

ISSN 0394 3291

# Caleidoscopio

*Italiano*



**Luca Giovanella**  
**Luca Ceriani**  
**Giuseppina Roncari**

## **Antigene polipeptidico tissutale specifico (TPS)**



**105**

Direttore Responsabile  
**Sergio Rassu**

 **MEDICAL SYSTEMS SpA**

---

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401  
Stampato a Genova 1996

*L. Giovannella, L. Ceriani,  
G. Roncari*

*Antigene polipeptidico tissutale specifico (TPS)*

# Caleidoscopio

*Italiano*



**Luca Giovanella**  
**Luca Ceriani**  
**Giuseppina Roncari**

*Laboratorio Radioimmunologia - Centro di Medicina Nucleare - Azienda Ospedaliera "Ospedale di Circolo e Fondazione E. ed S. Macchi" - II Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università di Pavia - Sede di Varese*



## **Antigene polipeptidico tissutale specifico (TPS)**



**105**

Direttore Responsabile  
**Sergio Rassu**

 **MEDICAL SYSTEMS SpA**

---

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401  
Stampato a Genova 1996

## ISTRUZIONI PER GLI AUTORI



**INFORMAZIONI GENERALI** *Caleidoscopio* pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall'*International Committee of Medical Journal Editors*. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente Autori, redatte secondo le regole della Collana.

**TESTO.** La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi ed allo stesso tempo chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare solo proprie personali opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 100 cartelle dattiloscritte. Si prega di dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

**FRONTESPIZIO.** Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso e informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono e fax) responsabile della corrispondenza.

**BIBLIOGRAFIA.** Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'Index Medicus e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. A preliminary report. *J. Natl. Med. Allied. Sci* 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2) Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): *The Endocrine Hypothalamus*. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi. La Redazione è collegata on-line con le più importanti Banche Dati (Medline, Cancerlit, AIDS etc) e fornisce eventuale assistenza agli Autori.

**TABELLE E FIGURE.** Si consiglia una ricca documentazione iconografica esplicativa (in bianco e nero eccetto in particolari da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure devono essere realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, quando pubblicati, risultino leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro ed in particolare dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse.

Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

**UNITÀ DI MISURA.** Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o i loro multipli e nei termini dell'International system of units (SI).

**ABBREVIAZIONI.** Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

**PRESENTAZIONE DELLA MONOGRAFIA.** Riporre le fotografie e le diapositive in busta separata, una copia del testo e i grafici archiviati su un dischetto da 3.5 pollici preferibilmente Macintosh, se MS-DOS il testo dovrà essere in formato RTF ed i grafici in formato PC.TIF o PC.Paintbrush.

Il dattiloscritto originale, le figure, le tabelle, il dischetto, posti in busta di carta pesante, devono essere spediti al Direttore Responsabile con una lettera di accompagnamento. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro deve essere tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e consegnerà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Me Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia.

L'Autore della monografia cede i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera alla *Rivista Caleidoscopio* con diritto di stampare, pubblicare, dare licenza a tradurre in altre lingue in Nazioni diverse rinunciando ai diritti d'Autore.

Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al Direttore Responsabile al seguente indirizzo:

*Dott. Sergio Rassu*  
*Via Pietro Nenni, 6*  
*07100 Sassari*

## Editoriale

I ricercatori hanno dimostrato sinora oltre venti citocheratine nei tessuti umani ed hanno sviluppato numerosi anticorpi, caratterizzati da diversa specificità, che reagiscono con le keratine K8, K18, K19. La combinazione di questi anticorpi ha portato alla messa a punto di dosaggi immunologici che vengono oggi utilizzati in tutti i laboratori.

Il dosaggio del TPA (tissue polypeptide antigen) si basa sul riconoscimento delle citocheratine K8, K18 e K19 mentre il dosaggio del tissue polypeptide specific antigen (TPS) è un test per la determinazione di un'epitopo specifico del TPA (epitopo M3) e sembra che identifichi la K18.

Il TPS, a differenza degli altri marcatori tumorali, è espressione dell'attività delle cellule tumorali e la sua determinazione trova applicazione in numerosi campi dell'oncologia.

In ginecologia, ad esempio, i livelli sierici pre-trattamento sono stati dimostrati altamente correlati con lo stadio del cancro cervicale a cellule squamose, le sue dimensioni, l'estensione extra-cervicale e la prognosi. Inoltre il TPS, specialmente con valori bassi di CA 125 aumenta la sensibilità della supervisione delle pazienti con un carcinoma ovarico.

Si è dimostrato inoltre estremamente utile, per l'elevato valore predittivo, riguardo alla sopravvivenza di pazienti con carcinoma della mammella.

Altre patologie dove è stato studiato comprendono il carcinoma del polmone ed il carcinoma della prostata dove, al momento della progressione mostra una chiara correlazione con il corso della malattia caratterizzata da un progressivo aumento dei valori plasmatici. Ancora, il TPS ha dimostrato una sensibilità molto elevata nella individuazione del carcinoma gastrico ed una buona sensibilità nel carcinoma del colon. L'argomento merita quindi un aggiornamento ed una revisione che è stata fatta, in questa monografia dal gruppo del dottor Giovanella anche perché l'applicazione clinica corretta dei marcatori tumorali può permettere di evitare in alcune casi, delle procedure più invasive e sicuramente più costose e quindi contribuire ad un miglior trattamento del paziente oncologico.

Il dottor Luca Giovanella, medico-chirurgo, specialista in Medicina Nucleare, si è formato presso la Cattedra di Medicina Nucleare dell'Università di Milano, diretta dal Prof. Gian Luigi Tarolo.

E' attualmente Responsabile del Laboratorio di Radioimmunologia presso il Centro di Medicina Nucleare dell'Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi di Varese.

*L. Giovannella, L. Ceriani,  
G. Roncari*

*Antigene polipeptidico tissutale specifico (TPS)*

Autore di numerosi lavori scientifici e comunicazioni pubblicate su riviste scientifiche internazionali e nazionali, svolge attività di applicazione clinica, studio e ricerca sui biomarcatori presso l'Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi di Varese.

Il dottor Luca Ceriani, medico-chirurgo, specialista in Medicina Nucleare, è aiuto Corresponsabile del Centro di Medicina Nucleare dell'Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi di Varese.

Autore di numerosi lavori scientifici editi su riviste nazionali ed internazionali, è Tutor in Medicina Nucleare presso l'Università degli Studi di Milano. Svolge attività di ricerca in campo oncologico e cardiologico nucleare.

La Prof.ssa Giuseppina Roncari, medico-chirurgo, specialista in Medicina Nucleare, appartiene allo storico gruppo del Prof. Aldo Perussia fondatore, negli anni '60 della Scuola Milanese di Medicina Nucleare e del Centro Ricerche in Medicina Nucleare (CURAMN) presso l'Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi di Varese. Dal 1978 è Primario Ospedaliero del Servizio di Medicina Nucleare dello stesso Ospedale e docente di Medicina Nucleare presso l'Università di Pavia - Sede di Varese.

**Sergio Rassu**

## Introduzione

Il primo studio in cui venne proposta la misurazione di un parametro biochimico come indicatore di tumore risale ad oltre 50 anni fa e riguarda la fosfatasi acida nel carcinoma prostatico.

Solo negli anni '60, tuttavia, con l'identificazione dell'antigene carcinoembrionario (CEA) e dell'alfafetoproteina (AFP) i biomarcatori hanno iniziato quel processo di diffusione che li ha portati ad una estesa utilizzazione nella ricerca biomedica come nella pratica clinica oncologica.

Una imponente massa di dati ha conferito una crescente importanza alle tecniche analitiche in grado di misurare, nel sangue ed in altri liquidi biologici, le alterazioni indotte da neoplasie maligne. D'altro canto studi controllati ed esperienza clinica hanno contribuito alla critica delle ipotesi iniziali sui biomarcatori ed alla contemporanea ridefinizione del concetto stesso, biochimico e fisiopatologico, di indicatore tumorale e del corretto impiego clinico di queste molecole.

### **Marcatori tumorali circolanti: definizione e criteri di utilizzo**

In termini teorici un marcatore tumorale ottimale potrebbe essere definito come il prodotto specifico di cellule tumorali o in via di trasformazione cancerogena non riscontrabile nell'organismo di soggetti sani o affetti da patologie non neoplastiche (1).

In tale situazione il marcatore potrebbe, con ampia affidabilità (legata anche alla sensibilità dei metodi analitici), costituire un ausilio sufficiente per:

- diagnosi precoce di neoplasia e/o di forme precancerose
- diagnosi differenziale
- valutazione radicalità ed efficacia delle terapie oncologiche
- riscontro precoce delle recidive

La realtà clinica ci offre tuttavia un quadro significativamente differente dalle premesse teoriche poiché non è disponibile alcun marcatore tumore-specifico in senso assoluto.

I biomarcatori utilizzati sono infatti sostanze già presenti nell'organismo in condizioni di normalità e di patologia non oncologica, peraltro con ampie fluttuazioni, la cui presenza nei liquidi biologici presenta modificazioni quantitative sensibili in presenza di determinate neoplasie (2).

Pertanto la presunta tumore-specificità si fonda, di fatto, solo su una modulazione differenziale del biomarcatore in presenza o assenza di neoplasia: la presenza in circolo di una quota dell'indicatore prodotto dai compartimenti extra-neoplastici crea inoltre un rumore di fondo che diminuisce la sensibilità del biomarcatore (3).

Infine, escludendo alcuni casi specifici rappresentati dall'antigene prostatico specifico (PSA) per il tessuto prostatico, l'enolasi neurono specifica (NSE) per i tessuti di derivazione neuroendocrina, la calcitonina (CT) per le cellule C parafollicolari tiroidee e poche altre molecole, l'assenza di organo-specificità non permette una assoluta associazione fra elevazione dei marcatori e definizione di una sede anatomica di origine della neoplasia (4).

Sulla base di queste premesse si articolano gli attuali orientamenti sulla classificazione e sull'impiego clinico dei biomarcatori che verranno sinteticamente illustrati nei paragrafi successivi.

### **Classificazione dei biomarcatori**

La classe degli indicatori tumorali è costituita da molecole eterogenee dal punto di vista biochimico e strutturale: una classificazione basata su questi presupposti è quindi poco utile da un punto di vista operativo.

Riteniamo più indicato fornire una classificazione operativa nella quale i marcatori sono riuniti per prerogative, e conseguenti applicazioni cliniche, comuni.



## Marcatori onco-fetali

Sono rappresentati dall'antigene carcinoembrionario (CEA) e dall'alfafetoproteina (AFP), la cui produzione è normalmente limitata al periodo embriofetale ed è di pertinenza dei tessuti di derivazione endodermica. Recenti acquisizioni biomolecolari hanno permesso di iscrivere il CEA nella superfamiglia delle immunoglobuline: il suo ruolo si esplica principalmente nella regolazione dei fenomeni di adesività cellulare ma partecipa anche ai processi differenziativi ed al mantenimento dell'omeostasi cellulare (5).

Elevati livelli di CEA sono dimostrati soprattutto in pazienti affetti da carcinoma del colon ma anche in patologie oncologiche di altri distretti (polmone, mammella, apparato uro-genitale, tratto gastro-enterico e ghiandole annesse ...) (6, 7, 8).

L'AFP è una glicoproteina normalmente sintetizzata dal fegato, dal sacco vitellino e dall'epitelio intestinale durante la vita fetale. Le neoplasie di cui l'AFP può essere considerata un marcatore sono tumori di derivazione epatocitaria, dagli elementi del sacco vitellino ed i teratocarcinomi (9, 10).

## Marcatori tessuto-specifici

Comprendono un eterogeneo gruppo di molecole accomunate da una produzione tessuto specifica che consente in ogni caso di risalire alla fonte di produzione.

La differenziazione tra tessuto normale, iperplastico o neoplastico è anche in questo caso di tipo quantitativo tuttavia livelli elevati di questi marcatori consentono di indirizzare gli accertamenti clinici su organi bersaglio specifici (11).

Inoltre, poiché la concentrazione di questi marcatori è riferibile alla attività metabolica o proliferativa di un solo tipo tissutale questi marcatori si prestano perfettamente al monitoraggio successivo a terapie chirurgiche o radiochemioterapiche radicali: in questo caso i marcatori tessuto-specifici sono indosabili ed un loro incremento può essere riferito solo ad una ripresa della malattia (12).

Si riporta di seguito una schema dei principali marcatori tessuto-specifici e delle loro applicazioni cliniche:

**beta-HCG:** coriocarcinoma, tumori germinali del testicolo (13)

**Calcitonina:** carcinoma midollare della tiroide (14)

**NSE:** microcitoma polmonare, neuroblastoma (15, 16)

**PSA:** carcinoma della prostata (17)

## **Marcatori mucinici**

La famiglia delle mucine comprende un rilevante numero di molecole glicoproteiche ad elevato peso molecolare, con prevalente contenuto in carboidrati prodotte quali normali componenti delle secrezioni ghiandolari di tipo mucinoso (18).

Solo una piccolissima quantità di mucine passa in circolo nei soggetti normali mentre i processi di trasformazione neoplastica, favorendo la perdita della polarità secretoria delle cellule mucipare, determinano il passaggio in circolo di quote rilevanti di queste sostanze che per questo motivo vengono utilizzate quali indicatori biochimici di tumore (CA 125, CA 15.3, CA 19.9, MCA, CA 549 ...) (19, 20, 21).

Numerosi studi realizzati utilizzando reagenti monoclonali hanno permesso di dimostrare come, anche se alcuni epitopi mucinici sono associati in senso preferenziale ad alcuni istotipi tumorali epiteliali, la presenza di tali epitopi è dimostrabile anche in altri tipi tumorali: pertanto questi marcatori non possono essere considerati specifici ma piuttosto ad espressione "preferenziale" da parte di alcune neoplasie (22).

E' evidente quindi che il loro utilizzo non è prevedibile in fase di diagnosi o, a maggior ragione, di screening: tuttavia essendo la produzione dell'indicatore funzione del numero di cellule tumorali ovvero della massa tumorale, le mucine trovano indicazione nella stadiazione e, soprattutto nel follow up di pazienti con neoplasie epiteliali, utilizzando per ciascun istotipo il marcatore ad espressione preferenziale (es. CA 125 nel carcinoma ovarico).

## **Marcatori citocheratinici**

### **Biochimica e fisiologia delle citocheratine**

Le citocheratine costituiscono una famiglia di proteine classificata tra i cosiddetti filamenti intermedi, così denominati in rapporto alla loro dimensione che si colloca tra quella dei microtubuli e dei microfilamenti, insieme ai quali costituiscono il citoscheletro, implicato non solo in funzioni strutturali ma anche in una serie di fenomeni dinamici di vitale importanza per l'omeostasi cellulare quali la divisione, la secrezione, l'adesione, la fagocitosi e la crescita cellulare (23).

I filamenti intermedi sono costituiti da subunità proteiche organizzate secondo una struttura ad alfa-elica: ciascuna di esse contiene un dominio

centrale che forma una rigida struttura spiraliforme quando la molecola dimerizza. Le varie strutture dimeriche si associano a formare i filamenti intermedi che, oltre alle citocheratine, comprendono i neurofilamenti, i filamenti gliali acidi degli astrociti e delle cellule di Schwann, i filamenti di desmina e di vimentina (24).

Dall'analisi della struttura secondaria emerge come le differenze dimensionali e funzionali dei filamenti intermedi risiedano nella variabilità dei due domini terminali (25).

I filamenti cheratinici epiteliali costituiscono una famiglia di proteine similari per struttura ed altamente conservate filogeneticamente: i vari membri di questa famiglia posseggono simili caratteristiche biochimiche ed immunologiche e possono essere suddivise in due sottotipi principali:

- tipo I: PM variabile da 40 kD a 56.5 kD, acide
- tipo II: PM variabile da 53 kD a 67 kD, basico-neutre

che formano eteropolimeri composti da una citocheratina di tipo I ed una di tipo II, in rapporto molare pari a 1:1.

I filamenti di citocheratine sono costituiti da polipeptidi differenti, simili all'alfa-cheratina dell'epidermide ma non identici. Queste citocheratine sono espresse in varia combinazione nei diversi epiteli: in base alla migrazione di questi polipeptidi nella gel-elettroforesi bidimensionale su preparati di citoscheletro, è possibile riconoscere diversi sottogruppi: polipeptidi relativamente grandi e lievemente basici tipici di molti epiteli stratificati (citocheratine 1-6); polipeptidi di dimensioni e carica intermedie (citocheratine 7-8) presenti in differenti epiteli semplici quali l'epitelio respiratorio e quello transizionale delle vie urinarie, in alcune ghiandole composte e nelle cellule HeLa; polipeptidi di dimensioni intermedie o relativamente grandi ed acidi (citocheratine 9-11) presenti a livello epidermico; polipeptide presente nella cornea umana (citocheratina 12); polipeptide componente di epiteli squamosi stratificati non corneificati (citocheratina 13); polipeptidi epidermici di piccole dimensioni, acidi (citocheratine 14-17); polipeptide con distribuzione simile a quella della citocheratina 8 (citocheratina 18); polipeptide presente in una grande varietà di tessuti epiteliali (citocheratina 19) (26).

La caratteristica distribuzione delle citocheratine nei diversi tipi di tessuti epiteliali ne rende possibile la distinzione e la classificazione in base al contenuto citocheratinico cellulare anche se dev'essere tenuta presente la notevole eterogeneità cellulare epiteliale: nel caso della pelle, ad esempio, coesistono 7 differenti tipi cellulari (27).

L'analisi biochimica del citoscheletro di carcinomi umani mostra una differente rappresentazione di citocheratine in relazione alla diversa derivazione epiteliale, che rimane costante sia nel tumore primario che nel tessuto metastatico.

I tumori epiteliali inoltre esprimono molte delle citocheratine peculiari del tipo cellulare non trasformato ed il fatto che alcune citocheratine non siano espresse potrebbe riflettere un meccanismo di selezione di un particolare tipo cellulare rispetto a quelli presenti nel tessuto di derivazione.

Le citocheratine più frequentemente rilevate nei carcinomi sono la 8, 18 e 19 che possono essere ritrovate sia nel tessuto tumorale che nel sangue, dove sono presenti come complessi molecolari parzialmente degradati, in quanto i fenomeni di proliferazione e necrosi tumorale sono in grado di liberare frammenti citoscheletrici negli spazi extracellulari: ciò costituisce il razionale per l'utilizzo delle citocheratine come marcatori tumorali circolanti.

### **Antigene Polipeptidico Tissutale**

L'Antigene Polipeptidico Tissutale (TPA) è stato descritto per la prima volta da Bjorklund e Bjorklund nel 1957 come un principio antigenico proteico isolato da carcinomi umani (28).

Solo negli anni '80 è stato approntato un metodo immunoradiometrico per il dosaggio del TPA che utilizzava un anticorpo policlonale contro l'antigene. L'impiego clinico di questo analita ha permesso di evidenziare elevati livelli di TPA circolante in pazienti con diverse neoplasie di derivazione epiteliale (29). Inoltre il TPA può essere dosato anche in altri liquidi biologici (urine, versamenti, liquidi di lavaggio) e questo tipo di determinazioni ha assunto a volte una rilevante importanza clinica, come nel caso del dosaggio del TPA urinario nel carcinoma della vescica (30).

L'esperienza clinica ha anche dimostrato la possibilità di innalzamento del TPA in situazioni non neoplastiche quali epatiti, cirrosi, colestasi, processi flogistici ed infettivi caratterizzati da fenomeni di citolisi con conseguente frammentazione e liberazione di parti del citoscheletro (31).

Indagini immunoistochimiche hanno dimostrato che il TPA non è specifico solo per i tessuti di natura maligna, ma è anche un normale costituente di epiteli di rivestimento di strutture duttali e canali presenti in vari organi.

La definizione della sequenza amminoacidica e la caratterizzazione biochimica del TPA hanno permesso di identificare le citocheratine 8, 18 e 19 tra le sue costituenti principali (32).

Per le prerogative biochimiche e funzionali delle citocheratine e per le modalità di rilascio di frammenti citoscheletrici durante la divisione cellulare, il TPA rappresenta un' espressione dell'attività proliferativa e necrotica della neoplasia e numerosi lavori in letteratura hanno evidenziato il suo ruolo clinico peculiare in fase di diagnosi, stadiazione e, soprattutto, formulazione prognostica e follow up in molte neoplasie epiteliali (33).

## Antigene Polipeptidico Tissutale Specifico

Lo studio del TPA come target di anticorpi monoclonali ha consentito la produzione di oltre 2000 ibridomi con cellule immunizzate con l'antigene, il cui mappaggio ha portato al riconoscimento di 35 differenti epitopi.

Bjorklund ha dimostrato che solo due di questi sono essenziali nella caratterizzazione del TPA ed ha selezionato l'anticorpo monoclonale con la maggiore affinità, che riconosce l'epitopo M3 (costante di affinità 10 l/mol). Questo epitopo è stato messo in relazione alla specificità critica dell'antigene polipeptidico tissutale e l'anticorpo monoclonale ottenuto verso questa struttura costituisce la base per il dosaggio dell'antigene polipeptidico tissutale specifico (TPS) (34).

Recentemente studi biochimici, immunologici e genetici hanno consentito una migliore caratterizzazione del TPS: mediante precipitazione, elettroforesi ed immunoblotting utilizzando l' epitopo M3 come sonda sono state dimostrate 4 bande proteiche reattive tra 12 e 42 kD in un terreno di coltura di una linea cellulare di carcinoma.

La frazione di 14 kD, maggiormente reattiva con l'M3 è stata ulteriormente purificata, ottenendo una purificazione di 50000 volte la struttura dell'epitopo M3.

L'analisi della sequenza amminoacidica del frammento proteico altamente purificato ha dimostrato una sequenza amminoacidica presente a livello di una porzione C-terminale della citocheratina 18. Mediante utilizzo di frammenti di citocheratina 18 espressi come proteine di fusione in un sistema vettore batterico pET3c la struttura dell'epitopo che reagisce con l'M3 è stata localizzata a livello della porzione coil 2 sulla citocheratina 18.

La citocheratina 18 è una proteina di tipo acido con PM 45 kD espressa nelle cellule epiteliali normali. Il frammento più abbondante nel siero di pazienti affetti da carcinoma sembra essere un peptide C-terminale (coil 2) (35).

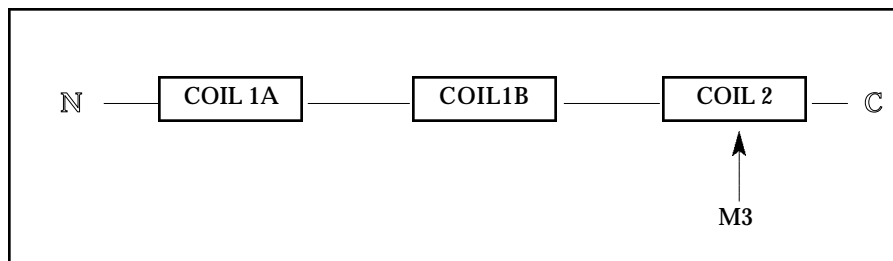


Figura 1. Struttura Cyk18.

## **Criteri di valutazione analitica dei marcatori tumorali**

Come per tutti gli esami biochimici i criteri generali di valutazione della performance diagnostica sono riconducibili alla valutazione della sensibilità (percentuale di soggetti ammalati riconosciuti dal marcatore) e della specificità (percentuale di soggetti non ammalati riconosciuti come effettivamente sani dal marcatore) (36).

La valutazione di questi parametri può essere operata sia disponendo di un'unica determinazione dei livelli sierici del marcatore, sia valutando la dinamica temporale delle variazioni di concentrazione (37, 38).

Nel primo caso è necessario categorizzare il dato ricorrendo all'utilizzo di un valore soglia calcolato sulla base della distribuzione del marcatore in una popolazione di riferimento costituita da soggetti sani. Questa scelta non considera generalmente il problema derivante dagli incrementi del tasso di marcatore in patologie non neoplastiche, che ingenera problemi di diagnosi differenziale, o in situazioni aspecifiche non patologiche (39).

Per ovviare a questi inconvenienti la valutazione di dati singoli può avvenire riferendosi a livelli di soglia multipla che permettono un criterio interpretativo maggiormente flessibile:

- a) Soglia tecnica: equivalente alla soglia classica e calcolata sulla distribuzione del marcatore in soggetti normali
- b) Soglia di patologia: determina una probabile condizione di patologia, non necessariamente neoplastica
- c) Soglia di allarme: determina una elevata probabilità di neoplasia

La valutazione dinamica di più valori sequenziali del marcatore rappresenta comunque il criterio di scelta per l'ottimizzazione dell'uso clinico degli indicatori tumorali (40, 41).

Dev'essere comunque considerato il possibile apporto della quota aspecifica del marcatore circolante che può determinare apparenti modificazioni del trend di concentrazione in assenza di modificazioni della massa o della attività tumorale.

Il criterio interpretativo può essere di tipo empirico, basato sulla valutazione qualitativa delle modificazioni temporali della concentrazione del marcatore o, viceversa, il marcatore può essere dosato con precisa sequenza temporale e la variabilità analizzata mediante l'impiego di algoritmi definiti che permettano la estrapolazione di parametri quantitativi quali il tempo di dimezzamento (emivita), il tempo di duplicazione o la pendenza della retta di variazione (42).

## **Marcatori tumorali e biosistemi: un approccio compartimentale**

In condizioni normali la concentrazione di un marcatore tumorale nei fluidi biologici è funzione complessa del tasso di fisiologica produzione del marcatore da parte di organi e tessuti, dello spazio di distribuzione e dell'attività degli apparati deputati al catabolismo della molecola.

Queste caratteristiche, statiche e dinamiche, del sistema condizionano i differenti livelli del marcatore rilevabili in ciascun individuo e che, in assenza di elementi di perturbazione, tendono (entro i limiti della fluttuazione fisiologica) ad una condizione di stabilità o di equilibrio dinamico (steady state). L'alterazione di una delle tre componenti può condizionare la modificazione della concentrazione del biomarcatore circolante: la fenomenologia di queste alterazioni può essere ricondotta in un sistema modellistico rappresentativo di tipo monocompartimentale (sistema vascolare) o, con maggior realismo, bicompartimentale aperto (vascolare ed extra-vascolare) in condizioni di steady-state.

L'anomalo input nel sistema, condizionato dalla presenza della neoplasia, perturba la condizione di steady-state e determina una elevazione della concentrazione del bioindicatore. La rimozione della massa neoplastica, specialmente se radicale, consente di analizzare le caratteristiche dinamiche del sistema biologico.

Nell'ipotesi monocompartimentale sottraendo dalla concentrazione all'equilibrio ( $T_0$ ) le concentrazioni in tempi successivi alla rimozione della neoplasia ( $T_1...T_n$ ) è possibile ottenere una funzione concentrazione-tempo con andamento esponenziale negativo:

$$C(T) = A \cdot \exp[-kT]$$

che, nel caso di ipotesi bicompartimentale, diventa:

$$C(T) = A \cdot \exp[-aT] + B \cdot \exp[-bT]$$

Nel primo caso il tasso di rinnovamento del sistema relativo al tipo di marcatore è dato da:

$$K = 0.693 / Th$$

dove  $Th$  esprime l'emivita della concentrazione del biomarcatore.

Nel caso di sistema bicompartimentale il tasso di rinnovamento sarà viceversa espresso da:

$$K = ab / Aa + Bb$$

dove a e b rappresentano la pendenza delle due componenti della curva concentrazione-tempo.

Dopo rimozione radicale della neoplasia il sistema si “resetta” su una nuova condizione di equilibrio dinamico che potrà essere perturbata dalla comparsa di una recidiva di malattia: in questo caso la concentrazione del biomarcatore tenderà alla crescita proporzionalmente alla proliferazione cellulare o all’aumento di massa tumorale ed alle caratteristiche del sistema.

Assumendo una modello di crescita cellulare descrivibile secondo una funzione logistica:

$$L(T) = P + K / 1 + C * \exp[-hT]$$

dove P rappresenta un asintoto che esprime la concentrazione all’equilibrio la cui prima fase può essere descritta da una funzione esponenziale:

$$N(T) = N_0 * \exp[bT]$$

presumendo un tasso di produzione cellulare costante del marcatore è possibile calcolare il tasso di crescita cellulare del marcatore dato il tasso di rinnovamento. L’ incremento della concentrazione dell’indicatore tumorale è espresso dalla funzione:

$$C(T) = C_0 * \exp[zT]$$

dove:

$$z = b - K$$

Ne deriva quindi la possibilità di estrapolare il tasso di duplicazione tumorale (Td) dalla relazione:

$$Td = 0.693 / b$$

In sintesi quindi l’approccio compartimentale all’analisi dei biomarcatori consente la quantificazione di dati inerenti la radicalità chirurgica, la clearance del marcatore in corso di radio-chemioterapia e la derivazione di dati relativi all’incremento di concentrazione del marcatore in corso di relapse di malattia con la possibilità di correlare il dato biochimico alla proliferazione cellulare tumorale (43, 44).



## **TPS : marcatore di attività neoplastica**

Il dosaggio del TPS ha dimostrato clinicamente di essere spesso ben correlato alla attività proliferativa cellulare.

Anche dal punto di vista sperimentale diversi fenomeni sembrano dimostrare una correlazione fra proliferazione cellulare e incremento di TPS. In coltura cellulare il TPS viene prodotto durante la fase S del ciclo cellulare e rilasciato durante la mitosi in quantità proporzionali al numero di nuove cellule ed alla velocità di crescita.

Durante la gravidanza è stato dimostrato un incremento del TPS sierico materno correlato alla velocità di accrescimento ma non al peso ed alle dimensioni fetali (45).

Utilizzando 3H-timidina e flussocitometria è stato evidenziato come il TPS sia prodotto dopo la biosintesi di DNA; esponendo le colture cellulari a radiazioni ionizzanti sia la sintesi di DNA che la produzione di TPS sono risultate inibite (46).

Sulla base di queste evidenze Bjorklund B. ha ipotizzato che il TPS costituisca l'unico marcatore di proliferazione tumorale, differenziandosi sia dai marcatori di massa tumorale (NSE, PSA, CA 125 ...) la cui espressione è proporzionale al numero di cellule neoplastiche vive, sia dai marcatori citocheratinici correlati ai fenomeni necrotici tumorali quali ad esempio la citocheratina 19 (47).

Tuttavia la recente identificazione dell' epitopo M3 su un frammento della citocheratina 18, numerose evidenze cliniche emerse anche da esperienze del nostro gruppo di studio ed alcune segnalazioni sperimentali non consentono di supportare un'ipotesi di netta separazione fra il TPS ed altri marcatori citocheratinici.

E' stata infatti convalidata clinicamente l'ipotesi di una diversa natura chimica dell'analita rilevato con il test TPS e con il CYFRA 21.1 che misura frammenti della citocheratina 19 rispetto a quelli della citocheratina 18 ma esperienze in vivo e nel campo clinico applicativo hanno dimostrato similitudini qualitative nel comportamento dei marcatori citocheratinici (48, 49).

Indubbiamente il tasso sierico di TPS non è solo espressione della massa tumorale: piccoli tumori possono talvolta determinare notevoli innalzamenti del suo livello mentre tumori a maggiore estensione condizionano, a volte, solo modesti incrementi.

Rapide fluttuazioni dei valori di TPS possono conseguire alle terapie antineoplastiche (decremento) o a recidive della neoplasia (incremento).

Da quanto esposto si evince come la complessa fenomenologia biologica sottesa alla produzione ed al rilascio del TPS non sia ancora completamente conosciuta. Una possibile spiegazione della correlazione del TPS con la pro-

liferazione cellulare e della sua contemporanea appartenenza ad una famiglia di peptidi il cui rilascio è condizionato da fenomeni necrotici e citolitici, può derivare dalla riscontro di una maggior rappresentazione dei fenomeni di apoptosi in tumori a maggiore aggressività e con elevati tassi di proliferazione.

Nel corso di questi processi potrebbe aver luogo la frammentazione della citocheratina 18 ed essere trasportato in circolo il frammento peptidico riconosciuto dagli anticorpi antiM3 del test TPS.

## Utilizzo clinico del TPS: criteri generali

La gestione clinica del dosaggio del TPS in pazienti oncologici risponde in parte alle note considerazioni riferite all'utilizzo degli indicatori biochimici di tumore ed in parte a linee-guida dettate dalle caratteristiche chimico-funzionali della molecola.

Infatti, contrariamente a molecole correlate alla massa tumorale quali le mucine o a particolari tipi di tessuto quali NSE, betaHCG o PSA, il TPS presenta una distribuzione trasversale nei tessuti epiteliali ed una espressione sierica legata a fenomeni dinamici di turn-over cellulare.

Ciò comporta una bassa specificità del marcatore e la possibilità di elevati incrementi anche in patologie benigne: questo dato dev'essere noto sia al medico di laboratorio che all'oncologo per consentire una corretta interpretazione del dato ed una sua ottimizzazione clinica.

In particolare incrementi transitori del TPS sono osservabili in corso di patologie infettive e/o infiammatorie, malattie autoimmuni, stress traumatici e tossici, con rientro nei limiti di normalità per attivazione dei processi autoriparativi da parte dei tessuti danneggiati. Inoltre, poiché la molecola è metabolizzata ed escreta a livello epatobiliare e in misura minore urinario, elevati livelli di TPS sono riscontrabili a livello sierico o urinario in caso di insufficienza funzionale di questi apparati (50).

Pertanto il TPS non trova indicazione nella diagnosi di neoplasia e neppure, con qualche eccezione, nella stadiazione di neoplasie precedentemente diagnosticate. Il segnale eminentemente funzionale fornito dal TPS è però utile nella valutazione della attività di malattia in assenza di terapia, durante il trattamento e nel corso del follow up.

In particolare nelle neoplasie nelle quali è possibile utilizzare un marcatore di massa tumorale, la sua associazione con il TPS permette di valutare anche l'attività metabolica della massa tumorale.

Nel corso del follow up inoltre le modificazioni del TPS possono precedere decisamente quelle del marcatore di massa, la cui espressione in concentrazioni significative è legata al numero di cellule neoplastiche.

Pertanto la corretta utilizzazione di questo marcatore non può prescindere da un approccio funzionale che sottolinei non tanto il dato singolo relativo ad una concentrazione istantanea della molecola quanto alle sue variazioni temporali in rapporto con la clinica e la terapia utilizzata.

## **Il TPS nelle neoplasie polmonari**

Le neoplasie polmonari rappresentano una delle principali cause di morte nel mondo occidentale e dimostrano una tendenza all'incremento soprattutto nella popolazione femminile.

Le neoplasie polmonari vengono suddivise in due gruppi fondamentali, sulla base della derivazione cellulare e delle proprietà biologiche della neoplasia.

Il carcinoma polmonare a piccole cellule (SCLC) deriva da cellule appartenenti al sistema neuroendocrino e rappresenta il 25% delle neoplasie polmonari, è caratterizzato da una particolare aggressività e da una elevata chemiosensibilità.

Le neoplasie di derivazione epiteliale: carcinoma spinocellulare, adenocarcinoma e carcinoma a grandi cellule, sono definite collettivamente carcinomi polmonari a non piccole cellule (NSCLC) e presentano un atteggiamento clinico ed indicazioni terapeutiche sovrapponibili.

Una corretta diagnosi ed una accurata stadiazione costituiscono il presupposto fondamentale per l'istituzione di un piano terapeutico ottimale e l'applicazione dei marcatori tumorali a questi aspetti clinici è stata oggetto di numerosi studi.

L'enolasi neurone-specifica (NSE), un enzima glicolitico espresso dalle cellule neuroendocrine, costituisce il marcatore di riferimento per lo studio dello SCLC.

L'NSE è un marcatore di massa tumorale utile nella stadiazione della malattia, nella valutazione della risposta terapeutica e nella diagnosi di ripresa di malattia in corso di follow up (51). Tuttavia la sensibilità dell'NSE non è molto elevata nelle fasi iniziali di malattia. Studi immunoistochimici hanno dimostrato come il microcitoma polmonare esprima sia NSE che citocheratine e diverse esperienze cliniche hanno evidenziato come l'associazione NSE-citocheratine incrementi la sensibilità diagnostica.

Nella nostra esperienza, in un gruppo di 50 pazienti affetti da SCLC la sensibilità dell'NSE è risultata del 56% ed è aumentata al 76% associando il TPS. L'associazione all'NSE di un altro marcatore citocheratinico, il CYFRA 21.1 ha tuttavia determinato un analogo incremento di sensibilità ma con un aumento consensuale anche della accuratezza diagnostica (52).

Nei tumori NSCLC le citocheratine hanno dimostrato una buona sensibilità ed una accuratezza diagnostica superiore a quella dei marcatori precedentemente utilizzati (CEA, SCC, Ferritina...) Il nostro gruppo ha recentemente dimostrato come nel NSCLC il comportamento dei marcatori citocheratinici TPS e CYFRA 21.1 possa essere considerato qualitativamente sovrapponibile (53).

Le citocheratine dimostrano una correlazione con la massa tumorale e non sono espresse in modo diversificato dai vari istotipi tumorali. Inoltre i livelli sierici delle citocheratine sono correlati significativamente alla sopravvivenza dei pazienti (54, 55).

Tuttavia dev'essere sottolineato come la recente disponibilità di un marcatore citocheratinico ad espressione preferenzialmente polmonare come il CYFRA 21.1 abbia sostanzialmente limitato l'indicazione del TPS in questo campo in virtù delle migliori prestazioni quantitative del CYFRA 21.1 a loro volta legate alla maggior espressione e specificità della citocheratina 19 a livello degli epitelii respiratori (56).

Una linea di ricerca recentemente intrapresa dal nostro gruppo di studio riguarda l'espressione differenziale di TPS e CYFRA 21.1 nell'adenocarcinoma polmonare ed il confronto con il CEA: nella nostra casistica non sono dimostrate differenze significative di espressione di questi marcatori nei singoli istotipi di NSCLC, tuttavia l'analisi di alcuni casi ci induce ad approfondire il ruolo del TPS nelle neoplasie epiteliali ghiandolari.

## Il TPS nel carcinoma prostatico

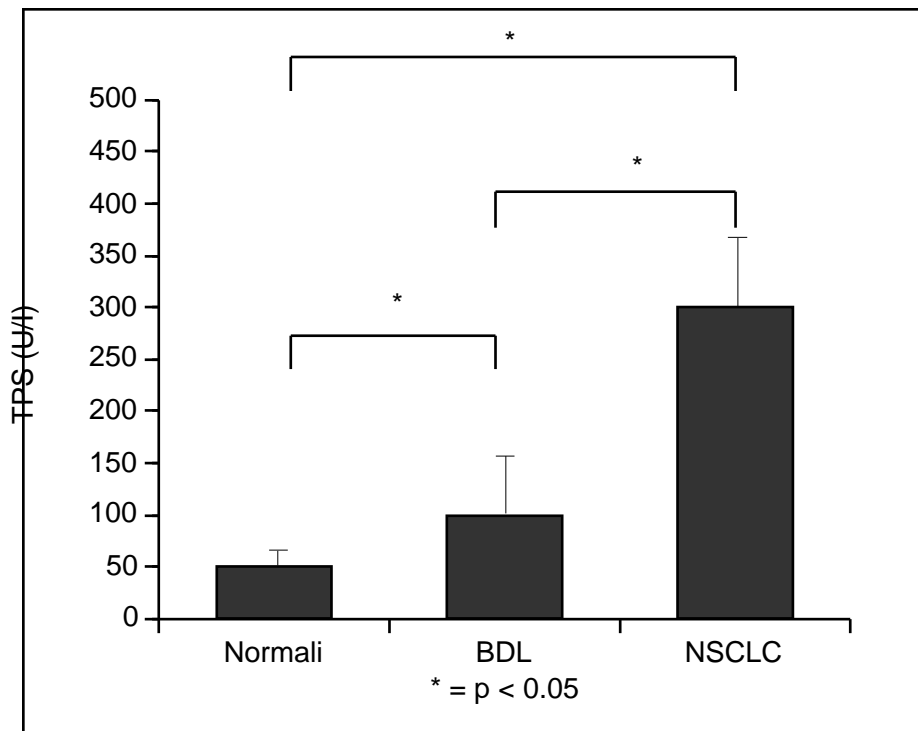
Il carcinoma della prostata rappresenta la neoplasia più disusa e una delle più frequenti cause di morte nel sesso maschile, secondo solo al carcinoma polmonare.

Marcatore	Sensibilità	Specificità	Acc.
CEA	0.35	0.90	0.62
NSE	0.27	0.68	0.48
CYFRA 21.1	0.76	0.73	0.73
TPS	0.80	0.66	0.72
CYFRA-TPS	0.80	0.70	0.75

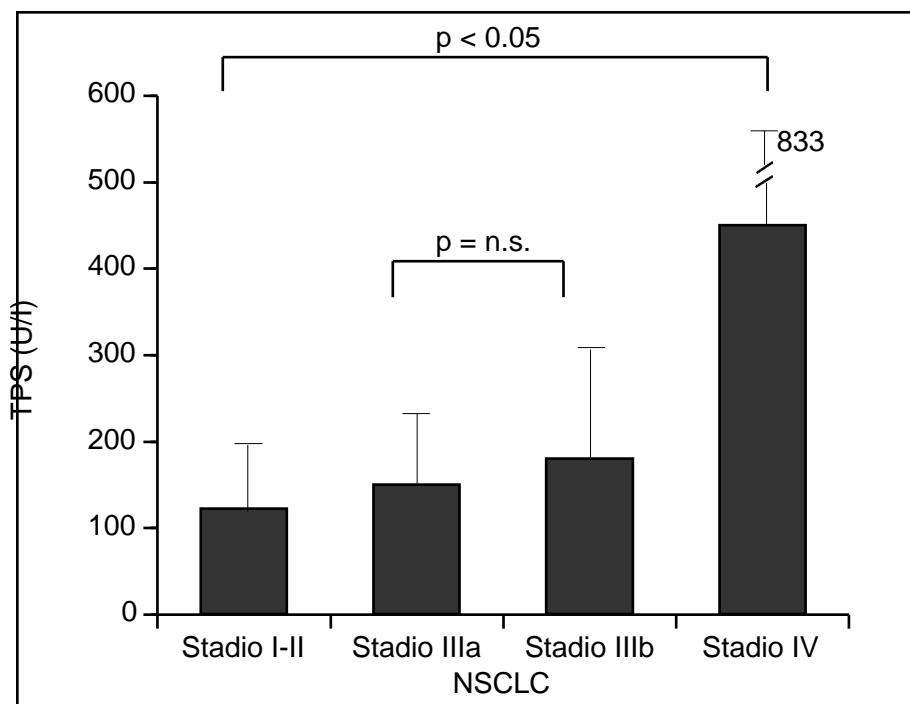
**Tabella 1. Performance diagnostica dei marcatori CEA, NSE, CYFRA 21.1 e TPS in un gruppo di 110 pazienti affetti da NSCLC (casistica personale).**

Stadio	I-II	IIIa	IIIb	IV
TPS (U/l)	106+92	125+89	245+269	289+267
	----- ns -----	----- ns -----	----- ns -----	
	----- p<0.05 -----			
CYFRA (ng/ml)	5.6+4.9	7.5+7.6	9.9+10.4	12.5+13.1
	----- ns -----	----- ns -----	----- ns -----	
	----- p<0.05 -----			
Linfonodi		N0-1		N2-3
TPS			----- ns -----	
CYFRA			----- ns -----	

**Tabella 2. Distribuzione di TPS e CYFRA 21.1 in relazione allo stadio di malattia e allo status linfonodale.**



**Figura 2. Distribuzione delle concentrazioni sieriche del TPS in soggetti sani, affetti da patologie polmonari benigne (BDL) e da NSCLC.**



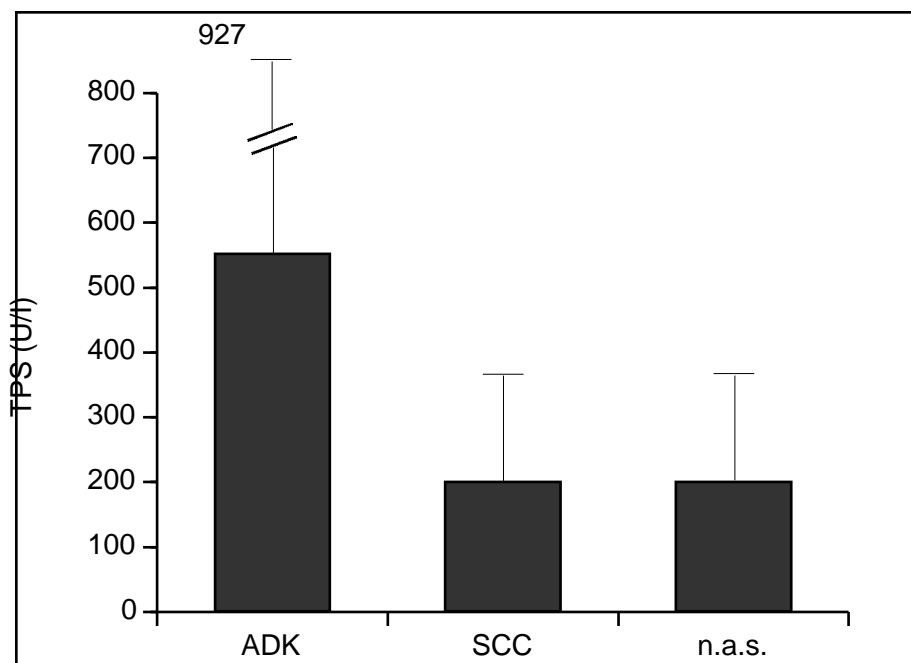
**Figura 3. Distribuzione dei TPS in relazione allo stadio di malattia.**

E' quindi di importanza rilevante la possibilità di poter diagnosticare e seguire l'evoluzione clinica di questa neoplasia mediante il dosaggio di marcatori tumorali sensibili e specifici.

Il dosaggio della fosfatasi acida prostatica (PAP) ha trovato ampia applicazione agli albori dell'impiego clinico dei marcatori tumorali, pur essendo limitato da scarsa sensibilità ed accuratezza pre-analitica non ottimale (57).

Successivamente la disponibilità dell'antigene prostatico specifico (PSA) ha destato grande attenzione in campo oncologico laboratoristico per le sue caratteristiche di tessuto-specificità prostatica e risultando di grande utilità nella valutazione pre e post-terapeutica delle neoplasie prostatiche (58).

Tuttavia il maggiore limite del PSA impiegato in fase diagnostica è legato alla sua aumentata produzione anche in corso di patologie prostatiche non neoplastiche: valori di PSA compresi fra 4 e 10 ng/mL sono pertanto fortemente suggestivi per la presenza di una patologia prostatica (BPH, prostatite, carcinoma) mentre valori superiori a 10 ng/mL pongono un forte sospetto di neoplasia e solo valori oltre i 20 ng/mL indicano con pressoché assoluta certezza la presenza di un carcinoma prostatico (59).



**Figura 4. Distribuzione del TPS in relazione all'istotipo a NSCLC (ADK: adenocarcinoma, SCC: carcinoma spirocellulare).**

Inoltre è stato dimostrato come, conseguentemente all'orientamento biologico ormone-indipendente del tumore o alla terapia anti-androgena, in una piccola ma significativa percentuale di carcinomi prostatici la produzione di PSA sia, o diventi, soppressa o inibita (60).

In virtù dei differenti presupposti biologici del TPS, il nostro gruppo ha studiato l'associazione PSA/TPS in soggetti sani, pazienti affetti da BPH e da carcinoma prostatico rilevando una elevatissima specificità del marcatore citocheratinico, positivo solo nel 2% dei pazienti affetti da BPH.

Inoltre la concordanza, negativa o positiva, di entrambi i marcatori è altamente suggestiva di assenza o, rispettivamente, presenza di neoplasia prostatica. I livelli sierici di TPS sono significativamente correlati allo stadio di malattia ed alla differenziazione tissutale, valutata secondo lo score di Gleason. Nei pazienti con carcinoma altamente differenziato e PSA soppresso o inibito il TPS presenta concentrazioni elevate contribuendo ad identificare un fenotipo tumorale particolarmente aggressivo e a fornire indicazioni di tipo prognostico (61, 62)

In uno studio clinico condotto dal nostro gruppo sono state valutate le concentrazioni sieriche dei marcatori PSA e TPS in un campione di 72 pa-

zienti affetti da carcinoma prostatico non trattato analizzando la performance diagnostica delle due molecole e della loro associazione in relazione allo stadio di malattia e, per quanto riguarda pazienti con diffusione ossea (Stadio D2), alla scintigrafia ossea eseguita con  $^{99m}\text{Tc}$ -metilendifosfonato (MDP).

L'analisi della distribuzione del PSA ha dimostrato come neoplasie in Stadio A non presentino mai livelli sierici superiori ai 20 ng/ml ma che esiste un importante overlap per quanto riguarda la diffusione locale e loco-regionale (Stadio B e C) ferma restando la correlazione del marcatore con la massa tumorale.

L'analisi della sensibilità del TPS in relazione allo stadio di malattia evidenzia una prevalenza di valori inferiori al cut-off negli stadi iniziali ed un buon potere discriminante tra malattia localizzata e diffusa per una soglia di 240 ng/ml con significative differenze nell'espressione del marcatore tra adenocarcinomi in stadio B,C e D rispettivamente. Nei pazienti con interessamento osseo documentato (n=36) abbiamo riscontrato 4 soggetti con PSA inferiore a 10 ng/ml, soglia che secondo alcuni Autori escluderebbe la necessità di scintigrafia ossea: in tutti questi pazienti il TPS era significativamente elevato.

In conclusione, quindi, il TPS presenta un importante ruolo clinico sia nell'inquadramento biochimico delle prostatopatie che nella valutazione prognostica e nel follow up del carcinoma prostatico.

## Il TPS nel carcinoma mammario

Nei Paesi Occidentali il cancro della mammella è la prima causa di morte per neoplasia nella donna. La possibilità di diagnosi precoce è decisamente migliorata grazie ai progressi delle tecniche di imaging radiologico (mammografia) ed a programmi di screening nella popolazione.

(n= 72)	Sensibilità	Specificità	Acc.
PSA	.83	.89	.87
TPS	.51	.98	.79
PSA/TPS	.93	.87	.88

**Tabella 3. Performance diagnostica di PSA, TPS e della associazione PSA/TPS.**

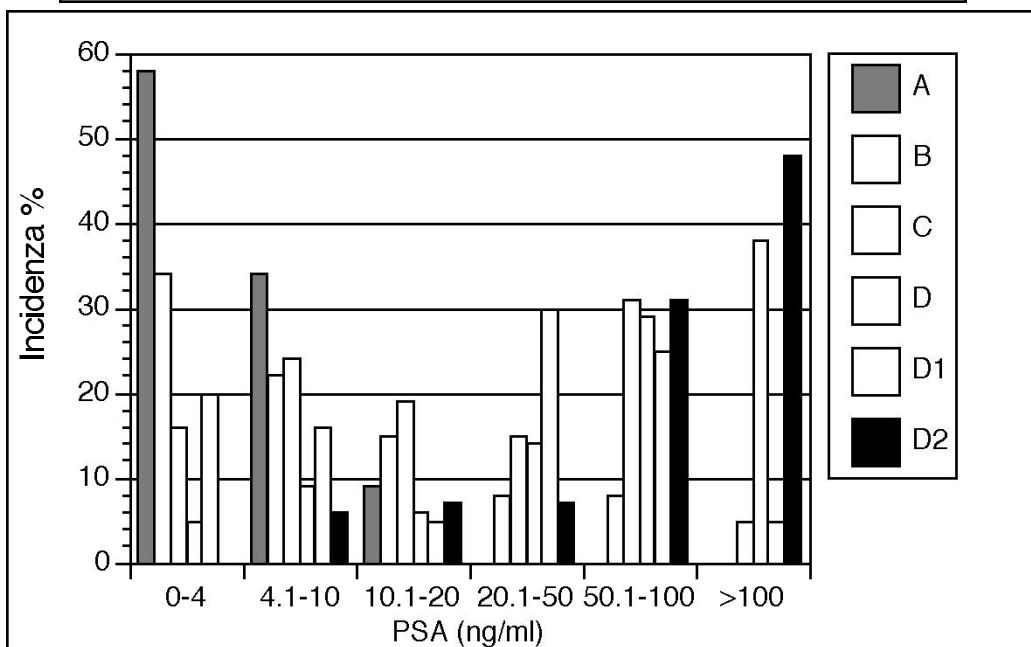


Stadio	PSA ng/ml					
	0-4	4.1-10	10.1-20	20.1-50	50.1-100	>100
A n= 12	58%	33%	9%	-	-	-
B n= 49	33%	22%	29%	8%	8%	-
C n= 17	17%	24%	19%	14%	21%	5%
D n= 78	5%	9%	6%	13%	29%	37%
D1 n= 20	20%	15%	5%	30%	25%	5%
D2 n= 58	-	7%	7%	7%	31%	48%

Carcinoma prostatico - pz. n= 209

PSA ng/ml	Stadio					
	A	B	C	D	E	F
0-4 n= 39	18%	41%	31%	10%	10%	-
4.1-10 n= 39	10%	28%	44%	18%	8%	10%
10.1-20 n= 33	3%	42%	39%	16%	3%	13%
20.1-50 n= 24	-	16%	42%	42%	26%	16%
50.1-100 n= 42	-	9%	35%	55%	11%	44%
>100 n= 32	-	-	9%	91%	3%	88%

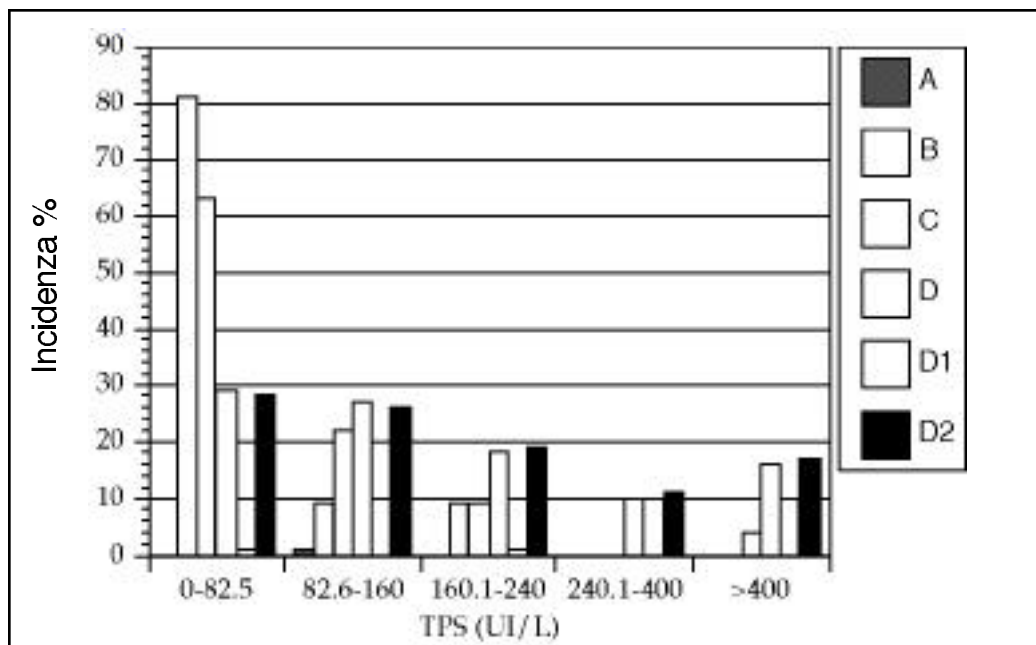
Carcinoma prostatico - pz. n= 209



**Tabella 4 a, b, figura 5. Distribuzione del PSA in 250 pazienti affetti da adenocarcinoma prostatico, in relazione allo stadio di malattia.**

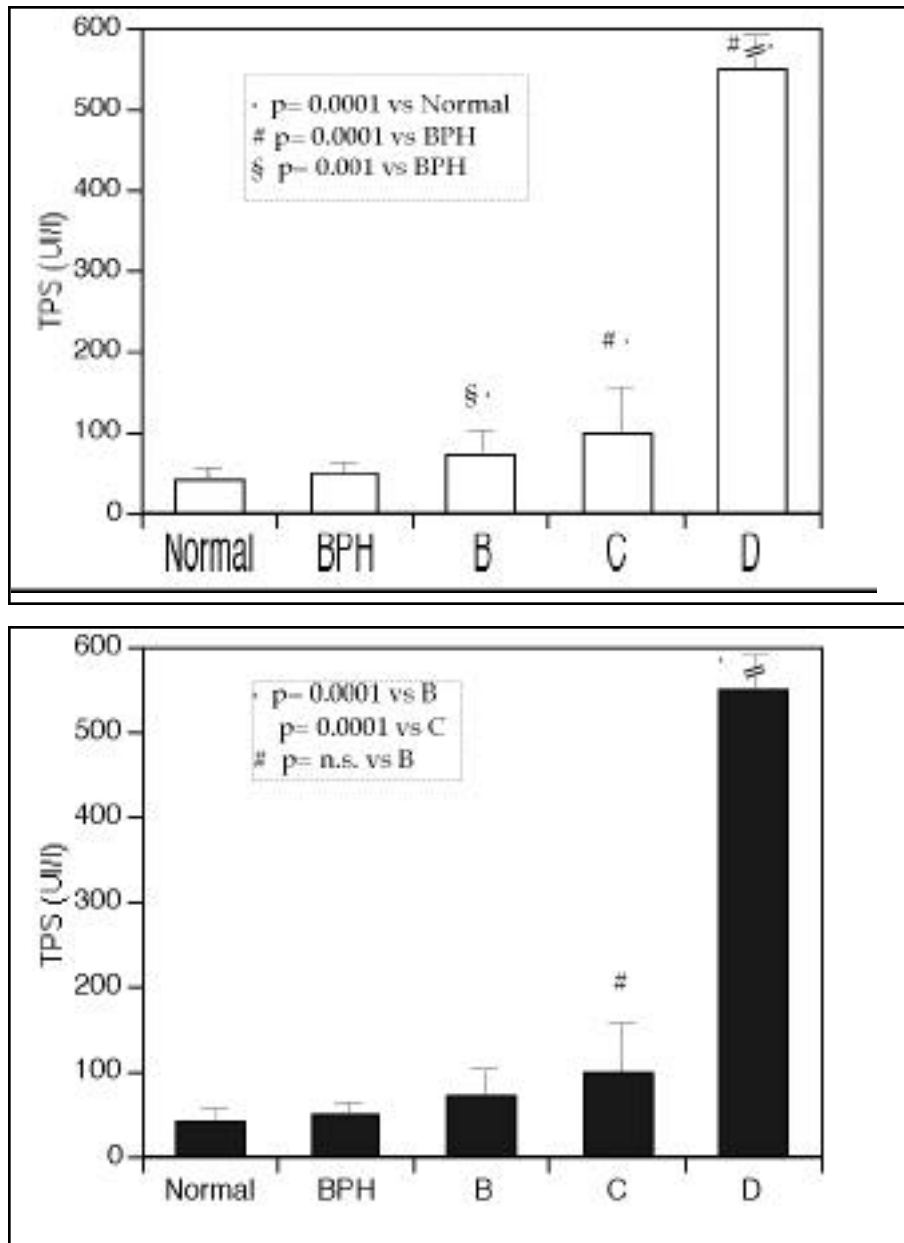
Stadio	TPS UI/l				
	0-82.5	82.6-160	160.1-240	240.1-400	>400
A n= 1		-	-	-	-
B n= 11	82%	9%	9%	-	-
C n= 22	64%	23%	9%	-	4%
D n= 38	29%	26%	18%	10%	16%
D1 n= 2			-	-	-
D2 n= 36	28%	25%	19%	11%	17%

Carcinoma prostatico - pz. n= 72

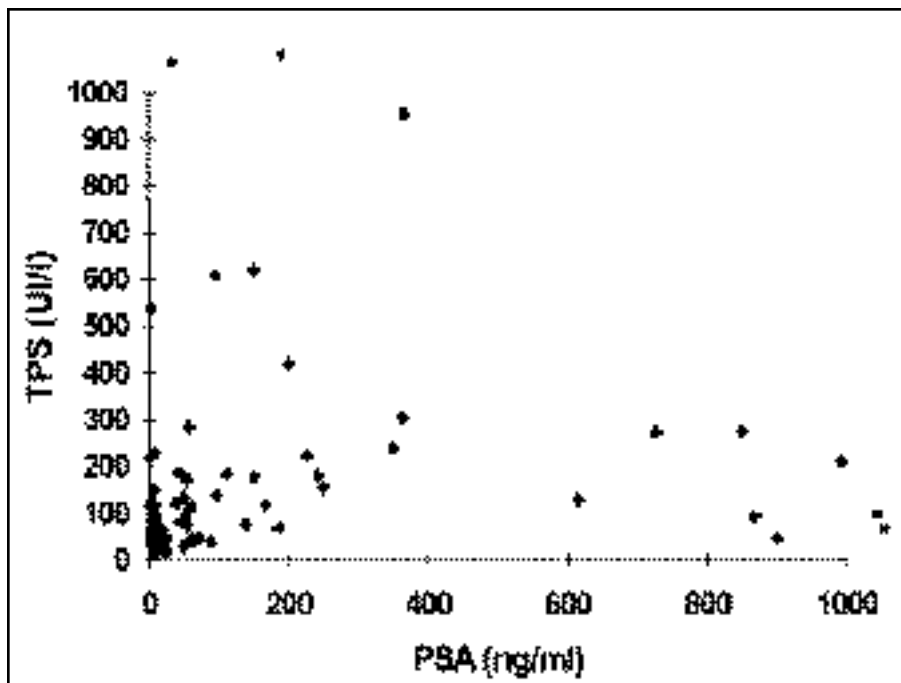


**Tabella 5 ; figura 6. Distribuzione del TPS in 72 pazienti affetti da adenocarcinoma prostatico in relazione allo stadio di malattia.**

La terapia chirurgica rappresenta l'intervento di elezione e le possibilità di guarigione sono inversamente proporzionali allo stadio di malattia, inoltre la diagnosi di neoplasia in stadio limitato consente anche interventi chirurgici limitati (tumorectomia, quadrantectomia) eventualmente integrati da radioterapia loco-regionale e/o chemioterapia neoadiuvante.



**Figure 7 - 8. Distribuzione del TPS in soggetti sani, affetti da iperplasia prostatica benigna (BPH) e da adenocarcinoma prostatico in stadio B, C, D ed analisi statistica.**



**Figura 9. Correlazione PSA/TPS in 72 pazienti affetti da adenocarcinoma prostatico.**

La terapia degli stadi avanzati e/o delle recidive di malattia è articolata e complessa e prevede opzioni chemioterapiche, radioterapiche ed ormonoterapiche integrate.

Lo studio dei marcatori tumorali ha acquisito negli ultimi anni nuove conoscenze in tema di biologia molecolare e biochimica: in particolare si è visto come la più parte degli epitopi tumore-associati siano veicolati da proteine ad alto peso molecolare appartenenti alla famiglia delle mucine (63).

Queste molecole vengono normalmente secrete dall'epitelio ghiandolare mammario ed hanno funzione protettiva chimica e meccanica in virtù della loro elevata viscosità (64).

L'interesse clinico di queste molecole risiede nel fatto che il sovvertimento strutturale e dell'organizzazione funzionale della cellula neoplastica ne produce il release in circolo dove la loro concentrazione risulta proporzionale alla massa tumorale.

Molte molecole muciniche sono disponibili per la valutazione biochimica del carcinoma mammario ma, poiché l'informazione biologica e clinica derivante dal loro utilizzo è analoga, il loro impiego dev'essere considerato come alternativo e non come complementare: presso il nostro Centro routinariamente impiegato il marcatore CA 15.3.

Il ruolo delle citocheratine in oncologia senologica ha tuttavia assunto crescente importanza, in particolare nel monitoraggio post-chirurgico delle pazienti e nella valutazione della risposta alla chemio-radioterapia in pazienti con malattia diffusa e/o in progressione (65).

Nel primo caso l'incremento del marcatore di attività cellulare può precedere quello del marcatore mucinico i cui livelli dipendono dal raggiungimento di una massa cellulare "critica" mentre nel caso di pazienti con malattia avanzata la risposta dei marcatori al trattamento chemioterapico e/o ormonale può essere di estrema utilità nell'orientare l'oncologo clinico sulla opportunità di proseguire il trattamento o di optare per terapie palliative con importanti riflessi sulla qualità di vita delle pazienti e sul bilancio costo/ beneficio individuale e sociale (66).

Alcuni gruppi di ricerca hanno approfondito, specie in campo senologico, il ruolo del dosaggio di biomarcatori in campioni di derivazione tissutale, generalmente citosol.

Gion et al. hanno dimostrato che i marcatori citocheratinici TPA e TPS presentano un comportamento tissutale inverso a quello sierico: infatti livelli di marcatore tissutale inferiori si osservano nelle neoplasie maggiormente estese e bassi livelli di TPA/TPS sarebbero in relazione a sopravvivenza ridotta (67).

Tuttavia è possibile affermare che oggi non esistono sufficienti elementi che possano convalidare l'uso clinico del dosaggio tissutale dei marcatori biochimici di tumore mentre riveste interesse la ricerca sul tessuto tumorale di nuove molecole di significato eminentemente prognostico quali la catepsina D, una proteasi lisosomiale glicoproteica la cui aumentata espressione è correlata alla progressione di malattia secondo due meccanismi: una azione litica sulla matrice extracellulare ed una autocrino-trofica sulle cellule tumorali, e il pS2, peptide estrogeno-indotto la cui aumentata espressione è correlata ad una prognosi migliore analogamente a quanto dimostrato per i recettori estro-progestinici (68, 69).

Studi di correlazione tra espressione di catepsina D tissutale e concentrazione sierica di TPS hanno dimostrato che i livelli preoperatori del frammento citocheratinico e l'espressione della proteasi correlano positivamente con l'età, le dimensioni tumorali, il grading e lo stato dei linfonodi ascellari (El-Ahamady O. et al. comunicazione personale).

Van Dalen A. et al. hanno valutato la risposta a breve termine alla terapia in pazienti affette da carcinoma mammario avanzato alla diagnosi o progredito in corso di chemio e/o ormonoterapia utilizzando i marcatori

TPS, CEA e CA 15.3 (70). Sono stati studiati 51 cicli di terapia in 31 pazienti dosando i marcatori prima della terapia e, mediamente 2.4 mesi dopo (range: 0.4-6.0). Una risposta negativa era definita da un incremento di oltre il 25% dei marcatori, positiva da un decremento di oltre il 50%.

I dati biochimici sono stati confrontati con i criteri di progressione, stabilità e remissione clinici secondo l'UICC.

In 9 casi di progressione clinica la risposta dei marcatori fu consensuale in 1 caso per il CEA, 4 per il CA 15.3 e 5 per il TPS. In 35 casi di malattia stabile è stato osservato un trend positivo in 2 casi per il CEA, 3 per il CA 15.3 e 16 per il TPS.

In 7 casi di remissione parziale il decremento dei marcatori è stato osservato in 1 caso per CEA e CA 15.3 e in 3 casi per il TPS. Lo studio era limitato alla valutazione short-time dove il TPS, in relazione ai presupposti fisiopatologici sottesi al suo utilizzo, ha dimostrato di essere superiore ai marcatori di massa tumorale.

In uno studio successivo sono state incluse 85 pazienti con malattia metastatica per un totale di 170 determinazioni dei marcatori CEA, CA 15.3 e TPS nelle quali lo stato di malattia è stato valutato secondo i criteri UICC a tre e sei mesi dall'inizio della terapia dimostrando la maggior sensibilità ed accuratezza dei marcatori ed in particolare del TPS nel determinare lo stadio reale di malattia rispetto alla definizione clinica (71).

## Il TPS nel carcinoma coloretale

Il carcinoma colo-rettale mantiene elevate incidenze epidemiologiche e la sua diagnosi e valutazione riveste estrema importanza in relazione alla strategia terapeutica.

Il marcatore tumorale di scelta in queste neoplasie rimane l'antigene carcinoembrionario (CEA) che, pur essendo un marcatore aspecifico come illustrato nei capitoli precedenti, ha dimostrato la sua utilità clinica particolarmente nel monitoraggio postchirurgia e nel corso delle terapie antineoplastiche (72).

Lo studio della cinetica del CEA e la determinazione della sua emivita secondo un modello di tipo bicompartimentale, ha permesso di utilizzare il marcatore come indice di radicalità chirurgica: livelli pre-operatori elevati di CEA si normalizzano in meno di 30 giorni. La persistenza di elevati valori con mancata normalizzazione o un trend incrementale indicano la persistenza di tessuto neoplastico residuo o la diffusione metastatica (73).

Il tempo di anticipazione del CEA rispetto alla documentazione clinico-strumentale di recidiva o metastasi varia da 2 fino a 18 mesi (74).

Il dosaggio del CEA con determinazione dinamica dev'essere interpretato sulla base di precisi assunti metodologici e biologici considerando che gli aumenti della concentrazione sierica sono più rilevanti per metastasi a distanza che per recidive loco-regionali, che la causa più frequente di incremento è costituita dalle metastasi epatiche (>90% CEA+) e che tendenze incrementali in corso di follow up sono indicative di relapse. Tuttavia dev'essere ben conosciuta l'esistenza di innalzamenti aspecifici del CEA, la possibile esistenza di metastasi che non esprimono il CEA o che, pur esprimendolo a livello cellulare, non ne determinano una significativa immissione in circolo ad esempio per problemi di vascolarizzazione locale.

Anche se non diffusamente utilizzato in questo settore, il TPS dimostra una buona sensibilità nei pazienti con adenocarcinoma coloretale e potrebbe costituire un utile segnale, complementare a quello del CEA.

In una casistica di 84 pazienti il 66% ha dimostrato livelli sierici del marcatore superiori al cut-off utilizzato (60 U/L).

Analizzando poi la distribuzione delle positività in relazione allo stadio di malattia sono stati ottenuti i seguenti valori:

Duke's	B1: 48 %
	B2: 66.6%
	C : 76.4%
	D : 83.3%

In 21 pazienti è stata eseguita la determinazione del TPS preoperatoria e nei mesi successivi all'intervento: nei pazienti con elevati valori (>120 U/L) pre-intervento (44%) è stata dimostrata una normalizzazione in 1-2 mesi successivamente all'exeresi chirurgica (90%) mentre in 3 pazienti con malattia metastatica epatica si è osservato un significativo decremento del TPS sierico dopo metastasectomia (75).

Uno studio di correlazione tra CEA e TPS condotto su 49 pazienti ha dimostrato la positività del CEA in 19 casi (38%) con concentrazione media di 28.56 ng/ml e del TPS in 31 (63%) con concentrazione media di 361 U/L.

E' stata inoltre dimostrata una buona correlazione tra l'espressione dei due marcatori ( $r= 0.838$ ,  $p<0.01$ ) (76).

## Il TPS nel carcinoma ovarico

Il CA 125 rappresenta il biomarcatore di scelta in oncologia ovarica con particolare riferimento ai carcinomi sierosi: la sua applicazione spazia dalla fase diagnostica in presenza di dati clinici o strumentali sospetti alla

stadiazione e, in particolare, al monitoraggio delle pazienti dopo chirurgia ed in corso di chemioterapia (77).

Diverse esperienze cliniche sembrano dimostrare una buona sensibilità del TPS nelle neoplasie ovariche e soprattutto la possibilità di un utilizzo simultaneo di TPS e CA 125 nel monitoraggio in corso di chemioterapia: il gruppo di Van Dalen ha dimostrato come pazienti con livelli di CA 125 nei limiti dopo 3 cicli di chemioterapia ma con livelli di TPS elevati e/o con trend in incremento presentino malattia residua. In queste pazienti non solo il TPS anticipa la diagnosi rispetto al CA 125 ed alle indagini strumentali ma l'ampiezza dell'incremento della citocheratina è superiore a quello del CA 125 (78).

Uno studio clinico condotto su 86 pazienti di cui 51 affette da carcinoma ovarico, 21 da carcinoma endometriale e 14 da endometriosi, ha dimostrato una correlazione positiva tra CA 125 e TPS in 27/51 pazienti con carcinoma ovarico, 14/21 con carcinoma endometriale e 11/14 con endometriosi con una correlazione complessiva rispetto allo stadio di malattia del 59% (51/86).

Elevazione del TPS con CA 125 normale o solo moderatamente elevato è stata rilevata in 27/86 dei casi (31%) ed in particolare in 18/51 con carcinoma ovarico, 7/21 con carcinoma endometriale e 2/14 con endometriosi.

Solo in 7 casi su 86, di cui 1 di carcinoma ovarico, si è verificato un incremento del CA 125 con normali concentrazioni di TPS. L'utilizzo del solo CA 125 ha consentito la diagnosi nel 65% delle pazienti con carcinoma ovarico o endometriale mentre l'utilizzo sinergico della mucina e del TPS ha portato la percentuale di positività al 92% (66/72) indicando l'utilità clinica di tale associazione (79).

## Considerazioni conclusive

La diagnosi, la stadiazione ed il monitoraggio delle neoplasie maligne richiede una serie di interventi diagnostici di vario tipo in relazione alle complesse manifestazioni biologiche e cliniche che accompagnano il manifestarsi del tumore.

Il laboratorio di ricerche cliniche assume in questo contesto un ruolo cruciale in quanto la richiesta dell'oncologia clinica è sempre più orientata ad ottenere informazioni che caratterizzino la neoplasia da un punto di vista funzionale e biologico consentendo una definizione della attività e della aggressività tumorale al fine di prevederne l'evoluzione.

In particolare la ricerca e l'impiego di marcatori tumorali (cellulari o circolanti) ha consentito la comprensione di molteplici dinamiche tumorali



da un lato e l'applicazione clinico-diagnostica dall'altro: l'esperienza clinica accumulata in oltre vent'anni di impiego dei marcatori ha definito con precisione gli ambiti e le modalità del loro utilizzo e le informazioni cliniche ricavabili da marcatori quali il CEA, le molecole tessuto-specifiche (beta-HCG, NSE, PSA) ed i marcatori mucinici (CA125, CA15.3...).

Più recentemente l'impiego clinico dei marcatori citocheratinici ha consentito di ottenere dati relativi a processi dinamici intratumorali determinando la necessità di rivedere alcuni concetti interpretativi.

Oggi sono disponibili in clinica almeno cinque metodi per la determinazione quantitativa delle citocheratine circolanti la cui applicazione presenta aspetti comuni ma anche divergenze notevoli determinate in prima istanza dai frammenti citocheratinici rilevati dai singoli metodi di dosaggio ma anche da fattori intrinseci alla neoplasia come la densità citocheratinica e la composizione proporzionale del network cheratinico tumorale che può subire modificazioni in funzione dello stato di progressione della neoplasia (80, 81, 82).

La ricerca clinica deve quindi interrogarsi sull'opportunità di disporre di un marcatore cheratinico "broad-spectrum" oppure sulla necessità di identificare il pattern cheratinico peculiare o meglio prevalente delle singole neoplasie e di adattare di conseguenza lo studio biochimico del tumore utilizzando le singole molecole citocheratiniche disponibili.

Alla luce della nostra esperienza nell'utilizzo dei marcatori citocheratinici, riteniamo più corretta la seconda ipotesi, posti i risultati di sicuro interesse clinico derivati dall'impiego del TPS che, legato ad aspetti funzionali da noi definiti "attività tumorale", ad intendere l'epifenomeno sotteso alla complessa interazione tra fenomeni proliferativi e citolitici (apoptosi), ha consentito di cogliere aspetti biologici delle neoplasie non derivabili da altri indicatori biochimici isto-specifici o massa-dipendenti.

Sembra appena il caso di concludere evidenziando come solo la stretta collaborazione tra medico nucleare, oncologo clinico e specialisti clinici dei vari distretti coinvolti abbia consentito di utilizzare il dato biochimico in senso clinico ed operativo: se questa monografia potrà essere utile nella gestione clinica dei marcatori tumorali e nel dialogo tra clinico e laboratorio, avremo raggiunto il nostro obiettivo.

#### RINGRAZIAMENTI

Gli Autori esprimono un sentito ringraziamento al Prof. Aldo V. Bono ed ai suoi Collaboratori della Divisione di Urologia ed ai Dott.ri Mauro Bandera e Bianca Beghé della Divisione di Pneumologia dell'Ospedale di Circolo di Varese per il costante e stimolante confronto e l'assidua collaborazione scientifica.

Al Capo Tecnico ed ai Tecnici del Laboratorio di Radioimmunologia un grato apprezzamento per la puntuale collaborazione e la cura dimostrata nel lavoro analitico.

## **Bibliografia**

- 1) Gion M., Mione R., Dittadi R. et al.: Marcatori tumorali circolanti: importanza di un corretto impiego nel bilancio costo/beneficio. *Argomenti di Oncologia* 1989; 10: 423-430.
- 2) Toitou Y., Bogdan A.: Tumor markers in non-malignant diseases. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 1988; 24: 1083-1088.
- 3) Bates S.E., Longo D.L.: Tumor markers value and limitations in the management of cancer patients. *Cancer Treat Rev.* 1985; 12: 163-167.
- 4) Reynolds T.: Screening program raises questions on tumor marker's use regulation. *J. Nat. Cancer Inst.* 1993; 85: 424-427.
- 5) Bombardieri E., Bogni A., Botti C., Seregni E.: Applicazioni radioisotopiche in vitro per il dosaggio degli indicatori biochimici di tumore in Buraggi G.L. e Bombardieri E. (Eds) *Progressi della medicina nucleare in oncologia*. Clas International Editore 1994; 81-128.
- 6) Seregni E., Bombardieri E., Bogni A. et al.: The role of serum carcinoembryonic antigen (CEA) in the management of patients with colorectal carcinoma: the experience onf the Istituto Tumori of Milan. *Int. J. Biol. Markers* 1992; 7: 167-170.
- 7) Toitou Y., Sothern R.B., Levi F. et a.: Sources of predistable tumor marker variation within socalled normal range: circadian and circannual aspests of plasma carcinoembryonic antigen (CEA) in health and cancer. *J. Tumor Marker Oncol.* 1988; 3: 351-356.
- 8) Holyote E.D., Chu T.M., Evans J.T. et al.: Carcinoembryonic antigen as tumor marker in Chu TM (Ed) *Biochemical markers of cancer* Narcel dekker Inc. 1982.
- 9) Talerman A., Hajje W.G., Baggerman L.: Serun alpha-fetoprotein (AFP) in patients with germ cell tumors of the gonads and extragonadal sites: correlation between endodermal sinus (yolk sac) tumor and raised serum AFP. *Cancer* 1980; 46: 380-385.
- 10) Matsumoio Y., Suzuki T., Assada I. et al.: Clinical classification of

hepatoma in Japan according to serial changes in serum alpha-fetoprotein levels. *Cancer* 1982; 49: 354-359.

- 11) Bates S.E., Longo D.L.: Use of serum tumor markers in cancer diagnosis and management *Sem Oncol.* 1987; 14: 102-138.
- 12) SIPDIT Italian National Committee for Tumor Markers. Tumor biochemical markers in clinical practice. Wighting Editor, Milan 1990.
- 13) Anderson T., Waldmann T.A., Javadpour N.: Testicular germ-cell neoplasm: recent advances in diagnosis and therapy. *Ann. Intern. Med.* 1979; 90: 373-378.
- 14) Guilloteau D., Perdrisot R., Calmettes C. et al.: Diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid (MCT) by calcitonin assay using monoclonal antibodies: criteria for the pentagastrin stimulation test in hereditary MCT. *Clin. Endocr. and Metab. J.* 1990; 71:1064-1071.
- 15) Akoun G.M., Scarna H.M., Milleron B.J. et al.: Serum neuron-specific enolase. A marker for disease extent and response for therapy for small cell lung cancer. *Chest.* 1985; 87: 39-46.
- 16) Ishiguro Y., Kanefusa K., Atsuko S. et al.: High levels of immunoreactive nervous system-specific enolase in sera of patients with neuroblastoma. *Clin. Chem. Acta* 1982; 121: 173-180.
- 17) Oesterling J.E.: Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *Urology* 1991; 145: 907-923.
- 18) Ho S.B., Kim Y.S.: Carbohydrate antigens on cancer-associated mucin-like molecules. *Seminars in Cancer Biology* 1991; vol. 2: 389-400.
- 19) Bielmayer C., Szepesi T., Kopp B. et al.: CA 15.3, MCA, CAM26, CAM29 are members of a polymorphic family of mucin-like glycoprotein. *Tumor Biol.* 1991; 12: 138-148.
- 20) Koebl H., Scieder K., Neunteufel W., Bielmayer C.: A comparative study of mucin-like carcinoma associated antigen (MCA), CA 125, CA 19.9 and CEA in patients with ovarian cancer. *Neoplasma* 1989; 36: 473-478.
- 21) Bielmayer C., Szepesi T., Neunteufel W.: Follow up of metastatic breast

cancer patients with mucinlike carcinoma associated antigen: comparison to CA 15.3 and carcinoembryonic antigen. *Cancer Letters* 1988; 42: 199-206.

- 22) Bombardieri E., Seregni E., Giani D. et al.: Heterogeneity and specificity of cancer associated mucins. *J. Nucl. Med. Allied Sciences*.
- 23) Lazarides E.: Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space. *Nature* 1980; 283: 249-256.
- 24) Steiner P., Steven A.C., Roop D.R.: The molecular biology of intermediate filaments. *Cell* 1985; 42: 411-419.
- 25) Steiner P., Idler W., Aynardi-Whitman M.: Heterogeneity of intermediate filaments assembled in vitro. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol.* 1981; 46: 465-474.
- 26) Franke W.W., Schiller D.L., Moll R. et al.: Diversity of cytokeratins: differentiation specific expression of cytokeratin polypeptides in epithelial cell and tissues. *J. Mol. Biol.* 1981; 153: 933-959.
- 27) Moll R., Franke W.W., Volc-Platzer B. et al.: Different keratin polypeptides in epidermis and other epithelia of human skin: a specific cytokeratin of molecular weight 46.000 in epithelia of the pilosebaceous tract and basal cell epitheliomas. *J. Cell. Biol.* 1982.
- 28) Bjorklund B., Bjorklund V.: Antigenicity of pooled human malignant and normal tissues by cytoimmunological technique: presence of a insoluble, heat labile, tumor antigen. *Int. Arch. Allergy* 1957; 10: 153-184.
- 29) Plebani M.: TPA in clinical practice: state of the art and perspectives *Euro-Immunoanalyse* 94 Firenze 11-13.04.1994.
- 30) Carbin B.E.: Urine TPA, flow cytometry and cytology as markers for tumor invasiveness in urinary bladder carcinoma. *Urol. Res* 1989; 12: 55-61.
- 31) Ruiball Morell R.: Tumor markers in non neoplastic disease In: Ballesta A.M., Torre G.C., Bombardieri E. (eds) *Updating on tumor markers in tissues and biological fluids. Basic aspects and clinical applications.* Ed. Minerva Medica Torino 1993, 695-711.
- 32) Mellerik D.M., Osborn M., Weber K.: On the nature of serological tissue polypeptide antigen (TPA): monoclonal keratin 8,18 and 19 antibodies

react differently with TPA prepared from human cultured carcinoma cells and TPA in human serum. *Oncogene* 1990; 5: 1007-1017.

- 33) Montinari F., Luporini G.: The tissue polypeptide antigen (TPA) In: Ballesta A.M., Torre G.C., Bombardieri E. (eds) *Updating on tumor markers in tissues and in biological fluids. Basic aspects and clinical applications*. Ed. Minerva Medica Torino 1993; 639-650.
- 34) Bjorklund B.: A conceptual approach to tumor antigen in the past and in the future with special reference to TPS In: Ballesta A.M., Torre G.C., Bombardieri E. (eds) *Updating on tumor markers in tissues and biological fluids*. Ed. Minerva Medica Torino 1993; 651-666.
- 35) Rylander L., Bergman T., Schoberl E. et al.: Isolation and characterization of tissue polypeptide antigen specific (TPS), a protein molecule used in follow up of malignancies (submitted for publication 1994).
- 36) Sheps S.B., Schechter M.T.: The assessment of diagnostic tests: a survey of current medical research. *JAMA* 1984; 252: 2418.
- 37) Comitato Nazionale per lo Studio dei Marcatori Tumoriali. Guida alla applicazione dei marcatori tumorali in oncologia clinica. Monduzzi Editore, Bologna 1986.
- 38) Gion M., Mione R., Brusca G.: Revisione critica del concetto di soglia nell'impiego dei marcatori tumorali. *The Ligand Quarterly* 1990; 4: 512-517.
- 39) Toitou Y., Sothorn R.B., Levi F. et al.: Sources of predictable tumor marker variation within the so-called normal range: circadian and circannual aspects of plasma carcinoembryonic antigen (CEA) in health and cancer. *J. Tumor Marker Oncol.* 1988; 2: 351.
- 40) Kiang D.T., Greenberg L.J., Kennedy B.J. Tumor marker kinetics in the monitoring of breast cancer. *Cancer* 1990; 65: 193.
- 41) Lockich J., Ellenberg S., Gearson B. et al.: Plasma clearance of carcinoembryonic antigen following hepatic metastasectomy. *J. Clin. Oncol.* 1984; 2: 462.
- 42) Cappelli G.: Methodological approach to assay and diagnostic values of tumor markers in Massi GB (Ed) *CA 125 a new tool in the diagnosis and management of ovarian tumors Il Sedicesimo*. Editore Firenze 1987.

- 43) Cappelli G.: Mathematical model application to the kinetic study of tumor markers. *Int. J. Biol. Markers* 1994; 9: 8-14.
- 44) Lavin P.T., Day J., Holyoke E.D. et al.: A statistical evaluation of baseline and follow up carcinoembryonic antigen in patients with resectable colorectal carcinoma. *Cancer* 1981; 47: 823-830.
- 45) Marcon G., Alimena C., Siculi M. et al.: Plasma variations during childhood of an antigen tumor associated: TPS. *Beki Diagnostiss AB*, data on file, 1993.
- 46) Madersbacher S., Gregor N., Theyer G. et al.: TPS is a useful epithelial proliferation and tumor marker. *J. Urol.* 1992; 147: A911 (abs).
- 47) Björklund B.: Biochemical basis for tumor markers with special reference to TPS. IV International symposium on biology and clinical usefulness of tumor markers Barcelona 4-6.02.1993.
- 48) Rameken M., Bahlo M., Hassanein A. et al.: Secretion of CEA-CA 19-9 versus CYFRA 21.1, TPA, TPS in relation to growth kinetics, necrosis rate and proliferation studies in xenografts of human lung and pancreatic carcinomas established in nude mice. *Hamburger Symposium über Tumormarker* 5-8.12.1993
- 49) Gittermann G., Bahlo M., Klapdor R. et al.: CYFRA 21.1, TPA und TPS versus CEA/CA 19-9 r SCC und NSE beim Lungenkarzinom. *Hamburger Symposium über Tumormarker* 5-8.12.1993.
- 50) Comitato Nazionale per lo Studio dei Marcatori Tumorali SIPDIT: I marcatori tumorali nella pratica clinica. *Piccin Ed. Padova* 1993.
- 51) Body J.J., Paesmans M., Sculier J.P. et al.: Monoclonal immunoradiometric assay and polyclonal radioimmunoassay compared for measuring neuron-specific enolase in patients with lung cancer. *Clin. Chem.* 1992; 38/5: 748-751.
- 52) Giovanella L., Ceriani L., Bandera M. et al.: Dosaggio dell'enolasi neuron-specifica (NSE) e delle citocheratine 18 (TPS) e 19 (CYFRA 21.1) nel microcitoma polmonare. (submitted for publication, 1995).
- 53) Giovanella L., Ceriani L., Bandera M. et al.: Tissue polypeptide specific antigen (TPS) and cytokeratin 19 fragment (CYFRA 21.1) immunoradio-

- metric assay in non-small cell lung cancer evaluation. *Q. J. Nucl. Med.* 1995; 39: 285-289.
- 54) Pujol J.L., Cooper E.H., Grenier J. et al.: TPS as tumor marker in non-small cell lung cancer IV International Symposium on Biology and Clinical. Usefulness of Tumor Markers Barcelona, February 4-6, 1993.
- 55) Pujol J.L., Grenier J., Daures J.P. et al.: Serum fragment of cytokeratin subunit 19 measured by CYFRA 21.1 immunoradiometric assay as a marker of lung cancer. *Cancer res* ID93, 53: 61-66.
- 56) Giovanella L., Ceriani L., Bandera M. et al.: Evaluation of serum markers CEA, NSE, TPS and CYFRA 21.1 in lung cancer. *Int. J. Biol. Markers* (in press, 1995).
- 57) Foti A.G.: Detestion of prostatic cancer by solid-phase radioimmunoassay of serum prostatic acid phosphatase. *N. Engl. J. Med.* 1977; 297: 1357-1361.
- 58) Oesterling J.E.: Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *Urology* 1991; 145: 907-923.
- 59) Allhoff E., De Riese W., Eifinger M. et al.: Prostate specific antigen comparative clinical appreciation of a serodiagnostic measure after 8 years of experience. *World J. Urol.* 1989; 7: 12-16.
- 60) Armitage T.G., Cooper E.H., Newling D.W.W. et al.: The value of the measurement of serum prostate specific antigen in patients with benign prostatic hyperplasia and untreated prostate cancer. *J. Urol.* 1988; 62: 584-589.
- 61) Ceriani L., Cervini A., Bono A.V. et al.: Tissue polypeptide antigen in prostatic cancer. *Acta Urol. Ital.* 1994; 3: 75-78.
- 62) Ceriani L., Giovanella L., Roncari G.: Ruolo del dosaggio immunoradiometrico del PSA e TPS nella diagnosi e nella stadiazione del carcinoma prostatico. V Riunione del Club Italiano di Urologia Oncologica. Courmayeur 20-22.01.1995.
- 63) Ho S.B., Kim H.S.: Carbohydrate antigens on cancer-associated mucin-like molecules. *Seminars in Cancer Biology* 1991; 2: 389-400.

- 64) Linsley P.S., Brown J.P., Magnani J.L. et al.: Monoclonal antibodies reactive with mucin glycoproteins found in sera from breast cancer patients. *Cancer Research* 1988; 48: 2138-2148.
- 65) Jonsson P.E., Malmberg M., Nordin G.: Assesment of TPS in breast cancer during palliative and adjuvant chemotherapy. 7th European Conference on Clinical Oncology and Cancer Nursing, Jerusalem, Israel, November 14-18, 1993.
- 66) Van Dalen A.: TPS in breast cancer: a comparative study with carcinoembryonic antigen and CA 15.3. *Tumor Biol* 1992; 13: 10-17.
- 67) Gion M., Mione R., Dittadi R. et al.: Carcinoembryonic antigen, ferritin, tissue polypeptide antigen and CA 15.3 in breast cancer: relationship between carcinoma and normal breast tissue. *Int. J. Biol. Markers* 1986, 1: 33-38.
- 68) Foekens J.A., Rio M.C., Seguin et al.: Predistion of relapse and survival in breast cancer patients by pS2 protein status. *Cancer Res* 1990; 50: 3832.
- 69) Rochefort H., Capony F., Augerau P.: The estrogen-regulated 52K-cathepsin D in breast cancer: from biology to clinical applications. *Nucl. Med. Biol.* 1987; 14: 377-385.
- 70) Van Dalen A.: Tumor markers in the measurement of therapy response in breast cancer. 3rd Nottingham International Breast Cancer Meeting, Nottingham, England, September 16-17, 1993.
- 71) van Dalen A., van der Linde D.L., Heering K.J. et al: How can treatment response be measured in breast cancer patients? *Anticancer Res* 1993; 13: 1901-1904.
- 72) Minton J.P., Hoehn J.L., Gerber D.M. et al.: Results of a 400 patient carcinoembryonic antigen second look clorestal cancer study. *Cancer* 1985; 55: 1284.
- 73) Lockich J.J., Ellenberg G.S., Gerson B.: Criteria for monitoring carcinoembryonic antigen: variability of sequential assay at elevated levels. *J. Clin. Oncol.* 1984; 2: 181-186.
- 74) Bombardieri E., Ringhini R., Orefice S.: Profilo biochimico ed immunologico del CEA. *Argomenti di Oncologia* 1983; 4: 271-276.

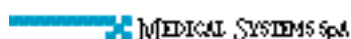


- 75) Klein B., Myshaelli M., Kfir B. et al.: Tissue Polypeptide Antigen (TPS) in different stages of colorectal cancer. XXI Meeting of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, Jerusalem, Israel 7-11 november 1993.
- 76) Lanfranco E., Rosa F.: Correlation CEA/TPS in colorectal cancer. XXIst meeting of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, Jerusalem, Israel November 7-11. 1993.
- 77) Severi S., Petracchi M., Bonazza M. et al.: Evaluation of therapeutic response to chemotherapy with serum levels of CA125 in patients with malignant epithelial ovarian neoplasia in: Massi G.B. (Ed) CA125 a new tool in the diagnosis and management of ovarian tumors. Il Sedicesimo Editore, Firenze 1987, 92-100.
- 78) Van Dalen A., Favier J.: CA 125 and TPS in the management of ovarian cancer patients. CA 125-Ten Years Later, San Remo, Italy, October 1993.
- 79) Lischinsky S., Spaier S., Zinder O.: A tissue polypeptide specific antigen as a marker for ovarian carcinoma. XXIst Meeting of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, Jerusalem, Israel November 7-11, 1993.
- 80) Van Dalen A.: Are the tests for TPS, TPA, TPAcyk and CYFRA 21.1 determining related substances? XXIst Meeting of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, Jerusalem, Israel November 7-11, 1993.
- 81) Bogni A., Crippa F., Foa P. et al.: Citocheratine quali marcatori di neoplasia. The Ligand Quarterly 1993; 12: 17-22.
- 82) Hansson L.: Valutazione comparativa di TPA e TPS in controlli ed in pazienti con tre diverse forme neoplastiche. The Ligand Quarterly 1994; 13: 29 (abs).

## Indice

Editoriale .....	pag. 3
Introduzione .....	» 5
Marcatori tumorali circolanti: definizione e criteri di utilizzo.....	» 5
Classificazione dei biomarcatori.....	» 6
Marcatori onco-fetali.....	» 7
Marcatori tessuto-specifici.....	» 7
Marcatori mucinici.....	» 8
Marcatori citocheratinici.....	» 8
Biochimica e fisiologia delle citocheratine.....	» 8
Antigene Polipeptidico Tissutale.....	» 10
Antigene Polipeptidico Tissutale Specifico.....	» 11
Criteri di valutazione analitica dei marcatori tumorali.....	» 12
Marcatori tumorali e biosistemi: un approccio compartimentale .....	» 13
TPS: marcatore di attività neoplastica .....	» 15
Utilizzo clinico del TPS: criteri generali .....	» 16
Il TPS nelle neoplasie polmonari .....	» 17
Il TPS nel carcinoma prostatico .....	» 18
Il TPS nel carcinoma mammario .....	» 22
Il TPS nel carcinoma coloretale .....	» 28
Il TPS nel carcinoma ovarico .....	» 29
Considerazioni conclusive .....	» 30
Bibliografia .....	» 32
Indice .....	» 40

# Caleidoscopio



Italiano

1. Rasso S.: *Principi generali di endocrinologia*. Gennaio '83
2. Rasso S.: *L'ipotalamo endocrino*. Giugno '83
3. Rasso S.: *L'ipofisi*. Dicembre '83
4. Alagna, Masala A.: *La prolattina*. Aprile '84
5. Rasso S.: *Il pancreas endocrino*. Giugno '84
6. Fiorini I., Nardini A.: *Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza)*. Luglio '84.
7. Rasso S.: *L'obesità*. Settembre '84
8. Franceschetti F., Ferraretti A.P., Bolelli G.F., Bulletti C.: *Aspetti morfofunzionali dell'ovaio*. Novembre '84.
9. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (1)*. Dicembre '84.
10. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima*. Gennaio '85.
11. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda*. Febbraio '85.
12. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima*. Aprile '85.
13. Nacamulli D., Girelli M.E., Zanatta G.P., Busnardo B.: *Il TSH*. Giugno '85.
14. Facchinetti F. e Petraglia F.: *La b-endorfina plasmatica e liquorale*. Agosto '85.
15. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (1)*. Ottobre '85.
16. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda*. Dicembre '85.
17. Nuti R.: *Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale*. Febbraio '86
18. Cavallaro E.: *Ipnosi: una introduzione psicofisiologica*. Marzo '86.
19. Fanetti G.: *AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti*. Maggio '86.
20. Fiorini I., Nardini A.: *Toxoplasmosi, immunologia e clinica*. Luglio '86.
21. Limone P.: *Il feocromocitoma*. Settembre '86.
22. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.: *Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici*. Novembre '86.
23. Bolcato A.: *Allergia*. Gennaio '87.
24. Kubasik N.P.: *Il dosaggio enzimologico ed fluoroimmunologico*. Febbraio '87.
25. Carani C.: *Patologie sessuali endocrino-metaboliche*. Marzo '87.
26. Sanna M., Carcassi R., Rasso S.: *Le banche dati in medicina*. Maggio '87.
27. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.: *L'amenorrea*. Giugno '87.
28. Zilli A., Pagni E., Piazza M.: *Il paziente terminale*. Luglio '87.
29. Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.: *Patologie prostatiche*. Settembre '87.
30. Cingolani M.: *Manuale di ematologia e citologia ematologica*. Novembre '87.
31. Kubasik N.P.: *Ibridomi ed anticorpi monoclonali*. Gennaio '88.
32. Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.: *Diagnostica del carcinoma mammario*. Febbraio '88.
33. Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnessi L., Isidori A.: *Neuroendocrinologia dello stress*. Marzo '88.
34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: *La fecondazione in vitro*. Maggio '88.
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: *Il gozzo nodulare*. Giugno '88.
36. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (2)*. Luglio '88.

37. Piantino P., Pecchio F.: *Markers tumorali in gastroenterologia*. Novembre '88.
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: *Le leucemie acute infantili*. Gennaio '89.
39. Sommariva D., Branchi A.: *Le dislipidemie*. Febbraio '89.
40. Butturini U., Butturini A.: *Aspetti medici delle radiazioni*. Marzo '89.
41. Cafiero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: *Diagnostica delle neoplasie colo-rettali*. Aprile '89.
42. Palleschi G.: *Biosensori in Medicina*. Maggio '89.
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: *HTLV-I*. Giugno '89.
44. Fanetti G.: *Emostasi: fisiopatologia e diagnostica*. Luglio '89.
45. Contu L., Arras M.: *Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie*. Settembre '89.
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: *Immunologia dell'occhio*. Ottobre '89.
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E.: *Infezioni opportunistiche in corso di AIDS*. Gennaio '90.
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P.: *La coriogonadotropina umana*. Febbraio '90.
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: *L'immunologia del diabete mellito*. Marzo '90.
50. Cappi F.: *La trasfusione di sangue: terapia a rischio*. Aprile '90.
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: *I micobatteri*. Maggio '90.
52. Montecuccio C.M., Caporali R., De Gennaro F.: *Anticorpi antinucleo*. Giugno '90.
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: *Le macchine in terapia intensiva*. Luglio '90.
54. Goracci E., Goracci G.: *Gli allergo-acari*. Agosto '90.
55. Rizzetto M.: *L'epatite non A non B (tipo C)*. Settembre '90.
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: *Infezione da HIV-1: patogenesi ed allestimento di modelli animali*. Ottobre '90.
57. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (I)*. Gennaio '91.
58. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (II)*. Febbraio '91.
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: *Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti*. Marzo '91.
60. Bedarida G., Lizioli A.: *La neopterinina nella pratica clinica*. Aprile '91.
61. Romano L.: *Valutazione dei kit immunochimici*. Maggio '91.
62. Dondero F. e Lenzi A.: *L'infertilità immunologica*. Giugno '91.
63. Bologna M. Biondi L. Martinotti S.: *Gli Oncogeni*. Luglio '91.
64. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Gulminetti R., Razzini E., Zambelli A. e Scevola D.: *Infezione-malattia da HIV in Africa*. Agosto '91.
65. Signore A., Chianelli M., Fiore V., Pozzilli P., Andreani D.: *L'immunoscintigrafia nella diagnosi delle endocrinopatie autoimmuni*. Settembre '91.
66. Gentilomi G.A.: *Sonde genetiche in microbiologia*. Ottobre '91.
67. Santini G.F., Fornasiero S., Mucignat G., Basaglia G., Tarabini-Castellani G. L., Pascoli L.: *Le sonde di DNA e la virulenza batterica*. Gennaio '92.
68. Zilli A., Biondi T.: *Il piede diabetico*. Febbraio '92.
69. Rizzetto M.: *L'epatite Delta*. Marzo '92.
70. Bracco G., Dotti G., Pagliardini S., Fiorucci G.C.: *Gli screening neonatali*. Aprile '92.
71. Tavani A., La Vecchia C.: *Epidemiologia delle patologie cardio e cerebrovascolari*. Luglio '92.
72. Cordido F., Peñalva A., De la Cruz L. F., Casanueva F. F., Dieguez C.: *L'ormone della crescita*. Agosto '92.
73. Contu L., Arras M.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (I)*. Settembre '92.
74. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio I*. Ottobre '92.
75. Gori S.: *Diagnosi di laboratorio dei patogeni opportunisti*. Novembre '92.
76. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio II*. Gennaio '93.
77. Pinna G., Veglio F., Melchio R.: *Iperensione Arteriosa*. Febbraio '93.

78. Alberti M., Fiori G.M., Biddau P.: *I linfomi non Hodgkin*. Marzo '93.
79. Arras M., Contu L.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (II)*. Aprile '93.
80. Amin R.M., Wells K.H., Poesz B.J.: *Terapia antiretrovirale*. Maggio '93.
81. Rizzetto M.: *L'epatite C*. Settembre '93.
82. Andreoni S.: *Diagnostica di laboratorio delle infezioni da lieviti*. Ottobre '93.
83. Tarolo G.L., Bestetti A., Maioli C., Giovanella L.C., Castellani M.: *Diagnostica con radionuclidi del Morbo di Graves-Basedow*. Novembre '93.
84. Pinzani P., Messeri G., Pazzagli M.: *Chemiluminescenza*. Dicembre '93.
85. Hernandez L.R., Osorio A.V.: *Applicazioni degli esami immunologici*. Gennaio '94.
86. Arras M., Contu L.: *Molecole di Membrana e funzione immunologica. Parte terza: I Infociti B*. Febbraio '94.
87. Rossetti R.: *Gli streptococchi beta emolitici di gruppo B (SGB)*. Marzo '94.
88. Rosa F., Lanfranco E., Balleari E., Massa G., Ghio R.: *Marcatori biochimici del rimodellamento osseo*. Aprile '94.
89. Fanetti G.: *Il sistema ABO: dalla sierologia alla genetica molecolare*. Settembre '94.
90. Buzzetti R., Cavallo M.G., Giovannini C.: *Citochine ed ormoni: Interazioni tra sistema endocrino e sistema immunitario*. Ottobre '94.
91. Negrini R., Ghielmi S., Savio A., Vaira D., Miglioli M.: *Helicobacter pylori*. Novembre '94.
92. Parazzini F.: *L'epidemiologia della patologia ostetrica*. Febbraio '95.
93. Proietti A., Lanzafame P.: *Il virus di Epstein-Barr*. Marzo '95.
94. Mazzarella G., Calabrese C., Mezzogiorno A., Peluso G.F., Micheli P., Romano L.: *Immunoflogosi nell'asma bronchiale*. Maggio '95.
95. Manduchi I.: *Steroidi*. Giugno '95.
96. Magalini S.I., Macaluso S., Sandroni C., Addario C.: *Sindromi tossiche sostenute da principi di origine vegetale*. Luglio '95.
97. Marin M.G., Bresciani S., Mazza C., Albertini A., Cariani E.: *Le biotecnologie nella diagnosi delle infezioni da retrovirus umani*. Ottobre '95.
98. La Vecchia C., D'avanzo B., Parazzini F., Valsecchi M.G.: *Metodologia epidemiologica e sperimentazione clinica*. Dicembre '95.
99. Zilli A., Biondi T., Conte M.: *Diabete mellito e disfunzioni conosciute*. Gennaio '96.
100. Zazzeroni F., Muzi P., Bologna M.: *Il gene oncosoppressore p53: un guardiano del genoma*. Marzo '96.
101. Cogato I., Montanari E.: *La Sclerosi Multipla*. Aprile '96.
102. Carosi G., Li Vigni R., Bergamasco A., Caligaris S., Casari S., Matteelli A., Tebaldi A.: *Malattie a trasmissione sessuale*. Maggio '96.
103. Fiori G.M., Alberti M., Murtas M. G., Casula L., Biddau P.: *Il linfoma di Hodgkin*. Giugno '96.
104. Marcante R., Dalla Via L.: *Il virus respiratorio sinciziale*. Luglio '96.
105. Giovanella L., Ceriani L., Roncari G.: *Immunodosaggio dell'antigene polipeptidico tissutale specifico (TPS) in oncologia clinica: metodologie applicative*. Ottobre '96.



**Caleidoscopio**  
**Rivista mensile di Medicina**  
anno 14, numero 105

**Direttore Responsabile**


Sergio Rasso  
Via Pietro Nenni, 6  
07100 Sassari  
Tel.-Fax 079 270464  
Tel. mobile 0360 509973  
E-mail: rasso@mbox.vol.it

**Responsabile Commerciale**

Alessandra Pater

**EDITORE**



 **MEDICAL SYSTEMS SpA**

**Consulenti di Redazione**

Giancarlo Mazzocchi ed  
Angelo Maggio

**Segretaria di Direzione**

Giovanna Nieddu

**Servizio Abbonamenti**

Fina Grandeppieno  
Flavio Damarciasi

Via Rio Torbido, 40  
16165 Genova (Italy)  
Tel. (010) 83401 Numero Verde 167 801005 (senza prefisso);  
Telex 270310 Ideal I.  
Telefax (010) 803498- 809070.

Internet URL: <http://www.vol.it/pandora>

La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Journal of Clinical Ligand Assay, Manuali Pratici Immulite, Caleidoscopio Español, Kaleidoscope, Caleidoscopio letterario, Caleidoscopio literario, Pandora, The Medical Systems Voice, Journal of Preventive Medicine and Hygiene.

**Stampa**

ALGRAPHY S.n.c.  
Passo Ponte Carrega, 62 R. - GENOVA  
tel. 010/8366272 - Fax 010/8358069

Registrazione Tribunale di Genova n. 34 del 31/7/1996  
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989

Finito di stampare: Ottobre 1996  
Sped. in Abb. Post. 50%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:  
"L'ECO DELLA STAMPA"  
Via Compagnoni, 28 - Milano

SAGGIO FUORI COMMERCIO ESENTE IVA E BOLLA DI ACCOMPAGNAMENTO (Art. 4 - 3/8/6  
DPR 627/78