

Poziomy kinazy pirogronianowej guza (Tumor M2-PK) w kale: czułość, swoistość i korelacja ze stopniem zaawansowania rozwoju guza w raku jelita grubego

P.D. Hardt¹, P. Schlierbach², M. Toepler³, R.G. Bretzel¹, H.U. Kloer¹

¹Trzeci Wydział Lekarski i Poliklinika, Szpital Uniwersytecki Giessen i Marburg w Giessen, Niemcy,

²Klinika Asklepios, Lich, Niemcy, ³Klinika Wetzlar-Braunfels, Wetzlar, Niemcy



Wstęp

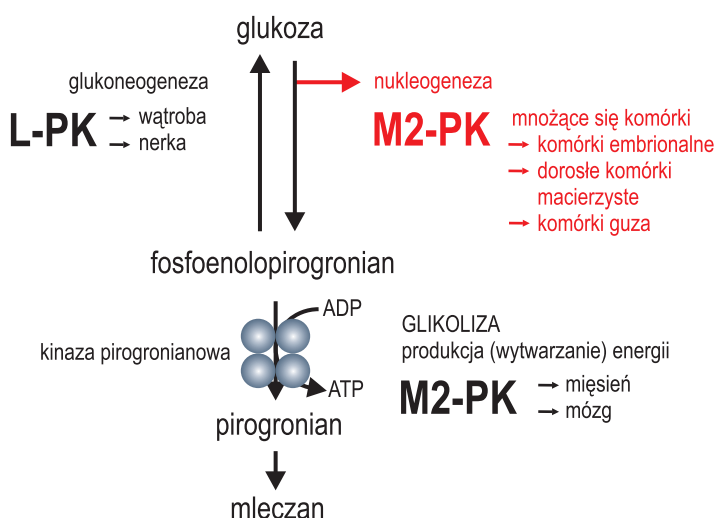
Według brytyjskiej organizacji Cancer Research UK, rak jelita grubego (CRC) jest trzecim co do częstotliwości występowania rodzajem raka w Wielkiej Brytanii. W roku 2001 CRC zdiagnozowano u 34.539 osób, a 16.220 pacjentów zmarło na CRC w roku 2002 [1].

Rozwój CRC przebiega w okresie kilku lat. Wczesne stadia są łatwo wyleczalne polipektomią endoskopową lub endoskopową resekcją błony śluzowej. W tym kontekście skuteczne strategie przesiewowe są kwestią wielkiej wagi. Najbardziej czułym i swoistym narzędziem diagnostycznym jest kolonoskopia, pomimo to większość pacjentów uchyla się od tego badania jako wstępnej procedury przesiewowej z uwagi na jego inwazyjność i niewygodę. Ograniczenia kosztowe i brak odpowiednio wyszkolonych i doświadczonych specjalistów wykonujących kolonoskopię to praktyczne przeszkody uniemożliwiające wczesną diagnostykę. Aby wychwycić pacjentów z wysokim ryzykiem, potrzebne są bardziej akceptowane markery alternatywne.

Wspólną cechą wykrytą podczas powstawania raka jest przemiana izoenzymów kluczowego enzymu glikolizy — kinazy pirogronianowej. Specyficzne tkankowo izoenzymy, które mają rozmaite zadania metaboliczne, to kinaza pirogronianowa typu L w wątrobie i nerce, typu M1 w mięśniach i mózgu oraz typu R w krwinkach czerwonych. Wszystkie mnożące się komórki wydzielają izoenzym kinazy pirogronianowej typu M2 (Rys. 1).

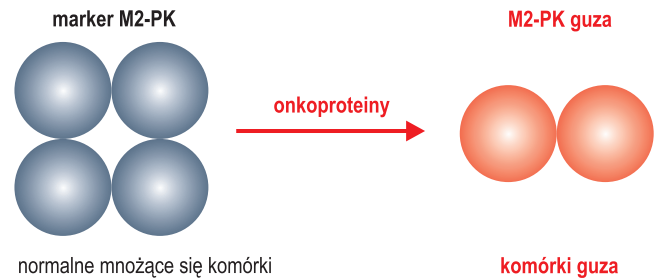
[<http://www.metabolic-database.com>].

Rys. 1 Różne izoformy kinazy pirogronianowej



W zdrowych tkankach wszystkie izoenzymy kinazy pirogronianowej składają się z czterech jednostek podzgodnych. We wszystkich dotychczas zbadanych guzach, w tym guzach żołądkowo-jelitowych, wykrywalny jest wyłącznie typ M2, a kinaza pirogronianowa występuje głównie w formie dimeru (Rys. 2) [2]. Dlatego też formę dimerową M2-PK nazwano kinazą pirogronianową guza (Tumor M2-PK).

Rys. 2 Przemiana w formę dimerową M2-PK w raku



W przypadkach nowotworu przewodu pokarmowego poziomy markera M2-PK guza są podwyższone w próbkach EDTA-osocze pacjentów z rakiem jelita, odbytnicy, żołądka, przełyku i trzustki [2, 3, 4, 5, 6].

Określenie ilościowe markera M2-PK typu guzowego w kale dostarcza nowego, czułego narzędzia skriningowego do diagnostyki guzów jelita grubego [7, 8] poprzez bezpośrednie wykrycie enzymu pochodzącego z guza, który jest uwalniany do światła jelita.

Tabela 1. M2-PK guza w przypadkach raka okrężnicy i odbytnicy (CA) oraz w grupie kontrolnej

	Liczba	Średnia (U/ml)	Mediana (U/ml)	Zakres (U/ml)
rak okrężnicy i odbytnicy	130	51,3 ± 8,9	17,0	0,11 – 800,0
rak okrężnicy	78	60,2 ± 13,8	26,2	0,11 – 800,0
rak odbytnicy	52	37,9 ± 7,8	12,1	0,11 – 270,4
grupa kontrolna	173	3,3 ± 0,4	1,6	0,16 – 34,3

Materiał i metody

Niniejsze badanie obejmuje 303 pacjentów, którzy przeszli pełną kolonoskopię po dostarczeniu próbki do oznaczenia M2-PK guza. Przetestowane zostały próbki kału od pacjentów z rakiem jelita grubego oraz pacjentów bez wykrytych patologii. Histologię otrzymano dla wszystkich pacjentów z rutynowych biopsji i/lub z operacji chirurgicznych. Poziomy M2-PK typu guzowego w próbkach kału ustalono immunologicznie za pomocą ilościowego testu immunoenzymatycznego ELISA, który jest oparty na dwóch

przeciwciałach monoklonalnych (ScheBo – Biotech AG, Niemcy).

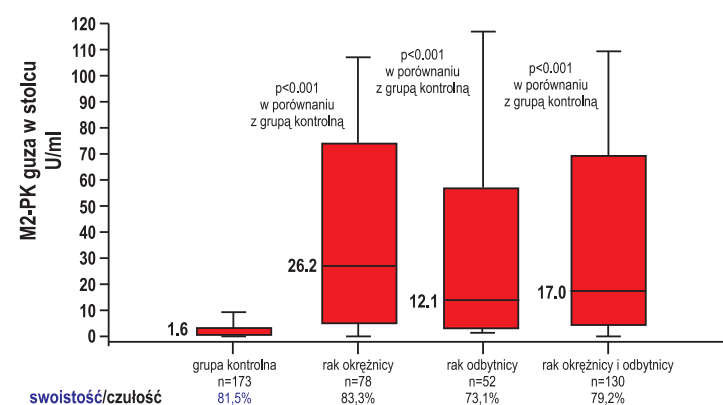
Wyniki

Do chwili obecnej przeanalizowano dane pochodzące od 173 uczestników grupy kontrolnej bez rozpoznanych zmian patologicznych w badaniu kolonoskopowym oraz 130 pacjentów z CRC (Tabela 1 oraz Rys. 3). Występuje wysoce istotna różnica ($p < 0,001$) pomiędzy pacjentami z guzem a członkami grupy kontrolnej. W punkcie odcięcia wynoszącym 4 U/ml, stwierdzona czułość wynosi 83% dla raka okrężnicy oraz 73% dla raka odbytnicy, a swoistość 82%. Poziomy M2-PK guza w kale u pacjentów z CRC zostały skorelowane ze stopniem zaawansowania guza według klasyfikacji TNM (Rys. 4) oraz klasyfikacji Dukes'a (Rys. 5). Występuje istotna różnica ($p = 0,007$) pomiędzy grupą kontrolną a stadiem guza T2 oraz wysoce istotna różnica ($p < 0,001$) pomiędzy grupą kontrolną a stadiami T3 i T4. Czułość dla T1, T2, T3 i T4 wynosi odpowiednio 56%, 57%, 80% i 83% (Rys. 4). Określenie zaawansowania wg klasyfikacji Dukes'a ujawniło istotną różnicę ($p < 0,0087$) pomiędzy grupą kontrolną a stopniem zaawansowania A wg Dukes'a oraz wysoce istotną różnicę ($p < 0,001$) pomiędzy grupą kontrolną a stopniami zaawansowania B do D wg Dukes'a. Czułość wynosi 55% dla stopnia A wg Dukes'a, 80% dla stopnia B wg Dukes'a, 80% dla stopnia C wg Dukes'a oraz 86% dla stopnia D wg Dukes'a (Rys. 5).

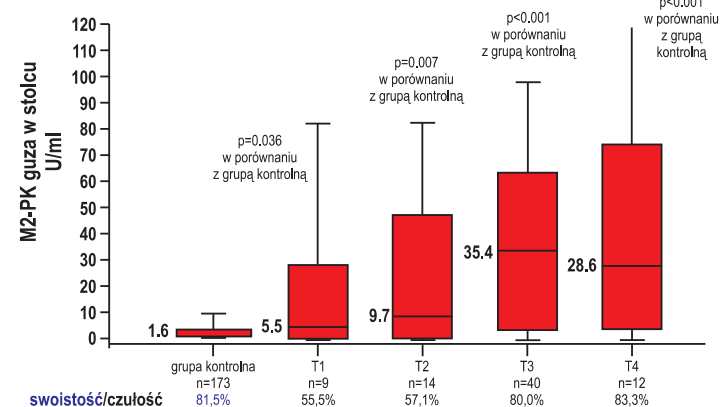
Wnioski i dyskusja

Niniejsze badanie pokazuje, że określenie poziomu markera M2-PK guza w kale jest cennym narzędziem we wczesnym wykrywaniu raka okrężnicy i odbytnicy. Poziomy M2-PK guza są istotnie wyższe u pacjentów z CRC niż w grupie kontrolnej ($p < 0,001$) i korelują ze stopniem zaawansowania nowotworu wg klasyfikacji Dukes'a oraz klasyfikacji TNM. Ogólna czułość wynosi 79% a swoistość 82%. W porównaniu z FOBT [testem na krew utajoną w kale] (gdzie czułość wynosi $< 30%$ [9]), M2-PK guza wykazuje czułość znacznie wyższą przy wykorzystaniu pojedynczej niewielkiej próbki kału. Jako, że testy genetyczne (np. mutacje APC) są znacznie droższe i nie przyniosły lepszych wyników w warunkach klinicznych, sugerujemy wykorzystanie testów na M2-PK guza w połączeniu z endoskopią pacjentów z dodatnimi wynikami jako praktyczne podejście do zredukowania liczby zgonów spowodowanych rakiem okrężnicy i odbytnicy.

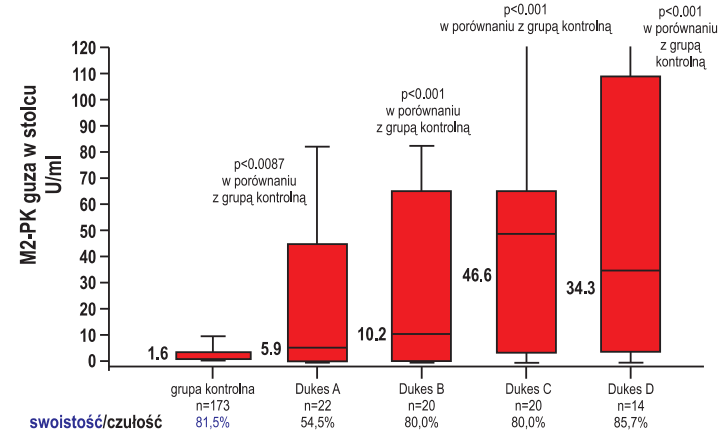
Rys. 3 Poziomy M2-PK typu guzowego w kale w przypadkach raka okrężnicy i odbytnicy (CA) oraz w grupie kontrolnej



Rys. 4 Korelacja poziomów M2-PK guza w kale z fazami zaawansowania choroby w klasyfikacji TNM u pacjentów z rakiem okrężnicy i odbytnicy (n=76)



Rys. 5 Korelacja poziomów M2-PK guza w kale z fazami zaawansowania choroby w klasyfikacji wg Dukes'a (n=75)



Bibliografia:

1. Cancer Research UK, www.cancerresearchuk.org
2. Hardt et al. Anticancer Res 2000; 20: 4965-4968
3. Schulze et al. Anticancer Res 2000; 20: 4961-4964
4. Mazurek et al. in: Tumor Markers: Physiology, Technology, and Clinical Applications, Diamandis et al. (Eds.) AACR Press 2002: 471-475, 2002
5. Zhang et al. World J Gastroenterol 2004; 10: 1643-1646
6. Ventrucci et al. Dig Dis Sci. 2004; 49:1149-1155
7. Hardt et al. Anticancer Res. 2003; 23: 851-854
8. Hardt et al. Brit J Cancer 2004; 91: 980-984
9. Lieberman et al. N Engl J Med 2001; 345: 555-560