



## Značaj praćenja serumskih tumorskih markera kod metastatskih karcinoma nepoznatog primarnog ishodišta

### Significance of serum tumor markers monitoring in carcinomas of unknown primary site

Ivica Pejčić\*, Svetislav Vrbić\*, Sladjana Filipović\*, Mirjana Šćekić\*,  
Ivan Petković\*, Ljiljana Pejčić†, Nebojša Djenić‡

Univerzitetski klinički centar Niš, \*Klinika za onkologiju, †Klinika za pedijatriju, Niš,  
Srbija; ‡Vojna bolnica, Niš, Srbija

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Tumori nepoznatog primarnog ishodišta predstavljaju heterogenu grupu malignih tumora sa nepovoljnom prognozom. Kancer nepoznatog porekla (CUP) definiše se kao odsustvo bilo kakvog primarnog tumora nakon kompletnog kliničkog ispitivanja, a javlja se kod 3–5% svih bolesnika sa dijagnozom maligniteta. Cilj ovog ispitivanja bio je da se pokaže prognostička i prediktivna vrednost 8 serumskih tumorskih markera u ovoj grupi bolesnika. **Metode.** U studiju je bilo uključeno 63 bolesnika kod kojih je histološka analiza pokazala prisustvo metastatskog tumora čije se primarno ishodište (poreklo) nije moglo dokazati neinvazivnim dijagnostičkim tehnikama. Svi histološki nalazi su na osnovu svetlosne mikroskopije klasifikovani u jednu od sledeće tri grupe: planocelularni karcinomi – 8 bolesnika; adenokarcinomi – 33 bolesnika; nediferentovani karcinomi – 22 bolesnika. Kod svih bolesnika odredili smo nivo 8 serumskih tumorskih markera u trenutku postavljanja dijagnoze: Alfa-fetoprotein (AFP), humani horionski gonadotropin (beta-HCG), neuron specifična ekolaza (NSE), marker malignih tumora ovarijuma (CA 125), prostata specifični antigen (PSA), marker malignih tumora dojke (CA 15-3), marker malignih tumora pankreasa i gastrointestinalnog trakta (CA 19-9) i karcinoembrionalni antigen (CEA). Bolesnicima kojima je ordinirana hemioterapija markeri su određivani nakon trećeg i šestog ciklusa hemioterapije, odnosno u trenutku registrovanja progresije bolesti, ukoliko je ova nastupila. Kod bolesnika čiji je odgovor na hemioterapiju procenjen kao kompletan odgovor (CR), parcijalni odgovor (PR) ili stabilna bolest (SD) markeri su odre-

đivani u tromesečnim intervalima do trenutka relapsa ili progresije. Hemioterapija je primenjena kod 32 bolesnika (20 žena i 12 muškaraca) starosti od 29–70 godina, koji su ispunjavali kriterijume za uključivanje. Primenjena je sledeća hemioterapijska šema: doksorubicin 50 mg/m<sup>2</sup> (dan 1), cisplatin 60 mg/m<sup>2</sup> (dan 1), etoposide 120 mg/m<sup>2</sup> (dani 1–3). Interval između hemioterapijskih ciklusa iznosio je 3 sedmice, a u slučaju protrahovane hematološke toksičnosti najviše 5 sedmica. **Rezultati.** Najčešće bile su povišene vrednosti NSE (82,54%), a najređe AFP (11,11%). Prosečno vreme preživljavanja iznosilo je 17,89 meseci (95% CI 12,96; 22,83). Verovatnoća da bolesnik preživi 24 meseca iznosila je 0,228. Grupa od 32 bolesnika, koji su bili na hemioterapiji, u posmatranom periodu (72 meseca) imala je 12 (37,5%) letalnih ishoda. Prosečno vreme preživljavanja bilo je 26,6 meseci (95% CI 19,5; 33,7). Srednje vrednosti tumorskih markera, pre i posle primenjene hemioterapije, bile su značajno niže za NSE i CA 125. Preživljavanje je bilo značajno bolje u slučaju pada vrednosti nivoa NSE i CA 125 tokom terapije za više od 20%. **Zaključak.** Povišene vrednosti tumorskih markera u serumu vrlo su česte u CUP sindromu. Ovi tumori pokazuju nespecifičnu povećanu ekspresiju tumorskih markera. Nivo NSE i CA 125 pokazuje dobru korelaciju sa odgovorom na preduzetu hemioterapiju. Ne preporučuje se, međutim, rutinska primena najčešće korišćenih serumskih tumorskih markera u svetlu prognostičke i prediktivne vrednosti.

**Ključne reči:**  
tumorski markeri, biološki; neoplazme nepoznatog porekla; preživljavanje, analiza.

#### Abstract

**Background/Aim.** Unknown primary tumors represent a heterogeneous group of malignancies that are indicative of ominous prognosis. Cancer of unknown primary site (CUP) is defined as the lack of any detectable primary site after full evaluation, and accounts for approximately 3–5% of all newly diagnosed patients with malignancies. The aim of this

report was to present the prognostic and predictive value of 8 serum tumor markers in this group of patients. **Methods.** The study involved 63 patients. On histological examination, all the patients were presented with metastatic tumors whose primary site (origin) could not be detected with non-invasive diagnostic techniques. Following the routine light microscopy, all histological findings were classified into one of the following three groups: plano-cellular carcinoma – 8

patients; adenocarcinoma – 33 patients; unclassifiable (undifferentiated) carcinoma – 22 patients. In all the cases we evaluated 8 serum tumor markers: alpha-fetoproteins (AFP), chronic gonadotrophin beta submit, human (beta-HCG), neuron specific enolase (NSE), marker of malignant ovarian tumors (CA 125), prostate-specific antigen (PSA), marker of malignant breast tumor (CA 15-3), marker of malignant pancreas tumor and gastrointestinal tumor (Ca 19-9), carcinoembryonic antigen (CEA) at the time of diagnosis. The patients on chemotherapy had the markers determined after the third and sixth chemocycle, i.e. at the time of illness progression observation, if present. The patients responding to chemotherapy with complete response (CR), partial response (PR) or stable disease (SD) had the markers determined after three-month periods until the time of relapse or progression. Chemotherapy was applied in 32 patients (20 females and 12 males), aged 29-70 years, who met the inclusion criteria. The following chemotherapy regimen was used: doxorubicin 50mg/m<sup>2</sup> (day 1), cisplatin 60mg/m<sup>2</sup> (day 1), and etoposide 120 mg/m<sup>2</sup> (days 1–3). The period between two chemotherapy cycles was three weeks, and maximum five weeks in the case of prolonged hematologi-

cal toxicity. **Results.** Most commonly elevated were NSE values (82.54%), while AFP values were least commonly elevated (11.11%). Average survival time was 17.89 months (95%CI 12.96; 22.83). The probability of 24 months' survival was 0.228. The group of 32 patients treated with chemotherapy had 12 (37.5%) fatal outcomes in the observed period (72 months). Average survival time was 26.6 months (95% CI 19.5; 33.7). Average tumor marker values before and after the chemotherapy were significantly lower for NSE and CA 125. Survival was significantly better in cases of NSE and CA 125 decrease of more than 20%. **Conclusion.** Increased values of serum tumor markers are very often in CUP. The tumors show nonspecific overexpression of tumor markers. The NSE and CA 125 levels show good correlation with response to the given chemotherapy. However, a routine evaluation of commonly used serum tumor markers has not been proven of any prognostic and predictive assistance.

**Key words:**  
tumor markers, biological; neoplasms, unknown primary; survival analysis.

## Uvod

Tumori nepoznatog primarnog ishodišta (*Carcinomas of unknown primary site* – CUP) javljaju se kod heterogene grupe bolesnika i veoma ih je teško definisati i lečiti. Smatra se da ovi tumori stiču metastatski potencijal pre nego što se razvije klinički manifestna primarna lezija. Uprkos stalnom napretku tehnike snimanja tumora i patologije ovi tumori čine 3% svih malignoma koji se dijagnostikuju u svakodnevnoj onkološkoj praksi<sup>1</sup>. Ne postoji standardizovana definicija, ali je za kliničara-praktičara dovoljno da ih tretira kao biopsijom dokazanu malignu tumorsku bolest čije se anatomsko poreklo ne može identifikovati nakon temeljnog kliničkog, radiološkog i laboratorijskog ispitivanja<sup>2</sup>, ili odsustvo bilo kojeg primarnog mesta nakon pune evaluacije<sup>3</sup>. Smatra se da primarni tumor pokazuje kako spori rast, tako i involuciju. To je oblik metastatskog maligniteta čije poreklo ostaje nepoznato čak i nakon iscrpne anamneze, kliničkog pregleda, grafije pluća, abdominalne i pelvične kompjuterizovane tomografije (CT) i drugih analiza u zavisnosti od kliničke prezentacije. Danas još uvek nema konsenzusa o tome da li je CUP samo grupa metastatskih tumora kod kojih nije identifikovan primarni, ili poseban entitet sa specifičnim genetskim/fenotipskim aberacijama što ih karakteriše kao „primarnu metastatsku bolest“<sup>4</sup>. Dilema onkologa-kliničara je da determinišu princip rada sa ovom grupom malignoma.

Uloga tumorskih markera kod ovih tumora ostaje kontroverzna. Često korišćeni tumorski markeri karcinoembrionalni antigen (CEA), marker malignih tumora pankreasa i gastrointestinalnog trakta (CA 19-9), marker malignih tumora dojke (CA 15-3), marker malignih tumora ovarijuma (CA 125), humani horionski gonadotropin (beta-HCG) i alfa-fetoprotein (AFP), nisu korisni kao dijagnostički i prognostički test – obično su povišenog nivoa, a mogu se koristiti u monitoringu odgovora na terapiju<sup>5-7</sup>. Nespecifična pojačana

ekspresija različitih markera kod CUP sindroma prisutna je kod većine bolesnika<sup>8</sup>. Tumorski markeri nisu pokazali dijagnostičku vrednost čak i u kombinovanom panelu, samo su pokazali prognostički značaj<sup>9</sup>.

Otkrivanje ishodišta metastatskog tumora poželjno je radi prilagođavanja hemioterapija svakom pojedinačnom malignomu. Ipak, optimalna hemioterapija do sada nije definisana, a korist od hemioterapije u odnosu na *best supportive care* i dalje je nejasna<sup>10</sup>. Analiza 20 kliničkih studija, novijeg datuma, sa ukupnim brojem od 1 319 bolesnika loše prognostičke grupe i korišćenjem različitih hemioterapijskih režima pokazala je nezadovoljavajući terapijski odgovor (20–45%), sa medijanom preživljavanja manjom od jedne godine<sup>11</sup>.

Cilj ove studije bio je da se utvrdi prognostički značaj određivanja nivoa tumorskih markera, odnosno prediktivna vrednost u odnosu na ukupno preživljavanje bolesnika sa metastazama nepoznatog primarnog porekla. Takođe, cilj je bio odrediti prediktivnu vrednost određivanja tumorskih markera u odnosu na ordiniranu hemioterapiju (predviđanje odgovora na hemioterapiju i koristi od iste).

## Metode

U ispitivanje su bila uključena 63 bolesnika kod kojih su sprovedeni dijagnostika i lečenje u periodu od januara 1997. godine do decembra 2002. u Klinici za onkologiju Kliničkog centra u Nišu. Kod svih bolesnika histološki je dokazan metastatski tumor čije se poreklo nije moglo detektovati neinvazivnim dijagnostičkim tehnikama (klinički pregled, standardne hematološke i biohemijske analize, grafija pluća, ehosonografija i/ili CT sken abdomena, endoskopske analize shodno histološkom nalazu).

Kod svih bolesnika određivan je serumski nivo 8 tumorskih markera.

Humani alfa fetoprotein određivan je *fluoroimmunoassay* metodom korišćenjem DELFIA hAFP kompleta firme Vallac Oy. Kao referentne vrednosti korišćene su vrednosti u rasponu od 0 do 7 ng/mL.

Humani horionski gonadotropin beta određivan je imunoradiometrijskom metodom na čvrstoj fazi korišćenjem kompleta INEP-DIJAGNOSTIKA. Za referentne vrednosti uzimani su nivoi od 0 do 3 IU/mL.

Neuron specifična enolaza određivana je *fluoroimmunoassay* metodom korišćenjem DELFIA NSE kompleta firme Vallac Oy. Kao referentne vrednosti korišćeni su nivoi od 0 do 12 mg/L.

Tumorasocirani antigen CA 125 određivan je imunoluminometrijskom test metodom (LIA-mat CA 125 II) firme „Byk-Sangtec Diagnostica GmbH“. Kao referentne vrednosti uzimani su nivoi od 0 do 30 IU/mL.

Prostata specifični antigen određivan je imunoluminometrijskom test metodom (LIA-mat PSA) firme „Byk-Sangtec Diagnostica GmbH“. Kao referentne vrednosti uzimani su nivoi od 0 do 3 ng/mL.

Tumorasocirani antigen CA 15-3 određivan je imunoluminometrijskim testom (LIA-mat CA 15-3) firme „Byk-Sangtec Diagnostica GmbH“. Kao referentne vrednosti korišćeni su nivoi od 0 do 30 IU/mL.

Tumorasocirani antigen CA 19-9 određivan je imunoluminometrijskom test metodom (LIA-mat CA 19-9) firme „Byk-Sangtec Diagnostica GmbH“. Kao referentne vrednosti uzimani su nivoi od 0 do 30 IU/mL.

Karcinoembrionalni antigen određivan je imunoluminometrijskom test metodom (LIA-mat CEA) firme „Byk-Sangtec Diagnostica GmbH“. Kao referentni nivoi korišćene su vrednosti od 0 do 4 ng/mL.

Svim bolesnicima određen je serumski nivo navedenih tumorskih markera u trenutku postavljanja dijagnoze, a u sklopu preciznog određivanja stadijuma bolesti. Bolesnicima kojima je ordinirana hemioterapija, markeri su određivani nakon trećeg i šestog ciklusa hemioterapije, odnosno u trenutku registrovanja progresije bolesti, ukoliko je ova nastupala. Kod bolesnika čiji odgovor na hemioterapiju je procenjen kao kompletan odgovor (CR), parcijalni odgovor (PR) ili stabilna bolest (SD) markeri su određivani u tromesečnim intervalima do trenutka relapsa ili progresije, ukoliko bi ova nastupila. Kod bolesnika kojima nije ordinirana hemioterapija ili je prethodna terapija iscrpljena, nastavljeno je određivanje tumorskih markera u tromesečnim intervalima.

Hemioterapija je ordinirana kod 32 bolesnika (20 ženskog i 12 muškog pola), starosti 29–70 godina, koji su ispunjavali kriterijume uključivanja<sup>12</sup>: starost ispod 70 godina, *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) performans status 0–3, prethodno nelečeni hemioterapijom, odsustvo poremećaja kardijalne, renalne i hepatične funkcije, očekivano preživljavanje od najmanje 2 meseca, metastatsko oboljenje bez mogućnosti za hirurški pristup, prisustvo dvodimenzionalno merljivih i procenjivih lezija, odsustvo metastaza u centralnom nervnom sistemu.

U ovoj grupi bilo je pet bolesnika sa planocelularnim karcinomom, 13 sa histologijom adenokarcinoma, 14 sa nediferentovanom (anaplasičnom) histologijom.

Primenjena je sledeća hemioterapijska šema: doksorubicin 50 mg/m<sup>2</sup> (dan 1), cisplatin 60 mg/m<sup>2</sup> (dan 1), etoposid 120 mg/m<sup>2</sup> (dani 1–3).

Interval između hemioterapijskih ciklusa iznosio je tri sedmice, a u slučaju protrahovane hematološke toksičnosti najviše pet sedmica. Bolesnici sa stabilnom bolešću, parcijalnim odgovorom ili kompletnim odgovorom primili su šest ciklusa terapije.

Kompletni odgovor definisan je kao kompletan nestanak bolesti koja se otkriva klinički u trajanju od najmanje četiri sedmice. Parcijalni odgovor procenjen je u slučaju redukcije u veličini svih merljivih lezija od najmanje 50%, merenih kao produkt dva najveća normalna prečnika bez pojave novih lezija. Stabilna bolest definisana je kao redukcija < 50% ili povećanje < 25% merljive bolesti bez pojave novih lezija. Progresija bolesti (PD) je definisana kao povećanje > 25% bilo koje prisutne merljive lezije ili pojava bilo koje nove lezije. Trajanje odgovora je definisano kao period od trenutka kada je objektivni odgovor prvi put registrovan do pojave znakova PD.

Hemioterapijska toksičnost merena je u skladu sa kriterijumima Svetske zdravstvene organizacije (WHO)<sup>13</sup>.

Dobijeni rezultati analizirani su metodama deskriptivne i analitičke statistike. Analiza preživljavanja radena je prema Kaplan-Meier-u sa Log-Rank testom kod upoređivanja dva ili više faktora<sup>14</sup>.

## Rezultati

Od 63 bolesnika uključena u ovo istraživanje, 37 su bili muškarci, a 26 žene, starosti od 29 do 70 godina (medijana 56). Njihove karakteristike navedene su u tabelama 1 i 2. Rutinskom svetlosnom mikroskopijom sve histološke dijagnoze klasifikovane su u jednu od tri sledeće grupe: planocelularni karcinomi („*Squamous Cell Carcinoma*“) – 8 (13%) bolesnika; adenokarcinomi – 33 (52%) bolesnika; neklasifikovani (nediferentovani) karcinomi – 22 (35%) bolesnika.

U ovoj seriji nije bilo nijednog ispitanika kod koga su svi analizirani markeri bili u granicama referentnih vrednosti (u trenutku postavljanja dijagnoze oboljenja). Takođe, nije bilo bolesnika sa sedam ili osam markera sa povišenim vrednostima. Najčešće su bile povišene vrednosti NSE (82,54%), a najređe AFP (11,11%). Učestalost povišenih vrednosti PSA treba uzeti sa rezervom, pošto je on određivan i kod bolesnika. Ukoliko se analiziraju samo bolesnici, PSA je bio povišen kod 13,51%. Učestalost povišenih vrednosti pojedinih markera prikazana je na slici 1.

Akturijalna krivulja na slici 2 prikazuje očekivano preživljavanje bolesnika sa metastazama nepoznatog primarnog ishodišta. Prosečno vreme preživljavanja iznosilo je 17,89 meseci (95% CI 12,96; 22,83), a medijana je bilo 10 meseci (95% CI 2,95; 17,05). Verovatnoća da bolesnik preživi 24 meseca iznosila je 0,228.

U cilju procene prognostičke vrednosti tumorskih markera kod metastatskih tumora nepoznatog primarnog porekla analizirano je ukupno preživljavanje bolesnika koji su imali normalne vrednosti (u referentnim granicama) i povišene, u trenutku postavljanja dijagnoze (tabela 3). Nijedan ispitanik marker nije pokazao prognostički značaj.

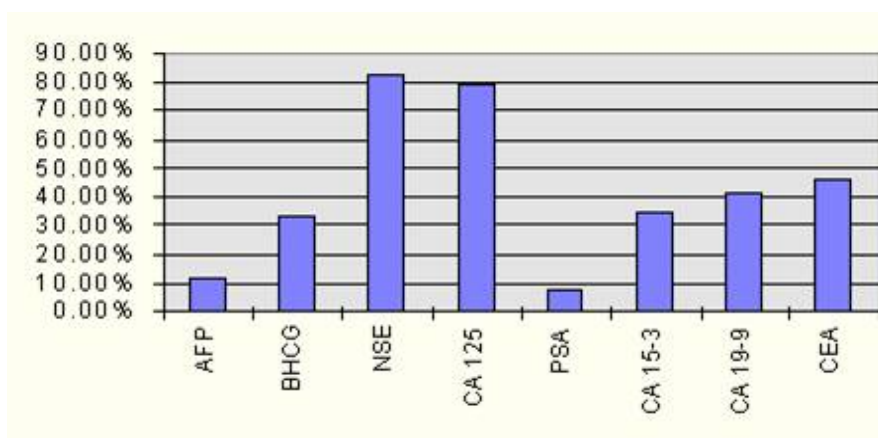
Tabela 1

<b>Karakteristike bolesnika</b>	
Karakteristike	Bolesnici n (%)
Starost, $\bar{x} \pm SD$ (opseg)	56,05 $\pm$ 8,29 (29–72)
Performans status-ECOG	
0	4 (6,3)
1	16 (25,4)
2	19 (30,2)
3	17 (27,0)
4	7 (11,1)
Metastatsko mesto	
1 – jetra, peritoneum, retroperitoneum	31 (49,2)
2 – pluća, medijastinum, pleura	29 (46,0)
3 – periferni supradijafragmalni limfni nodusi	24 (38,1)
4 – periferni infradijafragmalni limfni nodusi	15 (23,8)
5 – kosti, meko tkivo	19 (30,2)
Broj metastatskih mesta	
1	15 (23,8)
2	22 (34,9)
> 2	26 (41,3)

ECOG – Eastem Cooperative Oncology Group

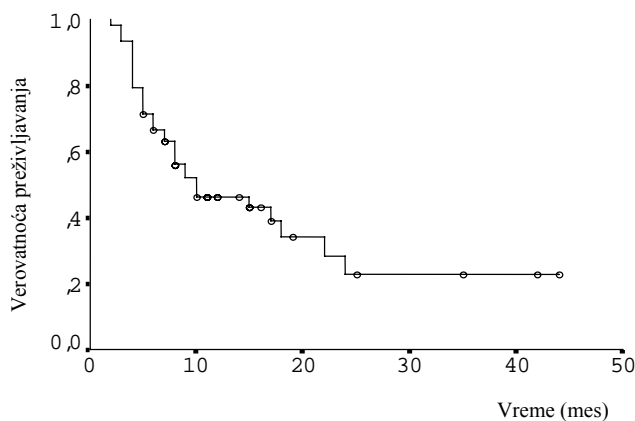
Tabela 2

<b>Organi i tkiva zahvaćena metastazama</b>	
Organi i tkiva	Bolesnici n (%)
Mozak	1 (1,58)
Cervikalni limfni nodusi	24 (38,09)
Medijastinalni limfni nodusi	2 (3,17)
Pluća	25 (39,68)
Pleura	2 (3,17)
Aksilarni limfni nodusi	11 (17,46)
Jetra	18 (28,57)
Peritoneum	8 (12,69)
Retroperitonealni limfni nodusi	17 (26,98)
Nadbubreg	1 (1,58)
Kosti	16 (25,39)
Koštana srž	3 (4,76)
Kožni nodusi	4 (6,35)
Ingvinalni limfni nodusi	14 (22,22)
Meko tkivo	3 (4,76)
Testis	1 (1,58)



Sl. 1 – Učestalost povišenih vrednosti pojedinih tumorskih markera

AFP – alfa fetoprotein; bHCG – humani horionski gonadotropin; NSE – neuron specifična enolaza; C 125 – marker malignih tumora ovarijuma; PSA – prostata specifični antigen; Ca 19-9 – marker malignih tumora pankreasa i gastrointestinalnog trakta; Ca 15-3 – marker malignih tumora dojke; CEA – karcinoembrionalni antigen



Sl. 2 – Preživljavanje bolesnika

Tabela 3

Poređenje preživljavanja bolesnika u odnosu na serumski nivo markera

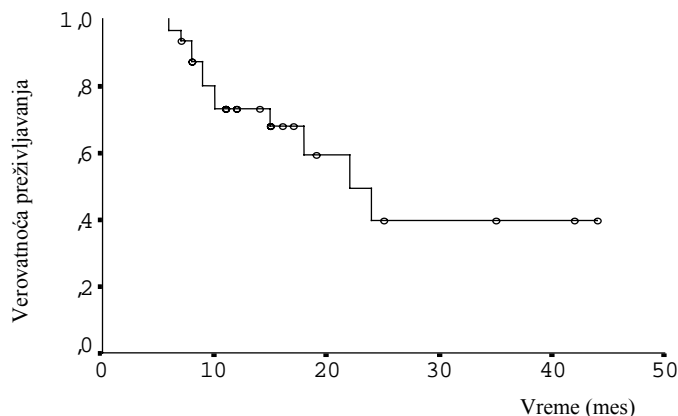
Marker	Normalne vrednosti		Povišene vrednosti		Log Rank
	umrli / ukupan broj	Prosečno preživljavanje (meseći) $\bar{x}$ (95%; CI)	umrli / ukupan broj	Prosečno preživljavanje (meseći) $\bar{x}$ (95%; CI)	
AFP	32/56	18,47 (13,2; 23,7)	5/7	7,57 (5,4; 9,7)	1,09; $p = 0,297$
beta HCG	20/37	13,75 (10,5; 17,0)	17/26	17,47 (10,8; 24,1)	0,07; $p = 0,784$
NSE	6/11	15,30 (9,1; 21,4)	31/51	18,43 (13,0; 23,9)	0,00; $p = 0,949$
CA 125	6/14	17,05 (8,6; 25,5)	31/49	16,99 (11,6; 22,3)	1,14; $p = 0,287$
PSA	31/56	18,69 (13,3; 24,0)	6/7	8,00 (4,5; 11,5)	2,38; $p = 0,123$
CA 15-3	22/40	15,97 (10,4; 21,5)	15/23	17,53 (10,6; 24,4)	0,00; $p = 0,976$
CA 19-9	21/37	13,11 (9,9; 16,3)	16/26	19,01 (12,1; 26,0)	0,10; $p = 0,757$
CEA	20/32	18,98 (12,9; 25,1)	17/31	11,27 (8,8; 13,8)	0,52; $p = 0,470$

AFP – alfa fetoprotein; bHCG – humani horionski gonadotropin; NSE – neuron specifična enolaza; C 125 – marker malignih tumora ovarijuma; PSA – prostata specifični antigen; Ca 19-9 – marker malignih tumora pankreasa i gastrointestinalnog trakta; Ca 15-3 – marker malignih tumora dojke; CEA – karcinoembrionalni antigen; CI – Confidence interval

U grupi od 32 bolesnika koji su bili na hemioterapiji u posmatranom periodu (44 meseca) bilo je 12 (37,5%) letalnih ishoda. Prosečno vreme preživljavanja bilo je 26,6 meseci (95% CI 19,5; 33,7), a medijana je bila 22 meseca (95% CI 14,3; 29,7). Verovatnoća da bolesnik iz ove grupe doživi 24 meseca iznosila je 0,397 (slika 3).

bela 4). Analiza značajnosti (*Wilcoxon Matched-Pairs Signed-Ranks Test*) pokazala je značajno niže vrednosti za NSE i CA 125.

Nadalje, analizirano je ponašanje nivoa markera pre početka hemioterapije i nakon šestog ciklusa hemioterapije, dakle u trenutku procene odgovora na hemioterapiju. Tražen je



Sl. 3 – Preživljavanje bolesnika na hemioterapiji (n = 32)

U cilju procene prediktivne vrednosti tumorskih markera najpre je urađena analiza ponašanja srednjih vrednosti tumorskih markera pre i posle primenjene hemioterapije (ta-

onaj procenat sniženja početnih vrednosti markera, dakle onih pre početka hemioterapije, za koji neki od markera pokazuje značajnu razliku posmatrano kroz preživljavanje.

Tabela 4

Markeri	Vrednosti markera pre i posle terapije		Statistika
	Pre terapije $\bar{x} \pm SD$	Posle terapije $\bar{x} \pm SD$	
AFP (ng/mL)	5,82 ± 9,97	9,27 ± 26,23	$z = -0,546; p = 0,585$
beta HCG (IJ/mL)	10,26 ± 23,82	7,29 ± 14,29	$z = -0,257; p = 0,797$
NSE (mg/L)	43,94 ± 116,11	18,39 ± 11,84	$z = -2,954; p = 0,003$
CA 125 (IJ/mL)	203,77 ± 237,78	100,81 ± 167,13	$z = -2,225; p = 0,026$
PSA (ng/mL)	1,24 ± 2,16	1,12 ± 1,76	$z = -0,454; p = 0,650$
CA 15-3 (IJ/mL)	60,34 ± 101,34	33,41 ± 26,62	$z = -1,117; p = 0,264$
CA 19-9 (IJ/mL)	139,43 ± 241,18	86,15 ± 151,10	$z = -0,194; p = 0,846$
CEA (ng/mL)	59,69 ± 188,55	42,40 ± 136,80	$z = -1,152; p = 0,249$

AFP – alfa fetoprotein; bHCG – humani horionski gonadotropin; NSE – neuron specifična enolaza; C 125 – marker malignih tumora ovarijuma; PSA – prostata specifični antigen; Ca 19-9 – marker malignih tumora pankreasa i gastrointestinalnog trakta; Ca 15-3 – marker malignih tumora dojke; CEA –karcinoembrionalni antigen

Značajnost je uočena na nivou pada vrednosti markera za 20% tokom primenjene terapije, i to za NSE (tabele 5 i 6 i slika 4) i CA 125 (tabele 7 i 8 i slika 5).

U grupi bolesnika kod kojih je zabeleženo sniženje vrednosti markera CA 125 bilo je 17 bolesnika (8 nediferentovanih, 6 adenokarcinoma i 3 planocelularna procesa): kod 12

Tabela 5

**Veza između uspeha terapije i vrednosti neuron specifične enolaze ( $\chi^2 = 6,47; p = 0,011$ )**

Odgovor	Smanjenje > 20%	Ostali	Ukupno
CR+PR	12 (66,7%)	3 (21,4%)	15 (46,9%)
SD + PD	6 (33,3%)	11 (78,6%)	17 (53,1%)
Svega	18 (100%)	14 (100%)	32 (100%)

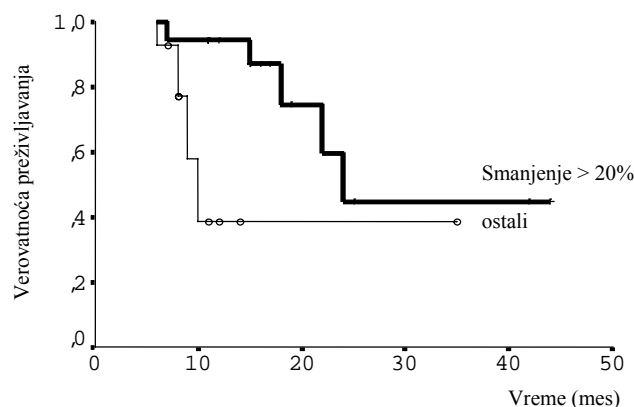
CR – kompletan odgovor; PR – parcijalni odgovor, SD – stabilna bolest; PD – progresija bolesti

Tabela 6

**Preživljavanje grupa sa ili bez pada nivoa neuron specifične enolaze (NSE)**

Nivo NSE	Umrli / ukupan broj	Prosečno preživljavanje (meseci) $\bar{x}$ (95%; CI)
Smanjenje za $\geq 20\%$	5 / 18	30,32 (21,7; 38,9)
Ostali	7 / 04	18,88 (11,3; 26,5)
<i>Long Rank</i>		5,82; $p = 0,016$

CI – Confidence interval



Sl. 4 – Preživljavanje bolesnika sa i bez pada nivoa neuron specifične enolaze za > 20% ( $p < 0,05$ )

Tabela 7

**Veza između uspeha terapije i vrednosti markera malignog tumora ovarijuma (CA 125) ( $\chi^2 = 8,19; p = 0,004$ )**

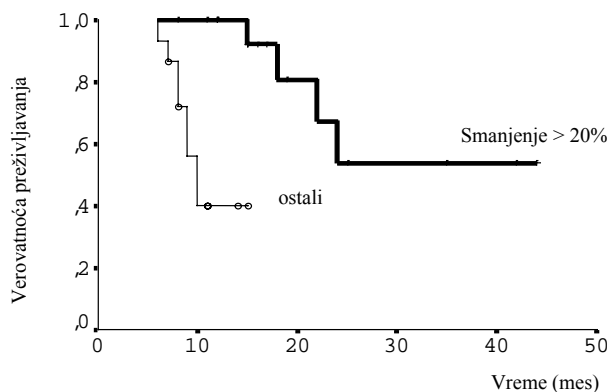
Odgovor	Smanjenje za 20% i više	Ostali	Ukupno
CR+PR	12 (70,6%)	3 (20,0%)	15 (46,9%)
SD + PD	5 (29,4%)	12 (80,0%)	17 (53,1%)
Svega	17 (100%)	15 (100%)	32 (100%)

CR – kompletan odgovor; PR – parcijalni odgovor, SD – stabilna bolest; PD – progresija bolesti

**Tabela 8**  
**Preživljavanje grupa sa ili bez pada nivoa tumorskih markera**  
**malignog tumora ovarijuma (CA 125)**

Nivo CA 125	Umrli / ukupan broj	Prosečno preživljavanje (meseci) $\bar{x}$ (95%; CI)
Smanjenje za $\geq 20\%$	4 / 17	33,12 (25,0; 41,2)
Ostali	8 / 15	11,09 (9,3; 12,9)
<i>Long Rank</i>		12,54; $p = 0,0004$

CI – Confidence interval



**Sl. 5 – Preživljavanje bolesnika sa i bez pada nivoa markera malignog tumora ovarijuma (CA 125) za  $> 20\%$  ( $p < 0,05$ )**

je zabeležen odgovor na terapiju (CR+PR), kod njih petoro nije bilo odgovora (SD+PD). Sve bolesnice (4) koje su imale histološki tip adenokarcinoma i zahvatanje retroperitoneuma (dve sa ascitom) imale su odgovor na terapiju (2CR i 2PR). Odgovor i pad markera zabeleženi su i kod 7 od 8 nediferentovanih (anaplastičnih) karcinoma (4 muškarca i 3 žene), a u kliničkoj slici dominirala je limfadenopatija od regionalne do generalizovane, uz zahvatanje pluća, pleure, jetre, koštane srži. Takođe, “skoro kompletnu remisiju” imala je i bolesnica (1 od 3 planocelularna procesa) sa masivnom, obostranom limfadenopatijom vrata.

Za ostale markere nije uočena statistička značajnost za bilo koju dinamiku serumskog nivoa pre i posle terapije.

### Diskusija

U ovoj studiji korišćeni su markeri koji su pokazali veliku kliničku vrednost. U poređenju sa poznatom studijom Pavlidisa i sar.<sup>7</sup>, ova studija sadrži pored šest markera, koje je koristila pomenuta grupa autora, i određivanje NSE i PSA. Izborom ovih markera „pokrivena“ je grupa neuroendokrinih i neuroepitelnih tumora (NSE), dok PSA kao organ specifični marker usmerava dijagnostiku, uz pokušaj da se isključe primarni tumori prostate koji su rano diseminovani. Svi markeri, izuzev AFP i PSA, bili su povišeni kod više od 30% bolesnika, što odgovara rezultatima drugih studija<sup>7</sup> gde su markeri bili povišeni kod preko 40%, izuzev AFP (17%). Doprinos ove studije je analiza zastupljenosti povišenih vrednosti NSE, koji je sa 82,54% povišenih vrednosti najčešće povišeno ekspresiran tumorski marker.

Preživljavanje ispitivane grupe bolesnika uglavnom se slaže sa rezultatima drugih autora. Medijana cele grupe od 10 meseci sa verovatnoćom preživljavanja 24 meseca kod

22,8% odgovara rezultatima Altmana i Cadmana<sup>15</sup>, Hessa i sar.<sup>16</sup>, i bolja je od iskustva Jungingera i Hoeffkena<sup>17</sup>. Pentheroudakis i Pavlidis<sup>11</sup> u novije vreme izveštavaju, na osnovu pregleda 20 „svežih“ kliničkih ispitivanja, da medijana ukupnog preživljavanja ne prelazi 12 meseci. Analiza prognostičkih vrednosti tumorskih markera pokazala je da nijedan marker ne poseduje prognostički značaj kod metastatskih tumora nepoznatog ishodišta, odnosno, ne može se smatrati nezavisnim prognostičkim faktorom. Ovo je u saglasnosti sa studijom Pavlidisa i sar.<sup>7</sup>. Ipak, ista grupa navodi, u radu novijeg datuma, da veće šanse za preživljavanje imaju bolesnici sa uvećanim vrednostima CA 125 i normalnim vrednostima CA 19-9<sup>17</sup>. Iako su neki autori, Greko i Hainsworth<sup>18</sup> pokazali da CEA, CA 125, CA 19-9 i CA 15-3 ne koreliraju sa odgovorom na primenjenu hemioterapiju, u ovoj studiji uočeno je, najpre, da je za NSE i CA 125 karakterističan pad srednjih vrednosti nivoa pre i nakon završene hemioterapije. Nadalje, vršeno je upoređivanje bolesnika, njihovo ukupno preživljavanje, zavisno od dinamike pada nivoa vrednosti markera pre i nakon hemioterapije. S obzirom da bolesnici kod kojih je došlo do sniženja vrednosti NSE i CA 125 imaju bolje ukupno preživljavanje od onih bez uočenog pada nivoa, može se reći da ova dva markera pokazuju dobru korelaciju sa odgovorom na preduzetu hemioterapiju. Kod bolesnica sa adenokarcinomom i padom nivoa CA 125 uvek postoji sumnja da je reč o nedokazanom primarnom epitelnom tumoru ovarijuma. Korelacija pada nivoa NSE i odgovora na hemioterapiju do sada nije ispitivana.

Iako se može zaključiti da je prognostička i prediktivna vrednost najčešće korišćenih serumskih markera kod CUP sindroma ograničena, još uvek se može diskutovati o njihovom značaju u diferencijalnoj dijagnostici, odnosno izboru sistemske terapije za pojedine entitete. Od posebnog značaja

bilo bi određivanje i kliničkih sindroma koji sugerišu potencijalno kurabilna stanja, odnosno metastatske tumore sa visokom responzivnošću. Danas je uobičajeno da se tumorski markeri koriste u cilju određivanja lokacije primarnog tumora. Povišen nivo markera može da sugerise primarno mesto, ali ne i da da preciznu dijagnozu primarnog tumora. Izuzeci su PSA u dijagnostici kancera prostate, beta-HCG za dijagnozu *germ-cell* tumora, kao i, možda, AFP za dijagnozu *germ-cell* tumora ili hepatoma. Sa druge strane, povišen nivo CEA, CA 125, CA 27-29 ili CA 19-9 može samo da sugerise primarno mesto, ali ne i definitivnu dijagnozu. Stoga, ukoliko se markeri, uopšte, koriste u evaluaciji CUP sindroma, treba ih primeniti kao pomoćno sredstvo za otkrivanje porekla primarnog tumora<sup>19</sup>.

Preporuke za dijagnozu, lečenje i praćenje CUP sindroma Evropskog društva za *European Society for Medical Oncology* (ESMO) insistiraju na određivanju AFP i beta-HCG, odnosno PSA kod bolesnika, u cilju isključenja izlečnih ekstragonadnih *germ-cell* tumora i kancera prostate kod koga se mora primeniti hormonsko lečenje. Takođe, insistira se na definisanju potencijalno izlečivih tumora kao što su slabo diferentovani karcinomi sa predominantno nodalnim metastazama i bolesnice sa peritonealnom karcinomatozom i histološkim tipom adenokarcinoma<sup>20</sup>.

Iako nije predmet ove studije, treba istaći sve veći značaj imunohistohemije koja mora da bude ekstenzivna, naročito u slučajevima nediferentovanih karcinoma, odnosno slabo diferentovanih adenokarcinoma. Namera je da se izbegne neprepoznavanje maligniteta tipa nehoćinskih limfoma, ekstragonadnih *germ-cell* tumora, melanoma i nediferentovanih

sarkoma. Najčešće korišćeni markeri su LCA, citokeratini 7 i 20, neuroendokrini markeri tipa NSE, hromogranin, S-100 ili vimentin. Bez obzira na histološki tip, u većini slučajeva neophodno je da se odredi PSA kod muškaraca, odnosno estrogeni i progesteronski receptori kod žena<sup>1</sup>.

Jedno od polja daljeg napretka u rasvetljavanju ovog problema je identifikacija profila organ specifične genske ekspresije koja omogućava korišćenje molekularnih tehnika. Primer za to je identifikacija izohromozoma 12p kod retroperitonealnih i medijastinalnih slabo diferentovanih karcinoma koji indikuju *germ-cell* tumore<sup>21</sup>.

Krajnji cilj dijagnostičkog panela je otkrivanje podgrupe sa povoljnom prognozom i senzitivnošću na sistemsku terapiju. Najbolje terapijske odgovore daju kombinacije platinskih agenasa (cisplatin, carboplatin) sa taksanima (RR oko 12–26% uz medijanu preživljavanja 5–7 meseci). Dodatak trećeg agensa ne pokazuje dodatnu korist<sup>22</sup>. Bolesnici kod kojih nije postignut efekat kombinacijom agenasa mogu imati koristi od monoterapije gemcitabinom<sup>23</sup>. U toku su studije II faze sa bevacizumabom i erlotinibom<sup>24</sup>.

### Zaključak

Povišene vrednosti serumskih tumorskih markera vrlo su česte u CUP sindromu. Ovi tumori pokazuju nespecifičnu povećanu ekspresiju tumorskih markera. Nivo NSE i CA 125 pokazuje dobru korelaciju sa odgovorom na preduzetu hemioterapiju. Ne preporučuje se, međutim, rutinska primena najčešće korišćenih serumskih tumorskih markera u svetlu prognostičke i prediktivne vrednosti.

### L I T E R A T U R A

1. *Briasoulis E, Kalofonos H, Bafalonkos D, Samantas E, Fountzilas G, Xiros N, et al.* Carboplatin plus paclitaxel in unknown primary carcinoma: a phase II Hellenic Cooperative Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2000; 18(17): 3101–7.
2. *Abbruzzese JL, Abbruzzese MC, Lenz R, Hess KR, Raber MN.* Analysis of a diagnostic strategy for patients with suspected tumors of unknown origin. *J Clin Oncol* 1995; 13(8): 2094–103.
3. *Oien KA, Evans TR.* Raising the profile of cancer of unknown primary. *J Clin Oncol* 2008; 26(27): 4373–5.
4. *Pentheroudakis G, Briasoulis E, Pavlidis N.* Cancer of unknown primary site: missing primary or missing biology? *Oncologist* 2007; 12(4): 418–25.
5. *Ruddon RW, Norton SE.* Use of biological markers in the diagnosis of cancers of unknown primary tumors. *Semin Oncol* 1993; 20(3): 251–60.
6. *Currow DC, Findlay M, Cox K, Harnett PR.* Elevated germ cell markers in carcinoma of uncertain primary site do not predict response to platinum based chemotherapy. *Eur J Cancer* 1996; 32A(13): 2357–9.
7. *Pavlidis N, Kalef-Ezra J, Briasoulis E.* Evaluation of six tumor markers in patients with carcinoma of unknown primary. *Med Pediatr Oncol* 1994; 22: 162–7.
8. *Milović M, Popov J, Jelić S.* Tumor markers in metastatic disease from cancer of unknown primary origin. *Med Sci Monit* 2002; 8(2): MT 25–30.
9. *Parvez T, Ibraheim MI.* Diagnostic and prognostic yield of tumor markers in cancer of unknown primary site. *J Coll Physicians Surg Pak* 2006; 16(2): 154–6.
10. *Sporn JR, Greenberg BR.* Empirical chemotherapy for adenocarcinoma of unknown primary tumor site. *Semin Oncol* 1993; 20(3): 261–7.
11. *Pentheroudakis G, Pavlidis N.* Cancer of unknown primary: what kind of chemotherapy? What kind of disease? *Onkologie* 2009; 32(4): 159–60.
12. *Pejić I, Vrbić S, Filipović S, Radić S, Pejić Lj.* Chemotherapy in carcinomas of unknown primary site. *J BUON* 2004; 9(1): 27–31.
13. *Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al.* Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982; 5(6): 649–55.
14. *Kaplan EL, Meier P.* Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 458–81.
15. *Altman E, Cadman E.* An analysis of 1539 patients with cancer of unknown primary site. *Cancer* 1986; 57(1): 120–4.
16. *Hess KR, Abbruzzese MC, Lenz R, Raber MN, Abbruzzese JL.* Classification and regression tree analysis of 1000 consecutive patients with unknown primary carcinoma. *Clin Cancer Res* 1999; 5(11): 3403–10.
17. *Junginger TH, Hoefken K.* Der suchet der findet? *Onkologie* 1997; 3(4): 333–4.
18. *Pentheroudakis G, Briasoulis E, Karavassilis V, Fountzilas G, Xeros N, Samelis G, et al.* Chemotherapy for patients with two favourable subsets of unknown primary carcinoma: active, but how effective? *Acta Oncol* 2005; 44(2): 155–60.
19. *Mennel RG.* Clinical evaluation of the patient with an unknown primary tumor. In: *Perry MC*, editor. *American Society of*



- Clinical Oncology 2002 Educational Book. Baltimore, Md: Lippincott Williams & Wilkins; 2002: 327–34.
20. *Briasoulis E, Pavlidis N, Felip E.* Cancers of unknown primary site: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2009; 20(Suppl 4): 154–5.
21. *Netto GJ.* Tumors of unknown primary origin: the role of immunohistochemistry and molecular diagnostics. In: *Perry MC*, editor. American Society of Clinical Oncology 2002 Educational Book. Baltimore, Md: Lippincott Williams & Wilkins; 2002: 343–47.
22. *Pentheroudakis G, Briasoulis E, Kalofonos HP, Fountzilas G, Economopoulos T, Samelis G*, et al. Docetaxel and carboplatin combination chemotherapy as outpatient palliative therapy in carcinoma of unknown primary: a multicentre Hellenic Cooperative Oncology Group phase II study. *Acta Oncol* 2008; 47(6): 1148–55.
23. *Neben K, Hübner G, Folprecht G, Jäger D, Krämer A.* Metastases in the absence of a primary tumor: advances in the diagnosis and treatment of CUP syndrome. *Dtsch Arztebl Int* 2008; 105(43): 733–40.
24. *Hainsworth JD, Spiegel DR, Farley C, Thompson DS, Shipley DL, Greco FA.* Phase II trial of bevacizumab and erlotinib in carcinomas of unknown primary site: the Minnie Pearl Cancer Research Network. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1747–52.
- Primljen 26. VI 2009.  
Revidiran 14. XII 2009.  
Prihvaćen 21. XII 2009.