

KLINIČKA VREDNOST NEURON SPECIFIČNE ENOLAZE KOD MIKROCELULARNOG KARCINOMA PLUĆA

Gordana Stošić

Institut za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije, Beograd

Kratak sadržaj: Tumori pluća se karakterišu brзом malignom evolucijom i lošom prognozom. Postoje četiri osnovna ćelijska tipa karcinoma pluća: skvamozni, adenokarcinom, karcinom velikih ćelija i mikrocelularni. Biološko i kliničko ponašanje mikrocelularnog karcinoma je različito od svih ostalih tumora pluća. Radi toga se mikrocelularni karcinom, small cell lung cancer (SCLC), izdvaja u posebnu grupu, a preostala tri ćelijska tipa u kategoriju označenu kao nemikrocelularni karcinom, non small cell lung cancer (NSCLC). Enolaza (2 fosfo-D glicerat hidrolaza, EC 4.2.1.11) je enzim koji postoji u obliku nekoliko dimernih izoenzima ($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\alpha\gamma$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$). Neuron specifičnu enolazu (NSE ili $\alpha\gamma$, $\gamma\gamma$) sintetizuju neuroni i maligni tumori (SCLC, neuroblastom i intestinalni karcinoidi). NSE je najznačajniji tumorski marker za SCLC. Izlivanje NSE u tkivo i serum pacijenata podržava dijagnozu SCLC i bez histološkog nalaza. Ovaj marker ne treba koristiti za »skrining« u cilju ranog otkrivanja karcinoma. Koncentracija NSE je u korelaciji sa voluminoznošću tumora i brojem metastatskih mesta. Lokalizacije metastaza ne utiču na nivo NSE, uključujući i one na mozgu. Visoke vrednosti NSE ukazuju na proširenu bolest i sugerišu lošu prognozu. Uspešnost hemoterapije može da se prati merenjem serumskog nivoa NSE kod pacijenata sa SCLC. Porast koncentracije NSE ukazuje na progresiju bolesti iako je pacijent klinički još uvek u remisiji. Poštujući preporuke EGTM (European Group on Tumor Markers) za pravilnu upotrebu markera, određivanje koncentracije NSE može biti korisno za potvrdu dijagnoze SCLC i praćenje uspešnosti hemoterapije.

Cljučne reči: mikrocelularni karcinom pluća (SCLC), nemikrocelularni karcinom pluća (NSCLC), neuron-specifična enolaza (NSE)

Karcinom pluća

U industrijskim zemljama smrtnost od tumora je na drugom mestu, odmah posle kardiovaskularnih bolesti. Među njima su na prvom mestu, po učestalosti, tumori pluća, posebno među muškom populacijom (1).

Ove tumore karakteriše brza maligna evolucija i loša prognoza. Prema klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije postoje četiri osnovna ćelijska tipa karcinoma pluća: skvamozni (planocelularni), adenokarcinom, karcinom velikih ćelija i mikrocelularni. Mikrocelularni karcinom pluća se karakteriše brojnim hromozomskim poremećajima, ekspresijom različitih onkogenih i stvaranjem autokrinih faktora rasta. Ovakvo biološko ponašanje mikrocelularnog karcinoma

je veoma slično sistemskim bolestima, za razliku od svih ostalih tumora pluća. Radi toga se mikrocelularni karcinom – small cell lung cancer (SCLC) izdvaja u posebnu grupu, a preostala tri ćelijska tipa u kategoriju označenu kao nemikrocelularni karcinom – non small cell lung cancer (NSCLC). Obe grupe su heterogene, a uočeno je različito ponašanje tumora i u okviru istih histoloških grupa. Pojedini NSCLC pokazuju ista endokrina svojstva kao SCLC, a SCLC može evoluirati u fenotip sa selektivnim gubitkom neuroendokrinih svojstava i zadobiti morfološki izgled koji je više nalik na NSCLC.

SCLC spada u grupu najagresivnijih brzorastućih neoplazmi. Veoma brzo daje regionalne i udaljene metastaze koje postoje kod velikog broja pacijenata već u momentu postavljanja dijagnoze. SCLC izuzetno brzo raste, ali je jako hemosenzitivan. Preživljavanje pacijenata sa ovim tipom tumora pluća je bilo bez lečenja svega nekoliko nedelja od postavljanja dijagnoze. Danas je sistemskom hemoterapijom produženo na 2 do 5 godina. Loša prognoza pacijenata sa SCLC umanjuje značaj određivanja markera, ali merenja njihove koncentracije može pomoći u postav-

Adresa autora:

Gordana Stošić
Institut za medicinsku biohemiju
Klinički centar Srbije
Višegradska 26
11000 Beograd, Srbija i Crna Gora

ljanju dijagnoze i praćenju uspešnosti terapije poštujući preporuke EGTM (European Group on Tumor Markers) za pravilnu upotrebu markera (2).

Neuron specifična enolaza

Enolaza (EC 4.2.1.11) je enzim koji u procesu glikolize katalizuje pretvaranje dva fosfoglicerata u fosfoenolpiruvat (3). Enzim sadrži dve od moguće tri subjedinice: α , β i γ čije su molekulske mase od 39 do 100 kDa. Enzim može biti u formi homo ili heterodimera ($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\alpha\gamma$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$). α , β i γ izoproteini imaju različite biohemijske, hromatografske, imunohemijske i elektroforetske osobine, kao i različite organspecifičnosti. Za sintezu svakog od njih je odgovoran poseban gen. Postoje tri genska lokusa za NSE i to: ENO₁, ENO₂, ENO₃, a njihovi genski produkti su:

- neneuronska enolaza (NNE ili α) koju sintetizuju ćelije fetusa i većina ćelija odraslih,
- mišićno specifična enolaza (MSE ili β) koju sintetizuju skeletni i srčani mišić, i
- neuron specifična enolaza (NSE ili γ) koju sintetizuju neuroni, neuroendokrine ćelije i maligni tumori (SCLC, neuroblastom i intestinalni karcinoidi).

Klinički značaj

Benigne bolesti

Povećan nivo NSE u serumu je izmeren kod pacijenata obolelih od benignih bolesti pluća, mozga kao i defekta neuralne tube. Kod cerebralnih bolesti kao što su: ishemija, infarkt, encefalitis, meningitis i organske konvulzivne bolesti značajnije je određivanje ovog enzima u cerebrospinalnoj tečnosti (CST).

Nivo vrednosti za NSE kod benignih plućnih bolesti je znatno niži nego kod malignih bolesti pluća, posebno kod SCLC gde su vrednosti oko 30 ng/mL. Lažno pozitivne vrednosti kod benignih bolesti je zbog toga moguće odvojiti od malignih tumora pluća. Najčešće povećanje nivoa NSE kod opstruktivnih bolesti i pneumonije je prolazno i normalizuje se nakon remisije bolesti. Pretpostavlja se da smanjenje pritiska kiseonika utiče na otpuštanje NSE iz neuroendokrinih ćelija pluća. Postoji značajna korelacija između koncentracije NSE u serumu i hipoksemije i subjektivne senzacije dispneje kod ovih pacijenata (4).

Mikrocelularni karcinom pluća

Dijagnoza svih tumora pluća, pa i mikrocelularnog, postavlja se kliničkim ispitivanjem, određenim tehnikama snimanja i bronhoskopijom sa histološkim i citološkim nalazom. Takođe su neophodna i snimanja u cilju ranog otkrivanja metastaza. Merenje koncentracije NSE ne može zameniti histološki nalaz u dijagnostičkoj proceduri, ali može pomoći u dokazi-

vanju SCLC kada urađena biopsija ne da konačan rezultat (u otprilike 20% slučajeva) (5). Samo ova vrsta tumora izlučuje visoke koncentracije NSE. Vrednosti NSE veće od 25 ng/L su karakteristične za SCLC i retko se javljaju kod drugih tipova karcinoma. U tabeli 1 prikazane su vrednosti za kliničku osetljivost NSE u benignim i malignim bolestima iz koje se vidi da je najveća osetljivost NSE kod SCLC, posebno kod proširenog oblika bolesti (6).

Ispitivanjem 50 pacijenata sa SCLC (23 su imala proširen, a 27 ograničen oblik) i 60 pacijenata sa NSCLC u našem Institutu, dobijene su vrednosti za kliničku osetljivost NSE od 92% kod SCLC i 60% kod NSCLC. Postoji više razloga zbog kojih se u ispitivanjima dobijaju različiti rezultati. Najvažniji su heterogenost ispitivanih grupa i različitost procedura za izbor optimalnih »cut-off« vrednosti (7). Ove razlike ne umanjuju značaj određivanja NSE u momentu postavljanja dijagnoze, jer je NSE za sada najpouzdaniji i najosetljiviji marker za SCLC. Ne treba ga koristiti kao »skrining« u cilju ranog otkrivanja karcinoma.

Poređenje sa drugim tumorskim markerima. Uporedno određivanje NSE (cut-off 7,49 ng/L) i CEA (cut-off 5,09 ng/L) kod pacijenata sa SCLC pokazalo je da je klinička osetljivost NSE od 92% značajno veća od kliničke osetljivosti CEA od 27%. Podaci se slažu sa već objavljenim i ukazuju da je NSE vodeći marker za SCLC (8). Istovremeno merenje ova dva markera kao i markera CYFRA 21-1 je potrebno za identifikaciju najvažnijeg markera (koji je često prisutan u

Tabela I Klinička osetljivost NSE u benignim i malignim bolestima

Bolest	Klinička osetljivost (%)
<i>Benigne bolesti</i>	
Pluća	5–14
Ekstraplućne bolesti	9–12
Defekt neuralne tube	45–55
<i>Maligne bolesti</i>	
Kancer pluća:	
mikrocelularni	60–80
ograničen	39–59
proširen	83–87
nemikrocelularni	7–25
velikih ćelija	30–38
adenokarcinom	18–30
skvamoznih ćelija	13–30
Neplućni karcinom	
nemetastatski	9–12
metastatski	35–45
Primarni tumor CNS	11–15
APUD	25–35
Karcinom tireoidee	10–15
Neuroblastom	52–62
Metastatski seminom	63–73
Seminom bez metastaza	10–15
Kancer dojke	19–29
Renalni karcinom	30–50

velikim koncentracijama kod određenih oblika karcinoma pluća). Ovo je značajno za diferencijalnu dijagnozu karcinoma pluća pre histološkog nalaza.

Stepen proširenosti bolesti. Određivanje stepena proširenosti bolesti je najvažnije za izbor terapijskog protokola. Zbog svojih bioloških karakteristika i velike brzine stvaranja metastaza SCLC je sličniji sistemskim bolestima nego ostalim tumorima pluća. TNM klasifikacija, po kojoj je izvršena podela svih tumora po njihovoj proširenosti, ne odgovara SCLC. SCLC se deli na dva oblika: limited disease («ograničen» oblik bolesti) i extensive disease («prošireni» oblik). Nalaz jedne ekstratorakalne metastaze je dovoljan za svrstavanje bolesnika u grupu proširene bolesti. Koncentracija NSE je u korelaciji s voluminoznošću tumora i brojem metastatskih mesta, ali ne postoji tačno određen odnos između produkcije markera i širenja tumora. Značajno je da visoke vrednosti markera uvek ukazuju na proširenu bolest i sugerišu lošu prognozu.

Vrednosti NSE određivane u našem Institutu su bile značajno više kod grupe pacijenata sa proširenom bolešću. Izračunata medijana za tu grupu je 38,00 ng/L (24,40–105,90 ng/L). Medijana za grupu pacijenata sa ograničenom bolešću je 11,70 ng/L (8,50–17,30 ng/L). Merenjem koncentracije NSE kod pacijenata sa otkrivenim metastazama na mozgu je potvrđeno da ove ne utiču na vrednost NSE. Koncen-

tracija NSE zavisi od broja metastatskih mesta, a ne od lokalizacije istih.

Prognostički značaj markera. Normalne vrednosti serumske NSE u momentu dijagnostikovanja SCLC označavaju bolju prognozu i duže preživljavanje pacijenata u odnosu na pacijente sa većom koncentracijom NSE. Visoke koncentracije markera ukazuju na lošu prognozu (9).

Praćenje uspešnosti terapije. SCLC izuzetno brzo raste, ali je jako hemosenzitivan. Sistemska hemoterapija se pokazala kao najefikasnija metoda lečenja. Uspešnost iste se može pratiti merenjima promena nivoa serumske NSE (10). Neophodno je odrediti preterapijski nivo markera u serumu i promene nivoa koje nastaju 24–72 sata, kao i nedelju dana od prve hemoterapije. Ukoliko se nastavi lečenje hemoterapijom koncentracija NSE se određuje pre i posle svakog ciklusa i na 4 meseca. 24–72 sata nakon prve terapije dolazi do prolaznog povećanja nivoa NSE koje nastaje usled lize tumorskih ćelija. U toku nedelje se ove vrednosti brzo snižavaju i nakon završetka prvog ciklusa hemoterapije se vraćaju na fiziološki nivo. Ukoliko je terapija neuspešna, vrednosti NSE lagano rastu ili povremeno opadaju, ali nikada ne dostižu fiziološki nivo. Nagli porast koncentracije NSE ukazuje na progresiju bolesti iako je pacijent klinički još uvek u remisiji (11).

CLINICAL VALUE OF NEURON SPECIFIC ENOLASE IN SMALL CELL LUNG CANCER

Gordana Stošić

Institute of Medical Biochemistry, Clinical Center of Serbia, Belgrade

Summary: Lung cancers are fast growing tumors with early metastatic spread and poor prognosis. Most primary lung tumors can be classified into four mayor histological types: squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, large cell carcinoma and small cell lung cancer (SCLC). SCLC differs clinically and biologically from the other three histological types, which are all generally referred to as non small cell lung cancer (NSCLC). Thus, both SCLC and NSCLC represent heterogeneous groups. Enolase (2 phospho-D glycerate hydrolase, EC 4.2.1.11) exist as several dimeric isoenzymes ($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\alpha\gamma$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$). The $\alpha\gamma$ and $\gamma\gamma$ enolase isoenzymes are also known as neuron specific enolase (NSE). They are produced in central and peripheral neurons and malignant tumors (SCLC, neuroblastomas, intestinal carcinoid). NSE is the leading tumor marker in SCLC. Release of NSE in serum in patients where histological evidence is absent may support a diagnosis of SCLC. NSE should not be used for screening purposes. NSE does not correlate with the localisation of metastases and/or with brain metastases, although it correlates well with the clinical stage. High NSE concentrations reflect advanced tumor stage and suggest a bad prognosis. In patients with SCLC serum levels of NSE reflect the response to chemotherapy. Increasing tumor marker indicate progressive disease often before this is evident from imaging techniques. Measurement of NSE may be helpful; guideline recommendations for their proper use in differential diagnosis and in monitoring the efficacy of therapy have been proposed by EGTM.

Key words: small-cell lung cancer (SCLC), non-small-cell lung cancer (NSCLC), neuron-specific enolase (NSE)

Literatura

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics, Use and Assessment of Clinical Laboratory Results. Frankfurt, Main: TH – Books LTD, 1998; 936–81.
2. Stieber P, Aronsson AC, Bialk P, Kulpa J, Lamerz R, Molina R, et al. Tumor markers in lung cancer: EGTM recommendations. *Anticancer RES* 1999; 19: 2817–19.
3. Lamerz R. NSE (neuron-specific enolase) In: Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostic. Verlag Frankfurt: TH-Books, 1998; 979–81.
4. Kallazos J, Esteban C, Fernandez A. Neuron-specific enolase concentrations in serum in nonneoplastic patients with pneumonia. *Clin Chem* 1994; 40: 266–67
5. Paone G, De Angelis G, Munno R, Pallotta G, Bigioni D, Saltini C, et al. Discriminant analysis on small cell lung cancer and non small cell lung cancer by means of NSE and CYFRA 21-1 *Eur. Respir J* 1995; 8: 1136–40.
6. Seregini E, Botti C, Bogni A, Bombardieri E. Tumor marker evaluation in patients with lung cancer. *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 55: 67–71.
7. Watine J. Laboratory variables as additional staging parameters in patients with small cell lung carcinoma. A systematic review. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 931–38.
8. Ebert W, Dienemann H, Scheulen M, Bombardieri E. Cytokeratin 19 fragment, Cyfra 21-1 compared with CEA, SCC and NSE in lung cancer. *Eur J Clin Biochem* 1994; 32: 189–99.
9. Pujol JL, Boher JM, Grenier J, Quantin X. Cyfra 21-1, neuron specific enolase and prognosis of non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2001; 31: 221–31.
10. Bonner JA, Sloan JA, Rowland KM Jr, Klee GG, Kugler JW, Mailliard JA, et al. Significance of neuron-specific enolase levels before and during therapy for small-cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 597–601.
11. Ebert W, Muley T. CYFRA 21-1 in the follow-up of inoperable non small cell lung cancer patients treated with chemotherapy. *Anticancer Res* 1999; 19: 2669–72.

Rad primljen: 15. 03. 2006.

Prihvaćen za štampu: 28. 03. 2006.