

Oznaczanie neuronospecyficzej enolazy u chorych z guzem typu midgut leczonych analogami somatostatyny

Paweł Gut, Agata Czarnywojtek, Nadia Sawicka – Gutaj, Kosma Woliński, Adam Maciejewski, Marek Ruchała

Poznań University of Medical Sciences, Department of Endocrinology, Metabolism and Internal Diseases, Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

Słowa kluczowe; neuronospecyficzna enolaza, nowotwory neuroendokrynne

Corresponding author;

Paweł Gut MD, PhD

Poznan University of Medical Sciences

Department of Endocrinology, Metabolism and Internal Diseases

49 Przybyszewski Street, 60-355 Poznan, Poland

Tel; +48 61 8691330, Fax +48 61 8691682

e-mail; gutpj@poczta.onet.pl

1. Wstęp

Ocena czynności hormonalnej nowotworów neuroendokrynych (NEN) przewodu pokarmowego stanowi ważny etap w diagnostyce oraz monitorowaniu leczenia tych schorzeń. W diagnostyce biochemicznej wykorzystuje się oznaczenia specyficznych i niespecyficznych markerów guzów neuroendokrynych [1-3]. Do niespecyficznych markerów należy chromogranina A (CgA), neuronospecyficzna enolaza (NSE) oraz podjednostka α i β ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (hCG). NSE wykazuje niższą czułość i specyficzność w diagnostyce guzów NEN niż CgA [4, 5]. Stężenia NSE są podwyższone u 50-70% chorych z zespołem rakowiaka, guzami wysp trzustkowych, pheochromocytoma, rakiem rdzeniastym tarczycy i rakiem drobnokomórkowym płuc [6, 7]. Fizjologicznie NSE występuje w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym, przysadce, rdzeniu nadnerczy i szyszynce. Jej podwyższone wartości możemy spotykać także we wstrząsie septycznym oraz w stanach pourazowych. Jednoczesne oznaczanie CgA i NSE wykazuje większą czułość niż każdego z tych markerów osobno [8-10]. Neuronospecyficzna enolaza stanowi użyteczny marker w diagnostyce guzów nisko i wysoko zróżnicowanych. Stężenia NSE w przybliżeniu korelują z masą guza oraz ze stadium zaawansowania choroby. Równoczesne oznaczenie CgA, polipeptydu trzustkowego (PP) oraz NSE może zwiększyć czułość w diagnozowaniu NEN, szczególnie nieczynnych hormonalnie NEN trzustki oraz w zespole rakowiaka [11-12]. Landry i wsp. przedstawia w swojej pracy zależność stężenia NSE od wielkości guza, obecności przerzutów do okolicznych i odległych węzłów chłonnych, stopnia dojrzałości histologicznej oraz obecności naciekania naczyń [13]. Badanie Adrichem i wsp. pokazuje, że NSE jest ogólnym biomarkerem przeżycia u pacjentów z NEN w IV stopniu zaawansowania w klasyfikacji TNM [14]. Wysokie wartości NSE wskazują na bardziej agresywny przebieg choroby i szybszą progresję. Celem niniejszej pracy była ocena NSE u chorych z guzem typu midgut leczonych analogami somatostatyny.

2. Materiał i Metody

Badana grupa chorych, u których rozpoznano NEN jelita cienkiego liczyła 41 osób, w tym 29 kobiet (70,7%) i 12 mężczyzn (29,3%). Średnia wieku mężczyzn wynosiła $60,41 \pm 4,90$ lat, natomiast u kobiet $64,20 \pm 10,39$ lat. Wszyscy badani pacjenci byli poddani operacji chirurgicznej usunięcia ogniska pierwotnego z oceną histopatologiczną wg. klasyfikacji WHO z 2017 r. Stopień dojrzałości G1 stwierdzono w 19 (46,3%) preparatach tkankowych, natomiast G2 (53,7%) w pozostałych 22 preparatach. Wszyscy pacjenci przebyli wnikliwą diagnostykę obrazową (ultrasonografia jamy brzusznej, tomografia komputerowa klatki piersiowej, jamy brzusznej i miednicy mniejszej) oraz uzupełniające badania biochemiczne jak: CgA, serotonina, kwas 5-hydroxyindoloctowy (5-HIAA), NSE, celem oceny zaawansowania klinicznego. U wszystkich badanych chorych stwierdzono obecność przerzutów do wątroby (10% zajęcia wątroby w 23 przypadkach, 25% zajęcia wątroby w 18 przypadkach). W każdym przypadku celem kwalifikacji do leczenia analogami somatostatyny wykonano scyntyografię receptorową z zastosowaniem ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-TOC. Stopień intensywności gromadzenia radioznacznika w przerzutach do wątroby oceniano na podstawie jakościowej skali opracowanej przez E. Krenninga (stopień 0-4). W grupie badanych chorych stopień gromadzenia radioznacznika w wątrobie mieścił się w stopniu 3 i 4 wg. skali Krenninga. Badana grupa chorych była leczona analogami somatostatyny w okresie od 2014 do 2018 r., otrzymując oktreotyd LAR w dawce 30mg (i.m.) co 4 tygodnie. Kontrolę parametrów biochemicznych wykonywano co 3 miesiące. Natomiast badania obrazowe w postaci tomografii komputerowej jamy brzusznej przeprowadzano co 6 miesięcy celem uzyskania obiektywnej oceny odpowiedzi na leczenie z wykorzystaniem kryteriów RECIST 1.1. Do oznaczeń stężenia NSE użyto zestawu firmy Immuno – Biological Laboratories (Mineapolis, Minnesota, USA), gdzie wartości referencyjne mieściły się w przedziale 12,5 – 25 ng/ml.

Ocena statystyczna

Analizę zmiennych ilościowych przeprowadzono wyliczając średnią, odchylenie standardowe, medianę, kwartyle minimum oraz maksimum wartości. Porównanie wartości zmiennych ilościowych w dwóch grupach wykonano za pomocą testu Manna-Whitneya. Korelację pomiędzy dwiema zmiennymi ilościowymi analizowano wykorzystując współczynnik Pearsona lub Spearmana. W analizie przyjęto poziom istotności 0,05. A więc wszystkie wartości p poniżej 0,05 interpretowano jako świadczące o istotnych zależnościach.

Wyniki

Ocena wyników wartości stężenia NSE w zależności od *gradingu*

W grupie chorych ze stopniem dojrzałości histologicznej nowotworu G1 (n = 19) średnia wartość stężenia NSE wynosiła $54,88 \pm 31,22$ ng/ml, natomiast w grupie ze stopniem dojrzałości histologicznej G2 (n = 22) odpowiednio wartości te wynosiły $119,56 \pm 58,32$ ng/ml i były wyraźnie wyższe niż w grupie G1 (p=0,003). Analogiczną zależność zaobserwowano w analizie ostatnich wartości stężenia NSE, mianowicie w grupie G1 średnia ostatnich wartości NSE wynosiła $78,25 \pm 42,51$ ng/ml, a w grupie G2 wynosiła $209,19 \pm 72,28$ ng/ml (p=0,001), (Tabela 1, 2).

Ocena wyników wartości stężenia NSE w zależności od stopnia zajęcia wątroby

W analizie oznaczeń wartości stężenia NSE w zależności od stopnia zajęcia wątroby, w grupie chorych z 10% zajęciem wątroby (n = 23) średnia wartość stężenia NSE wynosiła $49,37 \pm 18,26$ ng/ml, natomiast w grupie z 25% zajęciem wątroby (n = 18) wartości te były znacząco wyższe i wynosiły $143,13 \pm 65,25$ ng/ml (p< 0,001). W analizie ostatnich wartości stężenia NSE w pierwszej grupie średnia ostatnich wartości wynosiła $62,28 \pm 38,23$ ng/ml i była wyraźnie niższa w porównaniu do drugiej grupy, gdzie stężenie NSE wynosiło $249,27 \pm 127,12$ ng/ml (p<0,001), (Tabela 3, 4).

Ocena wyników stężenia NSE w zależności od stadium zaawansowania choroby

W analizie oceny stężenia NSE, w grupie chorych z progresją choroby (n = 21) średnie wartości wynosiły $129,65 \pm 66,93$ ng/ml w porównaniu do grupy ze stabilizacją choroby (n = 20), gdzie średnie wartości stężenia NSE były znacząco niższe i równały się $52,61 \pm 29,21$ ng/ml ($p < 0,001$). Natomiast w analizie ostatnich wartości, średnie stężenie NSE w grupie z progresją choroby wynosiło $228,45 \pm 98,34$ ng/ml i było znacząco wyższe niż w grupie ze stabilizacją choroby, gdzie wartość stężenia NSE wynosiła $59,99 \pm 39,88$ ng/ml ($p < 0,001$), (Tabela 5, 6).

Dyskusja

W naszych badaniach zaobserwowaliśmy, że wśród chorych ze stopniem dojrzałości histologicznej nowotworu neuroendokrynnego G2 oraz u chorych z 25% zajęciem wątroby i progresją procesu chorobowego wartości stężenia NSE były zdecydowanie wyższe. NSE może być podwyższona w 38-45% NEN o niskim stopniu dojrzałości stanowiąc jeden z ważnych czynników prognostycznych. Wysokość stężenia NSE koreluje ze zróżnicowaniem nowotworu, agresywnością oraz wielkością guza, jak również jest odwrotnie proporcjonalne do całkowitego przeżycia oraz przeżycia wolnego od progresji [15]. Obecnie uważa się, że poziom NSE jest zależny od obecności przerzutów, ich usytuowania, liczby i wielkości oraz koreluje z odpowiedzią na leczenie z zastosowaniem analogów somatostatyny [16]. Jednocześnie należy dodać, że NSE nie jest idealnym markerem nowotworów neuroendokrynnych. Jej podwyższone wartości spotyka się również w raku drobnokomórkowym płuca, neuroblastomie, czerniaku złośliwym, guzach mózgu, czy też stanach zapalnych ośrodkowego układu nerwowego [17]. Mijones i wsp. opisuje, że komórki nowotworowe z ekspresją NSE są najczęściej widoczne w NEN oraz raku jasnokomórkowym nerki. Stwierdzono dodatni związek między ekspresją NSE a liczbą dodatkowych markerów neuroendokrynnych wyrażanych w danym guzie, jak CgA, gonadotropina kosmówkowa czy synaptofizyna [18]. Podobne obserwacje podaje Bajetta i wsp. uważając, że wartości NSE

opisywane u chorych z zespołem rakowiaka są zależne od stężenia CgA oraz wydalania kwasu 5-HIAA. Równoczesne oznaczenia NSE i 5-HIAA wykazały bardzo wysoką specyficzność (100%), ale raczej niską czułość (odpowiednio 32,9% i 35,1%). Ponadto wyniki powyższego badania pokazują, że CgA i NSE mają najwyższą czułość i najbardziej wiarygodną dokładność odzwierciedlającą zaawansowanie kliniczne NEN [19]. Zupełnie odmienne spostrzeżenia opisuje Manfe i wsp. oceniając CgA, NSE i 5-HIAA w nowotworach neuroendokrynych jelita cienkiego ze stopniem dojrzałości G2. Swoistość CgA, NSE i 5-HIAA wynosiła 86%, 87% i 93%, a czułość odpowiednio 64%, 36% i 35%. Nie stwierdzono związku między przeżywalnością a wydalaniem 5-HIAA i stężeniem NSE w surowicy [20]. Podsumowując należy podkreślić, że NSE jest jednym z kluczowych niespecyficznych markerów stosowanych w diagnostyce i monitorowaniu leczenia nowotworów neuroendokrynych. Czułość i swoistość oznaczeń NSE ma duże zastosowanie u chorych z bardziej zaawansowaną i agresywną postacią choroby. Warto również dodać, że wartość oznaczeń NSE jest znacznie wyższa w korelacji z oceną innych dodatkowych markerów jak: CgA, 5-HIAA czy synaptofizyna.

Piśmiennictwo

1. Caplin M, Kvols L. Handbook of neuroendocrine tumours , their current and future management. BioScientisica. 2006; 103-109.
2. Wick MR, Scheithauer BW, Kovacs K. Neuron-specific enolase in neuroendocrine tumors of the thymus, bronchus, and skin. Am J Clin Pathol. 1983 Jun;79(6):703-7.
3. Giovanella L, La Rosa S, Ceriani L et al. Chromogranin-A as a serum marker for neuroendocrine tumors: comparison with neuron-specific enolase and correlation with immunohistochemical findings. Int J Biol Markers. Jul-Sep 1999;14(3):160-6.

4. Kasprzak A, Zabel M, Biczysko W. Selected markers (chromogranin A, neuron-specific enolase, synaptophysin, protein gene product 9.5) in diagnosis and prognosis of neuroendocrine pulmonary tumours. *Pol J Pathol.* 2007;58(1):23-33.
5. Braga F, Ferraro S, Mozzi R et al. Biological variation of neuroendocrine tumor markers chromogranin A and neuron-specific enolase. *Clin Biochem.* 2013 Jan;46(1-2):148-51.
6. Lamberts SW, Hofland LJ, Nobels FR. Neuroendocrine tumor markers. *Front Neuroendocrinol.* 2001 Oct;22(4):309-39.
7. Eriksson B, Oberg K, Stridsberg M. Tumor markers in neuroendocrine tumors. *Digestion.* 2000;62 Suppl 1:33-8.
8. Eberlein-Gonska M, Wiedenmann B, Waldherr R. Synaptophysin, chromogranin A and neuron-specific enolase as tumor markers in neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract and lung. An immunohistochemical study. *Pathologe.* 1989 Jul;10(4):228-33.
9. Manfè AZ, Norberto L, Marchesini M, Lumachi F. Usefulness of chromogranin A, neuron-specific enolase and 5-hydroxyindolacetic acid measurements in patients with malignant carcinoids. *In Vivo.* Nov-Dec 2011;25(6):1027-9.
10. Dittadi R, Gion M. Biological variation of neuroendocrine tumor markers chromogranin A and neuron-specific enolase. *Clin Biochem.* 2013 Aug;46(12):1145.
11. Kos-Kudła B, Blicharz-Dorniak J, Strzelczyk J et al. Diagnostic and therapeutic guidelines for gastro-entero-pancreatic neuroendocrine neoplasms (recommended by the Polish Network of Neuroendocrine Tumours). *Endokrynol Pol.* 2017;68(2):79-110.
12. Bolanowski M, Bednarczuk T, Bobek-Billewicz B et al. Neuroendocrine neoplasms of the small intestine and the appendix - management guidelines (recommended by the Polish Network of Neuroendocrine Tumours). *Endokrynol Pol.* 2013;64(6):480-93.

13. Christine S Landry, Keith Cavaness, Scott Celinski et al. Biochemical prognostic indicators for pancreatic neuroendocrine tumors and small bowel neuroendocrine tumors. *Gland Surg* . 2014 Nov;3(4):215-8.
14. R C S van Adrichem, K Kamp, T Vandamme et al. Serum neuron-specific enolase level is an independent predictor of overall survival in patients with gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Ann Oncol* . 2016 Apr;27(4):746-7.
15. Martine Bocchini, Fabio Nicolini, Stefano Severi et al. Biomarkers for Pancreatic Neuroendocrine Neoplasms (PanNENs) Management-An Updated Review. *Front Oncol* 2020 May 27;10:831.
16. Maria Antonietta Isgrò, Patrizia Bottoni, Roberto Scatena. Neuron-Specific Enolase as a Biomarker: Biochemical and Clinical Aspects. *Adv Exp Med Biol*. 2015;867:125-43.
17. E Kaiser, R Kuzmits, P Pregant et al. Clinical biochemistry of neuron specific enolase. *Clin Chim Acta*. 1989 Jul 31;183(1):13-31.
18. Patricia Mjølnes, Liv Sagatun, Ivar S Nordrum et al. Neuron-Specific Enolase as an Immunohistochemical Marker Is Better Than Its Reputation. *J Histochem Cytochem*. 2017 Dec;65(12):687-703.
19. E Bajetta, L Ferrari, A Martinetti et al. Chromogranin A, neuron specific enolase, carcinoembryonic antigen, and hydroxyindole acetic acid evaluation in patients with neuroendocrine tumors. *Cancer*. 1999 Sep 1;86(5):858-65.
20. Anna Zaira Manfé, Lorenzo Norberto, Marco Marchesini et al. Usefulness of chromogranin A, neuron-specific enolase and 5-hydroxyindolacetic acid measurements in patients with malignant carcinoids. *In Vivo*. Nov-Dec 2011;25(6):1027-9.

Tabela 1. Średnia wartość NSE w zależności od *gradingu*

<i>Grading</i>	Średnia wartość NSE (ng/ml)								p *
	N	Średnia	SD	Mediana	Min	Max	Q1	Q3	
G1	19	54,88	31,22	34,86	20,68	268,26	28,10	55,98	p=0,003
G2	22	119,56	58,32	99,48	26,02	332,84	40,61	170,44	

* Test Manna-Whitney'a

Tabela 2. Ostatnia wartość NSE w zależności od *gradingu*

<i>Grading</i>	Ostatnia wartość NSE (ng/ml)								p *
	N	Średnia	SD	Mediana	Min	Max	Q1	Q3	
G1	19	78,25	42,51	46,38	30,13	292,73	36,71	71,16	p=0,001
G2	22	209,19	72,28	168,08	35,24	621,21	64,68	323,23	

* Test Manna-Whitney'a

Tabela 3. Średnia wartość NSE w zależności od stopnia zajęcia wątroby

Stopień zajęcia wątroby	Średnia wartość NSE (ng/ml)								p *
	N	Średnia	SD	Mediana	Min	Max	Q1	Q3	
10%	23	49,37	18,26	36,02	21,82	269,08	27,54	51,02	p<0,001
25%	18	143,13	65,25	118,71	35,07	321,71	85,93	181,01	

* Test Manna-Whitney'a

Tabela 4. Ostatnia wartość NSE w zależności od stopnia zajęcia wątroby

Stopień zajęcia wątroby	Ostatnia wartość NSE (ng/ml)								p *
	N	Średnia	SD	Mediana	Min	Max	Q1	Q3	
10%	23	62,28	38,23	32,05	20,31	291,51	34,89	59,37	p<0,001
25%	18	249,27	127,12	251,78	50,73	642,95	118,41	329,88	

* Test Manna-Whitney'a

Tabela 5. Średnia wartość NSE w zależności od stadium zaawansowania choroby

Stadium zaawansowania choroby	Średnia wartość NSE (ng/ml)								p *
	N	Średnia	SD	Mediana	Min	Max	Q1	Q3	
PD	21	129,65	66,93	103,85	35,27	334,04	63,35	173,58	p<0,001
SD	20	52,61	29,21	36,52	24,65	272,44	28,75	51,89	

* Test Manna-Whitney'a

Tabela 6. Ostatnia wartość NSE w zależności od stadium zaawansowania choroby

Stadium zaawansowania choroby	Ostatnia wartość NSE (ng/ml)								p *
	N	Średnia	SD	Mediana	Min	Max	Q1	Q3	
PD	21	228,45	98,34	237,32	54,12	644,32	105,42	326,54	p<0,001
SD	20	59,99	39,88	42,02	19,42	290,62	32,57	52,32	

* Test Manna-Whitney'a