

## Dariusz Ziara

Klinika Chorób Płuc i Gruźlicy Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Zabrze  
Kierownik: dr hab. med. Jerzy Kozielski, prof. nadzw. Śląskiego Uniwersytetu Medycznego



# Surowicze markery w samoistnym włóknieniu płuc

## Serum biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis

### Abstract

The usefulness of selected serum biomarkers (KL-6, SP-A, SP-D, IL-8, MCP-1, CYFRA-21) in diagnosis, monitoring and prognosis prediction of idiopathic pulmonary fibrosis is discussed in this paper.

**Key words:** idiopathic pulmonary fibrosis, biological markers, serum, blood

**Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 268–272**

### Streszczenie

W niniejszej pracy omówiono przydatność wybranych markerów surowiczych (m.in. KL-6, SP-A, SP-D, IL-8, MCP-1, CYFRA-21) istotnych dla rozpoznania, monitorowania lub prognozowania przebiegu samoistnego włóknienia płuc.

**Słowa kluczowe:** samoistne włóknienie płuc, biologiczne markery, surowica

**Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 268–272**

Surowiczy marker lub biomarker to mierzalny (czyli podlegający ocenie ilościowej) parametr biologiczny, który może służyć jako wskaźnik do ocen związanych ze zdrowiem lub chorobą [1, 2]. Wyróżnia się między innymi biomarkery ekspozycji na czynnik szkodliwy, skutku takiej ekspozycji i podatności na zachorowanie.

Selekcji markerów dokonuje się pod względem ich czułości, swoistości i powtarzalności oznaczeń w czasie obserwacji. Walidację biomarkerów przeprowadza się także pod kątem ich klinicznej przydatności i zmienności, w tym nie tylko w populacji chorych, ale także u osób zdrowych, nieeksponowanych na czynniki szkodliwe. Oznaczanie markerów wykorzystuje się w celu zwiększenia prawdopodobieństwa rozpoznania choroby lub jej wykluczenia, wykluczenia ekspozycji na czynnik szkodliwy, w monitorowaniu przebiegu choroby (w tym leczonej lub nieleczonej) oraz w celu oceny prognozy choroby.

Tak zwany idealny biomarker należy oznaczać w sposób jak najmniej inwazyjny (np. pomiar w surowicy) i powinien się charakteryzować dużą czułością i bardzo dużą swoistością. Powinien, o ile to możliwe, informować o ryzyku wystąpienia choroby, a nie tylko o jej rozwiniętej postaci. W końcu musi być reprezentatywny dla danej jednostki chorobowej i wykazywać zmianę stężenia w surowicy w zależności od aktywności i klinicznej ewolucji choroby, a nade wszystko — mieć istotną wartość prognostyczną. Oczywiście, oznaczanie zawartości idealnego biomarkera w surowicy powinno być powtarzalne, łatwe i tanie [1, 2].

Stale rośnie zainteresowanie markerami i ich wykorzystaniem w monitorowaniu i przewidywaniu przebiegu samoistnego włóknienia płuc (SWP). Samoistne włóknienie płuc jest chorobą o złym rokowaniu, charakteryzującą się proliferacją fibroblastów płucnych, obecnością włóknienia i zaburzenia architektury mięszu płuc, czego radiolo-

**Adres do korespondencji:** Dariusz Ziara, Klinika Chorób Płuc i Gruźlicy, Śląski Uniwersytet Medyczny w Zabrze, ul. Ks. Koziółka 1, 41–803 Zabrze

Praca wpłynęła do Redakcji: 25.07.2007 r.  
Copyright © 2007 Via Medica  
ISSN 0867–7077

**Tabela 1. Najważniejsze biomarkery oznaczane w surowicy chorych na samoistne włóknienie płuc (SWP) i inne choroby śródmiąższowe (wg Tzouveleki i wsp. [1])****Table 1. Serum biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis and other interstitial lung diseases (acc. to Tzouveleki et al. [1])**

Białka specyficzne dla nabłonka	Antygeny związane z mucyną: KL-6/MUC1 Białka surfaktanta: SP-A i SP-D Białka komórek Clara: CC-16 Inne markery związane z nabłonkiem: CK-19, CA 19-9, SLX
Cytokiny, chemokiny i inne	MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , ITAC/CXCL-11, TNF, IL-8 Antyoksydanty i peptydy kolagenu: glutation Prokolagen III Markery aktywacji limfocytów T: sIL-2R Markery aktywności makrofagów: ACE, neopteryna, $\beta$ -glukuronidaza, LDH

KL-6 — *Krebs von den Lungen-6*; MUC-1 (*mucin*) — ludzka mucyna; SP-A, SP-D (*surfactant protein A, surfactant protein D*) — hydrofilowe białka surfaktanta o dużej masie cząsteczkowej; CC-16 — *Clara cell protein 16*; CK-19 (*cytokreatin-19*) — cytokreatyna 19; CA 19-9 (*carbohydrate antigen 19-9*) — antygen węglowodanowy 19-9; SLX (*carbohydrate antigen sialyl Lewis (x)*) — antygen węglowodanowy sialyl Lewis X; MCP-1 (*macrophage chemotactic protein 1*) — białko chemotaktyczne makrofagów typu 1; MIP-1 $\alpha$  (*macrophage inflammatory protein-1  $\alpha$* ) — białko zapalne makrofagów 1  $\alpha$ ; ITAC — *interferon-inducible T cell- $\alpha$  chemoattractant*; CXCL-11 — *CXC chemokine 11*; TNF (*tumor necrosis factor*) — czynnik martwicy nowotworów; IL-8 (*interleukin-8*) — interleukina-8; sIL-2R (*soluble interleukin-2 receptor*) — rozpuszczalny receptor dla interleukiny 2; ACE (*angiotensin-converting enzyme*) — enzym konwertujący angiotensynę; LDH (*lactic dehydrogenase*) — dehydrogenaza mleczanowa

giczną manifestacją jest obraz tak zwanego plastra miodu, zwłaszcza w obwodowych, przypodstawnych częściach płuc. Dowodem zainteresowania markerami w SWP jest chociażby rosnąca systematycznie liczba publikacji na ten temat. Na przykład w 1990 roku liczba odnotowanych publikacji przez bazy *Medline* oraz *PubMed* (po wprowadzeniu słów kluczowych: „Biological Markers/blood” [MeSH] AND „Pulmonary Fibrosis” [MeSH]) nie przekraczała 40, a w roku 2005 sięgnęła blisko 160 pozycji [1].

Zidentyfikowanie idealnego biomarkera przydatnego w SWP jest szczególnie trudne, ponieważ w procesie oceny jego przydatności u chorych na SWP należy wziąć pod uwagę nie tylko odpowiednio długi okres obserwacji i odpowiednio dużą liczbę pacjentów, ale także wskazać, do jakiego parametru — określanego jako „złoty standard” — powinien się odnosić dany biomarker. Powstaje zatem pytanie, czy badany biomarker powinien być przydatny przede wszystkim w przewidywaniu czasu przeżycia chorych? A może także w przewidywaniu wystąpienia zaostrzenia SWP? Czy też marker powinien zwiastować pogorszenie czynnościowe oceniane spadkiem wartości natężonej pojemności życiowej (FVC, *forced vital capacity*), a może zdolnością dyfuzyjną płuc dla tlenu węgla (DLCO, *diffusing capacity of the lung for carbon monoxide*) czy zmniejszeniem zdolności wysiłkowej mierzonej na przykład w teście 6-minutowego marszu czy też koniecznością stosowania tlenoterapii domowej? Być może powinien także korelować ze zmianami radiologicznymi ocenianymi w tomografii komputerowej o wysokiej rozdzielczości (HRCT, *high resolution computed tomogra-*

*phy*) lub zapowiadać pogorszenie, ewentualnie lepszą odpowiedź na stosowane leczenie?

W tabeli 1 przedstawiono najważniejsze markery oznaczane we krwi u pacjentów z chorobami śródmiąższowymi płuc. Są to białka specyficzne dla nabłonka oddechowego, białka surfaktanta, białka komórek Clara, cytokiny, chemokiny, antyoksydanty, peptydy kolagenu oraz markery aktywności makrofagów.

Spośród wymienionych markerów na szczególną uwagę zasługuje KL-6 (*Krebs von den Lungen*) — glikoproteina o dużej masie cząsteczkowej, produkowana głównie przez pneumocyty typu II i klasyfikowana jako ludzka mucyna MUC1 obecna na nabłonku oddechowym. Glikoproteina ta, po raz pierwszy opisana przez Kohno i wsp. [3], ogrywa istotną rolę w morfogenezie i rozwoju płuc płodu oraz wykazuje właściwości chemotaktyczne dla fibroblastów [4]. Dzięki mysim przeciwciałom przeciwko KL-6 udało się dokonać oznaczeń ilościowych KL-6 zarówno w surowicy, jak i w płynie z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL, *bronchoalveolar lavage*) pacjentów z chorobami śródmiąższowymi płuc [3–7]. Przypuszczalnie zwiększenie stężenia KL-6 w surowicy jest następstwem zwiększonej produkcji KL-6 przez pneumocyty typu II albo zwiększonej przepuszczalności uszkodzonej przez procesy patologiczne bariery pęcherzykowo-naczyniowej. Stężenia KL-6 w surowicy chorych na SWP, alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (AZPP), czy też zmiany śródmiąższowe towarzyszące chorobom tkanki łącznej przekraczają wartości 500 j./ml u większości badanych, w odróżnieniu od zdrowych ochotników

lub osób z zapaleniem płuc, rozedmą czy rozstrzeniami oskrzeli. Najwyższe wartości stężeń KL-6 (1000–5000 j./ml) obserwowano w aktywnych postaciach AZPP, SWP i zmian śródmiąższowych chorób tkanki łącznej [3–6]. Yokoyama i wsp. [6] wykazali przydatność prognostyczną oznaczania KL-6 w surowicy u chorych z zaostrzeniem SWP — u 7 chorych, którzy przeżyli zaostrzenie SWP, zanotowano istotne obniżenie stężeń KL-6 w surowicy po 3 tygodniach intensywnego leczenia glikokortykosteroidami (1000 mg metyloprednizonu przez 3 dni, a następnie 60 mg prednizonu doustnie). Natomiast nie udało się uratować 6 chorych, którzy mimo takiego leczenia po 3 tygodniach wykazywali zwiększone lub stabilne stężenia KL-6 w porównaniu z wartościami wyjściowymi sprzed zaostrzenia. Ostatnio Yokoyama i wsp. [7] zaobserwowali większą wartość prognostyczną KL-6 u 27 chorych na SWP w porównaniu z pojemnością życiową (VC, *vital capacity*), ciśnieniem parcjalnym tlenu we krwi tętniczej (PaO<sub>2</sub>, *partial pressure of arterial oxygen*) czy oznaczeniami stężeń dehydrogenazy mleczanowej (LDH, *lactic dehydrogenase*) w surowicy. Chorzy, u których stężenia KL-6 w surowicy były niższe od 1000 j./ml, przeżyli okres 3-letniej obserwacji. Natomiast stężenia KL-6 wyższe od 1000 j./ml wiązały się z bardzo złym rokowaniem i krótkim okresem przeżycia.

Innymi ważnymi markerami, wykorzystywanymi w monitorowaniu chorych na SWP, są hydrofilowe białka surfaktanta o dużej masie cząsteczkowej — SP-A (*surfactant protein A*) i SP-D (*surfactant protein D*), które oprócz fosfolipidów i białek obojętnych są składnikami płucnego surfaktanta.

Hydrofilowe białka surfaktanta o dużej masie cząsteczkowej (SP-A i SP-D) są wytwarzane przez pneumocyty typu II i ich stężenie w surowicy wzrasta nie tylko w różnych nieswoistych stanach zapalnych pęcherzyków płucnych, ale także u chorych na SWP. Takahashi i wsp. [8] wykazali istotne korelacje pomiędzy stężeniami SP-A i SP-D w surowicy a pogorszeniem czynności płuc u chorych na SWP. I tak pacjenci, u których stężenie SP-D przekraczało wartość 220 ng/ml, wykazywali istotnie większe roczne spadki VC i całkowitej pojemności płuc (TLC, *total lung capacity*) w porównaniu z chorymi, u których zarówno wyjściowe stężenia, jak i te w trakcie obserwacji nie przekroczyły wartości 220 ng/ml. U osób z najbardziej rozległymi zmianami typu mlecznej szyby (*score* > 25%) w obrazie HRCT zaobserwowano istotnie większe stężenia zarówno SP-D, jak i SP-A w porównaniu z chorymi, u których zmiany tego typu są minimalne (*score* < 5%). W przypadku zmian o typie plastra miodu nie stwierdzono znamien-

nych korelacji pomiędzy zaawansowaniem zmian ocenianym w HRCT a stężeniami SP-A i SP-D w surowicy. Stężenia SP-A powyżej 45 ng/ml i SP-D powyżej 110 ng/ml w surowicy u 10 chorych na SWP zwiastowały bardzo złe rokowanie i krótki (< 3 lat) okres przeżycia. Wartości niższe miały korzystne znaczenie prognostyczne. Przyjmując wspomniane powyżej wartości za punkt odcięcia (*cutt of point*) dla stężeń SP-A i SP-D jako czynników prognozujących co najmniej 3-letni okres przeżycia, Takahashi i wsp. [8] określili swoistość tych oznaczeń na co najmniej 94%, natomiast czułości dla SP-A na 79%, a dla SP-D na 85%. Obserwacje Takahashiego i wsp. [8] wydają się potwierdzać badania Greene'a i wsp. [9], którzy, analizując czynniki ryzyka zgonu (HR, *hazard ratio*) wśród 142 chorych na SWP, wykazali jedne z najwyższych wartości HR (1,73 i 2,04) dla oznaczeń stężeń SP-A i SP-D w surowicy, wyższe od wartości HR dla badań czynnościowych płuc, to jest TLC, FVC, DLCO, P(A-a)O<sub>2</sub>. Jedynie obecność nadciśnienia płucnego u chorych na SWP wiązała się z gorszym rokowaniem. Należy jednak podkreślić, że Greene i wsp. [9] w odróżnieniu od Takahashiego i wsp. [8] wskazują na wartości 130 ng/ml dla SP-A i 571 ng/ml dla SP-D związane z najkrótszym okresem przeżycia chorych na SWP.

Oznaczanie SP-A w surowicy i popłuczynach pęcherzykowo-oskrzelowych można także wykorzystać w różnicowaniu SWP, czyli śródmiąższowego zapalenia płuc (UIP, *usual interstitial pneumonia*) z nieswoistym śródmiąższowym zapaleniem płuc (NSIP, *non-specific interstitial pneumonia*) [10].

Porównując swoistość, czułość, dokładność i przydatność jednoczesnego oznaczania KL-6, SP-A, SP-D i chemokiny MCP-1 (*macrophage chemoattractic protein*) u chorych na SWP, Ohnishi i wsp. [11], wykreślając krzywe ROC (*receiver operating characteristic*), dowiedli większej przydatności KL-6 nad wymienionymi 3 pozostałymi markerami. Suga i wsp. [12], a także Car i wsp. [13] wskazali co prawda wcześniej, że zwiększone stężenia MCP-1 w BAL osób z chorobami śródmiąższowymi płuc mogą być przydatne w odróżnieniu SWP od innych śródmiąższowych zapaleń płuc, jednak na stężenie MCP-1, jako nieswoistego markera stanu zapalnego, mogą wpływać leczenie glikokortykosteroidami oraz obecność nieswoistych ognisk zapalnych nie tylko w płucach, ale i innych narządach. Ponadto KL-6 u chorych ze zmianami śródmiąższowymi wydaje się także bardziej przydatnym markerem od takich biomarkerów, jak LDH czy prokolagen III i IV [14].

Praktyczne znaczenie określenia zawartości interleukiny 8 (IL-8, *interleukin 8*) w surowicy,

odpowiedzialnej między innymi za rekrutację neutrofilów do miejsca uszkodzenia pęcherzyka płucnego, próbowali określić Ziegenhagen i wsp. [15] u 42 chorych na SWP. Autorzy stwierdzili 10-krotnie wyższe stężenia IL-8 w surowicy i w BAL chorych na SWP w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami. Zaobserwowali także istotne, dodatnie korelacje między stężeniem IL-8 w surowicy a odsetkiem neutrofilów w BAL oraz ujemne zależności pomiędzy stężeniem IL-8 w surowicy a badaniami czynnościowymi układu oddechowego (DLCO, FVC, TLC, PaO<sub>2</sub>).

W roku 1997 Nakamura i wsp. [16] zwrócili uwagę na potencjalną przydatność oznaczania cytokreatyny 19 (CK-19), polipeptydu należącego do włókien tworzących cytoszkielet komórek jednójadźrzastych, wykazującego ekspresję także w nabłonku dróg oddechowych. Przypuszczali oni, że regenerujący nabłonek u chorych z SWP może być istotnym źródłem CK-19. Nakayama i wsp. [17], wykorzystując komercyjny zestaw CYFRA-21, stosowany dotychczas głównie w monitorowaniu chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca, stwierdzili, że u 30 pacjentów z SWP stężenia CYFRY-21 powyżej 3,5 ng/ml w surowicy wskazują na złe rokowanie i krótki okres przeżycia — poniżej 30 miesięcy.

O zwiększeniu stężeń innego swoistego dla nowotworów antygenu CA19-9 (*cancer associated antigen*) w surowicy chorych na raka gruczołowego płuca, a także u chorych na SWP donosili Satoh i wsp. [18, 19], sugerując przydatność jego oznaczania w monitorowaniu przebiegu SWP. Ostatnio Kodama i wsp. [20] stwierdzili zwiększone powyżej normy stężenia CA19-9 (> 37 j./ml) u blisko 40% chorych na SWP oraz u osób ze zmianami śródmiąższowymi w przebiegu chorób tkanki łącznej, co wiązało się ze złym rokowaniem i krótszym okresem przeżycia w porównaniu z pacjentami, u których stężenia CA19-9 w surowicy były prawidłowe.

Również wykonane ostatnio przez Strietera i wsp. [21] badania kilku hipotetycznych biomarkerów w surowicy i w BAL chorych na SWP leczonych interferonem  $\gamma$  1b wykazały po 6 miesiącach leczenia istotne zmniejszenie stężeń tak zwanych markerów zwłóknienia — elastyny, prokolagenu III, prokolagenu I, płytkowego czynnika wzrostu A (PDGF-A, *platelet derived growth factor A*) i PDGF-B oraz IL-4. Jednak najważniejszą obserwacją było wykazanie istotnego wzrostu zawartości zarówno w BAL, jak i w surowicy chemokiny ITAC (*interferon-inducible T cell-chemoattractant*)/CXCL-11 (*CXC chemokine 11*), która wykazuje aktywność zarówno antyangiogenną, antyinfek-

cyjną, jak i potencjalnie antyfibrogenną. Zdaniem autorów może to sugerować korzystny wpływ interferonu  $\gamma$  1b. Warto jednak zaznaczyć, że wyniki pracy Streitera i wsp. [21] wskazują jedynie panel potencjalnych biomarkerów „przyszłości” i wymagają weryfikacji.

Podsumowując krótki przegląd najważniejszych badań dotyczących roli surowiczych biomarkerów w SWP, należy podkreślić, że pomimo zachęcających wyników żaden z wymienionych markerów nie może pretendować do roli idealnego. Mała liczba zbadanych pacjentów, w różnych stadiach choroby, krótkie okresy obserwacji, różne punkty końcowe cytowanych badań oraz dominująca w badaniach populacja chorych z Japonii nie pozwalają na uogólnienia i jednoznaczne rekomendacje. Wydaje się zatem, że istnieje pilna potrzeba walidacji wymienionych, a być może zupełnie nowych markerów, w prospektywnych i wielośrodkowych badaniach uwzględniających odniesienie stężeń biomarkerów do wyników badań czynnościowych, obrazu radiologicznego oraz czasu do wystąpienia ewentualnego zaostrzenia SWP, a przede wszystkim do czasu przeżycia chorych.

## Piśmiennictwo

1. Tzouveleki A., Koulitasis G., Anevlavis S., Bouros D. Serum biomarkers in interstitial lung diseases. *Respiratory Research* 2005; 6: 78–102.
2. Manolio T. Novel risk markers and clinical practice. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349: 1587–1589.
3. Kohno N., Kyoizumi S., Awaya Y., Fukuhara H., Yamakido M., Akiyama M. New serum indicator of interstitial pneumonitis activity. Sialylated carbohydrate antigen KL-6. *Chest* 1989; 96: 68–73.
4. Hirasawa Y., Kohno N., Yokoama A., Inoue Y., Abe M., Hiwada K. KL-6, a human MUC1 mucin, is chemotactic for human fibroblasts. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1997; 17: 501–507.
5. Kobayashi J., Kitamura S. KL-6: a serum marker for interstitial pneumonia. *Chest* 1995; 108: 311–315.
6. Yokoyama A., Kohno N., Hamada H. i wsp. Circulating KL-6 predicts the outcome of rapidly progressive idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 158: 1680–1684.
7. Yokoyama A., Kondo K., Nakajima M. i wsp. Prognostic value of circulating KL-6 in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology* 2006; 11: 164–168.
8. Takahashi H., Fujishima T., Koba H. i wsp. Serum surfactant proteins A and D as prognostic factors in idiopathic pulmonary fibrosis and their relationship to disease extent. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 162: 1109–1114.
9. Greene K.E., King T.E. Jr, Kuroki Y. i wsp. Serum surfactant proteins-A and D as biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur. Respir. J.* 2002; 19: 439–446.
10. Ishii H., Mukae H., Kadota J. i wsp. High serum concentrations of surfactant protein A in usual interstitial pneumonia compared with non-specific interstitial pneumonia. *Thorax* 2003; 58: 52–57.
11. Ohnishi H., Yokoyama A., Kondo K. Comparative study of KL-6, surfactant protein A, surfactant protein D, and monocyte chemoattractant protein 1 as serum markers for interstitial lung diseases. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 165: 378–381.
12. Suga M., Iyonaga K., Ichiyasu H., Saita N., Yamasaki H., Ando M. Clinical significance of MCP-1 levels in BALF and serum in patients with interstitial lung disease. *Eur. Respir. J.* 1999; 14: 376–382.
13. Car B.D., Meloni F., Luisetti M., Semenzato G., Gialdroni-Grassi G., Walz A. Elevated IL-8 and MCP-1 in the bronchoalveolar lavage fluid of patients with idiopathic fibrosis and pulmonary sarcoidosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994; 149: 655–659.

14. Kohno N., Yokoyama A., Hirasawa Y. i wsp. Comparative studies of circulating KL-6, type III procollagen N-terminal peptide and type IV collagen 7S in patients with interstitial pneumonitis and alveolar pneumonia. *Respir. Med.* 1997; 91: 558–561.
15. Ziegenhagen M.W., Zabel P., Zissel G., Schlaak M., Muller-Quernheim J. Serum level of interleukin-8 is elevated in idiopathic pulmonary fibrosis and indicates disease activity. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 157: 762–768.
16. Nakamura H., Abe S., Shibata Y. i wsp. Elevated levels of cytokeratin 19 in the bronchoalveolar fluid of patients with chronic airway inflammatory diseases — a specific marker for bronchial epithelial injury. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 155, 1217–1221.
17. Nakayama M., Satoh H., Ishikawa H. i wsp. Cytokeratin 19 fragment in patients with non-malignant respiratory diseases. *Chest* 2003; 123: 2001–2006.
18. Satoh H., Kamma H., Ogata T., Yano H., Ohtsuka M., Hasegawa S. Clinical significance of serum levels of carbohydrate antigen, sialyl SSEA-1, in patients with fibrosing lung disease. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991; 144: 1177–1181.
19. Satoh H., Ishikawa H., Yamashita Y.T., Ohtsuka M., Sekizawa K. Serum sialyl Lewis-X antigen in lung adenocarcinoma and idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax* 2002; 57: 263–266.
20. Kodama T., Satoh H., Ishikawa H., Ohtsuka M. Serum levels of CA19-9 in patients with non-malignant respiratory diseases. *J. Clin. Lab. Anal.* 2007; 21: 103–106.
21. Strieter R.M., Starko K.M., Enelow K.I., Noth I., Valentine V.G. Idiopathic Pulmonary Fibrosis Biomarkers Study Group. Effects of interferon-gamma 1b on biomarker expression in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 170: 133–140.