

Diagnostyka raka trzustki w głównej mierze opiera się na wykorzystaniu metod obrazowania, USG i tomografii komputerowej. Badaniem dodatkowym jest oznaczanie markerów nowotworowych, pozwalających na wykrycie i kontrolę procesu leczenia raka trzustki. Podstawowym, dobrze poznanym markerem w diagnostyce raka trzustki jest antygen towarzyszący nowotworom przewodu pokarmowego (CA19-9). Stosunkowo słabo poznanymi markerami w diagnostyce onkologicznej raka trzustki są katepsyna D i nowotworowy prokoagulant (CP). Badanie miało na celu ocenę przydatności CA19-9, katepsyny D i CP do wykrywania raka trzustki. Materiał badany stanowiła surowica krwi 11 chorych na raka trzustki oraz 11 osób zdrowych. Stężenie CA19-9 oznaczano metodą immunoenzymatyczną (MEIA) na analizatorze Axsym firmy Abbott i wyrażano w IU/ml. Aktywność katepsyny D badano metodą Folina-Ciocalteu w modyfikacji miedziowej i wyrażano ilością uwolnionej tyrozyny w nM Tyr/ml/4 godz. Aktywność CP badano metodą koagulacyjną opracowaną przez Gordona i Bensona, wyrażając czasem krzepnięcia w sekundach (s).

Na podstawie uzyskanych wyników w surowicy krwi stwierdzono ponad 19 razy wyższe stężenie CA19-9 w porównaniu do górnej wartości referencyjnej dla CA19-9. Aktywność CP u chorych z rakiem trzustki jest ponadtrzykrotnie wyższa od średniej aktywności tego enzymu w surowicy krwi osób zdrowych. Zarówno dla CA19-9 i CP powstałe różnice między materiałem badanym i kontrolnym są statystycznie istotne ( $p < 0,001$ ). Aktywność katepsyny D w surowicy krwi chorych z rakiem trzustki jest zbliżona do wartości prawidłowych. Uzyskane wyniki potwierdzają wysoką wartość diagnostyczną badania stężenia CA19-9 i sugerują również możliwość wykorzystania badania aktywności CP w diagnostyce onkologicznej trzustki.

Słowa kluczowe: rak trzustki, CA19-9, katepsyna D, nowotworowy prokoagulant (CP).

# Ocena przydatności badania niektórych markerów nowotworowych w diagnostyce raka trzustki

## *Usefulness of examination of some tumor markers in the diagnostics of pancreas cancer*

Sławomir Dariusz Szajda, Jadwiga Snarska, Marcin Chlabicz, Barbara Mroczo, Zdzisław Skrzydlewski

I Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej, Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Klinika Urologii, Zakład Diagnostyki Biochemicznej, Akademii Medycznej w Białymstoku

### WSTĘP

Podstawą powodzenia leczenia chorób nowotworowych jest ich wczesne wykrycie. Dlatego też istnieje konieczność opracowania nowych metod diagnostycznych, opartych m.in. na czułych i swoistych markerach nowotworowych, pozwalających na jak najwcześniejsze zdiagnozowanie tych schorzeń.

Markerem nowotworowym, wykorzystywanym z wyboru w diagnostyce raka trzustki, jest antygen towarzyszący nowotworom przewodu pokarmowego (CA19-9) [1]. Antygen ten w niewielkich ilościach wytwarzany jest w przewodach trzustkowych i żółciowych, w gruczołach ślinowych oraz oskrzelowych. Znalazł on zastosowanie w diagnostyce raka przewodu pokarmowego, szczególnie trzustki i pęcherzyka żółciowego oraz żołądka [1–4]. Innymi markerami choroby nowotworowej, których zastosowanie w diagnostyce onkologicznej raka trzustki zostało w niewielkim stopniu poznane, są katepsyna D i prokoagulant nowotworowy (*cancer procoagulant*, CP).

Katepsyna D jest enzymem kaskady proteolitycznej, którego wysoką aktywność stwierdzono u ko-

biet chorych na raka guzka piersiowego [5] i raka narządów płciowych wewnętrznych [6, 7].

Nowotworowy prokoagulant występuje w tkankach zmienionych nowotworowo, a nie występuje w tkankach prawidłowych [8]. Powoduje on wzmożone krzepnięcie krwi w chorobie nowotworowej przez bezpośrednią aktywację czynnika X, bez udziału czynnika VII [9]. Wysoką aktywność CP stwierdzono w raku przełyku, żołądka i jelita grubego [10], raku trzustki, wątroby [11] oraz w innych nowotworach [12].

Celem pracy była ocena stężenia CA19-9 oraz aktywności katepsyny D i CP w surowicy krwi chorych z gruczolakorakiem trzustki oraz możliwości wykorzystania tych markerów w diagnostyce onkologicznej.

### MATERIAŁ I METODY

Badanie przeprowadzono w surowicy krwi pobranej przed zabiegiem operacyjnym od 11 chorych (3 kobiet i 8 mężczyzn) w wieku  $59 \pm 13,78$  lat, leczonych w I Klinice Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej AM w Białymstoku, z potwierdzonym w badaniu histopatologicznym rakiem trzustki (*adenocarcino-*

*Diagnostics of pancreas cancer is mainly based on applying imaging methods, USG and computer tomography. Additional examination involves the determination of tumor markers, which allow pancreas cancer to be detected and its treatment to be controlled. Antigen accompanying digestive tract cancers is the basic and well known marker in the diagnostics of pancreas cancer (CA 19-9). Cathepsin D and cancer procoagulant are relatively vaguely known markers in oncological diagnostics of pancreas cancer.*

*The study aimed at evaluating usefulness of Ca 19-9, cathepsin D and CP in pancreas cancer detection. The examination material included blood serum of 11 pancreas cancer patients and 11 controls. CA 19-9 concentration was determined using the immunoenzymatic method (MEIA) using Axym analyzer manufactured by Abbott and expressed in IU/ml. Cathepsin D activity was examined using Folin-Ciocalteu method in copper modification and was expressed by the quantity of released tyrosine in nM Tyr/ml/4 hours. CP activity was examined using the coagulation method of Gordon and Benson, expressing it by coagulation period in second (s). CA 19-9 concentration was found to be more than 19 times higher as compared to the high referential value for CA 19-9 in the blood serum (on the basis of the obtained results). CP activity in pancreas cancer patients is more than 3 times higher than mean activity of this enzyme in the blood serum of healthy controls. Differences between the examined and the control material are statistically significant ( $p < 0.001$ ) both for CA 19-9 and CP. Cathepsin D activity in blood serum of pancreas cancer patients is close to the normal values. The obtained results confirm the high diagnostic value of examination of CA 19-9 concentration and suggest also the possibility of applying the examination of CP activity in oncological diagnostics of the pancreas.*

*Key words: pancreas cancer, CA19-9, cathepsin D, cancer procoagulant.*

ma) oraz w surowicy krwi 11 osób zdrowych (4 kobiet i 7 mężczyzn), w wieku  $47 \pm 15,81$  lat. Krew do badania, zarówno od chorych, jak i zdrowych osób, pobierano z żyły łokciowej w sposób typowy. Badani pacjenci nie byli uprzednio poddani chemioterapii ani radioterapii. Stężenie CA19-9 oznaczano metodą immunoenzymatyczną (MEIA) na analizatorze Axsym firmy Abbott i wyrażano w IU/ml. Aktywność katepsyny D oznaczano metodą Folina-Ciocalteu w modyfikacji miedziowej [13] i wyrażano ilością uwolnionej tyrozyny w nM Tyr/ml/4 godz. Aktywność CP oznaczano metodą koagulacyjną wg Gordona i Bensona [14] i wyrażano ją czasem krzepnięcia w sekundach (s). Wyniki opracowano pakietem statystycznym SPSS® 8.0 Windows PL wg testu Manna-Whitney'a. Za poziom istotności statystycznej różnic przyjęto  $p < 0,05$ .

## WYNIKI

Wyniki badania stężenia CA19-9, aktywności katepsyny D i CP zawarte zostały w tab. 1.

Stężenie CA19-9 w surowicy krwi chorych na raka trzustki wynosiło od 242,02 do 1241 IU/ml (średnio  $703,00 \pm 335,96$  IU/ml), przy wartościach prawidłowych u osób zdrowych od 0 do 37 IU/ml. Aktywność katepsyny D w badanym materiale wynosiła od 88 do 224 nM Tyr/ml/4 godz. (średnio  $159,82 \pm 41,99$  nM Tyr/ml/4 godz.), a w grupie kontrolnej od 144 do 176 nM Tyr/ml/4 godz. (średnio  $156,36 \pm 10,35$  nM Tyr/ml/4 godz.). Aktywność CP w surowicy krwi chorych na raka trzustki wynosiła od 63 do 122 s (średnio  $87,73 \pm 21,62$  s), a aktywność tego enzymu w surowicy krwi osób zdrowych kształtowała się na poziomie od 247 do 380 s (średnio  $299,82 \pm 41,50$  s).

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Badania nad nowotworami wskazują na szereg różnic między tkanką fizjologiczną a tkanką rako-

wą. Różnice te w szczególności dotyczą zmian ilościowych w zawartości różnych składników biochemicznych i aktywności szeregu enzymów, znacznie mniej danych dotyczy różnic jakościowych między tkanką prawidłową i rakową. Badania lat ostatnich pozwoliły na wykrycie biochemicznych markerów nowotworowych, wykorzystywanych do wykrywania i rozpoznania nowotworu oraz monitorowania skuteczności jego leczenia.

Podstawowym markerem w diagnostyce onkologicznej raka trzustki jest CA19-9 [1]. Ze względu na budowę chemiczną jest on siałową pochodną antygeny grupy krwi Lewis [2, 3]. CA19-9 wykorzystywany jest w monitorowaniu leczenia głównie raka trzustki, ponadto raka dróg żółciowych i raka żołądka [1-4]. Czulość diagnostyczna tego markera wynosi 70 proc., a we wczesnych stadiach zaawansowania 67 proc. [15]. Podwyższone stężenie CA19-9 występuje również w stanach zapalnych przewodu pokarmowego, wątroby, trzustki. Jest ono wtedy znacznie niższe niż stężenie tego antygeny u chorych na nowotwór złośliwy, co daje możliwość wykorzystania Ca19-9 do różnicowania choroby o etiologii nienowotworowej z chorobą nowotworową [1].

Nowotwory są potencjalnym źródłem szeregu enzymów litycznych, proteaz tkankowych, do których zalicza się katepsynę D [16]. Enzym ten jest proteinazą aspartylową, wchodzącą w skład kaskady proteolitycznej, biorącej udział w inwazji nowotworowej i tworzeniu przerzutów [17]. Wzrost ekspresji tego enzymu stwierdzono u chorych na raka piersi [4, 5], raka endometrium, raka szyjki macicy i raka jajnika [6, 7]. Sylven i Bois-Swensson [18] wyrażają pogląd, że nowotwory bardziej złośliwe charakteryzują się wyższą aktywnością kwaśnych protez niż nowotwory łagodne. Brak podwyższonej aktywności katepsyny D w surowicy krwi wykazano u chorych na raka płuca, raka przełyku

**Tab. 1. Wyniki badania markerów nowotworowych w surowicy krwi chorych z rakiem trzustki**  
**Table 1. Assessment results of tumor markers in serum of pancreas cancer patients**

Markery	Osoby zdrowe		Pacjenci z rakiem trzustki		
	$\bar{X}$	SD±	$\bar{X}$	SD±	p
Ca19-9 [IU/ml]	0-37		703,00	335,96	p<0,001
katepsyna D [nM Tyr/ml/4 godz.]	156,36	10,35	159,82	41,99	NS
CP [s]	299,82	41,50	87,73	21,62	p<0,001

i raka gruczołu krokowego [19, 20]. Aktywność katepsyny D w surowicy krwi chorych na raka trzustki jest zbliżona do wartości prawidłowych i nie wykazuje różnic istotnych statystycznie między materiałem badanym a kontrolnym. Wyniki badania katepsyny D są potwierdzeniem obserwacji, że znaczący wzrost aktywności katepsyny D we krwi ma miejsce jedynie w przypadkach znacznych rozrostów guza [19, 20]. Różne czynniki, takie jak obecność przeciwciał czy inhibitorów we krwi chorego mogą przyczyniać się do stwierdzenia aktywności katepsyny D w surowicy krwi chorych na raka trzustki, zbliżonej do wartości prawidłowych.

Enzymem użytecznym w diagnostyce onkologicznej raka trzustki może być nowotworowy prokoagulant (CP) [9]. CP jest proteinazą cysteinową, która aktywuje krzepnięcie krwi u chorych na nowotwory złośliwe przez bezpośrednią aktywację czynnika X bez udziału fosfolipidów, czynnika VII i czynnika VIII [9]. Wysoką aktywność CP stwierdzono w rakach układu pokarmowego [10, 11] oraz w innych nowotworach [12]. Czulość diagnostyczna wyników oznaczenia CP osiąga 75 proc., a we wczesnych stadiach zaawansowania prawie 100 proc. [15].

Uzyskane wyniki w surowicy krwi chorych na raka trzustki w przypadku stężenia CA19-9 są ponad 19 razy wyższe w porównaniu do górnej wartości referencyjnej przyjętej dla CA19-9. Aktywność CP u chorych na raka trzustki jest ponadtrzykrotnie wyższa od średniej aktywności tego enzymu w surowicy krwi osób zdro-

wych. Zarówno w przypadku CA19-9, jak i CP różnice między materiałem badanym i kontrolnym są statystycznie istotne (p<0,001). Z przeprowadzonych badań wynika, że ocena stężenia CA19-9, jak i aktywności CP może być wykorzystana do wykrywania raka trzustki.

## WNIOSKI

1. W surowicy krwi chorych na raka trzustki stężenie CA19-9 i aktywność CP jest znamienne wyższa niż w surowicy krwi osób zdrowych.
2. Aktywność katepsyny D w surowicy krwi badanych chorych tylko nieznacznie różni się od aktywności tego enzymu w grupie kontrolnej.
3. Ocena stężenia CA19-9, jak również aktywności CP w badanych przypadkach wskazuje na możliwość wykorzystania tych markerów w diagnostyce onkologicznej trzustki.

## PIŚMIENNICTWO

1. Dembińska-Kieć A, Noskalski JW. *Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej*. Wydawnictwo Medyczne Urban&Partner, Wrocław 2002.
2. Olding LB, Thurin J, Svalander C. *Expression of gastrointestinal carcinoma-associated antigen (GICA) detected in human fetal tissues by monoclonal antibody NS-19.9*. Int J Cancer 1984; 34: 187-92.
3. Steinberg W. *The clinical utility of the CA-19.9 tumor associated antigen*. Am J Gastroenterol 1991; 85: 350-5.
4. Duffy MJ. *Clinical uses of tumor markers: a critical review*. Crit Rev Clin Lab Sci 2001; 38: 225-62.
5. Szajda SD, Jankowski M, Zalewska B i wsp. *Aktywność prokoagulanta nowotworowego i katepsyny D*

*w przypadkach raka sutka*. Współcz Onkol 2004; 8: 132-5.

6. 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.
7. Scambia G, Benedetti Panici P, Ferrandina G, et al. *Significance of cathepsin-D expression in uterine tumours*. Eur J Cancer 1995; 31: 1449-54.
8. 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.
9. Mielicki WP. *Biochemistry of cancer procoagulant*. Haemostasis 2001; 31 (Suppl 1): 8-10.
10. Kozuszko B, Skrzydlewski Z, Sulkowska M i wsp. *Aktywność prokoagulanta nowotworowego w przypadkach raka przelyku, żołądka i jelita grubego z uwzględnieniem stopnia klinicznego zaawansowania i typu histologicznego nowotworu*. Pol Merk Lek 2001; 63: 218-20.
11. Snarska J, Szajda S, Skrzydlewski Z. *Ocena przydatności diagnostycznej prokoagulanta nowotworowego w przypadkach raka trzustki, wątroby i jajnika*. Pol Merk Lek 2003; 15: 123-4.
12. Donati MB, Gambacorti Passerini C, Casali B, et al. *Cancer procoagulant in human tumor cells: evidence from melanoma patients*. Cancer Res 1986; 46: 6471-4.
13. Barret AJ. *Proteinases in mammalian cells in tissues*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, New York, Oxford 1977; 46-135.
14. Gordon SG, Benson B. *Analysis of serum cancer procoagulant activity and its potential as a tumor marker*. Thromb Res 1989; 56: 431-40.
15. Kozwicz DL, Kramer LC, Mielicki WP, et al. *Applications of cancer procoagulant as an early detection tumor marker*. Cancer 1994; 74: 1367-76.

16. Mylonas I, Makovitzky J, Richter DU, et al. *Cathepsin D expression in normal, hyperplastic and malignant endometrial tissue: an immunohistochemical analysis*. Acta Histochem 2003; 105: 245-52.
17. Tomaszewski JJ, Tomaszewski T. *Enzymy lityczne w proliferacji nowotworowej*. Diagn Lab 1991; 27: 56-62.
18. Sylven B, Bois-Swensson J. *On the chemical pathology of interstitial fluid*. Cancer Res 1965; 25: 458-68.
19. Szajda SD, Kiluk M, Wiśniewski R, Skrzydlewski Z. *Wartość diagnostyczna markerów nowotworowych: CEA, AFP, katepsyny D i prokoagulanty nowotworowego (CP) w przypadkach raka płuca i przełyku*. Współcz Onkol 2000; 6: 9-11.
20. Szajda SD, Darewicz B, Werel T i wsp. *Wybrane markery nowotworowe w diagnostyce raka gruczołu krokowego*. Współcz Onkol 2003; 7: 738-40.

**ADRES DO KORESPONDENCJI**

dr hab. med. **Jadwiga Snarska**  
I Klinika Chirurgii Ogólnej  
i Endokrynologicznej  
Akademia Medyczna  
ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A  
15-276 Białystok  
tel./faks: +48 85 746 86 20, 746 82 78  
e-mail: s1n2a3@onet.poczta.pl