

## Změny sérových hladin nádorových markerů u ovariálního karcinomu a benigních onemocnění

<sup>1</sup>Kučera R., <sup>2</sup>Presl J., <sup>1</sup>Topolčan O., <sup>2</sup>Novotný Z., <sup>1</sup>Fuchsová R., <sup>1</sup>Vrzalová J., <sup>2</sup>Betincová L., <sup>2</sup>Rokyta Z.

<sup>1</sup>Imunoanalytická laboratoř, FN a LF v Plzni, Univerzita Karlova v Praze

<sup>2</sup>Gynekologicko-porodnická klinika, Fakultní nemocnice v Plzni

### SOUHRN

*Cíl studie:* Sledování změn sérových hladin HE4, CA 125, CEA a CA 19-9 u ovariálního karcinomu a u onemocnění, která přicházejí v úvahu v diferenciální diagnóze.

*Typ studie:* Prospektivní studie

*Materiál a metody:* V období od června 2010 až do prosince 2011 bylo v Imunoanalytické laboratoři FN Plzeň vyšetřeno sérum 749 pacientek gynekologicko-porodnické kliniky s abnormálním nálezem v pánvi. Pacientky byly rozděleny do skupin podle diagnóz. U všech bylo stanoveno HE4 a CA 125 chemiluminiscenční metodou na přístroji Architect 1000i (Abbott, USA), CEA a CA 19-9 chemiluminiscenční metodou na přístroji Dxl 800 (Beckman Coulter, USA). Pro veškeré statistické výpočty byl použit statistický software SAS 9.2.

*Výsledky:* HE4 a CA 125 byly signifikantně zvýšeny u pacientek s histologicky potvrzeným karcinomem ovarií oproti všem ostatním pacientkám, (HE4 medián konc. 281 pmol/l, CA 125 medián konc. 249 IU/l). HE4 i CA125 byly velice nízké u pacientek s karcinomem ovarií v remisi. Border line tumory ovarií nevykázaly statisticky významné zvýšení žádného z nádorových markerů, který jsme v této studii sledovali. Pro diferenciální diagnostiku benigních a maligních nádorů ovarií je vhodné HE4 a CA 125 (shodně p-Value <0,0001). Změny hladin CEA a CA 19-9 mají význam pouze v individuálních případech, při statistickém porovnání neexistují signifikantní rozdíly.

*Závěr:* Sérové hladiny nádorových markerů HE4 a CA 125 byly významně zvýšené ve skupině maligního nádoru ovarií oproti benigním nádorům ovarií. Lze je tudíž použít pro diferenciální diagnostiku ovariálního karcinomu. Použití pro prvozáchyt se jeví nadějně, ale pro definitivní závěr bude nutné zpracovat větší soubor pacientek. U border line tumorů ovarií jsou sérové hladiny zvýšené jen ojediněle, a proto je zatím nelze využít diagnosticky. Nádorové markery CEA a CA 19-9 pro prvozáchyt ani diferenciální diagnostiku ovariálního karcinomu nejsou vhodné.

*Klíčová slova:* HE4, CA125, CEA, nádorový marker, ovariální karcinom

### SUMMARY

**Kučera R., Presl J., Topolčan O., Novotný Z., Fuchsová R., Vrzalová J., Betincová L., Rokyta Z.: Changes of serum levels of tumor markers in ovarian cancer and benign diseases**

*Objective:* Monitoring of changes in the serum levels of HE4, CA 125, CEA and CA 19 -9 in ovarian cancer and diseases that can be considered in the differential diagnosis.

*Design:* Prospective study

*Material and Methods:* In the period from June 2010 to December 2011 was in the Immunoanalytical laboratory, University Hospital Pilsen serum of 749 patients examined. These patients with abnormalities in the pelvis came from department of Gynecology and Obstetrics. Patients were divided into groups according to diagnosis. Serum levels of HE4, CA 125, CEA and CA 19-9 were measured in all samples. HE4 and CA 125 were measured using the chemiluminescent Architect 1000 instrument (Abbott, USA), CEA and CA 19-9 were measured using the chemiluminescent Dxl 800 instrument (Beckman Coulter, USA). Statistical software SAS 9.2 was used for all statistical analysis.

*Results:* HE4 and CA 125 reached higher levels in the group of patients with histologically confirmed ovarian cancer compared with all other groups of diagnoses (median HE4 conc. 281 pmol/l, median CA 125 conc. 249 IU/l). HE4 and CA125 were very low in patients with ovarian cancer in remission. Border line ovarian tumors did not show a statistically significant increase in any of the tumor markers, we observed in this study. Endometriosis did not increase the levels of tumor markers, which were used. For differential diagnosis of benign and malignant ovarian tumors are HE4 and CA 125 suitable (both p-Value <0.0001). Changes in levels of CEA and CA 19-9 in this statistical comparison were not significant.

*Conclusion:* Serum levels of tumor markers HE4 and CA 125 were significantly increased (p-Value <0.0001) in the group of malignant ovarian tumors compared with benign ovarian tumors. They can be used as an useful tool for differential diagnosis of ovarian cancer. Using for primary detection looks promising, but for the final conclusion will be necessary to handle a larger set of patients. Border line ovarian tumors show not an increase in serum tumor markers which were used. Tumor markers CEA and CA 19-9 did not show a statistically significant difference in serum levels in the group of malignant tumors, compared to other ovarian diagnoses. For primary detection and differential diagnosis of ovarian cancer are not suitable.

*Key words:* HE4, CA125, CEA, tumor marker, ovarian cancer

## Úvod

Podle údajů Národního onkologického registru ČR byla v roce 2009 incidence ovariálního karcinomu v ČR 22,5/100000 [1]. Ovariální malignity jsou z gynekologických nádorů nejčastější příčinou smrti. Tyto nádory představují 5% ze všech nádorů u žen a dále 23% z gynekologických zhoubných nádorů. Mortalita je i přes pokles v posledních deseti letech stále vysoká. Celosvětově je proto věnována pozornost vyhledávání nových biomarkerů pro možnost primární a diferenciální diagnostiky tohoto onemocnění. Až do nedávné doby byl CA125 (Cancer antigen 125) jediným využívaným nádorovým markerem pro karcinom ovarií. Je senzitivní avšak málo specifický [2]. Po roce 2000 se objevily práce s využitím markeru HE4 (Human epididymis protein 4) [3]. Zjištění řady autorů ohledně senzitivity a specifity HE4 jsou velmi povzbudivá [4, - 7].

V naší práci jsme HE4 zasadili do palety nádorových markerů společně s CA 125, CEA (Cancer embryonic antigen) a CA 19-9 (Cancer antigen 19-9), protože poslední tři uvedené markery jsou gynekology nejčastěji požadovány při diagnostice karcinomu ovarií. Nejvíce frekventovaný je CA 125 a dále je pak následován CEA a CA 19-9.

## Materiál a metody

V období od června 2010 do prosince 2011 bylo v Imunoanalytické laboratoři FN Plzeň vyšetřeno sérum 749 pacientek gynekologicko-porodnické kliniky s abnormálním nálezem v pánvi. U všech žen byla odebrána krev z kubitální žíly vždy ráno mezi 7 až 10 hodinou do odběrových zkumavek VACUETTE®, (Greiner Bio-One, Rakousko). Sérum bylo odděleno centrifugací při 1700 × g po dobu 10 minut a vzorky byly buď okamžitě zpracovány nebo pokud je nebylo možno zpracovat do 24 hodin byly uchovávány až do doby stanovení při -80°C. Pacientky byly rozděleny do následujících šesti skupin podle diagnóz: benigní tumory ovaria bez histologické verifikace, benigní tumory ovaria histologicky

verifikované, karcinom ovaria před léčbou histologicky verifikovaný (rovnoměrné zastoupení nádorů ve stadiu FIGO I – IV), karcinom ovaria v remisi, ovariální tumor border line, endometrióza.

U všech bylo stanoveno HE4 a CA 125 chemiluminiscenční metodou na přístroji Architect 1000i (Abbott USA), CEA a CA 19-9 chemiluminiscenční metodou na přístroji Dxl 800 (Beckman Coulter, USA).

Pro veškeré statistické výpočty byl použit statistický software SAS 9.2.

## Výsledky

Výsledky sérových hladin nádorových markerů shrnuje Tabulka 1. V tabulce je vždy u každé diagnózy uveden počet žen s touto diagnózou a následuje pak medián a min – max koncentrace jednotlivých sérových markerů.

V Tabulce 2 jsme pak vyhodnotili statistickou významnost rozdílu sérových hladin nádorových markerů u skupiny maligních a benigních nádorů, ze které vyplývá použitelnost jednotlivých markerů pro diferenciální diagnostiku.

## Diskuse

V této práci jsme se věnovali vyhodnocení sérových hladin nádorových markerů u nemocných s patologickým nálezem v malé pánvi. Při vyhodnocení jsme v této studii záměrně neuplatnili žádné kritérium pro odlišení věku a menopauzálního statusu žen. Tato kritéria jsou v poslední době opakovaně diskutována a jejich podrobný rozbor bude předmětem naší další v současné době dokončené studie.

Z našich výsledků v Tabulce 1 je zřejmé, že HE4 dosahoval výrazně vyšších hladin (medián koncentrace 281 pmol/l) ve skupině pacientek s histologicky potvrzeným karcinomem ovarií oproti všem ostatním skupinám diagnóz. Též CA 125 dosáhl podobně výrazně vyšších hladin (medián koncentrace 249 IU/l) ve skupině pacientek s histologicky potvrzeným karcinomem ovarií.

**Table 1:** Serum levels of tumor markers in groups according diagnosis

Analyte (units)		HE4 (pmol/L)	CA125 (IU/L)	CEA (µg/L)	CA19-9 (IU/L)
Diagnosis	Count (N)	Median (Min – Max)	Median (Min – Max)	Median (Min – Max)	Median (Min – Max)
Benign without histology	367	38 (18 – 1842)	16 (3 – 2331)	1.2 (0.1 – 851)	5.0 (1.0 – 305)
Benign + histology	156	39 (17 – 214)	16 (3 – 1210)	1.1 (0.2 – 13.4)	6.0 (1.0 – 615)
Ovarian cancer before treatment + histology	30	281 (26 – 3590)	249 (32 – 44850)	1.5 (0.5 – 431)	9.0 (1.0 – 393)
Ovarian cancer in remission	54	39 (23 – 201)	11 (2 – 78)	1.6 (0.5 – 29.5)	5.0 (1.0 – 62)
Ovarian tumor border line	121	32 (16 – 97)	12 (4 – 2056)	1.0 (0.3 – 6.3)	7.0 (1.0 – 440)
Endometriosis	21	27 (18 – 51)	45 (15 – 195)	1.1 (0.3 – 3.3)	8.5 (5.0 – 117)

**Table 2:** Kruskal-Wallis test the statistical significance of difference in serum levels of tumor markers in a group of malignant and benign tumors

Diagnosis	Analyte	HE4 (p-Value)	CA125 (p-Value)	CEA (p-Value)	CA19-9 (p-Value)
Benign without histology vs. Ovarian cancer before treatment		<0.0001	<0.0001	0.0878	0.3269
Benign + histology vs. Ovarian cancer before treatment		<0.0001	<0.0001	0.0893	0.5326
Benign without histology vs. Ovarian cancer before treatment	Benign + histology	<0.0001	<0.0001	0.2132	0.3762
Benign without histology vs. Endometriosis	Benign + histology	0.2354	<0.0482	0.2362	0.3256

HE4 i CA125 byly velice nízké u pacientek s karcinomem ovarií v remisi, a tudíž výborně korelovaly s klinickým stavem pacientek.

Border line tumory ovarií nevykázaly statisticky významné zvýšení žádného z nádorových markerů, který jsme v této studii sledovali. U CA 125 a CA 19-9 jsme sice zaznamenali několik zvýšených výsledků, ale výsledný medián nebyl těmito několika málo zvýšenými hodnotami ovlivněn. Záchyt nebo odlišení border line tumorů pomocí sérových nádorových markerů zůstává i nadále problematické.

Endometrióza hladiny HE4 nezvyšuje (min. hodnota 18 pmol/l, max. hodnota 51 pmol/l), naproti tomu u CA 125 jsme našli signifikantní rozdíl i když na 5% hladině významnosti oproti oběma skupinám benigních nádorů (p-Value <0.0482). Nádorové markery CEA a CA 19-9, které jsou často gynekology požadovány, nevykázaly statisticky významně odlišné sérové hladiny ve skupině maligních nádorů, oproti ostatním ovariálním diagnózám. Tyto dva markery jsou často zvýšeny v souvislosti s benigním nebo maligním onemocněním trávicího ústrojí a nesouvisejí tudíž s gynekologickou diagnózou. CA 19-9 dokonce vykázal několik absolutně nejvyšších výsledků ve skupině benigního tumoru ovarií (max 615 IU/l). Tyto hladiny byly sice ojedinělé, ale vysoce převýšily hladiny naměřené u skupiny ovariálního karcinomu (max 393 IU/l). CA 19-9 může být tedy někdy matoucí při hodnocení laboratorních výsledků, pokud se nejedná o mucinózní typ karcinomu, u kterého bývá marker CA 19-9 zvýšen.

V praxi je možné potom doporučit kombinaci nádorových markerů HE4 a CA125. Přibližně 20% epitelálních ovariálních karcinomů vykazuje malé nebo žádné zvýšení sérových hladin CA125, a tudíž samotný marker CA125 může být falešně negativní [9]. U více než 50% těchto malignit můžeme pozorovat zvýšené sérové hladiny HE4, a proto kombinace markerů může tyto nádory zachytit.

Užitečnost jednotlivých markerů pro diferenciální diagnostiku benigních a maligních nádorů ovarií, jednoznačně vyplývá ze statistické významnosti uvedené v Tabulce 2. Sérové hladiny nádorových markerů ze skupiny maligních, histologicky potvrzených diagnóz jsme porovnali nejprve s benigními nádory bez histologické verifikace a potom se skupinou benigních nádorů histologicky potvrzených. Nakonec jsme obě skupiny spojili a porovnali jsme je opět s maligní skupinou. Při třetím porovnání již byla skupina benigních nádorů

značně početnější oproti skupině maligních nádorů. U HE4 a CA125 se vůbec neprojevila změna počtu osob ve skupinách benigních nádorů a p-Value zůstalo vždy vysoce signifikantní (p-Value <0.0001).

## Závěr

Sérové hladiny nádorových markerů HE4 a CA 125 byly významně zvýšené ve skupině maligního nádoru ovarií oproti benigním nádorům ovarií. Lze je tudíž použít pro diferenciální diagnostiku ovariálního karcinomu. Použití pro prvozáchyt se jeví nadějně, ale pro ověření našeho závěru je nutné zpracovat větší soubor pacientek. Náš výzkumný úkol pokračuje a v současné době pracujeme na dalším sběru dat. HE4 i CA125 byly velice nízké u pacientek s karcinomem ovarií v remisi a korelovaly tudíž s klinickým stavem. Border line tumory ovarií nevykazují sérové zvýšení nádorových markerů a jejich detekce pomocí těchto metod zůstává problematická. Endometrióza hladiny HE4 neovlivňuje, signifikantně zvyšuje však hladinu CA 125.

Nádorové markery CEA a CA 19-9 nevykázaly statisticky významně odlišné sérové hladiny ve skupině maligních nádorů ovarií oproti ostatním benigním gynekologickým diagnózám. Pro prvozáchyt a rozlišení benigních od maligních ovariálních nádorů nemají takový význam jako HE4 a CA125.

## Literatura

1. ÚZIS (Národní onkologický registr ČR). Novotvary 2009 ČR. Praha: ÚZIS Zdravotnická statistika, 2012.
2. **Fritsche, H. A., Bast, R. C.,** CA 125 in Ovarian Cancer: Advances and Controversy. *Clin. Chem.*, 1988, 44, p. 1379-1380
3. **Hellstrom, I., Raycraft, J., Hayden-Ledbetter, M., et al.** The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. *Cancer Res.*, 2003, 63, p. 3695-3700.
4. **Moore, R. G., McMeekin, D. S., Brown, A. K., et al.** A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecol. Oncol.*, 2009, 112, p. 40-46.
5. **Molina, R., Escudero, J. M., Augé, J. M., Filella, X., Foj, L., Torné, A., Lejarcegui, J., Pahisa, J.,** HE4 a novel tumour marker for ovarian cancer: comparison with CA 125 and ROMA algorithm in patients with gynaecological diseases. *Tumour Biol.* 2011, 32(6), p. 1087-95.

6. **Chang, X., Ye, X., Dong, L., et al.** Human epididymis protein 4 (HE4) as a serum tumor biomarker in patients with ovarian carcinoma. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2011, 21(5), p. 852-858.
7. **Partheen, K., Kristjansdottir, B., Sundfeldt, K.** Evaluation of ovarian cancer biomarkers HE4 and CA-125 in women presenting with a suspicious cystic ovarian mass. *J. Gynecol. Oncol.*, 2011, 22, p. 244-252.
8. **Moore, R. G., Miller, M. C., Disilvestro, P., Landrum, L. M., Gajewski, W., Ball, J. J., Skates, S. J.,** Evaluation of the diagnostic accuracy of the risk of ovarian malignancy algorithm in women with a pelvic mass. *Obstet. Gynecol.* 2011, 118: 280-288.
9. **Li, J., Dowdy, S., Tipton, T., et al.** HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial cancer management. *Expert Rev. Mol. Diagn.*, 2009, 9, p. 555-566.

*Tato studie byla podpořena z grantu MZ ČR IGA NS 10258-3.*

Do redakce došlo 24. 5. 2012

*Adresa pro korespondenci:*

*Mgr. Radek Kučera, Ph.D.*

*FN Plzeň*

*Imunoanalytická laboratoř, Oddělení nukleární medicíny*

*Dr. E. Beneše 13*

*305 99 Plzeň*

*e-mail: kuucera@seznam.cz*