

Ocena możliwości wczesnej diagnostyki raka jajnika na podstawie oznaczeń wybranych białek surowicy

Evaluation of selected serum protein markers as early detectors of ovarian cancer

Mrochem Jolanta¹, Sadowski Krzysztof², Deja Regina¹, Walaszek-Gruszka Aneta³, Wojcieszek Andrzej¹, Kołosza Zofia¹, Chmura Aleksandra¹, Czernik Ewa¹, Masłyk Barbara¹, Bartnik Wiesława¹, Cnota Wojciech²

¹ Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

² Klinika Ginekologii i Położnictwa Śl.U.M. w Rudzie Śląskiej

³ Katedra Zdrowia Kobiety, Wydział Opieki Zdrowotnej Śl.U.M. w Katowicach

Streszczenie

Cel pracy: Próba oceny przydatności równoległych oznaczeń osteopontyny (OPN), insulino-podobnego czynnika wzrostu II (IGF II), leptyny, prolaktyny oraz CA 125 dla wczesnej diagnostyki guzów jajnika

Materiał i metody: Badaniami prospektywnymi objęto grupę 69 kobiet wśród których było: 15 kobiet z rakiem jajnika, 33 kobiety z niezłośliwym nowotworem jajnika i 21 kobiet zdrowych. Oznaczenia: IGF II, prolaktyny i leptyny i CA 125 wykonano w surowicy, a OPN w osoczu.

Wyniki: Stwierdzono, że stężenie IGF II, leptyny i prolaktyny nie pozwala na różnicowanie na podstawie oznaczeń biochemicznych kobiet zdrowych od chorych na raka jajnika i tych, u których stwierdzono guz niezłośliwy. Porównując wyniki oznaczeń OPN i CA 125 stwierdzono, że istnieją znamienne różnice między stężeniem markera w grupie kobiet zdrowych i kobiet z potwierdzonym nowotworem złośliwym jajnika, jak też między grupą kobiet, u których stwierdzono nowotwór niezłośliwy a grupą kobiet z nowotworem złośliwym.

Na podstawie krzywych ROC dla grup: kobiety zdrowe i kobiety z rakiem jajnika stwierdzono, że OPN i CA 125 posiadają wartość diagnostyczną.

Nie potwierdzono sugerowanej przydatności jednocześnie wykonywanych oznaczeń: OPN, IGF II, leptyny i prolaktyny w diagnostyce raka jajnika. Statystycznie znamienne wzrost stężenia OPN i CA 125 stwierdzono u kobiet, u których rozpoznano mikroskopowo raka jajnika. Analiza krzywych ROC wykazała porównywalną przydatność diagnostyczną obu markerów.

Wnioski: Oznaczenia OPN mogą posiadać dodatkowe znaczenie w różnicowaniu guzów złośliwych, niezłośliwych oraz w monitorowaniu leczenia u kobiet z rakiem jajnika, u których stężenie CA 125 pozostaje w zakresie wartości referencyjnych.

Słowa kluczowe: **nowotwory jajnika / osteopontyna / leptyna / prolaktyna /
/ insulinopodobny czynnik wzrostu II / CA 125**

Adres do korespondencji:

Jolanta Mrochem
Zakład Analityki i Biochemii Klinicznej,
Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach,
ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice,
e-mail: jmrochem@io.gliwice.pl

Otrzymano: 03.03.2008

Zaakceptowano do druku: 31.03.2008

Summary

Objective: an attempt to determine the value of the simultaneous quantization of osteopontin (OPN), insulin-growth factor II (IGF II), leptin, prolactin and CA 125 for early detection of ovarian cancer

Materials and methods: Prospective study of 69 women including:

- 15 females with ovarian cancer
- 33 females with benign ovarian neoplasm
- 21 disease-free females

The levels of IGF II, prolactin, leptin and CA 125 were determined in serum, while the level of OPN was checked in plasma.

Results: The concentrations of IGF II, leptin and prolactin do not let us distinguish among disease-free females, females with ovarian cancer and those with benign ovarian neoplasms on the basis of biochemical markers.

The comparison of OPN and CA 125 levels showed significant differences in the concentrations of the biomarkers between disease-free females and females with ovarian cancer, as well as between females with benign ovarian neoplasms and females with ovarian cancer. The ROC curves for two groups: disease-free females and females with ovarian cancer, proved the diagnostic value of OPN and CA 125.

Conclusions: The simultaneous quantization of OPN, IGF II leptin and prolactin has not been proved useful for the early detection of ovarian cancer. Statistically significant increase of OPN & CA 125 levels was noted in case of women with ovarian cancer diagnosed through microscopic examination.

The analysis of ROC curves showed comparable diagnostic usefulness of both markers.

Quantization of OPN may have an additional value for treatment monitoring of women diagnosed with ovarian cancer but with concentration of CA 125 within the reference value.

Key words: **ovarian neoplasms / osteopontin / leptin / prolactin / insulin-growth factor II / Ca 125 /**

Wstęp

Nowotwory jajnika stanowią istotny problem kliniczny. Z uwagi na trudności w ich diagnostyce stwierdzenie powiększonego, guzowato zmienionego jajnika jest jedynie pierwszym krokiem do ustalenia rozpoznania i wdrożenia odpowiedniego leczenia. Trwają poszukiwania metod diagnostycznych, które pozwoliłyby różnicować guzy złośliwe od niezłośliwych jeszcze przed leczeniem operacyjnym.

W związku z utkaniem histologicznym guzów jajnika, nowotwory mogą wywodzić się z komórek różnych tkanek tworzących jajnik, co powoduje podział nowotworów jajnika na wywodzące się z nabłonka powierzchniowego, nowotwory germinalne, nowotwory ze sznurów płciowych i podścieliska, pierwotne nowotwory niejajnikowe (np. z komórek naczyń krwionośnych) i nowotwory przerzutowe. Czynnikiem dodatkowo utrudniającym diagnostykę jest fakt, że w każdej z trzech typowych grup nowotworów jajnika, obserwowane są zarówno nowotwory niezłośliwe jak i złośliwe.

Według piśmiennictwa najczęściej obserwowane są nowotwory pochodzenia nabłonkowego, które stanowią 65-70% wszystkich guzów jajnika, wśród nich odsetek postaci złośliwych czyli raków sięga 90%.

Brak charakterystycznych objawów choroby jest przyczyną tego, że u około 85% chorych na raka jajnika, w momencie rozpoznania stwierdza się cechy rozsiewu do otrzewnej, miednicy małej lub jamy brzusznej, co ma istotny wpływ na rokowanie.

Ocenia się, że w przypadku raka ograniczonego do jajnika/jajników prawdopodobieństwo przeżycia bez objawów choroby po leczeniu sięga 90% [1, 2, 3].

Rozpoznanie postaci rozsianej z przerzutami do otrzewnej, sieci czy wyrostka robaczkowego znacząco pogarsza rokowanie a odsetek chorych przeżywiających 5 lat spada do 30-35% [1, 2, 3]. Te niezadowalające wyniki leczenia stanowią powód intensywnych poszukiwań nowych markerów o wysokiej czułości i specyficzności umożliwiających wczesne rozpoznanie choroby.

Od co najmniej 20 lat w diagnostyce i monitorowaniu przebiegu raka jajnika stosuje się oznaczenia markera – CA 125. Jednak u około 20 % chorych, stężenie CA 125 pozostaje w zakresie wartości referencyjnych niezależnie od zaawansowania choroby co powoduje, że w tych przypadkach niemożliwie jest monitorowanie leczenia [1, 4, 5, 6]. W rakach nabłonkowych jajnika: surowicznych i endometrialnych stwierdza się znaczny wzrost CA 125, natomiast w raku śluzowym do wzrostu dochodzi rzadko i to w miernym stopniu [4].

CA 125 nie jest także markerem swoistym dla raka jajnika. Podwyższone stężenie CA 125 występuje w raku szyjki macicy [7], raku piersi [8], raku jajowodu [7]. Do wzrostu dochodzi w chorobach nienowotworowych takich jak: endometrioza [9, 10, 11, 12, 13, 14,] zapalenie przydatków [15, 16], torbiele jajników [17,18], zapalenie wątroby [8, 19], marskość wątroby [8, 19], czy w pierwszym trymestrze ciąży [16, 20].

Do poszukiwań nowych markerów nowotworowych włączono badania posługujące się metodami stosowanymi w biologii molekularnej. Porównując ekspresję genów tkanki zdrowej z tkanką jajników zmienioną nowotworowo stwierdzono od kilku do kilkudziesięciu różnic między obu tkankami [2, 21, 22].

Niestety, wzrostowi ekspresji genu, stwierdzonemu w tkance nowotworowej, nie zawsze towarzyszy wzrost stężenia odpowiadającego mu białka w krwioobiegu [1]. Utrudnia to wykorzystanie uzyskanych informacji dla celów klinicznych.

Ocena możliwości wczesnej diagnostyki raka jajnika...

W piśmiennictwie dotyczącym diagnostyki raka jajnika, pojawiło się doniesienie wskazujące na dużą przydatność oznaczeń 4 białek: osteopontyny (OPN), insulino-podobnego czynnika wzrostu II (IGF II), prolaktyny i leptyny [3].

Cel pracy

Celem naszej pracy była próba potwierdzenia wyników opracowanych przez Mor i wsp., dotyczących przydatności tych białek: OPN, IGF II, leptyny, prolaktyny oraz dodatkowo CA 125 w diagnostyce guzów jajnika [3].

Materiał

Grupę badaną stanowiło 48 kobiet z guzem jajnika, którym pobrano krew przed leczeniem operacyjnym. Grupę podzielono na dwie podgrupy w zależności od wyniku badania histopatologicznego materiału pooperacyjnego.

Grupę pierwszą utworzyło 15 kobiet z rozpoznaniem rakiem jajnika w stopniu zaawansowania klinicznego III, IV według FIGO. Grupę drugą stanowiły 33 chore z rozpoznaniem niezłośliwym nowotworem jajnika. Grupę kontrolną stanowiło 21 kobiet, które zgłosiły się do poradni przyszpitalnej celem konsultacji.

Niniejsze badanie zostało zaakceptowane przez Komisję Bioetyczną przy Centrum Onkologii Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach na posiedzeniu Komisji z dnia 21.02.2006 r. (nr D0/DOP/493-2/06). Pacjentki, po zapoznaniu się z protokołem podpisywały świadomą zgodę na udział w badaniach.

Metody

We wszystkich grupach kobiet wykonano oznaczenia IGF II, leptyny (DRG Diagnostic), prolaktyny i CA 125 (Abbott) w surowicy i OPN (R&D) – w osoczu.

Oznaczenia wykonywano technikami immunochemicznymi: EIA; CMIA. Do sprawdzenia znamienności statystycznej wyników uzyskanych w badanych grupach kobiet wykorzystano test Kruskala-Wallis.

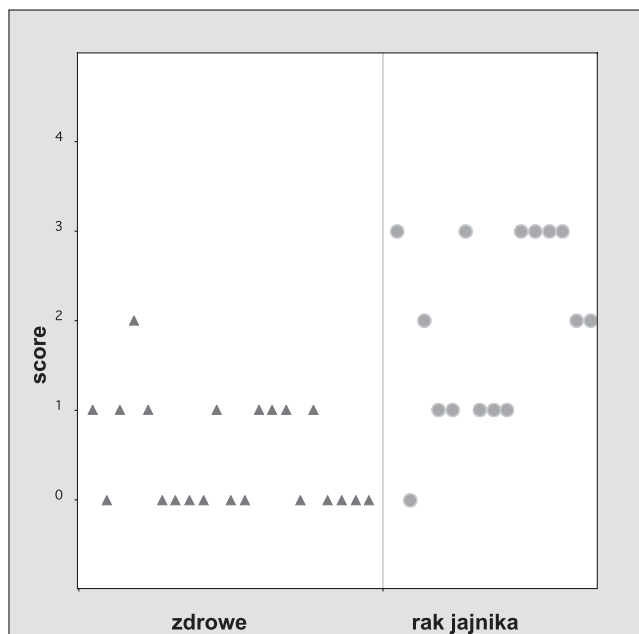
Dodatkowo przeprowadzono analizę uzyskanych wyników w oparciu o krzywe ROC (*Receiver Operating Characteristic*) przedstawiające wykres zależności: czułości od swoistości (1-swoistość) dla każdego badanego markera. Dokonano również porównania stężeń czterech białek (OPN, IGF II, prolaktyny i leptyny) określonych w prowadzonym badaniu opierając się na modelu statystycznym zastosowanym w publikacji Mor i wsp. [3].

Wyniki

Za pomocą analizy statystycznej stwierdzono, że IGF II nie wykazuje, w porównywanych grupach kobiet, różnic statystycznie. (Tabela I).

Wprawdzie widać niewielki spadek stężenia pomiędzy medianą u kobiet zdrowych i chorych na raka jajnika, jednakże zakresy górnego percentyla (75%) są bardzo zbliżone, a wartości median w przypadku kobiet zdrowych i chorych ze zmianą niezłośliwą są prawie identyczne.

Z porównania wyników oznaczeń leptyny i prolaktyny wynika, że oba parametry uzyskują podobne wartości zarówno w przypadku kobiet zdrowych, chorych z guzem niezłośliwym i chorych na raka jajnika. (Tabela I).

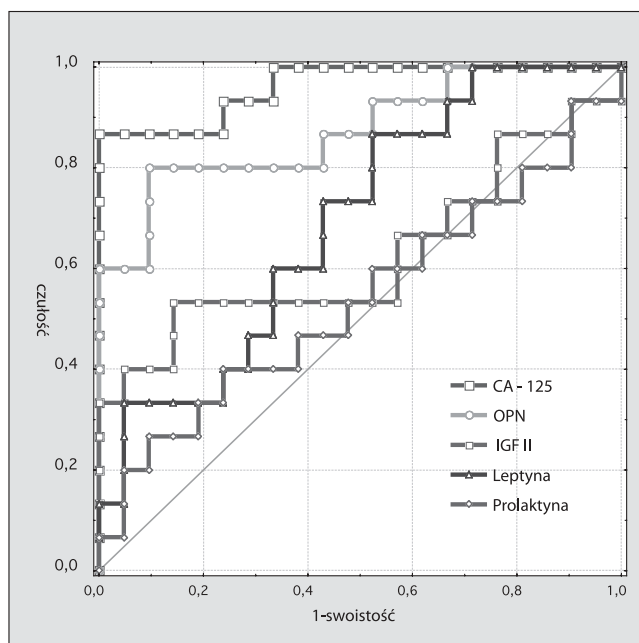


Rycina 1. Test „score” zaproponowany przez Mor G. i wsp. [3]. Podział wyników w oparciu o kombinację czterech białek (OPN, IGF II, prolaktyny i leptyny) na kobiety zdrowe i kobiety chore na raka jajnika.

Test „score”: Cztero-parametrowa analiza wyników oznaczeń w grupie kobiet zdrowych i kobiet chorych na raka jajnika. Poprawnie sklasyfikowanej zdrowej pacjentce przypisano punktację 0 lub 1.

Nadany punkt 0 świadczy o tym, że cztery wyniki oznaczeń białek: OPN, IGF II, prolaktyny i leptyny są w zakresie wartości prawidłowych. W przypadku pkt 1 – jeden z parametrów nie jest w zakresie wartości prawidłowych. U pacjentek z rakiem jajnika punktacją 2, 3, 4, oznacza, że odpowiednio 2, 3, 4, stężenia białek wykraczają poza zakres wartości prawidłowych.

Wyniki fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne są łatwo na wykresie zauważalne.



Rycina 2. Krzywa ROC dla CA 125, OPN, IGF II, prolaktyny i leptyny w grupach kobiet zdrowych i z guzem złośliwym.

Tabela I. Mediany stężeń markerów białkowych dla wczesnej diagnostyki raka jajnika.

| rozpoznanie | CA 125 | | | | osteopontyna | | | |
|-----------------|---------|--------------|----------------|-----------------|--------------|--------------|----------------|-----------------|
| | mediana | 25-75% | p [*] | p ^{**} | mediana | 25-75% | p [*] | p ^{**} |
| grupa kontrolna | 12,66 | 10,91-16,85 | | | 52,45 | 42,33-63,6 | | |
| guz niezłośliwy | 22,21 | 12,44-42,88 | 0,086 | | 54,04 | 38,68-62,65 | 1,000 | |
| nowotwór | 281,44 | 179,7-764,24 | 0,0001 | 0,003 | 151,73 | 70,98-217,75 | 0,0006 | 0,0002 |

p* - porównanie z grupą kontrolną
- test Kruskala-Wallisa

p** - porównanie z guzem niezłośliwym
- test Kruskala-Wallisa

| rozpoznanie | leptyna | | | | IGF II | | | | prolaktyna | | | |
|-----------------|---------|------------|----------------|-----------------|---------|---------------|----------------|-----------------|------------|------------|----------------|-----------------|
| | mediana | 25-75% | p [*] | p ^{**} | mediana | 25-75% | p [*] | p ^{**} | mediana | 25-75% | p [*] | p ^{**} |
| grupa kontrolna | 12,23 | 5,99-23,22 | | | 1503,9 | 1385,3-1729 | | | 11,66 | 9,09-15,31 | | |
| guz niezłośliwy | 8,77 | 4,61-17,65 | 0,962 | | 1547,4 | 1419,3-1762,6 | 1,00 | | 14,3 | 8,89-23,61 | 0,860 | |
| nowotwór | 10,07 | 5,63-17,24 | 1,00 | 1,00 | 1358,1 | 1054,2-1742,4 | 0,545 | 0,506 | 12,22 | 9,16-20,34 | 1,00 | 1,00 |

Tak więc, w wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że stężenia IGF II, leptyny i prolaktyny nie pozwalają na rozróżnienie na podstawie oznaczeń biochemicznych kobiet zdrowych, od tych u których stwierdzono nowotwór niezłośliwy czy też złośliwy. (Tabela I).

Jedynie osteopontyna – czwarte z proponowanego zestawu białek wybranych dla wczesnej diagnostyki raka jajnika wykazuje znamienne statystycznie różnice między stężeniem w grupie kobiet zdrowych i kobiet ze zdiagnozowanym nowotworem złośliwym jajnika ($p^* < 0,0006$), jak też między grupą kobiet u których stwierdzono nowotwór niezłośliwy a grupą kobiet z nowotworem złośliwym ($p^{**} < 0,0002$). (Tabela I).

Nie stwierdzono natomiast różnic znamienych statystycznie pomiędzy grupą kobiet zdrowych i chorych na nowotwory niezłośliwe.

Porównując wyniki oznaczeń OPN i CA 125 stwierdzono, że w przypadku obu markerów istnieją znamienne różnice między stężeniem markera w grupie kobiet zdrowych i kobiet ze zdiagnozowanym nowotworem złośliwym jajnika (CA 125 $p^* < 0,0001$; OPN $p^* < 0,0006$) jak też między grupą kobiet, u których stwierdzono nowotwór niezłośliwy a grupą kobiet z nowotworem złośliwym (CA 125 $p^{**} < 0,003$; OPN $p^{**} < 0,0002$). Nie stwierdzono natomiast znamienności statystycznej pomiędzy grupą kobiet zdrowych i chorych na nowotwory niezłośliwe. (Tabela I).

Brak istotności statystycznej w oznaczeniach IGF II, leptyny i prolaktyny znajduje odzwierciedlenie w analizie metodą krzywych ROC. (Rycina 1).

Przebieg krzywych ROC dla tych trzech parametrów potwierdza, że oznaczenia tych pojedynczych markerów nie mają wartości diagnostycznej.

Natomiast na podstawie krzywych ROC dla grup: kobiety

zdrowe i kobiety z rakiem jajnika stwierdzono, że zarówno CA 125 i OPN mają wartość diagnostyczną.

Podjęto próbę jednoczesnej oceny stężeń czterech białek: OPN, IGF II, leptyny i prolaktyny w oparciu o test diagnostyczny „score” zaproponowany przez Mor i wsp. [3].

Wyniki testu „score” zostały przedstawione na rycinie 2. Na podstawie zaproponowanego przez autorów testu statystycznego stwierdzono wprawdzie, że kombinacja oznaczeń wymienionych białek pozwala na różnicowanie kobiet zdrowych od chorych na raka jajnika lecz stwierdzone 90% czułości i 77% swoistości jest niewystarczające dla wykorzystania oznaczeń w badaniach przesiewowych.

Dyskusja

Brak charakterystycznych objawów chorobowych powoduje, że rak jajnika najczęściej zostaje zdiagnozowany dopiero gdy choroba znajduje się w III lub IV stopniu klinicznego zaawansowania [1, 2, 3, 21, 22].

Oczywiste zatem są próby określenia zestawu badań, które mogłyby służyć do badań przesiewowych i pozwolić na diagnostykę we wczesnych stadiach choroby.

Skuteczność badania skriningowego ocenia się poprzez wysoką czułość, swoistość oraz pozytywną wartość predykcyjną zastosowanych metod. Aktualnie stosowane testy – marker CA 125, USG jamy brzusznej, USG przezpochwowe nie spełniają wymogów stawianych badaniom przesiewowym.

Wykrycie raka jajnika we wczesnym stadium zaawansowania klinicznego znacznie zmniejszyłoby śmiertelność wśród grupy chorych na złośliwe nowotwory ginekologiczne. Wskaźnik 5-letniego przeżycia dla kobiet z I stopniem zaawansowania wynosi 90 %, natomiast dla pacjentek z III i IV stopniem nie przekracza 30 % [1, 2, 3, 22]