

Markery w raku szyjki macicy

Tumor markers in cervical cancer

Markowska Janina

Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Oznaczenie stężeń markerów nowotworowych w płynach ustrojowych, głównie w osoczu może być pomocne w diagnozowaniu, monitorowaniu leczenia i wczesnym rozpoznawaniu wznów. W raku szyjki macicy zastosowanie ma oznaczanie następujących markerów: SCC-Ag, Cyfra 21-1, CEA, CA 125 i TPS, ich wartość jest zróżnicowana. Markerami biologicznymi raka mogą być również cytokiny: VEGF, IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, leptyna i czynnik komórek zrębu (SDF-1) oznaczane w surowicy krwi lub w tkankach raka, chociaż ustalenie ich wartości wymaga dalszych badań.

Markerami raka szyjki macicy są również pewne białka w niedotlenionych komórkach raka: HIF 1a, CA 9, GLUT 1. Ich nadekspresja związana jest z gorszym rokowaniem.

Słowa kluczowe: **markery nowotworowe biologiczne / antygeny nowotworowe – analiza /
/ antygeny nowotworowe – krew /
/ nowotwory szyjki macicy – diagnostyka /**

Abstract

Measurement of tumor markers level in human body fluids, mainly in serum may be useful for diagnosis, therapy monitoring and early recurrence detection. SCC-Ag, Cyfra 21-1, CEA, CA 125 and TPS are of a clinical value in uterine cervical cancer despite their diverse significance.

Other biological markers that could be measured in serum as well as in tumor tissue are cytokines: VEGF, IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, leptin, stromal drive factor (SDF-1), although assessment of their importance needs further examination. Elevation of uterine cervical cancer hypoxia markers such as HIF 1a, CA 9, GLUT- 1 is combined with poorer clinical outcome prognosis.

Key words: **tantigens neoplasms – analysis / tumor markers biological – analysis /
/ tumor markers bilogical – blood / uterine cervical neoplasms /**

Adres do korespondencji:

Janina Markowska
Klinika Onkologii UM w Poznaniu
Ul. Łąkowa 1/2
61-878 Poznań

Otrzymano: 10.07.2007
Zaakceptowano do druku: 10.08.2007

Wstęp

Postępy badań w biochemii, biologii molekularnej i biotechnologii przyczyniły się do wyjaśnienia wielu mechanizmów komórkowych i molekularnych związanych z powstawaniem, rozwojem, leczeniem i monitorowaniem nowotworów złośliwych.

Diagnostyka biochemiczna i molekularna tych patologicznych rozrostów oparta jest na zdolności komórek nowotworowych do miejscowej syntezy a także uwalniania do krążenia swoistych dla nich substancji zwanych krążącymi markerami nowotworowymi.

Wyniki oznaczeń stężenia niektórych z nich w płynach ustrojowych, głównie w osoczu, mogą być pomocne zarówno w ustaleniu diagnozy jak również zaawansowania procesu nowotworowego, monitorowania przebiegu leczenia i wczesnego wykrywania wznów.

Aby dana substancja spełniała warunki markera nowotworowego, jej stężenie powinno być u wszystkich, lub u przeważającej części chorych na dany typ nowotworu wyższe niż u zdrowych, powinno być wyższe u chorych z zaawansowanym rakiem niż we wczesnych stadiach jego rozwoju, oraz adekwatne do odpowiedzi na stosowane leczenie, tzn. obniżać się w remisji i podwyższać w progresji oraz nawrotach raka.

W raku szyjki macicy zastosowanie ma oznaczanie markerów krążących: głównie SCC-Ag (antygen raka płaskonabłonkowego – *squamous cell carcinoma*) oraz rzadziej Cyfra 21-1, CEA (antygen karcynoembrionalny – *carcinoembryonic antigen*), CA 125 oraz TPS (tkankowy swoisty antygen polipeptydowy – *tissue polypeptide specific antigen*) – chociaż ich przydatność na różnych etapach procesu nowotworowego ma różną wartość; niekiedy niewielką [1, 2].

Rzadko stosowanymi markerami w przebiegu raka szyjki macicy są cytokiny. Obejmują one obecnie ponad kilkaset białek, odgrywających kluczową rolę w reakcjach odpornościowych, reakcjach zapalnych, naprawie uszkodzeń tkankowych i krwiotworzeniu. Cechuje je wysoka aktywność w niskich stężeniach. W warunkach fizjologicznych występują miejscowo lub w płynach ustrojowych; produkowane są przez wiele typów komórek, w tym komórki nowotworowe.

Cytokiny tworzą sieć wzajemnych zależności i oddziałują plejotropowo. Oznaczać je można metodą immunohistochemiczną lub z użyciem metod molekularnych – w tkance raka i w płynach ustrojowych. Spełniają między innymi funkcję przekaźników sygnałów między komórkami w procesach ich rozplemu, apoptozy i różnicowania się.

Należą tu: VEGF – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular endothelial growth factor*), IL-6, IL-8, IL-4, IL-10 oraz leptyna [3, 4, 5].

Interesujące wydaje się także oznaczanie innej cytokiny: SDF-1 – czynnik komórek zrębu (*stromal derived factor*) i jej receptora – CXCR4 w raku gruczołowym szyjki macicy [6].

W ostatnich latach stwierdzono również, że markerami w przebiegu raka szyjki macicy mogą być białka niedotlenionej komórki raka badane zwykle metodą immunohistochemiczną lub przy użyciu metody PCR w tkankach nowotworu [7, 8]:

- czynnik indukowany niedotlenieniem (HIF-1 α – *hypoxia inducible factor α*),

- anhidraza węglanowa 9 (CA 9 – *carboanhydrase 9*),
- transporter glukozy 1 (GLUT 1 – *glucose transportet 1*).

1. Markery krążące w raku szyjki macicy

• Antygen raka płaskonabłonkowego (SCC-Ag)

Należy do rodziny proteaz serynowych; jest jedną z frakcji antygenów towarzyszących nowotworom. Antygen ten uwalniany jest z komórek raka do krążenia – jego norma w surowicy krwi wynosi u kobiet zdrowych 1,5-2,0ng/ml. Okres połowicznego rozpadu wynosi 20 minut [9, 10].

Podwyższone stężenie tego markera stwierdza się u łuszczyca, u chorych na płaskonabłonkowego raka płuca, oraz płaskonabłonkowe nowotwory głowy i szyi [11].

SCC-Ag uznawany jest za marker z wyboru dla raka szyjki macicy; u 20-70% chorych stwierdza się jego podwyższone stężenie. Stężenie markera zależy od stopnia zróżnicowania raka i zaawansowania procesu chorobowego. W I0 klinicznego zaawansowania jego stężenie podwyższone jest u około 30% chorych, w III u około 70%, a w IV nawet u ponad 88% chorych. Częstość podwyższonych stężeń jest wyższa w przypadku przerzutów do węzłów chłonnych, w głębokim naciekaniu naczyń krwionośnych i podścieliska [10, 12].

Po radykalnym chirurgicznym usunięciu nowotworu stężenie markera powinno wrócić do normy; podwyższone stężenie świadczy o pozostawieniu resztek raka [13]. Uważa się, że wyjściowe stężenie markera >10ng/ml związane jest z niższym odsetkiem 5-letniego przeżycia chorych kobiet [10, 14]. Podobnych danych dostarczają inni autorzy na podstawie 5 i 10-letniej obserwacji kobiet chorych na raka szyjki macicy [15].

Ponadto wzrost SCC w monitorowaniu świadczyć ma o nawrocie choroby, chociaż nawroty stwierdza się także bez podniesienia stężenia tego markera. W przypadku nieoperacyjnego raka szyjki macicy poddanego leczeniu przy użyciu radioterapii normalizacja stężenia SCC występuje wolniej niż po operacji [10, 17]. W badaniach Adamek i wsp. [16] badanie dwóch markerów – SCC i CA 19-9 wykazuje przydatność w diagnozowaniu mikroprzerzutów zarówno raka płaskonabłonkowego i gruczołowego szyjki macicy.

• Cyfra 21-1.

Jest to fragment cytokeratyny 19. Norma dla ludzi zdrowych nie przekracza 2,5ng/ml; podwyższone stężenie tego markera stwierdza się u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca, nowotwory głowy i szyi oraz u 35-70% chorych na raka szyjki macicy. Uważa się, że marker ten posiada wartość prognostyczną w raku szyjki macicy, jednak nie jest bardziej użyteczny w monitorowaniu choroby niż SCC [17, 18].

• Antygen karcynoembrionalny (CEA).

Norma u ludzi zdrowych, niepalących tytoniu wynosi poniżej 5,0ng/ml; u 15% palaczy podwyższony jest do 10ng/ml. Półokres biologicznego rozpadu wynosi 2-8 dni. Podwyższone stężenie stwierdza się w rakach jelita grubego i w marskości wątroby. W raku szyjki macicy podwyższone stężenie stwierdza się u 27-80% chorych; częściej w raku gruczołowym niż płaskonabłonkowym. Użyteczność oznaczeń tego markera związana jest z wykrywaniem wznowy raka szyjki macicy oraz przerzutów do wątroby i płuc [19].

Markery w raku szyjki macicy.

• **Antygen nowotworowy CA 125.**

Chociaż podwyższone stężenie tego markera związane jest z wieloma nowotworami złośliwymi, to głównie użyteczny jest w rozpoznawaniu i monitorowaniu raka jajnika. Wartość odcinająca wynosi 35U/ml. Niekiedy wymienia się 65U/ml.

U 22% chorych na raka szyjki macicy stężenie CA 125 jest podwyższone. Uważa się, że w przypadku przerzutów do węzłów chłonnych stężenie markera jest podwyższone a wartość wyjściowa markera ma wartość prognostyczną co do przeżycia. Zaleca się oznaczać ten marker łącznie z SCC-Ag [12, 17].

• **Swoisty polipeptydowy antygen tkankowy – TPS.**

Jest częścią TPA (tkankowego antygeny polipeptydowego). U ludzi zdrowych stężenie antygeny nie przekracza 100U/l. Podwyższone jego stężenie obserwuje się w nowotworach złośliwych o różnych lokalizacjach, ale jego czułość jest niższa od SCC-Ag [17]. Zaleca się równoczesne oznaczanie TPS i SCC w ocenie skuteczności leczenia raka, zwłaszcza z użyciem napromieniania – wyniki badań tego markera cechują znaczne rozbieżności [2].

2. Cytokiny

Wzajemne oddziaływanie komórek nowotworowych ze śródbłokami naczyniowymi oraz zdolność modulowania adhezji leukocytów do komórek endotelium regulują cytokiny. Wykazano, że źródłem IL-6 i IL-8, które są stymulatorami angiogenezy są nie tylko fibroblasty, makrofagi i komórki śródbłoków naczyń, ale również komórki nowotworowe.

Ponadto ekspresja IL-8 koreluje ze zdolnością do tworzenia przerzutów. Innymi cytokinami biorącymi udział w procesach nowotworowych są IL-4 i IL-10, będące cytokinami immunosupresyjnymi, których źródłem są populacje komórek T helper Typu 2 (Th2) oraz Th3 [20, 21].

• **VEGF naczyniowo-śródbłokowy czynnik wzrostu** ma silne działanie angiogenne i mitogenne na śródbłoki naczyń powodując w ten sposób rozrost guza i wzmacniając potencjał przerzutowy. Pobudzany jest przez czynniki związane z niedotlenieniem guza. Według Michalskiego i wsp. [22] do rozwoju angiogenezy w raku szyjki macicy przyczynia się głównie izoforma krótsza VEGF121.

• Podobnie działają **interleukiny 6 i 8** – oznaczane w surowicy krwi, ale również immunohistochemicznie w tkance raka. [3, 7, 23]. W badaniach porównawczych stanów przedrakowych i raka szyjki macicy wykazano, że głównie IL-4 i IL-10 związane są z rozwojem CIN III i raka inwazyjnego [21].

• **Leptyna** – wydzielana jest przez adipocyty białej tkanki tłuszczowej; jest multipotencjalną cytokiną o działaniu proangiogennym i prozapalnym. Poprzez wiązanie ze swoistymi receptorami i aktywację systemu JAK-STAT (*just activator of transcription*) oraz MAPK (*mitogen – activated protein kinase*) aktywuje kinazy i ich działalność fosforylującą i w następstwie uruchamia szlaki mitogenne i angiogenne. Oznaczać ją można metodą RT-PCR w tkance raka lub jej stężenie w surowicy krwi. Uważa się, że ma związek z rozwojem wielu raków, w tym raka szyjki macicy [3, 24].

• **Czynnik komórek zrębu – SDF-1** (*stromal derived factor 1*, SDF-1, ligand chemokinowy CXC-12) SDF-1 działa poprzez swój receptor CXCR4. Jak wykazano, kompleks SDF CXCR4 odgrywa kluczową rolę w przerzutowaniu wielu raków w tym raka szyjki macicy. Oznacza się go immunohistochemicznie w tkance pochodzącej z raka (biopsja lub przerzutowo zmienionych węzłów chłonnych).

Uważa się, że kompleks ten może być biologicznym markerem dla raka gruczołowego szyjki macicy, zwłaszcza podwyższona ekspresja świadczy o istnieniu przerzutów do węzłów chłonnych [6, 25].

3. Markery niedotlenienia komórek raka szyjki macicy.

Wykazano, że niedotlenienie komórek w obrębie guza wpływa ujemnie na wynik stosowanej radioterapii i chemioterapii w raku szyjki macicy [7, 26, 27].

Niedotlenienie w obrębie raka powoduje bezpośrednią oporność na leczenie napromienianiem lub cytostatykami z powodu braku dostępu tlenu i następnie możliwości utrwalenia szkód w DNA. Poza tym niedotlenienie stymuluje wzrost stężenia VEGF – promotora angiogenezy. Mechanizmy te doprowadzają do selekcji komórek guza o bardzo agresywnym fenotypie [7, 28].

Jeśli:

- czynnik HIF 1 α (*hypoxia inducible factor 1 α*),
- CA 9 (*carboanhydrase 9*),
- GLUT 1 (*glucose transporter 1*)

wykazują wzmózoną ekspresję w komórkach raka szyjki macicy to związane jest to z gorszym 3- i 5-letnim przeżyciem a ponadto wzmózona ekspresja koreluje z istnieniem przerzutów do węzłów chłonnych. Uważa się, że zwłaszcza GLUT1 – białko błonowe transportujące cukier zwiększa pobór glukozy przez komórki nowotworowe i ułatwia ich przeżywalność przyczyniając się do szybszego wzrostu raka [8].

CA 9 występuje w tkankach zdrowych np. w pęcherzyku żółciowym, śluzówce żołądka i jelit, ale zwiększona ekspresja związana jest głównie z martwicą komórek raka spowodowanych niedotlenieniem [27].

Sugeruje się głównie rolę HIF-1 a jako biologicznego markera niedotlenienia w raku szyjki macicy [18].

Oznaczanie czynników niedotlenienia wykonuje się z biopsji raka szyjki macicy lub z materiału operacyjnego metodami immunohistochemicznymi.

Stwierdzenie nadmiernej ekspresji markerów niedotlenienia może sugerować agresywniejsze leczenie raków szyjki macicy – leczenie cytostatykami poza leczeniem energią promienistą. Może być to o tyle użyteczne, że do radioterapii można dodać leczenie chemiczne, lub zmodyfikować dawkę napromieniania.

Markowska J.

Piśmiennictwo

1. Duk J, de Bruijn H, Groenier K, [et al.]. Cancer of the uterine cervix: sensitivity and specificity of serum squamous cell carcinoma antigen determinations. *Gynecol Oncol.* 1990, 39, 186-194.
2. Zakrzewska J. Antygeny TPS i SCC w diagnostyce i monitorowaniu leczenia chorych na raka szyjki macicy. *Ginekol Pol.* 2001, 72, 854-861.
3. Kamińska J, Markowska A. Rola cytokin w nowotworach narządów płciowych kobiety. W: *Ginekologia onkologiczna*. Pod red. Markowska J. Wyd. 2. T.1. Wrocław: *Wydaw. Med. Urban&Partner*, 2006, 129-141.
4. Bachtary B, Selzer E, Knocke T, [et al.]. Serum VEGF levels in patients undergoing primary radiotherapy for cervical cancer: impact on progression-free survival. *Cancer Lett.* 2001, 179, 197-203.
5. Lebrecht A, Ludwig E, Huber A, [et al.]. Serum vascular endothelial growth factor and serum leptin in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2002, 85, 32-35.
6. Yang Y, Lee Z, Wu C, [et al.]. CXCR4 expression is associated with pelvic lymph node metastasis in cervical adenocarcinoma. *Int J Gynecol Cancer.* 2007, 17, 676-686.
7. Vordermark D, Brown J. Endogenous markers of tumor hypoxia. *Strahlenther Oncol.* 2003, 179, 801-811.
8. Laudański P, Świątecka J, Oksana J, [i wsp.]. Ekspresja genu transportera glukozy GLUT-1 w liniach komórkowych raka sutka MCF-7 i MDA-MB-23. *Ginekol Pol.* 2003, Suppl. 1, 86.
9. Kato H, Torigoe T. Radioimmunoassay for tumor antigen of human cervical squamous cell carcinoma. *Cancer.* 1977, 40, 1621-1626.
10. Kornafel J. Antygen raka płaskonabłonkowego (SCC) w nowotworach narządów płciowych kobiet. *Nowotwory.* 1994, 44, 44-51.
11. Molina R, Filella X, Torres M, [et al.]. SCC antigen measured in malignant and non-malignant diseases. *Clin Chem.* 1990, 36, 251-254.
12. Massuger L, Koper N, Thomas C, [et al.]. Improvement of clinical staging in cervical cancer with serum squamous cell carcinoma antigen and CA 125 determinations. *Gynecol Oncol.* 1997, 64, 473-476.
13. Meier E, Eiermann W, Stieber P, [et al.]. Erfahrungen mit SCC-Antigen, einem neuen Tumormarker für Karzinome der Cervix uteri. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 1989, 49, 625-629.
14. Bolli J, Doering D, Bosscher J, [et al.]. Squamous cell carcinoma antigen: clinical utility in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol.* 1994, 55, 169-173.
15. Stępień M, Kornafel J. Antygen raka płaskonabłonkowego (SCC) w diagnostyce i monitorowaniu leczenia chorych na raka szyjki macicy. *Współ. Onkol.* 2006, 10, 316-320.
16. Adamek K, Basta A, Dziobek K, [i wsp.]. Znaczenie prognostyczne i ocena obecności komórek nowotworowych poza ogniskiem pierwotnym w raku gruczołowym i płaskonabłonkowym szyjki macicy. *Ginekol Pol.* 2003, Suppl. 1, 2.
17. Kulpa J, Markowska J, Kędzia W. Markery nowotworowe w diagnozowaniu i monitorowaniu raka szyjki macicy. W: *Ginekologia onkologiczna*. Pod red. Markowska J. Wyd. 2. T.1. Wrocław: *Wydaw. Med. Urban&Partner*, 2006, 545-552.
18. Bonfrer J, Gaarenstroom K, Korse C, [et al.]. Cyfra 21-1 in monitoring cervical cancer: a comparison with tissue polypeptide antigen and squamous cell carcinoma antigen. *Anticancer Res.* 1997, 17, 2329-2334.
19. Van Nagell J, Donaldson E, Gay E, [et al.]. Carcinoembryonic antigen in carcinoma of the uterine cervix. 1. The prognostic value of serial plasma determination. *Cancer.* 1978, 42, 2428-2434.
20. Chechlińska M. Cytokiny w płynach otrzewnowych u chorych na łagodnie i złośliwie nowotwory jajnika. *Rozprawa doktorska*. Warszawa 2003.
21. Sharma A, Rajappa M, Saxen A, [et al.]. Cytokine profile in Indian women with cervical intraepithelial neoplasia and cancer cervix. *Int J Gynecol Cancer.* 2007, 17, 879-885.
22. Michalski B, Mazurek U, Fila A, [i wsp.]. Korelacja aktywności transkrypcyjnej genów angiogenezy – VEGF i jego receptora FLT-1 i FLK-1 w zmianach śródłonkowych dużego stopnia (HSIL) szyjki macicy. *Ginekol Pol.* 2003, Suppl. 1, 115.
23. Scappaticci F. Mechanisms and future directions for angiogenesis-based cancer therapies. *J Clin Oncol.* 2002, 20, 3906-3927.
24. Markowska A. Rola leptyny w patofizjologii macicy. Poznań: *Wydawnictwo Naukowe UAM*, 2006.
25. Kucia M, Jankowski K, Reza R, [et al.]. CXCR4-SDF 1 signalling, locomotion, chemotaxis and adhesion. *J Mol Histol.* 2004, 35, 233-245.
26. Fyles A, Milosevic H, Hedley D, [et al.]. Tumor hypoxia has independent predictor impact only in patients with node-negative cervix cancer. *J Clin Oncol.* 2002, 20, 680-687.
27. HÇeckel M, Schlenger K, Aral B, [et al.]. Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix. *Cancer Res.* 1996, 56, 4509-4515.
28. Haugland H, Vukovic V, Pintilie M, [et al.]. Expression of hypoxia – inducible factor 1-alpha in cervical carcinomas: correlation with tumor oxygenation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2002, 53, 854-861.