

Oznaczono stężenie markerów nowotworowych CEA i AFP oraz aktywność katepsyny D w surowicy krwi chorych na raka płuca i przełyku w stopniu zaawansowania III a-b przed radioterapią oraz 6 tygodni i 2 miesiące po radioterapii. Wykonano również wstępne określenie aktywności CP w surowicy krwi badanych chorych przed leczeniem. Uzyskane wyniki badań wskazują, że stężenie CEA w przypadkach raka płuca i przełyku jest podwyższone przed i 6 tygodni po leczeniu i powraca do wartości prawidłowych 2 miesiące po radioterapii. Stężenie AFP i aktywność katepsyny D w surowicy krwi chorych z rakiem płuca i przełyku, zarówno przed radioterapią, jak i po radioterapii nie różnią się istotnie od wartości prawidłowych. W badanych przypadkach stwierdzono znaczną aktywność CP w surowicy krwi przed leczeniem. Z badanych markerów wartość diagnostyczną w przypadkach raka płuca i przełyku posiada oznaczenie stężenia CEA i aktywności CP.

Słowa kluczowe: CEA, AFP, katepsyna D, CP, rak płuca, rak przełyku.

# Wartość diagnostyczna markerów nowotworowych: CEA, AFP, katepsyny D i prokoagulanta nowotworowego (CP) w przypadkach raka płuca i przełyku

*Diagnostic value of cancer markers CEA, AFP, cathepsin D and cancer procoagulant (CP) in patients with lung and oesophagus cancer*

Sławomir Dariusz Szajda<sup>1</sup>, Marek Kiluk<sup>2</sup>, Ryszard Wiśniewski<sup>1</sup>, Zdzisław Skrzydlewski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Samodzielna Pracownia Ogólnej Analityki Klinicznej Akademii Medycznej w Białymstoku

<sup>2</sup>Zakład Onkologii Akademii Medycznej w Białymstoku

## WSTĘP

Badanie markerów nowotworowych, coraz częściej stosowane w diagnostyce onkologicznej, jest pomocne w wykrywaniu i ustalaniu stopnia zaawansowania klinicznego, radykalności zabiegu operacyjnego oraz w monitorowaniu leczenia [1, 2, 3, 4]. W przypadkach raka płuca i przełyku najczęściej oznaczanymi markerami są: antygen raka płaskonabłonkowego (SCC-Ag), fragment cytokeratyny 19 (CYFRA 21-1), specyficzna enolaza neuronowa (NSE) i antygen żołądkowo-jelitowy (CA 19-9) [5, 6, 7, 8]. Dotychczas mało poznana jest w tych przypadkach wartość diagnostyczna takich markerów jak: katepsyna D i prokoagulant nowotworowy (*cancer procoagulant* – CP).

Celem pracy jest ocena wartości diagnostycznej określania stężenia antygenu rakowo-płodowego (CEA) i alfa-fetoproteiny (AFP) oraz aktywności katepsyny D w surowicy krwi chorych z rakiem płuca i przełyku przed radioterapią oraz 6 tyg. i 2 mies. po radioterapii. Wykonano również wstępne określenie aktywności CP w badanych przypadkach.

## MATERIAŁY I METODY

Badania przeprowadzono u 30 chorych z rakiem płaskonabłonkowym płuca oraz u 16 chorych z rakiem płaskonabłonkowym przełyku (potwierdzonym badaniem histopatologicznym) w stopniu zaawansowania III a–b przed radioterapią oraz 6 tyg. i 2 mies. po radioterapii. Ocenę klinicznego zaawansowania przeprowadzono wg po-

wszechnie stosowanej klasyfikacji TNM. Badanie CEA, AFP, katepsyny D i CP przeprowadzono w surowicy krwi pobranej w sposób typowy od pacjentów na czczo z żyły łokciowej. Krew po wykrzepieniu wiorowano, a otrzymaną surowicę przechowywano w stanie zamrożenia w  $-70^{\circ}\text{C}$ . Markery CEA i AFP oznaczono na analizatorze IMX firmy Abbot. Aktywność katepsyny D wyrażono ilością uwolnionej tyrozyny w nM Tyr/ml 2h oznaczonej metodą Folina-Ciocalteu w modyfikacji miedziowej [9]. Aktywność CP określono metodą koagulacyjną i wyrażono ją czasem krzepnięcia w sekundach [10]. Wyższa aktywność CP powodowała skrócenie czasu krzepnięcia wyrażonego w sekundach (s).

## WYNIKI

Wyniki badań przedstawione w tab. wskazują, że w surowicy krwi ludzi z rakiem płuca średnie stężenie CEA przed radioterapią oraz 6 tyg. i 2 mies. po leczeniu odpowiednio wynosi: 6,9 ng/ml, 5,8 ng/ml i 3,1 ng/ml, natomiast stężenie AFP ma odpowiednio wartości: 9,0 ng/ml, 8,6 ng/ml i 7,6 ng/ml. Wartości prawidłowe stężenia CEA i AFP mieszczą się w granicach: 0,0–3,0 ng/ml i 0,0–8,6 ng/ml. Aktywność katepsyny D w badanych przypadkach wynosi: 60,3 nM Tyr/ml/2h, 54,0 nM Tyr/ml/2h i 57,4 nM Tyr/ml/2h przy wartości prawidłowej enzymu w granicach 44,2–58,4 nM Tyr/ml/2h. Aktywność prokoagulantu nowotworowego (CP) przed leczeniem wynosi 156 s. Natomiast wartość prawidłowa wynosi 300 s. W surowicy krwi chorych

Neoplastic markers used in oncological diagnosis are useful in detection and determination of clinical stages of cancer and radicalism of operative procedure and in monitoring of therapy. Until now it is little known about the possibility of using such markers as cathepsin D and cancer procoagulant in oncological diagnosis. The aim of the study was to measure and evaluate the clinical utility of the concentration of carcinoembryonic antigen (CEA) and alpha-fetoprotein and activity of cathepsin D in serum of patients with lung and oesophagus cancer before radiotherapy, however 6 weeks and 2 months after the preliminary determination of cancer procoagulant activity was carried out.

Examinations were carried out on serum obtained from 30 patients with lung planoepitheliale cancer and 16 patients with oesophagus planoepitheliale cancer in III a-b clinical stages (according to generally accepted classification - TNM) before radiotherapy, 6 weeks and 2 months after radiotherapy. Blood was taken from the elbow vein in the typical way and CEA, CFP, cathepsin D and procoagulant determination were determined in the obtained serum. CEA and AFP markers were determined by IMX Abbot analyzer. Activity of cathepsin D was determined by Folin-Ciocalteu method. Cancer procoagulant activity was examined by the coagulation method of Gordon and Benson.

Results of the examination show that CEA concentration in cases of lung and oesophageal cancer was more than twice times higher before radiotherapy in comparison to control values. However 6 weeks after the treatment the CEA concentration was significantly decreased and two months after radiotherapy reached normal values. The examinations demonstrate that determination of CEA concentration in lung and oesophageal cancer is of great importance in cancer detection and in monitoring of cancer therapy. The high activity of cancer procoagulant in the blood serum of patients with lung and oesophageal cancer before treatment in comparison to control group was also shown. That is why cancer procoagulant should be regarded as a biochemical neoplastic marker, which may have a considerable significance in detecting of neoplastic disease. However, determination of AFP

Tab. Wyniki badania markerów nowotworowych w surowicy krwi chorych z rakiem płuca i przełyku

Marker	Wartości prawidłowe	Rak	Przed radioterapią	6 tyg. po radioterapii	2 mies. po radioterapii
CEA [ng/ml]	0,0–3,0	płuca	6,9 [1,8–8,5]	5,8 [4,6–7,2]	3,1 [2,1–4,2]
		przełyku	6,3 [4,7–7,4]	5,2 [4,0–6,5]	3,0 [2,0–3,9]
AFP [ng/ml]	0,0–8,6	płuca	9,0 [7,8–10,1]	8,6 [7,2–9,5]	7,6 [6,0–9,1]
		przełyku	8,8 [7,5–9,3]	8,0 [6,6–9,2]	7,3 [6,9–8,6]
Katepsyna D44,2–58,4 [nM Tyr/ml/2h]		płuca	60,3 [58,8–65,1]	54,0 [51,5–57,2]	57,4 [51,1–62,0]
		przełyku	46,1 [44,5–48,9]	48,4 [45,0–50,6]	51,6 [49,0–54,2]
CP [s]	300	płuca	156 [60–240]		
		przełyku	88 [70–120]		

z rakiem przełyku przed leczeniem oraz 6 tyg. i 2 mies. po radioterapii stwierdzono następujące stężenia CEA: 6,3 ng/ml, 5,2 ng/ml, 3,0 ng/ml, AFP: 8,8 ng/ml, 8,0 ng/ml i 7,3 ng/ml. Aktywność katepsyny D odpowiednio wynosi: 46,1 nM Tyr/ml/2h, 48,4 nM Tyr/ml/2h i 51,6 nM Tyr/ml/2h. Aktywność CP w badanych przypadkach przed leczeniem ma wartość 88 s.

## DYSKUSJA

Antygen rakowo-płodowy (CEA) jest jednym z najczęściej oznaczanych markerów w przypadkach chorób nowotworowych [1, 2, 3, 11]. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że również w raku płuca i przełyku badanie stężenia CEA posiada wartość diagnostyczno-prognostyczną. Stężenie tego markera przed radioterapią było podwyższone przeszło 2-krotnie w porównaniu z wartościami prawidłowymi. Wzrost stężenia CEA stwierdzono u 48 proc. chorych z rakiem płuca i 45 proc. chorych z rakiem przełyku.

Zarówno w przypadku raka płuca, jak i przełyku poziom CEA 6 tyg. po leczeniu obniżył się, a 2 mies. po radioterapii osiągnął wartość prawidłową. Z uzyskanych danych wynika, że badane stężenie CEA w przypadku raka płuca i raka przełyku ma dużą wartość w ocenie skuteczności leczenia. Na przydatność oznaczania CEA w ocenie skuteczności leczenia wskazują również doniesienia innych badaczy [12]. Z badań Goslina i wsp. [13] wynika, że przyczyną wzrostu stężenia CEA w surowicy jest jego wytwarzanie przez komórki nowotworowe i przenikanie do krwiobiegu. Nieużyteczne diagnostycznie jest natomiast oznaczanie AFP w przypadkach raka płu-

ca i przełyku, ponieważ stwierdzone stężenie tego markeru nie odbiega w istotny sposób od wartości prawidłowych.

Jak wykazały przeprowadzone badania, aktywność katepsyny D w surowicy krwi chorych z rakiem płuca i przełyku jest zbliżona do wartości prawidłowych. Z doniesień literaturowych wynika, że w homogenatach tkanek nowotworowych występuje wysoka aktywność katepsyny D [14, 15], natomiast w surowicy krwi stwierdzono wzrost aktywności katepsyny D u chorych z marskością wątroby i nowotworami wątroby oraz brak takiego wzrostu w przypadkach raka sutka [16]. Można przypuszczać, że przechodzenie katepsyny D z komórek nowotworowych do krwi ma miejsce jedynie w przypadkach znacznych rozmiarów guza, zwłaszcza gdy ulega on martwicy i rozpadowi. W innych przypadkach przedostające się do krwi niewielkie ilości katepsyny D są znacznie rozcieńczone dużą objętością krwi i jej przyrost jest trudny do wykazania. Brak podwyższonej aktywności katepsyny D w surowicy krwi badanych chorych może też być spowodowany przez przeciwciała, inhibitory lub inne czynniki.

W diagnostyce i monitorowaniu leczenia chorych obarczonych nowotworem użyteczne może być oznaczanie aktywności nowego markeru – prokoagulantu nowotworowego (CP) [17, 18]. Stwierdzona wysoka aktywność CP w surowicy krwi pacjentów z rakiem płuca i przełyku przed leczeniem, w porównaniu z osobami zdrowymi wskazuje, że badanie aktywności tego enzymu może być wykorzystane w diagnostyce onkologicznej.

*concentration and cathepsin D activity in lung and oesophageal cancer is diagnostically not useful, since the values of these markers do not significantly differ from the normal values.*

*Key words: CEA, AFP, cathepsin D, CP, lung cancer, oesophagus cancer.*

## WNIOSKI

Przed radioterapią stężenie CEA i aktywność CP w surowicy krwi badanych pacjentów były 2-krotnie wyższe w porównaniu do wartości prawidłowych.

Po radioterapii stężenie CEA w surowicy krwi pacjentów wracało do wartości prawidłowych.

Z badanych markerów wartość diagnostyczną w przypadkach raka płuca i przełyku ma tylko CEA i CP.

## PIŚMIENNICTWO

- Nikliński J, Furman M. *Clinical tumor markers in lung cancer*. Eur J Cancer Prev 1995; 4: 129-32.
- Sedlaczek P, Harłodzińska A, Goluda M, Gryboś M, Bar J. *Ocena roli TPS i CA 125 w monitorowaniu raka jajnika*. Nowotwory 1998; 48: 867-78.
- Safianowska A, Grubek-Jaworska H, Droszcz P, Rybus L, Dąbrowski A, Zwolska Z, Matysiak W, Chazan R. *Stężenie CEA, przeciwciał skierowanych przeciw antygenom prątkowym oraz aktywność ACE w surowicy i w DALF chorych na sarkoidozę, gruźlicę i raka płuca – wyniki wstępne*. Pneumonol Alergol Pol 2001; 69: 5-13.
- Szymendera JJ, Gózdź SS. *Rola krążących markerów nowotworowych w diagnostyce i monitorowaniu leczenia chorych na nowotwory*. Nowotwory 1995; 45: 369-83.
- Tas F, Aydinler A, Topuz E, Yasasever V, Karadeniz A, Saip P. *Utility of the serum tumor markers: CYFRA 21-1, carcinoembryonic antigen (CEA), and squamous cell carcinoma antigen (SCC) in squamous cell lung cancer*. J Exp Clin Cancer Res 2000; 19: 477-81.
- Kozłowski M, Nikliński J, Furman M. *Przydatność badań markerów CEA, SCC-Ag, CA 19-9, CYFRA 21-1 u chorych na raka przełyku*. Markery Nowotworowe 1995; 14-15. X., 44.
- Nikliński J, Furman M, Kozłowski M, Laudziński J, Kurzyńska A. *Analiza nowego biomarkera nowotworowego CYFRA 21-1 u chorych z rakiem płuca leczonych operacyjnie, badania porównawcze z CEA, SCC-Ag i TPA*. W: Wiechowski S. (red.). *Wybrane zagadnienia z chirurgii*. 1995; 325-7.
- Rastel D, Comoy E, Levasseur Ph. *Pre and post operative values of CYFRA 21-1, CEA, SCC, TPA and NSE in primary lung cancer*. Markery nowotworowe 1993; 14-15. X., 44.
- Barrett AJ. *Cathepsin D and other carboxylproteinases*. In: Barrett AJ (ed). *Proteinases in mammalian and tissues*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, New York, Oxford 1977; 240-3.
- Gordon SG, Benson B. *Analysis of serum CP activity and its possible use as a tumor marker*. Thrombos Res 1989; 56: 431-40.
- Salgia R, Harpole D, Herndon JE, et al. *Role of serum tumor markers CA 125 and CEA in non-small cell lung cancer*. Anticancer Res 2001; 21: 1241-6.
- Bąbrowicz D, Michałowicz E, Słowik-Gabrylewska A, Gładysz K, Bąbrowicz J. *Antygen rakowo-embryonalny w raku oskrzelowym. Badania radioimmunologiczne surowicy krwi w przebiegu leczenia*. Immunol Pol 1985; 10: 331-43.
- Goslin RH, Skarin A, Zamcheck N. *Carcinoembryonic antigen, a useful monitor of therapy of small cell lung cancer*. JAMA 1981; 246: 2173-6.
- Kiluk M, Skrzydlewski Z, Kiluk A, Woroniecki A, Rucińska M, Kozłowski L. *Aktywność katepsyny D w nowotworach przewodu pokarmowego*. Pol Merk Lek 1997; 2: 307-8.

- Leto G, Gebbia N, Rausa L, Tumminello FM. *Cathepsin D while malignant progression of neoplastic disease*. Anticancer Res 1992; 12: 235-48.
- Brouillet JP, Hanslick B, Mandelonde T, Pivot M, Grenier J, Blanc F, Rochefort H. *Increased plasma cathepsin D concentration in hepatic carcinoma and cirrhosis but not in breast cancer*. Clin Biochem 1991; 24: 491-6.
- Gordon SG, Cross BA. *An enzyme-linked immunosorbent assay for cancer procoagulant and its potential as a new tumor marker*. Cancer Res 1990; 50: 6229-34.
- Kozusko B, Skrzydlewski Z, Kozłowski M, Snarska J. *Wartość diagnostyczna badania aktywności prokoagulantu nowotworowego w przypadkach raka żołądka i raka przełyku*. Pol Merkur Lek 2001; 10: 143-4.

## ADRES DO KORESPONDENCJI

mgr Sławomir Szajda

Samodzielna Pracownia Ogólnej Analityki Klinicznej  
ul. Mickiewicza 2C  
15-230 Białystok  
tel. (085) 742 20 21 w. 2251