

Cel pracy: Dokonano oceny użyteczności klinicznej wyników oznaczeń czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) oraz wybranych markerów nowotworowych [swoistej enolazy neuronowej (*neuron-specific enolase* – NSE) i prekursora peptydu uwalniającego gastrynę (*pro gastrin releasing peptide* – ProGRP)], a także wartości surowiczego wskaźnika nowotworowego w aspekcie ich wartości prognostycznej u chorych na drobnokomórkowego raka płuca.

Materiał i metody: Badania stężenia NSE, ProGRP, VEGFA, α 1-kwaśnej glikoproteiny, prealbuminy oraz liczby płytek krwi przeprowadzono przed leczeniem w grupie 72 chorych na drobnokomórkowego raka płuca, w tym 40 chorych ze zlokalizowaną i 32 z uogólnioną postacią nowotworu. Ten sam zestaw badań laboratoryjnych wykonano w grupie referencyjnej, którą stanowiło 37 zdrowych osób. Dla wszystkich badanych wyliczono wartości surowiczego wskaźnika nowotworowego (*cancer serum index* – CSI) jako stosunek stężenia α 1-kwaśnej glikoproteiny do prealbuminy.

Wyniki: Pola powierzchni pod krzywymi ROC wynosiły odpowiednio dla ProGRP: 0,943 \pm 0,03; NSE: 0,869 \pm 0,04; CSI: 0,838 \pm 0,04; VEGFA: 0,713 \pm 0,05. Relatywnie najwyższą czułość diagnostyczną stwierdzano dla ProGRP. Częstość podwyższonych wyników oznaczeń NSE, VEGFA i wartości CSI wykazywała istotną zależność od stadium zaawansowania procesu nowotworowego, natomiast nie stwierdzano takich zależności dla ProGRP. Wykazano istotne zależności zarówno pomiędzy czasem przeżycia chorych a stadium zaawansowania, jak i wyjściowym poziomem badanych wskaźników.

Zaawansowanie procesu nowotworowego, a także wyższe od wartości dyskryminacyjnych stężenia ProGRP i VEGFA przed leczeniem należą do niezależnych, niekorzystnych czynników rokowniczych. U chorych z uogólnioną postacią nowotworu, jak również w grupie chorych z większym przed leczeniem od 670 ng/l stężeniem ProGRP i przekraczającym 420 ng/l stężeniem VEGFA stwierdzono 2,5-krotnie wyższe ryzyko zgonu.

Słowa kluczowe: drobnokomórkowy rak płuca, naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, ocena rokowania.

Użyteczność oznaczeń NSE, ProGRP, VEGFA oraz wartości CSI w diagnostyce chorych na drobnokomórkowego raka płuca

Utility of NSE, ProGRP, VEGFA and CSI in diagnostics of small cell lung cancer patients

Ewa Wójcik¹, Zofia Stasik¹, Beata Sas-Korczyńska², Krystyna Sobolewska¹, Stanisław Korzeniowski², Piotr Skotnicki³, Jan Kanty Kulpa¹

¹Zakład Analityki i Biochemii Klinicznej, Centrum Onkologii

– Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie

²Klinika Nowotworów Klatki Piersiowej, Centrum Onkologii

– Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie

³Klinika Chirurgii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie

Wstęp

Drobnokomórkowy rak płuca należy do nowotworów złośliwych charakteryzujących się szybkim wzrostem, tendencją do przerzutów już we wczesnych stadiach zaawansowania choroby i złym rokowaniem. Chociaż nowe schematy chemio- i radioterapii przyczyniły się do poprawy długości przeżycia chorych, to jednak nadal wskaźniki umieralności z powodu tego nowotworu pozostają wysokie [1].

Swoista enolaza neuronowa (*neuron-specific enolase* – NSE) od wielu lat uznawana jest za marker nowotworowy, który może być pomocny w diagnostyce, monitorowaniu oraz ocenie efektywności terapii u chorych na drobnokomórkowego raka płuca [2, 3]. Pomimo relatywnie wysokiej czułości diagnostycznej tego markera zwiększone jego stężenia spotyka się w niektórych chorobach o etiologii nienowotworowej, a także u pewnego odsetka chorych z innymi typami histologicznymi nowotworów płuca. Skłoniło to badaczy do poszukiwania innych markerów o większej swoistości diagnostycznej. Wyniki dotychczasowych badań pozwalają sądzić, że takim markerem może być prekursor peptydu uwalniającego gastrynę (*pro gastrin releasing peptide* – ProGRP). Wykazano wysoką czułość diagnostyczną wyników oznaczeń tego markera u chorych z drobnokomórkowym rakiem płuca, w tym również z ograniczoną postacią nowotworu, dobrą korelację zmian jego stężenia z reakcją na leczenie oraz czasem przeżycia chorych [4–7].

Przedmiotem licznych badań są zależności pomiędzy rozwojem nowotworu a stopniem jego unaczynienia. W odpowiedzi na pogłębiający się w miarę rozwoju nowotworu deficyt substratów energetycznych i strukturalnych jego komórki uzyskują zdolność wytwarzania i uwalniania do krążenia szeregu czynników proangiogennych, odpowiedzialnych za powstawanie sieci włosowatych naczyń krwionośnych. Kluczową rolę w regulacji procesów angiogenezy – fizjologicznej oraz patologicznej – przypisuje się naczyniowo-śródbłonkowemu czynnikowi wzrostu (*vascular endothelial growth factor* – VEGF), uważanemu za czynnik mitogenny dla komórek śródbłonka naczyń krwionośnych i limfatycznych, a także promujący ich proliferację [8, 9]. Rów-

Aim of the study: Assessment of clinical utility of VEGF results, selected tumour markers (NSE and ProGRP), and the cancer serum index (CSI) was performed with respect to their prognostic value in small cell lung cancer (SCLC) patients.

Material and methods: The determination of NSE, ProGRP, VEGFA, alpha-1 acid glycoprotein and prealbumin concentrations and platelet counts was carried out before treatment in 72 patients with SCLC (40 with limited and 32 with extensive disease). The same set of parameters was determined in the reference group consisting of healthy persons. The Cancer Serum Index was calculated for each studied person as the ratio of alpha-1 acid glycoprotein to prealbumin.

Results: Areas under ROC curves were respectively: for ProGRP: 0.943 ± 0.03 ; NSE: 0.869 ± 0.04 ; CSI: 0.838 ± 0.04 ; VEGFA: 0.713 ± 0.05 . The relatively highest diagnostic sensitivity was found for ProGRP. The frequency of elevated NSE, VEGF and CSI results were related to the extent of disease, whereas lack of such dependencies was observed for ProGRP. Relationships were found between time of survival and advancement of disease as well as initial values of studied parameters.

Extent of disease and higher than discriminant value of ProGRP and VEGFA concentrations count among the independent and unfavourable prognostic factors in SCLC patients. Patients with extensive disease as well as with pre-treatment ProGRP concentrations above 670 ng/l and exceeding VEGFA level 420 ng/ml showed 2.5 times higher risk of death.

Key words: small cell lung cancer, vascular endothelial growth factor, prognosis.

nocześnie sugeruje się, że ten proangiogeny czynnik wzrostu ma istotny wpływ na zmiany przepuszczalności naczyń krwionośnych i zwiększenie migracji komórek śródbłonka [10]. Wzmoczoną ekspresję VEGF oraz zwiększone stężenie tego czynnika wzrostu w surowicy wykazano w wielu nowotworach, zwłaszcza w obecności odległych przerzutów [11–15]. Stężeniu tego czynnika wzrostu przypisywana jest istotna wartość predykcyjna dla wykrycia nawrotu choroby lub progresji. Duże stężenie VEGF uznawane jest za niekorzystny, niezależny czynnik prognostyczny [16, 17].

W prezentowanych badaniach podjęto próbę oceny użyteczności klinicznej wyników oznaczeń VEGF, NSE, ProGRP, a także surowiczego wskaźnika nowotworowego (*cancer serum index* – CSI) w aspekcie ich wartości prognostycznej u chorych na drobnokomórkowego raka płuca.

Material i metody

Badania stężenia NSE, ProGRP, VEGFA, α 1-kwaśnej glikoproteiny, prealbuminy oraz liczby płytek krwi przeprowadzono przed leczeniem w grupie 72 chorych na drobnokomórkowego raka płuca, w tym 40 chorych ze zlokalizowaną i 32 z uogólnioną postacią nowotworu. Ten sam zestaw badań laboratoryjnych wykonano w grupie referencyjnej, którą stanowiło 37 zdrowych osób w zbliżonym do chorych przedziale wieku. U wszystkich chorych rozpoznanie kliniczne było potwierdzone badaniem mikroskopowym wycinka pobranego podczas bronchoskopii lub, jeśli nie było to możliwe, badaniem cytologicznym płwociny. Ocenę stopnia zaawansowania przeprowadzono na podstawie badań obrazowych: konwencjonalnych zdjęć radiologicznych klatki piersiowej (PA i bocznych), tomografii komputerowej klatki piersiowej, jamy brzusznej i mózgu oraz rezonansu magnetycznego (NMR). Dla wszystkich badanych wyliczono wartości CSI jako stosunek stężenia α 1-kwaśnej glikoproteiny do prealbuminy. Na prowadzenie badań – realizowanych w ramach zadań planu naukowego Centrum Onkologii, Oddział w Krakowie – uzyskano zgodę Komisji Etycznej.

Krew do badań pobierano w warunkach standardowych, na czczo, pomiędzy godziną 7.00 a 9.00 rano. Surowice uzyskane po odwirowaniu krwi do momentu wykonania badań przechowywano w stanie zamrożonym do -80°C .

Stężenie NSE oznaczano immunochemicznie metodą ELCIA przy użyciu zestawów odczynnikowych i analizatora ELECSYS 2010, natomiast oznaczenia ProGRP i VEGFA wykonywano metodą ELISA za pomocą zestawów odczynnikowych odpowiednio produkcji ALSI i BenderMed System, dokonując odczytów na czytniku płytek typu Biotex ELx800. Poziom α 1-kwaśnej glikoproteiny i prealbuminy oznaczano homogenną metodą immunochemiczną, korzystając z zestawów odczynnikowych i nefelometru firmy DADE Behring. Oznaczenia liczby płytek krwi wykonywano na analizatorze hematologicznym ADVIA 2120 Siemens.

Wyniki opracowano statystycznie, stosując dla oceny istotności różnic nieparametryczny test Kruskala-Wallisa, natomiast dla określenia zależności pomiędzy wartościami analizowanych parametrów rachunek regresji prostoliniowej i korelacji (wg Pearson). Oceny użyteczności diagnostycznej wybranych wskaźników dokonano na podstawie analizy krzywych ROC i oszacowania testem Wilcoxon'a istotności różnic pól powierzchni pod tymi krzywymi. Prawdopodobieństwo przeżycia całkowitego chorych było określane wg metody Kaplana-Meiera. Analizę jednoczynnikową krzywych przeżycia przeprowadzono testem *log-rank*, a analizę wieloczynnikową przeżyć w oparciu o model proporcjonalnego hazardu wg Coksa.

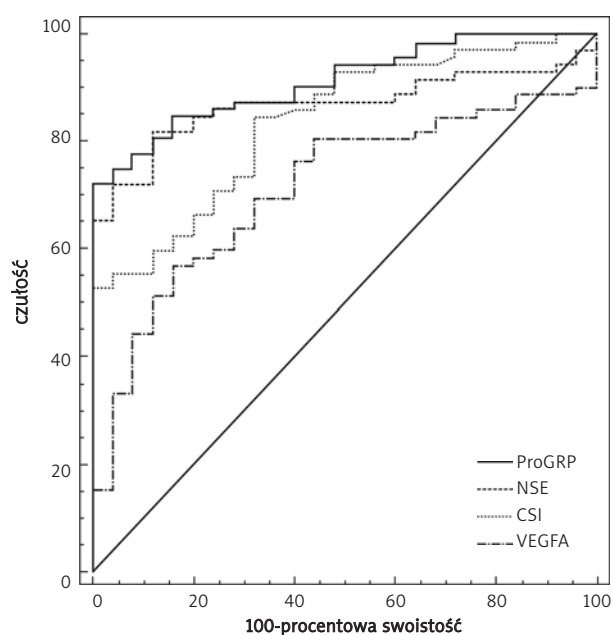
Wyniki

U chorych na drobnokomórkowego raka płuca w porównaniu z grupą referencyjną stwierdzano istotnie większe stężenia NSE, ProGRP, VEGFA oraz liczbę płytek krwi i wartości wskaźnika CSI (tab. 1). Stężenia NSE $> 20 \mu\text{g/l}$, ProGRP $> 46 \text{ ng/l}$, VEGFA $> 420 \text{ ng/l}$ oraz PLT $> 365 \text{ K}/\mu\text{l}$ i wartości CSI $> 5,8$ obserwowano odpowiednio u 70,8, 75,0, 43,1, 25,0 i 55,6% badanych chorych na drobnokomórkowego raka płuca.

Pola powierzchni pod krzywymi ROC wyniosły odpowiednio dla ProGRP: $0,943 \pm 0,02$; NSE: $0,869 \pm 0,04$; CSI: $0,838 \pm 0,04$; VEGFA: $0,713 \pm 0,05$. Czulość diagnostyczna ProGRP była relatywnie najwyższa, jednak brak było istotnych różnic w polach powierzchni pomiędzy ProGRP i NSE, ProGRP i CSI oraz NSE i CSI, natomiast pole powierzchni dla VEGFA w porównaniu z pozostałymi analizowanymi wskaźnikami było istotnie mniejsze (ryc. 1).

Istotnie większe stężenia ProGRP, NSE, VEGFA oraz wartości CSI stwierdzono u chorych z uogólnioną postacią nowotworu aniżeli u chorych ze zlokalizowaną postacią nowotworu (tab. 2.). W wydzielonych ze względu na zaawansowanie grupach chorych na drobnokomórkowego

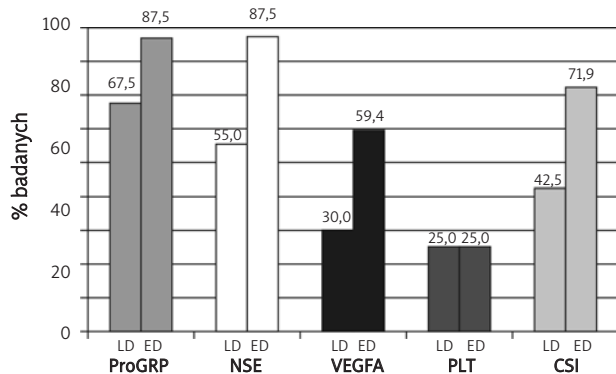
raka płuca stężenie NSE przekraczało wartość odcinającą odpowiednio o 1,18 i 2,2-krotnie odpowiednio w SCLC-LD i SCLC-ED, a stężenie ProGRP 5,5 oraz 15,8-krotnie. U chorych z uogólnioną postacią nowotworu w porównaniu z grupą chorych o mniejszym zaawansowaniu procesu chorobowego odsetki podwyższonych wyników ProGRP, NSE, VEGFA i CSI były istotnie wyższe, przy braku istotnych różnic w zakresie PLT (ryc. 2.). O ile w grupie chorych z uogólnioną postacią nowotworu obserwowano istotne dodatnie korelacje pomiędzy NSE i ProGRP ($r = 0,418$; $p = 0,017$) oraz VEGFA i CSI ($r = 0,494$; $p = 0,004$), o tyle brak było podobnych, istotnych zależności w grupie z ograniczoną postacią nowotworu.



istotność różnic pomiędzy polami powierzchni dla poszczególnych parametrów: ProGRP vs NSE – $p = 0,049$; ProGRP vs CSI – $p = 0,021$; ProGRP vs VEGFA – $p = 0,000$; NSE vs CSI – NS; NSE vs VEGFA – $p = 0,010$; CSI vs VEGFA – $p = 0,05$

Ryc. 1. Krzywe ROC dla ProGRP, NSE, VEGFA i CSI u chorych na drobnokomórkowego raka płuca

Fig. 1. ROC curves for ProGRP, NSE, VEGFA and CSI in small cell lung cancer patients



Ryc. 2. Częstość podwyższonych wyników w zależności od zaawansowania procesu nowotworowego

Fig. 2. Frequency of elevated tumour markers depending on extent of disease

Tabela 1. Stężenie badanych parametrów w grupie referencyjnej oraz u chorych na drobnokomórkowego raka płuca

Table 1. Levels of studied parameters in the reference group and in patients with small cell lung cancer

Parametry		Grupa referencyjna	Drobnokomórkowy rak płuca	$p <$
NSE [$\mu\text{g/l}$]	mediana	9,33	35,94	0,0001
	zakres	4,85–22,0	3,05–323,30	
ProGRP [ng/l]	mediana	14,90	333,93	0,0001
	zakres	3,80–48,00	9,46–7555,90	
VEGFA [ng/l]	mediana	130,21	364,65	0,0016
	zakres	53,57–713,50	15,31–1255,08	
PLT [$\text{K}/\mu\text{l}$]	mediana	230,0	289,5	0,0001
	zakres	182,0–382,0	161,0–749,0	
α 1-kwaśna glikoproteina [g/l]	mediana	0,97	1,34	0,0001
	zakres	0,49–1,75	0,54–3,30	
prealbumina [g/l]	mediana	0,272	0,197	0,0001
	zakres	0,192–0,429	0,065–0,478	
CSI	mediana	3,25	6,86	0,0001
	zakres	1,82–6,35	2,13–41,25	

Tabela 2. Poziom badanych parametrów w zależności od zaawansowania procesu nowotworowego

Table 2. Levels of studied parameters depending on the extent of disease

Parametry		SCLC-LD	SCLC-ED	$p =$
NSE [$\mu\text{g/l}$]	mediana	23,62	44,24	0,002
	zakres	3,05–270,7	9,45–323,30	
ProGRP [ng/l]	mediana	250,95	727,75	0,016
	zakres	9,46–2889,40	14,15–7555,90	
VEGFA [ng/l]	mediana	253,55	517,76	0,004
	zakres	15,31–2266,36	15,31–1255,08	
PLT [$\text{K}/\mu\text{l}$]	mediana	272,0	316,0	NS
	zakres	161,0–571,0	178,0–749,0	
CSI	mediana	5,53	8,08	3,27–41,25
	zakres	2,13–39,69	0,017	

NS – nieistotne statystycznie

W badanej grupie chorych na drobnokomórkowego raka płuca wykazano istotne zależności pomiędzy stężeniami NSE, ProGRP, VEGFA oraz wartościami wskaźnika CSI z okresu przed rozpoczęciem leczenia a czasem przeżycia chorych, jednak analiza wieloczynnikowa nie potwierdziła, aby któryś z tych wskaźników był niezależnym czynnikiem prognostycznym (tab. 3). Analizując użyteczność komplementarnych do NSE i ProGRP oznaczeń stężenia VEGFA i wartości wskaźnika CSI, wykazano, że istotnie krótszym przeżyciem cechują się chorzy z równocześnie wysokimi stężeniami ProGRP i VEGFA, a także chorzy z wysokimi stężeniami NSE oraz CSI (tab. 4.). Analiza wieloczynnikowa wykazała, że w badanej grupie chorych na drobnokomórkowego raka płuca, oprócz zaawansowania procesu nowotworowego, równocześnie wyższe od wartości dyskryminacyjnych stężenia ProGRP i VEGFA przed leczeniem należą do niezależnych, niekorzystnych czynników rokowniczych. Ponad 2-krotnie wyższe ryzyko zgonu stwierdzono

u chorych z uogólnioną postacią nowotworu, jak również w grupie chorych z wyższym przed leczeniem od 670 ng/l stężeniem ProGRP i przekraczającym 420 ng/l stężeniem VEGFA (ryc. 3. i 4.).

Dyskusja

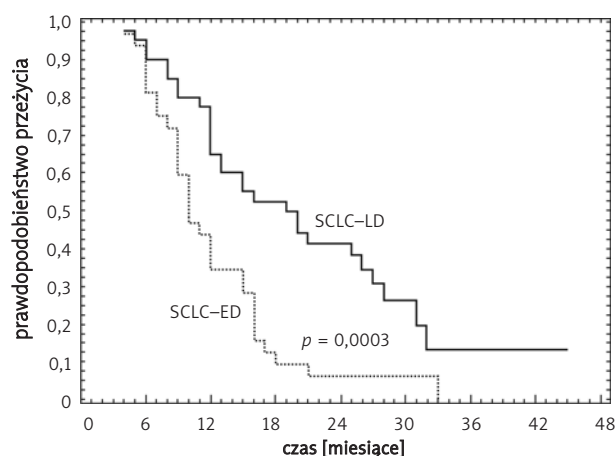
O odrębności drobnokomórkowego raka w stosunku do pozostałych typów histologicznych nowotworów płuc decydują w znacznej mierze różnice we własnościach biologicznych, wynikające z obecności cech neuroendokrynnego zróżnicowania (układ APUD). Komórki tego nowotworu wykazują zdolność ektopowego wytwarzania niektórych hormonów, a także szeregu produktów neurosekrecji, m.in. bombesyny, chromograniny A, synaptofizyny oraz swoistej enolazy neuronowej [18]. Właśnie ten izoenzym uznawano od wielu lat za marker z wyboru w diagnostyce drobnokomórkowego raka płuca. Częstość podwyższonych wyników oraz stężenie NSE wykazują wyraźną zależność od stadium

Tabela 3. Wyniki analizy jednoczynnikowej u chorych na drobnokomórkowego raka płuca

Table 3. Univariate analysis results in patients with small cell lung cancer

Parametr	Wariant	N	Mediana przeżycia	p =
stadium zaawansowania	SCLC-LD	40	18,5	0,0003
	SCLC-ED	32	9,0	
NSE [μg/l]	≤ 32	31	15,0	0,004
	> 32	41	11,0	
ProGRP [ng/l]	≤ 670	45	15,0	0,048
	> 670	27	11,0	
VEGFA [ng/l]	≤ 420	41	14,1	0,043
	> 420	31	9,0	
PLT [K/μl]	≤ 400	61	13,0	NS
	> 400	11	9,0	
CSI	≤ 7	39	14,0	0,028
	> 7	31	11,0	

NS – nieistotne statystycznie



Ryc. 3. Prawdopodobieństwo przeżycia chorych na drobnokomórkowego raka płuca w zależności od zaawansowania procesu nowotworowego

Fig. 3. Probability of survival in patients with SCLC depending on stage of disease

Tabela 4. Wyniki analizy jedno- i wieloczynnikowej uwzględniające komplementarne oznaczenia badanych parametrów

Table 4. Univariate and multivariate analysis results regarding complementary determinations of studied parameters

Parametr	Wariant	N	Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa		
			mediana przeżycia	p =	RR	CI	p =
stadium zaawansowania	SCLC-LD	40	18,0	0,0012	1	1,43–4,46	0,0036
	SCLC-ED	32	9,0				
NSE i VEGFA	grupa A	52	14,0	NS	1	–	–
	grupa B	20	9,0				
ProGRP i VEGFA	grupa A	58	15,0	0,009	1	–	0,0042
	grupa B	14	9,0				
CSI i VEGFA	grupa A	56	14,0	0,05	–	–	–
	grupa B	16	9,0				

NS – nieistotne statystycznie

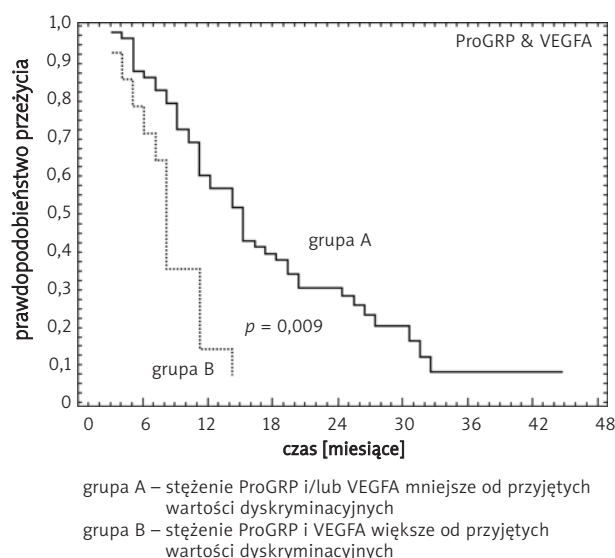
grupa A – prawidłowe wyniki dwóch parametrów lub zwiększone stężenie jednego z nich

grupa B – zwiększone stężenie obu parametrów

zaawansowania choroby. O ile u chorych z postacią zlokalizowaną odsetek podwyższonych wyników waha się w granicach 39–69%, o tyle u chorych z postacią uogólnioną wynosi on 67–87%, a w grupie z przerzutami do wątroby jest bliski 100% [19–21]. Podkreśla się przydatność wyników oznaczeń NSE w monitorowaniu chemioterapii uznawanej za podstawową metodę leczenia w przypadku drobnokomórkowego raka płuca [2, 3, 21]. Wyniki badań prowadzonych w wielu ośrodkach dokumentują istotne zależności pomiędzy czasem przeżycia chorych a wyjściowym stężeniem NSE. Taką zależność obserwowano również dla badanej grupy chorych na drobnokomórkowego raka płuca. Brak jest natomiast jednoznacznego stanowiska odnośnie do wartości NSE jako niezależnego czynnika prognostycznego. Wyniki wielu badań potwierdzają jego wartość w tym zakresie, natomiast inne negują [22–24]. Również w prezentowanych badaniach nie znalazło to potwierdzenia.

Niska swoistość diagnostyczna wyników oznaczeń NSE – zwiększone stężenie NSE jest spotykane m.in. u wielu chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca, z niektórymi nowotworami mózgu, a także z nienowotworowymi schorzeniami płuc, zapaleniem opon mózgowych, zawałem mózgu, krwotokiem podpajęczynówkowym czy urazami głowy – stymuluje poszukiwania innych markerów nowotworowych, których wdrożenie do praktyki klinicznej przyczyniłoby się do optymalizacji diagnostyki drobnokomórkowego raka płuca [25, 26]. Markerem spełniającym w znacznej mierze te oczekiwania wydaje się być ProGRP, któremu przypisywane są własności neurotransmitera, a także parakrynnego i autokrynnego czynnika wzrostu dla raka drobnokomórkowego. Czułość diagnostyczna oznaczeń ProGRP u chorych na drobnokomórkowego raka płuca waha się od 65 do 86% [4–7, 27]. Zdaniem Yamaguchi i wsp. oznaczenia tego markera mogą poprawić efektywność diagnostyki biochemicznej chorych we wczesnym stadium zaawansowania, u 65–80% których obserwuje się jego zwiększone stężenia [28–31]. Wykazano, że wyjściowo zwiększone stężenie ProGRP ulega normalizacji u ponad 75% chorych z potwierdzoną w badaniach klinicznych i obrazowych po zakończeniu leczenia całkowitą remisją procesu chorobowego, natomiast pozostaje podwyższone u 39–47% z częściową remisją [6, 31, 32]. Istotna wartość predykcyjna przypisywana jest stężeniom markera przed profilaktycznym napromienianiem mózgowia (PCI) u chorych z ograniczoną postacią nowotworu, którzy po 4. cyklu chemioterapii uzyskali całkowitą lub znacznego stopnia częściową remisję. Zwiększone stężenie ProGRP przed PCI jest związane z prawie 3-krotnie wyższym ryzykiem zgonu [33]. Wyniki większości badań potwierdzają istnienie zależności pomiędzy czasem przeżycia chorych a wyjściowym stężeniem ProGRP, co również zostało wykazane w prezentowanych badaniach [27, 31]. Wyniki przeważającej części dotychczasowych badań kwestionują natomiast wartość tego markera jako niezależnego czynnika prognostycznego [6, 7, 27, 34].

W odpowiedzi na obecność komórek nowotworowych oraz wytwarzanych i uwalnianych przez nie do krążenia różnych antygenów i czynników wzrostu może dochodzić w organizmie chorych do zaburzeń szeregu podstawowych procesów metabolicznych, których wyrazem są m.in. zmiany



Ryc. 4. Prawdopodobieństwo przeżycia chorych na drobnokomórkowego raka płuca w zależności od wyjściowego stężenia ProGRP i VEGFA

Fig. 4. Probability of survival in patients with SCLC depending on pre-treatment levels of ProGRP and VEGFA

stężeń wielu składników płynów ustrojowych, w tym również białek ostrej fazy [35]. Na podstawie wyników tych badań opracowano m.in. wskaźniki uwzględniające zarówno nasilenie reakcji ostrej fazy, jak i niedobory substratów energetycznych i budulcowych. Do takich wskaźników zalicza się m.in. CSI, wyliczany jako stosunek stężenia α 1-kwaśnej glikoproteiny do prealbuminy, czyli stosunek dodatniego reaktanta ostrej fazy, który wiązany jest z nasileniem procesów proliferacji do białka uznawanego za jeden z podstawowych markerów stanu odżywienia [36]. Uważa się, że u chorych na nowotwory zwiększenie stężenia α 1-kwaśnej glikoproteiny nie tylko odzwierciedla reakcję ostrej fazy, ale w pewnym stopniu również nasilenie procesów proliferacji. Prealbumina jest natomiast uznawana za jeden z podstawowych markerów stanu odżywienia, a obniżenie jej stężenia pozostaje w wyraźnej relacji z niedoborami podaży substratów energetycznych i budulcowych. Charet i wsp. stwierdzali istotne zależności pomiędzy wartościami CSI a reakcją chorych na raka płuca na leczenie [37]. We wcześniejszych badaniach wykazano użyteczność tego wskaźnika w ocenie rokowania chorych na drobnokomórkowego raka płuca, co wydają się potwierdzać obecnie uzyskane wyniki [38].

Uważa się, że jednym z istotnych czynników warunkujących rozwój nowotworu może być stymulacja procesów tworzenia sieci drobnych naczyń krwionośnych w obrębie guza. Nowo powstające naczynia krwionośne zapewniają możliwość dowozu substratów energetycznych i strukturalnych, adekwatnego do wzmożonego metabolizmu komórek nowotworowych. Równocześnie nowo powstająca sieć drobnych naczyń krwionośnych stwarza warunki sprzyjające migracji komórek nowotworowych i tworzeniu przerzutów. Angiogeneza jest wieloetapowym procesem, w którego przebiegu i mechanizmach regulacji uczestniczy wiele

czynników, wśród których szczególnie istotną rolę przypisuje się VEGFA należącemu do rodziny płytkowych czynników wzrostu [39]. Uważa się, że ekspresja tego czynnika wzrostu w komórkach nowotworowych jest w znacznej mierze efektem ich reakcji na bodziec hipoksji, a zatem niedobór substratów energetycznych [8, 40–42]. W wielu pracach opisywane są zależności pomiędzy wzmożoną ekspresją VEGFA w komórkach nowotworowych oraz zwiększonym stężeniem tego białka w osoczu, zwiększoną gęstością drobnych naczyń krwionośnych w otoczeniu guza a reakcją chorych na leczenie, rozwojem odległych przerzutów i długością przeżycia. Prace dotyczące stężenia VEGF u chorych na drobnokomórkowego raka płuca są stosunkowo nieliczne, jednak cechuje je duża zgodność opinii, że zwiększone stężenie tego czynnika wzrostu wiąże się z gorszą reakcją chorych na chemioterapię, krótszym przeżyciem bezobjawowym i całkowitym chorych [43–45]. Przy zbliżonych wartościach dyskryminacyjnych obserwowano również w prezentowanych badaniach istotne zależności pomiędzy długością przeżycia chorych a stężeniem VEGFA, NSE, ProGRP oraz CSI. Nie uzyskano potwierdzenia sugerowanej przez Salven i wsp. oraz Hasegawa i wsp. wartości podwyższonego stężenia VEGFA obok stadium zaawansowania choroby jako niezależnego, niekorzystnego czynnika prognostycznego [16, 17]. Jednak o ile pierwsi z wymienionych badaczy nie wykonywali równocześnie badań markerów nowotworowych, o tyle drudzy nie analizowali wartości komplementarnych oznaczeń stężenia VEGFA i NSE lub VEGFA i ProGRP w aspekcie ich użyteczności w ocenie rokowania chorych.

Za argument potwierdzający udział deficytu substratów energetycznych w stymulacji procesów wytwarzania i uwalniania VEGFA przez komórki nowotworowe można uznać obserwowaną w badanej grupie chorych na drobnokomórkowego raka płuca zależność pomiędzy stężeniem tego czynnika wzrostu a wartościami wskaźnika CSI, uznawanego za jeden z wykładników niedoborów w podaży substratów energetycznych i strukturalnych u chorych na nowotwory złośliwe. Obserwacje te pozostają w znacznej zbieżności ze stwierdzanymi przez Katsabeki-Katsafli i wsp. zależnościami pomiędzy stężeniem VEGFA i stanem sprawności chorych [46].

Podsumowując, należy podkreślić trudności w porównywaniu pochodzących z różnych ośrodków wyników dotyczących VEGFA z powodu m.in. relatywnie małych liczebności badanych grup chorych, różnic w ich strukturze pod względem zaawansowania i braku standaryzacji metod oznaczeń tego czynnika wzrostu. Wszystko to sprawia, że sformułowane wnioski mają charakter obiecujących sugestii, których weryfikacja powinna być jednak dokonana w dalszych badaniach:

W badanej grupie chorych na drobnokomórkowego raka płuca stwierdzano istotne zależności nie tylko pomiędzy czasem przeżycia chorych a stadium zaawansowania choroby, ale również stężeniem NSE, ProGRP, VEGFA i CSI z okresu przed rozpoczęciem leczenia. Zwiększone równocześnie stężenia ProGRP i VEGFA należą obok stadium zaawansowania choroby do niekorzystnych, niezależnych czynników prognostycznych w drobnokomórkowym raku płuca i z tych względów wyniki badań tych biomarkerów

mogą wносить dodatkowe informacje pomocne w ocenie rokowania chorych.

Piśmiennictwo

1. Fielding LP, Fenoglio-Preisner CMF, Freedmann LS. The future of prognostic factors in outcome prediction for patients with cancer. *Cancer* 1992; 70: 2367-77.
2. Splinter TAW, Carney DN, Teeling M, Peake MD, Kho GS, Oosterom R, Cooper EH. Neuron-specific enolase can be used as the sole guide to treat small-cell lung cancer patients in common clinical practice. *J Cancer Res Clin Oncol* 1989; 115: 400-1.
3. Johnson PWM, Joel SP, Love S, Butcher M, Pandian MR, Squires L, Wrigley PFM, Slevin ML. Tumor markers for prediction of survival and monitoring remission in small cell lung cancer. *Br J Cancer* 1993; 67: 760-6.
4. Stieber P, Dienemann H, Schalhorn A, Schmitt UM, Reinmiedl J, Hofmann K, Yamaguchi K. Pro-gastrin-releasing peptide (ProGRP) – a useful marker in small cell lung carcinomas. *Anticancer Res* 1999; 19: 2673-8.
5. Lamy PJ, Grenier J, Kramar A, Pujol JJ. Pro-gastrin releasing peptide, neuron specific enolase and chromogranin A as serum markers of small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2000; 29: 197-203.
6. Sunaga N, Tsuchiya S, Minato K, et al. Serum pro-gastrin-releasing peptide is a useful marker for treatment monitoring and survival in small cell lung cancer. *Oncology* 1999; 57: 143-8.
7. Shibayama T, Ueoka H, Nishii K, Kiura K, Tabata M, Miyatake K, Kitajima T, Harada M. Complementary roles of pro-gastrin-releasing peptide (ProGRP) and neuron specific enolase (NSE) in diagnosis and prognosis of small cell lung cancer (SCLC). *Lung Cancer* 2001; 32: 61-9.
8. Gerber HP, Ferrara N. The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis. *J Mol Med* 2003; 81: 20-31.
9. Lucchi M, Mussi A, Fontanini G, Faviana P, Ribechini A, Angeletti CA. Small cell lung cancer (SCLC): the angiogenic phenomenon. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002; 21: 1105-10.
10. Cox G, Jones JL, Walker RA, Steward WP, O'Byrne KL. Angiogenesis and non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2000; 27: 81-100.
11. Matsuyama W, Hashiguchi T, Mizoguchi A, Iwami F, Kawabata M, Arimura K, Osame M. Serum levels of vascular endothelial growth factor dependent on the stage progression of lung cancer. *Chest* 2000; 118: 948-51.
12. Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR correlates with vascularity, metastasis and proliferation of human colon cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 3964-8.
13. Seo Y, Baba H, Fukuda T, Takashima M, Sugimachi K. High expression of vascular endothelial growth factor is associated with liver metastasis and a poor prognosis for patients with ductal pancreatic adenocarcinoma. *Cancer* 2000; 88: 2239-45.
14. Salven P, Maenpaa H, Orpana A, Alitalo K, Joensuu H. Serum vascular endothelial growth factor is often elevated in disseminated cancer. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 647-51.
15. Fontanini G, Vignati S, Boldrini L, et al. Vascular endothelial growth factor is associated with neovascularization and influences progression of non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 861-5.
16. Salven P, Ruotsalainen T, Mattson K, Joensuu H. High pre-treatment serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) is associated with poor outcome in small cell lung cancer. *Int J Cancer* 1998; 79: 144-6.
17. Hasegawa Y, Takanashi S, Okudera K, Kumagai M, Hayashi A, Morimoto T, Okumura K. Vascular endothelial growth factor level as a prognostic determinant of small cell lung cancer in Japanese patients. *Intern Med* 2005; 44: 26-34.
18. Szturmowicz M, Rogińska E, Roszkowski K, Kwiek S, Filipecki, Rowińska-Zakrzewska E. Stężenie antygenu rakowopłodowego, swoistej enolazy neuronowej i ferrytyny w surowicy chorych na drobnokomórkowego raka płuca: związek ze stanem sprawności, rozległością zmian i rokowaniem. *Pneumonol Alergol Pol* 1993; 61: 467-73.

19. Akoun GM, Scarna HM, Milleron BJ, Benichou MP, Herman DP. Serum neuron specific enolase. A marker for disease extent and response to therapy for small cell lung cancer. *Chest* 1985; 87: 39-43.
20. Carney DN, Telling M. Neuron-specific enolase: How useful as a cancer marker? *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988; 24: 825-8.
21. Quoix E, Charloux A, Popin E, Pauli G. Inability of serum neuron-specific enolase to predict disease extent in small cell lung cancer. *Eur J Cancer* 1993; 29A: 2248-50.
22. Nou E, Steinholtz L, Bergh J, Nilsson K, Pahlman S. Neuron specific enolase as a follow-up marker in small cell bronchial carcinoma. Prospective study in an unselected series. *Cancer* 1990; 65: 1380-5.
23. Quoix E, Purohit A, Faller-Beau M, Moreau L, Oster JP, Pauli G. Comparative prognostic value of lactate dehydrogenase and neuron-specific enolase in small-cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Lung Cancer* 2000; 30: 127-34.
24. Bremnes RM, Sundstrom S, Aasebo U, Kaasa S, Hatlevoll R, Aamdal S. The value of prognostic factors in small cell lung cancer: results from a randomized multicenter study with minimum 5 year follow-up. *Lung Cancer* 2003; 39: 303-13.
25. Bonner JA, Sloan JA, Rowland KM, et al. Significance of neuron specific enolase levels before and during therapy for small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 597-601.
26. Cunningham RT, Morrow JL, Johnston CF, Buchanan KD. Serum neuron-specific enolase concentrations in patients with neurological disorders. *Clin Chim Acta* 1994; 230: 117-24.
27. Kulpa J, Wójcik E, Reinfuss M, Kołodziejcki L. Carcinoembryonic antigen, squamous cell carcinoma antigen, CYFRA 21-1, and neuron-specific enolase in squamous cell lung cancer patients. *Clin Chem* 2002; 48: 1931-7.
28. Niho S, Nishiwaki Y, Goto K, et al. Significance of serum pro-gastrin-releasing peptide as a predictor of relapse of small cell lung cancer: comparative evaluation with neuron specific enolase and carcinoembryonic antigen. *Lung Cancer* 2000; 27: 159-67.
29. Miyake Y, Kodama T, Yamaguchi K. Pro-gastrin-releasing peptide (31-98) is a specific tumor marker in patients with small cell lung carcinoma. *Cancer Res* 1994; 54: 2136-40.
30. Yamaguchi K, Aoyagi K, Urakami K, et al. Enzyme immunosorbent assay of progastrin-releasing peptide for small cell lung cancer patients in comparison with neuron-specific enolase measurement. *Jpn J Cancer Res* 1995; 86: 698-705.
31. Okusaka TI, Eguchi K, Kasai T, et al. Serum levels of pro-gastrin-releasing peptide for follow-up of patients with small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 123-7.
32. Takada M, Kusunoki Y, Masuda N, et al. Pro-gastrin-releasing peptide (31-98) as a tumor marker of small cell lung cancer comparative evaluation with neuron-specific enolase. *Br J Cancer* 1996; 73: 1227-32.
33. Yonemori K, Sumi M, Fujimoto N, Ito Y, Imai A, Kagami Y, Ikeda H. Pro-gastrin-releasing peptide as a factor predicting the incidence of brain metastases in patients with small cell lung carcinoma with limited disease receiving prophylactic cranial irradiation. *Cancer* 2005; 104: 811-6.
34. Pujol JL, Quantin X, Jacot W, Boher JM, Grenier J, Lamy PJ. Neuroendocrine and cytokeratin serum markers as prognostic determinants of small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2003; 39: 131-8.
35. Brown DJF, McMillian DG, Milroy R. The correlation between fatigue, physical function, the systemic inflammatory response, and psychological distress in patients with advanced lung cancer. *Cancer* 2005; 103: 377-82.
36. Hollinshed AC, Chuang Ch-Y, Cooper EH. Interrelationship of prealbumin and alpha-1 acid glycoprotein in cancer patients sera. *Cancer* 1977; 40: 2993-8.
37. Charet JC, Watine J, Lepretre A, Raimbault C, Charet P. Orosomucoid: prealbumin ratio in the monitoring of lung cancer. *Clin Biochem* 1996; 29: 287-90.
38. Wójcik E, Sas-Korczyńska B, Stasik Z, Kulpa J. Wybrane wskaźniki składu ustroju i biochemiczne wykładniki kacheksji u chorych na drobnokomórkowego raka płuca. *Diagn Lab* 2006; 42: 161-71.
39. Laack E, Scheffler A, Burkholder I, et al. Pretreatment vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) serum levels in patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2005; 50: 51-8.
40. Banks RE, Forbes MA, Kinsey SE, Straley A, Ingham E, Walters C, Selby PJ. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology. *Br J Cancer* 1998; 77: 956-64.
41. Claffey KP, Robinson GS. Regulation of VEGF/VPF expression in tumor cells: Consequences for tumor growth and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1996; 15: 165-76.
42. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol* 2002; 29 suppl 16: 15-8.
43. Lund EL, Thorsen C, Pedersen MW, Junker N, Kristjansen PE. Relationship between vessel density and expression of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in small cell lung cancer in vivo and in vitro. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4287-91.
44. Mall JW, Schwenk W, Philip AW, Meyer-Kipker C, Mall W, Muller J, Pollmann Ch. Serum vascular endothelial growth factor levels correlate better with tumour stage in small cell lung cancer than albumin, neuron-specific enolase or lactate dehydrogenase. *Respirology* 2002; 7: 99-102.
45. Ohta Y, Ohta N, Tamura M, Wu J, Tsenezuka Y, Oda M, Watanabe G. Vascular endothelial growth factor expression in airways of patients with lung cancer. A possible diagnostic tool of responsive angiogenic status on the host side. *Chest* 2002; 121: 1624-7.
46. Katsabeki-Katsafli A, Kerenidi T, Kostikas K, Dalaveris E, Kiroopoulos TS, Gogou E, Papaioannou AI, Gourgoulinis KI. Serum vascular endothelial growth factor is related to systemic oxidative stress in patients with lung cancer. *Lung Cancer* 2008; 60: 271-6.

Adres do korespondencji

prof. dr hab med. **Jan Karty Kulpa**
 Zakład Analityki i Biochemii Klinicznej
 Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
 Oddział w Krakowie
 ul. Garncarska 11
 31-115 Kraków
 e-mail: z5jkulpa@cyf-kr.edu.pl