

A melanoma progressziójának laboratóriumi markerei

Bánfalvi Teodóra, Édesné B. Mariann¹, Gergye Mária², Udvarhelyi Nóra³, Orosz Zsolt³, Gilde Katalin, Kremmer Tibor¹, Ottó Szabolcs², Tímár József⁴

Országos Onkológiai Intézet, Budapest
Bőrgyógyászat, ¹Biokémiai osztály, ²Tumormarker laboratórium,
³Daganatpatológiai osztály, ⁴Tumor Progressziós Osztály

Melanoma malignumban a keringő tumormarkereknek potenciális szerepe a prognózis felállításában, a betegkövetésben és a terápia monitorozásban lehet. A közleményben áttekintjük a melanoma laboratóriumi tumormarkereit (MIA, LKSZ, NSE, TA90 immunkomplex, S-100B protein, adhéziós molekulák, 5-S-ciszteinildopa, tirozináz, citokinek, metalloproteinázok, LDH). Közülük az S-100B protein a legtöbbet vizsgált tumormarker. Specifitása kiváló, stádiumtól független önálló prognosztikus faktor, magas szérumkoncentrációját rövidebb túlélés kíséri. Klinikai alkalmazása legcélszerűbb stádium II-III-IV-ben prognosztikus célból, terápia monitorozására és betegkövetésre. Monitorozás előtt célszerű azonban az S-100B protein immunhisztokémiai vizsgálatát elvégezni, mivel fokális és heterogén szöveti S-100B-expresszió és alacsony intenzitás esetében a szérumkoncentráció várhatóan a disszeminált betegekben nem emelkedik. Bár az 5-S-CD szérumkoncentrációja saját, az irodalomban legnagyobb esetszámot tartalmazó átfogó vizsgálatunk során nem bizonyult független prognosztikus faktornak, a marker betegkövetésre szintén ajánlható. A cut-off érték alatti és feletti 5-S-ciszteinildopa szérumkoncentrációval rendelkező betegek túlélése egymástól szignifikánsan különbözik. Az S-100B protein és az 5-S-ciszteinildopa együttes alkalmazása biztonságosabbnak tűnik a túlélés szempontjából, a viszonylag alacsony korreláció ellenére. Az LDH a legtöbb tanulmányban melanomában stádium IV-ben a legerősebb prognosztikus faktornak bizonyult, bár szenzitivitás és specifitás szempontjából kissé elmarad az S-100B-től. Az irodalmi adatok alapján a MIA- és a tirozináz-szérumkoncentrációk meghatározása, amennyiben hozzáférhető, szintén alkalmas melanomában a „marker” funkció betöltésére. A többi vizsgált marker vagy nem kellően ismert még, vagy nem hordoz hasznosítható információt a klinikus számára. *Magyar Onkológia 47:89–104, 2003*

Extracellular tumour markers may have potential role in the follow-up of patients with malignant melanoma, in therapy monitoring and in prediction of prognosis. In our article circulating tumour markers in melanoma (melanoma inhibitory activity, lipid bound sialic acid, neuron specific enolase, TA90 immunkomplex, S-100B protein, 5-S-cysteinyldopa, tyrosinase, cytokines, metalloproteinases, LDH) were reviewed. Among laboratory melanoma markers the S-100B protein is the most investigated. S-100B protein has high specificity, appropriate sensitivity and proved to be significant prognostic factor independent from stages. High serum values are associated with shorter survival. However, before S-100B monitoring immunohistochemistry for the detection of S-100B is required. In the case of malignant melanomas with low expression serum S-100B monitoring may not be sensitive enough to follow disease progression. Although the serum concentration of 5-S-cysteinyldopa did not prove to be independent prognostic factor in our previous studies comprising the highest patient number in the literature, the marker was suggested for therapy monitoring. The survival analysis indicated that the elevated 5-S-cysteinyldopa level predicts shorter survival. In spite of the calculated low correlation between the two markers, parallel elevation of S-100B protein and 5-S-cysteinyldopa indicated shorter survival. On the basis of the literature LDH is the most appropriate tumour marker in stage IV to predict prognosis, but its sensitivity and specificity could not achieve that of S-100B protein. S-100B and LDH proved to be similarly reliable in respect to the clinical outcome. Determination of serum concentration of MIA and tyrosinase are also reliable markers in malignant melanoma. The other investigated markers are not well known yet or do not provide useful information to the clinicians. *Bánfalvi T, Édesné B.M, Gyergye M, Udvarhelyi N, Orosz Zs, Gilde K, Kremmer T, Ottó Sz, Tímár J. Laboratory markers of melanoma progression. Hungarian Oncology 47:89–104, 2003*

Közlésre érkezett: 2003. január 10.
Elfogadva: 2003. március 1.

Levelezési cím: Dr. Bánfalvi Teodóra, Országos Onkológiai Intézet,
1122 Budapest, Ráth Gy. u. 7-9. Tel.: 224-8600, Fax: 224-820.

A tumormarkerek általános jellemzői

Tumormarkereknek nevezünk minden olyan anyagot, amelynek megjelenése vagy koncentrációjának megváltozása a szervezetben daganat kialakulását, progresszióját jelzi. A tumormarkerek képződhetnek a daganatos sejtekben, ekkor „tumor-eredetű” markerekről beszélünk. Kialakulhatnak azonban nem rosszindulatú, gazdaszervezet-eredetű sejtekben, amikor is „tumorszociált” markerekről van szó. Kimutatásukra számos különféle módszer használatos. A kimutatás helye szerint megkülönböztetünk celluláris markereket, melyeket a daganatszövetből azonosítanak, és keringő vagy extracelluláris markereket, amit testnedvekből izolálnak. Klinikai szempontból szűrésre, differenciáldiagnózisa, stádiumbesorolásra, a prognózis jelzésére, terápia monitorozására, betegkövetésre alkalmasak.

Jellemzők

Szenzitivitás: meghatározott daganatnál az emelkedett markerkoncentráció átlagos valószínűségét adja meg. Értéke függ a betegek számától, a stádiumtól és a cut-off szinttől.

Specifitás: megmutatja, hogy a marker mennyire képes kiválogatni a betegeket.

Pozitív prediktív érték: a kóros eredmény háttérben meghúzódó malignus folyamat valószínűségére utal.

Negatív prediktív érték: jelzi, hogy egy normális eredmény mögött milyen valószínűséggel van malignus folyamat.

Cut-off érték: koncentrációs küszöbérték. Egy adott vizsgálatban nagysága megválasztható, általában a 95 % specifitáshoz tartozó koncentrációt fogadják el.

A melanoma malignum előfordulási gyakorisága az utóbbi 50 évben megtízszereződött (32, 41, 96, 99, 113). Etiológiájában szerepet játszik többek között a naevusok nagy száma és a napégés (6, 121, 141). A betegség kezelésének egyik kihívása a daganat korai észlelése. A primer melanoma szűrésére a tumormarkerek szükségtelennek tűnnek. A daganat a bőrön, némely esetben még a nyálkahártyákon is jól látható. A diagnózis nem igényel eszközös vizsgálatot, eltekintve az utóbbi években alkalmazott, noninvazív dermatoszkóp rendszerre vált használatától, mely a diagnosztikus biztonságot megfelelő tapasztalat birtokában kétségtelenül javítja, azonban a szövettani kontroll továbbra is nélkülözhetetlen (7). Mára a kezdeti stádiumban felállított diagnózis gyakoribbá vált, a betegek várható túlélése javult. Ennek ellenére a másik alapvető kérdés, a disszemináció minél korábbi felfedezése és kezelése változatlan probléma (30). A túlélés meghosszabbítását minden stádiumban a korai felismerés segítené elő.

Megfelelően érzékeny, specifikus, olcsó, könnyen kivitelezhető és reprodukálható tumormarkerek alkalmazása nagy segítséget nyújthatna a melanoma prognózisának pontosabb meghatározásában, elősegítené a metasztázis korai ki-

szűrését, lehetővé tenné az idejében elkezdett szisztémás kezelést, a terápia monitorozását és a betegek jobb követését.

A tumormarkerek szérumban vizsgálása számos daganat kezelésében beépült a klinikai gyakorlatba. Prostatatárakban a prosztataspecifikus antigén, colorectalis daganatokban a carcinoembryonális antigén széles körben használt. A tumormarkerek egyik legsikeresebb alkalmazása a csírasejtes daganatok kezelésének monitorozása és a beteg utókövetése.

Sajnos a bőrgyógyászati onkológiában jelenleg nincsen olyan ideális tumormarker, mely minden stádiumban megfelelően specifikus és kellően szenzitív lenne. Az új szöveti prognosztikus markerek (AMF, CD44, MMP-2, nm23) hasznosítása egyelőre az elméleti kutatás szintjén mozog (43, 147, 148). Mindeztől még az ismert keringő tumormarkerek alkalmazása is nehézkes, az értékelés sokszor bizonytalan, a vizsgálatok a klinikai onkológiai, bőrgyógyászati gyakorlatba nem épültek be. A közlemény ezen a téren próbált eredményeket elérni, a melanomában használatos szerológiai markerek áttekintésével és három keringő tumormarkerrel (S-100B protein, 5-S-ciszteínildopa, LDH) szerzett saját tapasztalataink rövid ismertetésével. Beszámolunk továbbá egy immunhisztokémiai S-100B-expressziót és szérumban S-100B-koncentrációt összehasonlító vizsgálatról.

Melanoma malignum keringő tumormarkereinek áttekintése

1. Melanomához asszociált antigének

a. Melanoma inhibitory activity (MIA)

A MIA 11 kDa molekulású protein, melyet HTZ-19 melanoma malignum sejtvonal felületéről izoláltak 1989-ben (20, 23). Nem tumoros szövetekben a MIA főleg fejlődő és érett porcsovetben található meg. A növekedésgátló, az invázió és disszemináció szabályozásában feltehetően részt vevő, a melanomasejtek és az extracelluláris mátrix kapcsolódását a fibronectin és laminin megkötésével akadályozó proteint melanociták naevusok alacsony szinten, a normális bőr melanocitái, keratinociták, nem melanociták tumorok azonban egyáltalán nem expresszálják (26, 27, 61). A proteint a 19q13.32-33 génszakasz kódolja és a DNS-szekvencia teljes egészében ismert (61, 97).

A szérumban koncentráció meghatározása MIA ELISA-teszttel történik. Emelkedett szérumban koncentráció a malignus melanociták fokozott expressziója következtében megfigyelhető melanoma malignumban, emellett előrehaladott emlő- és colon carcinomában, gliasejtes tumorokban (98). Klinikai elemzése kapcsán melanoma malignumban Bosserhof III-as és IV-es stádiumban 100%-os szenzitivitást észlelt és S-100B- ill. sICAM-1-koncentrációkkal 462 betegen összehasonlítva a legérzékenyebb markernek értékelte. Azonban I-II-es stádiumban a MIA-pozitivitás nem mutatott korrelációt a Breslow szerint mért tumorvastagsággal. Magas értéket észlelt még az

esetek egy részében ovarium, emlő, pancreas, colon rosszindulatú daganataiban (24). Későbbi munkájában terápia monitorozására és metasztázis kimutatására egyaránt alkalmasnak tartotta (24, 25). Stahlacker 326 beteget elemző közleményében melanómában stádium III-IV-ben szintén magas, 60-89,5%-os szenzitivitást észlelt, betegkövetésre és metasztázis diagnosztizálására ugyancsak megfelelőnek találta (140).

A MIA meghatározására újabban kifejlesztett RT-PCR technika segítségével figyelemre méltó pozitívítás (21%) mérhető melanomás betegeknél már stádium I-II-ben is. A II-es és IV-es stádiumban a MIA RT-PCR pozitívítás tünetes betegeknél magasabbnak (34%) bizonyult, mint a tünetmentesekben (10%). Betegmonitorozásra nem volt alkalmas a teszt (106). A módszer értékelhetőségét befolyásolja, hogy alacsony szintű MIA RT-PCR pozitívítás egészségesekben is kimutatható.

Bár viszonylag kevés számú közlemény áll rendelkezésre MIA-val kapcsolatban, az eredmények jobbák vagy hasonlóak az S-100B proteinéhez és korrelálnak az LDH-szinttel IV-es stádiumú betegeken (24-26, 40, 41, 106, 140).

b. Lipidhez kötött szialsav, gangliozyd (LKSZ)

A lipidhez kötött szialsav sejtmembrán gangliozyd-nak (glikolipid) felel meg, mely a szérumban lipoprotein-frakciójához kötődik. A sejt és extracelluláris mátrix kapcsolatában, a sejtmozgásban, az áttétképződésben, a tumorimmunitásban szerepet játszó gangliozydokban különösen a neuroektodermális eredetű és daganatosan átalakult sejtek gazdagok. Az LKSZ a sejtmembránról könnyen leválik, a szérumban lipoproteinhez kötve kering. A tumor-markerként való alkalmazására irányuló klinikai vizsgálatok 1958-ban kezdődtek, amikor Winzler az LKSZ szintjét különböző malignus tumorokban (pl. emlő- és colorectalis carcinoma) emelkedettnek találta (160). Reintgen szerint az LKSZ használható markerként a progresszió megítélésére melanómában (120). Melanómában az első nagyobb számú vizsgálatot (165 beteg/244 mérés) Gilde és munkatársai végezték. Vizsgálataikkal az LKSZ-szint kóros emelkedését csak a melanoma áttétes formájában találták szignifikánsnak. Multiplex belsőszervi metasztázisnál magasabb arányú kóros értéket észleltek, mint többszörös bőráttevés esetén, amely ellen szól annak a hipotézisnek, hogy az LKSZ szintje a tumormassza nagyságát tükrözné (55). Ezzel szemben Buzaid 240 beteg vizsgálata kapcsán úgy találta, hogy az LKSZ szérumszintje korrelál a melanomás betegeknél előrehaladott esetekben észlelt tumormasszával (33).

A gyulladási folyamatokban szerepet játszó akutfázis-proteinek szialsavgazdagságának köszönhetően a meghatározásnak inkább prognosztikus értéke van, diagnózisra és szűrésre nem javasolt (29, 62, 125).

c. Neuronspecifikus enoláz (NSE)

Az enolázok a glikolízis enzimjei, melyek a 2-foszfoglícérátot alakítják foszfoenolpiruváttá. Három, immunológiailag különböző alegységből állnak

(alfa, béta, gamma). A neuronspecifikus enoláz a gamma-gamma és alfa-gamma formát tartalmazza. Az NSE-t 1965-ben Moore és McGregor írta le először (104). Megtalálható neuronokban, a perifériás neuroendokrin szövetekben, az APUD sejtekben, így a kissejtes tüdőrákban és neuroblastomában is. Az NSE kimutatható még egyes tumorokból, mint melanoma, seminoma, carcinoid, Merkel-sejtes tumor (115). 1982-ben Prince javasolta szérummarkerként történő használatát neuroendokrin tumorokban. Azóta számosan megerősítették alkalmazhatóságát kissejtes tüdőrákban, seminómában, neuroendokrin tumorokban (37). Kimutatása monoklonális ellenanyagot alkalmazó radioimmunoassay-vel (RIA; Roche) történik.

Melanómában először Lorenz és Dippold közöltek emelkedett szérumszinteket (94). Hornef szerint magasabb szérumkoncentráció csak stádium IV-es melanomás betegeknél észlelhető (73). Wibe vizsgálatai alapján az NSE-pozitív betegek túlélése szignifikánsan rövidebb, mint az NSE-negatívaké, de a szenzitivitás az S-100B proteiné alatt marad (159). Klinikai alkalmazhatósága kérdéses, különösen alacsony specificitására való tekintettel.

d. Tumorasszociált antigén (TA90) immunkomplex

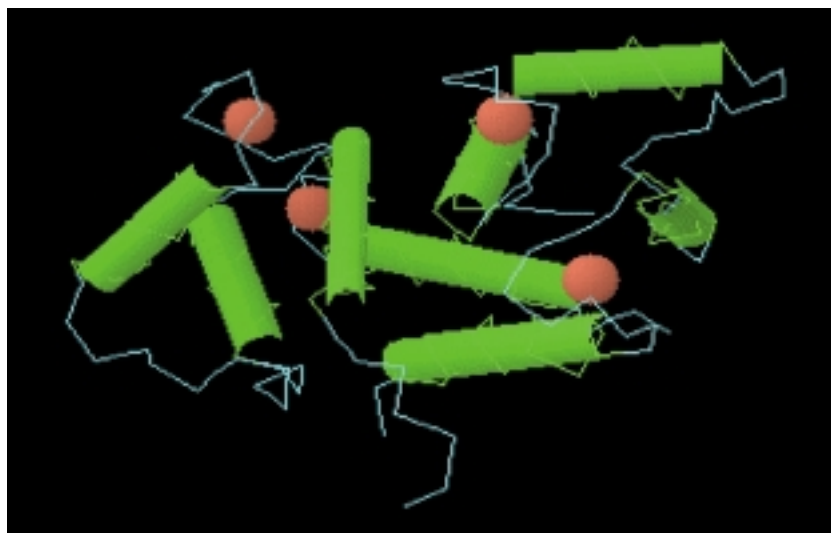
A melanomás betegek szérumában a tumorasszociált TA90 antigen immunkomplex ELISA módszerrel meghatározható. Egy amerikai munkacsoport összesen 166 (AJCC stádium I-II-III) melanomás beteget vizsgált. Közleményük alapján a TA90 immunkomplex szintje korrelál a túléléssel. Multivariációs analízissel a legerősebb független prognosztikus faktornak bizonyult, mind az átlagos, mind a tünetmentes túlélést vizsgálva. A marker 78% szenzitivitással és 77% specificitással jelzi továbbá a szubklinikus metasztázisokat (89).

e. S-100B protein

Az S-100 protein 21000 Dalton molekulású, savas, Ca-kötő kapacitással rendelkező fehérje (1. ábra). 1965-ben Moore marhaagyból izolálta (104). Nevét telített ammóniumsulfát oldatban neutrális pH-nál történő 100%-os oldódásáról

1. ábra.

Az S-100B protein szerkezete



kapta. Az S-100 dimer fehérje, mely alfa és béta egységek különböző kombinációiban (homo- és heterodimer) fordul elő. Kezdetben neurospecifikusnak tartották, azonban fiziológiásan előfordul számos szövetben, így az aa dimer harántcsikolt- és szívizomban, vesében, makrofágokban, monocitákban. A bb dimer megtalálható a központi idegrendszer glia- és Schwann-sejtjeiben, epidermális Langerhans-sejtekben. Az ab forma gliasejtékben és melanómában észlelhető (52). A 91 aminosavat tartalmazó szekvenciát Isobe 1978-ban határozta meg (77, 78).

Az S-100 proteinek a legnagyobb alcsaládot képviselik a Ca-kötő fehérjék között. A család kódoló génszakaszt 1995-ben izolálták az 1q21 kromoszómaregióban (129). Ezután még kilenc különböző S-100 proteint meghatározó gént fedeztek fel (67). Ezt követően a nomenklatura megváltozott, a korábban S-100 alfa most az S-100A, az S-100 béta pedig az S-100B nevet kapta (129, 130). Az S100 fehérje család 19 tagja ismert, funkciójuk azonban ma sem teljesen tisztázott. A sejtekben az S-100B kalciumot tartalmazó homo- és heterodimer formában található meg, intracellulárisan, alapvetően membránhoz kötötten. Az első megállapítások egyike, hogy érzékenyen jelzi az idegrendszer sérüléseit (49). Nagy valószínűséggel az intracelluláris kalciummetabolizmusban játszanak szerepet. A sejt differenciációban, motilitásban, endo- és exocitózisban, membránpermeabilitásban, apoptózisban is részt vehetnek. Baudier 1992-ben felfedezte, hogy az S-100B befolyásolhatja a tumorsuppresszor protein p53-at. Az S-100B ugyanis akadályozza a p53 kalciumdependens foszforilációját *in vitro*. Ez vezethet a p53 tumorsuppressziós funkciójának gátlásához.

Gaynor 1980-ban mutatta ki az S-100 protein jelenlétét humán melanoma sejtvonalakban. Felfedezését a melanociták neuroektodermális eredetével magyarázta (52). A kimutatáshoz komplexmentfixációs tesztet használt. Napjainkban az S-100B proteint immunhisztokémiai vizsgálatok során széles körben alkalmazzák a melanoma diagnosztizálására és más malignus tumoroktól való megkülönböztetésül (19, 28, 35, 36, 47, 90, 107, 108, 111, 112). A szérumban S-100B meghatározása korábban radioimmunoassay-vel, ma már lumineszcens immunoassay-vel (LIA-mat Sangtec 100) történik, mely a béta alegységet detektálja, azaz mind az ab, mind a bb dimert észleli (21). Egyszerűsége, reprodukálhatósága, radioaktivitásmentesége, megfelelő szenzitivitása miatt napjainkban általában a LIA-mat módszert alkalmazzák.

A klinikai vizsgálatok során Fagnart 1988-ban észlelte, hogy a szérumban S-100B-érték disszeminált melanómában emelkedett (49). Ezt követően keringő tumormarként való felhasználásának lehetőségeit számosan vizsgálták. A tanulmányok azonban, melyek a szérumban S-100B-szintet elemzik, az IRMA és LIA-mat módszert egyaránt alkalmazták, különböző stádiumbeosztásokat használtak, változó cut-off értékkel számoltak kezelt és kezeletlen, tünetmentes és tünetes beteganyagot egyaránt. A legtöbb közlemény által alkalmazott IRMA módszer alsó határértéke 0,2 mg/l volt, míg

a LIA funkcionális alsó határa ennél egy nagyságrenddel alacsonyabb, 0,01 mg/l. Ezért a különböző eredmények összehasonlítása nehézkes.

Számos elemzés I-II-es stádiumban alacsony szenzitivitást észlelt (S-100B protein: 1,3%, 4%, 10%, 14% szenzitivitás), amely azonban a betegség progressziója során növekszik (stádium III: 8,7-19,2-21%, stádium IV: 73,9-67,9-79,9%) (56, 62, 68, 97). Egy német és egy svájci munkacsoport követően az eredményeket egy svéd közlemény is megerősítette, 643 beteg eredményeinek feldolgozásával. Kifejezett korrelációt találtak a szérumszintek és a túlélés között. Ennek alapján az S-100B megfelelő cut-off érték esetén stádiumtól független prognosztikus markernek bizonyult melanómában (134). Egy későbbi német közleményben ezt megerősítették, és javasolták, hogy az S-100 kerüljön be a klinikai „staging“-be (135). Hauschild 1999-ben 412 melanómás beteg 1339 szérummintájából hasonló eredményeket publikált. Cut-off értéként 0,2 mg/l-t alkalmazva stádium I-II-ben (primer tumor) 1,7%, stádium III-ban (lokoregionális érintettség) 19,2%, stádium IV-ben 68% szenzitivitást észlelt. A cut-off szintet meghaladó S-100B-koncentrációjú betegek átlagos túlélése stádiumtól függetlenül szignifikánsan rövidebbnek bizonyult a többi betegénél (63). Wollina 371 mintában a stádium III és IV betegek értékei között szignifikáns különbséget észlelt. A marker 97% specificitással és 65% szenzitivitással volt képes megkülönböztetni a tünetmentes betegeket a tünetesektől (163). Bonfrer vizsgálatai során a kapott eredményeket erősen specifikusnak, de alacsony szenzitivitásúnak észlelte, ezért további vizsgálatokat szorgalmazott (21). Hanson a magas rizikójú esetek kiszűrésére és terápia-monitorozásra tartotta alkalmasnak a vizsgálatot, és szoros összefüggést észlelt a túléléssel (59).

A prognózis megállapítására stádiumonként különböző, sokféle paraméter áll rendelkezésre. Mégis egyes esetekben nem várt, ezen faktoroknak ellentmondó tünetmentes vagy átlagos túlélés tapasztalható. Ezekben az esetekben a tumormarkerek szerepe előtérbe kerül. Számos közlemény foglalkozik a prognosztikus faktorok vizsgálatával (48, 66, 95). A legnagyobb számú vizsgálatot Martenson végezte 1007 betegen. Eredményei alapján azt tapasztalta, hogy az S-100B proteinszint független prognosztikus faktor a klinikai II-es és III-as stádiumban, míg I-es stádiumban csak 12%-ban észlelt emelkedett értékeket (97).

Az S-100B proteín szérumszintje tükrözi továbbá a betegség aktivitását, megkülönböztetve a tünetes és tünetmentes betegeket (87, 101, 136).

Guo 1995-ben először jelentette ki, hogy a vizsgálat metasztatikus melanómás betegeknél terápia-monitorozásra alkalmas, amit a későbbiekben Henze ugyancsak alátámasztott (56, 68). Bonfrer szerint 0,16 mg/l cut-off értéknel a betegek 63%-ában a marker 99%-os biztonsággal képes jelezni a daganatot (22). Hauschild nagyobb számú beteget felölölő közleményében korreláció mutatkozik a terápiás válasz és a szérumszintek között. A kezelésre nem reagáló betegek szérumszintjei magasabbak voltak a terápia meg-

kezdése előtt, mint a javuló betegek koncentrációi (64). Számos szerző szerint a terápia alatt az emelkedő S-100B-értékek progresszióra utalnak, míg a csökkenő koncentráció a terápias választ jelzi (56, 64, 68). Ez a megállapítás gyakorlati jelentőségű, mivel befolyásolhatja a terápiai stratégiát.

A betegkövetés kapcsán a szérumban S-100B-koncentráció a klinikailag vagy eszközös vizsgálatokkal észlelhető metasztatizáció előtt megemelkedhet. A közlemények ezzel kapcsolatban rendkívül eltérő eredményeket közölnek. Schlagenhauf 411 monitorozott betegnél 41 esetben észlelt progressziót és 19,5%-ban az S-100B emelkedése volt a metasztatizáció első jele (132). A szérumban S-100B-koncentráció kis számú esetben ugyan, de közel 50%-ban megelőzte az áttét kimutatását Bonfrer vakcinával kezelt betegeiben (22). Jury melanoma monitorozása kapcsán 11 (85%) esetben a 13 újonnan észlelt disszeminált melanomás beteg közül az S-100B emelkedése 5–23 héttel megelőzte az áttét konvencionális módszerekkel történő kimutatását (82).

Összehasonlító vizsgálatok során Miliotes a lipidhez kötött szialinsavat és az S-100B-koncentrációkat értékelte közleményében. Az S-100B protein emelkedése szignifikáns korrelációt mutatott a recidíva megjelenésével és a túléléssel, szemben a lipidhez kötött szialinsavval (100). Berking az S-100B proteint tartja a legérzékenyebbnek (IV-es stádiumban 80%) a metasztatizáció kialakulásának jelzésére, szemben a multimarker RT-PCR-rel vizsgált tirozináz, Melan-A, MAGE-3, gp100 45,5%-os szenzitivitási értékeivel (18). Tofani 53 betegen elvégzett vizsgálata alapján I-II-es stádiumban csak NSE-emelkedést észlelt. Összességében azonban NSE-emelkedést 26%-ban, míg kóros S-100B proteint 30%-ban mért (149). Bonfrer 251 beteget felölölő, az S-100B proteint és NSE-t vizsgáló munkájában az S-100B 79%-os szenzitivitással szignifikánsan jobb markernek bizonyult a neuronspecificus enoláz 42%-os pozitívitásánál (21). Djukanovic munkájában 65 beteg 271 mintáját elemezve S-100B protein esetében 81,5%-ban, míg MIA-nál 73,8%-ban észlelt korrelációt a markerkoncentrációk és a betegség lefolyása között. MIA esetében azonban a fals negatív eredmények száma 32,5% volt, szemben az S100B-vel kalkulált 20%-kal (42).

Az S-100B protein és az LDH közti összefüggést az LDH fejezetben elemzem.

A legújabb közlemények már a klinikai gyakorlatba próbálják illeszteni az S-100B-méréseket. Vizsgálják például, alkalmas-e az S-100B-koncentráció mikrometasztázisok jelzésére a sentinel nyirokcsomóban. A nemleges válasz a fentiek alapján tulajdonképpen várható, hiszen a szenzitivitás az AJCC III-as stádiumban szinte minden korábbi vizsgálatban igen alacsonynak bizonyult (1).

Elemzik továbbá a fals pozitív eredmények lehetséges okait: más tumorok májmetasztázisaiiban, valamint primer májrákban, májcirrózisban ugyancsak emelkedett értékeket észleltek. Egészséges egyéneknek bizonyos vesebetegségek állhatnak a fals pozitívitás hátterében (103).

Vizsgálatok tárgyát képezte továbbá a szérumban S-100B eredete és féléletideje. A sejtelhalás kö-

vetkeztében a keringésbe kerülő tumormarker féléletidejét 30 percen határozták meg izolált végtagerfúzió során (54).

Gyermekekben, mivel az idegszövet és a porc-szövet, amelyekben az S-100B protein szintén kimutatható, még jelentősen fejlődik, megfelelő referenciaértékek meghatározása szükséges (75).

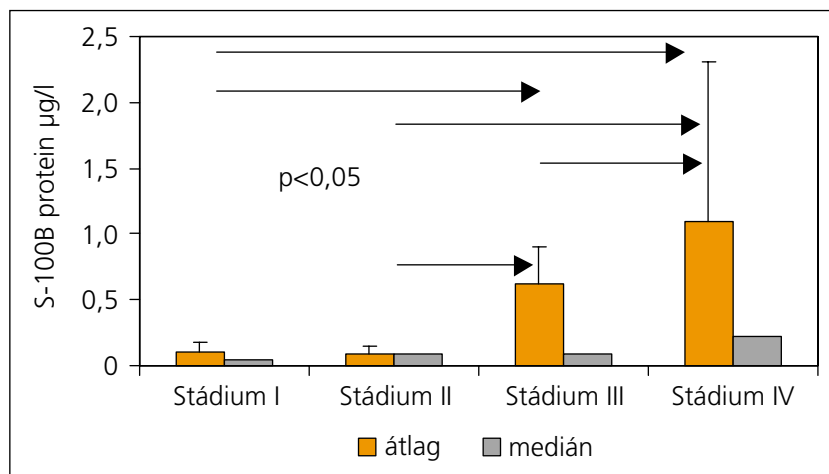
A vizsgálatok értékelése kapcsán problémát jelenthet esetleges központi idegrendszeri sérülés, mely szintén növelheti a szérumban S-100B-szintet, továbbá az, hogy egészségesekben is mértek már emelkedett szérumban S-100B-értékeket (150).

Összefoglalva elmondhatjuk, hogy az S-100B protein a legjobban vizsgált tumormarker. Klinikai alkalmazása legcélszerűbb stádium II-III-IV-ben prognosztikus célból, terápia-monitorozására és betegkövetésre (8, 9, 11, 13).

Ezen megállapításokkal saját 475 betegünk (férfi: 257, nő: 218, stádium I: 22, stádium II: 158, stádium III: 135, stádium IV: 160) S-100B protein eredményét elemző munkánk jelentős mértékben korrelál. A feldolgozás során Mann-Whitney-tesztel szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) észleltünk az egyes stádiumok átlagos markerkoncentrációi között (2. ábra). A tünetmentes és tünetes betegek között észlelt különbség a tumortömeggel való összefüggésre is utal (1. táblázat). A vizsgá-

2. ábra.

Átlag/medián S-100B-protein-koncentrációk stádium I-II-III-IV-ben melanomás betegeknél. A számított szérumban S-100B-koncentrációk: stádium I ($n = 22$): 0,010/0,04 mg/l, stádium II ($n = 158$): 0,09/0,06 mg/l, stádium III ($n = 135$): 0,62/0,09 mg/l, stádium IV ($n = 160$): 1,1/0,2 mg/l. A nyílak szignifikáns különbségeket jeleznek az egyes stádiumok között ($p < 0,05$), Mann-Whitney-tesztel.



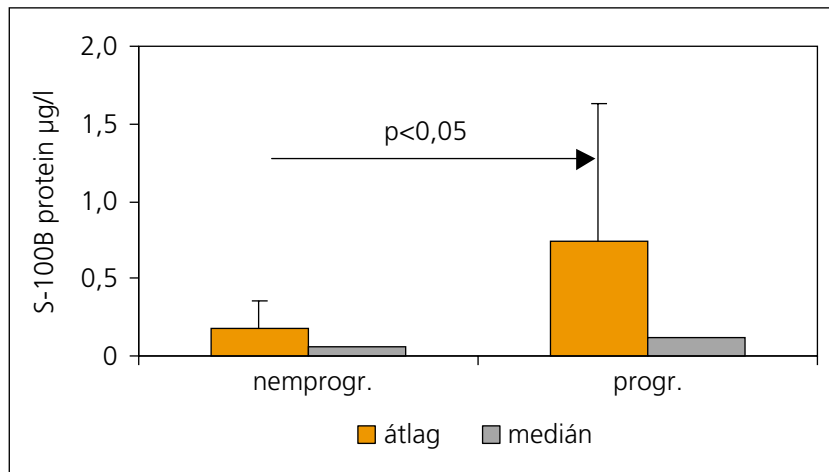
1. táblázat. Tünetmentes és tünetes melanomás betegek S-100B protein- és 5-S-CD átlag/medián szérumban S-100B-koncentrációja stádium III-IV-ben

	Tünetmentes		Tünetes	
	S-100B	5-S-CD	S-100B	5-S-CD
Stádium III				
Betegszám	39		96	
Átlag	0,095*	11,79	0,321*	14,50
Medián	0,05	7,26	0,098	10,18
Szórás	0,01-0,927	0,74-60,10	0,01-5,00	0,63-102,82
Stádium IV				
Betegszám	8		152	
Átlag	0,05***	8,58**	1,087***	65,47**
Medián	0,04	7,74	0,232	13,97
Szórás	0,01-0,105	6,06-12,87	0,01-12,86	0,14-971,2

* , ** , *** : egymáshoz viszonyítva szignifikáns eltérés ($p < 0,05$)

lat során stádium IV-ben 56% szenzitivitást, 100% specificitást és 100% pozitív prediktív értéket kalkuláltunk. Jelentős számú fals negatív és fals pozitív eredményt kaptunk. Cox multivariációs vizsgálattal a túlélés szempontjából független prognosztikus faktornak bizonyult a stádium, az S-100B protein (cut-off: S-100B protein >0,18 mg/l), a Breslow érték és a metasztázis lokalizációja abban a bontásban, mely megkülönböztette a szoliter áttétet a multiplextől, valamint egy további, részletesebb elemzésben, mely a tünetek szerinti lokalizációját (primer tumor, regionális nyirokcsomó-metasztázis, pulmonális, hepaticus, kután, agyi, extraregionális és többszervi áttét) is figyelembe vette. A progrediáló és nem progrediáló betegek átlagos markerkoncentrációi között a különbség szintén szignifikáns volt (3. ábra). A cut-off érték feletti és alatti markerkoncentrációval rendelkező betegek túlélése Cox-Mantel vizsgálattal egymástól ugyancsak szignifikánsan eltért. Anyagunkban 160 tünetmentes beteg (stádium I-II: 78, stádium III: 82 eset, nő: 75, férfi: 95) követése kapcsán (1533 S-100B protein-mérés) 76 esetben észleltünk progressziót. A marker koncentrációjának növekedé-

3. ábra. S-100B protein átlag/medián koncentrációi a progrediáló 258 (a megfigyelési idő alatt lokális recidíva, új metasztázis fellépése) és nem progrediáló 217 betegnél. Szignifikáns különbség észlelhető a két csoport között ($p < 0,05$), Mann-Whitney-teszttel.



2. táblázat. A metasztázis diagnózisa előtt emelkedett markerek incidenciája tünetmentes monitorozott betegek esetében (n = 160). Az esetek 1/3-ában a markerek szintje az áttét diagnózisa előtt emelkedett.

	5-S-CD	S-100B	Együtt
In transit	0	0	0
Reg. met.	7	8	6
Tüdő	6	4	3
Máj	4	5	3
Bőr	1	1	1
Agy	0	1	0
Csont	0	0	0
Nyirokcsomó	2	1	2
Több szerv	1	0	1
Egyéb	1	3	0
Összes	22	23	16

se 30,2%-ban (23 beteg) megelőzte a betegek stádiumának megfelelően tervezett és kivitelezett képalkotó vagy fizikális vizsgálatokkal felállított metasztázis diagnózisát (2. táblázat). Az értékelés azonban retrospektíven készült, így nem állítható biztonsággal, hogy az emelkedett markerkoncentráció észlelésének pillanatában, ha van lehetőség azonnali további vizsgálatokra, a progresszió még nem lett volna kimutatható.

Prospektív tanulmányunkban kezdeti stádiumú (stádium I-II-III) 59 melanomás beteg szérums S-100B-koncentrációit határoztuk meg és összehasonlítottuk a megfelelő primer tumor és nyirokcsomó-metasztázis immunhisztokémiai S-100B-expressziójával és ennek intenzitásával (12). Stádium I-II-ben az átlagos szérums S-100B-érték a normáltartományban maradt, azonban stádium III-ban szignifikánsan emelkedett. Ennek ellenére stádium I-II-ben is az esetek 27%-ában magasabb szérumsértéket észleltünk, míg stádium III-ban a betegek 41%-át normális szérums S-100B-koncentráció jellemezte, ami heterogén, individuális expressziót sugall. Ezt megerősítette a tumorok S-100B immunhisztokémiai festődési mintázatának vizsgálata. Diffúz, heterogén és fokális eloszlást észleltünk, az anyag egészében a diffúz megoszlás (52,2%) dominált. Érdekes, hogy a festődési típus hasonlóan bizonyult I-II-III-as stádiumban, még metasztatikus szövetben is, jelezve, hogy az expresszió típusa nagy valószínűséggel állandó. Míg a szérums marker-koncentráció a normális határok között mozgott stádium I-II-ben a különböző festődési csoportokban, stádium III-ban a heterogén és diffúz megoszlás szignifikánsan emelkedett S-100B-szérumszinttel járt, utalva a két tényező közti feltételezhető kapcsolatra. Továbbá, stádium I-II-ben a szérums koncentráció (normális határokon belül) arányos volt az intenzitás erősségével. Stádium III-ban az alacsony S-100B-expressziós intenzitású tumoroknál tapasztaltunk alacsony szérums koncentrációt, mely feltevésünket alátámasztotta.

Megpróbáltunk magyarázatot adni az immunhisztokémiai festődési mintázat, intenzitás és a szérums S-100B szintje között tapasztalható összefüggésekre-ellentmondásokra.

A tumorsejteknél képződő S-100B protein a szérumban különböző mennyiségben határozható meg. Ennek magyarázata során a tumortömeg lehetne az egyik kulcstényező (a primer tumor vastagsága, a nyirokcsomó-metasztázis mérete). Mivel a melanoma, azaz a primer tumor csak néhány mm nagyságú, nem meglepő, hogy stádium I-II-ben a szérums koncentrációk főként a normáltartományban mozognak. Azt a nézetet valljuk, hogy a nagyobb mennyiségű tumormassa, mint például egy metasztázis, több S-100B proteint bocsáthat a keringésbe (12, 38, 40). Másrészt azonban a melanoma az S-100B-expresszió szempontjából heterogén tumor, ezt mi is megfigyeltük ebben a tanulmányban és mások is észlelték korábban (20, 35, 57). Immunhisztokémiai vizsgálatok és szérums koncentrációk összehasonlítása során normális szérums koncentrációknál a fokális és heterogén festődési típus és alacsony intenzitás figyelhető meg elsősorban (12). Eszerint foká-

lis immunhisztológiai festődésű és alacsony intenzitású (+) tumor még előrehaladottabb stádiumban vagy disszeminált formában is csak kis mennyiségű markert bocsát a keringésbe. Fokális és heterogén festődés valamint alacsony intenzitás esetén a szérumban S-100B monitorozása valószínűleg nem lesz megbízható, csak rendkívül előrehaladott, nagy tumortömegegél járó esetekben. A szérumban S-100B monitorozása során észlelt fals negatív eredmények viszonylag magas száma miatt célszerű immunhisztokémiával a szöveti S-100B-megoszlást és -intenzitást megvizsgálni a monitorozás előtt. Ezt számos korábbi megfigyelés is alátámasztja, mely kezdeti stádiumban alacsony szenzitivitást észlelt (8, 9, 11, 38, 97).

2. A melaninszintézis emzimeit és metabolitjai

a. Tirozináz

A tirozináz a melanin bioszintézisének egyik kulcsenzime. Megfelelő lenne melanómában tumormarkereknek, mivel elsősorban a melanociták expresszálják. Sonesson egyik tanulmányában emelkedettnek észlelte a szérumban tirozinázaktivitást előrehaladott melanómában (139). Az RT-PCR technika használata a melanocita sejtekre specifikus tirozináz mRNS meghatározásával lehetővé tette a tirozinázpozitív, azaz keringő melanomasejtek kimutatását a perifériás vérben (138). Azonban Reinhold és munkatársai szerint a keringő melanomasejtek közül csak néhány életképes és tartja meg proliferációs képességét. Az in vivo metasztatizáló tulajdonság számos egyéb faktortól is függ, mint például a célszövetben való megtapadás, növekedési potenciál, a szervezet immunválasza. A tanulmány szerint ezeknek a keringő tumorsejteknek kevesebb mint 0,01%-a vezet végül metasztatizáció kialakulásához (88, 119). A keringő melanomasejtek inkább a meglévő mikrometasztatizist jelzik, mint a szisztémás betegség lehetséges kifejlődését prognosztizálják (88).

A nagyszámú megjelent publikációban IV-es stádiumban a módszer szenzitivitása rendkívül széles skálán mozog. Egy közlemény 100%-os szenzitivitást észlelt, ezt azonban a későbbiekben nem sikerült megismételni. Tsao 127 közleményből válogatott és végül is 23 publikációt és 1799 beteget tartalmazó rendkívül részletes elemzése alapján a specificitást 100%-nak találta. A szenzitivitás azonban a stádiumtól függően változik. Stádium I/II-ben 18/29%, míg stádium III-ban 30%, és stádium IV-ben is csak átlagosan 45% (151). A legújabb vizsgálatok alapján disszeminált betegek esetében a szenzitivitás IV-es stádiumban 60–70% között mozog, a tirozináz RT-PCR emelkedés egyértelműen rövidebb túléléssel jár (116, 118).

Amennyiben a tirozináz RT-PCR pozitív metasztatikus képességgel bíró keringő melanomasejteket jelez, úgy stádium III-ban 60-70%, stádium IV-ben 100%-os pozitívítást kellene észlelnünk. Ez segítene meghatározni az adjuváns vagy az agresszív, kombinált kemoterápia bevezetését. A módszert kérdésessé teszi, hogy a me-

lanomasejtek megjelenése a keringésben nem folyamatos, hanem intermittáló, amit a metasztatizációk random kialakulása is alátámaszt (119), valamint, hogy a melanomasejtek csak átmenetileg perzisztálnak a véráramban.

A vizsgált közlemények egymástól jelentősen eltérnek, mind a beteganyag kiválasztásában, mind a módszerben, az elért eredményekben. A tirozináz RT-PCR módszer megítélését ára és időigényessége is jelentősen befolyásolja.

b. Alfa-melanocita-stimuláló hormon (alfa-MSH)

A hipofízis alfa-MSH hormonja felelős a melanociták megnövekedett melaninszintéziséért, ennek következtében a bőr sötétebbé válásáért. Szérumban alfa-MSH-meghatározással igen kevés tudományos munka foglalkozik. Emelkedett értékeket mértek terheseknél, PUVA terápia kapcsán és egy tanulmányban a melanómás betegek 34%-ánál, stádiumtól függetlenül. Az IRMA-val meghatározott szérumszintek tükrözték a terápiás választ. A szerzők véleménye szerint a megnövekedett szérumban alfa-MSH koncentráció pozitív feedback következtében létrejött centrális hormontermelés-fokozódás következménye lehet, a bőr irradációjához hasonló módon, nem pedig a daganatos szövet megnövekedett szekréciójának eredménye (53).

c. 6-hidroxi-5-metoxiindol-2-karbonsav (6H5MI2C)

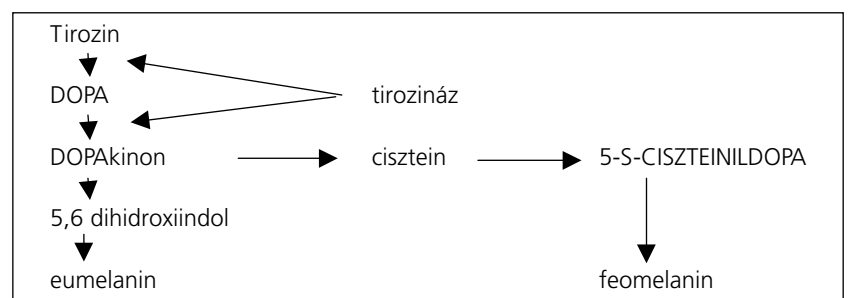
Indolszármazék a barnásfekete eumelanin metabolitja. Horikoshi szerint a 6H5MI2C koncentrációja korrelálhat a bőrszínnel. Mind Karnaal, mind Horikoshi melanómás betegeken csak végstádiumban észlelték az érték emelkedését, akkor azonban kiugróan magas koncentrációkat mértek (71, 86).

d. 5-S-ciszteinildopa (5-S-CD)

Az 5-S-ciszteinildopa a melanocitákban és melanomasejtekben zajló melaninszintézis köztiterméke. A tirozinból kiinduló melaninképződés kapcsán dopa, dopakinon majd 5-S-ciszteinildopa keletkezik, mely a vörösesbarna feomelanin képződését eredményezi (4. ábra). A folyamatban jelentős szerepet játszik a tirozináz enzim, az első két lépés katalizálásával, melynek során a tirozint dopává hidroxilálja, ezt a követően dopakinonná oxidálja. A reakcióhoz cisztein jelenléte is szükséges (16, 17, 117, 144). A folyamat során három különböző kémiai szerkezetű köztitermék képződik: fenol (dopa, azaz 3,4-dihidroxifenilalanin), fenol-tiol konjugátum (5-S-ciszteinildopa) és indol (5,6-dihidroxiindol). Mivel e fenti köztitermékek a melaninszintézishez kapcsolódnak, a

4. ábra.

A pigmentképződés folyamata. A tirozinból kiinduló pigmentképződés során cisztein jelenlétében a tirozináz katalizálta reakcióban eumelanin és feomelanin képződik.



melanocitákra és melanocitás léziókra erősen specifikusnak kellene lenniük.

Az 5-S-CD keletkezésének másik lehetséges módja, hogy glutation hozzáadásával a dopakinonból glutation-dopa képződik, mely 5-S-CD-vé alakulhat a gamma-glutamil-transzpeptidáz segítségével (102). Westerhof munkája alapján az 5-S-CD egy peroxidáz katalizálta reakcióban is képződhet, nemcsak melanocitákban. Ez a tény magyarázhatná esetleg az 5-S-CD mérhetőségét albinókban (158).

Az 5-S-ciszteinildopa jelenlétét 1973-ban Rorsman mutatta ki fluorimetriával szövetekből (123). Az 5-S-CD szérumból és vizeletből egyaránt mérhető (2-4, 58, 83). A szérúm 5-S-ciszteinildopa kimutatására szolgáló, és az utóbbi időben általánosságban használt magas nyomású folyadékromatográfiát Hansson publikálta 1978-ban, majd Kagedal alkalmazta vizelet értékek meghatározására 1983-ban (58, 79, 83). Immunhisztokémiai meghatározásra is lehetőség nyílt 1993-tól a Liu által kifejlesztett monoklonális antitestekkel (93).

Az 5-S-CD eredmények értékelése során bizonyos speciális, csak erre a markerre jellemző tulajdonságokat is figyelembe kell vennünk, mint például, hogy a szérúm 5-S-CD-koncentráció nem korrelál a korrall, nemmel, haj- és bőrszínrel, annak ellenére, hogy a marker keletkezése szorosan kapcsolódik a pigmentképződéshez (110, 142). Megfigyelhető azonban az 5-S-CD szérumszintjének kismértékű szezonális ingadozása. Wakamatsu közleményében az egyedi értékek nem emelkednek a normálérték fölé, noha a kora nyári 5-S-CD-átlagértékek a téliéknél kétszeresei (156).

Bizonyos fiziológiás, illetve patológias körülmények között azonban, amikor a melanocita-aktivitás növekszik, az 5-S-CD-szint is emelkedhet. Psoriasisos betegek PUVA kezelése, UV-A és UV-B irradáció, gyulladási folyamatok esetén az 5-S-CD koncentrációja egyértelműen növekedhet. A vizsgálatok alacsony betegszáma, a statisztikai elemzések hiánya (volt-e az egyes értékek között szignifikáns különbség) miatt azonban még ezen tanulmányok eredményei sem meggyőzőek a szérumszint ingadozásának tekintetében (145, 146).

Ellentmondásos az amelanotikus daganatok és az 5-S-CD kimutathatóságának megítélése (143). A legtöbb szerző szerint a pigmentképződés a melanocitákban zajlik, míg mások egyéb lehetőséget sem tartanak kizártnak. A tanulmányok többsége alapján amelanotikus daganatok esetében az érték nem emelkedik (70, 74, 127), ezt állatkísérletek is alátámasztják (74). Ezzel szemben Wimmer nem talált különbséget a szérúmkoncentrációkban a IV-es stádiumú amelanotikus és melanotikus metasztatizálással bíró betegeinél (161).

Először a vizelet 5-S-CD-koncentrációja és a melanoma kapcsolata képezte a kutatások, klinikai vizsgálatok tárgyát (142). B16 melanomás egereken végzett állatkísérletekben a vizelet 5-S-CD-értéke jól korrelált a tumortömeggel (80). Az első, nagyobb beteganyagot felölelő közlemény

Agruptól származik, aki 5 éves tapasztalata alapján (571 beteg) a magas vizelet 5-S-CD-értékeket betegeinél prognosztikus jelentőségűnek tartotta a metasztatizáció és túlélés vonatkozásában (4). Meyerhoffer nagyméretű, kongenitális naevusos gyermekeknél a naevus növekedésének, esetleges malignizálódásának monitorozására ajánlja a vizelet 5-S-CD-szint mérését (99). Sasaki vizsgálatai (50 beteg) szerint az emelkedett vizelet 5-S-CD-szint melanomás betegeknél távoli metasztatizásra utal (127). Karnell 430 beteget elemző, 2000-ben megjelent közleményében a vizelet 5-S-CD-szenzitivitását IV-es stádiumban 83%-nak találta. Szoliter távoli metasztatizáció esetében a betegek 50%-ában emelkedtek az értékek, míg többszörös szervi áttétet minden esetben megnövekedett szérúmkoncentráció kísért (85). A szérúm- és vizelet 5-S-CD-értékek összehasonlítása kapcsán állatkísérletekben Wakamatsu úgy találta, hogy a szérúm 5-S-CD jobban korrelált a tumortömeggel, mint a vizeletben mért értékek. Ezt megállapítást human kísérletekben is sikerült megerősítenie (157).

A szérúm 5-S-CD-vizsgálatok elemzése később került az érdeklődés előterébe, és jelenleg sem áll nagyszámú közlemény rendelkezésre (8, 10, 13, 14, 81). A tanulmányok általában kevés beteg vizsgálta. A publikációk alapján az 5-S-ciszteinildopa szérúmkoncentrációja a stádiumtól függően emelkedik (72, 161). A marker szérumszintje legkifejezettebben stádium IV-ben növekszik (70, 72, 114, 161). Állatkísérletekben, egér melanoma modellrendszerben a plazma 5-S-CD-szint korrelált a primer tumor nagyságával. Az emelkedett 5-S-CD-koncentráció kapcsolatban volt a pigmentációval, azaz amelanotikus melanománál nem észlelték a markerszintek emelkedését (74). Peterson diszplasztikus naevus-szindrómás és különböző stádiumú melanomás betegek összehasonlításával vizsgálta az 5-S-ciszteinildopa-szinteket. A diszplasztikus naevus-szindrómás betegek értékei a normális értékhatárok között változtak, míg a melanomás betegeké a stádiummal és prognózissal korrelált (114).

Tünetmentes melanomás betegek esetében a szérúm- és vizeletértékek a kontrollokéhoz hasonlóak. Metasztatizáció kialakulásakor azonban a szérúmkoncentráció emelkedése néhány esetben (7/9) már az áttét megjelenése előtt észlelhető volt (72). Hasegawa kisszámú beteganyagában is alkalmazhatónak tartja a szérúm 5-S-CD meghatározását korai metasztatizáció észlelésre más markerekkel kombinálva (60). Hirai csak a IV-es stádiumú betegeinél észlelt emelkedett 5-S-CD-szintet (70). Wimmer melanomás betegeinél az 5-S-CD-t kemoimmunoterápia monitorozására használta. Alkalmasságát tartotta a szérúm 5-S-CD-értékek változását a terápiára reagáló és nem reagáló betegcsoport elkülönítésére, a terápia monitorozására. Ezenkívül megfelelő prognosztikus faktornak találta a túlélés idejének megítélésére (161). Meglepő részeredmény, hogy a primer tumor jelenlétében mért emelkedett szérúmkoncentráció a műtéti kezelés után visszatért a normálisra, de nem bizonyult megfelelőnek a következményes metasztatizáció megítélésére.

Összefoglalva elmondhatjuk, hogy a közlemények szerint a szérumban 5-S-CD-szint stádiumtól függően emelkedik, kifejezetten azonban csak IV-es stádiumban (10, 11, 13, 14, 70, 72). Az emelkedett 5-S-CD-szint progressziót jelezhet, néha az eszközös vagy fizikális vizsgálatoknál korábban (12, 14, 60, 70, 114), valamint alkalmas terápia monitorozására is (161).

Összehasonlító vizsgálatok során Hirai szoros korrelációt észlelt a szérumban 5-S-CD és sICAM-1 között. Mindkét marker jól korrelált a progresszióval, azonban az 5-S-CD-szint csak IV-es stádiumban emelkedett (70). Hasegawa párhuzamosan végzett 30 betegen 5-S-CD-, sICAM-1- és sIL-2-vizsgálatokat. A progresszió megítélésére az 5-S-CD-t tartotta a legalkalmasabbnak (60). Horikoshi négy melaninmetabolitot értékelve az 5-S-CD-t találta a legmegfelelőbb markernek progresszív melanómában. A szérumban 5-S-CD emelkedése megelőzte a metasztázis hagyományos módszerekkel történő kimutatását (71). Karnell szérumban S-100B protein, vizeletben 5-S-ciszteaminildopa és 5-hidroxi-6-metoxiindol-2-karbonsav párhuzamos eredményeit elemezve arra következtetésre jutott, hogy mind az S-100B protein, mind az 5-S-CD jól korrelál az átlagos túléléssel (86).

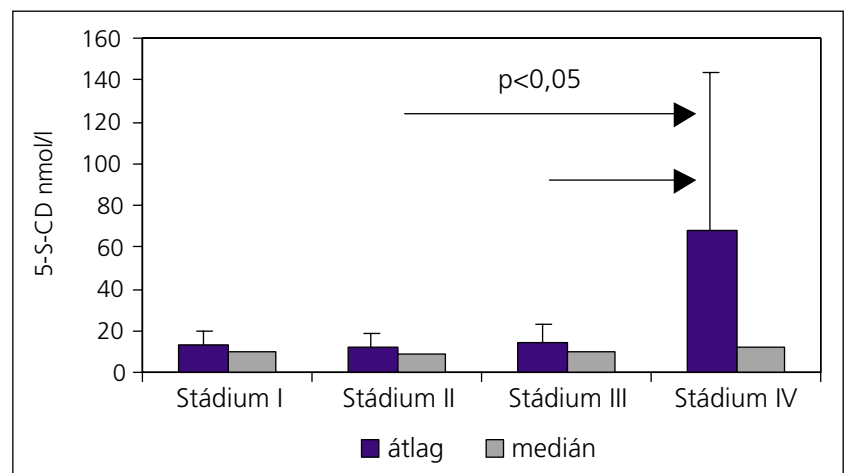
Érdekes kérdésként merül fel, vajon lehetséges-e a melanoma kezelése a melanogenezisen keresztül, azaz tirozinanalógokból előállított citotoxikus anyagokkal? Ígéretes próbálkozásnak bizonyultak a 4-S-ciszteaminilfenollal, valamint aktivált formájával, a 4-S-ciszteaminilkatekollal melanoma sejtvonalakon végzett in vitro és in vivo vizsgálatok. Az utóbbi vegyület citotoxikus hatása a melanocitákra a tirozinázaktivitástól függ. Sajnos azonban ezek az anyagok általában primeren toxikusak és farmakokinetikájuk kedvezőtlen (76, 122).

A fenti következtetések nagy részével egybehangzó eredményeket észleltünk saját 475 betegünk 5-S-ciszteaminildopa-szérumban koncentrációját vizsgáló munkánkban. A feldolgozás során Mann-Whitney-tesztet a stádium IV átlagkoncentrációját szignifikánsan eltértek a stádium II-III szérumszintjeitől, $p < 0,05$ (5. ábra). A tumortömeggel való összefüggés az S-100B proteinhez hasonlóan észlelhető, elsősorban a IV-es stádiumban (1. táblázat). A vizsgálat során stádium IV-ben 48,6% szenzitivitást, 88,8% specificitást és 98,6% pozitív prediktív értéket kalkuláltunk. Az értékek a nagyszámú fals negatív és fals pozitív eredménynel magyarázhatók. Bár korábbi munkánkban egyváltozós Cox regressziós módszerrel az 5-S-CD koncentrációja rizikófaktorként jelent meg, multifaktoriális analízissel azonban vizsgálataink során az emelkedett 5-S-CD szérumban koncentráció (> 15 nmol/l) nem bizonyult önálló prognosztikus tényezőnek (11). A progrediáló és nem progrediáló betegek átlagos markerkoncentrációi között a különbség viszont szintén szignifikáns volt (6. ábra). A cut-off érték feletti és alatti markerkoncentrációval rendelkező betegek túlélése egymástól ugyancsak szignifikánsan eltért. A túlélés magasabb S-100B-koncentrációknál rövidebbnek bizonyult, mint emelkedett 5-S-ciszteaminildopa

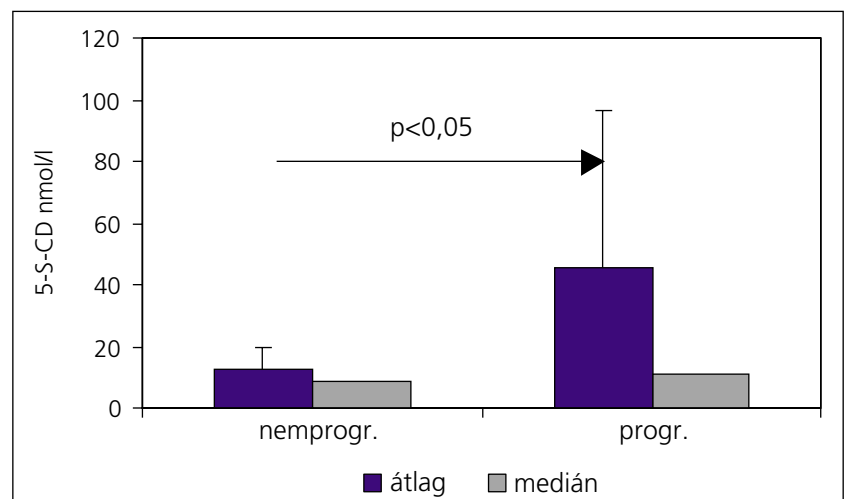
esetén. Az 5-S-CD és S-100B protein között csak mérsékelt korrelációt észleltünk. A kontrollcsoportban a nyári (áprilistól-szeptember végéig: 35 eset) és téli (októbertől március végéig: 28 eset) átlagértékek között nem találtunk szignifikáns különbséget, azonban a fals pozitív esetek száma (8/36: 22,2%) közel a kétszerese volt a téliekének 5-S-CD-nél (4/27: 14,8%). Megvizsgáltuk a tünetmentes betegek nyári-téli átlagértékeit is. Az 5-S-CD-nél a nyári vizsgálatok (75 beteg) átlagkoncentrációi szignifikánsan különböztek a 49 téli esetétől (7. ábra). Mindkét eredmény arra utal, hogy a napfényexpozíció befolyásolhatja az 5-S-ciszteaminildopa eredményeket. Az emelkedett 5-S-CD-szint korai stádiumban progressziót jelezhet, korábban, mint a konvencionális képalkotó technikák. 160 betegünk monitorozása során az 5-S-CD emelkedése az esetek 1/3-ában megelőzte a metasztázis rutinszerűen elvégzett, a stádiumnak megfelelő gyakorisággal kivitelezett fizikális vagy képalkotó vizsgálatokkal történő kimutatását (2. táblázat).

Eredményeink alapján, bár az 5-S-CD szérumban koncentrációja nem bizonyult független prognosztikus faktornak a túlélés szempontjából és szenzitivitása elmarad az S-100B proteinétől, a

5. ábra.
Átlag/medián 5-S-ciszteaminildopa-koncentrációk stádium I-II-III-IV-ben. Stádium I ($n = 22$): 13,14/9,96 nmol/l, stádium II ($n = 158$): 11,95/8,15 nmol/l, stádium III ($n = 135$): 14,67/9,6 nmol/l, stádium IV ($n = 160$): 68/13 nmol/l. A nyílak szignifikáns különbségeket jeleznek az egyes stádiumok között ($p < 0,05$) Mann-Whitney-tesztel.



6. ábra. 5-S-ciszteaminildopa átlag/medián koncentrációi a progrediáló 258 és a nem progrediáló 217 melanomás betegnél. Szignifikáns különbség észlelhető a két csoport között.



marker betegkövetésre ajánlható. Mindkét marker együttes alkalmazása biztonságosabbnak tűnik a túlélés szempontjából (10, 11, 13, 14).

3. Citokinek

Interleukin-2, interleukin-6, interleukin-8, interleukin-10

Alapvető immunológiai és nem immunológiai folyamatok specifikus regulátorai, melyek melanomasejtekben is termelődnek (27, 131). Hatásmechanizmusuk szempontjából pro-inflammatorikus (IL-2) és anti-inflammatorikus (IL-10) citokinekét különböztetünk meg. Kimutatásuk ELISA-teszttel történik.

a. Szolubilis interleukin-2-receptor

Boyano különböző stádiumú melanomás betegeket vizsgálva arra a következtetésre jutott, hogy az sIL-2R-szint valamennyi stádiumban szignifikánsan különbözik a normális kontrolltól, továbbá korrelál a progresszióval. 172 I-III stádiumú melanomás beteg monitorozása kapcsán távoli disszemináció kifejlődése során a betegek 57%-ában emelkedett meg az sIL-2R-érték (27).

b. Interleukin-6, interleukin-8

Scheibenbogen disszeminált melanomás betegeknél 21/56 esetben mért emelkedett szérumszintet IL-8-szintet ELISA-teszttel. Szignifikáns korrelációt észlelt a tumortömeggel, a metasztázis helye azonban indifferensnek bizonyult (131). Mouawad vizsgálataiban az IL-6-szint stádium IV-ben szintén magasabb volt (105).

c. Interleukin-10

Nemunaitis 41 disszeminált melanomás beteg és 50 egészséges önkéntes szérumszintjének összehasonlító vizsgálata alapján úgy találta, hogy a marker alkalmas a két csoport elkülönítésére és az emelkedett IL-10-szint rossz prognózt jelzett (109). Dummer IV-es stádiumú melanomás betegeknél 72%-ban (29/42) talált pozitív IL-10-tesztet (44).

Vuoristo 50 előrehaladott melanomás betegnél megállapította, hogy több szervi metasztázis (elsősorban a máj és csont) magasabb szérumszintű IL-10- és IL-6-koncentrációkkal jár. Ennek alapján a tumortömeg mérésére illetve a metasztázis helyének jelzésére szolgáló markerek lehetnének (153, 155).

A melanomasejtekből származó citokinek és adhéziós molekulák szerológiai meghatározásával lehetőség nyílik a tumor és a szervezet immunviszonyának vizsgálatára, prognosztikus következtetések levonására (27, 51, 105).

A fellelhető közlemények általában alacsony betegsége, a vizsgált különböző stádiumú beteganyag, az interleukinok gyulladáshoz és autoimmun folyamatokban a való részvétele, a gyakran alkalmazott immunterápia, az eltérő következtetések miatt általánosságban azt mondhatjuk, hogy melanomában tumormarkerként egyelőre nem alkalmazhatók.

4. Metalloproteinázok

A különböző tumorok invazív képessége többek között függ a metalloproteináz enzimektől, melyek cinkdependens endopeptidázok, és a tumorsejtek környező szövetbe történő migrációját segítik elő, így szerepet játszanak az invázióban és metasztázisban. A meghatározás ELISA-tesztekkel történik. Az MMP-2 (mely zselatinázként ismert) expresszálódik humán melanomában. Wollina 337 mintát elemzett, összehasonlítva az adatokat a stádiummal, a metasztázis meglétével, valamint az S-100B- és sICAM-1-koncentrációkkal. A mért szérumszintek között szignifikáns korrelációt tapasztalt. Ennek ellenére az egyes stádiumok és a metasztázáló/nem progrediáló betegek szérumszintjei között a különbség nem volt szignifikáns (162). Vuoristo 50 távoli disszeminációban szenvedő, kemoimmunoterápiában részesülő beteget vizsgált. A kiindulási értéket nem találta prognosztikus szempontból alkalmazhatónak. A mért szérumszintek nem voltak jellemzőek a metasztázis helyére és a túlélésre (154).

Az eredmények azt mutatják, hogy ezek a vizsgálatok melanomában tumormarkerként való alkalmazásra nem megfelelőek.

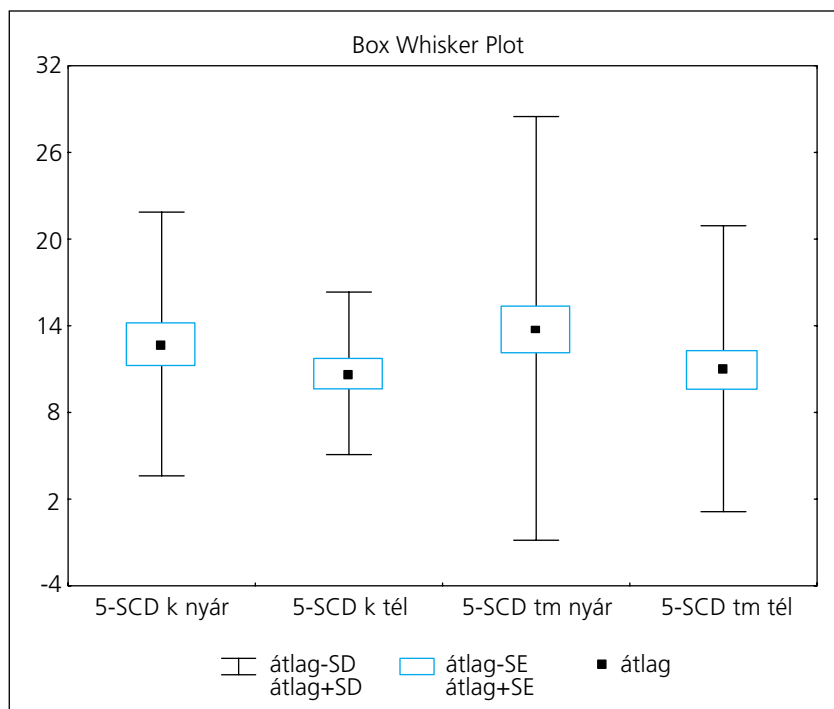
5. Adhéziós molekulák

a. Intercelluláris adhéziós molekula (ICAM-1)

Az adhéziós molekulák sejtmembránproteinek, melyek alapvetően fontosak a sejtek egymáshoz és a környezethez való kapcsolatában. Immunológiai, gyulladáshoz, sebgyógyulási és metasztázis-képző folyamatokban vesznek részt. ELISA tesztekkel határozhatók meg, specificitásuk alacsony, mivel sokféle folyamatban játszanak szerepet (153, 155).

Citokinekkel (interferon, interleukin) kezelt betegek sICAM-1-, sVCAM-1- monitorozása nem

7. ábra. 5-S-ciszteínildopa átlagértékei télen-nyáron a kontroll-csoportban (k) és tünetmentes (tm) betegeknél. 5-S-ciszteínildopánál a tünetmentes betegek nyári (75 beteg) és téli (49 eset) átlagkoncentrációi egymástól szignifikánsan eltértek. Nyáron a fals pozitív esetek aránya 30,6%-nak, míg télen 12,2%-nak bizonyult.



célszerű, mivel ezek képesek másodlagosan az adhéziós molekulák szintjét növelni (62).

A közlemények eredményei ellentmondások. Míg Altomonte stádiumtól függően a melanomás betegek 95%-ában észlelt emelkedett ICAM-1-koncentrációt, Viac nem talált különbséget a primer tumoros és disszeminált betegek szérumértékei között (5, 152).

b. Vaszkuláris sejtadhéziós molekula (VCAM-1)

Francke 97 IV-es stádiumú beteget elemző tanulmányában a sVCAM-1 független prognosztikus faktornak bizonyult, az emelkedett LDH-val és májmetasztázissal együtt. Az emelkedett sVCAM-1- és LDH-koncentráció alapján a betegek különböző rizikócsoportha sorolhatók (51). Schadendorf szerint 34 betegnél a sVCAM-1 korrelált a tumortömeggel és a melanoma progressziójával (128).

6. Szérum réz és cink, cöruoplazmin

Ros-Bullon 35 különböző stádiumú melanomás beteg és egészséges kontrollok szérum rézkoncentrációján alapvető különbségeket nem észlelt. Ezzel szemben a szérum cinkszint szignifikánsan emelkedett a melanomás betegeknél. A módszer szenzitivitását átlagosan 86,5%-nak találta (125). A szérum cöruoplazminszintet a fenti szerző 64 melanomás betegnél valamint egészségesekben értékelte. Az eredmények alapján a két csoport egymástól a szérum cöruoplazminszint alapján elkülöníthető (126).

7. Laktátdehidrogenáz (LDH)

A laktátdehidrogenáz a tejsavas erjedés befejező lépését (melynek során a tejsavból nikotinsavamin-adenin-dinukleotid jelenlétében piroszőlősav és redukált NAD képződik) katalizálja mindkét irányban. A különböző szövetekben öt izoenzim fordul elő, melyek négy alegységből épülnek fel (tetramerek). A tetramerek kétfajta monomer-kombinációból alakulnak ki. Az egyes szervekben a monomerek különböző arányban szintetizálódnak, ennek következtében alakul ki az egyes szervekre jellemző izoenzimspektrum. Az összes laktátdehidrogenáz-aktivitás 40–60%-át a májeredetű ötös izoenzim fejt ki, ugyancsak 40–60% származik a szívizom-eredetű egyes és kettős izoenzimből.

Az LDH-nak prognosztikus értéke van számos tumorban, így kissejtes és nem kissejtes tüdőrákban, limfómákban, prosztatákban (137). Az emelkedett szérum LDH és a melanoma kapcsolata már az 1950-es években felmerült Hill közleményében (69). Ezután számos szerző elemzte az LDH, mint melanomamarker értékét. 1974-ben nagy beteganyag értékelése kapcsán Einhorn úgy találta, hogy szinte minden, ultrahanggal igazolt metasztázisban a szérum LDH-koncentráció megemelkedett. Ezzel szemben a magasabb LDH-koncentrációjú összes betegnél csak az esetek 46%-ában sikerült igazolni hepatikus érintettséget. Ez felvette, hogy az LDH esetleg más szövetekből került a keringésbe. A másik

lehetőség, hogy az UH-vizsgálat esetenként fals negatív eredményt ad (46). 1983-ban Finck 121 klinikai II stádiumú melanomában szenvedő beteget követett sorozatos LDH-vizsgálatokkal. Az LDH a progressziót és a hepatikus érintettséget 72/95% szenzitivitással és 97/82% specificitással jelezte. Az esetek 12,5%-ában az emelkedett LDH-érték utalt először a metasztázisra (50). Magas LDH-koncentrációt észleltek melanomás betegekben multiplex nyirokcsomó-, valamint hilaris és mediasztinális érintettség esetében is (84). Egy olasz tanulmány I-es stádiumú melanomában 20% LDH-szenzitivitást említ. Az magas LDH-val rendelkező betegek túlélése szignifikánsan rövidebb volt (34). Ezt a tényt uveális melanomában, hepatikus metasztázis esetében is megerősítették (15). Előrehaladott regionális vagy távoli metasztázisnál a normálértéket meghaladó LDH független prognosztikus faktornak bizonyult (137). Egy norvég tanulmány, mely az LDH-t mint prognosztikus markert vizsgálta, megállapította, hogy agyi metasztázis esetében, melyet 450 U/l-nél nagyobb LDH-érték, leukocitózis és gyorsult sülyedés kísér, az átlagos túlélés várhatóan 3 hónapnál rövidebb. Az emelkedett LDH-szint korrelált a hepatikus érintettséggel, valamint a tumortömeggel (66). Manola vizsgálatai alapján metasztatikus melanomában az áttét helyének és a magas LDH-értékeknek van prognosztikus szerepe a túlélés szempontjából (95).

Az utóbbi években már összehasonlító vizsgálatok eredményeit is közölték. Buer szerint IV-es stádiumban a szérum S-100B-nek nincs további prognosztikus értéke az LDH-hoz képest (31). Francke 97 áttétes melanomás betegen az sVCAM-1-, sICAM-1- és LDH-szérumkoncentrációk értékelése kapcsán úgy találta, hogy az LDH és a sVCAM-1 dominálónan visceralis és tüdőmetasztázisban független prognosztikus faktor, és az emelkedett kezelés előtti szérumszint kedvezőtlen prognózist jelez (51). Krahn 89 különböző stádiumú melanomás beteg S-100B-, MIA-albumin- és LDH-értékeit összehasonlítva a szérum S-100B proteint találta a legmegfelelőbb markernek 86%-os szenzitivitása miatt, szemben a MIA 80% illetve az LDH 48%-os szenzitivitásával. Specificitás szempontjából azonban az LDH (98%) kissé megelőzte a 91%-os S-100B-t és a 62%-os MIA-t (92). Deichmann 71 disszeminált melanomás betegénél ugyancsak szérum S-100B-, MIA- és LDH-méréseket végzett és hasonló eredményeket kapott. Az LDH bizonyult a legspecifikusabbnak (92%), azonban S-100B-vel 91%, MIA-val 88% szenzitivitást észlelt. Mindhárom marker emelkedése a betegség progressziójára utalt, de a legjelentősebbnek az LDH-t tartja (39). Egy másik tanulmánya szerint az S100B- és LDH-koncentrációk korrelálnak egymással. A IV-es stádiumú betegeken az LDH képes megkülönböztetni a progrediáló betegeket a nem progrediálóktól, míg a terápia előtti S-100B-szint a leginformatívabb a betegség kimenetelét illetően (40). Hauschild 64 disszeminált melanomás beteg szérummintáinak analízise kapcsán az S-100B-t hasonlította össze a hagyományos, vérből meghatározott paraméte-

3. táblázat. S-100B protein, 5-S-CD és LDH átlag/medián szérumszintje 183 párhuzamosan vizsgált melanomás betegnél stádium III-IV-ben

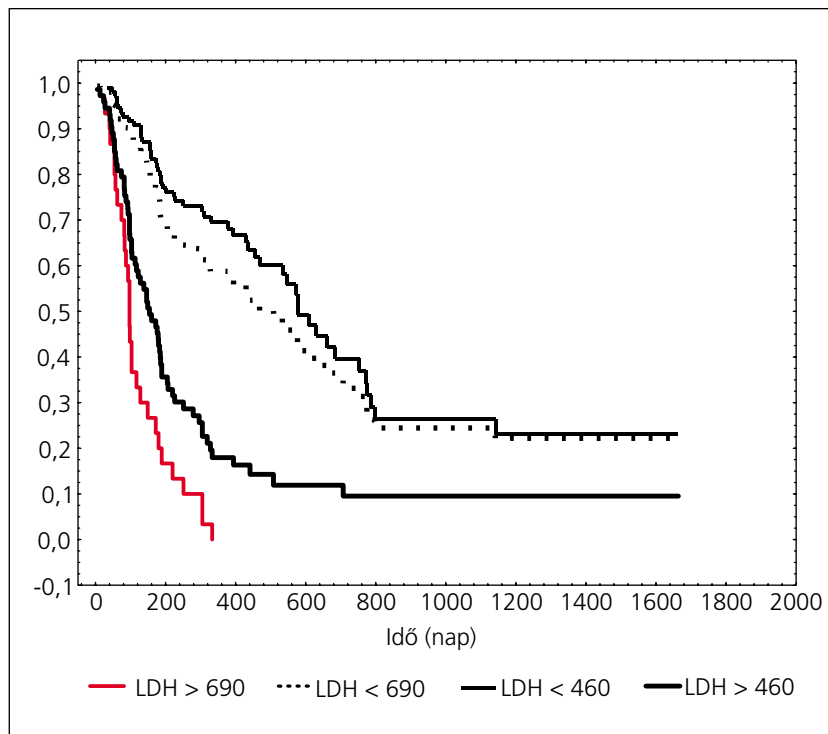
n=183	Stádium III			Stádium IV		
	átlag	medián	szórás	átlag	medián	szórás
LDH (U/l)	359*	349	220-655	612*	447	104-4585
S-100B (mg/l)	0,35**	0,07	0,01-5,00	1,41**	0,27	0,01-24,49
5-S-CD (nmol/l)	13,91	12,04	0,65-34,67	71,42	13	0,14-825,03

*, **: egymáshoz viszonyítva szignifikáns eltérés (p<0,05)

4. táblázat. S-100B protein, 5-S-CD és LDH specifikitása, szenzitivitása, pozitív és negatív prediktív értékei stádium III-IV-ben

	Szenzitivitás	Specifikitás	Poz. pred. érték	Neg. pred. érték
LDH				
Stádium III	18,5	87,5	83,3	24,1
Stádium IV	46	71,4	97	6,1
Stádium III-IV	41,6	80	95,9	10,9
S-100B				
Stádium III	29,6	87,5	88,8	24,1
Stádium IV	58,8	100	100	10,7
Stádium III-IV	54,1	93,3	98,9	15,3
5-S-CD				
Stádium III	33,3	37,5	64,2	14,2
Stádium IV	48,2	100	100	8,7
Stádium III-IV	45,8	66,6	93,9	9,9

8. ábra. Kaplan-Meier túlélési görbe emelkedett és normális LDH-koncentrációknál (cut-off: 460 U/l és 690 U/l). Mindkét cut-off érték esetén szignifikáns a különbség a túlélési görbék között Mante-Cox-tesztel.



rekkel. Multivariációs analízissel csak az S-100B bizonyult szignifikáns független prognosztikus faktornak (65).

Saját vizsgálataink során 183 melanomás betegnél (87 férfi, 96 nő, stádium III: 35, stádium IV: 148 eset, átlag/medián életkor: 61,5/59,8 év) párhuzamosan végeztünk S-100B protein-, 5-S-ciszteinildopa- és LDH-meghatározásokat (13). Az egyes stádiumokban mért átlag és medián értékeket, szórást a 3. táblázat tartalmazza. Szignifikáns volt a különbség a stádium III és IV-es markerkoncentrációk között S-100B proteinnél és LDH-nál. Az 5-S-CD-vizsgálatnál a p=0,077 volt. A specifikitás, szenzitivitás, pozitív és negatív prediktív érték vizsgálata során kapott eredményeket a 4. táblázat mutatja. A számítás a valódi pozitív és negatív, valamint fals pozitív és negatív esetszámok felhasználásával készült. Cox többváltozós regressziós analízissel a túlélés szempontjából független prognosztikus faktornak bizonyult az LDH szérumszintje és a tünetek lokalizációja abban a bontásban, mely megkülönböztette a szoliter áttétet a multiplextől.

A normális és emelkedett LDH-szérumszinttel rendelkező betegek túlélését kétféle cut-off értékkel is összehasonlítottuk (8. ábra). Először a normálérték felső határát (460 U/l) választottuk cut-off értéknek. Cut-off alatti értéket észleltünk 110 betegnél (stádium III: 29, stádium IV: 81). Az átlag/medián túlélést 24,30/19,0 hónapnak számítottuk. Cut-off feletti LDH esetben (73 eset, stádium III: 6, stádium IV: 67) 63 (86,3%) beteg exitált, hárman bizonyultak tünetmentesnek. Az átlag/medián túlélés 10,42/5,1 hónap. Elemeztük az adatokat 690 U/l cut-off értéknel is. Ez az az eset ugyanis, amikor mindhárom markerrel a cut-off érték az 5-S-CD és az S-100B protein összehasonlító vizsgálatához hasonlóan a normális koncentráció felső határának megfelelője volt. Ebben az esetben cut-off alatti értéket észleltünk 153 betegnél (stádium III: 34, stádium IV: 119). Elhaláloztak 86-an (56,2%) és a vizsgálat végén tünetmentesek voltak 67-en. Az átlag/medián túlélés 13,5/10,2 hónapnak bizonyult. Cut-off feletti LDH esetben (30 eset, stádium III: 1, stádium IV: 29) valamennyi beteg exitált. Náluk már a vizsgálat kezdetekor multiplex egy- vagy többszervi áttétet diagnosztizáltunk. Az átlag/medián túlélés 4,1/2,3 hónap volt. Szignifikáns különbséget észleltünk a túlélés elemzése kapcsán mindkét cut-off érték esetében a „normális” és „emelkedett” marker-szintű betegek között, valamint az LDH > 460 és LDH < 690 túlélési görbék között is. A Spearman rank korrelációs vizsgálat kapcsán a legerősebb korrelációt észleltük az LDH és az S-100B protein (r=0,4586) között, ezt követte az S-100B és az 5-S-CD (r=0,3670), valamint a LDH és az 5-S-CD (r=0,3433) között észlelt korreláció.

Disszeminált betegeknél az S-100B protein bizonyult a legspecifikusabbnak és leginkább szenzitívnek, azonban a három marker közül az LDH-t találtunk független rizikótényezőnek és a legjobb prognosztikus markernek, mivel az emelkedett szérumszintje a legrövidebb túlélés-

sel járt. LDH esetében 460 U/l-t, azaz a normálérték felső határát elegendő a cut-off értékként választani (13, 14).

A fenti irodalmi áttekintés és saját tapasztalataink alapján valamennyi jelenleg tanulmányozott, tumormarkernek minősíthető anyag előrehaladottabb stádiumban magasabb koncentrációban mérhető. Legigéretezesebbnek mind prognosztikus szempontból, mind a terápiás válasz tekintetében az S-100B protein, a MIA, a tirozináz RT-PCR, az 5-S-CD illetve IV-es stádiumban az LDH bizonyult.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozunk Gaudi István úrnak magas színvonalú közreműködéséért a statisztikai vizsgálatok elvégzésében. Továbbá köszönjük a bőrgyógyászati osztály adminisztrátorainak és aszisztenseinek az adatgyűjtésben nyújtott segítségét, a nővéreknek a nagyszámú vérvétel elvégzését, és a Byk-Gulden és Jahnsen-Cilag cégnek munkánk támogatását.

Irodalom

- Acland K, Evans V, Abraha H, et al. Serum S-100B concentrations are not useful in predicting micrometastatic disease in cutaneous malignant melanoma. *Br J Dermatol* 146:832-835, 2002
- Agrup G, Falk K, Fyge K, et al. DOPA and 5-S-CD in the urine of healthy humans. *Acta Dermatovenerol (Stockholm)* 53:453-457, 1973
- Agrup G, Falck B, Jacobsson S, et al. 5-S-cysteinyldopa in melanomas of Caucasians. *Acta Dermatovenerol (Stockholm)* 54:21-24, 1974
- Agrup G, Agrup P, Andersson T, et al. 5 years experience of 5-S-cysteinyldopa in melanoma diagnosis. *Acta Derm Venerol (Stockh)* 59:381-388, 1979
- Altomonte M, Colizzi F, Esposito G, Maio M. Circulating intercellular adhesion molecule-1 as marker of disease progression in cutaneous melanoma. *N Eng J Med* 327:959, 1992
- Bánfalvi T, Malmos E. A napfény és a rosszindulatú bőrdaganatok. *Orvosképzés* 68:72-75, 1993
- Bánfalvi T, Oberna F, Kisköszegi A. A klinikai diagnózis megbízhatósága melanoma malignumban. *Bőrgyógy Venerol Szle* 73:3-7, 1997
- Bánfalvi T, Gilde K, Boldizsár M, et al. Serum levels of S-100 protein and 5-S-cysteinyldopa as markers of melanoma progression. *Pathol Oncol Res* 5:218-223, 1999
- Bánfalvi T, Gilde K, Bezzegh A, et al. Clinical significance of S-100 protein assay in malignant melanoma. *J Tumor Marker Oncol* 14:5-12, 1999
- Bánfalvi T, Gilde K, Boldizsár M, et al. Serum concentration of 5-S-cysteinyldopa in patients with melanoma. *Eur J Clin Invest* 30:900-904, 2000
- Bánfalvi T, Gilde K, Boldizsár M, et al. Use of serum S-100B protein and 5-S-cysteinyldopa to monitor the clinical course of patients with malignant melanoma. *Eur J Cancer* 39:164-169, 2003
- Bánfalvi T, Udvarhelyi N, Orosz Zs, et al. Heterogenous S-100B protein expression patterns in malignant melanoma and association to the serum protein levels. *Oncology (Basel) elfogadva*
- Bánfalvi T, Boldizsár M, Gergye M, et al. Comparison of prognostic significance of serum 5-S-cysteinyldopa, LDH and S-100B protein in Stage III-IV malignant melanoma. *Pathol Oncol Res* 8:183-186, 2002
- Bánfalvi T, Gilde K, Édesné Boldizsár M, et al. Clinical significance of 5-S-CD monitoring in patients with malignant melanoma. *Neoplasma* 49:121-124, 2002
- Bedikian AZ, Legha SS, Mavligit G. Treatment of uveal melanoma metastatic to the liver. *Cancer* 76:1665-1670, 1995
- Benathan M. Modulation of 5-S-cysteinyldopa formation by tyrosinase activity and intracellular thiols in human melanoma cells. *Melanoma Res* 6:183-189, 1996
- Benathan M, Labidi F. Cysteine dependent 5-S-CD formation and its regulation by glutathion in normal and epidermal melanocytes. *Arch Dermatol Res* 288:697-702, 1996
- Berking C, Schlupen EM, Schrader A, et al. Tumor markers in peripheral blood of patients with malignant melanoma: multimarker RT-PCR versus a luminoimmunometric assay for S-100. *Arch Dermatol Res* 291:479-484, 1999
- Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody melan-A with S-100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathol* 32:139-146, 1998
- Bogdahn U, Apfel R, Hahn M, et al. Autocrine tumor cell growth inhibiting activities from human malignant melanoma. *Cancer Res* 49:5358-5363, 1989
- Bonfrer JMG, Korse CM, Nieweg OE, Rankin EM. The luminescens immunoassay S-100: a sensitive test to measure circulating S-100B: its prognostic value in malignant melanoma. *Br J Cancer* 77:2210-2214, 1998
- Bonfrer, JMG, Korse CM. Monitoring malignant melanoma with the S-100B tumour marker. *Recent Results Cancer Res* 158:149-157, 2001
- Bosserhoff A, Hein R, Bogdahn U, Buettner R. Structure and promoter analysis of the gene encoding the human melanoma inhibiting protein MIA. *J Biol Chem* 271:490-495, 1996
- Bosserhoff A, Kaufmann M, Kaluza B, et al. Melanoma inhibiting activity, a novel serum marker for progression of malignant melanoma. *Cancer Res* 57:3149-3153, 1997
- Bosserhoff A, Dreau D, Hein R, et al. Melanoma inhibitory activity (MIA) a serological marker of malignant melanoma. *Recent Results Cancer Res* 158:158-168, 2001
- Bosserhoff A, Echtenacher B, Hein R, Buettner R. Functional role of melanoma inhibitory activity in regulation of invasion and metastasis of malignant melanoma cells in vivo. *Melanoma Res* 4:417-421, 2001
- Boyano MD, Garcia-Vazquez MD, Lopez-Michelena T, et al. Soluble interleukin-2 receptor, intracellular adhesion molecule and interleukin-10 serum levels in patients with melanoma. *Br J Cancer* 83:847-852, 2000
- Böni R, Burg G, Doguoglu A, et al. Immunohistochemical localization of the Ca binding S-100 proteins in normal human skin and melanocytic lesions. *Br J Dermatol* 137:39-43, 1997
- Brochez L, Naeyaert JM. Serological markers for melanoma. *Br J Dermatol* 143:256-268, 2000
- Brossart P, Keilholz U, Willhauck M, et al. Hematogenous spread of malignant melanoma cells in different stages of disease. *J Invest Dermatol* 101:887-889, 1993
- Buer J, Probst M, Franzke A. Elevated serum levels of S-100B and survival in metastatic malignant melanoma. *Br J Cancer* 75:1373-1376, 1997
- Burton CR. Malignant melanoma in the year 2000. *CA Cancer J Clin* 50:209-213, 2000
- Buzaid AC, Sandler AB, Hayden CL, et al. Correlation between lipid-associated sialic acid and tumor burden in melanoma. *Int J Biol Marker* 4:247-250, 1994
- Campora E, Repetto I, Giuntini P. LDH in the follow up of stage I malignant melanoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 2:277-288, 1988
- Cho KH, Hashimoto K, Taniguchi J, et al. Immunohistochemical study of melanocytic nevus and malignant melanoma with monoclonal antibodies against S-100 subunits. *Cancer* 66:765-771, 1990
- Cochran A, Wen D, Herschman H, Gaynor R. Detection of S 100 protein as an aid to the identification of melanocytic tumours. *Int J Cancer* 30:295-297, 1982
- Cooper EH. Neuron-specific enolase. *Int J Biol Markers* 4:205-210, 1994
- Curry BJ, Farrelly M, Hersey P. Evaluation of S-100B assay for the prediction of recurrence and prognosis in patients with AJCC stage I-III melanoma. *Melanoma Res* 9:557-567, 1999

39. Deichmann M, Benner A, Bock M, et al. S-100beta, MIA, LDH discriminate progressive from nonprogressive American Joint Committee on Cancer stage IV melanoma. *J Clin Oncol* 17:1891-1896, 1999
40. Deichmann M, Benner A, Kuner N, et al. Are responses to therapy of metastasized melanoma reflected by decreasing serum values of S-100 beta or MIA? *Melanoma Res* 11:291-296, 2001
41. Diepgen TL, Mahler V. The epidemiology of skin cancer. *Br J Dermatol* 146(Suppl 61):1-6, 2002
42. Djukanovic D, Hofmann U, Sucker A, et al. Comparison of S-100 protein and MIA protein as serum markers in malignant melanoma. *Anticancer Res* 20:2203-2207, 2000
43. Döme B, Somlai B, Tamásy A, et al. A cutan melanoma prognóza és inváziós marker expressziója. Metasztázis asszociált gének. *Orv Hetilap* 1140:235-240, 1999
44. Dummer W, Becker JC, Schwaaf A, et al. Elevated serum levels of interleukin 10 in patients with metastatic malignant melanoma. *Melanoma Res* 5:67-68, 1995
45. Duray PH, Palazzo J, Gown AM, Ohuchi N. Melanoma cell heterogeneity. A study of two monoclonal antibody compared with S-100 protein in paraffin sections. *Cancer* 61:2460-2468, 1988
46. Einhorn LH, Burgess MA, Vallejos C. Prognostic correlations and response to treatment in advanced melanoma. *Cancer Res* 34:1997-2004, 1974
47. Eng W, Tschen JA. Comparison of S-100 versus hematoxylin and eosin staining in evaluating dermal invasion and peripheral margins by desmoplastic malignant melanoma. *Am J Dermatopathol* 22:26-29, 2000
48. Eton O, Legha S, Moon T, et al. Prognostic factors for survival of patients treated systemically for disseminated melanoma. *J Clin Oncol* 16:1103-1111, 1998
49. Fagnart O, Sindic Ch, Laterre Ch. Particle counting immunoassay of S-100 protein in serum. Possible relevance in tumors and ischemic disorders of the central nervous system. *Clin Chem* 34:1387-1391, 1988
50. Finck SJ, Giuliano AE, Morton DL. LDH and melanoma. *Cancer* 151:840-843, 1983
51. Franzke A, Probst-Kepper M, Buer J, et al. Elevated pretreatment serum levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 and lactate dehydrogenase as predictors of survival in cutaneous metastatic malignant melanoma. *Br J Cancer* 78:40-45, 1998
52. Gaynor R, Irie R, Morton D, Herschmann H. S-100 protein is present in cultured human malignant melanomas. *Nature* 286:400-401, 1980
53. Ghanem G, Lienard D, Hanson P, et al. Increased serum alpha melanocyte stimulating hormone in human malignant melanoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 22:535-536, 1986
54. Ghanem G, Loir B, Morandini R, et al. On the release and half life of serum S-100B protein in the peripheral blood of melanoma patients. *Int J Cancer* 94: 586-590, 2001
55. Gilde K, Terstyánszki E, Somlai B, Pulay T. Szérum lipidhez kötött szilársav mérések melanómás gondozott betegeken. *Bőrgyógy Venerol Szle* 69:4:419-423,
56. Guo HB, Stoffel-Wagner B, Bierwirth T, et al. Clinical significance of serum S-100 in metastatic malignant melanoma. *Eur J Cancer* 31A:1898-1902, 1995
57. Hagen EC, Vennegoor C, Schlingemann RO, et al. Correlation of histopathological characteristics with staining patterns in human melanoma assessed by monoclonal antibodies reactive on paraffin sections. *Histopathology* 10:689-7000, 1986
58. Hansson C, Edholm L, Agrup G, et al. The quantitative determination of 5-S-cysteinyl-dopa and dopa in normal serum and in urine from patients with malignant melanoma by means of high performance liquid chromatography. *Clin Chim Acta* 88:419-421, 1978
59. Hanson LO, von Schoultz E, Djureen E, et al. Prognostic value of serum S-100 protein beta in malignant melanoma. *Anticancer Res* 17:3071-3074, 1997
60. Hasegawa M, Takata M, Hatta N, et al. Simultaneous measurement of serum 5-S-cysteinyl-dopa, circulating intercellular adhesion molecule-1 and soluble interleukin-2 receptor levels in Japanese patients with malignant melanoma. *Melanoma Res* 7:243-251, 1997
61. Hau P, Apfel R, Wiese P, et al. Melanoma inhibiting activity (MIA/CD-RAP) is expressed in a variety of malignant tumors of mainly neuroectodermal origin. *Anticancer Res* 22:577-583, 2002
62. Hauschild A. The use of serological tumor markers for malignant melanoma. *Onkologie* 20:462-465, 1997
63. Hauschild A, Engel G, Brenner W, et al. S-100B protein detection in serum is a significant prognostic factor in metastatic melanoma. *Oncology* 56:338-344, 1999
64. Hauschild A, Michaelsen J, Brenner W, et al. Predictive value of serum S-100B for monitoring patients with metastatic melanoma during chemotherapy and/or immunotherapy. *Br J Dermatol* 140:1065-1071, 1999
65. Hauschild A, Michaelsen J, Brenner W, et al. Prognostic significance of serum S-100 detection compared to routine blood parameters in advanced metastatic melanoma patients. *Melanoma Res* 9:155-161, 1999
66. Heimdal K, Hannisdal E, Gunderson S. Metastatic malignant melanoma. *Eur J Cancer* 25:1219-1223, 1989
67. Heizmann CW, Fritz G, Schafer BW. S-100 proteins: structure, functions and pathology. *Front Biosci* 1:1356-1368, 2002
68. Henze G, Dummer R, Joller-Jemelka HI, et al. Serum S-100 a marker for disease monitoring in metastatic melanoma. *Dermatology* 194:208-212, 1997
69. Hill BR, Levi C. Elevation of serum component in neoplastic disease. *Cancer* 14:513-515, 1954
70. Hirai S, Kageshita T, Kimura T, et al. Serum levels of s-ICAM, and 5-S-cysteinyl-dopa as markers of melanoma progression. *Melanoma Res* 7:58-62, 1997
71. Horikoshi T, Ito S, Wakamatsu K, et al. Evaluation of melanin-related metabolites as markers of melanoma progression. *Cancer* 73:629-636, 1994
72. Horikoshi T, Ito S. Serum 5-S-CD as a marker of melanoma progression. *J Dermatol* 19:809-813, 1992
73. Hornef S, Lux J, Ressler G. Neuronen spezifische Enolase: ein geeigneter Tumormarker des Malignen Melanomes. *Hautarzt* 43:77-78, 1992
74. Hu F, Woodward Wr, Peterson L. Plasma 5-S-CD correlates with tumour size in melanoma-bearing mice. *J Invest Dermatol* 90:149-151, 1988
75. Hunzelmann N, Kurschat P, Hani N, et al. Applicability of reference values for the determination of serum S-100B protein as a marker of malignant melanoma in children. *Br J Dermatol* 146:536-539, 2002
76. Inoue S, Hasegawa K, Ito S, et al. Antimelanoma effect of 4-S-cysteaminylcatechol, an activated form of 4-S-cysteaminylphenol. *Cancer Res* 55:2603-2607, 1995
77. Isobe T, Okuyama T. The amino acid sequence of S-100 protein and its relation to the calcium binding proteins. *Eur J Biochem* 89:379-388, 1978
78. Isobe T, Tsugita A, Okuyama T. The amino acid sequence and the subunit structure of bovine brain S-100 protein (PAP I-b). *J Neurochem* 30:921-923, 1978
79. Ito S, Kato T, Maruta K, Fujita K. Determination of DOPA, dopamine and 5-S-CD in plasma, urine and tissue samples by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr* 311:154-159, 1984
80. Ito S, Wakamatsu K, Inoue S, Fujita K. Correlation between urinary melanin related metabolites and tumour weight in melanoma-bearing mice. *Acta Derm Venereol* 69:380-384, 1989
81. Ito S. Melanin related metabolites as markers of melanoma: a review. *J Dermatol* 19:802-805, 1992
82. Jury CS, McAlister EJ, MacKie RM. Rising levels of serum S100 protein precede other evidence of disease progression in patients with malignant melanoma. *Br J Dermatol* 143:269-274, 2000
83. Kagedal B, Petersson A. Determination of urinary 5-S-CD by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 272:287-297, 1983
84. Khansur T, Sandders J, Das SK. Evaluation of staging workup in malignant melanoma. *Arch Surg* 24:847-849, 1989
85. Karnell R, Kagedal B, Lindholm C, et al. The value of cysteinyl-dopa in the follow up of disseminated malignant melanoma. *Melanoma Res* 10:363-369, 2000

86. Karnell R, von Schoultz E, Hansson LO, et al. S 100B protein, 5-S-CD and 6-H-5-MI-2-carboxylic acid as biochemical markers for survival, prognosis in patients with malignant melanoma. *Melanoma Res* 7:393-399, 1997
87. Kaskel P, Berking C, Sander S. S-100 proteinB in peripheral blood: a marker for melanoma metastases: a prospective 2-center study of 570 patients with malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 41:962-969, 1999
88. Keilholz U, Martus P, Punt CJ, et al. Prognostic factors for survival with long term remission in patients with advanced melanoma receiving cytokine-based treatments. *Eur J Cancer* 38:1501-1511, 2002
89. Kelley MC, Gupta RK, Hsuec EC, et al. Tumor associated TA90 immun complex assay predicts recurrence and survival after surgical treatment of stage I-II melanoma. *J Clin Oncol* 19:1176-1182, 2001
90. Kernohan NM, Rankin R. S-100 protein: a prognostic indicator in cutaneous malignant melanoma? *Histopathology* 11:1285-1293, 1987
91. Koehler M, Bosserhoff A, von Beust G, et al. Assignment of the human melanoma inhibitory activity gene (MIA) to 19q13.32-q13.33 by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Genomics* 35:265-267, 1996
92. Krahn G, Kaskel P, Sander S, et al. S100 beta is a more reliable tumor marker in peripheral blood of patients with newly ocured melanoma metastases comparing to MIA, albumin and lactate-dehydrogenase. *Anticancer Res* 21:1311-1316, 2001
93. Liu J, Jimbow K. Development and characterization of a murine monoclonal antibody against pheomelanin and its precursor 5-S-cysteinyldopa. *Melanoma Res* 3:463-469, 1993
94. Lorenz J, Dippold W. Neuron specific enolase: a marker for malignant melanoma. *J Natl Cancer Inst* 881:1754-1755, 1989
95. Manola J, Atkins M, Ibrahim J, Kirkwood J: Prognostic factors in metastatic melanoma: a pooled analysis of Eastern Cooperative Oncology Group trials. *J Clin Oncol* 18:3782-3793, 2000
96. Marks R. The changing incidence and mortality of melanoma in Australia. *Recent Results Cancer Res* 160:113-121, 2002
97. Martenson ED, Hansson LO, Nilsson B. Serum S 100b protein as prognostic marker in malignant cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 19:824-831, 2001
98. Meral R, Duranyildiz D, Tas F, et al. Prognostic significance of melanoma inhibiting activity levels in malignant melanoma. *Melanoma Res* 11:627-632, 2001
99. Meyerhoffer S, Lindberg Z, Hager A, et al. Urinary excretion of 5-S-cysteinyldopa and 6-hydroxy-5-methoxyindole-2-carboxylic acid in children. *Acta Derm Venereol* 78:31-35, 1998
100. Miliotes G, Lyman GH, Cruse CW, et al. Evaluation of new putative tumour markers for melanoma. *Ann Surg Oncol* 3:558-563, 1996
101. Mohammed MQ, Abraha HD, Sherwood RA, et al. Serum S-100beta protein as a marker of disease activity in patients with malignant melanoma. *Med Oncol* 18:109-120, 2001
102. Mojamdar M, Ichihashi M, Mishima Y. Gamma glutamyl transpeptidase, tyrosinase and 5-S-CD production in melanoma cells. *J Invest Dermatol* 81:119-121, 1983
103. Molina R, Navarro J, Fiella X, et al. S-100 protein serum levels in patients with benign and malignant diseases: fals positive results related to liver and renal function. *Tumour Biol* 23:39-44, 2002
104. Moore BW, McGregor T. Chromatographic and electrophoretic fractionation of soluble proteins of brain and liver. *J Biol Chem* 240:1647-1653, 1965
105. Mouawad R, Benhammouda A, Rixe O, et al. Endogenous interleukin 6 levels in patients with metastatic malignant melanoma: correlation with tumour burden. *Clin Cancer Res* 2:1405-1409, 1996
106. Mühlbauer M, Langenbach N, Stolz W, et al. Detection of melanoma cells in the blood of melanoma patients by melanoma-inhibiting activity (MIA) reverse transcription-PCR. *Clin Cancer Res* 5:1099-1105, 1999
107. Nakajima T, Watanabe S, Sato Y, et al. Immunohistochemical demonstration of S-100 protein in malignant melanoma and pigmented nevus and its diagnostic application. *Cancer* 50:912-918, 1982
108. Nakajima T, Watanabe S, Sato Y. An immunoperoxidase study of S-100 protein distribution in normal and neoplastic tissues. *Am J Surg Pathol* 6:715-727, 1982
109. Nemunaitis J, Fong T, Shabe P, et al. Comparison of serum interleukin 10 (IL-10) levels between normal volunteers and patients with advanced melanoma. *Cancer Invest* 19:239-247, 2001
110. Nimmo JE, Grawkrodger DJ, O'Docherty CS, et al. Plasma 5-S-CD as an index of melanogenesis. *Br J Dermatol* 118:487-495, 1988
111. Orchard GE. Comparison of immunohistochemical labelling of melanocyte differentiation antibodies melan-A, tyrosinase and HMB 45 with NKIC3 and S-100 protein in evaluation of benign naevi and malignant melanoma. *Histochem J* 32:475-481, 2000
112. Orosz Zs. Melan-A/Mart 1 expression in various melanocytic lesions and in non-melanocytic soft tissue tumours. *Histopathology* 6:517-525, 1999
113. Ottó Sz, Kásler M. Rákmortalitás és -incidencia hazánkban, az európai adatok tükrében. *Magyar Onkológia* 46:111-117, 2002
114. Peterson L, Woodward W, Fletcher W, et al. Plasma 5-S-cysteinyldopa differentiates patients with primary and metastatic melanoma from patients with dysplastic nevus syndrome and normal subjects. *J Am Acad Dermatol* 19:509-515, 1988
115. Prinz RA, Marangos PJ. Use of neuron specific enolase as serum marker for neuroendocrin neoplasms. *Surgery* 97:887-889, 1982
116. Proebstle TM, Jiang W, Hogel J, et al. Correlation of positive RT-PCR for tyrosinase in peripheral blood of malignant melanoma patients with clinical stage, survival, and other risk factors. *Br J Cancer* 82:118-123, 2000
117. Prota G. Regulatory mechanism in melanogenesis. *J Invest Dermatol* 100:156S-161S, 1993
118. Quereux G, Denis M, Khammari A, et al. Prognostic value of tyrosinase reverse transcriptase polymerase chain reaction in metastatic melanoma. *Dermatology* 203:221-225, 2001
119. Reinhold U, Ludtke-Handjery HC, Schnautz S, et al. The analysis of tyrosinase specific mRNA in blood samples of melanoma patients by RT-PCR is not a useful test for metastatic tumor progression. *J Invest Dermatol* 108:166-169, 1997
120. Reintgen DS, Cruse CW, Wells KE, et al. The evaluation of putative tumor markers for malignant melanoma. *Ann Plast Surg* 28:55-59, 1992
121. Rigel DS, Carucci JA. Malignant melanoma. Prevention, early detection and treatment in the 21 century. *CA Cancer J Clin* 50:215-223, 2000
122. Riley PA. Melanogenesis: realistic target for anti-melanoma therapy. *Eur J Cancer* 27:1172-1177, 1991
123. Rorsman H, Rosengren AM, Rosengren E. A sensitive method for determination of 5-S-CD. *Acta Dermatovener (Stockholm)* 53: 248-251, 1973
124. Ros-Bullon MR, Sanchez-Pedreno P, Martinez-Liarte JH. Serum sialic acid in malignant melanoma patients: an ROC curve analysis. *Anticancer Res* 19:3619-3622, 1999
125. Ros-BullonMR, Sanchez Pedreno P, Martinez Liarte JH. Serum zinc levels are increased in melanoma patients. *Melanoma Res* 8:273-277, 1998
126. Ros-BullonMR, Sanchez Pedreno P, Martinez Liarte JH. Serum ceruloplasmin in melanoma patients. *Anticancer Res* 21:629-932, 2001
127. Sasaki Y, Shimizu H, Naka W, et al. Evaluation of the clinical usefulness of measuring urinary excretion of 5-S-cysteinyldopa in melanoma: ten years experience of 50 patients. *Acta Derm Venerol* 77:379-381, 1998
128. Schadendorf D, Diehl S, Zuberbier T, et al. Quantitative detection of soluble adhesion molecules in sera of melanoma patients correlates with clinical stage. *Dermatology* 192:89-93, 1996
129. Schafer BW, Wicki R, Engelkamp D, et al. Isolation of a YAC clone covering a cluster of nine S-100 genes on a human chromosome 1q21 rationale for a new nomen-

- clature of the S-100 calcium-binding protein family. *Genomics* 25:638-643, 1995
130. Schafer BW, Heizmann CW. The S-100 family of EF-hand calcium binding proteins: functions and pathology. *TIBS* 21:134-140, 1996
 131. Scheibenbogen C, Möhler T, Haefele J, et al. Serum interleukin 8 is elevated in patients with metastatic malignant melanoma. *Melanoma Res* 5:179-181, 1995
 132. Schlagenhauff B, Schitteck B, Ellwanger U. Significance of serum protein S-100 levels in screening for metastasis: does protein S-100 enable early detection of melanoma recurrence? *Melanoma Res* 10:451-459, 2000
 133. Schmitz C, Brenner W, Henze E, et al. Comparative study on the clinical use of protein S 100B and MIA in melanoma patients. *Anticancer Res* 20:5059-5063, 2000
 134. Schoultz E, Hansson LO, Djureen E, et al. Prognostic value of serum analyses of S 100 B protein in malignant melanoma. *Melanoma Res* 6:133-137, 1996
 135. Schultz ES, Diepgen TL, von den Dresch P. Clinical prognostic relevance of serum S-100b protein in malignant melanoma. *Br J Dermatol* 38:426-430, 1998
 136. Seregni E, Massaron S, Martinetti A. S-100 protein serum levels in cutaneous malignant melanoma. *Oncol Rep* 5:601-604, 1998
 137. Sirott MN, Bajorin DF, Wong GYN. Prognostic factors in patients with metastatic malignant melanoma. *Cancer* 72:3091-3098, 1993
 138. Smith B, Selby P, Southgate J, et al. Detection of melanoma cells in peripheral blood by means of reverse transcriptase and polymerase chain reaction. *Lancet* 338:1227-1229, 1991
 139. Sonneson B, Eide S, Ringborg U, et al. Tyrosinase activity in the serum of patients with malignant melanoma. *Melanoma Res* 5:113-116, 1995
 140. Stahlecker J, Gauger A, Boss A, et al. MIA as a reliable tumor marker in the serum of patients with malignant melanoma. *Anticancer Res* 20:5041-5044, 2000
 141. Steiner U. Melanocytes, moles and melanoma - a study on UV effects. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockholm)* 168:1-31, 1991
 142. Steiner U, Rosdahl I, Augustson A, Kagedal B. Urinary excretion of 5-S-CD in relation to skin type, UVB induced erythema and melanocyt proliferation in human skin. *J Invest Dermatol* 91:506-510, 1988
 143. Suenaga Y, Katabuchi H, Okamura H, et al. Increased serum levels of 5-S-CD and intracellular adhesion molecule-1 in patients with uterine amelanotic metastasis from primary vaginal malignant melanoma. *Gynecol Oncol* 72:107-110, 1999
 144. Takashi H, Horikoshi T, Wakamatsu K, et al. Alteration of melanoma melanogenesis by phenotypic modifiers. *J Dermatol* 19:814-817, 1992
 145. Tegner E, Rorsman H, Rosengren E. 5-S-cysteinyl-dopa and pigment response to UVA light. *Acta Derm Venereol* 63:21-25, 1983
 146. Tegner E, Agrup G, Rosengren E. The effect of UVB light on serum concentrations of 5-S-cysteinyl-dopa. *Acta Derm Venereol* 63:149-152, 1983
 147. Tímár J, Rásó E, Döme B, et al. Expression and function of the AMF receptor by human melanoma in experimental and clinical systems. *Clin Exp Metastasis* 19:225-232, 2002
 148. Tímár J, Csuka O, Orosz Zs, et al. Molecular pathology of tumor metastasis. *Pathol Oncol Res* 8:204-219, 2002
 149. Tofani A, Cioffi P, Sciuto R, et al. S-100 and NSE as serum markers in melanoma. *Acta Oncol* 36:761-767, 1997
 150. Tronnier M, Missler U, Grotrian K, Kock N. Does ultraviolet radiation exposure influence S-100B protein plasma levels? *Br J Dermatol* 138:1098-1102, 1998
 151. Tsao H, Nadiminti U, Sober A, Bigby M. A meta-analysis of RT-PCR for tyrosinase mRNA as a marker for circulating tumor cells in cutaneous melanoma. *Arch Dermatol* 137:325-330, 2001
 152. Viac J, Misery L, Schmitt D, Claudy A. Follow up of circulating ICAM-1 in malignant melanoma. *Br J Dermatol* 134:604-605, 1996
 153. Vuoristo MS, Laine S, Huhtala H, et al. Serum adhesion molecules and interleukin-2 receptor as marker of tumor load and prognosis in advanced cutaneous melanoma. *Eur J Cancer* 37:1629-1634, 2001
 154. Vuoristo MS, Kellokumpu-Lehtinen P, Parvinen LM, et al. Serum matrix metalloproteinase-2 as a prognostic marker in advanced cutaneous melanoma. *Acta Oncol* 39:877-879, 2000
 155. Vuoristo MS, Kellokumpu-Lehtinen P, Laine S, et al. The value of serum S-100B and interleukins as tumor markers in advanced melanoma. *Melanoma Res* 10:237-241, 2000
 156. Wakamatsu K, Ito S. Seasonal variations in serum concentration of 5-S-cysteinyl-dopa and 6-hydroxy-5-methoxyindole-2-carboxyl acid in healthy Japanese. *Pigment Cell Res* 8:132-134, 1995
 157. Wakamatsu K, Ito S, Horikoshi T. Normal values of urinary excretion and serum concentration of 5-S-CD and 6-H-5MI-2-carboxyl acid, biochemical markers of melanoma progression. *Melanoma Res* 1:141-147, 1991
 158. Westerhof W, Pavel S, Kammeyer A, et al. Melanin related metabolites as markers of skin pigmentary system. *J Invest Dermatol* 89:78-81, 1987
 159. Wibe E, Hannisdale E, Paus E, Aamdal S. Neuron specific enolase as prognostic factor in metastatic malignant melanoma. *Eur J Cancer* 28:1692-1695
 160. Winzler RJ. Determinations of serum glycoproteins methods. *Biochem Annal* 2:279-311, 1958
 161. Wimmer I, Meyer CJ, Seifert B, et al. Prognostic value of serum 5-S-cysteinyl-dopa for monitoring human metastatic melanoma during immunochemotherapy. *Cancer Res* 57:5073-5076, 1997
 162. Wollina U, Hipler UC, Knoll B, et al. Serum matrix metalloproteinase-2 in patients with malignant melanoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 127:631-635, 2001
 163. Wollina U, Karte K, Hipler U. Serum protein S-100B in patients with malignant melanoma detected by immunoluminometric assay. *J Cancer Res Clin Oncol* 126:107-100, 2000