

Oznaczanie markerów nowotworowych wykorzystywanych w diagnostyce onkologicznej pozwala w coraz większym stopniu na wczesne wykrycie i ustalenie stopnia zaawansowania klinicznego oraz na monitorowanie leczenia choroby nowotworowej.

Celem pracy była ocena przydatności PSA, katepsyny D i prokoagulantu nowotworowego (CP) do wykrywania raka gruczołu krokowego. Badanie stężenia PSA, aktywności katepsyny D i aktywności CP przeprowadzono w surowicy krwi 12 chorych na raka gruczołu krokowego oraz 12 mężczyzn zdrowych (wolontariuszy). Stężenie PSA oznaczano na analizatorze Axsym firmy Abbott i wyrażano w ng/ml. Aktywność katepsyny D oznaczano metodą Folina-Ciocalteu w modyfikacji miedziowej i wyrażano ilością uwolnionej tyrozyny w nM Tyr/ml/4 godz. Aktywność CP oznaczano metodą koagulacyjną wg Gordona i Bensona wyrażając ją czasem krzepnięcia w sekundach (s).

Stężenie PSA jak i aktywność CP w surowicy krwi chorych są ponadczterokrotnie wyższe od górnej wartości referencyjnej dla PSA oraz od średniej aktywności CP w surowicy krwi osób zdrowych ($p < 0,001$). Aktywność katepsyny D w surowicy krwi chorych na raka gruczołu krokowego jest zbliżona do wartości prawidłowych. Badanie stężenia PSA i aktywności CP ma wartość diagnostyczną.

Słowa kluczowe: PSA, katepsyna D, CP, rak gruczołu krokowego.

Wybrane markery nowotworowe w diagnostyce raka gruczołu krokowego

Selected tumor markers in the diagnostics of prostate cancer

Sławomir Dariusz Szajda, Barbara Darewicz, Tadeusz Werel, Marcin Chlabicz, Zdzisław Skrzydlewski, Ewa Chabielska

Klinika Urologii, Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Akademia Medyczna w Białymstoku

WSTĘP

Jednym z podstawowych badań wykorzystywanych w diagnostyce onkologicznej jest oznaczanie markerów nowotworowych, cechujących się dużą specyficznością i czułością w stosunku do określonego nowotworu [1]. Pozwalają one w coraz większym stopniu na wczesne wykrycie i ustalenie stopnia zaawansowania klinicznego oraz na monitorowanie leczenia choroby nowotworowej [2, 3]. Podstawowym, dobrze poznanym markerem, przydatnym obok wywiadu, badania *per rectum* i ultrasonografii przezodbytnicznej (TRUS) jest w diagnostyce onkologicznej gruczołu krokowego swoisty antygen sterczowy (ang. *prostate specific antigen* – PSA) [1, 4]. Wysokie stężenie tego antygeny w surowicy krwi potwierdza z dużym prawdopodobieństwem obecność zmiany nowotworowej. Obecnie stosunkowo słabo poznana jest przydatność badania katepsyny D i prokoagulantu nowotworowego (ang. *cancer procoagulant* – CP) w diagnostyce onkologicznej raka gruczołu krokowego. Katepsyna D jako enzymem kaskady proteolitycznej, czynnie uczestniczy w procesie inwazji nowotworowej na skutek miejscowego naciekania i tworzenia przerzutów [5]. Badanie aktywności katepsyny D wykonane w surowicy krwi i w homogenatach

tkanek raka żołądka oraz raka jelita grubego wskazuje na wysoką aktywność enzymu w odniesieniu do materiału kontrolnego [6]. Prokoagulant nowotworowy jest enzymem, proteinazą cysteinową, występującym u ludzi chorych na nowotwory, a niewystępującym u osób zdrowych [7]. Rucińska i wsp. [8] przeprowadzili badanie aktywności CP w surowicy krwi chorych na raka płuca, raka piersi, raka przełyku i raka jelita grubego pozwalające na stwierdzenie, iż aktywność CP w surowicy krwi chorych istotnie statystycznie przewyższa aktywność tego enzymu w surowicy krwi osób zdrowych.

Celem pracy była ocena stężenia PSA oraz aktywności katepsyny D i prokoagulantu nowotworowego w surowicy krwi chorych na raka gruczołu krokowego, jak również ocena wartości badania tych markerów w diagnostyce onkologicznej.

MATERIAŁ I METODY

Badanie przeprowadzono za zgodą Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Białymstoku. Badaniem objęto 12 pacjentów w wieku od 59 do 74 (średnio $67,8 \pm 5,2$ lat), leczonych w Klinice Urologii AM w Białymstoku z potwierdzonym w badaniu histopatologicznym rakiem gruczołu krokowego (*adenocarcinoma*) w stopniu zaawansowania pT2a-c,

The assessment of tumor markers in oncological diagnostics facilitate early detection and clinical staging as well as monitoring of treatment of neoplastic diseases.

The aim of the study was to evaluate the usefulness of psa, cathepsin d and cancer procoagulant (CP) in the detection of prostate cancer.

Serum PSA concentration and the activity of cathepsin D and CP were evaluated in 12 patients with prostate cancer and in 12 healthy men. PSA concentration was assessed using Axsym analyzer manufactured by Abbott and its value was expressed in ng/ml. The activity of cathepsin D was determined by Folin-Ciocalteu method in cupric modification and measured as the amount of released tyrosine in nM Tyr/ml/4h. The activity of CP was determined using the coagulative method according to Gordon and Benson, and was expressed as coagulation time in seconds (s).

Serum PSA concentration and the activity of CP in patients with prostate cancer are over four times higher than the upper limit of normal PSA and than the mean serum activity of CP in healthy men ($p < 0.001$). The serum activity of cathepsin D in patients with prostate cancer is close to normal value. The assessments of PSA concentrations and the activity of CP are of great diagnostic value.

Key words: PSA, cathepsin D, CP, prostate cancer.

oraz 12 mężczyzn zdrowych w wieku od 54 do 68 (średnio $60,85 \pm 4,5$ lat). Oceny klinicznego zaawansowania dokonano zgodnie z powszechnie stosowaną klasyfikacją TNM [9]. Materiał badany stanowiła krew pobrana na czczo z żyły łokciowej w sposób typowy, którą po wykrzepieniu wirowano, a otrzymaną surowicę poddawano badaniu. Stężenie PSA oznaczano metodą immunoenzymatyczną na analizatorze Axsym firmy Abbott i wyrażano w ng/ml. Aktywność katepsyny D oznaczano metodą Folina-Ciocalteu w modyfikacji uwolnionej tyrozyny w nM Tyr/ml/4 godz. Aktywność CP oznaczano metodą koagulacyjną wg Gordona i Bensona [11] i wyrażano ją czasem krzepnięcia w sekundach (s).

Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu testu Manna-Whitneya. Za poziom istotności statystycznej różnic przyjęto $p < 0,05$.

WYNIKI

Uzyskane wyniki badania stężenia PSA, aktywności katepsyny D i CP przedstawione zostały w tabeli.

Stężenie PSA w surowicy krwi chorych na raka gruczołu krokowego wynosiło od 3,35 do 40,86 ng/ml (średnio $18,02 \pm 13,04$ ng/ml), a mężczyzn zdrowych od 0,0 do 4,0 ng/ml. Aktywność katepsyny D w badanych przypadkach wynosiła od 88 do 152 nM Tyr/ml/4 godz. (średnio $113,33 \pm 16,30$ nM Tyr/ml/4 godz.), przy wartościach prawidłowych u zdrowych mężczyzn od 88 do 160 nM Tyr/ml/4 godz. (średnio $111,33 \pm 19,43$ nM Tyr/ml/4 godz.).

Aktywność CP w surowicy krwi chorych na raka gruczołu krokowego wynosiła od 36 do 111 (średnio $63,42 \pm 20,27$ s), natomiast aktywność tego enzymu w surowicy krwi zdrowych mężczyzn miała wartość od 277 do 312 (średnio $290,67 \pm 18,72$ s).

DYSKUSJA

Podstawowym celem badania markerów nowotworowych w diagnostyce onkologicznej jest ich wykrycie we krwi pacjenta, wtedy gdy zmiany nowotworowe są jeszcze zbyt małe i niemożliwe do wykrycia na innej drodze, co pozwala na podejmowanie decyzji w zakresie strategii leczenia. Markerem nowotworowym raka gruczołu krokowego jest swoisty antygen sterczowy (PSA) [1]. Białko to w znacznych ilościach wytwarzane jest tylko w prawidłowych i rakowych komórkach nabłonka gruczołu krokowego, a w mniejszych ilościach w prawidłowych komórkach sutka i raka sutka. W śladowych ilościach PSA można zaobserwować w komórkach prawidłowych i raka ślinianek przyusznych, w komórkach raka wątroby, nerek, nadnerczy, raka okrężnicy i raka jajnika [12–14].

W rozroście nowotworowym uczestniczą również enzymy proteolityczne, takie jak katepsyna D [15]. Przyjmuje się, że wydzielana przez komórki nowotworowe katepsyna D może aktywować proenzymy innych proteaz, uruchamiając kaskadę proteolityczną, przyczyniającą się w ten sposób do inwazji procesu nowotworowego i tworzenia przerzutów [5]. Dane eksperymentalne sugerują, że wysoka aktywność katepsyny D wy-

Tab. Wyniki badania markerów nowotworowych w surowicy krwi chorych z rakiem gruczołu krokowego
Table. Results of assessments of tumor markers in serum of patients with prostate cancer

Markery	Osoby zdrowe		Chorzy na raka gruczołu krokowego		
	\bar{X}	SD±	\bar{X}	SD±	p
PSA [ng/ml]	0,0–4,0	–	18,02 (3,35–40,86)	13,04	$p < 0,001$
Katepsyna D [nM Tyr/ml/4 godz.]	111,33 (88–160)	19,43	113,33 (88–152)	16,30	NS
CP [s]	290,67 (277–312)	18,72	63,42 (36–111)	20,27	$p < 0,001$

stępuje u chorych na raka jajnika [16], raka endometrium i raka szyjki macicy [17] oraz w innych nowotworach przewodu pokarmowego i pęcherza moczowego [6, 18]. Badaniem użytecznym w diagnostyce onkologicznej chorych na raka gruczołu krokowego może być oznaczenie aktywności prokoagulantu nowotworowego (CP) [19]. Kozwicz i wsp. [20], badając stężenie PSA i aktywność CP u chorych na raka gruczołu krokowego stwierdzili, że czułość PSA jako markera nowotworowego wynosi 58%, natomiast czułość CP wynosi 81%, a we wczesnych stadiach choroby zbliżona jest nawet do 100 proc.

Wyniki badania stężenia PSA i aktywności CP w surowicy krwi chorych na raka gruczołu krokowego oraz w surowicy krwi osób zdrowych, wskazują na istotne statystycznie różnice między grupami badanymi i odpowiednimi grupami kontrolnymi ($p < 0,001$). Uzyskane wyniki, zarówno dla stężenia PSA, jak i aktywności CP w surowicy krwi chorych są ponadczterokrotnie wyższe od górnej wartości preferencyjnej dla PSA oraz od średniej aktywności CP w surowicy krwi osób zdrowych. Natomiast brak istotności obserwuje się w badaniu aktywności katepsyny D w surowicy krwi chorych na raka gruczołu krokowego, a aktywnością tego enzymu u mężczyzn zdrowych. Aktywność katepsyny D w surowicy krwi chorych na raka gruczołu krokowego jest zbliżona do wartości prawidłowych. Uzyskane wyniki potwierdzają obserwację, że przechodzenie katepsyny D z komórek nowotworowych do krwi ma miejsce jedynie w przypadkach znacznych rozmiarów guza, zwłaszcza gdy ulega on martwicy i rozpadowi. Obecność przeciwciał, inhibitorów lub innych czynników we krwi może również być przyczyną braku podwyższonej aktywności katepsyny D w surowicy krwi chorych na raka gruczołu krokowego.

Wartości uzyskane dla osób zdrowych zbliżone były do wyników stwierdzanych w naszych poprzednich badaniach aktywności katepsyny D [3] i aktywności CP [8].

WNIOSKI

- ▶ W surowicy krwi chorych na raka gruczołu krokowego stężenie PSA i aktywność CP jest znamienne wyższa niż w surowicy krwi mężczyzn zdrowych.
- ▶ Aktywność katepsyny D w surowicy krwi badanych chorych nieznacznie tylko różni się od aktywności tego enzymu w grupie kontrolnej.
- ▶ Wstępna ocena aktywności CP w badanych przypadkach wskazuje na możliwość wykorzystania tego enzymu w diagnostyce onkologicznej gruczołu krokowego.
- ▶ Przeprowadzone badanie potwierdza wysoką wartość diagnostyczną oznaczenia stężenia PSA w surowicy krwi chorych na raka gruczołu krokowego.

PIŚMIENNICTWO

1. Duffy MJ. *Clinical uses of tumor markers: a critical review*. Crit Rev Clin Lab Sci 2001; 38: 225-62.
2. Nikliński J, Furman M. *Clinical tumor markers in lung cancer*. Eur J Cancer Prev 1995; 4: 129-32.
3. Szajda SD, Kiluk M, Wiśniewski R, Skrzydlewski Z. *Wartość diagnostyczna markerów nowotworowych: CEA, AFP, Katepsyny D i peokoagulantu nowotworowego (CP) w przypadkach raka płuca i przełyku*. Współczesna Onkologia 2002; 6: 9-11.
4. Matuszewska K, Matuszewski M, Jassem J. *Rola badań przesiewowych w raku gruczołu krokowego*. Współczesna Onkologia 2003; 7: 160-5.
5. Tomaszewski JJ, Tomaszewski T. *Enzymy lityczne w proliferacji nowotworowej*. Diagn Lab 1991; 27: 56-62.
6. Kiluk M, Skrzydlewski Z, Kiluk A i wsp. *Aktywność katepsyny D w niektórych nowotworach przewodu pokarmowego*. Pol Merkuriusz Lek 1997; 11: 307-8.
7. Gordon SG, Franks JJ, Lewis BJ. *Comparison of procoagulant activities in extracts of normal and malignant human tissue*. J Nat Cancer Inst 1979; 62: 773-6.
8. Rucińska M, Furman M, Skrzydlewski Z, Zaremba E. *Activity of cancer procoagulant (CP) in serum of patients with cancer of lung, breast, oesophagus and colorectum*. Acta Biochim Pol 1997; 44: 109-12.
9. Shroder FH, Hermanek P, Denis L, et al. *The TNM classification of prostate carcinoma*. Prostate 1992; 4 (supl.): 129-38.
10. Barret AJ. *Proteinases in mammalian cells in tissues*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, New York, Oxford 1977: 46-135.
11. Gordon SG, Benson B. *Analysis of serum cancer procoagulant activity and its potential as a tumor marker*. Thromb Res 1989; 56: 431-40.
12. Armbruster DA. *Prostate-specific antigen: biochemistry, analytical methods, and clinical application*. Clin Chem 1993; 39: 181-95.
13. Levesque M, Hu H, D'Costa M, Diamandis EP. *Prostate-specific antigen expression by various tumors*. J Clin Lab Anal 1995; 9: 123-8.
14. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. *Prostate specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate*. N Engl J Med 1987; 317: 909-16.
15. Mylonas I, Makovitzky J, Richter DU, Jeschke U, et al. *Cathepsin D expression in normal, hyperplastic and malignant endometrial tissue: an immunohistochemical analysis*. Acta Histochem 2003; 105: 245-52.
16. Scambia G, Brnedetti P, Ferrandina G, et al. *Cathepsin D assay in ovarian cancer: correlation with pathological features and receptors for oestrogen, progesterone and epidermal growth factor*. Br J Cancer 1991; 64: 182-4.
17. Scambia G, Benedetti Panici P, Ferrandina G, et al. *Significance of cathepsin-D expression in uterine tumours*. Eur J Cancer 1995; 31: 1449-54.
18. Droller MJ. *Expression of cathepsin D in urothelial carcinoma of the urinary bladder: an immunohistochemical study including correlations with extracellular matrix components, CD 44, p53, Rb, c-erb B-2 and the proliferation indices*. J Uro 2003; 170: 671-2.
19. Mielicki W. *Biochemistry of cancer procoagulant*. Haemostasis 2001; 31 (Suppl 1): 8-10.
20. Kozwicz DL, Kramer LC, Mielicki WP, Fotopoulos SS, Gordon SG. *Applications of cancer procoagulant as an early detection tumor marker*. Cancer 1994; 74: 1367-76.

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr hab. med. **Barbara Darewicz**
Klinika Urologii
Akademii Medycznej w Białymstoku
Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny
ul. M. Skłodowskiej-Curie 24a
15-276 Białystok
tel. 0 (prefiks) 85 746 82 84
e-mail: urolamb@cksr.ac.bialystok.pl