

Received: 2004.01.19
Accepted: 2004.06.23
Published: 2004.07.19

Markery nowotworowe raka piersi

The tumor markers of breast cancer

Sławomir Ławicki, Barbara Mroczko, Maciej Szmitkowski

Zakład Diagnostyki Biochemicznej Akademii Medycznej w Białymstoku

Streszczenie

Rak piersi jest najczęstszym nowotworem złośliwym u kobiet. Markery nowotworowe wykazują przydatność w wykrywaniu raka piersi, w rozpoznawaniu, w określeniu stopnia zaawansowania, w monitorowaniu skuteczności chemioterapii lub radioterapii i w wykrywaniu wznowy. W niniejszej pracy omówiono przydatność diagnostyczną markerów nowotworowych najczęściej oznaczanych w raku piersi, takich jak CA 15-3, CEA, TPS, ze szczególnym uwzględnieniem cytokin oraz molekularnych markerów karcynogenezy. Wykazano również znaczenie prognostyczne markerów, oznaczanych w materiale biopsyjnym raka piersi.

Słowa kluczowe:

rak piersi • CA 15-3 • CEA • TPS • cytokiny • markery nowotworowe

Summary

The most frequent cancer amongst women is that of the breast. Tumor markers may be helpful in the early diagnosis of breast cancer and the initial assessment of the extent of disease, as well as in monitoring tumor growth or volume reduction, and a recurrence of cancer. They have also been used for monitoring the clinical course of chemotherapy and radiotherapy. In this paper we focus on the role of tumor markers such as CA 15-3, CEA, and TPS in breast cancer diagnostics, including cytokines and molecular markers of carcinogenesis. We also show the prognostic significance of markers tested in breast cancer biopsies.

Key words:

breast cancer • CA15-3 • CEA • TPS • cytokines • tumor markers

Full-text PDF:

http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/5884.pdf

Word count:

4110

Tables:

2

Figures:

2

References:

80

Author's address:

Zakład Diagnostyki Biochemicznej Akademii Medycznej ul. Waszyngtona 15, 15-274 Białystok,
e-mail: zdb@amb.edu.pl

RAK PIERSI

Rak piersi jest najczęstszym nowotworem złośliwym u kobiet w Europie i Stanach Zjednoczonych [67]. Polska zalicza się do krajów o średniej zapadalności. W 1995 roku odnotowano 9173 nowych zachorowań (w 1993 roku – 8416), a standaryzowany współczynnik zapadalności wynosił 35,3/100 000. Zachorowania na raka sutka stanowiły 14% wszystkich zachorowań na nowotwory złośliwe u kobiet [57]. Obecnie z powodu tej choroby umiera około 5000 kobiet rocznie, a w każdym roku rozpoznawanych jest od 8 do 11 tysięcy nowych przypadków zachorowań i liczba ta z roku na rok wzrasta [56,64].

Czynnikami ryzyka raka piersi są przede wszystkim:

1. czynniki genetyczne (mutacje w obrębie genu BRCA1 oraz BRCA2 zwiększają ryzyko do 80%),
2. rodzinne predyspozycje (rak piersi u krewnych w pierwszym stopniu powinowactwa – ryzyko zwiększa się 3-krotnie),
3. łagodne przerosty piersi z proliferacją, np. z hiperplazją wewnątrzprzewodową,
4. aktywność hormonalna (pierwsza miesiączka przed 12 rokiem życia lub menopauza powyżej 55 roku życia),
5. egzogenne hormony płciowe, promieniowanie jonizujące, otyłość, alkohol, palenie papierosów [15,67].

Wyniki leczenia raka piersi zależą od stopnia pierwotnego zaawansowania klinicznego [46]. Największe szanse na całkowite wyleczenie mają chore z I stopniem zaawansowania raka piersi, najmniejsze z IV, co przedstawiono w tabeli 1 [56].

Rozpoznanie choroby nowotworowej, szczególnie we wczesnym stadium nowotworu, tj. w stopniu I zaawansowania – najczęściej bezobjawowym, jest obecnie jednym z najważniejszych zadań współczesnej onkologii. Metody obrazowe, do których można zaliczyć mammografię, USG, tomografię komputerową lub magnetyczny rezonans jądrowy a także inne, takie jak biopsja aspiracyjna w przypadku niewielkich zmian ogniskowych są mało skuteczne. Mammografia u kobiet powyżej 50 roku życia jest istotnym badaniem przesiewowym gruczołu piersiowego, przyczyniającym się do wcześniejszego wykrycia raka i tym samym obniżenia ryzyka zgonu o około 30% [9,49].

W nowotworach złośliwych podjęcie wczesnego i właściwego postępowania terapeutycznego daje duże szanse całkowitego wyleczenia. Najważniejsze jest jednak rozpoznanie raka w jego najwcześniejszym stadium. Rak piersi rozwija się najczęściej bezobjawowo, a wystąpienie pierwszych objawów klinicznych świadczy o jego zaawansowaniu. Współczesne metody diagnostyki raka piersi są niewystarczające, dlatego wciąż poszukuje się nowych czynników diagnostycznych, do których można zaliczyć, np. markery nowotworowe. Ich wykorzystanie może pozwolić na wcześniejsze niż dotychczas uchwycenie rozwoju procesu nowotworowego, a tym samym może obniżyć wysoką śmiertelność chorych na raka piersi [46,63].

Najczęstszym rakiem piersi jest naciekający rak inwazyjny przewodowy (80%). Drugim pod względem częstości jest naciekający rak zrazikowy (5–10%). Pozostałe postacie stanowią około 10% [56,67].

Tabela 1. Przeżycie 5-letnie w zależności od stopnia zaawansowania raka piersi [56]

Stopień klinicznego zaawansowania	Przeżycie 5-letnie (%)
I	90
II	70
III	40
IV	10

MARKERY NOWOTWOROWE

Markerem nowotworowym jest substancja wielkocząsteczkowa – najczęściej białko z komponentą węglowodanową lub lipidową, albo glikolipid – która bez względu na spełniane funkcje, jest wytwarzana albo wyłącznie w komórce nowotworowej, albo zarówno w komórce nowotworowej, jak i w komórce prawidłowej, jeżeli tylko jej wytwarzanie w nowotworze jest znacząco wyższe od wytwarzania w komórce prawidłowej [75]. W przebiegu procesów nowotworowych dochodzi bardzo często do konstytutywnej, tj. niezależnej od fizjologicznych mechanizmów regulacyjnych ekspresji genów, których produkty w komórkach nowotworowych pojawiają się tylko przejściowo – w okresie ich rozplemu i różnicowania. Jeżeli produkty takich genów z komórki nowotworowej zostaną uwolnione do płynów ustrojowych, to mogą stać się markerami przydatnymi w rozpoznawaniu i monitorowaniu choroby nowotworowej [34,72].

Markery nowotworowe odzwierciedlają trzy zjawiska toczące się w komórkach nowotworowych [75].

- Proliferacja. Stężenia markerów należących do tej grupy są funkcją szybkości podziałów komórek. Takim markerem jest np.: tkankowy polipeptydowy swoisty antygen (tissue polypeptide specific antigen – TPS).
- Różnicowanie. Stężenie tych markerów zależy od masy żywych komórek nowotworowych, który charakteryzuje niższy stopień zróżnicowania w porównaniu z odpowiednią tkanką prawidłową. Są one określane mianem antygenów płodowo-nowotworowych. Większość markerów reprezentuje tę właśnie cechę. Zaliczamy do nich: alfa-fetoproteinę (alphafetoprotein – AFP), CA 15-3, CA125, CA 19-9, antygen karcynoembrionalny (carcinoembryonic antigen – CEA), antygen gruczołu krokowego (prostate specific antigen – PSA).
- Obumieranie. Apoptoza (zaprogramowana śmierć komórek) lub martwica powodująca pojawianie się rozpuszczalnych, uwalnianych przez nowotwór produktów rozpadu. Markerami obumierających tkanek są: tkankowy polipeptydowy antygen (tissue polypeptide antigen – TPA) oraz różnorodne, rozpuszczalne fragmenty cytokeratyn (CK) np. CYFRA 21-1.

Próby klasyfikacji krążących markerów nowotworowych nie mają dysjunktywnego charakteru, stąd wiele z nich można ze względu na reprezentowane cechy zaliczyć do więcej niż jednej klasy [34], co przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Podział markerów nowotworowych [34]

Markery nowotworowe
1. Komórkowe markery nowotworowe
2. Krążące markery nowotworowe:
◆ swoiste dla nowotworu (neoantygeny)
◆ antygeny towarzyszące nowotworom:
● antygeny płodowo-zarodkowe (np.: CEA, AFP)
● antygeny łożyskowe (np.: hCG, SP-1)
● antygeny transplantacyjne (np.: CA 19-9, CA 125, CA 50, CA 15-3)
● enzymy i izoenzymy (np.: PAP, PSA, NSE)
● inne substancje biologiczne czynne (np.: ferrytyna, cytokiny, receptory cytokin)
◆ hormony wytwarzane eutopowo i ectopowo,
◆ nieswoiste markery nowotworowe (np.: cytokiny, receptory cytokin, białka ostrej fazy, pierwiastki śladowe)

Zastosowanie markerów nowotworowych w diagnostyce nowotworów

Markery nowotworowe wykazują przydatność na poszczególnych etapach procesu diagnostycznego nowotworów: w wykrywaniu (badania przesiewowe wybranych populacji), w rozpoznawaniu (badania z objawami sugerującymi istnienie nowotworu), w określeniu stopnia zaawansowania (wykorzystanie zależności stężenia danego markera od rozległości procesu nowotworowego), w lokalizowaniu zmian nowotworowych poprzez podanie znakowanego przeciwciała o dużej swoistości i powinowactwie do wybranego markera na powierzchni komórki nowotworowej, w monitorowaniu skuteczności chemioterapii lub radioterapii, w wykrywaniu wznowy po zabiegu uznanym za doszczętny [11,40].

MARKERY NOWOTWOROWE RAKA PIERSI

Współczesne metody diagnostyczne raka piersi nie są wystarczające. Skłania to do poszukiwania nowych metod, do których niewątpliwie można zaliczyć badanie stężeń markerów nowotworowych. Poszukiwanie nowych markerów nowotworowych ma ogromne znaczenie w wykrywaniu choroby, a także w monitorowaniu przebiegu leczenia chirurgicznego i uzupełniającego [44,45].

Obecnie najczęściej badanym markerem w raku piersi jest CA 15-3 [10,36,62]. Nad wykorzystaniem innych markerów w diagnostyce raka tego narządu trwają wnikliwe badania. Do tych markerów można zaliczyć: CEA [29], glikoproteinę towarzyszącą nowotworom (tumor associated glycoprotein 12 – TAG 12) [23], surowiczy antygen sutka (mammary serum antigen – MSA) [24], TPS [19, 60], CA 27.29 [40], katepsynę D, zwłaszcza w raku przewodowym [4]. Zwrócono również uwagę na wydzielanie cytokin przez komórki raka piersi. Przykładem są: interleukina 6 (IL-6) [80], interleukina 11 (IL-11) [35], insulinopodobny czynnik wzrostu (insulin-like growth factor 1 – IGF-1) oraz ekspresja jego receptorów (IGF-1R) [6, 31], transformujący czynnik wzrostu β 1 (transforming growth factor β 1 – TGF- β 1) [70], naczyniowy czynnik wzrostu (vascular endothelial growth factor – VEGF) [20, 76] i naskórkowy czynnik wzrostu (epidermal growth factor – EGF) [58]. Wykazano również ekspresję receptorów np. dla M-

CSF, a także możliwość stymulacji oraz autokrynnie wytwarzanie cytokin hematopoetycznych (HGFs) przez komórki nowotworowe raka piersi. Dotyczy to przede wszystkim wydzielania czynnika stymulującego kolonie makrofagowe (macrophage – colony stimulating factor – M-CSF) [1,22,47].

CA 15-3

CA 15-3 jest polimorficzną glikoproteiną nabłonkową, wydzielaną między innymi w zapaleniu wątroby, łagodnych zmianach nowotworowych jajnika i piersi, a także w raku piersi, płuc, jajnika, szyjki i trzonu macicy [12,40]. Marker ten wykazuje jednak największe zastosowanie w raku piersi. Jego stężenie wzrasta dość wyraźnie przy przerzutach, np. do wątroby lub też w nacieku oplotkowej [77].

Czułość diagnostyczna oznaczeń CA 15-3 jest stosunkowo niewielka w mało zaawansowanym stadium raka piersi i waha się od 30 do 40%, wzrastając wyraźnie w zależności od stopnia zaawansowania do około 70% u chorych z przerzutami. Wykazano znaczną użyteczność tego markera w monitorowaniu chemioterapii w zaawansowanym stadium nowotworu. Niektórzy autorzy zalecają wykonywanie u chorych na raka piersi łącznych oznaczeń CA 15-3 i CEA w celu poprawy wartości predykcyjnych testu [29,77].

CA 15-3 wykazuje przydatność jako marker w monitorowaniu terapii i wykrywaniu przerzutów raka piersi. Nie jest to jednak wystarczające, ze względu na to, iż pacjenci w stadium III i IV cechują się wysoką śmiertelnością oraz złym rokowaniem. Niedoskonałość CA 15-3 w diagnostyce tej choroby wynika przede wszystkim z niewielkiej przydatności diagnostycznej w mało zaawansowanym stadium raka piersi (I i II stopień według TNM), dlatego też nie nadaje się on do badań przesiewowych [33,65]. Wydaje się celowym poszukiwanie markerów, które służyłyby przede wszystkim do wykrycia raka w stadium I lub II, lub też łącznie z CA 15-3 podwyższałyby na tyle przydatność diagnostyczną, że mogłyby one służyć do wykrycia małych zmian nowotworowych. Celowym wydaje się próba łącznego oznaczania i weryfikacji wyników badań CA 15-3, np. z CEA – markerem, mającym największe znaczenie w diagnostyce nowotworów przewodu pokarmowego, ale według najnowszych doniesień wydzielanym też przez komórki raka piersi [29,41,78].

CEA

Antygen karcynoembrionalny (carcinoembryonic antigen) jest glikoproteiną o masie cząsteczkowej około 180 kDa, a największe znaczenie i przydatność diagnostyczną wykazuje w raku jelita grubego, gdzie jest on markerem najczęściej oznaczanym [45]. Zauważono również wyraźny wzrost stężenia tego markera w przebiegu innych nowotworów: trzustki, żołądka, tarczycy i narządu rodnego [2]. W miarę ulepszenia metod diagnostycznych stwierdzono, iż jest to marker przydatny również w diagnostyce raka niedrobnokomórkowego płuca [54] oraz w raku piersi [17,41].

CEA uznawany jest za uniwersalny marker przerzutów nowotworowych. U wielu chorych z przerzutami, niezależnie od umiejscowienia zmiany pierwotnej, np. w raku piersi, obserwuje się podwyższone stężenie tego markera, nawet

jeśli przed leczeniem kształtowało się poniżej wartości odcinającej. Wyniki oznaczeń CEA są również wysoce użyteczne w monitorowaniu chemioterapii. Spadek stężenia markera w trakcie leczenia jest uznawany za wyraz dobrej reakcji na leczenie i remisji procesu chorobowego, natomiast wzrost stężenia ma wysoką dodatnią wartość predykcyjną potwierdzającą progresję choroby. Wynikom oznaczeń CEA przypisywana jest istotna wartość prognostyczna. Wysokie stężenie markera w okresie przed leczeniem łączy się ze wzrostem ryzyka nawrotu choroby po leczeniu i krótszym czasem przeżycia chorych [2,14].

CEA wykazuje przydatność w rozpoznawaniu raka piersi, w monitorowaniu przebiegu leczenia i wykryciu wczesnej wznowy wymagającej dodatkowego leczenia. Wykazano, iż oznaczenie tego markera pozwala wykryć nawroty oraz przerzuty raka piersi, zwłaszcza przy jednoczesnym oznaczeniu z innymi markerami, np. z TPS lub z CA 15-3 [11,78].

CA 15-3 i CEA badano w grupie 364 pacjentek z rakiem piersi przed operacją bez klinicznych oznak przerzutów. Wysokie poziomy obu markerów nowotworowych były związane z nowotworami o wysokiej frakcji fazy S. Podwyższone stężenie CA 15-3 było skorelowane z liczbą przerzutów do węzłów chłonnych oraz naciekiem nowotworowym. Analizując wartości przedoperacyjne, stosując wartość odcięcia CA 15-3 – 40 U/ml i CEA – 6 ng/ml, zauważono, iż były one istotne statystycznie dla zaawansowanego raka piersi, zwłaszcza za obecnymi przerzutami odległymi [10].

TPS

TPS (tissue polypeptide – specific antigen) jest uznawany za marker proliferacji komórek nowotworowych. Podwyższone stężenia TPS w surowicy stwierdza się u zdrowych kobiet w okresie okołoolowulacyjnym, w III trymestrze ciąży, w okresie przedporodowym oraz kilka dni po porodzie. Wykrywano także TPS w płynie owodniowym oraz krwi łożyskowej. Opisano wzrost poziomu TPS w surowicy chorych na marskość wątroby, wirusowe zapalenie wątroby oraz u nosicieli antygenu HBs. Jako wartość odcinającą w interpretacji wyników oznaczeń TPS przyjmuje się najczęściej stężenie antygenu w granicach 80–100 U/l. Podwyższone stężenie tego markera, podobnie jak i TPA, stwierdza się w wielu stanach zapalnych i chorobach o etiologii nienowotworowej, co w niewątpliwy sposób obniża swoistość diagnostyczną wyników oznaczeń tego markera i ogranicza ich użyteczność w rozpoznawaniu nowotworu, czy w ocenie zaawansowania choroby. Podkreślana jest natomiast przydatność wyników oznaczeń TPS w monitorowaniu chemioterapii niektórych nowotworów złośliwych, w tym również raka piersi, jako badania wykonywanego komplementarnie w stosunku do oznaczeń markerów o relatywnie najwyższej czułości diagnostycznej dla danego nowotworu. Przykładem może tu być wykorzystanie oznaczeń TPS łącznie z CA 125 w monitorowaniu chemioterapii chorych na raka jajnika, łącznie z CEA w raku jelita grubego, łącznie z NSE w drobnokomórkowym raku płuc a z CA 15-3 w raku piersi [5,19].

Rozwój nowotworu złośliwego z wysokim wskaźnikiem proliferacji wiąże się z podwyższonymi stężeniami TPS w surowicy. Wysokie stężenie markera w surowicy nie jest

prostym odzwierciedleniem masy guza, tzn. małe guzy mogą powodować znaczne podwyższenie stężenia TPS, a guzy o dużej masie mogą wiązać się z umiarkowanym wzrostem poziomu markera. Wykazano zwiększoną ekspresję TPS w zmienionym nowotworowo nabłonku raka piersi, co umożliwia zastosowanie tego markera w diagnostyce i monitorowaniu raka. Podkreśla się szczególne znaczenie tego markera w monitorowaniu leczenia, zwłaszcza u chorych z przerzutami do kości, wątroby i płuc. Seryjne oznaczanie TPS w surowicy chorych po leczeniu operacyjnym pozwala na wczesne wykrycie wznowy lub progresji choroby. Jednoczesne oznaczanie markerów konwencjonalnych, takich jak CA 15-3 i CEA, oraz markera proliferacji (TPS) znacznie zwiększa jego przydatność diagnostyczną [18,19,36,59].

Wykazano wysoką czułość diagnostyczną TPS w wykrywaniu przerzutów raka piersi do kości (90–95%). W miejscowo zaawansowanym nowotworze czułość wyniosła (40–45%). Przy łącznym oznaczaniu TPS z CA 15-3 czułość wzrastała do 98% przy przerzutach do kości i do 75% w zaawansowaniu miejscowym. Wykazano ponadto, iż TPS jest lepszym markerem wykrycia wznowy raka piersi (czułość diagnostyczna 78%) aniżeli CA 15-3 (czułość 58%). Ponadto wykazano, iż obniżenie stężenia TPS po zastosowanej chemioterapii jest dobrym wskaźnikiem skuteczności leczenia oraz ma znaczenie prognostyczne w stosunku do długości przeżycia chorych z rakiem piersi [19].

Część autorów uważa, że wyraźne podwyższenie stężenia przynajmniej jednego z markerów (CA 15-3, CEA, TPA lub TPS) u chorych na raka piersi przed leczeniem może być wykładnikiem obecności wczesnych przerzutów. Ta sugestia nie znajduje potwierdzenia w szerszych badaniach chorych z mało zaawansowanym stadium nowotworu (I i II stopień wg TNM: pT1N0M0 i pT2N0M0 łącznie z grupą pT1-2N1M0), którzy nie otrzymywali uzupełniającej hormono- lub chemioterapii. Początkowo podwyższony poziom markerów ulegał obniżeniu po pierwotnym leczeniu chirurgicznym, a częstość i czas rozwoju przerzutów u chorych tej grupy był taki sam jak u tych z prawidłowym poziomem markerów przed leczeniem [78].

Zasadniczym celem wykorzystania badań markerów nowotworowych, tj. CA 15-3, CEA, a szczególnie TPS u chorych na raka piersi jest monitorowanie leczenia i ocena efektywności uzupełniającej hormono- lub chemioterapii. Porównując wartości czułości diagnostycznej w grupie pacjentów z rakiem przed uzupełniającym leczeniem wykazano wartości 65% dla TPS, 70% dla CA 15-3 oraz 59% dla CEA. Kombinacja łącznego oznaczenia TPS z CA 15-3 podwyższała czułość diagnostyczną do 78%. Wykazano, że przy dobrej reakcji na leczenie, poziom TPS wykazywał częściej i wcześniej obniżenie aniżeli CA 15-3. Spadek stężenia CA 15-3 obserwowano u 50% chorych, natomiast TPS u 79%, przy czym następował on po około 2,7 miesiąca dla CA 15-3 i po 1,1 miesiąca po wprowadzonym leczeniu dla TPS. Podsumowując można stwierdzić, że spadek stężenia badanych markerów odzwierciedla z wyraźnym wyprzedzeniem dobry efekt terapii, co ma znaczenie prognostyczne. Wykazano ponadto, iż uzyskanie 95% czułości diagnostycznej w badaniu progresji procesu nowotworowego możliwe jest przy jednoczesnym oznaczaniu stężenia TPS i CA 15-3 [78].

CYTOKINY

Cytokinami określa się czynniki regulujące funkcje wielu komórek i warunkujące wzajemne oddziaływanie, poprzez aktywację tych komórek lub ich inhibicję [21]. Procesy wzrostu i różnicowania się komórek zachodzą zawsze z udziałem kilku cytokin działających w sekwencji, a synteza niektórych z nich indukuje kaskadowo uwalnianie dalszych mediatorów i ekspresję ich receptorów. Działanie cytokin jest dość dobrze poznane w przebiegu odpowiedzi immunologicznej oraz w procesach krwiotworzenia i angiogenezy, chociaż stan wiedzy w badaniach nad tymi układami jest stale uzupełniany o nowe istotne elementy [25,72]. Cytokiny w odpowiedzi na bodziec są szybko syntetyzowane i uwalniane w bardzo małych ilościach, a ich działanie może mieć charakter autokryny, parakryny lub endokryny [50]. Mechanizm ten ma między innymi znaczny udział w rozwoju wielu białaczek i chłoniaków [28] oraz guzów litych [13,68].

Ocena wydzielania i syntezy cytokin, a także ekspresji ich receptorów przez komórki różnych nowotworów stała się możliwa dopiero w wyniku rozwoju metod molekularnej identyfikacji transkryptów genów i wykazania obecności mRNA dla niektórych cytokin w komórkach nowotworowych i potwierdzenia ich autokrynnego, czyli bezpośredniego wytwarzania przez nowotwór [47]. Zauważono obecność mRNA dla czynnika stymulującego kolonie makrofagowe (M-CSF) i wydzielanie tej cytokiny, często połączone z wydzielaniem innych czynników, np. z IL-6, IL-1 β , IL-11, TNF- α w raku jajnika [3]. Wytwarzanie IL-5 oraz IL-10, a także obecność mRNA wykazano w pięciu badanych liniach komórkowych raka niedrobnokomórkowego płuca, stwierdzając również ekspresję IL-4 oraz IL-13 [27]. Zauważono również wydzielanie przez komórki raka jelita grubego czynników wzrostowych, np. VEGF [76], IGF-I [31] lub IGF-II [60]. Cytokiny hematopoetyczne spełniają również wymagania stawiane markerom nowotworowym. Z nowszych badań wynika, iż w komórkach guzów litych, podobnie jak w komórkach nowotworów limfoidalnych, dochodzi do syntezy cytokin hematopoetycznych i/lub ekspresji ich receptorów. Podwyższone stężenie w surowicy czynnika wzrostu komórek pnia (stem cell factor – SCF), IL-3, czynnika stymulującego kolonie granulocytów i makrofagów (granulocyte–macrophage colony stimulating factor – GM-CSF) oraz czynnika stymulującego kolonie granulocytarne (granulocyte – colony stimulating factor – G-CSF) zaobserwowano w przebiegu niedrobnokomórkowego raka płuca [51,52,55], GM-CSF i M-CSF w raku jelita grubego [53]. Ekspresję receptorów oraz autokrynnie wytwarzanie SCF oraz GM-CSF i M-CSF stwierdzono w raku gruczołu krokowego [68]. Oznaczanie M-CSF może być także uzupełnieniem diagnostyki z użyciem markera dotychczas stosowanego w diagnostyce raka jajnika, tj. CA 125 [69].

Uwalnianie cytokin, a także ich receptorów przez nowotwory złośliwe do krwi i różnych płynów ustrojowych, a także zależność między ich podwyższonym stężeniem a stopniem zaawansowania procesu nowotworowego, otwiera interesujące perspektywy wykorzystania ich jako markerów nowotworowych. Markery te mogą być użyteczne w rozpoznawaniu, programowaniu przebiegu i w ocenie skuteczności leczenia pacjentów z chorobami nowotwo-

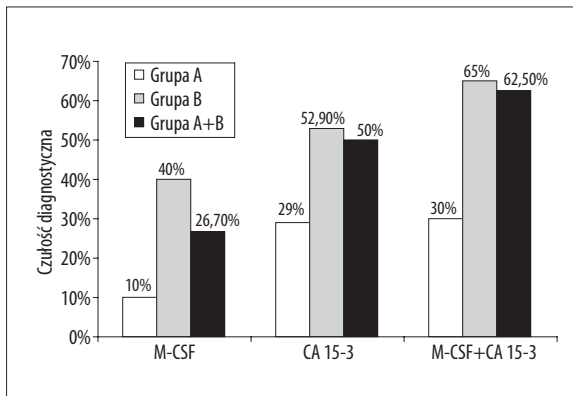
rowymi. Dotyczy to zwłaszcza tych nowotworów, dla których inne metody diagnostyczne są niewystarczające, wymaga to jednak badań i obserwacji [43]. Znaczenie cytokin jako markerów nowotworowych w raku piersi zostało wyczerpująco przedstawione we wcześniejszym własnym artykule, opublikowanym w *Postęпах Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. Poniższe dane uzupełniono jednak o nowe informacje, dotyczące znaczenia cytokin jako markerów nowotworowych.

M-CSF w raku piersi

W warunkach *in vitro* wykazano wydzielanie M-CSF w liniach komórkowych T47D, ZR751, MCF-7, SKBR3, MDA-MB-436, MDA-MB-231, BT549 i BT20 raka piersi [66,79]. Wykazano również w liniach komórek nowotworowych nie tylko wydzielanie M-CSF, ale również ekspresję receptorów dla tej cytokiny [32]. W liniach MDA-MB-436, MDA-MB-231 i BT549 zauważono też wydzielanie urokinazowego aktywatora plazminogenu (uPA), wpływającego między innymi na aktywność prokolagenazy, ułatwiający w ten sposób osiedlanie się i inwazję przerzutowych komórek nowotworowych, co może powodować dużą złośliwość procesu nowotworowego i w konsekwencji złe rokowanie [79]. Badania na zwierzętach potwierdzają, iż wydzielany M-CSF ułatwia osiedlanie się przerzutowych komórek nowotworowych do narządów, a szczególnie do kości, przez wzmożoną aktywację osteoklastów i tym samym miejscową osteolizę. Wynika z tego, iż duże stężenie czynnika stymulującego kolonie makrofagowe może mieć znaczenie prognostyczne i rokownicze, i może cechować raka o dużej inwazyjności zwłaszcza do kości [8,47]. Wydzielany miejscowo M-CSF wpływa na autokryny wzrost komórek nowotworowych raka piersi, nasilając jednocześnie intensywność wzrostu guza. Wykazano, iż zaobserwowanie receptorów M-CSF hamuje wzrost guza, a to może się okazać nową strategią leczenia raka piersi [1,22].

Analizując poziom stężeń M-CSF u chorych z rakiem piersi zauważono, iż może być on czynnikiem pomocnym w diagnostyce raka piersi. Wyraźnie wyższe stężenia tej cytokiny zaobserwowano u chorych w zaawansowanym stadium raka piersi (stopień III i IV), co ma znaczenie rokownicze [48]. Wykazano ponadto, iż podwyższone stężenie M-CSF występuje u około 70% pacjentek z rakiem piersi i koreluje z prognozą leczenia tego nowotworu [39].

Na podstawie najnowszych własnych badań [42], wykazano zastosowanie tego markera w mało zaawansowanym stadium raka piersi. Oceniano poziom stężeń M-CSF w osoczu pacjentek w I (grupa A) i II (grupa B) stopniu zaawansowania. Uzyskane wyniki porównywano z grupą kontrolną oraz markerem dotychczas stosowanym w diagnostyce raka piersi, tj. CA 15-3. Wykazano, iż stężenie M-CSF w grupie badanej było wyższe (352,38 pg/ml) niż w grupie kontrolnej (290,71 pg/ml). Analizując zależność stężeń M-CSF od stopnia zaawansowania nowotworu, stwierdzono znamienne wyższe stężenie tej cytokiny w grupie z II stopniem zaawansowania (390,45 pg/ml) aniżeli z I (278,34 pg/ml), co stanowiło różnicę istotną statystycznie ($p=0,0127$). Ponadto znamienność statystyczną dla tej cytokiny zaobserwowano również między grupą B a pacjentkami grupy kontrolnej ($p=0,013$). Stężenia CA 15-3 również były wyższe niż w grupie kontrolnej. Podobną zależność zauważono między



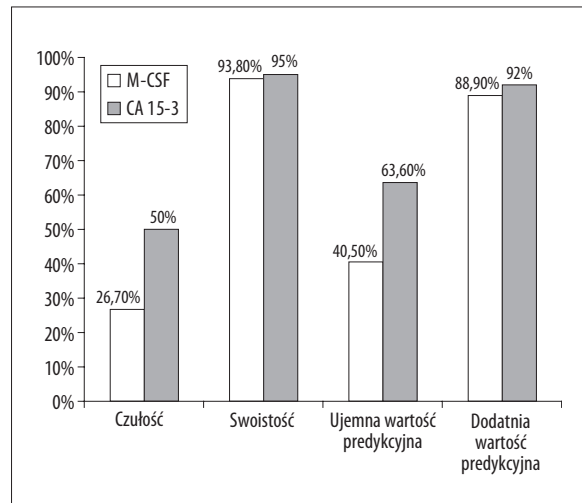
Ryc. 1. Czulość diagnostyczna M-CSF i CA 15-3 w zależności od stopnia zaawansowania (grupa A – I stopień, grupa B – II stopień) raka piersi [42]

dzy II stopniem zaawansowania a grupą kontrolną, wykazując w obu przypadkach różnicę istotną statystycznie. Czulość diagnostyczna M-CSF wynosiła 26,7% wzrastając w bardziej zaawansowanym stadium nowotworu odpowiednio z 10 (grupa A) do 40% (grupa B). Wyraźny wzrost czulości diagnostycznej do 62,5% zaobserwowano przy łącznej analizie badanej cytokiny i CA 15-3 (ryc. 1). Wykazano ponadto wysokie wartości swoistości diagnostycznej wynoszące 93,8% dla M-CSF i 95% dla CA 15-3 oraz wysoką dodatnią wartość predykcyjną, co przedstawiono na rycinie 2 [42].

Inne cytokiny jako markery nowotworowe raka piersi

Wydzielanie IL-6 przez komórki raka piersi zauważono zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo*. IL-6 jest wytwarzana przez limfocyty T i B, monocyty, makrofagi, fibroblasty, komórki endotelium, keratynocyty, mastocyty, neutrofile, niektóre komórki nerwowe, a także komórki wielu linii nowotworowych [61]. Duże stężenia IL-6 zauważono w surowicy pacjentek z rakiem piersi, zwłaszcza w stadium zaawansowanym nowotworu oraz w obecności przerzutów, np. do wątroby lub też przy współistniejącym naciekowi oplotnej. Wysoki poziom IL-6 wyraźnie korelował z podwyższonym stężeniem CRP (C-reactive protein). Nieskuteczności zastosowanej chemioterapii (progresja) towarzyszyło wysokie stężenie IL-6, co było czynnikiem wyraźnie źle rokującym. Dlatego też stwierdzono, iż cytokina ta może być czynnikiem pomocniczym w ocenie progresji leczenia raka piersi i rokowniczym w diagnostyce tego nowotworu, zwłaszcza w stadium zaawansowanym [80].

Wydzielanie insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-I) oraz ekspresję jego receptorów (IGF-IR) wykazano w liniach komórkowych MDA-MB-231 i MCF-7 raka piersi. Zauważono, iż IGF-I wpływał na nasilenie migracji komórek nowotworowych w obu badanych liniach komórkowych. Linia nowotworowa raka piersi MCF-7, z obecnymi receptorami IGF-IR, wykazywała większą proliferację i migrację pod wpływem IGF-I, zwiększoną radiooporność i wydłużony czas przeżycia komórek. Aktywacja ścieżki IGF-IR/IGF-I w komórkach ekspozujących receptory estrogenowe (ER-dodatnich) nasilała wzrost nowotworowy komórek raka piersi i przeciwdziałała apoptozie, zaindukowanej podczas leczenia raka piersi, np. chemioterapią.



Ryc. 2. Parametry diagnostyczne – M-CSF i CA 15-3 w raku piersi [42]

Ponadto zauważono, iż przeciwciała anti-IGF-IR efektywnie redukowały potencjał przerzutowy komórek nowotworowych [6].

Wydzielanie naskórkowego czynnika wzrostu (EGF) wykazano w linii komórkowej MDA-MB-231 raka piersi [58]. Wykazano również znaczenie prognostyczne receptora naskórkowego czynnika wzrostu, tj. EGFR. Według danych w raku piersi w 35–60% przypadków stwierdza się nadmierną ekspresję tego receptora. U pacjentek z nadmierną ekspresją EGFR zauważono bardziej agresywny przebieg raka piersi oraz gorsze rokowanie [56]. Wydzielanie EGF może być często połączone z wydzielaniem SCF [26], co zauważono w linii MCF-7 raka piersi. Wykazano, iż oba te czynniki są czynnikami wzrostowymi linii MCF-7.

Ocena wydzielania cytokin przez komórki raka piersi ograniczała się przede wszystkim do badań w warunkach *in vitro*. Trwają jednak próby analizy stężeń cytokin w nowotworach u ludzi w warunkach *in vivo*. Zagadnienie to wymaga jednak wielu dalszych badań i obserwacji.

MOLEKULARNE MARKERY KARCINOGENEZY

Nową grupę markerów nowotworowych stanowią molekularne markery karcynogenezy. Nowotwór jest chorobą genetyczną, której najczęstszą przyczyną jest mutacja pojedynczej komórki somatycznej prowadząca do spontanicznej transformacji nowotworowej. Znacznie rzadszym zjawiskiem jest dziedziczna predyspozycja do powstawania nowotworów, która polega na przekazywaniu przez rodziców zmutowanego genu. Wiele zmian molekularnych, głównie mutacji, może zaburzać funkcje protoonkogenów, prowadząc do ich nieprawidłowej aktywacji. Wówczas są nazywane onkogenami. W guzach nowotworowych piersi zaobserwowano zjawisko powstawania wielu kopii, czyli amplifikacji niektórych onkogenów, lub nadmiernej ekspresji odpowiadającego im mRNA oraz produktów białkowych. Zjawisko to często wiąże się ze zwiększeniem złośliwości guza nowotworowego i tym samym ze złym rokowaniem. Do najczęściej opisywanych onkogenów, ulegających potwarzalnym zaburzeniom w raku piersi należą: *c-erbB2/HER-2/neu*, *c-myc* i *N-myc* oraz *int2* [15,37].

Do wzrostu aktywności onkogenów i rozwoju guza nowotworowego prowadzą w niektórych przypadkach geny supresorowe, np. w przypadku utraty funkcji poprzez mutację. Najsilniej związane z powstawaniem raka sutka są geny supresorowe, takie jak *BRCA1* i *BRCA2*, a także inne – *NBR1* i *NBR2*. Na supresorowy charakter genu *BRCA1* wskazuje to, iż w komórkach 80% guzów raka piersi wykrywa się utratę heterozygotyczności regionu q12-21 chromosomu 17, w którym jest umiejscowiony ten gen [15,16]. Genem supresorowym, który ulega najczęściej mutacjom (prawie w 50%) w różnych nowotworach u człowieka, jest gen *p53* umiejscowiony w chromosomie 17 regionu p13. Obecność mutacji genu *p53* obserwuje się w ponad 50% raków piersi. Na ogół występowanie zaburzeń w obrębie tego genu jest związane z brakiem receptorów estrogenowych i oznacza gorsze rokowanie. W około połowie tych przypadków stwierdza się jednocześnie amplifikację onkogenów *c-myc*, *c-erbB2* i/lub *int2* [15,38].

MARKERY PROGNOSTYCZNE WYKRYWANE W BIOPSIACH RAKA PIERSI

Receptor *HER*

Receptory *HER-1* i *HER-2* są białkami kodowanymi przez gen *c-erbB-2* i należą do transbłonowych receptorów kinazy tyrozynowej [74]. Pobudzenie tych receptorów powoduje stymulację podziału komórki nowotworowej. Wykazano ponadto, iż nadmierna ekspresja receptorów *HER* często towarzyszy podwyższonemu poziomowi stężenia VEGF jako głównego czynnika naczyniotworzenia w obrębie guza nowotworowego. Nadmierną ekspresję tych receptorów stwierdza się w około 20–30% przypadków raka piersi i jest to zawsze związane z gorszym rokowaniem i krótszym czasem przeżycia pacjentek. Dotyczy to zarówno chorych z przerzutami do pachowych węzłów chłonnych, jak i bez tych przerzutów. Receptory *HER*, a szczególnie *HER-2* są parametrami niezależnymi od zaawansowania raka piersi. Wykazano ponadto, iż zablokowanie receptora *HER-2* u pacjentek z dużą ich ekspresją, np. przez podanie przeciwciała, blokującego ten receptor skutkuje lepszym rokowaniem i dłuższym czasem przeżycia chorych z rakiem piersi [56,74].

Receptory estrogenowe i progesteronowe

Na podstawie licznych badań wykazano, iż obecność receptorów estrogenowych ER (+) wiąże się ze wzrostem odpowiedzi na leczenie hormonalne i wyraźnie wpływa na wydłużenie życia pacjentów z rakiem piersi. Obecność receptorów progesteronowych PgR (+) ma podobną wartość, zwłaszcza u kobiet przed menopauzą. Wykazano, iż pobudzenie przez receptory estrogenowe lub progesteronowe powoduje wzrost proliferacji komórek nowotworowych raka piersi [71]. Jednak ekspresja tych receptorów umożliwia wprowadzenie do leczenia hormonoterapii, np. z użyciem tamoxifenu lub też nowego leku o nazwie fulvestrant, co znacznie wydłuża życie pacjentek. Dotyczy to ludzi w każdym wieku, a szczególnie pacjentek starszych, gdzie wprowadzenie tradycyjnej chemioterapii wiązałoby się z wieloma działaniami niepożądanymi [30].

Enzymy

Katepsyna D zaliczana jest do proteaz lizosomalnych. Wykazano, iż zwiększenie jej aktywności w guzie koreluje z gorszym rokowaniem [4]. Wykazano podwyższoną aktywność katepsyny D w materiale biopsyjnym raka piersi u 70% pacjentów, u których leczenie zakończyło się niepowodzeniem i śmiercią [7]. Enzym ten wpływa na funkcję błony podstawnej. Dzięki temu odgrywa rolę w mechanizmie inwazji i przerzutowania. Zwiększenie jego aktywności w guzie koreluje z gorszym rokowaniem i większą inwazyjnością komórek nowotworowych raka piersi [7,56].

Zauważono również przydatność urokinazowego aktywatora plazminogenu (urokinase-type plasminogen activator – uPA) oraz inhibitora aktywatora plazminogenu 1 (plazminogen activator inhibitor 1 – PAI-1) jako wskaźników rokowniczych [73]. Białka te niszczą macierz pozakomórkową, której zadaniem jest związanie z sobą prawidłowych komórek tworzących tkanki, ułatwiając tym samym naciekanie i powstawanie przerzutów raka piersi. Wykazano, iż całkowite przeżycie u kobiet z małą aktywnością uPA i PAI-1 były dwukrotnie dłuższe niż u pacjentek z dużym stężeniem tych białek. Zauważono, iż duża aktywność uPA i PAI-1 jako czynników prognostycznych zwiększa ryzyko nawrotu raka piersi ponad dwukrotnie.

PIŚMIENICTWO

- [1] Aharinejad S., Abraham D., Paulus P., Hofmann M., Grossschmidt K., Schafer R., Stanley E.R., Hofbauer R.: Colony-stimulating factor-1 antisense treatment suppresses growth of human tumor xenografts in mice. *Cancer Res.*, 2002; 62: 5317–5324
- [2] Andrzejewski A., Tarkowski A., Misiuna P., Wallner G.: Zachowanie się antygenu rakowo-rodowego u chorych z nowotworami przewodu pokarmowego. *Pamiętnik 54. Zjazdu TCHP, Kraków, 1989*; 3: 222–225
- [3] Asschert J.G.W., Vellenga E., Hollema H., Van der Zee A.G.J., de Vries E.G.E.: Expression of macrophage colony-stimulating factor (M-CSF), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-11 (IL-11) and tumour necrosis factor- α (TNF- α) in p53-characterised human ovarian carcinomas. *Eur. J. Cancer*, 1997; 33: 2246–2251
- [4] Azis S., Pervez S., Khan S., Kayani N., Rahbar M.: Immunohistochemical cathepsin D expression in breast cancer. Correlation with established pathological parameters and survival. *Pathol. Res. Pract.*, 2001; 197: 551–557
- [5] Barak V., Nisman B., Hubert A., Lyass O., Kaduri L., Peretz T.: Prognostic efficacy of TPS in breast cancer. *J. Tumor Marker Oncol.*, 2000; 15: 171–176
- [6] Bartucci M., Morelli C., Mauro L., Ando S., Surmacz E.: Differential insulin-like growth factor 1 receptor signaling and function in estrogen receptor (ER) – positive MCF-7 and ER – negative MDA-MB-231 breast cancer. *Cancer Res.*, 2001; 61: 6747–6754
- [7] Bossard N., Descotes F., Bremond A.G., Bobin Y.: Keeping data continuous when the prognostic impact of a tumor marker: an example with cathepsin D in breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2003; 82: 47–48
- [8] Bourguignon L.Y., Singleton P.A., Zhu H., Diedrich F.: Hyaluronan-mediated CD44 interaction with RhoGEF and Rho kinase promotes Grb2-associated binder-1 phosphorylation and phosphatidylinositol 3-kinase signaling leading to cytokine (macrophage-colony stimulating factor) production and breast tumor progression. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 29420–29434
- [9] Budner M., Ruhland F., Przybylski M., Spaczyński M.: Diagnostyka wczesnych stanów przedrakowych raka piersi. *Współczesna Onkol.*, 2002; 6: 288–299
- [10] Canizares F., Sola J., Perez I., Tovar L., Salinas J., Penafiel R., Martinez P.: Preoperative values of CA 15-3 and CEA as prognostic factors in breast cancer: A multivariate analysis. *Tumor Biol.*, 2001; 22: 273–281

- [11] Cheung K.L., Evans A.J., Robertson J.F.R.: The use of blood tumor markers in the monitoring of metastatic breast cancer unassessable for response to systemic therapy. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2001; 67: 273–278
- [12] Colomer R., Ruibal A., Genolia J.: Circulating CA 15-3 levels in the postsurgical follow-up of breast cancer patients and in non-malignant diseases. *Breast Cancer Res. Treat.*, 1989; 13: 123–133
- [13] Dedhar S., Gadbouly L., Galloway P., Eaves C.: Human granulocyte-macrophage stimulating factor is a growth factor active on a variety of cell types of nonhematopoietic origin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988; 88: 85–90
- [14] Dembińska-Kieć A., Naskalski J.W.: Pojęcie normy wartości referencyjnych i ich znaczenie dla formułowania diagnozy. *Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej*. Urban&Partner, Wrocław, 2002; 4: 47–57
- [15] Dimitrov S.D., Matouskova E., Forejt J.: Expression of BRCA1, NBR1 and NBR2 genes in human breast cancer cells. *Folia Biol.*, 2001; 47: 120–127
- [16] Duffy M.J.: Biochemical markers in breast cancer: which ones are clinically useful? *Clin. Biochem.*, 2002; 34: 347–352
- [17] Ebeling F.G., Stieber P., Untch M., Nagel D., Konecny G.E., Schmitt U.M.: Serum CEA and CA 15-3 as prognostic factors in primary breast cancer. *Br. J. Cancer*, 2002; 86: 1217–1222
- [18] Einarsson R.: TPS: A cytokeratin serum tumor marker for effective therapy control of cancer patients with focus on breast cancer. *J. Clin. Ligand Assay*, 1999; 22: 348–351
- [19] Einarsson R., Lindman H., Bergh J.: Use of TPS and CA 15-3 assays for monitoring chemotherapy in metastatic breast cancer patients. *Anticancer Res.*, 2000; 20: 5089–5094
- [20] Findeisen R., Albrecht S., Richter B., Deutschmann K., Zimmerman T., Distler W.: Chemiluminometric determination of tissue polypeptide antigen (TPA), cancer antigen 15-3 (CA 15-3), carcinoembryonic antigen (CEA) in comparison with vascular endothelial growth factor (VEGF) in follow-up of breast cancer. *Luminescence*, 2000; 15: 283–289
- [21] Gadina M., Hilton D., Johnson J.A., Morinobu A., Lighvani A., Zhou Y., Visconti R., O’Shea J.J.: Signaling by type I and II cytokine receptors: ten years after. *Curr. Opin. Immunol.*, 2001; 13: 363–373
- [22] Grano M., Mori G., Minielli V., Colucci S., Vaira S., Gianelli G., Martemucci S., Giorgino F., Zallone A.Z.: HGF and M-CSF modulate adhesion of MDA-MB-231 breast cancer cell by increasing osteopontin secretion. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, 2002; 16: 190–195
- [23] Heinze T., Lichtenegger W.: Tumor associated glycoprotein (TAG) 12: a new tumour markers in breast cancer. *Anticancer Res.*, 2000; 20: 5049–5052
- [24] Heinze T., Schurenkamper P., Minguillon C., Lichtenegger W.: Mammary serum antigen (MSA), CA 549, CA 15-3 and CEA in breast cancer: preoperative sensitivity and correlation to prognostic factors. *Anticancer Res.*, 1997; 17: 2953–2954
- [25] Heymann D., Guicheux J., Gouin F., Passuti N., Daculsi G.: Cytokines, growth factors and osteoclasts. *Cytokine*, 1998; 10: 155–168
- [26] Hines S.J., Litz J.S., Krystal G.W.: Coexpression of c-kit and stem cell factor in breast cancer results in enhanced sensitivity to members of the family of growth factors. *Breast Cancer Res. Treatm.*, 1999; 58: 1–7
- [27] Huang M., Wang J., Lee P., Sharma S., Mao J.T., Meissner H., Uyemura K., Modlin R., Wollman J., Dubinett S.M.: Human non-small cell lung cancer cells express a type 2 cytokine pattern. *Cancer Res.*, 1995; 55: 3847–3853
- [28] Hus I., Dmoszyńska A.: Udział cytokin w patogenezie ostrych białaczek. Część I. Cytokiny w ostrej białaczce szpikowej. *Acta Haemat. Pol.*, 1999; 30: 13–21
- [29] Jager W., Eibner K., Löffler B., Gleixner S., Kramer S.: Serial CEA and CA 15-3 measurements during follow-up of breast cancer patients. *Anticancer Res.*, 2000; 20: 5179–5182
- [30] Jones S.E.: A new estrogen receptor antagonist – an overview of available data. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2002; 75: 19–22
- [31] Kaaks R., Toniolo P., Akhmedkhanov A., Lukanova A., Biessy C.: Serum C-peptide, insulin-like growth factor (IGF-I), IGF-binding proteins, and colorectal cancer risk in women. *J. Nat. Cancer Inst.*, 2000; 92: 1592–1600
- [32] Kaciński B.M.: CSF-1 and its receptor in breast carcinomas and neoplasms of the female reproductive tract. *Mol. Reprod. Dev.*, 1997; 46: 71–74
- [33] Kokko R., Holli K., Hakama M.: CA 15-3 in the follow-up of localised breast cancer: a prospective study. *Eur. J. Cancer*, 2002; 38: 1189–1193
- [34] Kulpa J.: Diagnostyka biochemiczna chorób nowotworowych. Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Red. Dembińska-Kieć A. i Naskalski J.W., Urban&Partner, Wrocław, 2002; 853–883
- [35] Lacroix M., Siwek B., Marie P.J., Body J.J.: Production and regulation of interleukin 11 by breast cancer cells. *Cancer Lett.*, 1998; 127: 29–34
- [36] Lamerz R.: Circulating tumor markers in breast cancer. *Tumor Marker Update*, 1995; 7: 95–100
- [37] Limon J.: Rak sutka u kobiet – postępowanie metodyczne w badaniach cytogenetycznych. *Nowotwory*, 1994; 44(Supl.I): 27–30
- [38] Limon J., Mitelman F.: Znaczenie aberracji chromosomowych w liwych guzach nowotworowych człowieka. *Pat. Pol.*, 1994; 45–46
- [39] Lin E.Y., Gouon-Evans V., Nguyen V., Pollard J.W.: The macrophage growth factor CSF-1 in mammary gland development and tumor progression. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2002; 7: 147–162
- [40] Lindblom A., Liljégren A.: Tumour markers in malignancies. *Clin. Rev.*, 2000; 320: 424–427
- [41] Lumachi F., Brandes A., Ermani M., Bruno G., Boccagni P.: Sensitivity of serum tumor markers CEA and CA 15-3 in breast cancer recurrences and correlation with different prognostic factors. *Anticancer Res.*, 2000; 20: 4751–4756
- [42] Ławicki S., Mroczko B., Omyła J., Czygier M., Szmitkowski M.: Czynniki wzrostu kolonii makrofagowych (M-CSF) jako kandydat na markera nowotworowego raka piersi. *Pol. Archiw. Med. Wewn.*, 2003; 6: 595–600
- [43] Ławicki S., Mroczko B., Szmitkowski M.: Cytokiny hematopoetyczne jako markery choroby nowotworowej. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2001; 55: 449–465
- [44] Ławicki S., Mroczko B., Szmitkowski M.: Markery nowotworowe przydatne w diagnostyce i monitorowaniu raka płuca. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2002; 56: 93–118
- [45] Ławicki S., Mroczko B., Szmitkowski M.: Markery nowotworowe przydatne w diagnostyce i monitorowaniu raka jelita grubego. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2002; 56: 617–634
- [46] Ławicki S., Mroczko B., Szmitkowski M.: Cytokiny jako markery nowotworowe raka piersi. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2003; 4: 455–463
- [47] Mancino A.T., Klimberg V.S., Yamamoto M., Manolagas S.C., Abe E.: Breast cancer increases osteoclastogenesis by secreting M-CSF and upregulating RANKL in stromal cells. *J. Surg. Res.*, 2001; 100: 18–24
- [48] McDermott R.S., Deneux L., Mosseri V., Vedrenne J., Clough K., Fourget A., Rodriguez J., Cosset J.M., Sastre X., Beuzeboc P., Pouillart P., Scholl M.S.: Circulating macrophage colony stimulating factor as a marker of tumour progression. *Eur. Cytokine Netw.*, 2002; 13: 121–127
- [49] Mierzwa T.: Ocena badania klinicznego, biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej oraz metod obrazowania (mammografia, ultrasonografia, galaktografia) zmian w sutku w konfrontacji z badaniem histopatologicznym. *Polskie Towarzystwo Ultrasonograficzne Oddział Pomorsko-Kujawski, Bydgoszcz*, 2000; 9–73
- [50] Mroczko B., Ławicki S., Szmitkowski M.: Cytokiny. Rola cytokin w raku jelita grubego. *Pol. Archiw. Med. Wewn.*, 2002; 4: 1001–1009
- [51] Mroczko B., Szmitkowski M., Czygier M.: Interleukina 3 (IL-3) w diagnostyce i monitorowaniu niedrobnokomórkowego raka płuca. *Przegl. Lek.*, 1999; 56: 1–4
- [52] Mroczko B., Szmitkowski M., Nikliński J.: Stem cell factor and granulocyte-macrophage – colony stimulating factor as candidates for tumour markers for non-small-cell lung cancer. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 1999; 37: 959–962
- [53] Mroczko B., Szmitkowski M., Okulczyk B.: Granulocyte – colony stimulating factor (G-CSF) and macrophage – colony stimulating factor (M-CSF) in colorectal cancer patients. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2002; 40: 351–355
- [54] Nikliński J., Furman M.: Clinical tumour markers in lung cancer. *Eur. J. Cancer Prev.*, 1995; 4: 129–138
- [55] Orellana C.: Cytokines used for diagnosing non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol.*, 2001; 2: 465
- [56] Pieńkowski M.: Rak piersi. W: *Onkologia kliniczna*. Red. Krzakowski M. t. II. Wyd. Med. Borgis, Warszawa, 2001; 87–139
- [57] Pieńkowski T.: Chemiczne leczenie raka piersi. *Onkologia*, 1999; 3: 12–17
- [58] Price J.T., Tiganis T., Agarwal A., Djakiew D., Thompson E.W.: Epidermal growth factor promotes MDW-MB-231 breast cancer cell migration through a phosphatidylinositol 3-kinase and phospholipase C – dependent mechanism. *Cancer Res.*, 1999; 59: 5475–5478

- [59] Pronk L.C., Stoter G., van Putten W.L.J., Wit R.: The correlation of CA 15-3 and TPS with tumor course in patients with metastatic breast cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 1997; 123: 128–132
- [60] Renehan A.G., Jones J., Potten C.S., Shalet S.M.: Elevated serum insulin-like growth factor (IGF-II) and IGF binding protein-2 in patients with colorectal cancer. *Br. J. Cancer.*, 2000; 83: 1344–1350
- [61] Robak T.: *Biologia i farmakologia cytokin*. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa – Łódź, 1995; 9: 122–137
- [62] Robertson J.F.R.: Blood tumor markers in breast cancer. *Tumor Marker Update*, 1998; 10: 31–37
- [63] Rożnowski K., Litwiniuk M., Komarnicki M.: Wykrywanie i znaczenie kliniczne mikroprzerzutów raka piersi do szpiku kostnego. *Współ. Onkol.*, 2002; 6: 374–382
- [64] Rzymowska J.: Morfologiczne, molekularne i biochemiczne aspekty neoadjuwantowej chemioterapii Ansfielda stosowanej w leczeniu raka piersi. *PWZN, Lublin*, 2002; 5–183
- [65] Safi F., Kohler I., Rottinger E., Beger A.: The value of the tumor marker CA 15-3 in diagnosing and monitoring breast cancer. *Cancer*, 1991; 68: 574–582
- [66] Sapi E., Flick M.B., Rodov S., Kaciński B.M.: Ets-2 transdominant mutant abolishes anchorage-independent growth and macrophage colony-stimulating factor – stimulated invasion by BT20 breast carcinoma cells. *Cancer Res.*, 1998; 58: 1027–1033
- [67] Sasco A.: Epidemiology of breast cancer: an environmental disease? *APMIS*, 2001; 109: 321–332
- [68] Savarese D.M.F., Yaliński H., Quesenberry P., Savarese T.: Expression and function of colony-stimulating factors and their receptors in human prostate carcinoma cell lines. *Prostate*, 1998; 34: 80–91
- [69] Scholl S.M., Bascou C.H., Mosseri V.: Circulating levels of colony-stimulating factor 1 as a prognostic indicator in 82 patients with epithelial ovarian cancer. *Br. J. Cancer*, 1994; 69: 342–346
- [70] SheenChen S.M., Chen H.S., Sheen C.W., Eng H.L., Chen W.J.: Serum levels of transforming growth factor beta 1 in patients with breast cancer. *Archiv. Surgery*, 2001; 136: 937–940
- [71] Shousha S.: Issues in the interpretation of breast core biopsies. *Int. J. Surg. Pathol.*, 2003; 11: 167–177
- [72] Steffen J.: Interleukiny i ich receptory w nowotworach u ludzi: synteza, uwalnianie, występowanie w surowicy krwi. *Diagn. Lab.*, 1994; 30: 221–240
- [73] Stephenson J.: Study indicates for new breast cancer prognostic marker. *JAMA*, 2001; 285: 3077–3078
- [74] Szaciłowska E., Kozłowski W.: Rola receptorów HER i heregulin w postawianiu przerzutów raka piersi. *Współ. Onkol.*, 2002; 6: 312–321
- [75] Szymendera J.J., Gózdź S.S.: Rola krążących markerów nowotworowych w diagnostyce i monitorowaniu leczenia chorych na nowotwory. *Nowotwory*, 1995; 45: 369–383
- [76] Takahashi Y., Tucker S.L., Kitadai Y., Koura N., Bucana C.D., Cleary K.R., Eblis L.M.: Vessel counts and expression of vascular endothelial growth factor as prognostic factor in node-negative colon cancer. *Arch. Surg.*, 1997; 132: 541–546
- [77] Tampellini M., Berruti A., Gorzegno G., Bitossi R.: Independent factors predict supranormal CA 15-3 serum levels in advanced breast cancer patients at first disease relapse. *Tumor Biol.*, 2001; 22: 367–373
- [78] Van Dalen., Barak V., Cremaschi A., Gion M., Molina R., Namer M., Stieber P., Sturgeon C., Einarsson R.: The prognostic significance of increasing marker levels in metastatic breast cancer patients with clinically complete remission, partial remission or stable disease. *International J. Biol. Markers*, 1998; 13: 10–15
- [79] Yee D.L., Liu L.: The constitutive production of colony stimulating factor 1 by invasive human breast cancer cells. *Anticancer Res.*, 2000; 20: 4379–4384
- [80] Zhang G.J., Adachi I.: Serum interleukin-6 levels correlate to tumor progression and prognosis in metastatic breast carcinoma. *Anticancer Res.*, 1999; 19: 1427–1432