Współczesna Onkologia (2001) vol. 5; 1 (14–16)

U 150 kobiet zgłaszających się z patologią w obrębie gruczołu piersiowego oznaczano poziom arginazy, ASPAT, ALAT, LDH, GGTP, IL-6 i Ca 15,3. Stwierdzono, że arginaza jest najbardziej czułym i najtańszym markerem raka piersi. Ocena przydatności arginazy w monitorowaniu przebiegu i skuteczności leczenia wymaga dalszych badań.

Słowa kluczowe: rak piersi, arginaza, markery nowotworowe.

In 150 women admitted with breast pathology, serum arginase level and serum ASPAT, ALAT, LDH, GGTP, IL-6 and Ca 15,3 were analysed. Arginase was found to be a most sensitive and cheapest breast cancer marker. Evaluation of arginase for monitoring of disease and effectiveness of treatment needs further investigation.

Key words: breast cancer, arginase, cancer markers.

Arginaza w surowicy chorych na raka piersi jako czynnik pozwalający rozpoznać chorobę i określić jej zaawansowanie

Serum arginase as breast cancer marker

Grzegorz Luboiński[1], Zofia Porembska[2], Iwona Szkop[1], Janina Kamińska[1]

WSTĘP

Badania markerów nowotworowych dostarczają stale informacji pomocniczych w rozpoznawaniu i leczeniu choroby. Poszukiwanie łatwego w wykonaniu, prostego i taniego markera w diagnostyce, zwłaszcza takich nowotworów jak rak piersi, najczęstszy nowotwór złośliwy wśród kobiet w Polsce, znajduje się w centrum zainteresowania lekarzy klinicystów.

Stwierdzanie wpływu poziomu arginazy na proliferację komórek raka piersi [1] i uznanie arginazy za przydatny marker nowotworowy [2] skłoniło autorów artykułu do przeprowadzenia badania przydatności oznaczenia poziomu arginazy w surowicy chorych na raka piersi, jako czynnika pozwalającego rozpoznać ten nowotwór i określić jego zaawansowanie.

MATERIAŁ I METODA

Badano 150 kobiet, które zgłosiły się na konsultację z podejrzeniem raka piersi lub z już rozpoznanym rakiem. Z pobranych podczas pierwszego badania próbek krwi odwirowywano surowicę, w której w Zakładzie Biochemii AM w Warszawie oznaczano aktywność arginazy (Arg). W tych samych próbkach wykonywano standardowe oznaczenia aminotransferaz (ASPAT i ALAT) dehydrogenazy mleczanowej (LDH) i gamma-glutamylotranspeptydazy (GGTP). W części przypadków oznaczano również poziom interleukiny 6 (IL-6) i markera Ca 15,3.

Badania ASPAT i ALAT, LDH i GGTP wykonywano w Zakładzie Analityki i Biochemii Klinicznej Centrum Onkologii, na analizatorze biochemicznym *Dimension RxL* firmy *Dade Behring*. Oznaczenia poziomu IL-6 i Ca 15,3 wykonano w Zakładzie Markerów Nowotworowych Centrum Onkologii, oznaczając IL-6 metodą ELISA (*ensyme-linked immunosorbent assay*), zestawami firmy *R&D Systems Inc. Minneapolis MN* i Ca 15,3 metodą immunoenzymatyczną techniką MEIA, zestawami odczynników firmy ABBOTT na analizatorze AXYM. Aktywność Arg określano przyrostem powstałego produktu – ornityny, przy oznaczaniu której wykorzystywano metodę Chinarda (1952). Jedna jednostka aktywności enzymu była wyrażona 1 µmol ornityny powstałym w ciągu 1 min w temp. 37°C.

U wszystkich chorych ustalono mikroskopowe rozpoznanie choroby. U pacjentek operowanych określono również stopień zaawansowania klinicznego (pTNM), a w pozostałych przypadkach ustalono rozpoznanie badaniem cytologicznym. Tam, gdzie było to możliwe, określono typ raka i stopień jego złośliwości. W części przypadków zbadano również poziom receptorów hormonalnych – estrogenowego (E) i progestagenowego (P). U części pacjentek już w czasie badania stwierdzano przerzuty odległe (M+).

Przeprowadzono analizę zależności między:

- poziomem Arg a typem mikroskopowym zmian w piersi,
- poziomem Arg a zaawansowaniem raka, ze szczególnym uwzględnieniem przypadków z przerzutami odległymi (M+),
- poziomem Arg w porównaniu z poziomem IL-6 i Ca 15,3,
- poziomem Arg a poziomem markerów biochemicznych (ASPAT, ALAT, LDH, GGTP),
- poziomem Arg a typem mikroskopowym raka i stężenia receptorów hormonalnych (E i P).

WYNIKI

W badanej grupie podwyższony poziom Arg stwierdzono w 116 przypadkach. W 14 przypadkach w badanej grupie nie potwierdzono rozpoznania raka piersi, w 7 przypadkach rozpoznano gruczolakowłókniaki, w 5 – zwyrodnienie włóknisto-torbielowate (*dysplasia benigna*) i w 2 – wewnątrzprzewodowy rozrost nieatypowy (*hyperplasia ductalis non atypica*). W 5 przypadkach poziom arginazy był w normie, w pozostałych był podwyższony, nie przekraczał 15. W grupie 9 przypadków z podwyższonym

1 Centrum Onkologii Instytutu im. Marii Curie-Skłodowskiej w Warszawie

2 Zakład i Katedra Biochemii Akademii Medycznej w Warszawie

Tab. 1. Poziom arginazy, interleukiny 6 i Ca 15,3 w zależności od charakteru zmiany w piersi

	Rozpoznany rak piersi						Rozpoznana zmiana łagodna		
	bez przerzutów			z przerzutami					
	Arg	IL-6	Ca 15,3	Arg	IL-6	Ca 15,3	Arg	IL-6	Ca 15,3
norma	25 (21 proc.)	77 (69 proc.)	103 (87 proc.)	4 (24 proc.)	4 (44 proc.)	12 (70 proc.)	5 (36 proc.)	12 (86 proc.)	13 (93 proc.)
podwyższony	94 (79 proc.)	34 (31 proc.)	15 (13 proc.)	13 (76 proc.)	5 (66 proc.)	5 (30 proc.)	9 (64 proc.)	2 (24 proc.)	1 (7 proc.)
liczba oznaczeń	119 (100 proc.)	111 (100 proc.)	118 (100 proc.)	17 (100 proc.)	9 (100 proc.)	17 (100 proc.)	14 (100 proc.)	14 (100 proc.)	14 (100 proc.)

Tab. 2. Poziom arginazy i innych markerów biochemicznych w zależności od zaawansowania raka piersi

	Rozpoznany rak piersi									
	bez przerzutów					z przerzutami				
	Arg	ASPAT	ALAT	LDH	GGTP	Arg	ASPAT	ALAT	LDH	GGTP
norma	25 (21 proc.)	106 (97 proc.)	103 (95 proc.)	83 (80 proc.)	94 (90 proc.)	4 (24 proc.)	14 (93 proc.)	13 (87 proc.)	14 (93 proc.)	11 (85 proc.)
podwyższony	94 (79 proc.)	3 (3 proc.)	6 (5 proc.)	21 (20 proc.)	10 (10 proc.)	13 (76 proc.)	1 (7 proc.)	2 (13 proc.)	1 (7 proc.)	2 (15 proc.)
liczba oznaczeń	119 (100 proc.)	109 (100 proc.)	109 (100 proc.)	104 (100 proc.)	104 (100 proc.)	17 (100 proc.)	15 (100 proc.)	15 (100 proc.)	15 (100 proc.)	13 (100 proc.)

poziomem Arg w 2 stwierdzono podwyższony poziom IL-6.

W grupie chorych z rakiem piersi podwyższony poziom Arg stwierdzono w 79 proc. przypadków bez przerzutów i w 76 proc. przypadków z przerzutami odległymi. Odpowiednio podwyższony poziom IL-6 stwierdzono w 31 proc. bez przerzutów i 66 proc. z przerzutami. Poziom Ca 15,3 był podwyższony w 13 proc. bez przerzutów odległych i w 30 proc. przypadków z przerzutami odległymi. Wyniki badań zestawiono w tab. 1.

Tab. 3. Poziom arginazy w zależności od mikroskopowego typu raka piersi

	Rozpoznany rak piersi			
	Arg	*Ca duct*	*Ca lob*	inny
norma	25 (21 proc.)	17 (20 proc.)	4 (24 proc.)	4 (13 proc.)
podwyższony	104 (76 proc.)	63 (80 proc.)	13 (76 proc.)	28 (87 proc.)
liczba oznaczeń	136 (100 proc.)	87 (100 proc.)	17 (100 proc.)	32 (100 proc.)

Następnie analizowano zależność poziomu aminotransferaz, dehydrogenazy kwasu mlekowego i gamma-glutamylotranspeptydazy w zależności od zaawansowania raka piersi i w związku z poziomem arginazy.

Analiza przydatności oznaczeń ASPAT, ALAT, GGTP i LDH pozwala stwierdzić, że w grupie 107 przypadków z podwyższonym poziomem Arg, podwyższony poziom ASPAT stwierdzono w 4 przypadkach, ALAT w 8 przypadkach, LDH w 22 przypadkach i GGTP w 12 przypadkach.

W grupie chorych z przerzutami odległymi, podwyższone poziomy enzymów stwierdzono w podobnej proporcji, jak w grupie bez przerzutów (tab. 2.)

Oceniono zależność między poziomem Arg i typem mikroskopowym zmiany w piersi. Z grupy 136 chorych z potwierdzonym mikroskopowo rakiem piersi u 104 (76 proc.) stwierdzono podwyższony poziom Arg, z najwyższym 40,4. Z tej grupy w 63 przypadkach rozpoznano raka przewodowego naciekającego (*Ca duct*), w 13 przypadkach raka zrazikowego naciekającego (*Ca lob*). W pozostałych 28 przypadkach wykryto komórki raka bez określenia typu lub stwierdzono rzadkie postacie raka (*Ca tubulare*, *Ca mucinosum*, *Ca mixtum*). W grupie chorych z poziomem Arg nie przekraczającym normy stwierdzono w 17 przypadkach raka przewodowego, w 4 – raka zrazikowego i w 4 przypadkach inne postacie raka (tab. 3.).

W analizowanym materiale nie stwierdzono żadnego związku między poziomem receptorów a poziomem arginazy i innych ocenianych czynników. Analizowany materiał nie pozwolił też na znalezienie związku między stopniem złośliwości (G, MBR) a zaawansowaniem kliniczno-patologicznym raka (pTNM) i poziomem arginazy.

DYSKUSJA

W pracy oceniającej materiał chorych z różnymi patologiami sutka stwierdzono, że aktywność arginazy rosła 2–3-krotnie w porównaniu z grupą kontrolną [3]. W omawianym materiale odsetek chorych z podwyższonym poziomem arginazy wynosił 76 proc. w przypadkach raka piersi z przerzutami i 79 proc. w przypadkach raków bez przerzutów, w porównaniu z 64 proc. w przypadkach ze zmianami łagodnymi.

Ocena przydatności poziomu Ca 15,3 pozwala ocenić wzrost tego markera wraz ze wzrostem zaawansowania nowotworu [4]. W opisanym materiale nie potwierdzono takiej zależności i Ca 15,3 wydaje się mniej czułym markerem niż arginaza. W kolejnej pracy [5] badano przydatność łącznego oznaczania Ca 15,3, CEA, GGTP i fosfatazy zasadowej. Stwierdzono, że łączne oznaczenie tych markerów jest przydatne w obserwacji (*follow up*) po leczeniu raka sutka jako czynnik umożliwiający wczesne wykry-

cie nawrotu. W pracy [6] badającej przydatność IL-6 oceniano jej przydatność jako czynnika prognostycznego w zaawansowanym raku sutka. Wyniki autorów artykułu nie potwierdzają wniosków badaczy, wyciągniętych z badania zaledwie 12 przypadków. Również poszukiwanie innych czynników biochemicznych pozwala na stwierdzenie, że w przypadkach zaawansowanych, zwłaszcza z przerzutami do narządów miąższowych, wiele parametrów biochemicznych jest podwyższonych, natomiast nie potwierdza się to w przypadkach wczesnych [7].

W innej pracy [8] stwierdzono, że oznaczanie aktywności arginazy spełnia warunki testu diagnostycznego i pozwala na monitorowanie stopnia dysplazji zmian w gruczołach piersiowych. Wyniki autorów pozwalają stwierdzić, że oznaczenie poziomu arginazy w surowicy jest badaniem przydatnym w diagnostyce raka piersi. Porównanie przydatności oznaczania poziomu arginazy w porównaniu z oznaczaniem ASPAT, ALAT, LDH i GGTP, jak również w porównaniu z przydatnością oznaczania IL-6 i Ca 15,3, przemawia na korzyść arginazy. Poza stwierdzeniem przydatności oznaczania poziomu arginazy jako markera, warto również zwrócić uwagę na efektywność poniesionych nakładów w stosunku do otrzymanych wyników. Koszt jednego badania poziomu Arg w surowicy wynosi 3 zł, pozostałych oznaczeń kształtuje się znacznie drożej, dla poszczególnych badań wynosi: Ca 15,3 – 31 zł, IL-6 – 60 zł, ASPAT – 5zł, ALAT – 5 zł, LDH – 9,80 zł, GGTP – 9,50 zł.

Przydatność oznaczeń arginazy jako czynnika pozwalającego monitorować przebieg choroby i skuteczność leczenia wymaga dalszych badań.

WNIOSKI

- Nie stwierdzono zależności między poziomem arginazy a stopniem zaawansowania raka piersi i typem histologicznym zmiany.
- Nie stwierdzono zależności między obecnością receptorów hormonalnych a poziomem arginazy.
- Badanie transaminaz, gamma-glutamylotranspeptydazy i dehydrogenazy kwasu mlekowego, jak również badanie poziomu IL-6 i CA 15,3 nie ma wartości dla rozpoznania i oceny zaawansowania raka piersi.
- Oznaczanie poziomu arginazy jest tanim, prostym i przydatnym testem, mającym zastosowanie w diagnostyce raka piersi.
- Przydatność oznaczania poziomu arginazy jako czynnika monitorującego przebieg raka piersi wymaga dalszych badań.

PIŚMIENNICTWO

1. Singh R, Pervin S, Karimi A, Cedrbaum S, Chaudhuri G. *Arginase activity in human breast cancer cell lines: N (omega) – hydroxy- L-Arginine selectively inhibits cell proliferation and induces apoptosis in MDA-MB-468 cells.* Cancer Res 2000 Jun 15; 60 (12): 3305-12.
2. Straus B, Cepelak I, Festa G. *Arginase, a new marker of mammary carcinoma.* Clin Chim Acta 1992 Sep 15; 210 (1-2): 5-12.
3. Graboń W, Czeczot H, Luboiński G, Zommer-Drozda J, Antoniak J, Mętrak J, Porębska Z. *Ocena przydatności oznaczania aktywności arginazy w różnicowaniu łagodnych i złośliwych zmian w sutku.* XXXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego Poznań 2000, P 12-55.
4. Wojtacki J, Dziewulska-Bokiniec A, Skokowski J, Ciesielski D. *Evaluation of CA 15-3 tumor marker in the diagnosis of breast cancer.* A pilot study. Neoplasma 1994; 41 (4): 213-6.
5. Buamah PK, Bent DJ, Bodger WA, Skillen AW. *A profile of serum CA 15-3, carcinoembrionic antigen, alkaline phosphatase and gamma-glutamyl transferase levels in patients with breast cancer.* J Surg Oncol 1993 Jun; 53 (2): 84-7.
6. Yokoe T, Iino Y, Morishita Y. *Trends of IL-6 and IL-8 Levels in Patients with Recurrent Breast Cancer: Preliminary report.* Breast Cancer 2000, Aug 25; 7 (3): 187-190.
7. Lee YT, Haymond HR, Feder B. *Biochemical evaluation of patients with breast cancer.* J Surg Oncol 1982, Apr; 19 (4): 197-200.
8. Ellert A. *Przydatność arginazy w różnicowaniu zmian rozrostowych gruczołu tarczowego i sutkowego.* Praca magisterska 1997/98, Katedra i Zakład Biochemii i Chemii Klinicznej Akademii Medycznej w Warszawie.

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr n. med. Grzegorz Luboiński
Centrum Onkologii – Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie
ul. Roentgena 5
02-781 Warszawa
tel./fax (022) 643 91 86
e-mail: grzelub@ coi.waw.pl

WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

Współczesna Onkologia publikuje prace oryginalne z dziedziny onkologii doświadczalnej i klinicznej (w tym opisy przypadków), artykuły przeglądowe, streszczenia ze zjazdów i konferencji oraz listy do redakcji. Oryginalny manuskrypt, dwie kopie oraz 3,5 in. dyskietka zawierająca tekst pracy powinny być przesłane pod adresem redakcji lub pod adresem:

prof. Andrzej Mackiewicz
Zakład Immunologii Nowotworów
Wielkopolskie Centrum Onkologii
ul. Garbary 15, 61-866 Poznań
tel. (0-61) 854 06 65; fax (0-61) 852 85 02
e-mail: amac@amu.edu.pl

Artykuły powinny być napisane w języku polskim i być zorganizowane w następujący sposób: 1) tytuł (w języku polskim i angielskim); 2) imiona, nazwiska i tytuły naukowe autorów; 3) instytucja, w której praca została wykonana; 4) streszczenia w języku polskim i angielskim po 150 słów; 5) słowa kluczowe (polskie i angielskie); 6) wstęp; 7) materiał i metody; 8) wyniki; 9) omówienie wniosków; 10) podziękowania; 11) piśmiennictwo; 12) pełny adres głównego autora (również numer telefonu i faksu).

Objętość tekstu wraz z rycinami nie powinna przekraczać 6 stron maszynopisu. Listy do redakcji nawiązujące lub nie do zamieszczonego artykułu nie powinny przekraczać 1 strony maszynopisu. Mogą zawierać 1 rycinę lub tabelę.

Bibliografia w tekście powinna być numerowana według kolejności cytowania. Numery przypisane odpowiednim pozycjom podajemy w nawiasach kwadratowych. Pozycje piśmiennictwa powinny zawierać nazwiska i inicjały autorów (w wypadku gdy liczba autorów przekracza 8, przedstawiamy 3 pierwsze nazwiska oraz „i wsp."), skrót nazwy pisma (wg Index Medicus), rok wydania, wolumen oraz strony (pierwszą i ostatnią). Rozdziały w książkach lub monografie powinny być cytowane w następujący sposób: nazwisko i inicjały autorów, tytuł rozdziału, tytuł książki, nazwisko i inicjał redaktora książki, wolumen, nazwa wydawcy, miejsce wydania, rok, strony.

Przykłady:

artykuł: Paskiewitz S, Riehle MA. Dev Comp Immunol 1994; 18: 369–75.

książki: Zatoński WA. *Nowotwory złośliwe w Polsce.* Wiedza i Życie, Warszawa 1993.

Rozdziały w książkach: Schranz D, Morkowski S, Abelev G. *Affinity isotachoforesis on porous membranes.* W: *Affinity electrophoresis: principles and application,* J. Bręborowicz, A. Mackiewicz (red.) CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London 1992; 61–70.

Ryciny mogą być przygotowane w formie czarno-białej lub w kolorze. W wypadku przygotowania w formie elektronicznej ryciny powinny być zapisane w jednym z wymienionych formatów: cdr, tiff, jpg, ai lub eps. Natomiast fotografie przesyłane do nas w formie elektronicznej powinny posiadać rozdzielczość 300 dpi oraz rozszerzenia tiff lub jpg. Tabele powinny być dostarczone w formie maszynopisu i zawierać tytuł (również na dyskietce). Opisy do rycin i tabel powinny być załączone na oddzielnych stronach.

Redakcja