

Badania przesiewowe na obecność kinazy pirogronianowej M2 w stolcu u chorych z inwazyjnym i przedinwazyjnym rakiem jelita grubego: szacunkowa swoistość metody oraz wyniki uzyskane w grupie 4854 ochotników, przedstawione w funkcji wieku

Carolin Tonus, Gero Neupert, Kai Witzel

Dużą grupę przypadkowo dobranych ochotników przebadano w kierunku poziomów markera nowotworowego kinazy pirogronianowej-M2 (M2-PK). Celem badania była ocena swoistości wspomnianego markera oraz jego rozkład w różnych grupach wiekowych. Pomiary wykonywano testem ELISA w próbkach stolca pozyskanych od 4854 ochotników. U 4425 osób wyniki uplasowały się poniżej wartości określonej jako punkt odcięcia, tj. 4,0 kU/l, a zatem 91,2% osób poddanych badaniu przesiewowemu wykazało normalny, nie wiązany z żadną patologią, poziom kinazy pirogronianowej M2. Odsetek osób, u których stwierdzono podwyższony poziom kinazy pirogronianowej M2 w stolcu, wahał się od 6,9% w grupie wiekowej 30-39 lat do 16% w grupie wiekowej 70-79 lat. W oparciu o dane określające powszechność występowania podwyższonych wartości kinazy pirogronianowej-M2 w stolcu oraz o uzyskane przez nas wyniki oceniono swoistość wspomnianego markera na 0,93-0,96. Uzyskane dane podkreślają przydatność badania w stolcu poziomu markera, jakim jest kinaza pirogronianowa-M2. Jest to nieinwazyjna, prosta, szybka oraz korzystna ekonomicznie metoda przeprowadzania badań przesiewowych w kierunku raka jelita grubego.

The faecal tumour M2-PK screening test for invasive & pre-invasive colorectal cancer: estimated specificity & results as a function of age for a study population of 4854 volunteers

Faecal tumour M2-Pyruvate kinase levels were measured in a large, unselected, asymptomatic screening population to determine its specificity and to demonstrate the distribution in different age groups. Faecal tumour M2-Pyruvate kinase levels were measured with a sandwich ELISA in stool samples of 4854 screened volunteers. The levels were below the cut-off value of 4.0 kU/L in 4425 of the population. This means that 91.2% of all the people we screened had faecal tumour M2-Pyruvate kinase levels within the normal, non-pathological range. The percentage of individuals with elevated tumour M2-Pyruvate kinase concentrations increased from 6.9% from the age group 30–39 years to 16.0% in the 70–79 years group. The estimated specificity range of the test, using prevalence data and our study results was 0.93-0.96. These results underline the usefulness of the tumour M2-Pyruvate kinase stool test as a non-invasive, easy, fast, economical method for colorectal cancer screening.

Słowa kluczowe: marker nowotwory kinaza pirogronianowa-M2, kinaza pirogronianowa typu M2, rak jelita grubego, gruczolak, polipy, badania przesiewowe w onkologii, rak przewodu pokarmowego

Key words: tumour M2-Pyruvate kinase, pyruvate kinase type M2, colorectal cancer, adenoma, polyps, cancer screening, bowel cancer

Wstęp

Każdego roku na świecie stwierdza się około 1 miliona przypadków raka jelita grubego; w ciągu roku nowotwór ten jest przyczyną zgonu około 529 000 osób [1]. Ze względu na powolny rozwój choroby badania przesiewowe mają w tym przypadku pierwszorzędne znaczenie,

a ich regularne przeprowadzanie w populacji może znacznie obniżyć tak zachorowalność, jak i umieralność. W różnych krajach publikowano różne wytyczne dotyczące metod wykonywania badań przesiewowych w kierunku raka jelita grubego. Należą do nich badania na obecność krwi utajonej w kale, sigmoidoskopia, badanie z podwójnym kontrastem oraz kolonoskopia [2-5].

Chociaż kolonoskopia postrzegana jest jako „złoty standard” wśród badań pozwalających na wczesne wykrycie raka jelita grubego lub stanów przednowotworowych, to jednak posiada ona pewne wady. Jest to procedura inwazyjna, kosztowna, wiąże się z najwyższym odsetkiem

powikłań [6] i jest niechętnie akceptowana przez ogół populacji. Dla przykładu, spośród wszystkich chorych zakwalifikowanych do Narodowego Niemieckiego Programu Skryningu w Kierunku Raka Jelita Grubego zaledwie 1,7% pacjentów poddaje się badaniu kolonoskopowemu [7]. W odróżnieniu od kolonoskopii badania na krew utajoną w kale są szeroko akceptowane i praktykowane [3-5]. Badania te opierają się na założeniu, że zmiany polipowate i nowotworowe podkrwawiają bardziej, niż zdrowa błona śluzowa [8]. Przy zastosowaniu takiego podejścia niekrwawiące guzy czy polipy jelita grubego oraz inne zmiany nie wydzielające zwiększonej ilości krwi do światła przewodu pokarmowego nie będą wykryte, ani przez testy z gwajakolem, ani metodami immunologicznymi. Liebermann i in. [9] oraz Koss i in. [10] ocenili czułość próby z gwajakolem na 30% w przypadku raka jelita grubego oraz na 15% w przypadku zaawansowanych gruczolaków. Dodatkowe utrudnienie wiąże się z ograniczeniami dietetycznymi i farmakologicznymi, nakładanymi na chorego przed wykonaniem badania (chory nie powinien spożywać czerwonego mięsa oraz niektórych produktów surowych, jak np. wielu gatunków warzyw, witaminy C oraz aspiryny) celem uniknięcia wyników fałszywie dodatnich. Ograniczenia te mają ujemny wpływ na swoistość testu z gwajakolem, aczkolwiek pomimo wspomnianych ograniczeń wykazano, że to proste badanie wiąże się z 13-33% obniżeniem umieralności w grupie chorych poddanych badaniom przesiewowym [12, 13]. Wprowadzenie droższych badań na obecność krwi utajonej w kale z zastosowaniem technik immunologicznych pozwoliło pominąć ograniczenia dietetyczne. To jednak nie rozwiązało problemów związanych z obecnością guzów podkrwawiających jedynie okresowo oraz zmian przednowotworowych. W celu zwiększenia zainteresowania populacji badaniami przesiewowymi w kierunku raka jelita grubego konieczne jest wprowadzenie nieinwazyjnego, szybkiego, prostego oraz korzystnego ekonomicznie badania, które nie powinno opierać się na ocenie obecności krwi utajonej w kale, które powinno być szeroko akceptowalne społecznie. Jednocześnie badanie takie musi mieć wysoką czułość i swoistość. Z tego względu badanie stolca na obecność markera M2-PK wydaje się być ciekawą alternatywą, zwłaszcza że pozwala ono na wykrycie zarówno raków jelita grubego, jak i gruczolaków. Badanie opiera się na pomiarze stężenia enzymu kluczowego dla procesów metabolicznych guza [10, 14-21] i jest niezależne od obecności krwi utajonej. M2-PK guza to dimerowa forma izoenzymu glikolizującego kinazy pirogronianowej typu M2 [22, 23]. Enzym ten jest katalizatorem ostatniego etapu reakcji ciągu glikolitycznego, przeprowadzającego fosfoenolopirogronian w mleczan i odpowiada za sumaryczną produkcję ATP w obrębie szlaku metabolicznego, w którym uczestniczy. Badania enzymatyczne wielu typów nowotworów wykazały, że rozwój guza wiąże się ze zwiększeniem całkowitej aktywności kinazy pirogronianowej. Obserwuje się również przesunięcie w kierunku ekspresji izoenzymu kinazy pirogronianowej typu M2 (M2-PK) zamiast tkankowo specyficznych postaci tego enzymu, takich jak L-PK,

charakterystycznej dla wątroby i nerek, M1-PK, charakterystycznej dla mięśni i mózgu oraz R-PK, charakterystycznej dla erytrocytów.

Zwiększona ekspresja M2-PK pozostaje pod kontrolą układu genowego *ras* oraz czynników transkrypcyjnych SP-1 i HIF-1. *Ras* i HIF-1 są istotnie zmienione w guzach przewodu pokarmowego [28-31]. M2-PK może występować w formie tetramerowej, o wysokim powinowactwie do fosfoenolopirogronianu (PEP) oraz w formie dimerowej, o niskim powinowactwie do fosfoenolopirogronianu. Stosunek tetramerowo-dimerowy M2-PK determinuje proporcjonalny udział atomów węgla, pozyskanych z glukozy, zużytych w łańcuchu energetycznym glikolizy (forma tetramerowa) lub skierowanych w procesy syntezy (forma dimerowa). W komórkach nowotworowych M2-PK występuje głównie w formie dimerowej. Spowodowane jest to występowaniem bezpośrednich interakcji z różnymi onkoproteinami, takimi jak kinaza pp60v-src oraz HPV-16 E7 [22, 30, 32]. U chorych z gruczolakami oraz nowotworami jelita grubego M2-PK guza uwalniana jest zarówno do krwi, jak i do stolca. Poziom M2-PK stwierdzany testem EDTA-osocze rośnie w nowotworach przewodu pokarmowego, jak również w guzach płuca, nerki, piersi oraz w raku szyjki macicy. Test EDTA-osocze jest bardzo przydatny w monitorowaniu chorych [33-40]. Oznaczanie M2-PK w stolcu stanowi narzędzie skryningowe o dobrym poziomie czułości i swoistości, zarówno w przypadku gruczolaków, jak i raków jelita grubego. Zostało to szeroko udokumentowane [10, 14-20]. Swoistość metody w przypadkach raka jelita grubego została w różnych badaniach umiejscowiona w zakresie od 0,71 do 0,98 [10, 16-20, 41-44]. Liczba badanych wynosiła w cytowanych pracach od 55 do 982 chorych. Charakterystyka grup kontrolnych była różna w cytowanych badaniach. Zazwyczaj obejmowała pacjentów zarówno z objawami choroby, jak i bez; (a) poddawanych kolonoskopii lub ezofago-gastro-duodenoskopii [10], u których nie stwierdzono zmian patologicznych; (b) osób zgłaszających się do diagnostyki z powodu objawów chorobowych ze strony jelita grubego lub osób z podejrzeniem raka jelita grubego czy chorób zapalnych jelit lub osób poddawanych badaniom przesiewowym w kierunku raka jelita grubego, z których wszystkie poddane zostały badaniu kolonoskopowemu [43] i (c) osoby w starszym wieku, uczestniczące w dużym badaniu populacyjnym, mającym na celu ocenę nowych metod zapobiegania, wczesnego rozpoznawania i leczenia chorób przewlekłych, które nie były poddawane badaniu kolonoskopowemu [44].

Na dzień dzisiejszy wiedza dotycząca swoistości badania stolca na obecność markera M2-PK w dużej grupie pacjentów poddanych badaniom przesiewowym w kierunku raka jelita grubego jest ograniczona. W związku z tym celem naszego badania było opisanie swoistości badania kału na poziom markera M2-PK w dużej grupie przypadkowo dobranych osób, niezgłaszających żadnych objawów ze strony jelita grubego oraz przedstawienie dystrybucji poziomów M2-PK w różnych grupach wiekowych.

Materiał i metody

Pacjenci

Do badania włączono 4854 ochotników w wieku od 19 do 94 lat (Ryc. 1), w tym 2461 (50,7%) mężczyzn i 2393 (49,3%) kobiet. Wszyscy ochotnicy brali udział w roboczym programie skryningowym w kierunku raka jelita grubego, prowadzonym od marca 2005 r. do marca 2006 r. Osobom badanym nie zalecano stosowania jakiegokolwiek specjalnej diety.

Próbki stolca

Wszyscy chorzy otrzymali pojemniki typu Quick-Prep (ScheBo; Biotech AG, Giessen, Niemcy) oraz zostali pouczeni, aby pobrać próbkę naturalnie wydalonego stolca. Chorym udostępniono również papierowe urządzenia do zbierania stolca, dzięki czemu zapobiegano kontaktowi stolca z wodą w toalecie. Próbki stolca mogły być przechowywane do 48 godzin w temperaturze pokojowej.

Pomiar stężenia M2-PK w stolcu

Po pobraniu i homogenizacji próbek określone były stężenia M2-PK za pomocą dostępnej na rynku metody z zastosowaniem techniki *sandwich* ELISA (czyli warstwowego ELISA), w oparciu o dwa różne przeciwciała monoklonalne, specyficzne dla dimerowej formy M2-PK (ScheBo; Biotech AG, Giessen, Niemcy). Wynik testu uznawano za dodatni, jeśli poziom M2-PK przekraczał 4 kU/L, zgodnie z zaleceniami producenta testu. Wszystkie badania przeprowadzane były w tej samej pracowni, w wystandaryzowanych warunkach.

Ocena swoistości

Swoistość była kalkulowana z zastosowaniem standardowego formatu 4 x 4 (Tab. I), gdzie a = wyniki prawdziwie dodatnie, b = wyniki fałszywie dodatnie, c = wyniki fałszywie ujemne, d = wyniki prawdziwie dodatnie. Swoistość odpowiada prawdopodobieństwu uzyskania dodatniego wyniku u osób chorych i wyrażona jest wzorem $a/(a+c)$. Jedyne dane dostępne w naszym badaniu, przeprowadzonym na 4854 ochotnikach, to wszystkie wyniki dodatnie (a+b) i wszystkie wyniki ujemne (c+d). Osobom ze stwierdzonym podwyższonym poziomem M2-PK zalecano wykonanie kolonoskopii, ale brak pewnej liczby dalszych danych wynika z tego, że ostateczna decyzja co do wykonania dalszych badań pozostawiona była chorym. W przypadku ochotników nie istniała również możliwość nałożenia na nich obowiązku zgłaszania wyników kolonoskopii. W celu pozyskania szacunkowych wyników dla dodatniego wyniku badania wartości a i b zostały porównane z częstością występowania raka jelita grubego w populacji [45], wynoszącą 50/100 000 oraz częstością występowania przedinwazyjnych zmian związanych z nowotworem w obrębie jelita grubego [46], wynoszącą 330/100 000. Zatem całkowite szacunkowe występowanie zmian oceniono na 380/100 000. W przypadku wyników ujemnych konieczne było przyjęcie założenia, że $c = 0$, tj. że wszystkie wyniki ujemne wiążą się z brakiem występowania schorzenia, ponieważ brakowało dalszych danych dotyczących przebadanych ochotników, jak już wyjaśniono powyżej. W związku z tym uzyskane wyniki dotyczące swoistości badania muszą być traktowane jako jedynie szacunkowe.

Tab. I. Dane pogrupowane celem obliczenia swoistości metody

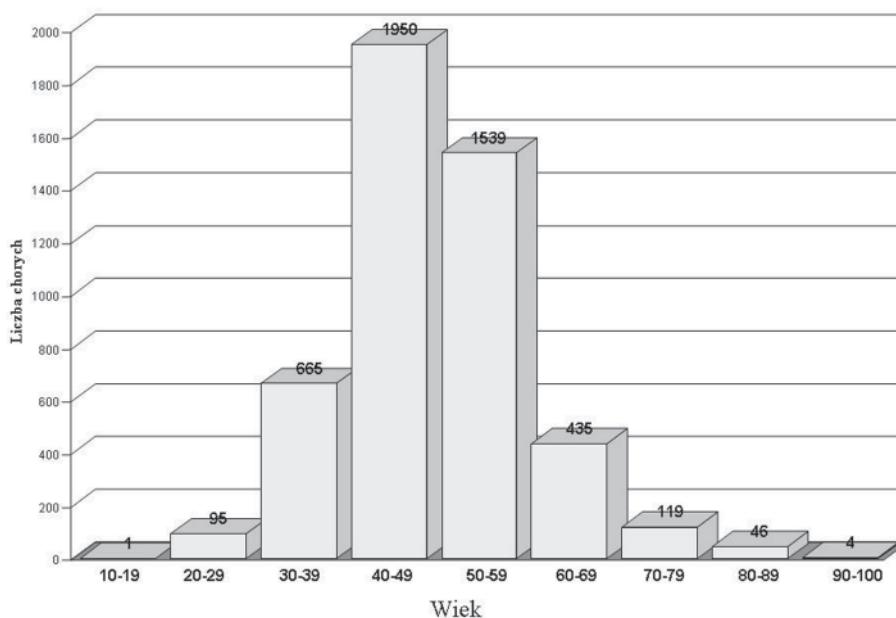
Wynik testu	Obecność choroby		Suma
	tak	nie	
Dodatni	a	b	(a + b)
Ujemny	c	d	(c + d)
Suma	(a + c)	(b + d)	(a + b + c + d)

bom ze stwierdzonym podwyższonym poziomem M2-PK zalecano wykonanie kolonoskopii, ale brak pewnej liczby dalszych danych wynika z tego, że ostateczna decyzja co do wykonania dalszych badań pozostawiona była chorym. W przypadku ochotników nie istniała również możliwość nałożenia na nich obowiązku zgłaszania wyników kolonoskopii. W celu pozyskania szacunkowych wyników dla dodatniego wyniku badania wartości a i b zostały porównane z częstością występowania raka jelita grubego w populacji [45], wynoszącą 50/100 000 oraz częstością występowania przedinwazyjnych zmian związanych z nowotworem w obrębie jelita grubego [46], wynoszącą 330/100 000. Zatem całkowite szacunkowe występowanie zmian oceniono na 380/100 000. W przypadku wyników ujemnych konieczne było przyjęcie założenia, że $c = 0$, tj. że wszystkie wyniki ujemne wiążą się z brakiem występowania schorzenia, ponieważ brakowało dalszych danych dotyczących przebadanych ochotników, jak już wyjaśniono powyżej. W związku z tym uzyskane wyniki dotyczące swoistości badania muszą być traktowane jako jedynie szacunkowe.

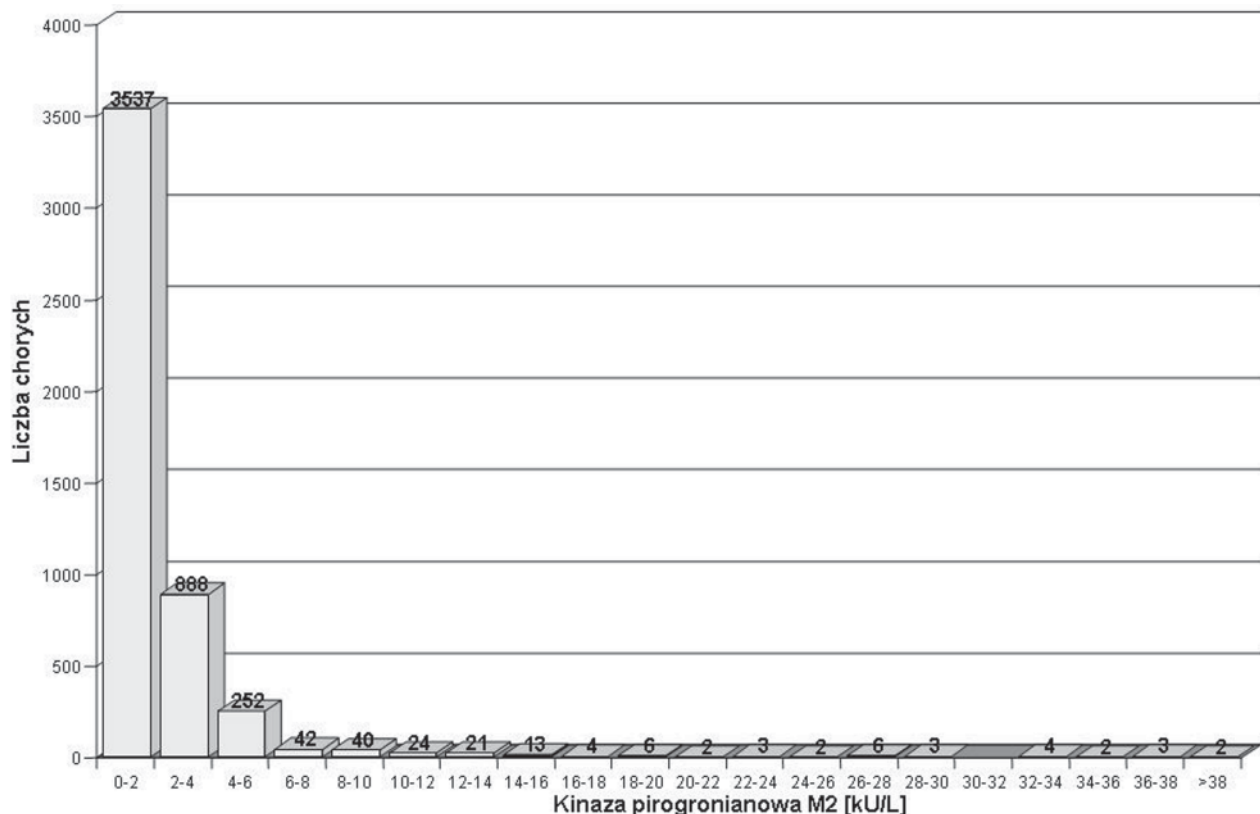
Wyniki

Rozkład poziomów M2-PK

U 4425/4854 badanych stwierdzono wartości M2-PK poniżej punktu odcięcia, tj. poniżej 4,0 kU/L, co oznacza, że u 91% badanych poziom M2-PK odpowiadał wartościom prawidłowym. Stężenia M2-PK wynosiły poniżej 2 kU/L u 3537/4854 osób (73%), a stężenia rzędu 2-4 kU/L stwierdzono u 888/4854 osób, tj. u 18%.



Ryc. 1. Rozkład wieku w grupie badanych przesiewowo ochotników



Ryc. 2. Liczba ochotników a oznaczone stężenia kinazy pirogronianowej M2

Stężenia powyżej 4 kU/L stwierdzono u 429/4854 osób, tj. u 9%. W tym u 252/4854 osób stężenia te mieściły się w granicach 4-6 kU/L. Poziomy powyżej 6 kU/L (do maksymalnej wartości 85,5 kU/L) stwierdzono w próbkach stolca 177/4854 osób (4%) (Ryc. 2).

Tab. II. Stężenia kinazy pirogronianowej M2-PK wyrażone w Ku/L w funkcji wieku

Wielkość statystyczna	Kobiety		Mężczyźni	
	Wiek (lata)	M2-PK	Wiek (lata)	M2-PK
Mediana	48,00	0,71	48,00	0,79
Średnia	48,88	1,56	48,79	1,72
Odchylenie standardowe	10,22	3,40	10,02	3,20
Błąd standardowy	0,21	0,07	0,20	0,06
Przedział ufności 95%	0,41	0,14	0,40	0,13
Przedział ufności 99%	0,54	0,18	0,52	0,17
Liczebność grupy	–	2393	–	2461

Poziomy M2-PK a wiek badanych

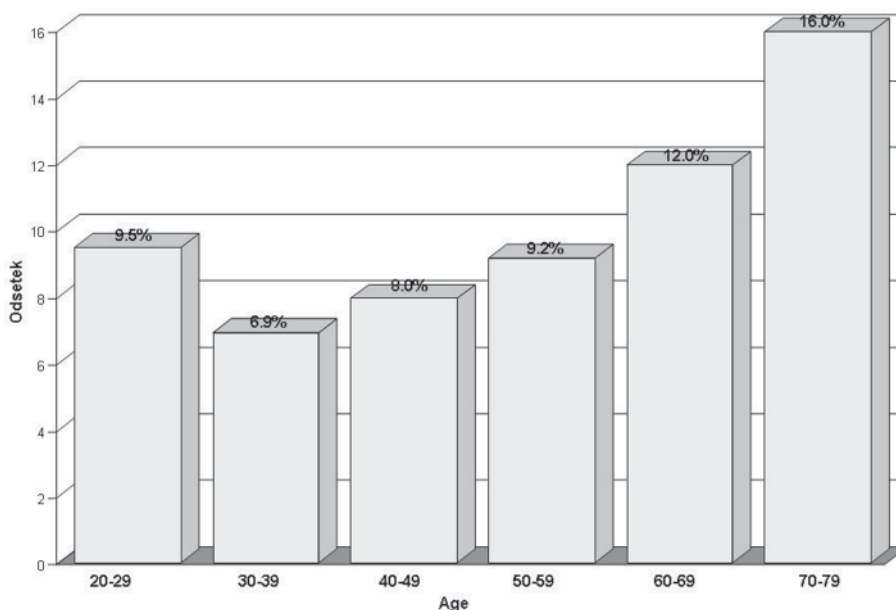
Średnie stężenie M2-PK wyliczone dla wszystkich 4854 badanych osób wyniosło 1,6 kU/L (zakres: <2 – 85,5 kU/L; odchylenie standardowe $\pm 3,3$ kU/L; mediana 0,7 kU/L); wyniki według płci – patrz Tabela II. Pomiedzy grupami mężczyzn i kobiet nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic co do wieku, jak i poziomów M2-PK. Odsetki wyników dodatnich przedstawionych w funkcji wieku w grupach podzielonych na dekady życia przedstawiono na Rycinie 3. Stwierdzono znamienne statystycznie różnicę ($p < 0,001$) pomiedzy poziomami M2-PK w grupach wiekowych 20-49 lat (mediana M2-PK 0,66; średnia 1,49; SD $\pm 2,93$) oraz 50-79 lat (mediana M2-PK 0,086; średnia 1,82; SD $\pm 3,72$) (Ryc. 4).

Szacunkowa ocena swoistości

W Tabeli III przedstawiono wyniki oceny swoistości w zakresie od 0,93 do 0,96.

Tab. III. Szacunkowa swoistość metody dla $d = 4425$

Szacunkowe występowanie w grupie 100000 osób	Dane z Tabeli I dla osób z wynikiem dodatnim			Szacunkowa swoistość $d/(b + d)$
	a	b	(a + b)	
2,0	97	332	429	0,93
3,8	184	245	429	0,95
5,0	243	186	429	0,96



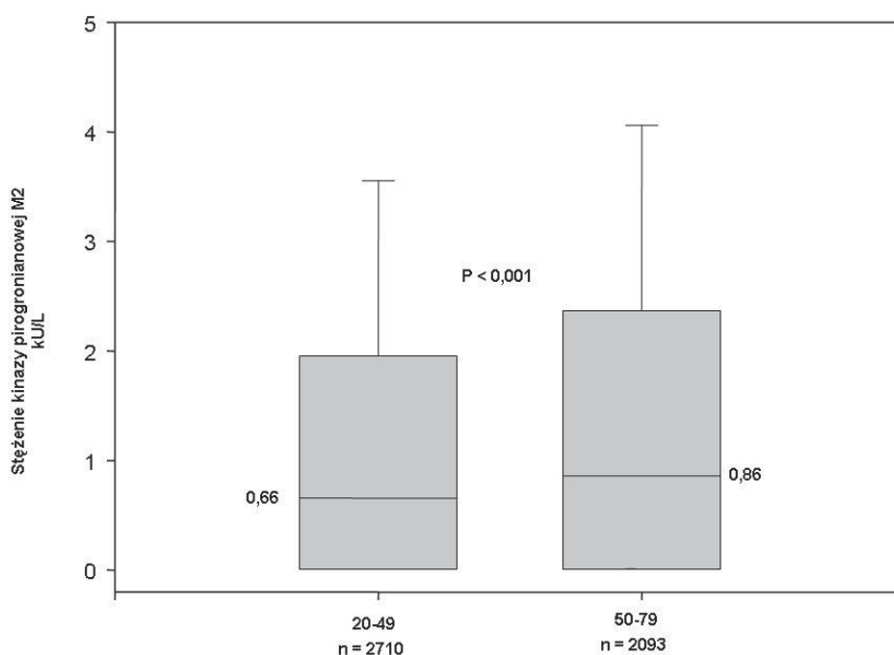
Ryc. 3. Odsetek chorych z dodatnim wynikiem testu na kinazę pirogonianową M2 przedstawiony w funkcji wieku

Dyskusja

Marker M2-PK to synonim formy dimerowej izoenzymu glikolizującej kinazy pirogonianowej typu M2 [22, 23]. M2-PK jest izoenzymem kinazy pirogonianowej, charakterystycznym dla wszystkich komórek proliferujących i może występować zarówno w postaci dimeru, jak i tetrameru. W poprzednich badaniach wykazano, że M2-PK jest uwalniany do stolca chorych z gruczolakami lub guzami jelita grubego, jak również, że M2-PK może być łatwo zmierzona przy zastosowaniu powszechnie dostępnego testu *sandwich* ELISA [10, 14-20].

Przydatność oznaczania wartości M-PK w stolcu jako narzędzia w badaniach przesiewowych na obecność

gruczolaków lub guzów jelita grubego została uprzednio potwierdzona [10, 14-20]. Swoistość oceniana w tych badaniach mieściła się w zakresie od 0,71 do 0,98 w przypadku raków jelita grubego [10, 16-20; 41-44], ale liczba badanych osób w poprzednich badaniach mieściła się w zakresie od 55 do 982; były to zatem grupy znacznie mniej liczne niż badana przez nas grupa 4854 uczestników. Uzyskane przez nas wyniki swoistości metody (w zakresie od 0,93 do 0,96) plasują się blisko uprzednio stwierdzanych wartości maksymalnych (zakres 0,71-0,98). Wadę badania stanowi fakt, że nie można było uzyskać wyników dalszych badań diagnostycznych (kolonoskopii) u 4854 chorych, nie powinno to jednak dziwić w przypadku tak licznej grupy badanej, zwłaszcza jeśli składa się



Ryc. 4. Stężenia kinazy pirogonianowej M2 w dwóch grupach wiekowych 20-49 i 50-79 lat

ona z ochotników. Tym niemniej uzyskane wyniki podkreślają przydatność oznaczania poziomu M2-PK jako nieinwazyjnej, szybkiej, łatwej i korzystnej ekonomicznie metody prowadzenia badań przesiewowych w kierunku raka jelita grubego. Dodatkowo poziomy M2-PK przedstawione w funkcji wieku osób badanych stanowią dokładniejszy zbiór danych niż jakkolwiek opublikowany dotychczas.

Podziękowania

Jesteśmy wdzięczni dr. Karin Decker z ScheBo; Biotech AG, Giessen oraz dr. Richardowi Mouldowi za pomoc przy analizie statystycznej oceniającej swoistość metody.

Dr. med. Carolin Tonus

Herz-Jesu-Hospital
Surgical Clinic
Buttlarstr. 74
36039 Fulda
Germany
e-mail: c.tonus@herz-jesu-krankenhaus.de

Piśmiennictwo

- Parkin DM, Bray F, Ferlay J i wsp. Global cancer statistics 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- Smith RA, Cokkinides V, Eyre HJ. Cancer screening in the United States, 2007: a review of current guidelines, practices, and prospects. *CA Cancer J Clin* 2007; 57: 90-104.
- Schmiegel W, Pox C, Adler G i wsp. Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten; Deutschen Krebshilfe; Deutschen Krebsgesellschaft; Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie; Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin; Deutschen Gesellschaft für Koloproktologie; Deutschen Gesellschaft für Pathologie; Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie; Deutschen Gesellschaft für Viszeralchirurgie; Deutschen Röntgengesellschaft; Deutschen vereinten Gesellschaft für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V. [S3-guideline conference „Colorectal Cancer” 2004] *Dtsch Med Wochenschr* 2005; 130 Suppl 1: S5-53. Review. German.
- Rhodes JM. Colorectal cancer screening in the UK: Joint Position Statement by the British Society of Gastroenterology, The Royal College of Physicians & The Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland. *Gut* 2000; 46: 746-8.
- Australian Cancer Network Colorectal Cancer Guidelines Revision Committee. *Guidelines for the Prevention, Early Detection and Management of Colorectal Cancer*. Sydney: The Cancer Council Australia & Australian Cancer Network, 2005.
- Waye JD, Kahn O, Auerbach ME. Complications of colonoscopy and flexible sigmoidoscopy. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 1996; 6: 343-7.
- Darmkrebs – wenig Resonanz auf Angebot zur Früherkennung. *Ärztzeitung*. 27.10.2004.
- Macrae FA, St.John DJB. Relationship between patterns of bleeding and hemocult sensitivity in patients with colorectal cancers or adenomas. *Gastroenterology* 1982; 82: 891-8.
- Lieberman DA, Harford WV, Ahnen DJ i wsp. One-time screening for colorectal cancer with combined fecal occult-blood testing and examination of the distal colon. *N Engl J Med* 2001; 345: 555-60.
- Koss K, Maxton D, Jankowski JA. Faecal dimeric M2 pyruvate kinase in colorectal cancer and polyps correlates with tumour staging and surgical intervention. *Colorectal Dis* 2008; 10: 244-8.
- Ransohoff DF, Lang CA. Screening for colorectal cancer with the fecal occult blood test: a background paper. American College of Physicians. *Ann Intern Med* 1997; 126: 811-22.
- Hardcastle JD, Chamberlain JO, Robinson MHE i wsp. Randomised controlled trial of faecal occult blood screening for colorectal cancer. *Lancet* 1996; 348: 1472-7.
- Mandel J, Church TR, Ederer F, Bond JH. Effectiveness of biennial screening for fecal occult blood. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 434-7.
- Ewald N, Toepler M, Akinci A i wsp. Pyruvatkinase M2 (Tumor M2-PK) im Stuhl als Screeningparameter für kolorektale Neoplasien. Eine Übersicht über bisher publizierte Daten. *Z Gastroenterol* 2005; 43: 1313-7.
- Hardt PD, Toepler M, Ngoumou B i wsp. Measurement of fecal pyruvate kinase type M2 (Tumor M2-PK) concentrations in patients with gastric cancer, colorectal cancer, colorectal adenomas and controls. *Anticancer Res* 2003; 23(2A): 851-3.
- Hardt PD, Mazurek S, Toepler M i wsp. Faecal tumour M2 pyruvate kinase: a new, sensitive screening tool for colorectal cancer. *Br J Cancer* 2004; 91: 980-4.
- McLoughlin R, Shiel E, Sebastian S i wsp. Tumor M2-PK, a novel screening tool for colorectal cancer. In: Poster Abstracts & Trade Exhibition Book: NCRI Cancer Conference; 2005 Oct 2-5; Birmingham, United Kingdom. London: Callisto, 2005: 202.
- Tonus C, Neupert G, Sellinger M. Colorectal cancer screening by non-invasive metabolic biomarker fecal tumor M2-PK. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7007-11.
- Ewald N, Schaller M, Bayer M i wsp. Fecal pyruvate kinase-M2 (tumor M2-PK) measurement: a new screening concept for colorectal cancer. *Anticancer Res* 2007; 27: 1949-52.
- Kumar Y, Tapuria N, Kirmani N i wsp. Tumour M2-pyruvate kinase: a gastrointestinal cancer marker. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19: 265-76, review.
- Hathurusinghe HR, Goonetilleke KS, Siriwardena AK. Current status of tumor M2 pyruvate kinase (tumor M2-PK) as a biomarker of gastrointestinal malignancy. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 2714-20, review.
- Eigenbrodt E, Reinacher M, Scheefers-Borchel U i wsp. Double role for pyruvate kinase type M2 in the expansion of phosphometabolite pools found in tumor cells. *Crit Rev Oncogenesis* 1992; 3: 91-115.
- Christofk HR, Van der Heiden MG, Wu N i wsp. Pyruvate kinase M2 is a phosphotyrosine-binding protein. *Nature* 2008; 452: 181-6.
- Reinacher M, Eigenbrodt E. Immunohistological demonstration of the same type of pyruvate kinase isoenzyme (M2-PK) in tumors of chicken and rat. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1981; 37: 79-88.
- Board M, Humm S, Newsholme EA. Maximum activities of key enzymes of glycolysis, glutaminolysis, pentose phosphate pathway and tricarboxylic acid cycle in normal, neoplastic and suppressed cells. *Biochem J* 1990; 265: 503-9.
- Hacker HJ, Steinberg P, Bannasch P. Pyruvate kinase isoenzyme shift from L-type to M2-type is a late event in hepatocarcinogenesis induced in rats by a choline-deficient/DL-ethionine-supplemented diet. *Carcinogenesis* 1998; 19: 99-107.
- Christofk HR, Van der Heiden MG i wsp. The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth. *Nature* 2008; 452: 230-3.
- Discher DJ, Bishopric NH, Wu X i wsp. Hypoxia regulates β -enolase and pyruvate kinase promoters by modulating Sp1/Sp3 binding to conserved GC element. *J Biol Chem* 1998; 273: 26087-93.
- Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1: master regulator of O₂ homeostasis. *Curr Opin Genet Dev* 1998; 8: 588-94.
- Mazurek S, Zwerschke W, Jansen-Durr P i wsp. Metabolic cooperation between different oncogenes during cell transformation: interaction between activated ras and HPV-16 E7. *Oncogene* 2001; 20: 6891-8.
- Nishikawa T, Maemura K, Hirata I i wsp. A simple method of detecting K-ras point mutations in stool samples for colorectal cancer screening using one-step polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism analysis. *Clin Chim Acta* 2002; 318: 107-12.
- Mazurek S, Boschek B, Hugo F i wsp. Pyruvate kinase type M2 and its role in tumor growth and spreading. *Semin Cancer Biol* 2005; 15: 300-8.
- Oremek GM, Teigelkamp S, Kramer W i wsp. The Pyruvate Kinase Isoenzyme Tumor M2 (Tu M2-PK) as a Tumor Marker for Renal Carcinoma. *Anticancer Res* 1999; 19: 2599-602.
- Wechsel HW, Petri E, Bichler KH i wsp. Marker for renal cell carcinoma (RCC); the dimeric form of pyruvate kinase type M2 (Tu M2-PK). *Anticancer Res* 1999; 19: 2583-90.
- Lueftner D, Mesterharm J, Akrivakis C i wsp. Tumor Type M2 Pyruvate Kinase expression in advanced breast cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 5077-82.
- Schneider J, Morr H, Velcovsky HG i wsp. Quantitative detection of Tumor M2-pyruvate kinase in plasma of patients with lung cancer in comparison to other lung diseases. *Cancer Detect Prev* 2000; 24: 531-5.
- Kaura B, Bagga R, Patel FD. Evaluation of the Pyruvate Kinase isoenzyme tumor (Tu M2-PK) as a tumor marker for cervical carcinoma. *J Obstet Gynaecol Res* 2004; 30: 193-6.
- Ventrucci M, Cipolla A, Racchini C i wsp. Tumor M2-pyruvate kinase, a new metabolic marker for pancreatic cancer. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1149-55.

39. Zhang B, Chen JY, Chen DD i wsp. Tumor type M2 pyruvate kinase expression in gastric cancer, colorectal cancer and controls. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1643-6.
40. Goonetilleke KS, Mason JM, Siriwardana P i wsp. Diagnostic and prognostic value of plasma tumor M2 pyruvate kinase in periampullary cancer: evidence for a novel biological marker of adverse prognosis. *Pancreas* 2007, 34: 318-24.
41. Naumann M, Schaum B, Oremek GM i wsp. Faecal pyruvate kinase type M2—a valid screening parameter for colorectal cancer? Preliminary results from a multicenter comparative study. *Dtsch Med Wochenschr* 2004; 129: 1806-7.
42. Vogel T, Driemel C, Hauser A i wsp. Comparison of different stool tests for the detection of cancer of the colon. *Dtsch Med Wochenschr* 2005; 130: 872-7.
43. Shastri YM, Naumann M, Oremek GM i wsp. Prospective multicenter evaluation of fecal tumor pyruvate kinase type M2 (M2-PK) as a screening biomarker for colorectal neoplasia. *Int J Cancer* 2006; 119: 2651-6.
44. Haug U, Rothenbacher D, Wentz MN i wsp. Tumour M2-PK as a stool marker for colorectal cancer: comparative analysis in a large sample of unselected older adults vs colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2007; 96: 1329-34.
45. Segnan N, Senore C, Andreoni B i wsp. Baseline findings of the Italian multicenter randomized controlled trial of “once-only sigmoidoscopy” – SCORE. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 1743-72.
46. Liu HH, Wu MC, Peng Y, Wu MS. Prevalence of advanced colonic polyps in asymptomatic Chinese. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4731-4.

Otrzymano: 13 sierpnia 2008 r.

Przyjęto do druku: 13 września 2008 r.