

Naviko žymenų: citokeratino 19 fragmento, karcinoembrioninio antigeno ir neuronui specifinės enolazės klinikinė ir prognostinė reikšmė sergant plaučių vėžiu

Marius Žemaitis¹, Raimundas Sakalauskas², Kęstutis Malakauskas^{1, 2}, Thomas Muley³,
Jürgen Richard Fischer⁴, Harald Lahm⁵

Kauno medicinos universiteto ¹Biomedicininų tyrimų institutas,

²Pulmonologijos ir imunologijos klinika, Lietuva, ³Heidelbergo universiteto Krūtinės ląstos klinikos Chirurgijos skyrius, ⁴Liovenšteino klinika, ⁵Heidelbergo universiteto Krūtinės ląstos klinikos Imunologijos ir molekulinės biologijos laboratorija, Vokietija

Raktažodžiai: plaučių vėžys, naviko žymenys, citokeratino 19 fragmentas, karcinoembrioninis antigenas, neuronui specifinė enolazė, prognostiniai veiksniai.

Santrauka. Darbo tikslas. Įvertinti naviko žymenų: citokeratino 19 fragmento, karcinoembrioninio antigeno ir neuronui specifinės enolazės klinikinė ir prognostinė reikšmė sergantiesiems plaučių vėžiu.

Tyrimo medžiaga ir metodai. Ištirti 46 ligoniai, sergantys plaučių vėžiu. Naudojant elektrocheminį luminiscencinį imunorinkinį, tirti naviko žymenų: citokeratino 19 fragmento, karcinoembrioninio antigeno, neuronui specifinės enolazės kiekiai sergančiųjų kraujo serume. Citokeratino 19 fragmento, karcinoembrioninio antigeno, neuronui specifinės enolazės kiekis kraujo serume didesnis kaip 3,6 ng/ml, 5,0 ng/ml ir 13 ng/ml, atitinkamai, laikomas padidėjusiu.

Rezultatai. Padidėjęs citokeratino 19 fragmento kiekis nustatytas 19,6 proc., karcinoembrioninio antigeno – 43,5 proc., neuronui specifinės enolazės – 63,0 proc. plaučių vėžiu sergančiųjų kraujo serume. Rūkančių ligonių kraujo serume reikšmingai dažniau nustatytas padidėjęs neuronui specifinės enolazės kiekis ($p=0,003$) bei didesnis karcinoembrioninio antigeno ($p=0,023$) ir neuronui specifinės enolazės kiekis ($p=0,007$) iki operacijos palyginti su metusiais rūkyti. Nustatytas ryšys tarp kumuliacinio rūkymo intensyvumo ir citokeratino 19 fragmento kiekio kraujo serume sergantiesiems plokščialąsteliu plaučių vėžiu ($r=0,542$, $p=0,037$). Esant vėlesnei ligos stadijai, ligonių kraujo serume dažniau nustatomas padidėjęs citokeratino 19 fragmento ($p=0,036$) bei neuronui specifinės enolazės kiekis ($p=0,036$). Vėlesnė ligos stadija ($p=0,017$ ir $p=0,03$, atitinkamai) ir didesnis pirminis navikas ($p=0,016$ ir $p=0,006$, atitinkamai) susiję su didesniu citokeratino 19 fragmento ir neuronui specifinės enolazės kiekiu kraujo serume. Naviko žymenų: citokeratino 19 fragmento ir neuronui specifinės enolazės kiekis kraujo serume iki operacijos reikšmingai susijęs su naviko histologija sergant nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu ($p=0,03$ ir $p=0,016$, atitinkamai). Citokeratino 19 fragmento kiekis iki operacijos reikšmingai didesnis plokščialąsteliu plaučių vėžiu sergančių ligonių kraujo serume palyginti su ligoniais, kuriems nustatyta adenokarcinoma ($p=0,026$). Padidėjęs ikioperacinis citokeratino 19 fragmento kiekis iki operacijos reikšmingai susijęs su trumpesniu plaučių vėžiu sergančių ligonių išgyvenimu ($p=0,007$).

Išvados. Plaučių vėžiu sergančiųjų kraujo serume naviko žymenys: citokeratino 19 fragmentas, karcinoembrioninis antigenas ir neuronui specifinė enolazė yra susiję su naviko morfologiniu tipu, vėžinio proceso išplitimu, rūkymo intensyvumu ir blogesne ligos prognoze.

Įvadas

Plaučių vėžio prognozė po operacijos dar išlieka prasta, nes tik 23–67 proc. ligonių išgyvena penkerius metus (1). Naujausių klinikinių tyrimų duomenys rodo, kad ligoniai išgyvena ilgiau, jeigu po radikalios

plaučių vėžio operacijos skiriama adjuvantinė chemoterapija, nes tai siejama su vėžio mikrometastazių sunaikinimu (2). Tai rodo, kad dabartinėmis diagnostinėmis procedūromis ir laboratoriniais tyrimais, naudojamais ligoniams ištirti iki operacijos, negalima nu-

statyti agresyvesnės ligos eigos bei tikslaus išplitimo. Iš daugelio biologinių žymenų vėžinės ląstelės išskiria į kraujo serumą ir naviko žymenis: citokeratino 19 fragmentą, karcinoembrioninį antigeną ir neuronui specifinę enolazę, kurie nagrinėjami kaip plaučių vėžio diagnostiniai (histologinio naviko tipo ar vėžinio proceso išplitimo, atsako į antinavikinį gydymą įvertinimo) bei prognostiniai veiksniai (3).

Citokeratino 19 daug randama epitelinėse plaučių vėžio ląstelėse, o jo fragmento CYFRA 21-1 (dėl naviko nekrozės) kraujo serume (4). Padidėjęs citokeratino 19 fragmento kiekis kraujo serume koreliuoja su naviko morfologiniu tipu, vėžinio proceso išplitimu, atsaku į gydymą, vėžinio proceso atsinaujinimu bei prognoze (5–7), tačiau, kitų tyrimų duomenimis, šių ryšių nenustatyta (8, 9). Karcinoembrioninis antigenas priklauso onkofetalinių glikoproteinų grupei, padidėjęs šio antigeno kiekis dažniau nustatomas esant adenokarcinomai, tačiau prieštaringi tyrimų duomenys gauti dėl ryšio su naviko dydžiu, ligos stadija bei prognoze (7, 10–12). Neuronui specifinė enolazė, glikolitinio fermento enolazės γ subvieneto nustatoma didžiajai daliai ligonių, sergančių smulkialąstelinio plaučių vėžiu (13). Daliai nesmulkialąstelinio plaučių vėžiu sergančių ligonių taip pat nustatomas padidėjęs neuronui specifinės enolazės kiekis ir tai siejama su neuroendokrine naviko struktūra, geresniu atsaku į gydymą, tačiau blogesne prognoze (6, 14).

Tyrimo tikslas – įvertinti naviko žymenų: citokeratino 19 fragmento, karcinoembrioninio antigeno ir neuronui specifinės enolazės klinikinę ir prognostinę reikšmę sergant plaučių vėžiu.

Tirtųjų kontingentas ir tyrimo metodai

Ištirti 46 pacientai (33 vyrai ir 13 moterų), kurie 2001–2003 m. Heidelbergo universiteto Krūtinės ląstos klinikoje (Vokietija) buvo operuoti dėl plaučių vėžio. Ligonų amžiaus vidurkis – $62,6 \pm 10,4$ metų (vidurkis plius/minus standartinis nuokrypis), 26 pacientai buvo rūkantys, 16 – metų rūkyti ir vienas nerūkantis. Rūkančiųjų ir metusių rūkyti ligonių kumuliacinis rūkymo intensyvumas, apskaičiuotas pakmečiais (15), buvo $45,4 \pm 19,3$ ir $50,5 \pm 31,4$ (vidurkis plius/minus standartinis nuokrypis) pakmečiai, atitinkamai. Metusiais rūkyti laikyti tiriamieji, kurie nerūkė ilgiau kaip vienerius metus. Plaučių vėžio išplitimas vertintas patalogine TNM (angl. *Pathological Tumor-Node-Metastasis* – pTNM) klasifikacija ir stadija (1). Tirtųjų plaučių vėžio klinikinė charakteristika pateikiama pirmoje ir antroje lentelėse. Tyrimas atliktas gavus Heidelbergo universiteto Bioetikos komiteto leidimą ir pacientų sutikimą.

Prieš operaciją iš ligonių venos buvo imama kraujo į serumo mėgintuvėlį (*Serum SARSTEDT Monovette®*, Vokietija). Naudojant elektrocheminį luminiscencinį imunorinkinį (ELCIA, *Roche Diagnostics, Mannheim*, Vokietija) ir vadovaujantis gamintojo instrukcijomis, tirti naviko žymenys: citokeratino 19 fragmentas, karcinoembrioninis antigenas ir neuronui specifinė enolazė. Kai citokeratino 19 fragmento CYFRA 21-1 rasta daugiau kaip 3,6 ng/ml, karcinoembrioninio antigeno (CEA) daugiau kaip 5,0 ng/ml ir neuronui specifinės enolazės (NSE) daugiau kaip 13,0 ng/ml, laikoma, kad naviko žymenų kiekis padidėjęs.

1 lentelė. Plaučių vėžiu sergančių ligonių, kuriems kraujo serume nustatytas padidėjęs naviko žymenų kiekis, skaičius (procentais) priklausomai nuo demografinių ir rūkymo charakteristikų

Požymis	Ligonių, kuriems kraujo serume nustatytas padidėjęs naviko žymenų kiekis, skaičius (proc.)		
	CEA	CYFRA 21-1	NSE
Lytis			
Vyrai (n=33)	39,4	21,2	63,6
Moterys (n=13)	53,8	15,4	61,5
Amžius (metais)			
Iki 65 (n=25)	48,0	24,0	68,0
65 metų ir vyresni (n=21)	38,1	14,3	57,1
Rūkymas			
Rūko (n=26)	53,8	30,8	80,8*
Metė rūkyti (n=16)	25,0	6,3	31,3
Kumuliacinis rūkymo intensyvumas			
Mažiau kaip 40 pakmečių (n=16)	56,3	18,8	62,5
40 pakmečių ir daugiau (n=23)	34,8	26,1	60,9

CEA – karcinoembrioninis antigenas; CYFRA 21-1 – citokeratino 19 fragmentas;

NSE – neuronui specifinė enolazė. *p=0,003 lyginant su metusiais rūkyti.

2 lentelė. Plaučių vėžiu sergančių ligonių, kuriems kraujo serume nustatytas padidėjęs naviko žymenų kiekis, skaičius (procentais) priklausomai nuo klinikinių charakteristikų

Požymis	Ligonių, kuriems kraujo serume nustatytas padidėjęs naviko žymenų kiekis, skaičius (proc.)		
	CEA	CYFRA 21-1	NSE
Histologija			
Nesmulkialąstelinis vėžys (n=42)	47,6	21,4	64,3
Adenokarcinoma (n=20)	50,0	10,0	65,0
Plokščialąstelinis vėžys (n=16)	50,0	37,5	68,8
Didelių ląstelių vėžys (n=3)	33,3	33,3	100
Adenoplokščialąstelinis vėžys (n=3)	33,3	0	0
Smulkialąstelinis vėžys (n=2)	0	0	50,0
Smulkialąstelinis/nesmulkialąstelinis vėžys (n=2)	0	0	50,0
Stadija			
I (n=19)	36,8	10,5	57,9
II (n=11)	36,4	18,2	63,6
III (n=15)	53,3	33,3	73,3
IV (n=1)	100	0	0
pT			
pT1 (n=7)	28,6	0	28,6
pT2 (n=28)	39,3	17,9	71,4
pT3 (n=3)	66,7	33,3	66,7
pT4 (n=8)	62,5	37,5	62,5
pN			
pN0 (n=25)	44,0	20,0	60,0
pN1+pN2+pN3 (n=21)	42,9	19,0	66,7
Naviko diferenciacija			
G2 (n=11)	63,6	9,1	72,7
G3 (n=29)	44,8	27,6	58,6
G4 (n=4)	0	0	50,0
Naviko infiltracija į pleurą			
Nėra (n=24)	37,5	16,7	58,3
Yra (n=19)	57,9	26,3	68,4

CEA – karcinoembrioninis antigenas; CYFRA 21-1 – citokeratino 19 fragmentas;

NSE – neuronui specifinė enolazė.

Statistinė duomenų analizė atlikta statistine programa SPSS („Statistical Package for Social Sciences“, „Microsoft Windows 10.0“). Požymių normališkumui įvertinti taikytas Kolmogorovo–Smirnovio testas. Požymių nepriklausomumui tikrinti taikytas tikslusis Fišerio (mažoms imtims) arba chi kvadrato (χ^2) kriterijai. Skirtumui tarp dviejų grupių vertinti taikytas Mano–Vitnio testas. Tuo atveju, kai grupių buvo daugiau kaip dvi, taikytas Kruskalo–Voliso kriterijus. Koreliacijai įvertinti taikytas Spirmeno koreliacijos koeficientas. Išgyvenimui įvertinti naudotas Kaplano–Meierio metodas; skirtumui tarp grupių vertinti – logranžinis testas. Tiriamojo paskutinio statuso (gyvas, miręs) data – 2005 01 21. Duomenys statistiškai reikšmingi, kai $p < 0,05$.

Rezultatai

Padidėjęs citokeratino 19 fragmento kiekis nustatytas 19,6 proc., karcinoembrioninio antigeno – 43,5 proc. ir neuronui specifinės enolazės – 63,0 proc. plaučių vėžiu sergančių ligonių kraujo serume. Bent vieno iš trijų naviko žymenų kiekis buvo padidėjęs 76,0 proc. ligonių kraujo serume. Pirmoje ir antroje lentelėje pateikiamas skaičius (procentais) plaučių vėžiu sergančių ligonių, kuriems kraujo serume nustatytas padidėjęs naviko žymenų kiekis priklausomai nuo tiriamųjų demografinių ir klinikinių charakteristikų. Skaičius ligonių, kuriems kraujo serume nustatytas padidėjęs naviko žymenų karcinoembrioninio antigeno, citokeratino 19 fragmento bei neuronui specifinės enolazės kiekis, nebuvo reikšmingai susijęs su

šių tiriamųjų lytimi, amžiumi, kumuliaciniu rūkymo intensyvumu, vėžinio proceso išplitimu į sritinius limfmazgius, naviko histologija ar naviko diferenciacijos laipsniu. Rūkančių ligonių kraujo serume žymiai dažniau nustatytas padidėjęs neuronui specifinės enolazės kiekis palyginus su metusiais rūkyti. Tai buvo ir naviko žymenų karcinoembrioninio antigeno bei citokeratino 19 fragmento atvejais, tačiau statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatyta (1 lentelė). Esant didesniam navikui, ligonių kraujo serume dažniau nustatytas padidėjęs naviko žymenų kiekis palyginus su mažesniu naviku, tačiau statistiškai reikšmingo skirtumo taip pat nenustatyta. Padidėjęs neuronui specifinės enolazės kiekis nustatytas 28,6 proc. serumo mėginių, kai navikas buvo nedidelis (pT1), ir 69,2 proc. serumo mėginių, kai navikas didesnis (pT>1) (p=0,083). Nustatyta, kad kuo vėlesnė stadija, tuo ligonių kraujo serume dažniau nustatomas padidėjęs naviko žymenų kiekis, tačiau reikšmingas skirtumas nustatytas tik sergantiesiems plokščialąstelinio plaučių vėžiu, kai padidėjęs citokeratino 19 fragmento kiekis rastas dviejų ligonių kraujo serume iš vienuolikos (18,2 proc.) esant I ir II stadijos navikams; keturiuose serumo mėginiuose iš penkių (80,0 proc.) esant III ir IV stadijos navikui (p=0,036); taip pat padidėjęs neuronui specifinės enolazės kiekis rastas dviejuose serumo mėginiuose iš šešių (33,3 proc.) esant I stadijos navikui bei devyniuose iš dešimties (90,0 proc.) esant II–IV stadijos navikui (p=0,036). Nors skaičius plaučių vė-

žiu sergančių ligonių, kuriems kraujo serume nustatytas padidėjęs naviko žymenų kiekis, priklausomai nuo naviko infiltracijos į pleurą, reikšmingai nesiskyrė, tokia tendencija pastebėta ligoniams, sergantiems plokščialąstelinio plaučių vėžiu. Padidėjęs karcinoembrioninio antigeno kiekis nustatytas keturiuose serumo mėginiuose iš vienuolikos (36,4 proc.), kai navikas neinfiltravęs pleuros bei visuose keturiuose serumo mėginiuose, kai nustatomas vėžinio proceso išplitimas į pleurą (p=0,077).

Duomenys apie naviko žymenų kiekio kraujo serume iki operacijos ir demografinių bei klinikinių sergančiųjų plaučių vėžiu charakteristikų ryšį pateikiami trečioje ir ketvirtoje lentelėse.

Nenustatyta naviko žymenų kiekio kraujo serume reikšmingų skirtumų iki operacijos priklausomai nuo tiriamųjų lyties, amžiaus, naviko diferenciacijos laipsnio ir naviko infiltracijos į pleurą. Rūkančiųjų naviko žymenų karcinoembrioninio antigeno ir neuronui specifinės enolazės kiekis kraujo serume iki operacijos rastas reikšmingai didesnis palyginti su metusiais rūkyti. Ši tendencija pastebėta esant ir citokeratino 19 fragmento naviko žymeniui (3 lentelė). Nors nenustatyta ryšio tarp kumuliaciniu rūkymo intensyvumo ir naviko žymenų kiekio iki operacijos visoje tirtųjų grupėje, toks ryšys rastas plokščialąstelinio plaučių vėžio atveju tiriant naviko žymenį citokeratiną 19 fragmentą (r=0,542, p=0,037). Naviko žymenų citokeratino 19 fragmento ir neuronui specifinės enolazės

3 lentelė. Ryšys tarp naviko žymenų kiekio kraujo serume ir plaučių vėžiu sergančių ligonių demografinių ir rūkymo charakteristikų

Požymis	CEA	CYFRA 21-1	NSE
	Mediana [min.; maks.], ng/ml		
Lytis			
Vyrai (n=33)	3,2 [0,6; 324]	1,9 [0,8; 7,2]	13,9 [7,8; 23,6]
Moterys (n=13)	6,0 [1,3; 66,2]	2,0 [1,0; 5,4]	15,4 [9,5; 24,8]
Amžius (metais)			
Iki 65 (n=25)	5,0 [1,0; 324]	2,0 [0,8; 7,0]	14,5 [9,5; 24,8]
65 metų ir vyresni (n=21)	3,3 [0,6; 16,3]	1,9 [0,9; 7,2]	13,2 [7,8; 24,0]
Rūkymas	*	**	***
Rūko (n=26)	6,9 [1,1; 141,9]	2,5 [0,8; 7,2]	14,9 [11,0; 24,8]
Metė rūkyti (n=16)	2,8 [0,6; 324]	1,5 [0,9; 5,5]	12,2 [7,8; 21,0]
Kumuliacinis rūkymo intensyvumas			
Iki 40 pakmečių (n=16)	6,5 [0,6; 66,2]	2,1 [0,9; 6,1]	13,7 [7,8; 24,5]
40 pakmečių ir daugiau (n=23)	4,5 [1,0; 324]	2,0 [0,8; 7,2]	13,9 [8,0; 24,8]

CEA – karcinoembrioninis antigenas; CYFRA 21-1 – citokeratino 19 fragmentas;

NSE – neuronui specifinė enolazė. *p=0,023, **p=0,096, ***p=0,007.

4 lentelė. Ryšys tarp naviko žymenų kiekio kraujo serume ir plaučių vėžiu sergančių ligonių klinikinių charakteristikų

Požymis	CEA	CYFRA 21-1	NSE
	Mediana [min.; maks.], ng/ml		
Histologija		*	**
Adenokarcinoma (n=20)	5,5 [1,7; 324]	1,5 [0,8; 5,4]	14,9 [9,8; 22,2]
Plokščialąstelinis vėžys (n=16)	5,6 [0,6; 21,1]	2,5 [1,1; 7,2]	13,6 [7,8; 24,5]
Didelių ląstelių vėžys (n=3)	3,2 [1,9; 62,3]	3,3 [3,1; 5,2]	21,0 [16,8; 24,0]
Adenoplokščialąstelinis vėžys (n=3)	4,7 [2,0; 8,8]	2,0 [1,4; 2,0]	11,8 [8,0; 12,1]
Smulkialąstelinis vėžys (n=2)	1,6 [1,0; 2,2]	1,5 [1,4; 1,6]	13,1 [12,0; 14,2]
Smulkialąstelinis/nesmulkialąstelinis vėžys (n=2)	3,5 [2,7; 4,4]	1,5 [1,3; 1,8]	17,9 [11,0; 24,8]
Stadija			
I (n=19)	4,5 [0,6; 324]	1,6 [0,9; 7,2]	13,3 [9,3; 24,0]
II (n=11)	2,3 [1,0; 62,3]	1,5 [1,1; 5,2]	13,9 [7,8; 21,3]
III (n=15)	6,7 [2,2; 21,6]	3,1 [0,8; 7,0]	15,8 [11,8; 24,8]
IV (n=1)	9,0	1,3	9,5
pT			
pT1 (n=7)	2,3 [0,6; 12,2]	1,3 [1,1; 1,6]	12,0 [8,0; 15,3]
pT2 (n=28)	4,5 [1,1; 324]	2,4 [0,9; 7,2]	15,4 [10,8; 24,0]
pT3 (n=3)	12,8 [1,7; 62,3]	1,9 [1,1; 5,2]	16,8 [7,8; 21,3]
pT4 (n=8)	8,0 [2,4; 21,1]	2,1 [0,8; 6,1]	13,8 [9,5; 24,8]
PN			
pN0 (n=25)	15,7 [0,6; 324]	2,3 [0,9; 7,2]	13,3 [7,8; 24,5]
pN1+pN2+pN3 (n=21)	4,5 [1,0; 21,6]	1,8 [0,8; 7,0]	14,5 [8,0; 24,8]
Naviko diferenciacija			
G2 (n=11)	6,7 [1,7; 16,3]	1,5 [0,9; 4,2]	16,3 [9,5; 24,0]
G3 (n=29)	4,7 [0,6; 324]	2,3 [0,8; 7,2]	13,3 [7,8; 24,5]
G4 (n=4)	2,4 [1,0; 4,4]	1,5 [1,3; 1,8]	13,1 [11,0; 24,8]
Naviko infiltracija į pleurą			
Nėra (n=24)	3,8 [0,6; 66,2]	1,7 [0,8; 7,2]	13,3 [8,0; 24,8]
Yra (n=19)	7,9 [1,7; 324]	2,0 [0,9; 6,1]	14,5 [7,8; 24,5]

CEA – karcinoembrioninis antigenas; CYFRA 21-1 – citokeratino 19 fragmentas;

NSE – neuronui specifinė enolazė. *p=0,03, **p=0,016, nesmulkialąstelinio plaučių vėžio grupėje.

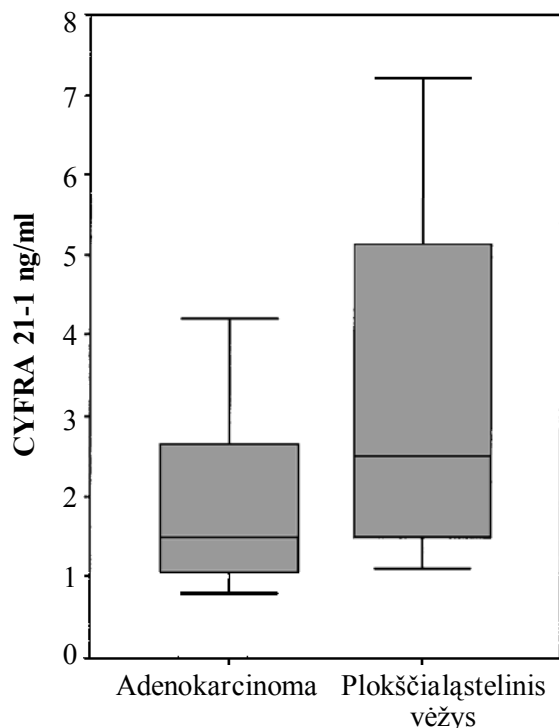
kiekis kraujo serume iki operacijos reikšmingai susijęs su naviko histologija nagrinėjant nesmulkialąstelinio plaučių vėžio grupę (4 lentelė). Analizuojant dvi didžiausias histologines grupes, nustatyta, kad citokeratino 19 fragmento kiekis iki operacijos reikšmingai didesnis ligoniams, kurie serga plokščialąstelinio plaučių vėžiu palyginti su sergančiais adenokarcinoma (1 pav.).

Nustatyta, kad naviko žymenų kiekis kraujo serume iki operacijos yra didesnis esant vėlesnei naviko stadijai ir didesniai navikui, tačiau reikšmingo skirtumo nerasta (4 lentelė). Analizuojant kiekvieną histologinį tipą atskirai, nustatyta, kad naviko žymenų citokeratino 19 fragmento ir NSE kiekis kraujo serume iki operacijos yra reikšmingai didesnis ligoniams, sergantiems III ir IV stadijos plokščialąstelinio plaučių vėžiu palyginti su sergančiais I ir II stadija (2 pav.).

Šių žymenų kiekis ligonių kraujo serume taip pat buvo reikšmingai didesnis esant didesniai navikui (pT>1) palyginti su mažesniu (pT1) visoje tiriamųjų grupėje (3 pav.).

Esant plokščialąsteliniam plaučių vėžiui, naviko žymens neuronui specifinės enolazės kiekis iki operacijos buvo didesnis, kai metastazių buvo regioniniuose limfmazgiuose (neuronui specifinės enolazės kiekio kraujo serume mediana – 15,8 ng/ml, min. – 13,2 ng/ml, maks. – 23,6 ng/ml) negu nesant tokio išplitimo (neuronui specifinės enolazės kiekio kraujo serume mediana – 12,8 ng/ml, min. – 7,8 ng/ml; maks. – 24,5 ng/ml) (p=0,045). Nustatytas reikšmingas ryšys tarp naviko žymenų: citokeratino 19 fragmento ir neuronui specifinės enolazės kiekių kraujo serume iki operacijos (r=0,493; p<0,05).

Nustatyta, kad naviko žymens citokeratino 19 frag-

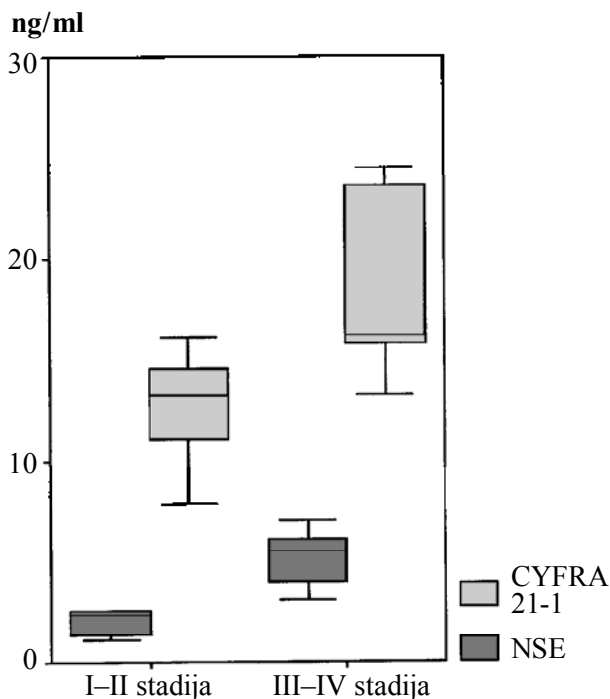


1 pav. Naviko žymens CYFRA 21-1 kiekis kraujo serume iki operacijos priklausomai nuo naviko histologijos; $p=0,026$

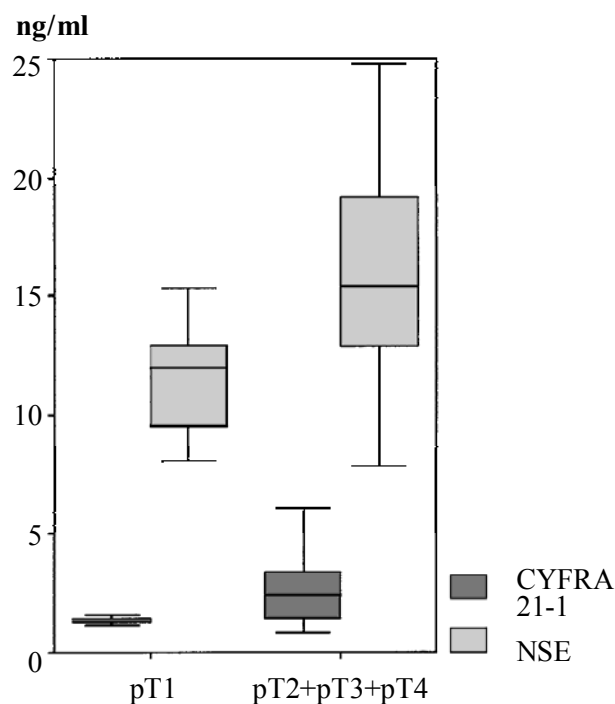
mento padidėjimas iki operacijos susijęs su ligonių išgyvenimu. Mirė trys ligoniai iš 37 (8,1 proc.), kai naviko žymuo citokeratino 19 fragmentas iki operacijos rastas normalus, bei penki ligoniai iš 9 (55,6 proc.), kai šis žymuo buvo padidėjęs ($p=0,004$). Mirusių ligonių naviko žymens citokeratino 19 fragmento kiekis kraujo serume iki operacijos buvo reikšmingai didesnis palyginus su išgyvenusiais (4 pav.). Ligonų išgyvenimo kreivės pateikiamos 5, 6 ir 7 paveiksluose. Ligonai, kurių kraujo serume iki operacijos nustatytas normalus citokeratino 19 fragmento kiekis, išgyveno žymiai ilgiau (gyvenimo trukmės mediana nepasiekta) palyginti su ligoniais, kurių kraujo serume citokeratino 19 fragmento kiekis iki operacijos rastas padidėjęs (gyvenimo trukmės mediana – 18,0 mėn., $p=0,007$). Ši tendencija taip pat pastebėta tiriant naviko žymenis karcinoembrioninį antigeną bei neuronui specifinę enolazę, tačiau reikšmingo skirtumo nenustatyta.

Rezultatų aptarimas

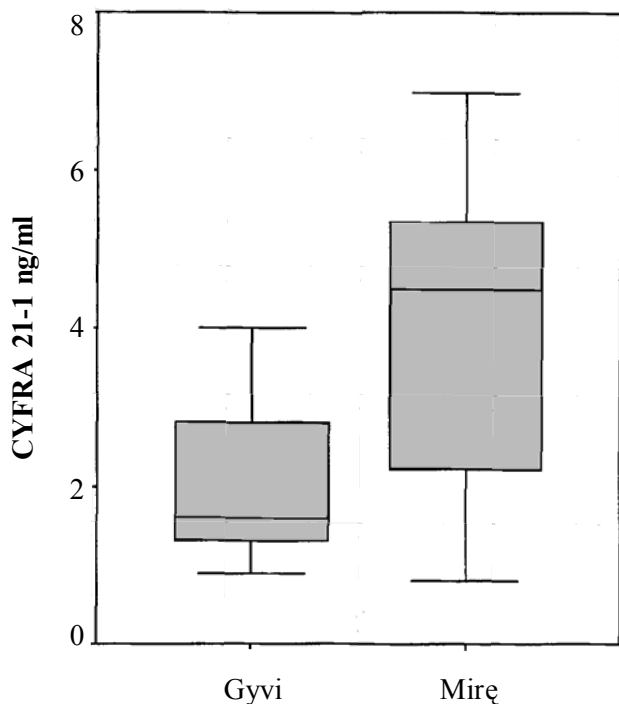
Nustatėme, kad naviko žymenų: citokeratino 19 fragmento, karcinoembrioninio antigeno ir neuronui specifinės enolazės kiekiai plaučių vėžiu sergančių ligonių kraujo serume priklauso nuo naviko morfo-



2 pav. Naviko žymenų CYFRA 21-1 ir NSE kiekis kraujo serume iki operacijos priklausomai nuo stadijos sergant plokščialąstelinio vėžiu $p=0,017$ (CYFRA 21-1), $p=0,03$ (NSE).



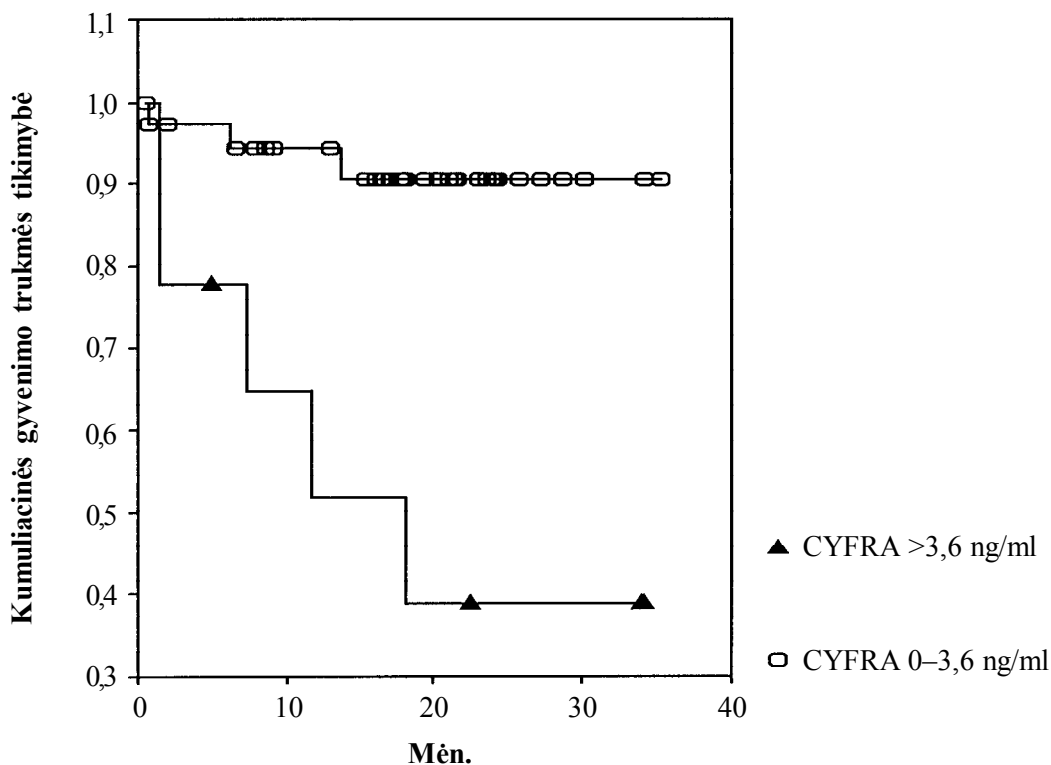
3 pav. Naviko žymenų CYFRA 21-1 ir NSE kiekis kraujo serume iki operacijos priklausomai nuo naviko dydžio $p=0,016$ (CYFRA 21-1), $p=0,006$ (NSE).



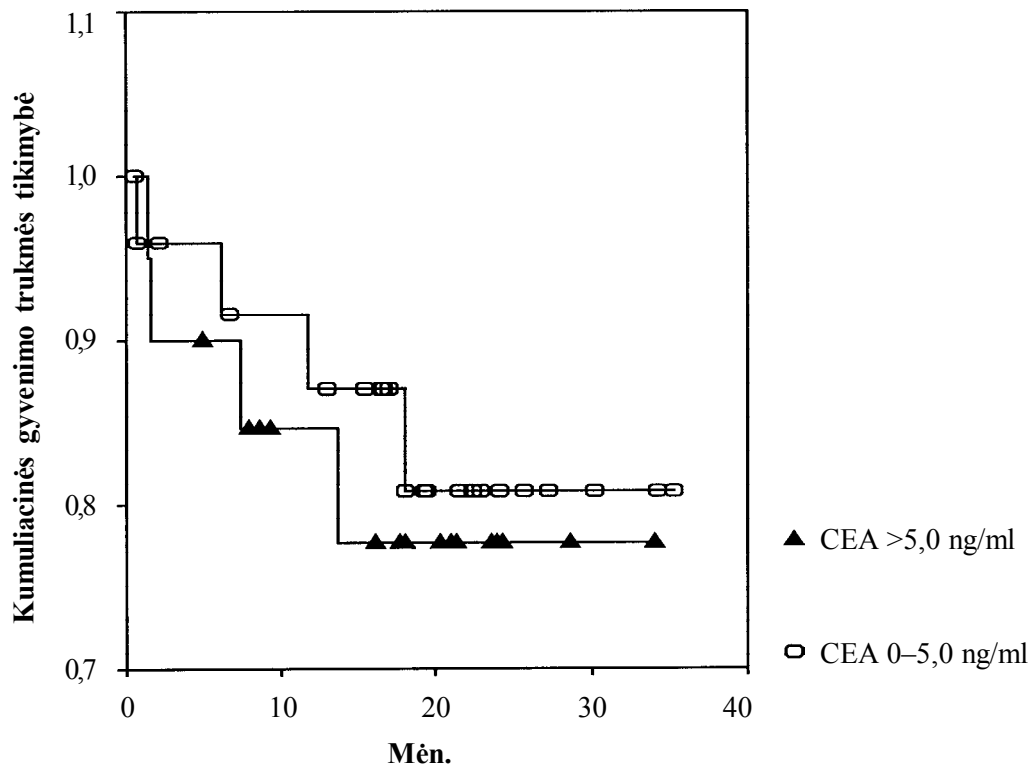
4 pav. Ligonų išgyvenimas priklauso nuo naviko žymens CYFRA 21-1 kiekio kraujo serume iki operacijos; $p=0,033$

loginio tipo, naviko dydžio, ligos stadijos, rūkymo bei yra susiję su nepalankia ligos prognoze.

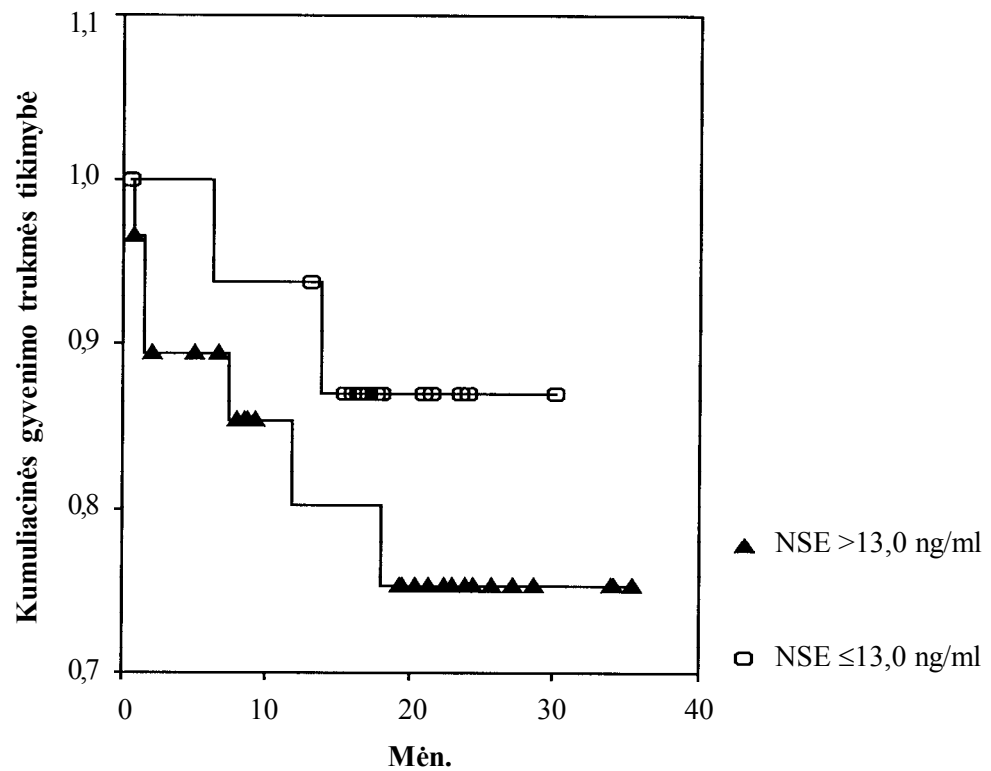
Mokslinės literatūros duomenimis, padidėjęs citokeratino 19 fragmento kiekis kraujo serume nustatomas 35–54 proc. plaučių vėžiu sergančių ligonių; padidėjęs karcinoembrioninio antigeno kiekis – 30–70 proc.; padidėjęs neuronui specifinės enolazės kiekis – 11–69 proc. (6, 12, 16, 17). Mūsų atlikto tyrimo duomenys (karcinoembrioninis antigenas – 43,5 proc., neuronui specifinė enolazė – 63,0 proc.) atitiko kitų autorių pateiktus analogiškus duomenis, išskyrus citokeratino 19 fragmento, kurio padidėjęs kiekis nustatytas 19,6 proc. ligonių kraujo serume. Skirtingą citokeratino 19 fragmento kiekio padidėjimo nustatymo procentą galėjo sąlygoti skirtingų tyrėjų taikomi nevienodi naviko žymenų normų intervalai bei skirtingas tiriamųjų kontingentas (7, 18). Pavyzdžiui, plokščialąstelinis plaučių vėžys nustatytas tik 34,8 proc., o pradinių stadijų plaučių vėžys – net 65,2 proc. mūsų tiriamųjų. Keleto klinikinių tyrimų duomenimis, rastas ryšys tarp naviko žymenų kiekio kraujo serume ir naviko histologijos (6, 12, 19). Padidėjęs citokeratino 19 fragmento kiekis kraujo serume labiau būdingas ligoniams, sergantiems nesmulkiąstelinio plaučių



5 pav. Ligonų kumuliacinės gyvenimo trukmės tikimybė priklauso nuo CYFRA 21-1 padidėjimo kraujo serume iki operacijos; $p=0,007$



6 pav. Ligonių kumuliacinės gyvenimo trukmės tikimybė priklausomai nuo CEA padidėjimo kraujo serume iki operacijos; $p=0,6$



7 pav. Ligonių kumuliacinės gyvenimo trukmės tikimybė priklausomai nuo NSE padidėjimo kraujo serume iki operacijos; $p=0,4$

vėžiui ir ypač esant plokščialąsteliniam histologijos tipui. Tokiais atvejais padidėjęs citokeratino 19 fragmento kiekis nustatomas iki 68 proc. ligonių kraujo serume (18). Neuronui specifinės enolazės kiekio padidėjimas nustatomas iki 98 proc. ligonių, sergančių smulkialąstelinio plaučių vėžiu, kraujo serume, o neuronui specifinė enolazė yra naviko žymuo, taikomas smulkialąstelinio plaučių vėžio tyrimui (3, 20). Tačiau padidėjęs šio naviko žymens kiekis gali būti nustatomas net iki 69 proc. ligonių, sergančių nesmulkialąstelinio neuroendokrininio plaučių vėžio, kraujo serume (6, 16). Padidėjęs karcinoembrioninio antigeno kiekis ligonių kraujo serume būdingesnis adenokarcinoma (10, 19), tačiau gali būti randamas visų histologinių naviko tipų atvejais net iki 71,4 proc. ligonių, sergančių periferinio tipo smulkialąstelinio plaučių vėžio, kraujo serume (21). Skaičius ligonių, kuriems kraujo serume nustatytas padidėjęs naviko žymenų kiekis, nebuvo reikšmingai susijęs su naviko histologija, tačiau naviko žymenų: citokeratino 19 fragmento ir neuronui specifinės enolazės kiekis kraujo serume iki operacijos buvo reikšmingai susijęs su naviko morfologiniu tipu, analizuojant ligonius, sergančius nesmulkialąstelinio plaučių vėžiu. Ligonius, kuriems nustatytas padidėjęs karcinoembrioninio antigeno ir neuronui specifinės enolazės kiekis kraujo serume, skaičius plokščialąstelinio plaučių vėžio ir adenokarcinomos grupėje nesiskyrė, o padidėjęs citokeratino 19 fragmento kiekis dažniau nustatytas ligonių, sergančių plokščialąstelinio plaučių vėžiu, kraujo serume palyginus su ligoniais, sergančiais adenokarcinoma, tačiau statistškai reikšmingo skirtumo nenustatyta galbūt dėl mažo tiriamųjų skaičiaus. Analizuojant naviko žymenų kiekių skirtumus, didžiausias neuronui specifinės enolazės kiekis kraujo serume nustatytas ligoniams, sergantiems didelių ląstelių plaučių vėžiu, kuris priklauso neuroendokrininio nesmulkialąstelinio plaučių vėžio grupei. Kaip ir kiti tyrėjai (6, 12) mes nustatėme, kad citokeratino 19 fragmento kiekis reikšmingai didesnis kraujo serume ligonių, sergančių plokščialąstelinio plaučių vėžiu palyginus su sergančiais adenokarcinoma.

Šio tyrimo duomenimis, esant didesniai naviko dydžiui ir vėlesnei ligos stadijai, ligonių kraujo serume dažniau nustatytas padidėjęs naviko žymenų kiekis, be to, didesnis naviko žymenų kiekis iki operacijos, tačiau reikšmingų skirtumų nustatyta tik analizuojant atskirus naviko morfologinius tipus, ligos stadijas ar naviko dydžius. Mokslinėje literatūroje skelbiami prieštaringi duomenys dėl sąsajų tarp naviko žymenų kiekio kraujo serume ir vėžinio proceso išplitimo: naviko dydžio, limfmazgių pažeidimo, stadijos. J. L. Pujol

su bendraaut., ištyrę 621 nesmulkialąstelinio plaučių vėžiu sergantį ligonį, nustatė, kad citokeratino 19 fragmento kiekis kraujo serume reikšmingai didesnis esant vėlesnei ligos stadijai ir didesniai limfmazgių pažeidimui, tačiau nerasta skirtumų tiriant kitą naviko žymenį, t. y. neuronui specifinę enolazę (6). D. Ferrigno su bendraautoriais nustatė, kad padidėjęs neuronui specifinės enolazės kiekis kraujo serume koreliuoja su naviko dydžiu ir ligos stadija (16). M. Rapellino su bendraaut. nenustatė reikšmingo ryšio tarp plaučių vėžiu sergančių ligonių skaičiaus, kuriems nustatytas padidėjęs citokeratino 19 fragmento kiekis, ir ligos stadijos (22), tačiau tokį ryšį rado J. Niklinski su bendraaut. (8). Vienų studijų duomenimis, padidėjęs karcinoembrioninio antigeno kiekis susijęs su naviko dydžiu ir stadija (10), limfmazgių pažeidimu (19), kitų – tokių sąsajų nenustatoma (11, 19). N. Reinmuth su bendraautoriais, ištyrę naviko žymenis: citokeratino 19 fragmentą, karcinoembrioninį antigeną ir neuronui specifinę enolazę nesmulkialąstelinio plaučių vėžiu sergančių pacientų kraujyje, nenustatė šių žymenų kiekių skirtumo priklausomai nuo ligos stadijos (12). Mūsų atlikto tyrimo duomenys neprieštarauja kitų autorių teiginiui, kad naviko žymenys be įprastinių diagnostinių tyrimų gali suteikti papildomos informacijos apie naviko dydį ir vėžinio proceso išplitimą (18).

Nustatėme, kad rūkančių ligonių kraujo serume rastas ne tik žymiai dažniau padidėjęs naviko žymenų kiekis, bet ir didesnis pačių naviko žymenų kiekis iki operacijos palyginti su metusiais rūkyti, taip pat nustatytas ryšys tarp kumuliacinio rūkymo intensyvumo ir citokeratino 19 fragmento kiekio ligonių, sergančių plokščialąstelinio plaučių vėžiu, kraujo serume. Mokslinėje literatūroje nurodoma, kad rūkantiems asmenims kraujo serume randamas didesnis karcinoembrioninio antigeno kiekis, palyginus su nerūkiančiais ir metusiais rūkyti, karcinoembrioninio antigeno kiekis kraujo serume normalizavosi po vienerių metų (23, 24). Mūsų tyrimo duomenys neprieštarauja teiginiui, kad rūkymas gali pažeisti kvėpavimo takų epitelį ir taip sąlygoti didesnę naviko žymenų patekimą į kraujo serumą.

Keleto studijų tyrėjai nenustatė navikų žymenų: citokeratino 19 fragmento (9), karcinoembrioninio antigeno ir neuronui specifinės enolazės (6, 11) prognostinės reikšmės, tačiau daugelio kitų studijų, tarp jų ir metaanalizės, duomenimis, padidėjęs naviko žymenų: citokeratino 19 fragmento, karcinoembrioninio antigeno ir neuronui specifinės enolazės kiekis kraujo serume yra neigiamas prognostinis veiksnys ligoniams, sergantiems plaučių vėžiu (6, 7, 10, 12, 16, 25). Mūsų atlikto tyrimo duomenys patvirtina kitų autorių duo-

menis, kad citokeratino 19 fragmentas yra neigiamas prognostinis veiksnys ligoniams, sergantiems plaučių vėžiu. Ligonų, kurių kraujo serume iki operacijos rastas padidėjęs citokeratino 19 fragmento kiekis, gyvenimo trukmės mediana buvo 18,0 mėn., esant normaliam citokeratino 19 fragmento kiekiui, gyvenimo trukmės mediana nepasiekta. Mirusiųjų kraujo serume buvo nustatytas reikšmingai didesnis naviko žymens citokeratino 19 fragmento kiekis kraujo serume palyginus su išgyvenusiais. Naviko žymenys: karcinoembrioninio antigenas ir neuronui specifinės enolazės, šio tyrimo duomenimis, neturėjo įtakos ligonių išgyvenimui, nors išgyvenimo kreivės rodo blogos prognozės tendenciją ligoniams, kurių kraujo serume nustatyti padidėję navikų žymenų karcinoembrioninio antigeno ir neuronui specifinės enolazės kiekiai. Tačiau nė vie-

noje grupėje nepasiekta gyvenimo trukmės mediana, todėl tikslinga tolesnė tokių ligonių stebėseną.

Išvados

Daugumos plaučių vėžiu sergančiųjų kraujo serume nustatytas bent vieno naviko žymens: citokeratino 19 fragmento, karcinoembrioninio antigeno ar neuronui specifinės enolazės kiekio padidėjimas. Naviko žymenų kiekio pokyčiai susiję su naviko morfologiniu tipu ir vėžinio proceso išplitimu. Rūkančių ligonių kraujo serume nustatytas didesnis naviko žymenų karcinoembrioninio antigeno ir neuronui specifinės enolazės kiekis palyginti su metusiais rūkyti. Padidėjęs naviko žymens citokeratino 19 fragmento kiekis kraujo serume yra nepalankios prognozės veiksnys ligoniams, sergantiems plaučių vėžiu.

Clinical and prognostic significance of tumor markers cytokeratin 19 fragment, carcinoembryonic antigen, and neuron-specific enolase in lung cancer

Marius Žemaitis¹, Raimundas Sakalauskas², Kęstutis Malakauskas^{1, 2}, Thomas Muley³,
Jürgen Richard Fischer⁴, Harald Lahm⁵

¹Institute for Biomedical Research, ²Clinic of Pulmonology and Immunology, Kaunas University of Medicine, Lithuania, ³Department of Surgery, Thoraxklinik Heidelberg, University of Heidelberg, ⁴Klinik Löwenstein, ⁵Laboratory of Immunology and Molecular Biology, Thoraxklinik Heidelberg, University of Heidelberg, Germany

Keywords: lung cancer, tumor markers, cytokeratin 19 fragment, carcinoembryonic antigen, neuron-specific enolase, prognostic factors.

Summary. Objective. To evaluate the clinical and prognostic significance of the tumor markers cytokeratin 19 fragment, carcinoembryonic antigen and neuron-specific enolase in lung cancer patients.

Materials and methods. Serum levels of cytokeratin 19 fragment, carcinoembryonic antigen and neuron-specific enolase were measured using electrochemical luminescence immunoassay in 46 lung cancer patients. Serum levels of cytokeratin 19 fragment, carcinoembryonic antigen, and neuron-specific enolase higher than 3.6 ng/ml, 5.0 ng/ml and 13.0 ng/ml, respectively, were considered as elevated.

Results. Cytokeratin 19 fragment, carcinoembryonic antigen, and neuron-specific enolase were elevated in 19.6%, 43.5%, and 63% of patients, respectively. Elevated levels of neuron-specific enolase were detected more frequently in smokers than in ex-smokers ($p=0.003$). Likewise preoperative levels of carcinoembryonic antigen ($p=0.023$) and neuron-specific enolase ($p=0.007$) were statistically higher in smokers than in ex-smokers. A significant correlation was detected between the level of cytokeratin 19 fragments and smoking cumulative exposure ($r=0.542$, $p=0.037$). The number of patients with elevated levels of cytokeratin 19 fragment and neuron-specific enolase was higher in more advanced disease than in early lung cancer ($p=0.036$ and $p=0.036$, respectively). Preoperative levels of cytokeratin 19 fragment ($p=0.017$ and $p=0.016$, respectively) and neuron-specific enolase ($p=0.03$ and $p=0.006$, respectively) were significantly associated with more advanced disease and tumor size, as well as tumor histology in non-small cell lung cancer ($p=0.03$ and $p=0.016$, respectively). Preoperative levels of cytokeratin 19 fragments were higher in squamous cell carcinoma than in adenocarcinoma ($p=0.026$). Elevated preoperative serum levels of cytokeratin 19 fragment predict a poor prognosis for lung cancer patients ($p=0.007$).

Conclusion. Alteration of serum tumor markers cytokeratin 19 fragment, carcinoembryonic antigen and neuron-specific enolase is associated with particular tumor histology, smoking habit, more advanced disease and poor prognosis.

Correspondence to M. Žemaitis, Clinic of Pulmonology and Immunology, Kaunas University of Medicine, Eivenių 2, 50009 Kaunas, Lithuania. E-mail: mzemaiti@kmu.lt

Literatūra

1. Mountain CF. Revisions in the international system for staging lung cancer. *Chest* 1997;111:1710-7.
2. The International Adjuvant Lung cancer trial Collaborative Group. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2004;350:351-60.
3. Ferrigno D, Buccheri G, Biggi A. Serum tumour markers in lung cancer: history, biology and clinical applications. *Eur Respir J* 1994;7:186-97.
4. Buccheri G, Ferrigno D. Lung tumor markers of cytokeratin origin: an overview. *Lung Cancer* 2001;34S:65-9.
5. Vollmer RT, Govindan R, Graziano SL, Gamble G, Garst J, Kelley MJ, et al. Serum CYFRA 21-1 in advanced stage non-small cell lung cancer: an early measure of response. *Clin Cancer Res* 2003;9:1728-33.
6. Pujol JL, Boher JM, Grenier J, Quantin X. Cyfra 21-1, neuron specific enolase and prognosis of non-small cell lung cancer: prospective study in 621 patients. *Lung Cancer* 2001;31:221-31.
7. Barlesi F, Gimenez C, Torre JP, Doddoli C, Mancini J, Greillier L, et al. Prognostic value of combination of Cyfra 21-1, CEA and NSE in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Respir Med* 2004;98:357-62.
8. Niklinski J, Burzykowski T, Niklinska W, Laudanski J, Chyczewski L, Rapellino M, et al. Preoperative CYFRA 21-1 level as a prognostic indicator in resected nonsmall cell lung cancer. *Eur Respir J* 1998;12:1424-8.
9. Szturmowicz M, Sakowicz A, Rudzinski P, Burakowski J, Kober J, Filipiecki S, et al. The clinical value of Cyfra 21-1 estimation for lung cancer patients. *Int J Biol Markers* 1996; 11:172-7.
10. Sawabata N, Ohta M, Takeda S, Hirano H, Okumura Y, Asada H, et al. Serum carcinoembryonic antigen level in surgically resected clinical stage I patients with non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2002;74:174-9.
11. Tomita M, Matsuzaki Y, Edagawa M, Shimizu T, Hara M, Onitsuka T. Prognostic significance of preoperative serum carcinoembryonic antigen level in lung adenocarcinoma but not squamous cell carcinoma. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2004;10:76-80.
12. Reinmuth N, Brandt B, Semik M, Kunze WP, Achatzy R, Scheld HH, et al. Prognostic impact of Cyfra 21-1 and other serum markers in completely resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2002;36:265-70.
13. Schneider J, Philipp M, Velcovsky HG, Morr H, Katz N. Pro-gastrin-releasing peptide (proGPR), neuron specific enolase (NSE), carcinoembryonic antigen (CEA) and cytokeratin 19-fragment (CYFRA 21-1) in patients with lung cancer in comparison to other diseases. *Anticancer Res* 2003;23:885-93.
14. Van Zandwijk N, Jassem E, Bonfrer JMG, Mooi WJ, van Tinteren H. Serum neuro-specific enolase and lactate dehydrogenase as predictor of response to chemotherapy and survival in non-small cell lung cancer. *Semin Oncol* 1992;19:37-43.
15. Malakauskas K, Sakalauskas R, Dudzevičius V, Žemaitis M, Staikūnienė J, Plieskienė A. Rūkymo paplitimo bei plaučių ventiliacijos rodmenų tyrimas tarp Lietuvos penkių rajonų suaugusių gyventojų. (Investigation of smoking prevalence and lung ventilatory function among rural population in five regions of Lithuania.) *Medicina (Kaunas)* 2001;37(9):859-65.
16. Ferrigno D, Buccheri G, Giordano C. Neuron-specific enolase is an effective tumour marker in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2003;41:311-20.
17. Kupes J, Wojcik E, Reinfuss M, Kolodziejewski 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.
18. Wieskopf B, Demangeat C, Purohit A, Stenger R, Gries P, Kreisman H, et al. Cyfra 21-1 as a biologic marker of non-small cell lung cancer: evaluation of sensitivity, specificity, and prognostic role. *Chest* 1995;108:163-9.
19. Pollan M, Varela G, Torres A, de la Torre M, Ludena MD, Ortega MD, et al. clinical value of p53, c-erbB-2, CEA and CA125 regarding relapse, metastasis and death in resectable non-small cell lung cancer. *Int J Cancer* 2003;107:781-90.
20. Muley T, Ebert W, Stieber P, Raith H, Holdenrieder S, Nagel D, et al. Technical performance and diagnostic utility of the new Elecsys neuron-specific enolase enzyme immunoassay. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:95-103.
21. Bandoh S, Fujita J, Ueda Y, Fukunaga Y, Dohmoto K, Hojo S, et al. Expression of carcinoembryonic antigen in peripheral- or central-located small cell lung cancer: its clinical significance. *Jpn J Clin Oncol* 2001;31:305-10.
22. Rapellino M, Niklinski J, Pecchio F, Furman M, Baldi S, Chyczewski L, et al. CYFRA 21-1 as a tumour marker for bronchogenic carcinoma. *Eur Respir J* 1995;8:407-10.
23. Fukuda I, Yamakado M, Kiyose H. Influence of smoking on serum carcinoembryonic antigen levels in subjects who underwent multiphasic health testing and services. *J Med Syst* 1998;22:89-93.
24. Kashiwabara K, Nakamura H, Yokoi T. Chronological change of serum carcinoembryonic antigen (CEA) concentrations and pulmonary function data after cessation of smoking in subjects with smoking-associated CEA abnormality. *Clin Chim Acta* 2001;303:25-32.
25. Pujol JL, Molinier O, Ebert W, Daures JP, Barlesi F, Buccheri G, et al. CYFRA 21-1 is a prognostic determinant in non-small-cell lung cancer: results of meta-analysis in 2063 patients. *Br J Cancer* 2004;90:2097-105.

Straipsnis gautas 2005 02 23, priimtas 2005 06 22
Received 23 February 2005, accepted 22 June 2005