

HODNOTY SÉROVÉ THYMIDINKINÁZY U NEMOCNÝCH S NEHODGKINSKÝMI LYMFOMY

SERUM THYMIDINE KINASE VALUES IN PATIENTS WITH NONHODGKIN'S LYMPHOMAS

NEKULOVÁ M.¹, NĚMEC J.¹, ŠIMÍČKOVÁ M.¹, PECEN L.², BEDNÁŘÍK O.¹, KOVÁŘOVÁ M.¹

¹ MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

² ÚIVT AV ČR, PRAHA

Souhrn: *Východiska:* Thymidinkináza (TK) katalyzuje fosforylaci thymidinu za přítomnosti adenosintrifosfátu na thymidinmonofosfát, který je transformován na trifosfát a inkorporován do DNA. Je označován za enzym "záchranné cesty" syntézy DNA. Sérové hodnoty TK jsou považovány za parametr buněčné proliferace. U pacientů s nehodgkinskými lymfomy (NHL) patří k markerům sledovaným vzhledem k relapsu choroby i posouzení efektu terapie. *Typ studie a soubor:* TK jsme vyšetřovali v souboru 39 nemocných s NHL při první diagnóze choroby ke zjištění vztahu iniciální sérové hladiny TK ke klinickému stadiu, histologickému typu i přítomnosti B symptomů, abychom mohli posoudit tento proliferativní marker jako případný prognostický faktor. *Metody a výsledky:* Ke stanovení TK v séru byla použita souprava pro radioenzymatické stanovení fy Immunotech, CR. Ke statistickému vyhodnocení jsme použili metodu analýzy rozptylu (ANOVA) a další metody, pomocí kterých se neprokázal vztah TK k histologickému typu nádoru ani přítomnosti B symptomů, ale byl patrný vztah ke klinickému stadiu ($p < 0.086$). *Závěry:* Prokázali jsme korelaci mezi zvýšenou hladinou sérové TK u nemocných před zahájením terapie NHL a pokročilejším klinickým stadiem choroby.

Klíčová slova: sérová thymidinkináza, nehodgkinské lymfomy

Summary: *Background:* Thymidine kinase (TK) catalyses the phosphorylation of thymidine to thymidine monophosphate (TMP) in the presence of adenosine triphosphate. TMP is transformed to triphosphate and then is incorporated into DNA. TK has thus been designated as a salvage enzyme of DNA synthesis. TK values in serum are considered to be a marker of cell proliferation. Patients with nonHodgkin's lymphomas are routinely monitored by serum TK to evaluate the therapeutic effect or in effort to detect disease progression. *Design and Subjects:* TK serum values were examined in 39 patients with recently determined diagnosis of nonHodgkin(s) lymphoma to ascertain the correlation between initial level of serum TK and clinical stage of disease, histological type and presence of B symptoms. *Methods and Results:* TK levels in serum were assayed by radioenzymatic method (Immunotech, CR). For statistic evaluation, the method of variance analysis for variable pretreatment serum TK levels classified by clinical stage or by other parameters was used. The method did not identify any correlation between the initial serum TK values and histological type or presence of B symptoms, but the relationship to the clinical stage of disease was evident ($p < 0.086$). *Conclusions:* We found a correlation of elevated pretreatment serum level of thymidine kinase in patients with nonHodgkin(s) lymphoma and advanced clinical stage of disease.

Key words: serum thymidine kinase, nonHodgkin(s) lymphomas

Úvod

U nemocných se systémovými nádorovými chorobami se z nádorových sérových markerů vyšetřují hodnoty beta-2-mikroglobulinu (B2M), thymidinkinázy (TK) a ferritinu. Tyto markery se stanovují jak před zahájením terapie, kdy mohou mít prognostický význam vzhledem k přežití, tak pro monitorování průběhu choroby i efektu terapie. U nehodgkinských lymfomů (NHL) bývají zvýšené hodnoty TK a B2M některými autory popisovány zejména u vyšších klinických stadií. Kausitz (1) nalézal zvýšené hodnoty TK zvláště u méně diferencovaných forem onemocnění.

Cíl práce

Hladiny sérové TK jsme vyšetřovali u nemocných s NHL před zahájením terapie, abychom mohli posoudit případnou korelaci tohoto parametru s klinickým stadiem choroby, přítomností B symptomů a typem malignity (nízká versus střední a vysoká).

Tato práce si všímá pouze iniciální hodnoty sérové TK jako možného prognostického parametru, ne sledování TK v průběhu choroby. Hodnoty TK při stanovení diagnózy hodnotíme v korelaci s dalšími uvedenými klinickými parametry.

Soubor nemocných a metodika

V souboru 39 nemocných (průměrný věk = 53 let, 21 mužů, 18 žen) byli nemocní ve všech klinických stadiích choroby, nízké, střední a vysoké malignity. Jejich rozložení vzhledem k iniciální hodnotě TK uvádí Tab. č. 1a, b.

Ke stanovení TK v séru byla použita souprava pro radioenzymatické stanovení fy Immunotech. Stanovení je založeno na přeměně jodem značeného substrátu 5-deoxyuridinu thymidinkinázou obsaženou ve vzorcích na 5-joddeoxyuridin monofosfát. Diskriminační hranice normálních a patologických hodnot je do 9 U/l.

Ke statistickému vyhodnocení jsme použili metodu analýzy rozptylu (ANOVA) a další běžné metody.

Výsledky

U 17 nemocných s čerstvě stanovenou diagnózou NHL jsme nenalezli zvýšenou hodnotu sérové TK (Tab 1b). U 22 nemocných byla iniciální hodnota TK zvýšená (Tab 1a). Rozložení těchto hodnot TK ve vztahu k typu malignity a klinickému stadiu uvádí také obr. č. 2 (korelace iniciálních hodnot TK a klinického stadia choroby) i histogramy na obr. č. 1 (histogramy četností iniciálních hladin TK dle klinického stadia a typu

Tab. 1a
Zvýšené iniciální hodnoty TK vzhledem ke klinickému stádiu a typu malignity

pacient číslo	histologie	klinické stádium	iniciální TK (U/l)
1	níz. mal.	IV A	19,9
2	níz. mal.	IV A	14,5
3	níz. mal.	IV A	38,1
4	níz. mal.	IV B	30,2
5	níz. mal.	IV B	18,9
6	níz. mal.	II A	20,8
7	níz. mal.	II A	26,3
8	níz. mal.	II B	9,6
9	níz. mal.	I A	14,2
10	níz. mal.	I A	10,8
11	stř. a vys.	IV A	68,3
12	stř. a vys.	IV A	34,2
13	stř. a vys.	IV A	10,3
14	stř. a vys.	IV A	9,6
15	stř. a vys.	IV B	41,8
16	stř. a vys.	IV B	38,1
17	stř. a vys.	III B	39,1
18	stř. a vys.	II A	12,1
19	stř. a vys.	II A	21,4
20	stř. a vys.	II B	9,8
21	stř. a vys.	II B	10,2
22	stř. a vys.	I A	11,3

Tab. 1b
Nezvýšené iniciální hodnoty TK vzhledem ke klinickému stádiu a typu malignity

pacient číslo	histologie	klinické stádium	iniciální TK (U/l)
23	níz. mal.	III A	3,4
24	níz. mal.	III A	6,9
25	níz. mal.	II A	3,2
26	níz. mal.	II A	8,6
27	níz. mal.	I A	1,8
28	níz. mal.	IV B	3,4
29	stř. a vys.	IV B	2,8
30	stř. a vys.	IV B	6,9
31	stř. a vys.	IV A	2,4
32	stř. a vys.	III A	4,6
33	stř. a vys.	III B	8,7
34	stř. a vys.	III B	5,8
35	stř. a vys.	II A	6,4
36	stř. a vys.	II A	1,9
37	stř. a vys.	II A	8,4
38	stř. a vys.	I A	5,8
39	stř. a vys.	I A	6,9

Tab. 2
Iniciální hodnoty TK podle klinického stadia metodou ANOVA

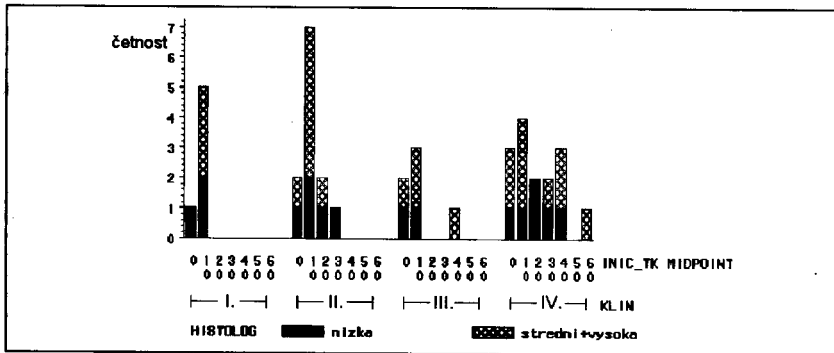
Stádium	N	Průměr	mezi skupinami	uvnitř skupin
I.	6	8.466667	447.945756	188.741148
II.	12	11.416667		
III.	6	11.416667	F = 2.373	p < 0.086
IV.	15	22.626667	blíží se hraniční významnosti	

malignity). Z těchto 22 nemocných mělo 9 přítomny B symptomy. Nepodařilo se prokázat žádný vztah iniciální hodnoty sérové TK k B symptomům ani typu malignity. Tab.č.2 hodnotí průměrné hodnoty TK u jednotlivých podskupinách i mezi nimi metodou analýzy rozptylu (ANOVA) u jednotlivých klinických stadií choroby a rozptýl se blíží hraniční významnosti ($p < 0.086$).

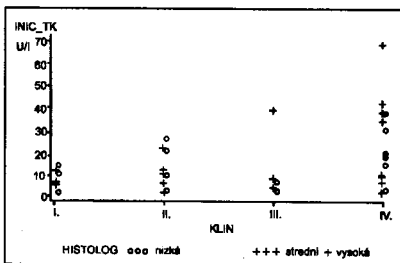
Diskuse

Za normálního stavu buňky probíhá biosyntéza thymidinmonofosfátu (TMP), který je klíčovým meziproduktem v syntéze DNK, hlavní cestou, t.j. syntézou de novo pomocí thymi-

Obr. 1. Histogramy četností iniciálních hladin TK podle klinického stadia a typu malignity

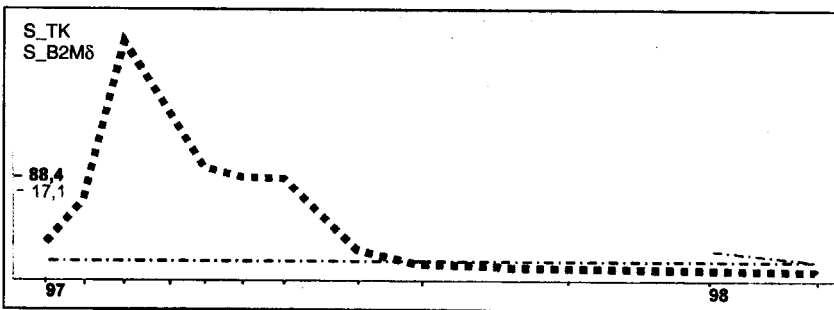


Obr. 2. Korelace iniciálních hodnot TK a klinického stadia choroby

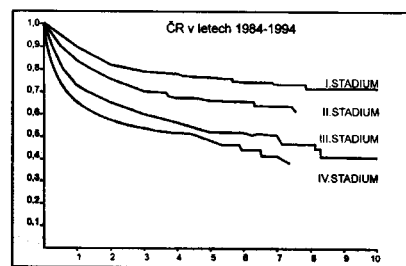


Obr. 3. Přetrvávající vysoká hodnota TK při zablokování chemoterapií

B.M.
..... S_TK - - - - - S B2M6



Obr. 4. Přežívání nemocných s non-Hodgkinovými lymfomy v ČR za posledních 10 let



dylátsyntetázy z deoxyuridinmonofosfátu za přítomnosti kyseliny listové a vitamínu B12. Při zablokování této cesty např. některými cytostatiky využívá organismus cesty pomocí TK. Je tedy enzymem náhradní záchranné cesty syntézy DNK. Katalyzuje fosforylaci thymidinu v přítomnosti adenosintrifosfátu na TMP.

U nás se sérová TK vyšetřuje v průběhu sledování nemocných s NHL pro upozornění na relaps choroby, případně pro posouzení efektu terapie.

Falešná pozitivita zvýšené TK v séru bývá referována u některých virových infekcí, zejména herpetických virů, u některých plicních onemocnění jako je fibróza, sarkoidóza nebo absces. Na našem pracovišti vyšetřujeme TK v séru v době stanovení diagnózy před zahájením terapie a dále nemocné sledujeme pomocí tohoto parametru vzhledem k případné detekci relapsu choroby i posouzení efektu terapie. Ve většině případů dosažení kompletní remise (CR) signifikantně koreluje s normalizací sérové TK. Pouze vzácně došlo k poklesu sérové TK opožděně (obr.č.3), což je možno vysvětlit zablokováním hlavní cesty syntézy DNK cytostatiky a aktivací záchranné cesty pomocí TK. Tento fakt vysvětluje také dřívější pozorování některých autorů (2), kdy v některých případech i po úspěšné chemoterapii může přetrvávat výrazně zvýšená hodnota TK po dobu 4-8 týdnů i v případě potvrzené kompletní remise. Po

terapii MTX a 5-FU byly tyto případy popsány i v terapii solidních nádorů. Tento protrahovaný pokles TK po terapii by neměl být zaměřován s prudkým vzestupem TK v prvních dnech po chemoterapii. Posledně uvedená elevace je způsobena zvýšením propustnosti buněčných membrán nádorových buněk poškozených cytostatiky (lysis fenomen). Jelikož poločas sérové TK je asi 2 dny, tento fenomen záhy odezní. Naopak v současné době se uvádí možnost použití tohoto jevu k časnému monitorování efektu léčeni - vzestupem sérové TK těsně po podání terapie.

Pokud v terapii není použito cytostatikum inhibující syntézu TMP de novo, zůstává TK markerem korespondujícím s průběhem léčeni a bývá ukazatelem buněčné proliferace. Její senzitivita se pohybuje až kolem 90% a je považována za základní sérový marker pro ne Hodgkinové lymfomy.

TK bývá také stanovována v cytosolu nádorů (TK1 isoenzym nebo cytosol-TK se nachází v cytosolu buněk ve stadiích buněčného dělení G1 až S) a bývá považována za prognostický faktor (3, 4). Také sérová TK bývá uváděna jako vhodný marker s prognostickým významem pro ne Hodgkinové lymfomy (5). Poley a spol. (6) uvádějí sérové hodnoty TK před terapií vyšší než 10 U/l za špatný prognostický parametr celkového přežívání nejen pro mnohočetný myelom, ale i pro nemocné s NHL. Podle jejich výsledků je vyšetřování sérové TK vhodné nejen pro sledování průběhu choroby během terapie, ale i pro predikci prognózy nemocných NHL. Christiansen (7) považuje sérové hodnoty TK spolu s dalšími parametry (laktátdehydrogenáza, B2M , orosomukoid a další) za vhodný prognostický parametr u NHL. Pro posouzení sérové TK jako nezávislého prognostického parametru bude nutno v naší studii srovnat iniciální hodnoty nemocných určitých klinických stadií a jejich celkové přežití. Výchozí

hodnota TK v séru je také nutná při dalším vyhodnocování tohoto enzymu jako nezávislého prognostického parametru při hodnocení bezpříznakového i celkového přežití nemocných v této skupině. Toto posouzení stejně jako hodnocení validity TK v průběhu onemocnění bude předmětem dalších sdělení.

Závěr

Za posledních 20 let se incidence ne Hodgkinových lymfomů výrazně zvýšila (přírůstek o 36% pro USA udává publikace National Cancer Institute z r.1995). Změna v nárůstu mortality však byla jen zhruba poloviční. Podobné změny vidíme v ČR, kde incidence ne Hodgkinových lymfomů se v 90. letech pohybuje mezi 15 - 50 pro ženy a 25 - 65/100 000 pro muže (roste s vyšším věkem). V pětiletém přežívání došlo k podstatnému zlepšení, v průměru se pohybuje kolem 50%, zřejmě vlivem účinných chemoterapeutických režimů (viz obr. č.4). Ke zlepšení terapeutických možností přispívá také jejich účinné sledování pomocí TK a dalších nádorových markerů.

V naší práci jsme prokázali korelaci iniciálních hladin sérové TK pouze s klinickým stadiem choroby. Korelaci s přítomností B symptomů ani histologickým typem NHL se nám nepodařilo prokázat. Hodnocení senzitivity TK vzhledem k progresi choroby či efektu terapie v této studii, stejně jako posouzení falešné pozitivivity však bude publikováno později. V dalším sdělení bychom rádi zhodnotili iniciální hodnoty TK ve vztahu k přežívání nemocných a event. prokázali korelaci iniciální hodnoty TK a celkového i bezprogresového přežití sledovaných nemocných.

Práce byla podpořena grantovým projektem IGA Mzd č. 3480-3.

Literatura:

1. Kaušitz J.: Rádioimunoanalýza v onkologii. Vydala Veda,1991, Bratislava, 145
2. Lejško J., Jungerová J., Topolčan O., Koza V.: Thymidinkináza u maligního lymfogranulomu a ne Hodgkinových lymfomů. Prakt. Lék. (Praha),72,1992,č.5, 171-173
3. Kausitz J., Kuliffay P., Pecan L. et al.: Correlation of cytosolic concentrations of ER, PS2, Cath-D, TPS, TK and cAMP in primary breast carcinomas. Neoplasma,41, 1994, 331-336
4. Roman S., Christensen I. J., Chinot O. et al.: Prognostic value of cytosolic thymidine kinase activity as a marker of proliferation in breast cancer. Int.J.Cancer, 61, 1995, 7-12

5. Hallek M., Wanders L., Strohmeyer S., Emmerich B.: Thymidine kinase: a tumor marker with prognostic value for non-Hodgkin's lymphoma and broad range of potential clinical applications. (Review), An.Hematol.,65, 1992, 1-5
6. Poley S., Stieber P., Nussler V. et al.: Serum thymidine kinase in non-Hodgkin lymphomas with special regard to multiple myeloma. Anticancer Res. 17 (4B) 1997: 3025-9
7. Christiansen I., Gildlof C., Kalkner K.M. et al: Elevated serum levels of soluble ICAM-1 in non-Hodgkin's lymphomas correlate with tumour burden, disease activity and other prognostic markers. Br J Haematol. 92 (3)1996: 639-46