- Rehfeld JF. The new biology of gastrointestinal hormones. *Physiol Rev* 1998; 1097–108.
- Ericson JD, Eiden LE, Schaher MK. Reserpine and tetrabenazine-sensitive transport (3H) – histamine by the neuronal isoform of the vesicular monoamine transport. *J Mol Neurosci* 1995; 6: 277–87.
- Feldman J, Moore J. Biogenic amines and carcinoid tumors. *Biogenic amines* 1989; 6: 247–52.
- Feldman JM. Carcinoid Tumors. In: Massaferri EL et al. *Endocrine tumors*. Boston: Blackwell, 1993; 700–22.
- Huttner WB, Gerdes HH, Rosa P. The granin (chromogranin/secretogranin) family. *Trends Biochem Sci* 1991; 16: 27–30.
- Winkler H, Fischer-Colbrie R. The chromogranins A and B; the first 25 years, and future perspectives. *Neuroscience* 1992; 49: 497–528.
- Fischer-Cilbrie R, Frischenschlager T. Immunological characterization of secretory proteins of chromaffin granules: Chromogranin A, chromogranin B, and enkephalin-containing peptides. *J Neurochem* 1985; 44: 1854–61.
- Rosa P, Hille A, Lee RHW, Zanini A, Decamilli P, Huttner WB. Secretogranins I II, two tyrosin-sulphated secretory proteins common to a variety of cell-secreting peptides by the regulated pathway. *J Cell Biol* 1985; 101: 1999–2011.
- Fischer-Cilbrie R, Hagn C, Kilpatrick L, Winkler H. Chromogranin C: a third component of the acidic proteins in chromaffin granules. *J Neurochem* 1986; 47: 318–324.
- Hagn C, Schmid KW, Fischer Colbrie R, Winkler H. Chromatogranin A, B and C in human adrenal medulla and endocrine tissues. *Lab Invest* 1986; 55: 505–11.
- Schober M, Fischer-Cilbrie R, Schmid KW, Bussolati G,

- O'Connor DT, Winkler H. Comparison of chromogranins A, B and secretogranin II in human adrenal medulla and pheochromocytoma. *Lab Invest* 1987; 57: 385–91.
14. Buffa R, Mare P, Gini A, Salvatore M. Chromogranina A and B and secretogranin II in hormonally identified endocrine cells of the gut and the pancreas. *Basic Appl Histochem* 1988; 32: 471–84.
 15. Hsiao RJ, Mezger MS, O' Connor DT. Chromogranin A in uremia: Progressive retention of immunoreactive fragments. *Kidney Int* 1990; 37: 955–64.
 16. Stridsberg M, Oberg K, Li Q, Engstrom U, Lidgqist G. Measurements of chromogranin A, chromogranin B, chromogranin C, and pancreastatin in plasma and urine from patients with carcinoid tumors and endocrine pancreatic tumors. *J Endocrinol* 1995; 144: 49–59.
 17. Williams ED, Sandler M. The classification of carcinoid tumors. *Lancet* 1963; 1: 238–39.
 18. Solcia E, Kloppel G, Sobin LH. Histological typing of endocrine tumors. World Health Organization international histological classification of tumors. 2nd ed. Berlin: Springer, 2000.
 19. Mendonca C, Baptista C, Rames M, Yglesias de Oliveira JA. Typical and atypical lung carcinoids: clinical and morphological diagnosis. *Microsc Res Tech* 1997; 38: 468–72.
 20. Oates J, Sijderma A. A unique syndrome associated with secretion of 5-hydroxytryptophan by metastatic gastric carcinoids. *Am J Med* 1962; 32: 333–42.
 21. Norheim I, Wilander E, Oberg K. Tachykinin production by carcinoid tumors in culture. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987; 23: 689–95.
 22. Pernow B, Waldenstrom J. Paroxysmal flushing and other symptoms caused by 5-hydroxytryptamine and histamine in patients with malignant tumors. *Lancet* 1954; II: 951.
 23. Dusment ME, McKneally MF. Pulmonary and thymic carcinoid tumors. *World J Surg* 1996; 20: 189–95.
 24. Ezzat S, Asa SL, Stefaneanu L, Whittom R, Smyth HS, Horvath E, Kovacs K, Frohman LA. Somatotroph hyperplasia without pituitary adenoma associated with a longstanding growth hormone-realising hormone-producing bronchial carcinoid. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 555–60.
 25. Grouzman E, Fathi M, Gillet M, de Torrente A, Cavadas C, Brunner H, Buclin T. Disappearance rate of catecholamines, total metanephrine, and neuropeptide Y from the plasma of the patients after resection of pheochromocytoma. *Clin Chem* 2001; 47: 1075–82.
 26. Young WF. Pheochromocytoma. *Trends Endocrinol Metab* 1993; 4: 122–7.
 27. Grahame PE, Smythe GA, Edwards GA. Laboratory diagnosis of pheochromocytoma: which analyte should we measure? *Ann Clin Biochem* 1993; 30: 129–34.
 28. Eisenhofer G, Lenders JW, Linehan WM, Walther MM, Goldstein DS, Keiser HR. Plasma normetanephrine and metanephrine for detecting pheochromocytoma in von Hippel-Lindau disease and multiple endocrine neoplasia type 2. *N Engl J Med* 1999; 340: 1872–79.
 29. Raber W, Raffesberg W, Bischof M, Scheuba C, Niederle B, Gasic S, Waldhausl W. Diagnostic efficacy of unconjugated plasma metanephrines for the detection of pheochromocytoma. *Arch Intern Med* 2000; 160: 2957–63.
 30. Grondal S, Eriksson B, Hamberger B, Theodorsson E. Plasma chromogranin A and B, neuropeptide Y and catecholamines in pheochromocytoma patients. *J Intern Med* 1991; 229: 453–6.
 31. Grouzman E, Gicquel C, Plouin RF, Schlumberger M, Comoy E, Bohuon C. Neuropeptide Y and neuron-specific enolase levels in benign and malignant pheochromocytomas. *Cancer* 1996; 66: 1833–35.
 32. Brodeur GM, Castleberry RP. Principles and practice of pediatric oncology. Philadelphia: JB Lippincott, 1993: 739–67.
 33. Hsiao RJ, Seeger RC, Yu AL, O'Connor DT. Chromogranin A in children with neuroblastoma: Serum concentration paralleled disease stage and predict survival. *J Clin Invest* 1990; 85: 1555–9.
 34. De Lellis RA, Dayal Y, Tischler AS. Multiple endocrine neoplasia (MEN) syndromes: cellular origins and interrelationships. *Int Rev Exp Pathol* 1986; 28: 163–215.
 35. Boomsma F, Bhagge UM, 't Veld AJMI, Schalekamp MADH. Sensitivity and specificity of a new ELISA method for determination of chromogranin A in the diagnosis of pheochromocytoma and neuroblastoma. *Clin Chim Acta* 1995; 239: 57–63.
 36. Oberg K. Neuroendocrine gastrointestinal tumors: a condensed overview of diagnosis and treatment. *Ann Oncol* 1999; 10: 3–8.
 37. Creutzfeldt W. Insulinomas: Clinical presentation, diagnosis, and advances in management. In: Mignon M, Jensen RT. Endocrine tumors of the pancreas: recent advances in research and management. Basel: Karger, 1995: 148–65.
 38. Mignon M, Jais PH, Cadiot G. Clinical features and advances in biological diagnostic criteria for Zollinger-Ellison syndrome. In: Mignon M, Jensen RT. Endocrine tumors of pancreas: recent advances in research management. Basel: Karger, 1995: 223–39.
 39. Vinik AI, Strodel WE, Eckhauser FE. Somatostatinomas, pipomas, neurotensinomas. *Semin Oncol* 1987; 14: 263–81.
 40. Long RG, Bryant MG, Mitchell SJ. Clinicopathological study of the pancreatic and ganglioneuroblastoma tumors secreting vasoactive intestinal polypeptide (vipomas). *BMJ* 1981; 282: 1767–71.
 41. Eriksson B, Oberg K. Pipomas, nonfunctioning endocrine pancreatic tumors: clinical presentation, diagnosis and advances in management. In: Mignon M, Jensen RT. Endocrine tumors of pancreas: recent advances in research and management. Basel: Karger, 1995: 208–22.

Rad primljen: 15. 01. 2007.

Prihvaćen za štampu: 16. 03. 2007.