

Morgen U-5HIAA vs. 24 timers U5-HIAA:

Nytteverdi innen diagnostikk og oppfølging av pasienter med SI-NETs



Av Andreas Myklebust Tjølsen

Veiledere: Deidi Ann Bergestuen og Lars Aabakken

Prosjektoppgave ved det medisinske fakultet

Universitetet i Oslo

2011

Innholdsfortegnelse

Abstract	3
1. Introduksjon	4
2. SI-NETs: symptomer og klinikk	5
3. Karsinoid syndrom	6
3.1 Flushing	6
3.2 Diaré	7
3.3 Karsinoid hjertesykdom	7
3.4 Andre kardiovaskulære komplikasjoner	8
3.5 Bronkospasme	8
3.6 Pellagra	8
4. Serotonin	8
5. Diagnostikk – 5-HIAAs rolle	10
5.1 24 timers U5-HIAA	11
6. Studien – materiale og metode	13
6.1 Mål	13
6.2 Pasienter	13
6.3 Innsamling av urinprøver	13
6.4 Analyse av urinprøver	14
6.5 Etikk	14
6.6 Statistikk	14
7. Resultater	15
7.1 Pasient karakteristika	15
7.2 Morgenurin vs. 24 timers måling av U5-HIAA	15
8. Diskusjon	16
8.1 Konklusjon	17
Referanser	19

Abstract

Background/Aims: Carcinoid syndrome (flushing, diarrhea, carcinoid heart disease and bronchospasm) is a complication of small intestinal neuroendocrine tumors (SI-NETs). These rare tumors often have metastasized to the liver at time of diagnosis. Vasoactive substances produced by these tumors are responsible for the syndrome, serotonin being the most important. 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA), the degradation product of serotonin, measured in a 24 hour urine sample is considered the cornerstone for diagnosis and follow up in patients with carcinoid syndrome. This test is troublesome for both patients and health care professionals. In this study, we wanted to investigate if urine collected over a shorter interval can replace 24 hour urine sampling.

Patients and methods: Urine samples obtained from 34 patients were analyzed using High-performance liquid chromatography. All patients had two paired urine samples, one morning sample and one 24 hour sample, collected the same day. The morning samples were taken from the overnight collection of urine (8 hours) obtained during the 24 hour collection.

Results: Median collection time for the morning sample was 8.3 hours [7 – 10 hours]. Morning U5-HIAA values were compared to 24 hour U5-HIAA, and no difference was found (Wilcoxon's signed rank test, $P=0.446$). There was also a significant correlation between the two samples by linear regression ($R=0.973$, $P<0.001$).

Conclusion: U-5HIAA sample collected during a nightly interval of approximately 8 hours, may replace the long established 24 hour collection for diagnosis and follow-up in patients with SI-NETs.

1. Introduksjon:

Gastroenteropankreatiske neuroendokrine tumorer (GEP-NETs) er betegnelsen på en sjelden heterogen tumorgruppe som har sitt opphav i pankreas og mage-tarmkanalens neuroendokrine system [1]. De fleste neuroendokrine tumorer har endokrine funksjoner og skiller ut substanser som kan gi et bredt spekter av symptomer og kliniske syndromer avhengig av hvilken celletype de utgår fra, men de kan og være klinisk stumme inntil sen presentasjon på grunn av tumors masse-effekt [2].

Neuroendokrine tumorer i tynntarm (SI-NET) er den vanligste typen og utgjør 38 % av GEP-NETs og 21 % av alle neuroendokrine tumorer. Den er også den hyppigste form for malign tynntarmskreft. 50 % av SI-NETs oppstår i ileum [3,4]. Den årlige insidensen er, ifølge den nyeste vurdering av SEER databasen (USA), 0.95/100 000 [1]. Lignende resultater har blitt rapportert i en populasjons-basert studie fra Norge som inkluderte 528 tilfeller av SI-NETs [5]. De kan oppstå i alle aldre, men diagnostiseres som regel rundt 60 års alder, noe hyppigere hos menn enn hos kvinner [6].

SI-NETS er bedre kjent som klassiske karsinoide svulster grunnet tumors evne til å produsere serotonin og den kjente assosiasjonen til karsinoid syndrom som kan manifesteres med diaré, flushing, karsinoid hjertesykdom og bronkospasme [6]. Den medisinske termen karsinoid anses nå som gammeldags siden den refererer til en stor heterogen gruppe svulster som nå bedre klassifiseres som GEP-NETs [4]. Det var Oberndorfer som i 1907 først definerte tumoren som ”karzinoide” (karcinom-lignende) siden de virket å være mer benigne enn adenokarsinomer. Det at disse svulstene hadde endokrine egenskaper ble først beskrevet i 1914 av Gosset og Manson. I 1963 ble karsinoide svulster delt inn i ”fore-gut”(luftveier, ventrikkel, duodenum, gallesystemet og pancreas), ”mid-gut” (jejunum, ileum, appendix, cecum, proksimale kolon) og ”hind-gut” (distale kolon og rektum) etter deres embryologiske opphav. Nyere studier definerer nå SI-NETs som svulster i duodenum, jejunum og ileum [3,4], selv om NETs i duodenum oppfører seg klinisk annerledes enn NETs i andre deler av tynntarm [7]. Nyere WHO og TNM klassifisering baseres også nå mer på det aktuelle sted der tumor oppstår [1,3]. WHO deler de igjen inn, i likhet med andre GEP NETs, i tre generelle kategorier [8]:

(1) veldifferensiert endokrin tumor (karsinoid), (2) veldifferensiert endokrint karsinom og (3) lavt differensiert endokrint karsinom.

De fleste SI-NETs er veldifferensierte endokrine tumorer og oppstår først og fremst i terminale ileum innenfor 80 cm fra ileocøkkalklaffen [6,8]. De utgår fra såkalte gastrointestinale EC (enterokromaffine) celler med evne til å produsere en rekke forskjellige vasoaktive substanser der serotonin er den viktigste både med tanke på symptomer og diagnostikk [9,10].

2. SI-NETs: Symptomer og klinikk

Klinisk diagnostikk av SI-NETs er en stor utfordring på grunn av det brede spekter av mulig symptomatologi. Differensialdiagnosene er mange, og stiller store krav til klinikerne.

Diagnosen blir ofte stilt tilfeldig under utredning og behandling av andre medisinske eller gastrointestinale plager. Når symptomer først oppstår er de som regel en følge av enten tumors masse-effekt, tumor induert fibrose eller sekresjonen av vasoaktive substanser [7].

SI-NETs kan være subkliniske gjennom mange år, og sakte men sikkert invadere tynntarmveggen uten å affisere peristaltikk eller gi smerter. Vedvarende vekst av tumor vil vanligvis gi diffuse abdominale symptomer som milde smerter og intermitterende obstruksjon som kan forsinke diagnosen betraktelig. Etter hvert som tumor invaderer tarmveggen og sprer seg til regionale lymfeknuter kan peritumoral fibrose utvikles, noe som er et karakteristisk tegn ved spredning av denne type svulst [11]. Lokalt vil dette føre til adhesjoner og mulig ileus [8]. Fibrose rundt mesenterielle metastaser kan føre til fiksering av mesenteriet til retroperitoneum med hydronefrose og nyresvikt sekundært til ureterstenose, eller tarmiskemi som følge av fiksering av kar [7]. Patogenesen ved denne fibroseutviklingen er ikke helt klar. Man trodde lenge at serotonin var den utløsende faktoren, men etter at serotoninantagonister viste seg å ikke hemme videre fibroseutvikling ble det sådd tvil om denne hypotesen. I det siste har en rekke andre faktorer som ulike ”growth factors” blitt foreslått som medvirkende faktorer [12].

Med videre sykdomsprogresjon vil SI-NETs ofte metastasere til lever [6], og ikke sjelden blir diagnosen først stilt etter et tilfeldig funn av levermetastaser under utredning for andre

tilstander [11]. Det er derfor karakteristisk at denne type svulster ofte er på et avansert stadium ved diagnosetidspunktet [7]. SI-NETs er de neuroendokrine svulster som har størst evne til å produsere serotonin, og er derfor den hyppigste GEP-NET som er assosiert med karsinoid syndrom [10]. Det er først når tumor har metastasert til lever at de systemiske effektene av tumors evne til å produsere vasoaktive substanser virkelig gjør seg gjeldene. Normalt vil serotonin, produsert av de enterokromaffine tumorcellene lokalt, bli fraktet til lever og metabolisert til 5-HIAA som skilles ut med urin. Når serotonin når den systemiske sirkulasjonen uten å gjennomgå første-passasje metabolisme i lever oppstår de kliniske fenomenene man ser ved karsinoid syndrom [10]. Syndromet er også sett ved retroperitoneale og ovariale metastaser, men felles for de er at serotonin og andre substanser kan nå den systemiske sirkulasjonen uten å metaboliseres i lever [6,8].

3. Karsinoid syndrom

SI-NETs er den tilstand som hyppigst fører til karsinoid syndrom med behov for medisinsk og kirurgisk behandling [6], og syndromet er rapportert å forekomme hos opp til 10-18 % av pasienter med levermetastaser som følge av SI-NETs [7,8]. Sjelden er alle symptomene til stede samtidig, og forekomsten av karsinoid syndrom er derfor avhengig av hvordan syndromet defineres [3]. Diaré og flushing er de vanligste symptomene, og er rapportert å forekomme hos 52-75 % av pasientene med SI-NETs [3,7]. Syndromet er en følge av tumorprodusert utskillelse av hormonelt aktive substanser som bl.a. serotonin, bradykinin, prostaglandin, katekolaminer, substans P og takykininer [2,7,10,11]. Syndromet kan skape differentialdiagnostisk frustrasjon og forsinket diagnose som følge av de mange symptomene og kliniske tilstandene som vil bli presentert.

3.1 Flushing

Dette er ett av de vanligste symptomene og er antatt å forekomme hos 80 % av pasienter med karsinoid syndrom [10]. Med flushing menes periodevis rødme av huden i ansikt og øvre del av truncus. Episodene kan initialt vare fra 10-30 minutter og kan bli initiert av inntak av blant annet alkohol, sjokolade og banan. Etter hvert kan episodene komme hyppigere, eventuelt med teleangiectasier, og kan dermed bli forvekslet med rosacea. Hva som trigger disse episodene er ikke helt klart, men serotonin og kallikrein er mulige mediatorer [9,13].

Somatostatinanaloger som oktreotid (Sandostatin) har i lang tid blitt brukt til behandling av karsinoid syndrom, grunnet deres inhibitoriske evne på blant annet serotoninproduksjon [6]. Det at somatostatin analog terapi ikke har spesielt god behandlingseffekt på flushingsymptomene, kan tyde på at andre mediatorer enn serotonin er med i patogenesisen [14].

3.2 Diaré

Diaré er i likhet med flushing et svært vanlig symptom og kan ha mange årsaker. Serotonin er den viktigste faktoren grunnet dens fysiologiske rolle i sekresjon og motilitetsregulering først og fremst i tynntarm og proksimale kolon. Andre faktorer som motilin, kallikrein, substans P, histamin og takykinner kan også bidra i patogenesisen av ”karsinoid diaré”. Bakteriell overvekst og tarmiskemi er også blitt foreslått som mulige årsaker til dette symptomet. Diareen er ofte vandig og eksplosiv og kan få store konsekvenser for pasienters sosiale liv [9,10,11].

3.3 Karsinoid hjertesykdom

Karsinoid hjertesykdom oppstår hos 35-70 % av pasienter med karsinoid syndrom [15], og er karakterisert av plakkliggende endokardlesjoner i høyre hjertehalvdel [16]. Nyere studier har vist en mulig reduksjon i forekomsten av karsinoid hjertesykdom. Bhattacharrya et al. [17] identifiserte karsinoid hjertesykdom hos 20 % i en prospektiv screening av 150 pasienter med karsinoid syndrom. Tidligere diagnose og bedre behandlingsmuligheter av SI-NETs er en mulig forklaring for den reduserte forekomsten. Venstresidig affeksjon er sjelden siden endotelet i lungene kan metabolisere serotonin til 5-HIAA, men kan forekomme ved åpenstående foramen ovale eller svært høye serotonininspeil så lungenes metabolske evne overskrides. Den vanligste manifestasjonen er insuffisiens av trikuspidalklaffen, sjeldnere affeksjon av pulmonalklaffen, med høyresidig hjertesvikt som følge [10,15]. Patogenesisen ved karsinoid hjertesykdom er ikke helt klarlagt. Selv om flere funn peker i retning av serotonin, er det også funnet mange andre faktorer som kan bidra. I dyreforsøk er det vist at langvarig administrering av serotonin kan gi fibroseutvikling lik de man ser ved karsinoid hjertesykdom. Medikamenter med serotonerge effekter har blitt trukket fra markedet av samme grunn[16]. Flere studier har også vist at pasienter med karsinoid hjertesykdom har høye verdier av 5-HIAA i urin sammenlignet med pasienter uten karsinoid

hjertesykdom[16,18]. Somatostatinanaloger, brukt for å redusere sirkulerende nivåer av serotonin, hindrer ikke alltid utvikling eller progresjon av manifest hjerteaffeksjon noe som kan tyde på at andre faktorer kan bidra [15].

3.4 Andre kardiovaskulære komplikasjoner

Hos pasienter med karsinoid syndrom er det også beskrevet ustabil hjerterytme, tegn på autonom dysfunksjon og hypertensjon. Katekolaminer, produsert av primærtumor eller metastaser hos rundt 40 % av pasientene, blir holdt ansvarlig for dette. Tarmiskemi, også nevnt tidligere i forbindelse med fibroseutvikling, er en annen vaskulær komplikasjon. Serotonin, histamin og bradykinin er blitt postulert som mulige mediatorer i utviklingen av såkalt elastisk vaskulær sklerose, en proliferasjon av elastiske fibre i veggen av mesenterielle kar [10].

3.5 Bronkospasme

Dette symptomet er mer sjelden enn tidligere antatt. Patogenesen er ukjent og symptomet oppstår ofte i forbindelse med flushing [10].

3.6 Pellagra

Pellagra er et symptomkompleks bestående av dermatitt, demens og diaré og er en følge av niacinmangel [19]. Sammenhengen med karsinoid syndrom forklares ved at EC tumorceller forbruker tryptofan, som er forstadiet både til serotonin og niacin. Serotoninproduserende NETs kan forbruke opp til 60 % av kroppens totale innhold av tryptofan. Prevalensen av pellagra hos pasienter med karsinoid syndrom er omtrent 5 % [10], og hovedsakelig sett hos pasienter med utbredte metastaser [12].

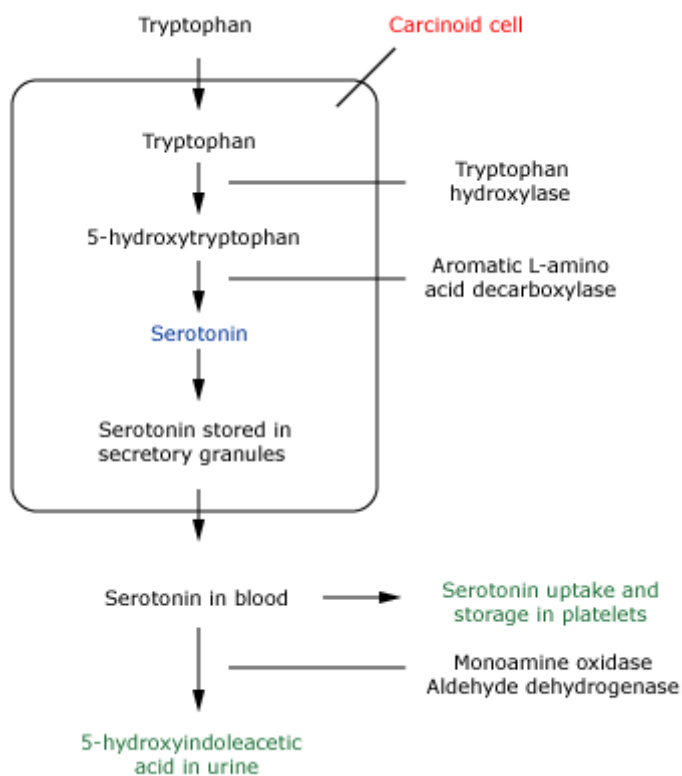
4. Serotonin

Serotonin (5-hydroxytryptamin) blir syntetisert fra aminosyren tryptofan. Tryptofan er en essensiell aminosyre og må derfor tilføres med kosten for å opprettholde normal proteinsyntese, og for at fysiologiske prosesser der serotonin inngår skal fungere optimalt

[20]. Serotonin blir produsert i all hovedsak i enterokromaffine celler i gastrointestinaltraktus [21], men også i serotonerge neuroner i sentralnervesystemet [22]. Hydroksylering av tryptofan til 5-hydroxytryptofan (5-HTP), via tryptofan hydroxylase, er det første steget i syntesen. 5-HTP dekarboksyleres så til serotonin via enzymet aromatisk-L-aminosyre dekarboksyylase [20].

Serotonin skilles så ut i blodet under stimuli fra blant annet acetylkolin, noradrenerge neuroner, økt intraluminalt tarmtrykk og ved lav pH i tarmlumen. 95 % av serotonin i plasma blir tatt opp og lagret i trombocytter ved både aktive og passive mekanismer. Leveren og lungene er ansvarlig for videre nedbrytning og metabolisme av serotonin, og har stor evne til økt kapasitet i forbindelse med økte serotoninkonsentrasjoner. 5-hydroxyindoleddiksyre (5-HIAA) dannes via to enzymatiske steg (monoamin oksidase og aldehyd dehydrogenase) og skilles ut i urin [21].

Hos friske mennesker vil kun 1 % av tryptofan fra kosten bli metabolisert til serotonin. Hos pasienter med karsinoid syndrom kan denne andelen økes til rundt 70 % avhengig av tumorstørrelse, noe som resulterer i økt ekskresjon av 5-HIAA i urin [22].



5. Diagnostikk – 5-HIAAs rolle

Biokjemisk diagnose og oppfølging av SI-NETs og karsinoid syndrom baserer seg blant annet på 24-timers måling av 5-HIAA i urin siden den reflekterer tumors serotoninproduksjon [6,7]. Når de kliniske manifestasjonene på karsinoid syndrom er tilstede, og forholdsregler med tanke på mat og medikamenter er tatt, har denne testen en sensitivitet på 65-85 %, mens spesifisiteten kan nå 100 % [14]. SI-NETs er de neuroendokrine svulster som hyppigst er serotoninproduserende med karsinoid syndrom som følge, noe som gjenspeiler den høye spesifisiteten. Sensitiviteten er mindre hos pasienter uten karsinoid syndrom, da 5-HIAA verdier i urin kan være normale hos pasienter med SI-NETs uten levermetastaser [23]. Neuroendokrine svulster oppstått i den embryologiske fortarm produserer ofte mindre serotonin og kan mangle enzymet til å omdanne 5-HTP til serotonin. Dette enzymet finnes derimot i nyrene, noe som har gitt forhøyede verdier av serotonin i urin, men ikke 5-HIAA, hos pasienter med NETs i fortarm. Serotonin i urin har dermed blitt foreslått som en mulig diagnostisk markør for denne type svulster [11,24]. Hos pasienter med NETs i baktarm har 5-HIAA lav diagnostisk evne siden disse sjelden er ”biokjemisk aktive” [10]. Testens evne til å verifisere SI-NETs avhenger og av hvilke ”cut-off” verdier man setter for 5-HIAA utskillelse i urin. Meijer et al. [24] viste at lav cut-off verdi (2.8 mmol/mol kreatinin) ga en sensitivitet på 68 %, og en spesifisitet på 89 %. En høy cut-off verdi (6.7 mmol/mol kreatinin) ga derimot en høy spesifisitet (98 %) på bekostning av sensitivitet (52 %). Så for å sikkert utelukke en serotoninproduserende tumor er en lav cut-off verdi å foretrekke, mens for å bekrefte en slik tumor er en høy cut-off verdi det beste.

Flere studier har og vist at verdiene av 5-HIAA i urin sier noe om prognose og alvorlighetsgrad av karsinoide symptomer. Høye verdier er forbundet med økt dødelighet og spesielt utvikling av karsinoid hjertesykdom som nevnt tidligere [3, 15].

24 timers urinmåling kan være strevsomt både for pasienter og helsepersonell. Av den grunn har det derfor blitt presentert andre metoder for å måle tumors serotoninproduksjon, som kan gjøre diagnostikk og oppfølging enklere. Dog er mange av disse analysene ikke tilgjengelige

ved laboratorier i samme grad som urin 5-HIAA, og kan være mer teknisk krevende å analysere [25].

Carling et al. [25] sammenlignet serotonin i blod, plasma 5-HIAA og 24 timers U5-HIAA hos 26 pasienter med NET (24 SI-NET). De fant ingen klare forskjeller i testenes diagnostiske evne, men at plasma 5-HIAA muligens kan benyttes istedenfor 24 timers urinmåling på bakgrunn av testens tidsbesparende evner.

Meijer et al. [24] sammenlignet 24 timers U5-HIAA og serotonin i trombocytter og i urin hos 98 pasienter med NET (52 SI-NET). For NETs generelt ble serotonin i trombocytter funnet å være den beste diagnostiske testen for tumorer med lav serotoninproduksjon. Dessuten er denne testen ikke påvirket av visse matvarer (se under). U5-HIAA ble funnet til å være mer egnet til oppfølging av pasienter med stor serotoninproduksjon som gjelder for de fleste SI-NETs med karsinoid syndrom. Grunnlaget for denne konklusjonen er at serotonin i trombocytter følger metningskinetikk med en øvre grense for hva som er mulig å måle, mens 5-HIAA i urin representerer et metabolsk endeprodukt med ubegrenset kapasitet.

5.1 24 timers urin 5-HIAA

24 timers måling av U5-HIAA setter høye krav til nøyaktighet, og krever en motivert pasient. All urin fra de siste 24 timer skal samles i en plastbeholder, og tilsettes syre for å sikre sterilitet og stabilitet. Prøven skal så oppbevares i kjøleskap inntil analyse [23]. 24 timers måling er i dagens medisin antatt å være nødvendig for å unngå å overse tumor hvis utskillelsen er paroksysmal eller viser døgnvariasjon [26]. Den individuelle variasjonen i utskillelse av U5-HIAA kan være høy. Derfor er ofte gjennomsnittet av to etterfølgende 24 timers målinger anbefalt for diagnose, mens en måling ofte er adekvat for oppfølging av SI-NETs [23].

Det er også flere andre faktorer, som matvarer og medikamenter, man må ta hensyn til når man skal vurderer 5-HIAA i urin. Disse kan gi både falskt lave eller falsk forhøyede verdier av urinmetaboliten. Det er viktig å instruere pasienten om å unngå disse i 3 dager før, og gjennom hele døgnet urinen samles [12]. Skriftlig informasjon er ofte nødvendig for å unngå feilvurderinger [23].

Falsk forhøyede verdier kan ses ved inntak av matvarer med stort serotonininnhold som plommer, avokado, bananer, kiwi, valnøtter, ananas, tomatprodukter, auberginer, sjokolade, vanilje, te og kaffe [12, 22, 23]. Når det gjelder medikamenter må man ta høyde både for falsk lave og falsk høye verdier. Eksempler på aktuelle medikamenter er gjengitt under [12,14,23].

Medikamenter som kan gi falsk høy U5-HIAA:

- Paracetamol
- Fluoruracil
- Phenacetin
- Naproxen
- Metocarbamol
- Cisplatin
- Acetanilide
- Reserpine
- Warfarin
- Nikotin

Medikamenter som kan gi falsk lav U5-HIAA

- Klorpromazine
- Heparin
- Acetylsalisylsyre
- Isoniazid
- Levodopa/metyldopa
- MAO inhibitorer
- Tricykliske antidepressive
- Moclobemide
- Octreotide

Det er og beskrevet avvikende resultater i forbindelse med sykdommer og andre medisinske tilstander. Falsk lave verdier er registrert hos pasienter med nyresvikt eller de som behandles med hemodialyse, mens falskt forhøyede verdier kan ses hos pasienter med malabsorpsjon, cøliaki, whipples sykdom, intestinal stase og cystisk fibrose [23].

6. Studien – materiale og metode

6.1 Mål

Målet med denne studien er å vurdere om U5-HIAA tatt om morgenen etter et 8 timers innsamlingsintervall kan erstatte den tradisjonelle 24 timers målingen av U5-HIAA for diagnostikk og oppfølging av pasienter med SI-NETs.

6.2 Pasienter

92 pasienter med NETs i tynntarm (n=89), appendiks (n=2) og proksimale kolon (n=1) henvist til Oslo Universitetssykehus, Rikshospitalet, mellom 1. september 2006 og 1. september 2007 ble gjennomgått retrospektivt. Disse pasientene ble inkludert i en studie for å undersøke plasmafaktorer assosiert med karsinoid hjertesykdom hos pasienter med NETs. Som ledd i utredningen fikk de og målt urinutskillelsen av 5-HIAA. Målsetningen med denne understudien var å identifisere de pasientene som fikk utført både 24 timer måling og morgenmåling av U5-HIAA, og sammenligne disse verdiene mot hverandre. 37 pasienter ble identifisert, men 3 ble ekskludert grunnet feil i urinanalysen. 34 pasienter ble dermed inkludert i studien.

6.3 Innsamling av urinprøver

Morgenurinen ble samlet inn, og representerte nattlig urinproduksjon/nattlig vannlating. Målsettingen var at morgenurinen skulle tilsvare urinvolumen produsert over et nattlig intervall på 8 timer. Et intervall som er sammenlignbart med Zuetenhorst et al. [27] sin studie med samme problemstilling, der urin ble samlet inn mellom 23.00-07.00. Av denne morgenurinen ble det tatt ett lite volum for analyse. Overskuddsurinen fra denne innsamlingen, sammen med totalt urinvolum for det aktuelle døgnet, utgjorde urinvolumet for 24 timers verdien. Morgenurinen ble samlet i plastbeholdere og titrert til pH 4 ved hjelp av 6 mol HCL. 24 timers målingen ble samlet i egne plastbeholdere tilsatt 10 ml 2 mol HCL, også disse ble titrert til pH 4 før analyse.

6.4 Analyse av urinprøver

Verdiene for både morgen og 24 timers U5-HIAA er uttrykt som $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatinin, målt med HPLC (High-performance liquid chromatography) med elektrokjemisk deteksjon ved hjelp av reagens/kit produsert av Chromsystems (München, Tyskland).

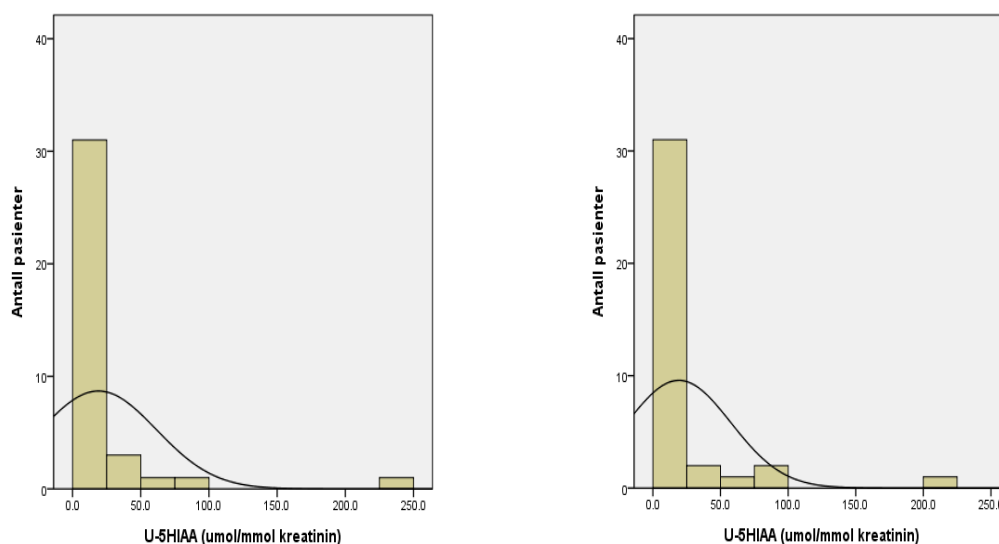
6.5 Etikk

Den opprinnelige studien var i overensstemmelse med Helsinki deklarasjonen (2000 World Medical Association), og var godkjent av både Rikshospitalets personvernombud og den regionale etiske komité for forskning. Alle de inkluderte pasientene ga skriftlig samtykke til at kliniske opplysninger også kunne brukes i senere studier.

6.6 Statistikk

Resultatene er angitt som median [range] hvis ikke annet er presisert. Siden verdiene ikke var normalfordelte (figur 1) ble Related-Samples Wilcoxon Signed Rank Test brukt for å sammenligne de aktuelle prøvesettene mot hverandre. $P < 0.05$ ble regnet som en signifikant forskjell mellom målingene. I spredningsdiagrammet, som illustrerer den lineære regresjonsanalysen, ble verdiene for både morgenurin og 24 timers målingen omregnet til de respektive Ln (e) verdiene. De statistiske analysene ble utført ved hjelp av SPSS 18.0 software (SPSS Inc. Chicago, Ill., USA).

Figur 1. Fordelingskurve for 24 timers U5-HIAA (venstre) og morgen U5-HIAA (høyre).



7. Resultater

7.1 Pasient karakteristika

17 kvinner og 17 menn med en median alder 58 [18 – 76] ble inkludert i studien (tabell 1). 4 pasienter hadde fått utført begge målingene to ganger, så i alt forelå 38 målesett som ble inkludert i analysen. 33 pasienter hadde SI-NET, mens 1 pasient hadde NET i appendiks. Denne pasienten var en 18 år gammel mann der tumor ble funnet tilfeldig under radikal operasjon for appendisitt. Median innsamlingstid for morgenurin var 8.3 timer [7.0-10.0], innsamlingstiden var ikke angitt for 3 av målingene.

Tabell 1.

Pasient karakteristika (n=34)

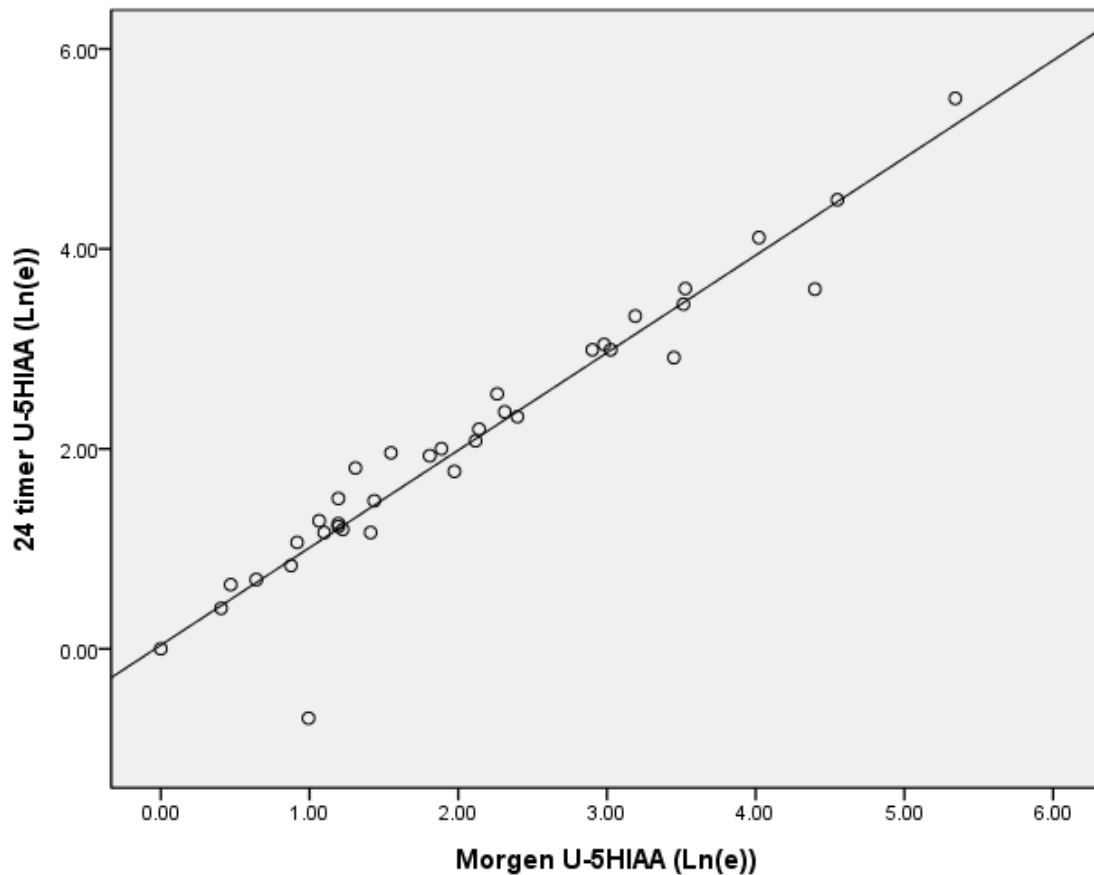
Alder, år	58 [18 - 76]
Kjønn (n)	
<i>Mann</i>	17
<i>Kvinne</i>	17
Primær tumor (n)	
<i>Tynntarm</i>	33
<i>Appendix</i>	1
U5-HIAA, µmol/mmol kreatinin	
<i>Morgen</i>	5.4 [1.0 - 209.0]
<i>24 timer</i>	6.5 [0.0 – 246.0]
Innsamlingtid for morgenurin, timer	8.3 [7.0 – 10.0]

7.2 Morgenurin vs. 24 timers måling av U5-HIAA

Verdiene for 24 timers U5-HIAA (median 6.5 [0.0-246.0] µmol/mmol kreatinin) ble sammenlignet med morgen U5-HIAA (median 5.4 [1.0-209.0] µmol/mmol kreatinin) ved hjelp av Wilcoxon's signed rank test. Det ble ikke funnet en signifikant forskjell mellom de respektive verdiene (P=0.446). Ved lineær regresjon (figur 2) fant vi en statistisk korrelasjon mellom 24 timers og morgenurin verdiene (R=0.973, P<0.001).

Figur 2.

Spredningsdiagram som viser korrelasjonen mellom den naturlige logaritmen til 24 timers og morgen U5-HIAA.



8. Diskusjon

Selv om 24 timers måling av U5-HIAA anses som nødvendig for å oppdage neuroendokrine tumorer, er det svært få publiserte artikler som beskriver døgnvariasjon i serotoninmetabolisme hos pasienter med SI-NETs og/eller karsinoid syndrom. Zuetenhorst et al. [27] utførte en slik studie på 26 pasienter med veldifferensierte NETs. Levermetastaser var tilstede hos 96 %, og 92 % viste symptomer på karsinoid syndrom. Målsetningen var å sammenligne variasjonen av U5-HIAA i løpet av dagen i relasjon til 24-timers måling. I denne studien ble urinprøver samlet inn ved 4 timers intervaller (07.00-11.00, 11.00-15.00, 15.00-19.00, 19.00-23.00) i løpet av dagen og et 8 timers intervall gjennom natten (23.00-

07.00). På basis av disse intervallene fant kunne de dele inn pasientene i en gruppe med stor variasjon (16 pasienter) og en gruppe med stabil ekskresjon av U5-HIAA (10 pasienter). I gruppen med stor variasjon representerte morgenintervallet (07.00-11.00) den perioden med størst ekskresjon, og kveldsintervallet (19.00-23.00) minst. For gruppen med lav variasjon var ekskresjonen av 5-HIAA stabil uten en klar topp i utskillelsen. For begge gruppene sett under ett var urinen samlet inn i løpet av natten den mest representative for 24 timers ekskresjon. På basis av dette ble det foreslått at urin samlet opp i løpet av natten kan benyttes istedenfor 24 timers måling i oppfølging av pasienter med NETs assosiert med karsinoid syndrom.

Lignende funn er vist av blant annet Singh et al. [28] som undersøkte daglig variasjon av U5-HIAA ekskresjon hos friske mennesker. 130 mennesker i aldergruppen 16-75 år deltok i studien der urin ble samlet inn ved 6 timers intervaller. De fant en statistisk signifikant døgnvariasjon i ekskresjon av U5-HIAA med størst utskillelse om morgenen mellom 06.00-12.00. Det var en tendens til at de eldre pasientene hadde en noe senere topp i maksimal ekskresjon enn de yngre, mulig grunnet økende forekomst av nyresvikt i denne gruppen. Kema et al. [29] derimot, fant ingen klare døgnvariasjoner i ekskresjon av U-5HIAA hos voksne mennesker basert på analyser av urinprøver med 12 timers intervaller.

Man vet lite om hva som regulerer serotoninmetabolismen i neuroendokrine svulster og hva som gir daglig variasjon i 5-HIAA produksjon. Symptomene på karsinoid syndrom er ofte mest uttalt om morgenen, forverret ved inntak av spesielle matvarer og ved fysisk aktivitet [27]. Det er svært lite informasjon om disse faktorenes innvirkning på serotoninmetabolisme og urin 5-HIAA ekskresjon i litteraturen. Zuetenhorst et al. [27] fant ingen sammenheng mellom magesmerter, flushing, eller fysisk aktivitet og ekskresjon av 5-HIAA i urin. De fant derimot en mulig sammenheng mellom U5-HIAA og konsistensen på avføringen. Pasienter med stor daglig variasjon i ekskresjonen av 5-HIAA hadde en økt tendens til vandig diaré. Det er derfor mulig at raske endringer i serotoninkonsentrasjonen er viktigere enn serotonin som selvstendig faktor. Hva som fører til de raske svingningene i hormonsekresjon hos noen pasienter med karsinoid syndrom er fremdeles uvisst.

8.1 Konklusjon

Neuroendokrine svulster i tynntarm (SI-NETs) er sjeldne, men representerer den hyppigste årsaken til karsinoid syndrom. Syndromet er en følge av tumorproduksjon av vasoaktive substanser, der serotonin blir ansett som den mest betydningsfulle. Symptomene er ofte

varierende og uspesifikke. Dette fører ofte til forsinket diagnose, og pasientene har derfor ofte avansert sykdom ved diagnosetidspunktet. Tradisjonelt har diagnostikk av denne type tumor basert seg på 24 timers måling av U5-HIAA, nedbrytningsproduktet av serotonin. Vi har i denne studien vist at urin samlet inn over et nattlig intervall på ca. 8 timer er representativt for 24 timers ekskresjon av U5-HIAA, noe som er forenelig med resultatet fra en tidligere studie med samme problemstilling. 24 timers urinmåling er tidkrevende og krever en samarbeidsvillig pasient. Resultatet fra denne studien kan være viktig for både pasienter og helsepersonell, ved å bidra til å gjøre diagnostikk og oppfølging av pasienter med SI-NETs enklere og mer tidsbesparende.

Takk til Deidi Ann Bergestuen for uvurderlig veiledning under arbeidet med denne oppgaven og med de statistiske analysene. Jeg vil og takke Lars Aabakken for hjelp med å komme i kontakt med de rette personene som gjorde denne oppgaven mulig.

Referanser

1. Øberg K, Åkerstrøm G, Rindi G, Jelic S. Neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010;21: 223-7.
2. Massironi S, Sciola V, Peracchi M, Ciafardini C, Spampatti MP, Conte D. Neuroendocrine tumors of the gastro-enteropancreatic system. *World J Gastroenterol* 2008;14:5377-84.
3. Bergestuen DS, Aabakken L, Holm K, Vatn M, Thiis-Evensen E. Small intestinal neuroendocrine tumors: prognostic factors and survival. *Scand J Gastroenterol.* 2009;44:1084-91.
4. Modlin IM, Champaneria MC, Chan AK, Kidd M. A three-decade analysis of 3,911 small intestinal neuroendocrine tumors: the rapid pace of no progress. *Am J Gastroenterol* 2007;102:1464-73.
5. Hauso Ø, Gustafsson BI, Kidd M, Waldum HL, Drozdov I, Chan AK, et al. Neuroendocrine tumor epidemiology: contrasting Norway and North America. *Cancer* 2008;113:2655-64.
6. Åkerstrøm G, Hellman P, Hessman O, Osmak L. Management of Midgut Carcinoids. *J Surg Oncol* 2005;89:161-9.
7. Modlin IM, Kidd M, Latich I, Zikusoka MN, Shapiro MD. Current status of gastrointestinal carcinoids. *Gastroenterology* 2005;128:1717-51
8. Eriksson B, Kløppel G, Krenning E, et al. Consensus guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine tumors – Well-differentiated jejunal-ileal tumor/carcinoma. *Neuroendocrinology* 2008;87:8-19.
9. Tomassetti P, Migliori M, Lalli S, Campana D, Tomassetti V, Corinaldesi R. Epidemiology, clinical features and diagnosis of gastroenteropancreatic endocrine tumours. *Ann Oncol* 2001;12:95-9.
10. van der Horst-Schrivers ANA, Wymega AN, Links TP, Willemse PHB, Kema IP, de Vries EGE. Complications of midgut carcinoid tumors and carcinoid syndrome. *Neuroendocrinology* 2004;80:28-32.
11. de Vries H, Verschueren RC, Willemse PH, Kema IP, de Vries EG. Diagnostic, surgical and medical aspect of the midgut carcinoids. *Cancer Treat Rev* 2002;28:11-25.
12. Aggarwal G, Obideen K, Webhi M. Carcinoid tumors: What should increase our suspicion? *Cleve Clin J Med* 2008;75:849-55.
13. Thiers BH, Sahn RE, Callen JP. Cutaneous Manifestations of Internal Malignancy. *CA Cancer J Clin* 2009;59:73-98
14. Beretta M, Cappellani A, Di Vita M, Beretta S, Nasti G, Bearz A, et al. Biomarkers in neuroendocrine tumors. *Front Biosci* 2010;2:332-42.
15. Bergestuen DA, Aakhus S. Hjertesykdom med sjelden årsak. *Tidsskr Nor Legeforen* 2009;129:191
16. Bhattacharyya S, Davar J, Dreyfus G, Caplin ME. Carcinoid heart disease. *Circulation* 2007;116:2860-5.
17. Bhattacharyya S, Toumpanakis C, Caplin ME, Davar J. Analysis of 150 patients with carcinoid syndrome seen in a single year at one institution in the first decade of the twenty-first century. *Am J Cardiol* 2008;101:378-81.
18. Zuetenhorst JM, Bonfrer JM, Korse CM, Bakker R, van Tinteren H, Taal BG. Carcinoid heart disease: the role of urinary 5-hydroxyindoleacetic acid excretion and plasma levels of atrial natriuretic peptide, transforming growth factor-beta and fibroblast growth factor. *Cancer* 2003;97:1609-15.

19. Hegyi J, Schwartz RA, Hegyi V. Pellagra: Dermatitis, dementia and diarrhea. *Int J Dermatol* 2004;43:1-5.
20. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry 3rd edition. Lippincott Williams & Wilkins 2005.
21. Kema IP, de Vries EG, Muskiet FA. Clinical chemistry of serotonin and metabolites. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2000;747:33-48.
22. Joy T, Walsh G, Tokmakejian S, Van Uum SH. Increase of urinary 5-hydroxyindoleacetic acid excretion but not serum chromogranin A following over-the-counter 5-hydroxytryptophan intake. *Can J Gastroenterol* 2008;22:49-53.
23. O'Toole D, Grossman A, Gross D, Delle Fave G, Barkmanova J, O'Connor J, et al. ENETS Consensus guidelines for the standards of care in neuroendocrine tumors: Biochemical markers. *Neuroendocrinology* 2009;90:194-202.
24. Meijer WG, Kema IP, Volmer M, Willemse PH, de Vries EG. Discriminating capacity of indole markers in the diagnosis of carcinoid tumors. *Clin Chem* 2000;46:1588-96.
25. Carling RS, Degg TJ, Allen KR, Bax NDS, Barth JH. Evaluation of whole blood serotonin and plasma and urine 5-hydroxyindole acetic acid in diagnosis of carcinoid disease. *Ann Clin Biochem* 2002;39:577-82.
26. Modlin IM, Latich I, Zikusoka M, Kidd M, Eick G, Chan AK. Gastrointestinal carcinoids: the evolution of diagnostic strategies. *J Clin Gastroenterol* 2006;40:572-82.
27. Zuetenhorst JM, Korse CM, Bonfrer JM, Peter E, Lamers CB, Taal BG. Daily cyclic changes in the urinary excretion of 5-hydroxyindoleacetic acid in patients with carcinoid tumors. *Clin Chem* 2004;50:1634-9.
28. Singh R, Singh RK, Madhi AA, Saxena SP, Cornelissen G, Halberg F. Circadian periodicity of urinary volume, creatinine and 5-hydroxyindole acetic acid excretion in healthy Indians. *Life Sci* 2000;66:209-14.
29. Kema IP, Schellings AM, Hoppenbrouwers CJ, Rutgers HM, de Vries EG, Muskiet FA. High performance liquid chromatographic profiling of tryptophan and related indoles in body fluids and tissues of carcinoid patients. *Clin Chim Acta* 1993;221:143-58.