

AZIENDA SANITARIA OSPEDALIERA SAN GIOVANNI BATTISTA DI TORINO

Corso Bramante, 88

**LABORATORIO ANALISI SCREENING**

DIPARTIMENTO INTERAZIENDALE DI PREVENZIONE SECONDARIA DEI TUMORI

Dr. Fabrizio Gili



**M2PK**

**Uno studio su un nuovo marcatore tumorale**

## ANALISI COSTI KIT FIT E COLONSCOPIA AGGIUNTIVA

Il costo del FIT nell'esame di primo livello è di circa il 5% della spesa totale del programma.

La colonscopia FIT indotta dà una percentuale di circa il 38% di positivi per lesioni riconducibili alla patologia relativa a lesioni oncologiche. Il costo unitario per colonscopia aggiuntiva compreso istologico è di € 235.

Un esame filtro dotato di maggiore specificità consentirebbe, utilizzando una tecnica diagnostica non invasiva, una diminuzione delle colonscopie con decremento dei costi e delle liste di attesa.

Il nostro Laboratorio ha testato a tal scopo l'isoenzima **Tumor M2PK**.

## Obiettivo primario

- Determinare la specificità, la sensibilità e il valore di cut-off del Tumor M2-PK su feci.
- Investigare la possibilità del dosaggio del Tumor M2-PK su feci nella diagnosi precoce del cancro del colon-retto

Disegno dello studio:

E' uno studio osservazionale che ha interessato 194 pazienti con positività al sangue occulto superiore ai 100 ng/ml riscontrata nell'ambito del programma di prevenzione del K colon-retto e successivamente convocati per la colonscopia di controllo, utilizzata come golden standard, eseguita nelle G.E.L. dedicate.

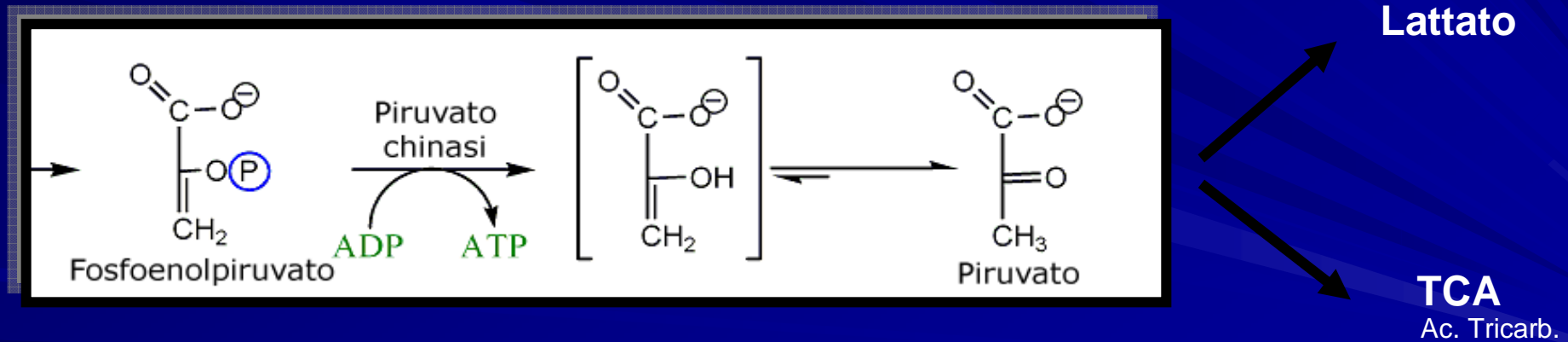
Sono stati quindi confrontati i valori FIT con i valori dell' M2-PK e con la diagnosi della colonscopia.

## Cos'è la Piruvato kinasi?

La piruvato chinasi è l'enzima della GLICOLISI che catalizza la conversione di fosfoenolpiruvato in piruvato

(con produzione di ATP)

Il piruvato è l'intermedio metabolico centrale per una successiva ossidazione o per numerosi *pathway* anabolici



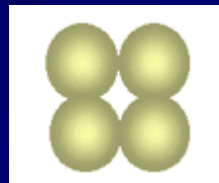
M2PK è un isoenzima tetramerico della Piruvato Kinasi

## **M2-PK ed il metabolismo tumorale**

- la Piruvato Kinasi è un enzima chiave nella GLICOLISI
- Nei diversi tipi cellulari (sani) sono espresse diverse isoforme di PK :  
L-PK nel fegato; R-PK negli eritrociti, M1-PK in muscoli, cuore e cervello; M2-PK nel polmone, nei tessuti indifferenziati e proliferanti
- M2PK è un isoenzima tetramericco della Piruvato Kinasi
- M2-PK TUMORALE è una variante della forma normale di M2-PK
- La variante tumorale è over espressa nelle cellule cancerose

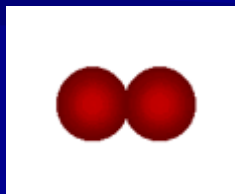
# M2-PK ed il metabolismo tumorale

Gli isoenzimi della PK enzimaticamente attivi sono omotetrameri



## M2-PK TUMORALE:

- è una forma dimerica
- ha una bassa affinità per il substrato (PEP – fosfoenolpiruvato)
- È over-espressa nelle cellule tumorali per soddisfare meglio le richieste metaboliche di questo tipo di cellule, soggette a proliferazione continua. Lo switch tra forma dimerica e forma tetramerică permette alle cellule tumorali di adattarsi a condizioni aerobiche ed anaerobiche



- nelle cellule tumorali la forma dimerica dell'enzima M2-PK (tumor M2-PK) è over espressa
- la dimerizzazione è causata dall'interazione diretta con alcune oncoproteine
- lo switch tra forma dimerica e forma tetramerica permette alle cellule tumorali di adattarsi a diverse condizioni di disponibilità di nutrienti ed ossigeno
- M2-PK tumorale è rilasciata nei fluidi corporei in quantità correlata allo stadio tumorale. E' stato rilevato in diverse entità tumorali: carcinoma oro-faringeo, gastrico, pancreatico, della mammella, ovarico, cervicale, del polmone, prostatico, e del **carcinoma colon rettale.**



# Tumor M2-PK Immunoassay

- » sandwich-ELISA
- » basato su due anticorpi monoclonali
- » EDTA-Plasma o feci usati per esame quantitativo
- » no cross-reactivity per la forma tetramerica
- » no cross-reactivity per altre isoforme della PK

Sistema di Raccolta ed Estrazione del campione



## Risultati

Sono stati finora analizzati i campioni relativi a 194 soggetti con FIT positivo, che hanno ripetuto, prima di sottoporsi a colonscopia, una raccolta di feci per il dosaggio del sangue occulto e dell'enzima M2PK e ne sono disponibili i dati relativi all'esito della colonscopia di approfondimento. Il FIT ripetuto a distanza di circa un mese dal test di screening iniziale risulta negativo nel 42.6% dei casi: questa proporzione è più elevata se il valore di emoglobina del FIT di screening era inferiore a 400 ng/mg. In soggetti positivi al FIT immunologico i livelli fecali di M2PK non sembrano predittivi della presenza di adenomi di diametro  $\geq 10$  mm (tabella 2), mentre tra i soggetti con bassi valori di emoglobina ( $< 400$  ng/ml) al test iniziale, elevati livelli di M2PK sembrano associati alla presenza di un cancro invasivo.

## Risultati del II esame FOBT stratificati per valore di emoglobina rilevato al test di screening

	II esame FOBT			
I esame FOBT (screening)	< 100	100-399	>= 400	Totale
100-349	73	16	9	98
	74.5%	16.3%	9.2%	
>=350	45	19	32	96
	46.9%	19.8%	33.3%	

## Detection rate di Cancro e adenoma avanzato per valore di M2PK per livello di positività del test di screening iniziale

FOBT iniziale: 100-349 ngHb/mg				FOBT iniziale: $\geq 350$ ngHb/mg			
M2PK	Adenomi $\geq 10$ mm	CCR	Totale Esami	M2PK	Adenomi $\geq 10$ mm	CCR	Totale Esami
0-3	9	0	50	0-3	15	5	46
	45.0%	0,0%	51.0%		45.5%	33.3%	47.9%
$\geq 4$	11	3	48	$\geq 4$	18	10	50
	55.0%	100,0%	49.0%		54.5%	67.7%	52.1%
<b>Totale</b>	<b>20</b>	<b>3</b>	<b>98</b>	<b>Totale</b>	<b>33</b>	<b>15</b>	<b>96</b>

# Conclusioni

In una quota consistente di casi il test FIT risulta negativo ad una ripetizione a distanza di circa un mese da un test positivo. Il test M2PK mostra, in base a questi dati preliminari, una minore sensibilità per gli adenomi avanzati, mentre vi potrebbe essere un'associazione tra elevati livelli dell'isoenzima e la presenza di cancro invasivo in soggetti con bassi livelli di emoglobina fecale. La numerosità del campione è comunque al momento ancora troppo bassa per trarre conclusioni definitive anche se lo si può definire, tramite altri risultati di uno studio collegato, un possibile marker precoce per la diagnostica tumorale di laboratorio.