

# Metoder til screening for kolorektal cancer kan forbedres

Louise Rasmussen<sup>1</sup>, Lars Nannestad Jørgensen<sup>2</sup>, Mogens Rørbæk Madsen<sup>3</sup>, Jesper Vilandt<sup>4</sup>, Michael Klærke<sup>5</sup>, Jens Andersen<sup>1</sup>, Knud T. Nielsen<sup>6</sup>, Ali Khalid<sup>7</sup>, Søren Laurberg<sup>8</sup>, Claus L. Andersen<sup>9</sup>, Ib Jarle Christensen<sup>10,11</sup>, Nils Brüner<sup>12</sup> & Hans Jørgen Nielsen<sup>1,13</sup>

I 2011 blev der registreret 4.350 nye tilfælde af kolorektal cancer (KRC) i Danmark [1], og på verdensplan er KRC en af de hyppigste cancerrelaterede dødsårsager [2] med store sociale og samfundsøkonomiske konsekvenser til følge.

KRC er oftest en langsomt progredierende sygdom, der næsten altid er forudgået af et præmalignt stadium i form af adenom, som oftest vil kunne diagnosticeres og fjernes ved koloskopi. KRC har en høj incidens og er forbundet med en betydelig morbiditet og mortalitet. Endvidere opnås der bedre resultat ved tidlig behandling, hvorfor lidelsen opfylder betingelserne for befolkningsscreening. Der har derfor været en stor forskningsmæssig interesse i at udvikle en KRC-screeningsmetode, som er pålidelig, anvendelig og økonomisk forsvarlig.

Koloskopi er opfattet som den ideelle undersøgelse til tidlig diagnosticering af KRC. Hele rectum- og colonslimhinden kan efterses ved undersøgelsen, maligne forandringer kan biopteres og eventuelle præmaligne læsioner kan fjernes. Sensitiviteten og specificiteten for undersøgelsen er tæt på 100% for diagnosticering af adenomer og KRC, når den udføres af en erfaren endoskopør [3]. Koloskopi kræver forudgående peroral udrensning og er forbundet med ubehag/smerter. Risikoen for alvorlige komplikationer i form af blødning og perforation af colon er 2,8 pr. 1.000 koloskopier [4]. Desuden er undersøgelsen dyr og kapacitetskrævende, hvilket begrænser anvendelsen af den som screeningsundersøgelse.

Screening med fleksibel sigmoideoskopi (FS) som alternativ til koloskopi har været forsøgt, idet KRC oftest er lokaliseret i den anale del af colon og i rectum. FS er billigere, kræver ikke forudgående peroral udrensning og er forbundet med mindre ubehag samt lavere risiko for komplikationer end koloskopi. Der er påvist reduceret incidens og mortalitet af KRC ved anvendelse af FS som screeningsundersøgelse [5]. FS er dog langt fra den optimale metode, idet over halvdelen af patienterne med adenomer i den orale del af colon ikke har synkrone adenomer i den anale del af colon eller i rectum og derfor ikke kan diagnosticeres korrekt ved FS [6].

Screening for KRC sker i dag oftest ved at foretage en selektion af befolkningen før koloskopi, så kun personer med forhøjet risiko for KRC bliver til-

budt koloskopi. Den mest anvendte metode til denne selektion er påvisning af usynligt blod i afføringen, enten ved *guaiac-based faecal occult blood testing* (gFOBT) eller den nyere undersøgelse, der er baseret på immunkemisk påvisning af blod i afføringen, *faecal immunochemistry testing* (FIT). Til trods for den store udbredelse er gFOBT og FIT dog langt fra optimale screeningsmetoder bl.a. pga. lav specificitet for KRC, hvilket medfører mange unødvendige koloskopier [7]. Desuden er blødning fra den præmaligne eller maligne læsion intermitterende og kan derfor ikke altid påvises ved gFOBT/FIT, hvilket resulterer i en relativt lav sensitivitet. Et andet grundlæggende problem ved anvendelsen af gFOBT/FIT til screening er, at analyserne foretages på afføring. I flere studier har man fundet, at der er lav kompliance forbundet med gFOBT/FIT [8], hvilket nedsætter effekten af screening betydeligt pga. en resulterende lav klinisk sensitivitet (sensitivitet af testen  $\times$  compliance). Dette skyldes formentlig, at man selv skal udtage prøven, samt at den screenede befolkning som udgangspunkt føler sig rask.

Der har været og er fortsat intens interesse i udviklingen af en bedre metode til screening for KRC. Flere markører for sygdommen er blevet identificeret i forskellige biologiske materialer og vurderet i håb om at finde de(n) ideelle screeningsmarkør(er). Følgende er en gennemgang af de mest interessante markører, hvoraf nogle er kommercielt tilgængelige, og andre er under udvikling.

## MARKØRER I AFFØRINGSPRØVER

### Guaiac-based faecal occult blood testing

gFOBT er en indirekte test, hvormed man kan påvise blod fra neoplastiske læsioner. Det er nødvendigt at udtage to afføringsprøver fra tre på hinanden følgende afføringer for at sikre et evt. positivt resultat. Afføringen påføres en testplade, der indeholder guaiac, som ved tilsætning af buffer reagerer med hæmdelen af hæmoglobin ved at udvikle blå farve. Efterfølgende skal testen aflæses manuelt. Når gFOBT anvendes til screening, er sensitiviteten for KRC 40-90% ved en specificitet på 85-90% [9], mens påvisning af adenomer af begrænset.

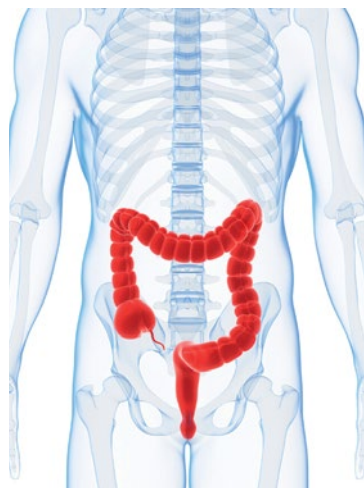
Der er flere problemer forbundet med gFOBT. Hæm optages kun i mindre grad i tyndtarmen, hvilket

## STATUSARTIKEL

- 1) Gastroenheden, Kirurgisk Sektion, Hvidovre Hospital
- 2) Kirurgisk Afdeling, Bispebjerg Hospital
- 3) Kirurgisk Afdeling, Regionshospitalet Herning
- 4) Kirurgisk Afdeling, Hillerød Hospital
- 5) Kirurgisk Afdeling, Regionshospitalet Horsens
- 6) Kirurgisk Afdeling, Regionshospitalet Randers
- 7) Kirurgisk Afdeling, Regionshospitalet Viborg
- 8) Kirurgisk Afdeling, Aarhus Universitetshospital
- 9) Molekylær Medicinsk Afdeling, Aarhus Universitetshospital
- 10) Finslaboratoriet, Rigshospitalet
- 11) Biotech Research and Innovation Center (BRIC), Københavns Universitet
- 12) Institut for Veterinær Sygdomsbiologi, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet
- 13) Institut for Klinisk Medicin, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

Ugeskr Læger  
2014;176:V09130545

Det danske screeningsprogram for kolorektal cancer med planlagt start i marts 2014 er sammensat af en afføringsprøve (*faecal immunochemistry testing*) og efterfølgende koloskopi ved positivt testresultat.



medfører, at gFOBT ikke er specifik for blødning i colon, da der ved øvre gastrointestinal blødning også vil være positivt testresultat. Desuden er guaiac ikke specifikt for human hæg, hvorfor indtagelse af rødt kød kan give et falsk positivt svar. Flere medikamenter, herunder nonsteroidale antiinflammatoriske stoffer, kan også indvirke på udfaldet af gFOBT. Endvidere er der en lav kompliance (30-85%) for gFOBT [9]. Dette må tilskrives den besværlige udførelse af testen, der kræver flere afføringsprøver samt forudgående restriktioner mht. indtag af føde og medikamenter.

#### Faecal immunochemistry testing

FIT er ved at erstatte gFOBT som førstevalg ved KRC-screening pga. højere sensitivitet og et mere simpelt testdesign, hvor der kun skal udtages en enkelt afføringsprøve. Prøven udtages med en probe, som indføres flere steder i afføringen og efterfølgende tilsættes buffer og forsejles i et prøveglas.

Med FIT kan man påvise globindelen af hæmoglobin ved *enzyme-linked immunosorbent assay*, og analyseresultatet angives som hæmoglobinkoncentration. Dette giver mulighed for at tilpasse skærings-

værdien for positive test hos den screenede befolkningsgruppe, hvor detektionsraten kan fastsættes med hensyntagen til samfundets kapacitet for koloskopi. Testen aflæses maskinelt, hvilket sikrer reproducerbarhed og mulighed for at teste flere prøver samtidigt.

FIT er relativt specifik for nedre gastrointestinal blødning, da globin i modsætning til hæg gradvist bliver optaget i tyndtarmen. Der er ikke behov for forudgående restriktioner i forhold til indtag af føde eller medikamenter. I sammenligning med gFOBT har FIT en højere sensitivitet for både KRC og avancerede adenomer på henholdsvis 61-91% og 27-67% ved en specificitet på 91-98% [10].

Nedbrydning af globinmolekylet under transport til laboratoriet udgør et problem. Til trods for at prøveglasset er tilsat en hæmoglobinstabiliserende buffer, er der påvist forhøjet falsk negativ-ratio i prøver med forlænget transporttid [11].

Sammenlignet med gFOBT er der ved FIT en bedre compliance på 60-62% [8], som imidlertid må betragtes som lav, når testen anvendes til screening.

Til trods for de nævnte mangler ved FOBT er der ved anvendelse til screening påvist en reduceret dødeligheden på lang sigt [12], og en compliance på over 40% er vurderet som acceptabel ud fra et samfundsøkonomisk aspekt [13]. På nuværende tidspunkt må FIT tolkes som værende et af de bedste alternativer til et screeningsprogram, der udelukkende er baseret på koloskopi. Screening af den danske befolkning for KRC med planlagt start i marts 2014 er sammensat af initialt FIT og tilbud om efterfølgende koloskopi ved positivt testresultat. Den positive prædiktive værdi for FIT til diagnosticering af KRC er dog relativt lav, 7-10% [8, 14], hvilket medfører, at der skal gennemføres over ti koloskopier for at finde en person med KRC.

#### Påvisning af tumor-DNA i afføring

En ny analyse, der er under udvikling, er påvisning af tumor-DNA (*stool-DNA*, sDNA). Det er påvist, at der foregår mere kontinuerlig og øget afstødning af dysplastisk og neoplastisk omdannede celler fra områder med adenomer og KRC end fra normal colonslimhinde [15]. Disse celler indeholder tumorspecifikke ændringer i DNA, hvilket kan anvendes som afføringsbaserede markører for adenomer og KRC. Til analysen anvendes et sammensat panel af DNA-markører, der detekterer såvel metyleret som muteret DNA.

I et multicenter casekontrolstudie er der for sDNA påvist en sensitivitet på 85% for KRC og en sensitivitet på 54% for adenomer  $\geq 1$  cm ved 90% specificitet [16]. Ved direkte sammenligning har man fundet, at sDNA-testen har højere sensitivitet end gFOBT



#### FAKTABOKS

Fremtidige aspekter af screening for kolorektal cancer (KRC):

Den mest anvendte test til screening for KRC er immunkemisk test for blod i afføring (*faecal immunochemistry testing*) med en positiv prædiktiv værdi på 7-10%.

Screening med afføringsprøver er forbundet med lav compliance, hvilket forringer kvaliteten af screeningen.

Compliance kan forbedres ved anvendelse af blodprøver til screening. Ingen enkeltmarkør i hverken blod eller afføring har tilstrækkelig kvalitet til at udgøre en ideel screeningsmarkør for KRC.

En løsning på dette problem kan være matematisk/statistisk baseret risikovurdering med inddragelse af flere markører i blod og individbaserede data.

[17] for både store adenomer og KRC. Der er endnu ikke gennemført studier, hvor man har sammenlignet FIT og sDNA-test.

sDNA kræver fortsat validering og optimering. Komplians til testen er ikke undersøgt, men man må forvente, at den er relativt lav, idet testen kræver minimum 36 gram afføring i en specifik beholder for at sikre tilstrækkelig mængde sDNA til påvisning. Prøven skal fryses ned til -80 °C kort efter udtagning for at undgå nedbrydning af sDNA, hvilket medfører store logistiske problemer [16].

Det kan konkluderes, at det altoverskyggende problem med at anvende afføring til screeningsundersøgelser for KRC er en lav komplians. Uanset hvor sensitiv og specifik en undersøgelse er, vil lav komplians medføre lav klinisk sensitivitet, og en stor del af dem, som måtte have sygdommen, vil ikke blive identificeret.

Sensitiviteten for KRC og avancerede adenomer er lav ved både gFOBT og FIT, og der er derfor en ikke ubetydelig risiko for falsk negativ test ved tilfælde af KRC. Dette medfører en vis risiko for intervalcancer, dvs. tilfælde af KRC, der opstår mellem to undersøgelser. De foreløbige resultater for påvisning af sDNA i afføring tyder på, at risikoen for intervalcancer ved anvendelse af denne test til screening er mindre end ved anvendelse af gFOBT og FIT.

## MARKØRER I BLODPRØVER

Baseret på den lave komplians ved afføringsprøver har der været stor forskningsmæssig interesse i at finde en KRC-screeningsmarkør, som er baseret på en blodprøve. En blodprøve kan tages af lægen eller i et laboratorium, hvilket kan accepteres af de fleste patienter og raske personer. Komplians ved en blodprøvetagning hos personer med symptomer på KRC er i et prospektivt studie fundet at være over 90% [9]. Ud fra dette må man forvente, at komplians ved en blodprøve som screeningsundersøgelse er høj sammenlignet med komplians ved en afføringsprøve. Der er endvidere en økonomisk fordel ved at anvende blod frem for afføring. Det krævede apparatur til analyser af blod er allerede tilgængeligt i de fleste laboratorier, og blod er et »renere« prøvemateriale, som ikke kræver så omfattende en forarbejdning som afføring, for at isolere en markør.

Udvikling af nye teknikker, forbedring af eksisterende analyser og øget forståelse for karcinogenesen for KRC har medført identifikation af flere nye potentielle screeningsmarkører i blod. Enkelte er kommercielt tilgængelige og godkendt til anvendelse ved diagnosticering af KRC, andre markører er under validering, mens helt nye potentielle markører indgår i forskningsprogrammer (Tabel 1).



TABEL 1

Markører i blod.

	Reference
<b>Godkendte analyser</b>	
Metylet SEPT9	[18, 19]
<b>Analyser under validering</b>	
Tissue inhibitor of metalloproteinases-1	[20, 21]
<b>Analyser under evaluering</b>	
Mikro-RNA	[22]
Cellefrit DNA	[23, 24]
Soluble urokinase plasminogen activator receptor (I)	[25]
Galektin-3/ligander	[26]
Katepsin X	[27]
Komplementfaktor C3a	[28]
Proteomanalyser på PLA-platform	[29]
Metabolomanalyser	[30]

PLA = proximity ligation assay.

## KONKLUSION

Til trods for en intensiv forskningsindsats har ingen enkeltmarkør i hverken blod eller afføring tilstrækkelig kvalitet til at udgøre en ideel screeningsmarkør for KRC. Behovet for en metode, hvormed man nemt og effektivt kan identificere personer med forhøjet risiko for KRC, er stort, og nye måder at kombinere analyser på må derfor overvejes.

P.t. er flere nationale og internationale projekter initieret til validering af *risk assessment evaluation* (RAE) til screening for KRC. RAE er en individualiseret risikovurdering baseret på en matematisk/statistisk modellering, der inddrager flere markøranalyser for KRC samt demografiske og kliniske parametre for det enkelte individ [9]. Baggrunden for dette er, at der er påvist forhøjede niveauer af specifikke markører i blodet hos patienter med kroniske lidelser såsom diabetes, kronisk obstruktiv lungesygdom og astma [21]. En stor del af en screeningsbefolkning må forventes at lide af en eller flere af disse livsstilssygdomme. Værdien af specifikke markører skal derfor justeres for komorbiditet for at sikre et mere sandt udtryk for den enkeltes risiko for KRC. Desuden er det kendt, at demografiske parametre som alder, køn og race spiller en rolle for udviklingen af KRC, og disse bør medinddrages i risikovurderingen. En af styrkerne ved RAE er muligheden for vedvarende forbedring af den matematiske/statistiske modellering med kontinuerlig inddragelse af nye markører, efterhånden som de identificeres.

**ANTAGET:** 3. december 2013

**PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK:** 10. marts 2014

**INTERESSEKONFLIKTER:** Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

#### LITTERATUR

- www.ssi.dk/Sundhedsdataogit/Registre/~~/media/Indhold/DK%20-%20dansk/Sundhedsdata%20og%20it/NSF/Registre/Cancerregisteret/Cancerregisteret%202011.aspx (1. sep 2013).
- Jamal A, Bray F, Center MM et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011;61:69-90.
- Garborg K, Holme Ø, Løberg M et al. Current status of screening for colorectal cancer. *Ann Oncol* 25. apr 2013 (epub ahead of print).
- Whitlock P, Lin JS, Liles E et al. Screening for colorectal cancer: a targeted, updated systematic review for the U.S. prevention services task force. *Ann Intern Med* 2008;149:638-58.
- Atkin WS, Edwards R, Kralj-Hans I et al. Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicenter randomised controlled trial. *Lancet* 2010;375:1624-33.
- Lucendo AJ, Guagnozzi D, Angueira T et al. The relationship between proximal and distal colonic adenomas: is screening sigmoidoscopy enough in the presence of a changing epidemiology? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013;25:973-80.
- Screening for tarmkræft i Vejle og Københavns Amter. Tværgående evaluering af pilotprojekter. København: Region Hovedstaden, Forskningscenter for forebyggelse og sundhed, 2005-2006.
- van Rossum LG, van Rijn AF, Laheij RJ et al. Random comparison of guaiac and immunochemical fecal occult blood tests for colorectal cancer in a screening population. *Gastroenterology* 2008;135:82-90.
- Nielsen HJ, Jakobsen KV, Christensen U et al. Screening for colorectal cancer: possible improvements by risk assessment evaluation. *Scand J Gastroenterol* 2011;46:1283-94.
- Whitlock EP, Lin JS, Liles E et al. Screening for colorectal cancer: a targeted, updated systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2008;149:638-58.
- van Rossum LG, van Rijn AF, van Oijen MG et al. False negative fecal occult blood test due to delayed sample return in colorectal cancer screening. *Int J Cancer* 2009;125:746-50.
- Kronborg O, Jørgensen D, Fenger C et al. Randomized study of biennial screening with a faecal occult blood test: results after nine screening rounds. *Scand J Gastroenterol* 2004;9:846-51.
- www.sst.dk/publ/Publ2008/MTV/screening\_tarmkraeft/MTV\_tarmkraeft\_net\_final\_version2.pdf (1. sep 2013).
- Brenner H, Tao S. Superior diagnostic performance of faecal immunochemical tests for haemoglobin in a head-to-head comparison with guaiac based faecal occult blood test among 2235 participants of screening colonoscopy. *Eur J Cancer* 2013;49:3049-54.
- Berger BM, Ahlquist DA. Stool DNA screening for colorectal neoplasia: biological and technical basis for high detection rates. *Pathology* 2012;44:80-8.
- Ahlquist DA, Zou H, Domanico M et al. Next-generation stool DNA test accurately detects colorectal cancer and large adenomas. *Gastroenterology* 2012;142:248-56.
- Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH et al. Fecal DNA versus fecal occult blood test (FOBT) screening in an average-risk population. *N Eng J Med* 2004;351:2704-14.
- Heichman KA, Warren JD. DNA methylation biomarkers and their utility for solid cancer diagnostics. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:1707-21.
- Church RT, Wandell M, Lofton-Day C et al. Prospective evaluation of methylated SEPT9 in plasma for detection of asymptomatic colorectal cancer. *Gut* 13. feb 2013 (epub ahead of print).
- Holten-Andersen MN, Christensen U, Nielsen HJ et al. Total levels of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 in plasma yield high diagnostic sensitivity and specificity in patients with colon cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:556-64.
- Nielsen HJ, Brünner N, Jørgensen LN et al. Plasma TIMP-1 and CEA in detection of primary colorectal cancer: a prospective, population based study of 4509 high-risk individuals. *Scand J Gastroenterol* 2011;46:60-9.
- Luo X, Stock C, Burwinkel B et al. Identification and evaluation of plasma micro-RNAs for early detection of colorectal cancer. *PLoS One* 2013;8:e62880.
- Diehl F, Dressman D, He Y et al. Detection and quantification of mutations in the plasma of patients with colorectal tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:16368-73.
- Spindler KL, Pallisgaard N, Vogelius I et al. Quantitative cell-free DNA, KRAS, and BRAF mutations in plasma from patients with metastatic colorectal cancer during treatment with cetuximab and irinotecan. *Clin Cancer Res* 2012;18:1177-85.
- Lomholt AF, Christensen U, Høyer-Hansen G et al. Prognostic value of intact and cleaved forms of the urokinase plasminogen activator receptor in a retrospective study of 518 colorectal cancer patients. *Acta Oncol* 2010;49:805-11.
- Barrow H, Rhodes JM, Yu LG. The role of galectins in colorectal cancer progression. *Int J Cancer* 2011;129:1-8.
- Vizin T, Christensen U, Nielsen HJ et al. Cathepsin X in serum from patients with colorectal cancer: relations to prognosis. *Radiol Oncol* 2012;46:207-12.
- Haberman JK, Roblick UJ, Luke BT et al. Increased serum levels of complement

C3a anaphylatoxin indicate the presence of colorectal tumors. *Gastroenterology* 2006;131:1020-9.

- Lundberg M, Thorsen SB, Assarsson E et al. Multiplexed homogeneous proximity ligation assays for high-throughput protein biomarker research in serological material. *Nucleic Acids Res* 2011;39:e102 doi 10.1093/nar/gkr424.
- Bro R, Nielsen HJ, Savorani F et al. Data fusion in metabolomic cancer diagnostics. *Metabolomics* 2013;9:3-8.



#### PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK 23. JUNI 2014

##### Kolektomi hos en patient med pneumatosis coli

*Stine Karlsen, Sidse Bregendahl, Anders Tøttrup et al*

##### Vejledning om vægttab til patienter med hjerteinsufficiens er komplekst

*Ulla Bach & Albert Marni Joensen*

##### Anlægsbærere for fragilt X-syndrom kan udvide et bredt spektrum af kliniske manifestationer

*Aia Elise Jønch, Karen Grønsvov, Jytte Merete Carlsen Lunding et al*

##### Alvorlige bivirkninger ved p-pillebrug hos teenagere

*Malin Chatarina Nylander & Helle V. Clausen*

##### Casestudie viser, at patienter med kræft benytter forløbskoordinatorfunktionen forskelligt

*Stine Finne Jakobsen, Anne Bjerrum, Tanja Le Grønberg et al*



#### PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK 16. JUNI 2014

##### Væksthormonmangel hos børn

*Jon Nielsen, Rikke Beck Jensen & Anders Juul*

##### Malignt melanom med metastaser til hjertet

*Martin Frydland, Hanne Elming & Ole Ahlehoff*

##### Malabsorption efter fedmekirurgikan øge komplikationsraten ved efterfølgende plastikkirurgisk korrektion

*Emir Hasanbegovic & Jens Ahm Sørensen*

##### National konsensus om krav til kompetenceniveau i transtorakal ekkokardiografi

*Dorte Guldbrand Nielsen, Ulrik Markus Mortensen & Sabine Gill*

##### Inkomplet Kawasaki syndrom med koronaraneurisme hos et spædbarn

*Rebecca Kofod Vinding, Nanette Mol Debes, Hristo Stantchev et al*

##### Rabdomyolyse hos en veltrænet kvinde efter uvant type intens træning

*Christian Larsen & Mogens Pfeiffer Jensen*