

Syklisk GMP som biomarkør ved hjerte- og karsykdommer og kreft

Sammendrag

Bakgrunn. Nivåene av signalmolekylet syklisk guanosin-3',5'-monofosfat (cGMP) i plasma og urin er forhøyet ved noen hjerte- og karsykdommer og ved enkelte krefttyper.

Materiale og metoder. Dataene er fremskaffet ved oversikt over litteratur som beskriver biokinetikken for cGMP og bruken av molekylet som biomarkør ved hjerte- og karsykdommer og kreft.

Resultater og fortolkning. Ved oppfølging av hjertesvikt, leukemier og gynekologiske kreftsykdommer er cGMP en nyttig biomarkør, mens dokumentasjonen ved andre tilstander er svak. Det er store interindividuelle forskjeller i cGMP-nivåene i ekstracellulære væsker. Signalmolekylet er derfor lite egnet som et primærdiagnostisk verktøy, men vil kunne brukes til å overvåke individuelle behandlingseffekter særlig ved hjertesvikt, leukemi og gynekologisk kreft.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Line Ulvestad *
Georg Sager

georg.sager@fagmed.uit.no
Klinisk farmakologisk avdeling
Universitetssykehuset Nord-Norge
9038 Tromsø

* Nåværende adresse:
Psykiatrisk avdeling
Ålesund sykehus
6026 Ålesund

Nivået av intracellulært syklisk guanosin-3',5'-fosfat (cGMP) er avhengig av tre prosesser: syntese, nedbrytning og ekskresjon. Enzymfamilien guanylatsyklaser (GC) omdanner guanosintrifosfat (GTP) til cGMP. Det finnes to hovedgrupper av guanylatsyklaser, hvorav den ene er lokalisert i cellemembranen (particulate), forkortet pGC, og den andre

finnes i cytosol (soluble), forkortet sGC. De membranbundne enzymene (pGC) er påvist i de fleste vev og celletyper og består av tre isoformer (A, B og C). Isoformene A og B aktiveres av atrieatriuretisk peptid (ANP), B-type natriuretisk peptid (BNP) og C-type natriuretisk peptid (CNP). Membranbundet sykklase isoform C aktiveres av endogene peptider, slik som guanylin og uroguanylin, samt eksogene termotabile enterotoksiner, blant annet toksinet sta fra *Escherichia coli*. I cytoplasma blir sGC aktivert av nitrogenmonoksid (NO) og NO-donorer, slik som natriumnitroprussid, og i begrenset grad av karbonmonoksid (CO). Flere legemidler som gir vasodilatasjon og hemning av blodplatefunksjon, virker ved å aktivere sGC.

Nedbrytning av intracellulært cGMP til inaktivt GMP skjer ved hjelp av syklisk nukleotidfosfodiesteraser (PDE) som består av minst 11 genfamilier. Noen av disse enzymene er spesifikke for cGMP, slik som PDE5, PDE6 og PDE9. I de senere årene har PDE5 fått stor oppmerksomhet på grunn av spesifikke inhibitorer som har vist seg å være effektive i behandlingen av erektil dysfunksjon.

Cellulær ekskresjon bidrar sammen med PDE til å redusere det intracellulære nivået av cGMP. De fleste celletyper har evnen til å utskille cGMP (1). Fordi cGMP ikke kan diffundere gjennom cellemembranen ved fysiologiske konsentrasjoner, er det spesialiserte transportproteiner som frakter cGMP ut av cellen. Dette systemet er godt karakterisert i humane erytrocytter og består av en høyaffinitets- og en lavaffinitetsprosess. Minst to medlemmer (MRP4 og MRP5) av «multidrug resistance protein» (MRP)-familien kan transportere cGMP ut av celler (2, 3). I nyretubuli foregår det en vektoriell transport av cGMP fra blodbanen og ut i preurinen. På basalsiden av tubulicellene er det påvist en annen type organisk anionpumpe (OAT1), som sørger for den cellulære absorpsjonen av cGMP (4), mens MRP4 som er uttrykt apikalt (5), forårsaker den cellulære ekskresjonen.

Denne artikkelen gir en oversikt over bruk av cGMP-målinger av plasma og urin i forbindelse med hjerte- og karsykdommer og kreft, basert på data fremskaffet ved tilgjengelig litteratur og fra egen forskning innen feltet.

Hjertesvikt

Transportproteinet MRP5 er påvist i humane hjertemuskelceller, samt i glatte muskelceller og endotel fra humane koronarkar (6).

Hos pasienter med hjertesvikt er det funnet økte cGMP-konsentrasjoner i plasma, og nivået er relatert til hjertesvikts alvorlighetsgrad (7–11). Spesifisitet og sensitivitet var 94 % (9). Med flere ulike forsøksoppsett er det vist at fysisk aktivitet gir signifikant nivåøkning i plasma-cGMP hos hjertesviktspasienter sammenliknet med friske (12, 13). Ved vellykket behandling, inklusive farmakoterapi, elektrokonversjon og klaffekirurgi, faller cGMP-nivået betydelig.

Nitratterapi ved hjerte- og karsykdommer

Nitropreparater virker som eksogene NO-donorer som stimulerer sGC. Som et resultat av det økte intracellulære-cGMP-nivået, ville man forvente en økning i cellulær sekresjon og dermed en økning av cGMP-nivåene i plasma. Ved behandling av hjertesviktspasienter (NYHA klasse III-IV) med isosorbiddinitrat fant man derimot en forbigående reduksjon i plasma-cGMP-nivå med ca. en times varighet (14). Dette kan forklares ved at vasodilatasjonen gir bortfall av ANP pGC-stimulering. Fallet i plasma-cGMP-konsentrasjonen skyldes at reduksjonen i stimulering av pGC er større enn økningen i stimulering av sGC.

I en annen studie ble det funnet at 24-timers infusjon med glyseryltrinitrat ikke endret venøst-cGMP-nivå hos hjertesviktspasienter (NYHA klasse II-IV), mens nivået for arteriell-cGMP sank doseavhengig, slik at den arteriovenøse forskjellen økte (15). Vi mener at arteriovenøs cGMP-forskjell i plasma er en klinisk indikator på nitraters vasodilaterende effekt og en brukbar indikator på nitrattoleranse hos hjertesviktspasienter.

Tidlige studier med ulike kreftformer

De første studiene inkluderte flere kreftformer uten å skille dem i grupper. Det ble funnet en økt ekskresjon av cGMP i urin hos



Hovedbudskap

- Konsentrasjonen av cGMP i plasma og urin er lite egnet ved primærdiagnostikk
- cGMP-nivåene kan brukes til å overvåke behandlingseffekter ved hjertesvikt, leukemi og gynekologiske kreftsykdommer

pasienter med epiteliale kreftsvulster, blant annet brystkreft og tykktarmskreft, sammenliknet med friske personer (16). Andre studier har også funnet økte cGMP-konsentrasjoner i urin ved lungekreft, brystkreft, tykktarmskreft og Hodgkins sykdom (17, 18). Kreftpasientene hadde 2–3 ganger høyere cGMP-nivåer i urin enn de friske i kontrollgruppen. Økningen skyldtes ikke økt plasmaclearance av cGMP, men økt produksjon (18). Dette tyder på at kreftcellene, enten direkte eller indirekte, forårsaket det økte cGMP-nivået i plasma. Senere studier har spesielt omhandlet leukemi og gynekologisk kreft.

Leukemi

Flere studier har vist signifikant forhøyede cGMP-nivåer i urin og/eller plasma ved akutt og kronisk leukemi (19–22). I en av studiene (19) var det inkludert 50 leukemipasienter (akutt lymfatisk, akutt myelogen, kronisk lymfatisk og kronisk myelogen leukemi). Nivåene av cGMP i både plasma og urin var forhøyet, uten at det var forskjell mellom leukemigruppene. Denne studien ble fulgt opp med en studie av 106 pasienter med akutt leukemi (20). Nivået av cGMP i plasma, som i utgangspunktet var signifikant forhøyet, falt som respons på behandling. Hos de pasientene som fikk tilbakefall, steg cGMP-nivået til verdier som ble målt før behandling. De samme forfattere verifiserte sine funn i en studie som omfattet 173 pasienter med akutt leukemi (21).

Gynekologisk kreft

Det er rapportert at 93 % av pasienter med livmorhalskreft og 30 % av pasienter med intraepitelial neoplasie hadde signifikant økning i cGMP-konsentrasjon i urin sammenliknet med friske personer (23). Ved effektiv kirurgisk behandling falt cGMP-nivåene signifikant. I en oppfølgingsstudie av pasienter behandlet for livmorhalskreft, falt konsentrasjonen av cGMP i urin hos pasienter i remisjon, men økte ved tilbakefall (24).

Det er også funnet høye cGMP-nivåer hos pasienter med kreft i eggstokkene (23). Syklisk GMP-nivå forble høyt hos pasienter som ikke responderte på cytostatikabehandling, mens pasienter i remisjon hadde signifikant lavere nivåer (23). Forfatterne konkluderte med at seriemålinger av cGMP kan være nyttig for å overvåke utviklingen etter behandling av ovarialcancer hos pasienter i klinisk remisjon, og at denne prosedyren kan forutsi kliniske utvikling med opptil ti måneder. Det er også funnet at lav differensieringsgrad gir signifikant høyere cGMP-konsentrasjon i urin enn høy differensiering (25). Et vedvarende høyt cGMP-nivå i urin etter kirurgisk inngrep, men før start av kjemoterapi, var en uavhengig prognostisk variabel selv om resttumor etter operasjon var den beste enkeltprediktor for overlevelse (26). Hos pasienter med høy cGMP-konsentrasjon i urin før start av kjemoterapi, var det

96 % korrelasjon mellom remisjon av ovarialcancer og fall i cGMP-nivå (27). I denne studien ble det også vist en korrelasjon på 75 % mellom tilbakefall og økning i nivået av cGMP.

Diskusjon

Det er lett å forstå den patofysiologiske sammenhengen mellom hjertesvikt og økt ekstracellulært cGMP-nivå, siden ANP og BNP frigjøres fra hjertet, henholdsvis som respons på strekk av atrievegg og ventrikelvegg. Disse peptidene, som stimulerer pGC, gir en økning i intracellulært cGMP-nivå og derved økt substrattilgang til cGMP-pumpen i cellemembranen. De atrienatriuretiske peptidene og deres betydning i diagnostisk sammenheng er tidligere omtalt i Tidsskriftet.

Mekanismen for økt cGMP-nivå ved kreftsykdommer er uklar, men det er holdpunkter for at dette skyldes et økt tilsig av cGMP til plasma og ikke redusert clearance (18). En in vitro-modell som viste at økning i celletetthet gir stigning i ekstracellulært cGMP-nivå, er forenlig med at tumormassen bidrar direkte. Det er også mulig at maligne celler bidrar indirekte ved å skille ut parakrine faktorer som fører til en økning i cGMP-ekskresjonen fra normale celler. Hvis slike faktorer stimulerer guanylatsyklaser og/eller hemmer fosfodiesteraserne, vil det gi pumpen økt substrattilgang. En annen mulighet er at pumpeaktiviteten øker, enten ved at hvert enkelt pumpeprotein blir mer aktivt eller ved at det uttrykkes flere pumpeproteiner i cellemembranen.

Konklusjon

Den betydelige interindividuelle variasjon i nivåene av cGMP i biologiske væsker gjør dette nukleotidet lite egnet til primærdiagnostikk av hjertesvikt, leukemi eller gynekologisk kreft, men kan være et viktig bidrag til å overvåke behandlingseffekten, hvor pasienten er sin egen kontrollperson.

Litteratur

- Sager G. Cyclic GMP transporters. *Neurochem Int* 2004; 45: 865–73.
- Jedlitschky G, Burchell B, Keppler D. The multidrug resistance protein 5 functions as an ATP-dependent export pump for cyclic nucleotides. *J Biol Chem* 2000; 275: 30069–74.
- Chen ZS, Lee K, Kruh GD. Transport of cyclic nucleotides and estradiol 17- β -D-glucuronide by multidrug resistance protein 4, resistance to 6-mercaptopurine and 6-thioguanine. *J Biol Chem* 2001; 276: 33747–54.
- Sekine T, Watanabe N, Hosoyamada M et al. Expression cloning and characterization of a novel multispecific organic anion transporter. *J Biol Chem* 1997; 272: 18526–9.
- van Aubel RA, Smeets PH, Peters JG et al. The MRP4/ABCC4 gene encodes a novel apical organic anion transporter in human kidney proximal tubules: putative efflux pump for urinary cAMP and cGMP. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 595–603.
- Dazert P, Meissner K, Vogelgesang S et al. Expression and localization of the multidrug resistance protein 5 (MRP5/ABCC5), a cellular export pump for cyclic nucleotides, in human heart. *Am J Pathol* 2003; 163: 1567–77.
- Ogawa K, Shiozu H, Mizuno K et al. Increased plasma cyclic nucleotide concentrations in congestive heart failure. *Br Heart J* 1984; 52: 524–9.
- Hirata Y, Ishii M, Matsuoka H et al. Plasma concentrations of alpha-human atrial natriuretic peptide and cyclic GMP in patients with heart disease. *Am Heart J* 1987; 113: 1463–9.
- Vorderwinkler KP, Artner-Dworzak E, Jakob G et al. Release of cyclic guanosine monophosphate evaluated as a diagnostic tool in cardiac diseases. *Clin Chem* 1991; 37: 186–90.
- Zheng X, Ma SJ, Zhang TH et al. Plasma levels of cyclic nucleotides in chronic congestive heart failure and their clinical implication. *Int J Cardiol* 1993; 40: 7–15.
- Jakob G, Mair J, Vorderwinkler KP et al. Clinical significance of urinary cyclic guanosine monophosphate in diagnosis of heart failure. *Clin Chem* 1994; 40: 96–100.
- Jakob G, Mair J, Pichler M et al. Ergometric exercise testing and sensitivity of cyclic guanosine 3',5'-monophosphate (cGMP) in diagnosing asymptomatic left ventricular dysfunction. *Br Heart J* 1995; 73: 145–50.
- Friedl W, Mair J, Thomas S et al. Natriuretic peptides and cyclic guanosine 3',5'-monophosphate in asymptomatic and symptomatic left ventricular dysfunction. *Heart* 1996; 76: 129–36.
- Shotan A, Mehra A, Ostrzege E et al. Plasma cyclic guanosine monophosphate in chronic heart failure: hemodynamic and neurohormonal correlations and response to nitrate therapy. *Clin Pharmacol Ther* 1993; 54: 638–44.
- Tsutamoto T, Kinoshita M, Ohbayashi Y et al. Plasma arteriovenous cGMP difference as a useful indicator of nitrate tolerance in patients with heart failure. *Circulation* 1994; 90: 823–9.
- Gennari C, Francini G, Galli M et al. Urinary excretion of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate and cyclic guanosine 3',5'-monophosphate in malignancy. *J Clin Pathol* 1978; 31: 735–41.
- Chawla RK, Nixon DW, Shoji M et al. Plasma and urine cyclic guanosine 3': 5'-monophosphate in disseminated cancer. *Ann Intern Med* 1979; 91: 862–4.
- Chawla RK, Shlaer SM, Lawson DH et al. Elevated plasma and urinary guanosine 3': 5'-monophosphate and increased production rate in patients with neoplastic diseases. *Cancer Res* 1980; 40: 3915–20.
- Peracchi M, Lombardi L, Maioli AT et al. Plasma and urine cyclic nucleotide levels in patients with acute and chronic leukemia. *Blood* 1983; 61: 429–34.
- Peracchi M, Bamonti-Catena F, Lombardi L et al. Plasma cyclic nucleotide levels in monitoring acute leukemia patients. *Cancer Detect Prev* 1985; 8: 291–5.
- Peracchi M, Toschi V, Bamonti-Catena F et al. Plasma cyclic nucleotide levels in acute leukemia patients. *Blood* 1987; 69: 1613–6.
- Scavennec J, Carcassonne Y, Gastaut JA et al. Relationship between the levels of cyclic cytidine 3': 5'-monophosphate, cyclic guanosine 3': 5'-monophosphate, and cyclic adenosine 3': 5'-monophosphate in urines and leukocytes and the type of human leukemias. *Cancer Res* 1981; 41: 3222–7.
- Turner GA, Ellis RD, Guthrie D et al. Urine cyclic nucleotide concentrations in cancer and other conditions; cyclic GMP: a potential marker for cancer treatment. *J Clin Pathol* 1982; 35: 800–6.
- Ørbo A, Jaeger R, Sager G. Urinary levels of cyclic guanosine monophosphate (cGMP) in patients with cancer of the uterine cervix: a valuable prognostic factor of clinical outcome? *Eur J Cancer* 1998; 34: 1460–2.
- Turner GA, Gregg S, Guthrie D et al. Monitoring ovarian cancer using urine cyclic GMP. A two-centre study. *Eur J Gynaecol Oncol* 1990; 11: 421–7.
- Luesley DM, Blackledge GR, Chan KK et al. Random urinary cyclic 3',5' guanosine monophosphate in epithelial ovarian cancer: relation to other prognostic variables and to survival. *Br J Obstet Gynaecol* 1986; 93: 380–5.
- Luesley DM, Chan KK, Newton JR et al. Serial urinary cyclic guanosine monophosphate measurements in the assessment of response to treatment in epithelial ovarian cancer. *Br J Obstet Gynaecol* 1987; 94: 461–6.