

NAZIV DISERTACIJE: PROCJENA ANALITIČKIH KARAKTERISTIKA ODREĐIVANJA TUMORSKOG MARKERA HE4 I UTVRĐIVANJE REFERENTNOG INTERVALA KOD ŽENSKJE POPULACIJE NA KANTONU SARAJEVO

Autor: Lejla Hasanbegović

Mentor: Prof. dr. Jozo Čorić

Datum odbrane: 15.07.2016

DOI: <https://doi.org/10.17532/DD.2016.06>



UVOD

Karcinom jajnika ima najveću stopu smrtnosti od svih ginekoloških tumora i peti je vodeći uzrok smrti od karcinoma kod žena. Danas se tumor marker CA125 najčešće koristi u dijagnostici tumora jajnika. Preliminarni podaci pokazuju da je u trijaži benignih tumora jajnika od karcinoma jajnika HE4 specifičniji od tumorskog markera CA125. Ispitani su mnogi potencijalni markeri za ovarijalni i endometroidni karcinom. Od svih je samo HE4 pokazao veliki potencijal za kliničku primjenu. Istraživači su dokazali da na vrijednosti tumorskog markera HE4 utječu analitički i biološki faktori. HE4 je koristan marker kod detekcije karcinoma ovarija sa tek minimalnom ekspresijom u normalnom tkivu ovarija. Pacijenti sa zatajenjem bubrega imaju veoma visoke vrijednosti HE4 neovisno o postojanju karcinoma jajnika. Osim toga povećane vrijednosti HE4 se mogu naći kod trećine pacijenata sa oboljenjima pluća i kod 5% pacijenata sa hroničnim oboljenjima jetre.

HIPOTEZE

Postavljena je radna hipoteza: Na vrijednosti koncentracija tumorskog markera HE4 u serumu utječu analitički i biološki faktori. Upotrebom ROMA prediktivnog indeksa ne povećava se dijagnostička osjetljivost i specifičnost kod utvrđivanja maligniteta epitelijskog ovarijalnog karcinoma u odnosu na korištenje tumorskog markera HE4 kao pojedinačnog markera. Alternativna hipoteza je suprotna.

CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Odrediti vrijednosti tumorskog markera HE4 ispitanicama urednog ginekološkog nalaza životne dobi od 50 do 75 godina (postmenopauza). 2) Odrediti vrijednosti tumorskog markera HE4 ispitanicama urednog ginekološkog nalaza životne dobi od 20 do 50 godina (premenopauza). 3) Ispitati tačnost, preciznost, analitičku specifičnost i pouzdanost kalibracije kod određivanja tumorskog markera HE4. 4) Ispitati utjecaj preanalitičkih faktora: tip uzorka, način uzorkovanja i vrijeme uzorkovanja. 5) Odrediti utjecaj interferencija na vrijednosti koncentracija tumorskog markera HE4. 6) Kod ispitivane skupine odrediti laboratorijske parametre kao pokazatelje: funkcije pluća određivanjem parametara acidobazni status, funkcije bubrega određivanjem parametara: urea, kreatinin, GFR i kalijum, prisustva upalnog stanja i rizika od kardiovaskularnih oboljenja određivanjem parametara CRPhs. 7) Na osnovu dobivenih rezultata utvrditi referentne vrijednosti za populaciju žena Kantona Sarajevo. 8) Odrediti vrijednosti tumorskih markera HE4 i CA125 kod ispitanica urednog ginekološkog nalaza, ispitanica sa dijagnozom epitelijskog ovarijalnog karcinoma i ispitanica sa dijagnozom benigne ovarijalne ciste. 9) Odrediti dijagnostičku osjetljivost i specifičnost tumorskih markera CA125 i HE4 kao i ROMA prediktivnog indeksa. 10) Komparirati rezultate dijagnostičke osjetljivost i specifičnosti tumorskih markera CA125, HE4 i ROMA prediktivnog indeksa.

MATERIJAL (ISPITANICI) I METODE ISTRAŽIVANJA

Ispitivanje je obavljeno prospektivno u periodu od 01.06.2014.-01.06.2015. godine u biohemijsko-hematološkom laboratoriju „Medicinski laboratorij“ na Ilidži. Tokom istraživanja obuhvaćeno je ukupno 300 ispitanica od kojih je 188 žena premenopausalno i 112 žena postmenopausalno. Ispitanice su podijeljene u dvije grupe prema dobi: grupa I – ispitanice dobi od 50 do 75 godina i grupa II – kontrolna grupa ispitanica dobi od 20 do 50 godina. Uzorci su podijeljeni prema vremenu uzorkovanja na: A uzorke koji su uzeti od 9 do 11 h i B uzorke uzete od 16 do 18h. U periodu od 9 do 11h je uzeto 300 uzoraka, a od 16 - 18h 20 uzoraka. Uzorci su dalje podijeljeni prema rezultatima laboratorijskih pretraga na podgrupe: I-a) uzorci sa povišenim vrijednostima laboratorijskih parametara za procjenu funkcije bubrega, I-b) uzorci sa promijenjenim acidobaznim statusom i I-c) uzorci sa povišenim vrijednostima CRPhs-a. Za utvrđenje osjetljivosti i specifičnosti tumorskog markera HE4 uključili smo 124 ispitanice koje smo podijelili u tri grupe prema dijagnozi ispitanica: Grupa I (kontrolna grupa) - ispitanice urednog ginekološkog nalaza, grupa II - ispitanice ginekološkog nalaza epitelijskog ovarijalnog karcinoma i grupa III - ispitanice ginekološkog nalaza benigne ovarijalne ciste.

REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Ustanovljeno je da metoda određivanja tumorskog markera HE4 na analizatoru Elecsys 2010 pokazuje zadovoljavajući stepen ponovljivosti rezultata. Poređenjem 20 uzoraka ispitanica na analizatorima Elecsys 2010 i Modular E170 analytics ustanovili smo da nema signifikatne razlike između vrijednosti tumorskog markera HE4 na ova dva analizatora. Koeficijent korelacije je iznosio 0,9985 ($r=0,9985$), a signifikantni nivo (significance level) je iznosio $<0,001$. Bias kod poređenja vrijednosti na dva analizatora je iznosio 0,9998. Utvrđeno je da vrijeme uzorkovanja nije imalo utjecaja na vrijednosti tumorskog markera HE4. Od ispitivanih laboratorijskih parametara najveći utjecaj na vrijednosti tumorskog markera HE4 su imale povišene vrijednosti CRPhs-a i parametara za procjenu bubrežne funkcije, dok povišene vrijednosti ABS-a nisu imale nikakav utjecaj. Statističkom analizom vrijednosti tumorskog markera HE4 ustanovljene su referentne vrijednosti ovog tumorskog markera za premenopausalne žene: $<78,68$ pmol/L, a za postmenopausalne žene: $<122,5$ pmol/L. Utvrđeno je da relativni rizik za povećane vrijednosti tumorskog markera HE4 postoji kod žena u postmenopauzi u odnosu na premenopausalne žene ($p=0,0391$). Naša analiza je pokazala da je dob ispitanica signifikantan prediktor za visoke vrijednosti tumorskog markera HE4. Ovim istraživanjem je utvrđeno da kod ispitanica za koje se smatralo da su zdrave, metodom slučajnog izbora je otkriveno 38 (12,66%) pozitivnih vrijednosti tumorskog markera HE4. Utvrđena dijagnostička osjetljivost tumorskog markera CA125 je 45,12%, a tumorskog markera HE4 je 66,26%. Utvrđena specifičnost tumorskog markera CA125 je 56,09%, a tumorskog markera HE4 84,14%. Utvrđena osjetljivost ROMA prediktivnog indeksa je 69%, a specifičnost 84,10%. Ovim istraživanjem je utvrđeno da se korištenjem ROMA prediktivnog indeksa ne povećava značajno osjetljivost i specifičnost u odnosu na tumorski marker HE4 kao pojedinačni marker.

ZAKLJUČAK

Univarijantnom statističkom analizom (ANOVA) kontrolnih seruma tumorskog markera HE4 utvrđena je visoka pouzdanost određivanja ovog testa ($p>0,05$). Ustanovljeno je da je metoda određivanja na analizatoru Elecsys 2010 pokazala zadovoljavajući stepen ponovljivosti rezultata. 2.) Utvrđena je visoka statistička povezanost vrijednosti tumorskog markera HE4 na dva analizatora Elecsys 2010 i Modular E170 analytics jer koeficijent korelacije iznosi 0,988 ($r=0,988$). 3.) Od ispitivanih laboratorijskih parametara najveći utjecaj na povišene vrijednosti tumorskog markera HE4 su imale povišene vrijednosti CRPhs-a (36,73%) i povišene vrijednosti parametara za procjenu bubrežne funkcije (26%). Kod ispitanica sa vrijednostima ABS-a izvan referentnog područja nije bilo povišenih vrijednosti tumorskog markera HE4. Vrijeme uzorkovanja nije utjecalo na vrijednosti tumorskog markera HE4. 4.) Utvrđena referentna vrijednost za populaciju žena na Kantonu Sarajevo za premenopausalne žene iznosi $<78,6$ pmol/L, a za postmenopausalne žene $<122,5$ pmol/L. 5.) Ustanovili smo da se vrijednosti tumorskog markera HE4 statistički značajno razlikuju kod premenopausalnih i kod postmenopausalnih žena ($p=0,0391$). Kod postmenopausalnih žena je veća učestalost pojavljivanja visokih vrijednosti tumorskog markera HE4. 6.) Poređenjem referentnog intervala tumorskog markera HE4 za populaciju žena Kantona Sarajevo, utvrđenog našim istraživanjem, sa referentnim intervalom za njemačku i azijsku populaciju ustanovili smo da se ove vrijednosti za postmenopausalne žene signifikantno razlikuju, dok kod premenopausalnih žena razlika nije statistički značajna. 7.) Utvrđena dijagnostička osjetljivost tumorskog markera CA125 je 45,12%, a specifičnost 56,09%. Utvrđena dijagnostička osjetljivost ROMA prediktivnog indeksa je 69%, a tumorskog markera HE4 66,26%. Utvrđena specifičnost ROMA prediktivnog indeksa je 84,10%, a tumorskog markera HE4 84,14%. Ovim istraživanjem je utvrđeno da se korištenjem ROMA prediktivnog indeksa ne povećava značajno osjetljivost i specifičnost u odnosu na tumorski marker HE4 kao pojedinačni marker.

KLJUČNE RIJEČI:

DISSERTATION TITLE:**Author:** Lejla Hasanbegović**Mentor:** Prof. dr. Jozo Ćorić**Date of defence:** 15.July 2016**DOI:** <https://doi.org/10.17532/DD.2016.06>**INTRODUCTION**

Ovarian cancer has the highest mortality rate compared to all other gynecologic tumors. It is the fifth leading cause of cancer death in women. Today, the tumor marker CA125 is the most commonly used diagnostic method for ovarian tumor. Preliminary data suggest that in a triage of benign ovarian tumors from ovarian cancer, the HE4 marker is more specific than the tumor marker CA125. Many potential markers for ovarian and endometrial cancers have been tested. Of all the tested markers, only the HE4 marker showed high potential for clinical application. Researchers have proved that values of tumor marker HE4 are affected by analytical and biological factors. HE4 is a useful marker in detection of ovarian cancer with only minimum expression in normal ovarian tissue. Patients with renal failure have an extremely high HE4 value regardless of existence of ovarian cancer. In addition, increased values of HE4 can be found in one third of patients with lung conditions, and in 5% of patients with chronic liver diseases.

HYPOTHESIS

Set up working hypothesis: Serum concentrations of the tumor marker HE4 are affected by analytical and biological factors. Using ROMA predictive index does not increase diagnostic sensitivity and specificity in determining malignancy of epithelial ovarian cancer compared to tumor marker HE4 as a single marker. The alternative hypothesis is contrary.

RESEARCH GOALS

Determine values of the tumor marker HE4 in respondents with normal gynaecologic findings, 50-75 years of age (postmenopausal) .2). Determine values of the tumor marker HE4 in respondents with normal gynaecologic findings, 20-50 years of age (premenopausal) .3). Examine accuracy, precision, analytical specificity and reliability of calibration in determination of the tumor marker HE4. 4). Examine influence of pre-analytical factors: type of sample, method of sampling, and sampling time. 5). Determine impact of interferences on concentrations of the tumor marker HE4. 6). Determine laboratory parameters as indicators: - lung functions of the same groups by specifying ABS parameters; - renal functions of the same groups by specifying the parameters: urea, creatinine, GFR and potassium; -presence of an inflammatory condition and risk of cardiovascular diseases in the same groups by specifying CRPhs parameters. 7).Based on the results, determine reference values for the population of women of the Sarajevo Canton. 8). Determine the value of tumor markers HE4 and CA125 in respondents with normal gynaecological findings, in respondents with the diagnosis of epithelial ovarian cancer, and respondents with the diagnosis of benign ovarian cyst. 9).Determine diagnostic sensitivity and specificity of the tumor markers CA125 and HE4 and ROMA predictive index. 10) Compare the results of the diagnostic sensitivity and specificity of the tumor markers CA125, HE4 and ROMA predictive index.

MATERIAL (RESPONDENTS) AND METHODS

The research was conducted prospectively in the period 01/06/2014 – 01/06/2015 in the biochemical and hematological laboratory of the "Medical Laboratory" in Ilidza. The survey covered a total of 300 respondents, out of whom 188 were premenopausal women and 112 postmenopausal women. The respondents were divided into two groups according to their age: Group I - Respondents aged 50-75, and Group II - Control group - Respondents aged 20-50. The samples were divided according to the time of sampling: A - Samples taken from 9 -11 h, and B - Samples taken from 16-18 h. 300 samples were taken from 9-11 h, and 20 samples were taken from 16-18 h. The samples were further divided according to the results of the laboratory tests into subgroups: I-a): samples with elevated levels of kidney function; I-b): samples with altered acid-base status; I-c): samples with elevated CRPhs values. In order to determine the sensitivity and specificity of the tumor maker HE4, we included 120 respondents, whom we classified into three groups according to the diagnoses of the respondents: Group I - Control group - Respondents with normal gynaecologic findings; Group II - Respondents with gynaecologic findings of epithelial ovarian carcinoma; Group III – Respondents with gynaecologic findings of benign ovarian cyst.

RESULTS OF RESEARCH

It was found that the method of determining the tumor marker HE4 using the Elecsys 2010 analyser indicated a satisfactory degree of the results reproducibility. By comparing samples of 20 respondents using the analysers Elecsys2010 and Modular E analytics, we found that there was no significant difference between the values of the tumor marker HE4 in these two analysers. The correlation coefficient was 0.9985 ($r = 0.9985$) and the significance level was <0.001 . The bias in comparing the values on the two analysers amounted to 0.9998. It was found that the time of sampling did not affect the values of the tumor marker HE4. Out of the the studied laboratory parameters, the elevated values of CRPhs and the parameters for kidney function had the highest impact on the values of the tumor marker HE4, whereas the elevated ABS values had no influence. The statistical analysis of the tumor marker HE4 values identified that reference values of this tumor marker for premenopausal women were $<78.68 \text{ pmol / l}$, and $<122.5 \text{ pmol / l}$ for postmenopausal women. It was found that a relative risk for the increased values of the tumor marker HE4 existed for postmenopausal women compared with premenopausal women ($p = 0.0391$). Our analysis showed that the age of the respondents was a significant predictor for high values of the tumor marker HE4. The identified diagnostic sensitivity of the tumor marker CA 125 was 45,12%, and 66.26% for the tumor marker HE4. The identified specificity of tumor marker CA125 was 56,09%, and 84.14% for the tumor marker HE4. The indetified sensitivity of the ROMA predictive index was 69% and specificity was 84.10%. This research revealed that the use of the ROMA predictive index did not increase the sensitivity and specificity compared to the tumor marker HE4 as a single marker. This research concluded that, in patients previously considered to be healthy, the random sampling method discovered 38 (12.66%) positive values of the tumor marker HE4.

CONCLUSION

Univariate statistical analysis (ANOVA) of controls of the tumor marker HE4 found high reliability in determination of this test ($p > 0.05$). It was found that the determination method on the analyser Elecsys 2010 showed a satisfactory degree of results reproducibility. 2). A high statistical correlation between the values of the tumor marker HE4 was found on two analysers, Elecsys2010 and Modular Analytics E170, since the correlation coefficient was 0.988 ($p = 0.98$) .3). Out of the studied laboratory parameters, the elevated values of the tumor marker HE4 were mostly impacted by elevated CRPhs values, 36.73% and increased values of the estimate parameters for kidney function - 26%. In respondents with ABS values outside the reference area there were no elevated values of the tumor marker HE4. Sampling time did not affect the values of the tumor marker HE4. The identified reference value for the female population in the Sarajevo Canton was $<78.6 \text{ pmol / l}$ for premenopausal women , and $<122.5 \text{ pmol / l}$ for postmenopausal women. We found that the values of the tumor marker HE4 statistically differed significantly in the premenopausal and postmenopausal women ($p = 0.0391$). The postmenopausal women had higher incidence of high values of the tumor marker HE4. 6). By comparing the reference interval of the tumor marker HE4 for the population of women of the Sarajevo Canton , identified in our research with a reference interval for the German and Asian population, we found that these values for the postmenopausal women differed significantly, whereas for the premenopausal women the difference was not statistically significant. 7). The established sensitivity of the tumor marker CA125 was 45.12%, and the specificity was 56.09%. The Identified diagnostic sensitivity of the ROMA predictive index was 69% and 66.26% for the tumor marker HE4. The identified specificity of the ROMA predictive index was 84.10%, and 84.14% for the tumor marker HE4. This research revealed that the use of the ROMA predictive index did not increase the sensitivity and specificity with reference to the

KEY WORDS: