Marcadores mucinosos associados a câncer

Marker mucinous cancer associated

JOSÉ VALDAÍ DE SOUZA – Cirurgião geral e especialista em Biologia Molecular.

Trabalho realizado na Universidade Luterana do Brasil.

✉ Endereço para correspondência:
José Valdaí de Souza
Av. Carlos Gomes 328/501 – Boa Vista
90480-000 – Porto Alegre – RS – Brasil
Fone (51) 328-4928
jvaldai@terra.com.br

SINOPSE

O uso de marcadores mucinosos associados ao câncer vem despertando interesse no mundo científico. Entre suas características fundamentais, destaca-se o fato de estarem demonstrando alta especificidade e sensibilidade para o diagnóstico de uma grande gama de tumores malignos. O CA 125 está mais relacionado com câncer de ovário e útero, CEA, com câncer colorretal, CA 15-3 com adenocarcinoma de mama e o CA 19-9 com tumores de pâncreas. Bioquimicamente estes marcadores são glicoproteínas produzidas por células tumorais. Com os avanços da biologia molecular e da tecnologia, podem ser dosados em vários laboratórios e futuramente nos próprios consultórios médicos. Embora esses marcadores tumorais até agora não tenham demostrado ser apropriados para *screening,* pois sua especificidade e sensibilidade ainda não atingiram cem por cento, eles se destacam na elaboração do diagnóstico precoce, quando associados a clínica, avaliação de recidivas tumorais, prognóstico, no acompanhamento e avaliação da eficácia das terapias anticâncer.

UNITERMOS: Glicoproteína, Mucina, Marcadores Tumorais e Epitopos.

ABSTRACT

The use of tumor markers, associated with cancer, has been arousing much interest in the scientific world. Their fundamental characteristics disengage themselves from the fact of demonstrating high specificity and sensibility to the diagnosis of a great scale of malign tumors. The CA 125 is useful in ovarian and endometrium cancer, CEA in colorectal tumor, CA 15-3 in breast adenocarcinomas and CA 19-9 in pancreatic cancer. Biochemically, these markers are glicoprotein produced by tumor cells. Due to the advances in molecular biology and in technology, these markers are available in many laboratories and in the future, will also be available in doctor's office. Although these tumor markers have not demonstrated being appropriate for screening because its specificity and sensibility have not yet reached one hundred percent, they can be distinguished in the elaboration of precocious prognostic, when clinically associated, evaluation of recurrent tumor and in the follow-up and efficacy of anti-cancer therapy.

KEY WORDS: *Glicoprotein, Mucin, Tumor Marker e Epitopes.*

INTRODUÇÃO

As descobertas e aplicabilidades que ocorreram referentes aos marcadores tumorais, abaixo citados e descritos, são fruto de extensos estudos nas áreas de bioquímica, imunologia e biologia molecular. A partir das informações advindas desses estudos nasceu a possibilidade de se desenvolverem anticorpos capazes de identificar alterações celulares e, com isso, se ter um melhor conhecimento de como estão se comportando as células de um indivíduo. Os marcadores mucinosos e de tipo mucinosos mais estudados hoje são: CA 125, CA 15-3, CEA (carcinoembrionário) e CA 19-9. Estes marcadores têm demonstrado maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico de patologias como câncer de ovário e endométrio, mama, colorretal e pâncreas, patologias estas muito comuns, e de difícil diagnóstico precoce. Este trabalho tem como finalidade buscar na literatura o que tem de mais importante sobre os marcadores interativos da proteína mucina associados a tumores e suas aplicações clínicas na medicina.

HISTÓRICO

Os marcadores foram originalmente definidos como substâncias que poderiam ser utilizadas no manejo de pacientes com câncer. Esta definição já existe há mais de um século. Em 1846 H. Bence-Jones observou que a acidificação de urina de pacientes com *Mollitíes Osseons,* produziam um forte precipitado. Mais tarde se descobriu que esta precipitação era a cadeia leve produzida por células do mieloma e recebeu o nome de proteína de Bence-Jones. A proteína de Bence-Jones foi considerada como um marcador e ainda hoje é usado como tal no diagnóstico de mieloma múltiplo. Atualmente, os marcadores são definidos como substâncias que podem ser medidas nos fluidos ou tecidos corporais. A identificação e dosagem dessas proteínas está sendo usada para o diagnóstico, prognóstico ou monitoramento do câncer. Estas substâncias podem ser encontradas no citosol, ligadas à membrana ou dispersas na circulação. A introdução dos marcadores tumorais na clínica oncológica apresenta uma ampla aplicação, particularmente devido ao desenvolvimento de novas técnicas de imunodiagnóstico (1).

A mucina (MUC 1), que é um complexo glicoprotéico gigante, com mais de 80% de carboidrato, contendo polipeptídeos com um centro de múltiplos oligossacarídeos ao lado da cadeia um "**O**-" ligado à serina e resíduos de treonina (2). A parte madura da molécula

está ancorada dentro da superfície celular, caracterizando-se pelo domínio transmembrana. A maior parte da mucina localiza-se extracelularmente em um alongamento para além de outras superfícies celulares, caracterizando macromoléculas (Figura 1). A função exata da mucina nas células normais ainda está em discussão. Ela tem sido usada como marcador de muitos carcinomas humanos, apresentando, por isso, grande importância no diagnóstico. Nas células malignas, a presença da mucina está elevada e a orientação dentro dos tecidos não está longamente polarizada até a superfície. A MUC 1 mucina liberada de sua localização na superfície celular pode cair na circulação e a dosagem dessas moléculas no sangue pode prover um guia à ação de tumores e determinar a seqüência de doença recidivante, progressão ou resposta à terapia. A maior descoberta foi no início da década passada, quando se identificaram 20 aminoácidos em seqüências repetidas (PDTRPAPGSTAPPAHGVTSA), na estrutura da proteína (Figura 2).

Recentemente, com a síntese das glicoproteínas, estamos tendo a oportunidade de mapear todos os anticorpos capazes de interagir com a MUC 1 mucina. Isto é importante, pois as células malignas e aberrantes de glicolização podem levar a um trincado ou incompleta cadeia de oligossacarídios, os quais podem ser acompanhados por um aumento de um novo determinante dentro do centro da mucina, O alvo da produção dos anticorpos reativos associados a tumores ou relacionados com mudanças devido a tumores dentro de uma macromolécula, sendo que eles mesmos podem ser superexpressados nas doenças malignas, tornando-se uma realidade concreta. A análise dos anticorpos monoclonais contra a MUC 1 mucina pode ser importante para definição de marcadores para câncer e podem ter significativa utilidade clínica. A seqüência de nucleotídios da mucina ainda não está totalmente bem definida, porém vários ensaios parecidos ou semelhantes já foram desenhados, e já se conhece sua imagem em 3D (terceira dimensão) (Figura 3). Entretanto, se conhecermos as seqüências dos AA (aminoácidos), podemos desenhar os nucleotídios (3). Exemplificando: Identificando uma proteína pelo método de Western-blot e os aminoácidos e nucleotídios (Southern-blot) e com isso desenhar uma cadeia completa, pode-se diferenciar o normal do patológico ou criar um marcador biológico.

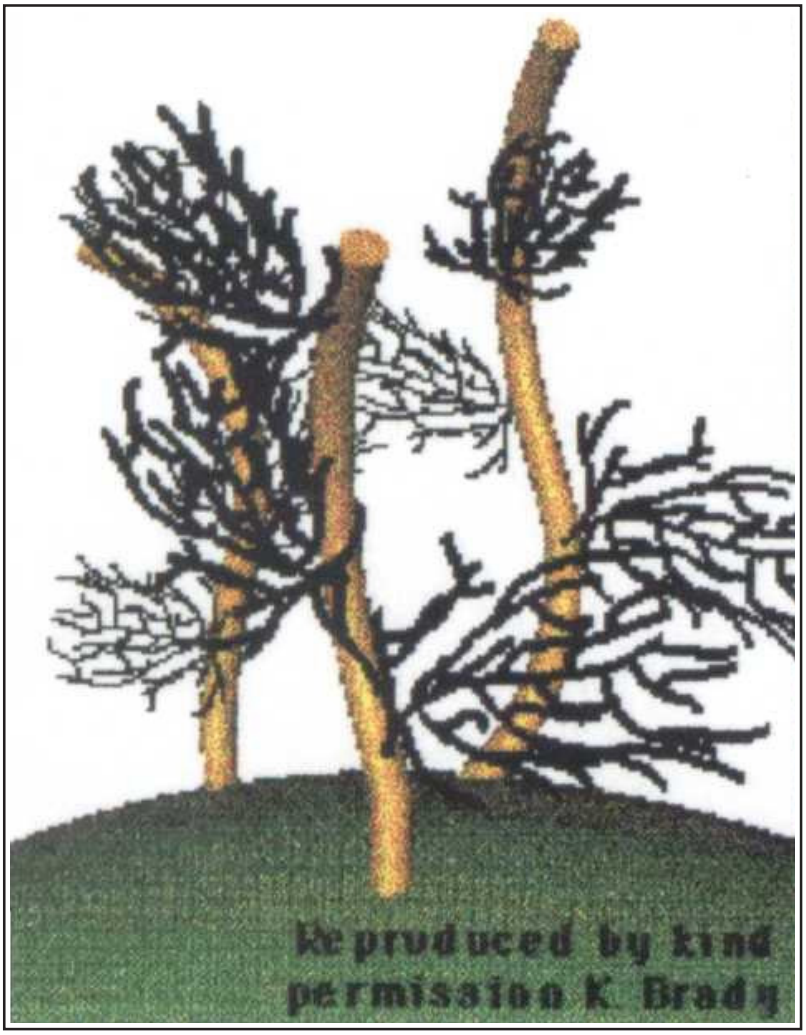


Figura 1 – Desenho da molécula de mucina emergindo da membrana celular.

Características dos anticorpos

Sensibilidade e especificidade

A concentração da maioria dos marcadores tumorais é extremamente baixa no sangue, por isso o método que avalia os marcadores deve ser muito sensível. Neste caso se aplicam os métodos de enzima imunoensaio e o radioimunoensaio (RIA). A seleção dos anticorpos apropriados é o mais importante para determinar a sensibilidade e especificidade no imunoensaio e para o teste formato sanduíche a afinidade da camada da fase sólida do anticorpo é que determina a sensibilidade do teste. A maioria dos anticorpos usados em testes para marcadores tumorais são preparados contra um antígeno isolado de tecido tumoral ou linhagem celular. No entanto, estes podem sofrer, quando na circulação, modificações de tamanho e podem se comportar diferentemente na circulação sangüínea ou na urina. Além disso, os anticorpos podem sofrer modificações durante o

<KGCEFCCKSS FVDLQNLTNF ILCLLLEQCS KLQKLQIVME TFSQNLLHME TLT>

Seqüência de aminoácidos da proteina mucina.	**U** ou **T** **C** **A...** G
Exemplo de desenho da seqüência de nucleotídios = K (lisina) = AA <AAAGGCUGCGAAUUCUGCUGUAAGAGCUCG...>	

Figura 2.

isolamento e isso pode diminuir a afinidade pelo marcador tumoral circulante.

A diferença entre um anticorpo monoclonal e policlonal é muito importante, pois nos MABs (monoclonais) a especificidade pode ser determinada mais precisamente. Isto foi conseguido graças ao desenvolvimento dos MABs, usando-se a técnica de hibridização das células somáticas. Os MABs reconhecem somente um epitopo na superfície do tumor; com isso diminui as reações cruzadas (4).

Marcadores mucinosos tumorais

Os marcadores relacionados a tumores mucinosos ou de tipo mucinosos mais conhecidos e já em uso no campo da cancerologia são o CA 125, CEA (carcinoembrionário), CA 15-3, CA 1 9-9, embora já existam muitos outros MABs. Nós vamos descrever, nesta revisão bibliográfica, somente estes quatro em virtude de serem os mais pesquisados e que vêm tendo maior aplicação na prática clínica da oncologia. Justifica-se também por estarem envolvidos mais diretamente com patologias muito freqüentes na humanidade, neste momento, e que precisam ser mais profundamente conhecidos.

"O campo dos marcadores tumorais explodiu com o desenvolvimento dos **anticorpos monoclonais (*MABs*)**. Hoje já existem, além desses que estamos abordando, centenas de novos marcadores em *trial* e pesquisa" (1).

Um marcador ideal deve ser uma substância produzida pelas células tumorais e disseminada para os fluidos do corpo, onde podem ser quantificadas, de preferência por métodos de diagnóstico não invasivos. Além disso, deve estar somente presente em pacientes com câncer, e sua expressão deve estar aumentada proporcionalmente com o grau de malignidade do tumor, refletindo o estado clínico da doença. A correlação entre o marcador e a massa tumoral serve para manejar o paciente com câncer. Por isso ainda temos poucos e limitados marcadores ideais, como os idiotipos da imunoglobulina das células B tumorais indutoras de antígenos virais (SV4O T antígeno) e das células T receptoras em células T da leucemia. A maioria dos marcadores funcionais usados em clínica são antígenos associados a tumor (TAA), através da produção de secreções tumorais. Os TAA (antígeno associado a tumor) podem ser superexpressados, como antígeno normal da mesma origem embrionária do tumor ou por antígeno de origem oncofetal. Outros TAA são variantes na transcrição de uma glicoproteína produzida por uma glicolização anormal de uma proteína normal.

Por isso é provável que mutação ou translocação no gene correspondente pode resultar em alteração na proteína específica do câncer, como se exemplifica pela mutação do p 21 ***ras*** em mutado p.53. Com a introdução das recentes técnicas de biologia molecular, um novo grupo de antígenos tumorais específicos estão sendo desvendados. Usando a técnica de PCR (reação em cadeia de polimerase) e seqüenciamento do DNA, mutações, deleções ou translocações podem ser identificadas em pacientes com câncer. Estes novos métodos da biologia molecular estão em intensa evolução clínica. A vasta maioria dos TAAs estão presentes em altas concentrações em pacientes com câncer quando comparados a indivíduos sadios. No entanto, indivíduos sadios também podem expressar TAA, mas em baixas concentrações. Os TAAs podem ser de alto ou baixo peso molecular. Exemplos de TAA de baixo peso molecular: ácido vanilmandélico e catecolaminas, os quais são



Figura 3 – Imagem das fitas da proteína mucina em terceira dimensão.

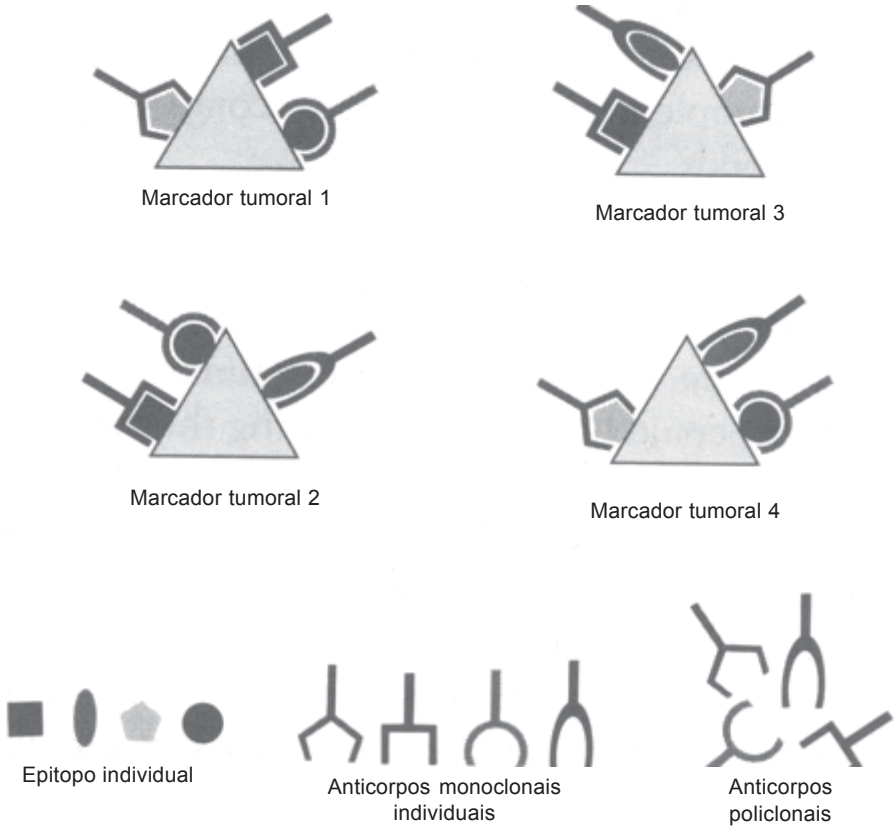


Figura 4 – Como os anticorpos se fixam nos epitopos – monoclonais e policlonais (reproduzido do Wu, 1997).

usados no diagnóstico e acompanhamento de pacientes com neuroblastoma e feocromocitoma. Os marcadores de alto peso molecular, como **marcadores macromoleculares,** podem ser divididos em quatro categorias (ver Tabela 2). Os mais usados destes são provavelmente os antígenos glicoconjugados descobertos na última década. Estes glicolipídios e glicoproteínas são produzidos por glicolização na maquinaria das células cancerosas. Estas anormalidades levam a mudanças na atividade enzimática específica das glicotransferases pela alteração na síntese ou degradação (5). A maioria dos marcadores tumorais podem ser detectados em mais de um tipo de neoplasia e mesmo em condições benignas (ver Tabela 3) alguns marcadores mais comuns.

MARCADOR CA 125

O Ca 125 foi descoberto em 1981 (Bast, 1981), mas suas funções e características ainda estão longe de ser totalmente conhecidas. Diferentes linhagens de células de ovário humano (OVCA 453, CAO V3, CAO V4, OVCAR e RMG-11) e do adenocarcinoma de pulmão PC-9 e células epiteliais do líquido amniótico podem ser usadas para produzir o CA 125 em cultura de tecidos. O leite humano e o soro podem ser usados como fonte para produção de CA 125, porém o mais comum é o líquido de ascite purificado de pacientes com câncer de ovário. Uma das maiores limitações para a caracterização bioquímica do CA 125 é a falta de informações relativas aos genes e à organização molecular. A purificação e a caracterização do CA 125 de diferentes fontes (líquido de ascite humana e cultura de tecidos) podem contribuir para um melhor conhecimento do CA 125. A função biológica do CA 125 ainda é um mistério. A presença do CA 125 no soro está mais consistentemente associada a doença invasiva ou amplamente disseminada; seu valor é mais baixo nos estágios iniciais ou em tumores bem localizados. O CA 125 é um marcador tumoral de ovário por excelência, o tumor que tem um dos piores prognósticos dos cânceres do trato genital feminino (5). A maioria dos pacientes diagnosticados já estão em fase avançada da doença. Em 1997, cerca de 26.800 novos casos de câncer de ovário foram diagnosticados nos Estados Unidos; destes 14.200 morreram da doença.

O CA 125 é uma glicoproteína de alto peso molecular, originariamente identificada por um anticorpo monoclonal, o OC 125, o qual estava aumentado contra o OVCA 433 da linhagem celular de câncer de ovário. Estudos subseqüentes de imuno-histoquímica demonstraram que o OC 125 reagiu com 80% dos tumores epiteliais não mucinosos de ovário, de serosos, endometrióides, de células claras e de histologias diferenciadas (6). Nos estudos de Davidson B, et al., foi detectada a presença do CA 125 em 80%, nas células da pleura, peritônio e pericárdio, em pacientes com metástases; no entanto, a detecção no líquidos foi baixa, todos os pacientes tinham metástases de câncer ginecológico (6). O

Tabela 1 – Diferença entre anticorpo monoclonal e policlonal por imunoensaio(4)

Monoclonal	Policlonal
Ilimitadas e consistentes provisões de anticorpos	Animal para animal e cheio de variações, não garantindo provisões
Reconhece somente um epitopo na molécula inteira	Reconhecem vários epitopos de molécula inteira
O epitopo pode ser partilhado por diferentes moléculas	O anticorpo pode ter reações cruzadas com moléculas similares

Tabela 2 – Antígenos macromoleculares associados a tumores (5)

Categorias dos TAAs macromoleculares	Exemplos
Enzimas / Isoenzimas	Fosfatase alcalina placentária; antígeno prostático específico; fosfatase ácida específica
Hormônios; citocinas; fator crescimento e receptores solúveis	Gonatrofina coriônica; interleucina 2 e receptores estrogênicos e progesterona
Proteínas oncofetais	Antígeno carcinoembrionário e alfa-feto-proteína
Glicoconjugados	CA 125; CA 15.3; Lewis X e Y; GM2; CA 19.9; TAG 72

Tabela 3 – Marcadores mais comuns (5)

Neoplasias	Marcador tumoral
Coriocarcinoma	Gonadotrofina coriônica humana
Mieloma múltiplo	Proteína de Bence-Jones
Sarcoma osteogênico	Fosfatase ácida
Câncer de próstata	Antígeno prostático específico; fosf. ác. prost.
Carcinoma de ovário	CA 125; CA 54/61; CA 3632
Carcinoma gastrointestinal	CEA; CA19.9; CA 195; TAG 72; CA 245
Câncer de mama	B 27; CA 15.3
Carcinoma hepatocelular	Alfa-feto-proteína
Tumor de células germinativas	Beta-gonadotrofina humana; alfa-feto-proteína; fosfatase alcalina placentária

CA 1 25 estava elevado em mais de 35ng/mL em 93,8% dos pacientes com câncer de mama em infusões serosas e em 76,6% das várias outras doenças malignas e em 56,8% em efusões de doenças benignas. A especificidade do CA 1 25 em efusões serosa de câncer de mama foi de 93,8%, comparada com 28,7% nas doenças benignas. Em comparação com o CA 15.3, o CA 125 foi menos específico em função de ter níveis elevados em doenças benignas, enquanto o CA 1 5.3 titulação 0% nessas (7).

Aproximadamente 20% dos derrames pleurais são causados por neoplasias, embora a citologia, o exame de rotina, demonstre sensibilidade na detecção de câncer em 50 a 60%, o que é insuficiente, entretanto um método não invasor e mais sensível pode ser o uso de marcadores tumorais e os resultados com o CA 1 *25* podem ser de grande valia, pois tem demonstrado 70% de sensibilidade e 61% de especificidade nas neoplasias. O uso de marcadores tumorais em derrames pleurais, por toracocentese, pode ajudar muito no diagnóstico e diminuir a morbidade no paciente (8). O CA 125, em um estudo com 22.000 voluntárias, em menopausa, com idade de mais ou igual a 45 anos de 1º de junho de 1986 até 1º de maio de 1990, mostrou que em títulos de CA 125 maior que 30 U/mL o índice para câncer foi de 0,0022 e quando o CA 125 estava maior de 30U/mL até 100 U/mL, o índice foi 35,9 vezes maior; isso prova que o CA 1 25 é um poderoso marcador para câncer de ovário ou trompas em mulheres assintomáticas na menopausa. O OC 125 foi o primeiro anticorpo monoclonal a ser usado para detectar células cancerosas de ovário. Este epitopo é associado a uma proteína de alto peso molecular, maior 200 Kd. O CA 125 é expressado no epitélio colônico durante o desenvolvimento das células carcinomatosas de ovário no ser humano (9).

Bioquímica do CA 125

O CA 125 está presente no soro e no líquido ascite de pacientes com câncer de ovário (1). A maior atividade no estado nativo está associada com a "moiety" (estrutura tridimensional) de mais de 1 milhão Da, bem como a estrutura "moiety" de baixo peso molecular de 200 – 400 K Da. A natureza do CA 125 ainda não está bem esclarecida, mas todos concordam que a molécula é uma glicoproteína que contém somente 24% de carboidratos, e por isso não seria classificada como mucina. Os 24% dos açúcares presentes em sua molécula em uma análise química revela ácido siálico, fucose, manose, galactose, N-acetil glucosarnina e N-acetil galactosamina. A S–Metionina quantificada no CA 125 pode ser detectada após incubação em 4 horas e o seu nível máximo de incorporação em 1 hora (5). A cicloexamida e a actinomicina D podem inibir a síntese do CA 125. Diferentes protocolos para o CA 125 foram descritos (1), porém a verdadeira caracterização bioquímica do CA 1 25 ainda não está totalmente completada. Presume-se que a ligação dissulfeto S-S contribui para a estabilização da estrutura quaternária. Uma das maiores limitações na caracterização da bioquímica do CA 125 é a falta de informações na sua biologia molecular. Mesmo após 18 anos de sua descoberta o CA 125 não foi ainda clonado ou identificado completamente (5).

Ensaio

A possibilidade de que o CA 1 25 poderia servir como um potencial marcador tumoral para neoplasia de ovário levou os pesquisadores a desenvolverem uma experiência imunorradiométrica (IRMA) para detectar o CA 125 em soro simples dos portadores de tal patologia. Mais de um epitopo para o anticorpo OC 125 foi associado à molécula do CA 125. Um ensaio em homo-sanduíche foi aplicado. Nenhum padrão gravimétrico foi determinado, e arbitrariamente uma unidade de va-

lor foi estabelecida por Klug et al. Krantz et al. desenvolveram um par de anti-CA 125, anticorpos B43.13 e B27.1 e um hetero-sanduíche foi determinado. O valor para o ensaio com CA 125 foi estabelecido em temperatura-ambiente por 7 dias e o valor ficou para o limite normal em 35ng/mL (4). Estes dois anticorpos podem inibir a ligação com o OC 125, porém não inibem outras ligações. Em 1991, O'Brien e colaboradores desenvolveram outro anticorpo monoclonal que identifica uma glicoproteína que sustenta o epitopo CA 125. Este anticorpo foi denominado M11 e está presente na mesma especificidade direcionada para o CA 125, porém esta ligação não foi inibida pelo OC 125. Isto indica que o epitopo M11 está localizado na glicoproteína CA 125, mas em um sítio diferente, ocupado pelo OC 125. O M11 foi usado para desenvolver uma segunda geração de imunotestes para o CA 125. Dois novos biespecíficos anticorpos monoclonais foram recentemente desenvolvidos. Estes apresentam desvantagens em termos de testes cinéticos e sensibilidade, porém as pesquisas ainda estão em evolução (5).

Anticorpos

Desde a origem do descobrimento do CA 125, usando o anticorpo monoclonal (Mabs) OC 125, em 1981, vários outros Mabs reativos têm sido desenvolvidos. A sociedade internacional para o Oncodesenvolvimento Biológico e Médico (3) organizou dois encontros para avaliar alguns Mabs para o CA 125. Dessa reunião resultaram duas publicações (Nustad, 1996; Nap, 1996) e um dos mas importantes assuntos desse encontro foi a classificação da existência de Mabs para o CA 125 em dois grupos maiores de epitopos: o OC 125 como grupo A e o M11 como grupo B. Fora dos 26 anticorpos somente UM não foi inibido pelos anticorpos OC 125 e M11. Isso sugere que o antígeno CA 125 consiste de múltiplas subunidades e cada um contém um determinante antígeno, como o OC 125 e o M11 anticorpos. Essas subunidades provavelmente se ligariam através de pontes de dissulfeto (S-S) e outras alterações. O desdobramento tridimensional final parece fazer uma molécula com muito limitado número de sítios antigênicos dominantes (1).

Aplicações clínicas

O nível do CA 125 está elevado em mais de 80% dos carcinomas epiteliais não mucinosos de ovário, tais como citoadenocarcinoma seroso, e menos freqüente no endometrial e em carcinomas de células claras. É praticamente indetectável em cistoadecocarcinoma mucinoso. O CA 125 tem uma especificidade de 100%, e pode estar elevado também em doenças inflamatórias pélvicas e também em câncer de mama, árvore pulmonar ou trato gastrointestinal. No entanto, quando o CA 125 está elevado, precede de 1 a 4 meses a um diagnóstico clínico de uma recidiva tumoral. O CA 125 pode ser usado para detectar câncer epitelial, que ocorre em 90% do câncer de ovário, no estágio inicial e para o monitoramento dos tratamentos (1,2).

Pacientes recebendo quimioterapia podem ter um falso declínio no antígeno CA 125; entretanto, resultados negativos nem sempre confirmam a não possibilidade de recidiva tumoral. O CA 125 é também usado para o acompanhamento clínico de tumores uterinos, onde mais de 60% dos casos têm CA 125 elevado, e também em patologias benignas, como endometriose. O emprego do CA 125 e CEA antígeno carcinoembrionário aumenta a especificidade e a sensibilidade do teste para o câncer de ovário, quando em conjunto. O CA 125 pode ser útil para a detecção precoce de tumores epiteliais, os quais ocorrem em 90% dos cânceres de ovário ou para monitoramento sem necessidade de estagiamento cirúrgico (9). O CA 125 pode estar elevado nas mulheres em pré-menopausa, sendo a causa mais provável a endometriose (5). Pacientes com peritonite ou cirrose hepática podem ter o CA 125 elevado e a causa pode ser a ascite ou a incompleta metabolização do CA 125 nos cirróticos. A elevação do CA 125 está relacionada com a população celular carcinomatosa e os dados mostram que nos estágios I, II, III e IV as percentagens são: 51%; 71%; 91% e 98% para câncer de ovário, e a concentração foi de 20 U/mL nos estágios I e II, estágio III = 393U/mL e IV de 689 U/mL. O CA 125 pode ter correlação com o tamanho do tumor, onde se observou que tumores com < de 2 cm = 63% e diâmetro de > 2 até 10 cm: 76% e em tumor com > de 10 cm: 100% (5). A especificidade do CA 125 a nível de tecidos é muito pobre, mas no soro tem, relativamente, alta especificidade para câncer de ovário. Contudo, o nível de CA 125 elevado no soro pode ocorrer em pacientes sofrendo de câncer de endométrio, mamas, colorretal, pulmão e fígado (5). Os estudos de Shering et al. demonstraram uma significativa associação entre a elevação do CA 125 antes da cirurgia do tumor primário e sua grande extensão e a invasão de linfonodos axilares sem evidências de metástases e sem relações com os receptores estrogênicos. A pesquisa envolveu 368 pacientes e mostrou que o CA 125 é um marcador independente para o prognóstico de carcinoma de mama (10).

Screening

O papel do CA 125 como teste de *screening* para câncer de ovário está sob investigação, mas o impacto que isso pode causar na mortalidade ainda é desconhecido (11) (ver Tabela 4).

O índice acumulativo de voluntários com CA 125 maior ou igual a 30 U/mL foi de (0,0012,0,0008 até 0,00 17).

O risco de desenvolver câncer um ano após com CA l25>/=30 U/mL, >/=50 U/mL, maior ou igual 100 U/mL foi de 0,026, 0,083 e 0,149, respectivamente. Isso mostra que a alteração na concentração maior ou igual a 30 ou maior ou igual a 50 U/mL só variou de 0,030 e 0,089, respectivamente. No

Tabela 4 – Resumo do número em percentuais de voluntários *(screening)* e mulheres com CA 125 com concentração >/=30 U/mL (Jacobs. 1996)

Grupos de voluntários	Voluntários	*Screening*	Significado *Screening* por voluntários	Voluntários com CA 125 >/= 30 U/mL	Com > 100 U/mL
Estudo total da população	22.000	47.755	2,2	767 (3,5)	1.180 (5,4)
Índice documentado de câncer*					
Não	21.951	47.681	2,2	744 (3,4)	1.151 (5,3)
Sim	49	74	1,5	23 (47)	21
Somente um *screening*	12.677	12.677	1,0	192 (1,5)	192 (1,5)
Mais de um *screening*	9.323	35.078	3,8	575 (6,2)	988 (10,6)

*Câncer epitelial de ovário e trompas

entanto, seguindo o acompanhamento com índices de concentração de CA 125 maior ou igual a 100 U/nL, a variação foi para 0,149 (11). CA 125 não deve ser usado para *screening* de urna população não selecionada clinicamente, isto é aquela população que não se encontra dentro de áreas previamente conhecidas, que apresentam maior incidência deste tipo de tumor. Exemplo: Nordeste brasileiro comparado com o Rio Grande do Sul, onde ocorre uma maior incidência desse tumor ou pela genética ou adquirido. Pois o Nordeste apresenta baixa incidência de câncer de ovário (0,20%) em mulheres de 50 a 70 anos e ocorre uma sensibilidade de somente 40%. Assim, se formos testar 100.000 mulheres, nós seguiríamos investigando 1.000 pacientes e somente 80 destas (1 em 12) teriam câncer de ovário, e somente 40% de todos os casos, assim detectaríamos somente 120 casos (1).

Valores de referência

Em CA 125 dosado no soro, os valores são **menores de 35 U/mL.**

Antígeno carcino-embrionário – CEA

CEA é uma glicoproteína do soro com peso molecular de 180 Kd, sendo uma das últimas das 19 moléculas relatadas que são membro da superfamília dos genes das imunoglobulinas. Sendo assim, o CEA tem como função a adesão hemolítica intracelular que promove a agregação das células nos carcinomas colorretais. O CEA pode facilitar as metástases do câncer colorretal para o pulmão e fígado (12). O CEA foi descoberto por Gold e Freedmann e é ainda hoje o marcador mais usado para investigar câncer gastrointestinal. O CEA é o produto de células normais, sendo superexpressado, primariamente por adenocarcinomas de cólon, reto, mama e pulmão. Os fumantes têm mais alta titulação de CEA que os não fumantes, mas idade, sexo ou raça não modificam a taxa normal. O fígado é o maior depurador de CEA. Moderadas para significante elevações do nível de CEA podem ocorrer em doenças inflamatórias crônicas e agudas, incluindo alcoolismo, cirrose, colelitíases, icterícias obstrutivas, colangites, abscessos hepáticos, empiemas bronquites, ulcera gástrica, gastrites, diverticulites, diabetes e doenças colagenosas vasculares. O CEA pode estar elevado além do câncer colorretal em carcinomas de mama, pulmão, estômago, pâncreas, cérvix, bexiga, rins, tireóide, fígado, linfomas e mieloma (12). Estudos em exudatos pleurais usando o CEA como marcador em neoplasias malignas gartrointestinais mostraram sensibilidade para o CEA de 57% e especificidade de 97%, e isso demonstra que esse é um marcador de primeira ordem para derrames pleurais malignos nesses quadros clínicos (42).

Metodologia

O teste com CEA é imunorradiométrico e pode ser usado com duplo Mabs (anticorpos monoclonais) ou em formato de anticorpo monoclonal-policlonal. Em geral os métodos aprovados pelo FDA-USA (Food and Drugs Administration) para o CEA têm comparado os ensaios medidos com o coeficiente de variação de 10 a 12% do valor principal (3,0 a 5,0 ng/mL) e 6% a 10% da concentração do CEA, que varia de 10 a 100 ng/mL. Semelhantemente, todos os métodos para teste com CEA dão uma taxa normal de 3,0 ng/mL para não fumantes e 5,0 ng/mL para fumantes. Tumores pouco diferenciados podem não secretar CEA e tumores moderadamente diferenciados produzem mais CEA que os bem diferenciados (12).

Ensaio

Ambos métodos – EIAs (Elisa) e RIAs (radioimunoensaio) – são comercialmente usados e os limites normais variam no limiar entre 2,0 ng/mL e 5,0 ng/mL, dependendo do paciente não fumante e fumante e do tipo de teste (4).

Aplicação clínica

O CEA foi inicialmente dirigido para a pesquisa de câncer colorretal, mas estudos posteriores mostram que não é específico para tal (12). O CEA não tem demonstrado ser um bom marcador para *screening*, pois a prevalência de câncer de cólon é 1/1.000; como a sensibilidade é de 40% e a especificidade é de 90% (para os estágios A e B), poderíamos ter 250 falso-positivos

para cada pessoa com câncer. Os testes falso-positivos são inaceitáveis e isso torna o *screening* uma proposta proibitiva pelo custo-benefício. A ASCO (American Society of Clinical Oncology) não recomenda o CEA como teste para *screening* para câncer colorretal. A ASCO reconhece a utilidade do método pós-operatório, onde, se o CEA estiver elevado, o prognóstico é pior e ocorrem mais recidivas, e também como mecanismo para manter a vigilância dos pacientes. A freqüência do nível de CEA em um estudo foi de 4%, 25%, 44% e 65%, respectivamente nos estágios A, B, C e D de Dukes. Em 19 artigos de revisão avaliados, o CEA foi útil como indicador de prognóstico pré-operatório de todos os níveis III e IV. No NSABPC (National Surgical Adjuvant Breast Project), um estudo com 945 pacientes, com nível de CEA 2,5, o aumento do risco de recidiva foi 1,69 vezes em pacientes com câncer de colon Duks'B; em pré-operatório com valores de CEA de 10 ng/mL, o risco aumentou para 3,25 vezes. Wanebo et al. relataram que o tempo de recidiva do CEA era curto, em torno de 13 meses se o marcador no pré-operatório estivesse > de 5,0 ng/mL e em torno de 23 meses se o CEA fosse de 5,0 ng/mL. Nenhum estudo tem demonstrado benefício de terapia coadjuvante baseado apenas no valor do CEA. Nos pacientes operados com nível de CEA elevado no pós-operatório, pode indicar uma ressecção incompleta ou metástases. Boey et al. observaram que 23 dos 33 pacientes (70%) dos que tinham CEA elevado por mais de duas semanas da cirurgia tiveram recidiva e que somente 23 dos 113 (23%) pacientes sem CEA elevado recidivaram. A elevação do CEA é um mau prognóstico. Quando a elevação do CEA aparece num paciente é preciso um minucioso estudo clínico e investigatório. Nenhum estudo mostrou benefícios de se iniciar uma quimioterapia baseado somente nos níveis de CEA elevado; por outro lado, o CEA se mostrou elevado em pacientes recebendo quimioterápico anticâncer, porém sem evidências de recidiva de câncer. Em mais de 50 artigos publicados, a sensibilidade para recidiva foi de 80% (variáveis de 17% a 89%) e a taxa de falso-positivos foi de aproximadamente 30% (9 a 66%). A questão crítica sobre a monitorização com o CEA é se contribui para a taxa de ressecções cirúrgicas, sobrevida ou outro fator desconhecido (12). O CEA teve uma acurácia de 94%, com uma sensibilidade de 94% e 96% para a especificidade, segundo estudos de Arnaund et al., em 305 pacientes com metástases hepáticas em nível III. Os pacientes tratados com **fluoracil** e **levamisole** mostraram aumento nos testes falso-positivos com o CEA, talvez pela hepatotoxicidade da droga. O grupo da ASCO recomenda a monitorização do CEA no soro cada 2 a 3 meses por dois anos nos pacientes capazes de fazer ressecção hepática por recidiva da patologia. Também recomenda que dois exames feitos 2 a 3 meses após o tratamento ativo com o CEA elevado, deve-se descontinuar a terapia em uso. Este mesmo grupo reporta que o marcador CEA se mostrou elevado em 60% em câncer de mama, em estágio avançado, porém na metade dos pacientes com recidiva pós-operatória não estava elevado e em 12% deu falso-positivo, o que não recomenda o teste para um seguro acompanhamento do paciente (13). Múltiplos estudos têm demonstrado que o nível de CEA aumenta com o avanço do estágio no câncer de mama; sete estudos mostraram os seguintes valores, dependendo do estagiamento: I = 10%; II = 19%; II = 31% e IV = 64%. O uso do CEA, como único, tem demonstrado ser útil no seguimento de pacientes com câncer de mama que têm 20% a 30% deste marcador acima do nível normal no pré-operatório (13).

Valores de referência

Ambos os métodos, ELISA e RIA, são usados comercialmente e os valores são de 2 a 5 ng/mL, dependendo do "kit" usado, e também tem variações se o indivíduo não é fumante ou se é fumante, sendo sempre mais elevado neste último.

MARCADOR CA 15-3

O CA 15-3 representa um distinto epitopo identificado por um anticorpo monoclonal DF 3 e 115 9 8 com alto peso molecular (300-450 Kd), uma glicoproteína mucina (uma mucina epitelial polimorfa) expressada por uma variedade de adenocarcinomas, especialmente os relacionados ao câncer de mama em mulheres (42). Em março de 1996 a Food and Drugs Administration (FDA) aprovou o TRU-QUANT Br RIA Test (Biomira Diagnosis, Toronto, Canadá) para os testes dos MABs (anticorpos monoclonais) CA 27-29 para medir um antígeno parecido com o CA 15-3, nos estágios II e III de câncer de mama. O estudo tem demonstrado que o gene produtor do epitopo MUC-1 era reconhecido pelos MABs 27-29 e 115-D 8 (no teste com CA 15-3 e são similares mas não equivalentes. Até o presente a paridade entre os testes não está bem definida. O CA 15-3 até a presente data ainda não é indicado para *screening,* diagnóstico, estagiamento, ou seguimento de tratamentos primários, embora a elevação do CA 15-3 possa detectar recurrência tumoral. Apesar da insuficiência de dados a dosagem do CA 15-3 pode vir a ser usado para tratamentos futuros, O CA 15-3, epitopo, é reconhecido por dois Mabs ou AcM em um duplo-determinante ou sanduíche imunoensaio (15).

O CA 15-3 pode ser amplamente usado como marcador tumoral na circulação em câncer de mama para monitoramento e respostas a tratamentos e pode dar uma real informação de recidivas da doença (14-16). Barruti et al., 1994, mostrou que o CA 15-3 estava elevado em pacientes com metástases vicerais, mas variava independentemente do prognóstico de sobrevida do paciente. Em um estudo com 312 pacientes, de outubro de 1988 a março de 1995, com câncer de mama avançado, foi encontrado em 61% dos pacientes CA 15-3 elevado acima da taxa

de referência. O CA 15-3 foi mais freqüentemente elevado em pacientes com metástases de fígado, 72%, bem como nos pacientes com derrame pleural, 76%, com metástase pulmonar, 63%, óssea, 53%, e pele e linfonodos, 28%. Em 203 pacientes com uma só metástase, o CA 15-3 estava elevado em 58%; isso demonstrou que o CA 15-3 não depende da extensão da doença. Os autores concluíram que o CA 15-3 em câncer de mama avançado tem boa sensibilidade, porém não se pode relacionar a variação do valor com o prognóstico em relação à disseminação metastática ou somente uma lesão, O CA 15-3 pode ser usado para selecionar pacientes com pior prognóstico e que venham a precisar uma terapêutica mais agressiva (14). Em um estudo com 20 pacientes sofrendo de infertilidade, com idade entre 28 e 38 anos, foi constatado que o CA 125 e CA 15-3 estavam elevados durante a menstruação; isso demonstrou que esses marcadores podem ser encontrados no fluxo menstrual e podem refletir uma menstruação retrógrada e que aparece freqüentemente em doenças inflamatórias e ou com obstrução de trompas. Esses dados mostram que o CA 15-3 estava elevado na fase estrogênica do ciclo, devido à falta de progesterona. A MUC 1 mostrou-se baixa em resposta à progesterona (17).

A comparação do CA 15-3 e cintilografia óssea no câncer de mama, num estudo retrospectivo em 158 mulheres, mostrou que o marcador pode ajudar a evitar o uso sistemático da cintilografia no acompanhamento dos pacientes, pois o índice de erro quando o CA 15-3 não estava elevado e havia metástases ósseas foi de 3 a 5% (18). No entanto, na França, Montreves F, et al., num acompanhamento de 158 mulheres com câncer de mama, encontraram CA 15-3 normal, porém em 6 casos a tomografia óssea mostrou metástases. Frente a esses dados, eles concluíram que somente o marcador tumoral CA 15-3 não é suficientemente seguro para avaliar metástases ósseas em câncer de mama, mas é de grande valia e com a clínica poderia evitar a cintilografia (19).

No Instituto Nacional do Câncer do México foi feita uma pesquisa com o CA 15-3 para carcinoma de mama a partir de um epitopo presente nos glóbulos de gordura do leite, onde usaram os métodos de ELISA e RIA (radioimunoensaio), e os resultados mostraram um coeficiente de 0,85 entre os dois métodos, o que recomenda o método ELISA para esse teste, pois evitaria a necessidade do uso de radioatividade; além disso observaram que as pacientes mais idosas e com o câncer em estágios mais avançados tinham o marcador mais elevado (20). A dosagem do CA 15-3 no pré-operatório para câncer de mama em mulheres, em estágio inicial, parece ter uma relação positiva, pois pode orientar para uma terapia coadjuvante mais agressiva ou apropriada a cada caso (10). A avaliação do CA 15-3 no soro de pacientes com câncer antes da cirurgia mostrou que, dentre 57 casos, não ocorreu a recorrência em 88% dos pacientes quando o CA 15-3 estava normal e somente em 53,5% quando o marcador estava elevado ($p<0,201$); isso levou a concluir que o CA 15-3 tem importância no prognóstico em câncer de mama (10). A associação do CEA e CA 15-3 em derrame pleural por câncer de mama avançado não mostrou muita diferença em relação ao uso somente do CA 15-3. Porém, a associação à citologia mostrou em 83 casos que somente o estudo celular deu 48% de positividade, enquanto que somado com o CA 15-3 esse percentual subiu para 88%, e o inverso também confirmou, pois quando a citologia foi negativa em 65%, somado ao marcador deu 100% de confirmação. Isso recomenda associar-se o marcador à citologia. O trabalho também descobriu que os marcadores secretados pelas metástases pleurais podem estar presentes tanto no soro como no líquido do derrame (21). Num seguimento de pacientes com metástases de câncer de mama feito pelo critério da UICC (União Internacional de Combate ao Câncer), mostrou-se que em 6 meses os marcadores TPS (antígeno polipeptídico de tecidos), CA 15-3 e CEA aumentaram em: TPS – 54%; CA 15-3 – 20% e CEA – 20% e a combinação do TPS mais o CA 15-3 na seqüência da patologia mostrou sensibilidade de 96%; isso demonstrou que o TPS e o CA 15-3 são bons auxiliares na predicção do prognóstico no acompanhamento do câncer da mama em mulheres (9). Os marcadores tumorais circulantes em câncer de mama são úteis para assistir ou avaliar o risco no diagnóstico, prognóstico ou resposta ao tratamento, no entanto Stears V, 1998, propôs uma melhoria no sistema de utilização dos marcadores tumorais, estabelecendo maior utilidade clínica para o uso, e também marcadores associados a antígenos poderiam ser usados para monitorar os pacientes com metástases. Podem ser associados marcadores de biologia tumoral, como o HER2/neu, que são de domínio extracelular. Essa associação poderia ser usada não somente no prognóstico, mas também na avaliação das respostas terapêuticas específicas(22).

Metodologia do CA 15-3

Os testes do CA 15-3 resultam de todas as fontes usadas de anticorpos DF 3 e 115-D 8. O soro é inicialmente incubado com esferas de polestireno nas quais o anticorpo foi estabelecido. Este anticorpo liga-se ao sítio do antígeno na glicoproteína, puxando-o para fora da solução. As esferas são então lavadas, para remover o material não ligado, e incubadas com iodo radioativo (I 125) – marcado com o anticorpo DF 3. O anticorpo DF 3 liga-se ao sítio antigênico e então a quantidade de radioatividade é quantificada. Testes de controle comparativos não são comumente feitos (15).

Bioquímica

O gene da MUC 1 repete uma alta seqüência centrada em um domínio de 20 aminoácidos (PGSTAPPAHGVTSAPDTRPA). Essa repetição forma a cadeia polipeptídica da glicoproteína

mucinosa, o polimorfismo epitelial da mucina (PEM), que é detectado pelos testes mucinosos no câncer de mama, O MAbs ou AcM liga-se ou na seqüência peptídica, ou no epitopo glicolizado. O antígeno CA 15-3, o produto da MUC 1, é detectado num sítio duplo no teste imunoensaio, usando o anticorpo monoclonal DF 3, o qual reconhece a seqüência DTRPAPGS e o 115 D8 reconhece a seqüência peptídica sobreposta TRPAPGS a esta associação com os epitopos de carboidrato. O MABs B 27.29 usado em Biomira CA 27.29 e Chiron ACS BR testes reconhecem um diferente epitopo do centro, chamado de seqüência peptídica sobreposta SAPIDTRAPA. O produto da MUC 1 também é detectado no teste Immulite BR-MA. Esses testes são altamente correlatos e mostram excelente concordância na análise de regressão linear, porém resultados em pacientes, individualmente, não são intercambiáveis, devido a diferentes detecções nos epitopos (23).

Ensaio

O CA 15-3 é determinado usando-se a fase sólida conjugada com o anticorpo monoclonal 115 D 8, para capturar o antígeno MAM-6 no plasma humano e identificado com traços do anticorpo monoclonal DF 3. O anticorpo monoclonal 115 D 8 foi preparado contra glóbulos de gordura do leite enquanto que o DF 3 foi preparado contra a linhagem MCG das células de câncer de mama. Os dois testes dos anticorpos monoclonais reconhecem altamente o centro de domínio de um peptídio imunodominante de 20 aminoácidos de seqüências repetidas, as quais formam a maioria das espinhas dorsal dos polipeptídios das glicoproteínas mucinosas. Usando 40 U/mL do limite normal, o CA 15-3 tem um valor preditivo positivo de 77% e de 90% de valor preditivo negativo. Vários *kits* comerciais são usados. A automatizada micropartícula EIA usando o instrumento IMx do laboratório Abbot e Centocor CA 15-3 RIA (uma fase sólida lieteróloga RIA com um limite acima do normal de 25 U/mL) é um dos mais populares testes, estabelecendo uma excelente correlação entre os outros (4).

Aplicação clínica

O CA 15-3 tem sido avaliado para ser usado no manejo de pacientes com câncer de mama para determinar diagnóstico, prognóstico e monitoramento durante a terapia e prognóstico após tratamentos com cirurgia e radioterapia (15). Vários estudos têm mostrado que o CA 15-3 aumenta com o avanço do estágio da doença. Exemplos nos estágios I = 9%; II = 19%; III = 38% e IV = 75%. No entanto, níveis baixos de CA 15-3 não excluem metástases e também valores altos no pré-operatório nem sempre correspondem a mau prognóstico. Níveis muito altos do CA 15-3 tendem a indicar o avanço da doença e valores 5 a 10 vezes acima do normal alertam o médico para doença metastática. O CA 15-3 é muito freqüente estar aumentado em pacientes com metástases ósseas, embora outros sítios de metástases costumem elevar o marcador. Vários investigadores têm sugerido que o CA 15-3 é particularmente sensível para detecção de metástases ósseas. O CA 15-3 pode estar presente em vários adenocarcinomas como mama, cólon, pulmão, ovário e pâncreas, porém em câncer de mama em mulheres aparece aumentado em 70% a 80%, quando já existem metástases. No entanto, o CA 15-3 pode estar elevado em patologias não malignas, como hepatites crônicas, cirrose hepática, sarcoidoses, tuberculoses e lúpus eritematoso sistêmico. O CA 15-3, quando usado para o monitoramento de pacientes com câncer de mama e quando se constata um declínio, pode nos indicar a efetividade da terapêutica. Vários pesquisadores não encontraram vantagens significativas na associação do CA 15-3 com CEA (9).

Screening

O uso do CA 15-3 como teste para ***screening*** deveria ser aplicado numa região onde tem sido observada maior incidência de câncer de mama e em um grande número de pessoas, para a sua validação. No entanto, como não tem aparecido muito alterado nos estágios iniciais do câncer de mama e como tem apresentado falsos-positivos, ainda não é recomendado para ***screening*** (15).

Valores de referência

CA 15-3 = até 35 U/mL.

MARCADOR CA 19-9

CA 19-9 foi descrito por Klopowski em 1 979. É uma glicoproteína tipo mucina sintetizada pelas células pancreáticas, ductos biliares, epitélio do estômago e cólon. O CA 19-9 já está começando a ser usado como *screening* para câncer pancreático (6). O CA 19-9 é um dos primeiros marcadores do novo grupo de epitopos que incluem o CA 125, o CA 15-3 e o CEA. É definido pelo anticorpo monoclonal 1116 NS– 19-9, também quantificado como Lacto Sialato N. fucopentose II. A molécula carrega o epitopo CA 19-9, apresentando-se como uma mucina no soro dos pacientes com câncer, mas como um gangliosídio nas células do tumor. O CA 19-9 está relatado como uma substância do grupo Lewis no sangue. Somente o antígeno de soros de pacientes com câncer pertence a Le^{a-b+} ou Le^{a+b-} estará o CA 19-9 positivo. O CA 19-9 o anticorpo monoclonal *(MABs)* especificado 111 NS – 19-9 foi produzido pelo hibridoma originário de imunização ratos com células de adenocarcinoama de cólon humano. O CA 19-9 é um epitopo que além do CEA é expressado pelas células do cólon. O CA 19-9 é definido pelos MABs 1116 NS-19-9 e é somente detectado com um kit de anticorpos monoclonais. Os testes para detectar o Ca 19-9, um antígeno carboidrato dominante expressa urna mucina de alto peso molecular (4). No departamento de gastroenterologia do Hospital São Paulo, Brasil, de janeiro de 1990 a janeiro de 1995, foram avaliados 74 pacientes com idade

média de 56 anos, 37 homens e 37 mulheres, em um acompanhamento por 30 meses. Todos os pacientes forma operados e o estagiamento foi de acordo com Duke's, como segue: Duke's A = 2; Duke's B = 41; Duke's C = 31. Desses 32 tinham câncer de cólon e 42 tinham câncer de reto. As amostras para o teste foram coletadas 30 dias antes da cirurgia e o método usado foi o ELISA, do Lab. SORINE BIOMEDIC, valores de referência < 37 U/mL. O nível de CA 19-9 estava elevado em 26 pacientes (35%) e as variações não foram significativas nos diferentes estágios (p=0,12). Nos pacientes que desenvolveram recidiva e comparando o CA 19-9 e o CEA, mostraram uma significativa diferença para o CA 19-9 (p=0,01) e para o CEA (p=0,08). O percentual de pacientes sem doença após 12, 24 e 30 meses foi 67%, 42% e 38% quando o CA 19-9 estava elevado e de 85%, 69% e 65% quando o CA 19-9 estava normal (p=0,01). Em comparação com o CEA, o CA 19-9 mostrou sensibilidade menor, porém, quando associado CEA e CA 19-9, a sensibilidade aumentou para 57% e o uso concomitante dos dois marcadores aumentou as chances de um diagnóstico precoce do risco da recidiva (Forones, 1999). Abrams et al. fizeram a dosagem do CA 19-9 em pós-operatório de pacientes com câncer de pâncreas e adenocarcinoma periampolar, que receberam pré-operatoriamente radioterapia externa e quimioterapia com CI-5-Fu (contínua infusão de 5-fluoracil), e o CA 19-9 não mostrou correlação com a sobrevida, mas com o número de linfonodos histologicamente envolvidos. Contudo, o aumento do nível do CA 19-9 antecipado foi falho ante a avaliação clínica, por um período de acompanhamento de 9 meses (24). O CA 19-9 associado ao CA 125 e CEA formam um tripé e é a melhor ferramenta para o diagnóstico de câncer pancreático, integrando-se com a ultrassonografia, para o acompanhamento da patologia e suas lesões no organismo. O CA 19-9 permite fazer diagnóstico diferencial entre tumores neuroendócrinos e pancreáticos e o CA 125 e CEA são de utilidade para avaliar o estágio, ressecabilidade e prognóstico de câncer pancreático. O CA 19-9 também vem sendo usado para avaliar a cinética celular do paciente recebendo radioterapia pré-operatória e para avaliar a evolução de terapias radicais, acompanhamento de recorrência e a efetividade de terapias paliativas (25). O câncer de pâncreas é geralmente uma das doenças de pior prognóstico e este estudo foi feito para avaliar o nível de CA 19-9, dosando duas vezes, e a progressão da doença. Neste trabalho foi associado à evolução clínica e o crescimento do tumor. Foram examinados 75 pacientes. A dupla dosagem foi claramente associada com o tempo de sobrevida em pacientes inoperáveis ou paliativamente operados, mas não com sexo, idade, local da lesão ou metástases hepáticas. Os testes com CA 19-9 dupla dosagem podem ser empregados para a acompanhar a evolução clínica e prognóstico em pacientes com câncer pancreático e poderão ser de valor em termos de análise do processo de crescimento dessa doença (26). Comparando o CA 19-9 e CEA em tumores de pâncreas periampolar, foi observado que o CA 19-9 estava elevado em cânceres irressecáveis com bilirrubina mais de 7,3 mg/dl ou tumor com mais de 2 cm e o CEA, embora alto em tumores de mais de 2 cm, não se mostrou elevado em tumores maiores de 2 cm. Isso levou os pesquisadores a concluir que o CA 19-9 mostrou-se mais importante no diagnóstico e prognóstico de câncer periampolar do que o CEA. Esse estudo recomenda que o marcador CA 19-9 é de grande auxílio para detecção de câncer periampolar de pâncreas, além da ajuda na determinação da ressecabilidade e do prognóstico (27). Em uma análise multivariável de CAMPAS–Px2 pode aumentar a acurácia do diagnóstico entre câncer de pâncreas e de doenças benignas de pâncreas e outras doenças extrapancreáticas. Foram avaliados 243 pacientes suspeitos de serem portadores de câncer de pâncreas, por um sistema de análise multivariável comparados com 23 outros marcadores, e o resultado identificou 27 pacientes com o tumor. Esse sistema multivariável CAMPAS-Px2 mostrou resultados de 89% de positividade para câncer e de 87% quando negativo e o CA 19-9 sozinho mostrou resultados de 78% quando positivo e 82% quando negativo. De onde se pode concluir que dentre os 23 marcadores examinados e comparados com CAPAS-Px2 o CA 19-9 deu resultados semelhantes (28). A avaliação dos marcadores CA 19-9, CEA, SLX, (Sialyl Le x) e STN (Sialyl Tu) no sangue periférico e no sangue que drena diretamente do tumor, e em 113 pacientes com câncer gástrico, mostrou equivalência entre os marcadores. No entanto, a conclusão importante é que, embora fossem pacientes com doença avançada, a possibilidade da disseminação da doença tanto pode ser por via hemática como por via linfática em similares condições (29). Em um grande estudo foram abalizadas as expressões do marcador CA 19-9 em 2.119 pacientes e foi comparado o resultado entre doença maligna e benigna. O CA 19-9 mostrou sensibilidade de 85%, identificando 347 pacientes, e quando o sangue era do tipo Lewis positivo, 92%. Mostrou também ser mais baixo nos tumores ressecáveis. O nível de sensibilidade foi de 74% nos ressecáveis e 90% nos não ressecáveis. O marcador mostrou-se elevado em 88% dos pacientes que tiveram recidiva e esses dados apontam para o valor do CA 19-9, que é um marcador simples e útil para avaliar o diagnóstico, evolução, ressecabilidade do tumor e prognóstico de sobrevida após cirurgia ou recorrência de doença (16). O CA 19-9 tem sido usado para avaliar doenças não malignas, como pseudotumor hepático inflamatório, e isso pode ser facilmente confundido como tumor, pois embora o CA 19-9 estivesse elevado, a biópsia poderia ser elucidativa, e como essas doenças benignas normalmente têm boa evolução, o marcador logo retorna a níveis normais (30). O CA 19-9 mostrou-se elevado em outras doenças benignas, como cisto de baço (31), pseudomixomas de peritôneo, freqüentemente as-

sociados a tumores mucinosos gastrointestinais (32), em endometriose que após tratamento com Danazol voltou ao normal (33). Em doenças agudas com falência hepática, a dosagem do CA 19-9 elevada em associação com a AFP (alfa-feto-proteína), quando está aumentada, não se deve perder tempo para indicar a necessidade urgente de transplante, pois a elevação do marcador está relacionada com a transformação ductal do hepatócito sem qualquer evidência de malignidade (34). Normalmente o CA 19-9 está normal nas doenças hepáticas benignas, como hepatites, porém pode elevar-se quando o paciente tem cirrose (35). Em doenças auto-imunes, corno o lúpus eritemartoso sistêmico e síndrome de Sjögren's, apresentam o CA 19-9 elevado podem indicar que o indivíduo tem comprometimento pancreático (36). A combinação de células pequenas e células de transição no câncer de bexiga pode elevar o CA 19-9 (37). O prognóstico do câncer de estômago pode ser avaliado dosando-se CEA, CA 19-9 e CA 72-4, pois um estudo com 153 pacientes mostrou que quando um desses marcadores estava elevado no pré-operatório, as recidivas foram mais freqüentes mesmo em estágios iniciais (38). Em outro estudo, o CA 19-9 foi avaliado em 204 pacientes por um período de 4 anos em adenocarcinoma de pâncreas e doenças benignas e o marcador estava elevado em 63,7% dos pacientes que a doença maligna e somente em 36,3% dos que não tinham. O CA 19-9 mostrou um p > 0,05; isso demonstra que, embora o marcador estivesse elevado em ambas as situações, estava mais freqüentemente aumentado nos casos de câncer (39).

Metodologia

O epitopo CA 19-9 identificado pelo AcM 19-9 foi produzido por um hibridoma preparado de células esplênicas de rato imunizadas com células da linhagem do carcinoma de cólon. A glicoproteína mucina CA 19-9 expressada no soro tem peso molecular aproximado de 5 X 10^6 lKd. O CA 19-9 também pode ser medido com um duplo monoclonal teste imunorradiométrico, usando-se o AcM (anticorpo monoclonal) aumentado para a linhagem celular SW 1116. Vários outros testes comerciais empregam o mesmo AcM, o soro de camundongo anti-humano, porém anticorpos heterófilos podem interferir no teste. O limite máximo de valores é de 37 U/mL. O CA 19-9 tem se tornado um aceitável marcador para câncer de pâncreas, porém muito ainda precisa ser testado para o câncer colorretal (40).

Bioquímica

O CA 19-9 foi bioquimicamente identificado como um Sialylato Lacto-N-Fucopentose II, um heptano do grupo sangüíneo Lewis e determinante humano, ocorrendo como um monossialogangliosídio/glicolipídio nos tecidos ou como uma mucina circulante com peso molecular de > 10^6 D no soro. O CA 19-9 pode estar elevado em até 37U/mL em 1 a 4% das doenças benignas, também pode estar presente no catarro, saliva, secreções brônquicas, gástrica, biles e suco pancreático, no entanto se mostra mais elevado em doenças malignas, especialmente câncer de pâncreas (40).

Ensaio

A fase sólida do imunoensaio sanduíche do laboratório Centocor e a RIA são baseados na competitividade e formato do teste do Biomira.

Aplicações clínicas

O CA 19-9, como outros antígenos mucinosos, não tem especificidade específica e podem estar elevados em vários adenocarcinomas, incluindo o de pâncreas, para o qual demonstra mais sensibilidade. Porém pode elevar-se em adenocarcinoma de pulmão, colorretal e gástrico. Serve corno monitoramento para terapias, prognóstico, avaliar ressecabilidade tumoral e recidiva de câncer. O CA 19-9 tem se mostrado em níveis acima de 37U/rnL em 70% a 80% dos cânceres de pâncreas e em 14% a 22% de estômago e 18% no cólon (4).

Valores de referência

Tanto nos métodos de imunoensaio (ELISA) do CENTROCOR como no radioimunoensaio (RIA) da BIOMIRA – Canadá, o valor normal situa-se **abaixo de 37 U/mL**.

CONCLUSÃO

Após a descoberta das proteínas mucinosas, que podem estar relacionadas ao surgimento e crescimento dos tumores malignos, com o avanço dos conhecimentos da biologia molecular e com a técnica da hibridização, estamos descobrindo mecanismos para se fazer o diagnóstico precoce, acompanhar ou definir as terapias, evolução e prognóstico do câncer. Esses novos mecanismos são os marcadores tumorais associados ao câncer, definidos por anticorpos monoclonais (AcMs, em português; na sigla inglesa: MAbs). Nesta revisão foram descritos o histórico, a bioquímica, os ensaios, a aplicação clínica e o uso em ***screening*** do CA 125, relacionado ao câncer de ovário; CEA, tumores colorretais; CA 15-3, adenocarcinoma de mama e o CA 19.9, câncer de pâncreas. Embora a especificidade e a sensibilidade não sejam 100% definidas para cada tipo de linhagem celular tumoral e possam estar presentes em doenças benignas, estão tendo cada vez mais interesse no mundo científico. Tanto na oncologia como na avaliação de novas condutas terapêuticas na clínica médica, esses marcadores podem ser de grande utilidade.

Na esterilidade feminina, na endometriose feminina, ou antes de se iniciar uma reposição hormonal em mu-

lheres em menopausa seria recomendado avaliar os marcadores, pois se esse estiver elevado, devemos ter mais cuidados ou mesmo não usar a hormonioterapia. Um múltiplo e variável campo está se abrindo para o uso dos marcadores e as pesquisas confirmam que todos os médicos precisam tomar conhecimento dessas novas ferramentas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. KREUTZ FT. Development and aplication of Bioespecific Monoclonal Antibodies in Cancer immunodiagnosis 1997; 1: 26-40.
2. CHAMPE PC, HARVEY RA. Bioquímica Ilustrada. Artes Médicas; 1996 15 (2): 163-68.
3. ISOBM. Antiody Workshops; Background on the MUC 1 Mucin. URL = <http://www.med.ulo.no/anf/ISOBM/MUC1back.htm.
4. WU J, NAKARNURA R. Human Circulation Tumor Marker. Current Concepts and Clinical Application. ASCP (American Society of Clinical Pathologist) Chicago 1997; 183-188.
5. KREUTZ FT, CA 125. The ovarian tumor rnarker. South American Journal of Cancer, Vo/ 2:1, 1998.Jan-Mar, 51-58.
6. FORONES NM, TANAKA M. CEA and CA 19.9 as prognostic indexes in colorectal cancer. Gastrotenterology Division, Federal University of São Paulo, UIFESP, Escola Paulista de Medicina. Brasil. Hepatogastroenterology 1999 Mar-Aprs 46(26): 905-8.
7. KANDYLIS K, VASSILOMANOLAKIS M, BAZIOTIS N et al. Diagnosis significance of lhe tumor markers CEA, CA 15.3 and CA 1 25 in malignant effusions in breast cancer. Departament of Medical Oncoíogy. Hellenic Anticancer Institute, St. Sava Hosp. Athens, Greece. Ann Oncol 1990 8 Nov; 1(6):435-8.
8. TAMPELLINI M, BERRUTI A, GERBINO A et al. Relationship between CA 1 5-3 serum levels and disease extent in predictiuig overail survival of breast cancer patients with newly diagnosed metastatic disease. Oncologia Medica, Universita di Torino,Azienda Ospedalera San Luigi, Turin. Italy. Br. J.Cancer 1997; 75(5):698-702.
9. VAN DALEN A, BRAK V, CREMASCHI A et al. The prognostic significance of increasing rnarker levels in rnetastatic breast cancer patients with clinicaiiy complete remission, partial remission or stable disease. Dep. of nuclear rnedicine, Groene Hart Ziekenhuis, Gouda, The Notherlands. Int J. Bio! Markcr 1998. Jan-Mar; 13(1):10-5.
10. SHERING SG, SHERRY F, McDERMOTT EW, O´HIGGINS NJ, DUFFY MJ et al. Preoperative CA. 1 5-3 concentration predict outcome of patients with breast carcinoma. Dep. of Surgery, University of Wales, Heath Park, Cardiff Cancer 1998 Dec 15; 83(12)2521-7.
11. JACOBS I J, SKATES S, DAVIES AP et al. Risk of diagnosis of ovarian cancer after raised serum CAI 125 concentration: a prospective cohort study. Ovarian Screening Cancer Unit, Dep. Gynaecological Oncology, ST Bartholomew's Hosp and Royal London Hosp, London Dep. Med. Harvard Med School and Macssachusetts General Hosp. Boston, USA – BMJ 1996 Nov 30, 313; 1355-58.
12. ASCO-A. (American Society Ciinicai Oncology). Carcinoembryonic Antigen as a Marker for Colorectal Cancer (part 1)1998 iui 2: 1-5 cont 1-4. URL= <http://www.asco.prof/org/htm> em 21/8/99.
13. ASCO-B. CEA as a Marker for Breast Cancer. 1998 JUL2; 1-4. U R L = <http://www. asco. prof/org/htm> em 2 1/8/99
14. STEARS V, YAMAUCXHI H, HAYDES DF, Circuíating tumor markers in breast cancer: accepted utilities and novel prospects. Breast Cancer Program, Lombardi Cancer Center, Georgetown University Medical Center, Whashington, DC-USA. Breast Cancer Res Treat 1998: 52(1-3)239-5 9.
15. ASCO-C. CA 15-3 as a Marker Breast Cancer 1998 Jul 2; 1-5 –URL= <http://www. asco.prof/org/htm> em 7-9-99.
16. SATI F, SCHLOSSER W, KOLB O, BERGER HG, Diagnostic Value of CA1 9-9 in Patients With Pancreatic Cancer and Nonspecific Gastroentestinal Syntoms.Dep. General Surgery, University Hosp of Ulm, Ulm, Germany. JGastrointest Surg 1997 Mar: 1(2): 106-112.
17. BON GG, KENEMANS P, DEKKER HG, et al. Fluctuations in CA 125 and CA 1 5.3 serum concentrations during spontaneous ovulatory cycles. Dep Obstetrics and Gynaecology Academ ic Hospital Vrij e Universiteit, Amsterdam, Tíie Netherlands-Hum Reprod 1999 Feb; 14(2):566-70.
18. YOUNSI N, MONTRAVERES F, PHILIPPE C et al. CA 15-3 and bone scintigraphy in the follow-up of breast cancer. Service de Medicine Nucleaire, Hospital Tenon, Paris, France. Int. J Biol Markers 1997 Oct-Dec; 12(4): 154-7.
19. MONTRAVERS F, YOUNSI N, ROUSEAU C, et al. Comparison of bone scanning and CA 1 5-3 sereum concentration in the follow-up of breast cancerr. Hosp. Tenon, Paris, France. Anticancer Res. 1997 May-Jun; 1 7(3B) 1683-6.
20. GUARNER J, VALDIVIESCO E, QUINTANA A, FRIAS M, RAMIREEZ T, CA 15.3 in breast cancer: comparasion of two assays and validation in Mexican population.Division of Ancillary Diag. Services, lnst. Nacional de Cancerologiía, México, DF. Arch Med Res /997 Winter; 28(4)523-6.
21. NESKCOVIC-RONSTANTINOVIC Z, TASIC S, VULETIC L, et al. CEA and CA 1 5-3 in pleural effusion of advanced breast cancer patients: clinical relevance and diagnostic value. Breast Cancer Dep, inst of Oncoiogy and Radiology, Beograd, Yogosiavia. Int. J. Biol Marker, 1993 Apr-Jun; 8(2) 94-102.
22. SKRZYDLEWSKI Z, NIKLISKI J, KILUK M, et al. Evaluation of CA 15-3 serum levels in breast cancer patients. Laboratory of Clinical Analysis, Medical School, Bialystok, Poland. Minerva Chir 1997 Mar: 52(3):251-4.
23. AZIZ DC, CA 15-3. In use and Interpretation of laboratory test in Oncology, Speciality laboratories 1998; 19-22.
24. ABRAMS RA, GROCHOW LB, CHARAVARTHY A, SOHN TA, et al. Intensified Adjuvant therapy for pancreatic and periampullary adenocarcinoma: suvival results and observations regarding patterns of failtire dose and CA 19-9 leveis. Department of Oncology, The Johns Hopkins Hospital and Medical School, Baltimore, MD 21287-7922, USA. Int.J. Radial Onco/ Bio/ Phvs 1999 iul 15; 44(5): 1039-46.
25. CAPPELLI G, PAIADINI S, D'AGATA A. Tumor markers in diagnosis of pancreatic cancer. U.O Medicina Nucleare, Azienda Ospealiera Careggi, Firenze, Italia. Tumori 1999. Jan-Feb; 85 (1 Suppll): SI9-21.
26. NISHIDA K, KANEKO T, YOMEDA M, et al. Doubling time of serurn CA 19-9 in the clinical couse of patients with pancreatic cancer and its significant association with prognosis. Gastroenterology, Shakainhoken Kobe, Central Hosp, Kobe, Japan. J.Surg. Oncol 1999 Jul; 71(3):140-6.
27. KAU SY, Diagnostic and prognostic values of CA 19-9 and CEA in perampullary cancers. Dep. Surgery, Veterans General Hosp-Taipei, National Yang Ming University, Taiwan, Rep. China. J.Am Coll Surg 1999 Apr;188(4):415-20.
28. HAYAKAWA T, NARUSE T, KITAGAWA M, et al. A prospective multicenter trial evaluating diagnostic validity of multivariate analysis and individual serum marker in defferential diagnosis of pancreatic cancer from benign pancreatic diseases. Second Dep of Internal Medicine, Nagoya University School of Medicine, Japan. Int J Pancreatol 1999 Feb; 25(1): 23-9.
29. IMADA T, RINO Y TAKAHASHI M, et al. Serum CA 19.9, SLX and CEA level of lhe periphenal and drainig venous

blood in gastric cancer. First Dep of Surgery, Yokohama City University, Japan. Hepatogastroenterology 1999 May-Jun; 46(27)2086-90.
30. OGAWA T, YOKOI H, KWARADA Y, A case of inflamatory pseudotumor of liver causing elevated serum CA 1 9-9 levels. Firs Dep of Surgery, Mie University School of Medicine, Tsu, Japan. Am.J Gastroenterol 1998 Dec, 93(12): 2551-5.
31. ISHIBASKI R, SAKAI T, YMASHHITA T, HIDESHIMA T, SHIRAKUSA T, et al. Bening epithelial cyst of the spleen with a high production of carboydrate antigen CA 19-9. Second Dep. of Surgery of Medicine, Fukuoka University, Japan – Int Surg 1999 Apr-Jun; 84(2):154-4.
32. KUO CM, KUO CH, CHANGCHIEN CS, CHIU KW, HSU IT, et al. Pseudomyxoma peritonei with high serum CA 19-9: report of three cases. Dep. of lnternal Medicine, Chang Gung Memorial Hospital, Kaohsiung, Taiwan, R.O.C. Chang Keng 1 Hsueh Tsa Chih 1999 Mar; 22(1)94-9.
33. MATALLIOSTAKIS I, PANIDIS D, VLASSIS G, et at. Unexpected increase of the CA 19-9 tumor marker in patients with endometriosis. Dep. of Obstetrics and Gynaecologv, University Hospital, Heraklion, Grete, Grecce. Eur.J. Gyneacol Oncol 1998;19(5): 498-500.
34. HALME L, KARKAINEN P, ISONIEMI H, et al., Carbohydrate 19-9 antigen as a markcr of non-malignan hepatocytict ductular transformation in patients with acute liver failure. A comparison with alpha-fetoprotein and carcinoembryonic antigen. Dep. of Surgery, Helsinki University Central Hospital, Finland. Scand J Gastroenterol 1999 Apr; 34(4)426-31.
35. NOVARK J, JAKUBOWSKA D, WICZKOWSKI A, et al. Carbohydrate antigens CA 1 9-9, CA 242, CA 50 in liver diseases III Katedry i Kliniki Chorob Wewnetrzbych Slaskiej Akademii Medvcznej w Katowicach. Wiad Lek 1998: 5 (11-12): 484-91.
36. SAFADI R, LIGUMSKY M, GOLDIN E, HAVIV YS, NUSAIR S, et al. Increased serum CA 19-9 antobodies in Sjogren's syndrome. Gastroenterology Unit, Hebrew University School of Medicine, Jerusalem, Israel. Postgrad Med J. 1998 Sep:74(875):543-4.
37. KURODA N, HAYASHI Y, NISHIDA Y ITOH H, et al. Combined small and transitional celi carcinoma of the urinary bladder with CA 19-9 production. Firs Dep. of Pat, Kochi Medical School, Nankoku City, Japan. Pathol Int 1999 May; 49(5): 462-7.
38. MARREILI D, ROVIELLO F, De STEFANO A, et al. Prognostic significance of CEA, CA 19-9 and CA 72-4 preoperative serum levels in gastric carcinoma. Second Dep. of Surgery, Instituto Policattedra di Scienze Chirurgiche, Universita di Siena, Siena, Italia. Oncology 1999 Jul; 57(1):55-62.
39. McLAUGHLIN R, O'HANDLON D, KERIN M, et al. Are elevaded levels of tumor marker CA 19-9 of any clinical significance? an elevation. Dep. of General Surgery, University College Hosp., Galway. Ir.J. Med Sci 1999 Apr-Jun; 168(2):124-27.
40. ASCO-D. CA 19-9 as a Marker for Colon Gancer 1998 iui 2; 1-2 –URL = <http://www.asco.prof/org/htm> em 21/8/99.
41. BONFRER JM, KLORSE CM. TPA and CA 15-3 nleasurernents for breast cancer monitoring in routine setting. Dep. Clinical Chernistry, Notherlands Cancer Institute (Antoni van Leeuwenhoek Huits), Amsterdam, The Notherlands – Int. J. Biol. Markers 1999 Jan-Mar; 14(1):40-4.
42. BOTE G, LAFERRERE L, ETCHEPARE S, et al. Diagnostic value of tumor markers in pleural effusions. Servicio de Clínica Médica, Compiejo Médico-Policial Clínica-Visca. Buenos Aires, Argentina. Medicina (Buenos Aires), 1990; 50(3):213-6.