

POROVNÁNÍ PŘEDOPERAČNÍCH A POOPERAČNÍCH HLADIN VYBRANÝCH BIOMARKERŮ U KARCINOMU PRSU

R. Kučera¹, O. Topolčan¹, A. Ňaršanská², V. Třeška²

¹Imunoanalytická laboratoř, FN a LF UK v Plzni, ²Chirurgická klinika, FN Plzeň

U nádorů prsu na rozdíl od nádorů jiných lokalizací existuje jen málo prací, které by se věnovaly problematice vývoje hladin biomarkerů v závislosti na chirurgickém zákroku. Karcinom prsu je nejčastější typ nádoru u žen a podle statistik WHO postihuje 1/5 žen. Mortalita má tendenci mírného, ale vytrvalého vzestupu s velkými variacemi mezi jednotlivými zeměmi, které jsou v rámci statistik WHO sledovány (1).

V tomto článku se zabýváme srovnáním diagnostického použití dnes již klasických nádorových markerů: karcinoembryonálního antigenu (CEA) a nádorového antigenu CA 15-3 (CA 15-3) a panelu růstových faktorů: inzulinu podobného růstového faktoru 1 (IGF1), hepatocelulárního růstového faktoru (HGF), epidermálního růstového faktoru (EGF) a vasoendoteliálního růstového faktoru (VEGF) u nádorů prsu.

PACIENTI A METODY

Sledovaný soubor tvořilo 89 žen s maligním nádorem prsu ve stádiích I, II a III. Medián věku u sledované skupiny žen byl 65 let (min. 32 – max. 84 let) Ženy byly operovány na Chirurgické klinice FN v Plzni v letech 2010–2012. U každé ženy jsme měli k dispozici dva vzorky krve. První vzorek byl posledním náběrem před operací a druhý vzorek byl nabrán sedm dní po operaci. Vzorky byly odebírány pomocí náběrového systému Vacuette firmy Greiner (Rakousko). Sérové vzorky byly separovány pomocí 10 min centrifugace a pak zamrazeny na –20 °C. Vzorky byly rozmrazeny pouze jednou a ihned analyzovány. Sledovali jsme následující parametry: CEA, CA 15-3, IGF1, HGF, EGF, VEGF. Hodnotili jsme změny hladin jednotlivých biomarkerů před operací a po operaci a porovnali jsme chování klasických nádorových markerů a růstových faktorů.

Sérové hladiny CEA a CA 15-3 byly stanoveny analytickým systémem DxI firmy Beckman Coulter (USA), IGF1 pak radioizotopovou metodou IRMA IGF1 IMMUNOTECH (Francie). Pro stanovení růstových faktorů HGF, EGF a VEGF byl použit multiplexový panel xMAP Luminex od firmy MERCK (USA).

Statistické zpracování výsledků bylo provedeno pomocí programu SAS verze 9.2 (Statistical Analysis Software, USA). Byly vypočítány následující statistické parametry: průměr, medián, minimum, maximum. Pro porovnání výsledků před a po operaci byl použit Wilcoxonův test.

VÝSLEDKY

Souhrn výsledků předoperačních a pooperačních hodnot všech sledovaných biomarkerů uvádí (Tab. 1). Průměry a mediány předoperačních hodnot byly u všech biomarkerů vyšší než pooperační. Po operaci jsme prokázali signifikantní pokles u CEA ($p = 0,0046$), a VEGF ($p = 0,0434$). Ostatní biomarkery měli vyšší hodnoty před operací a nižší po operaci, ale rozdíl nebyl statisticky signifikantní.

Tab. 1 Porovnání předoperačních a pooperačních hladin jednotlivých biomarkerů u karcinomu prsu

Biomarker (jednotky)	Průměr	Median	Min.	Max.	p-value Wilcoxon test
CEA před operací (μg/l)	3,72	2,96	0,50	33,7	0,0046
CEA po operaci (μg/l)	1,54	1,25	0,50	5,30	
CA153 před operací (kIU/l)	17,1	14,1	10,0	78,0	0,0278
CA153 po operaci (kIU/l)	14,7	12,8	10,0	17,0	
IGF1 před operací (ng/ml)	175	166	24,0	384	0,0574
IGF1 po operaci (ng/ml)	153	155	18,0	341	
HGF před operací (pg/ml)	3572	2764	393	11135	0,2651
HGF po operaci (pg/ml)	2871	2363	354	9531	
EGF před operací (pg/ml)	366	342	105	2115	0,1393
EGF před operací (pg/ml)	327	279	133	1776	
VEGF před operací pg/ml)	2956	1084	16,0	12656	0,0434
VEGF po operaci (pg/ml)	1356	884	16,0	8163	

DISKUZE

Nádorové markery jsou v současné době používány především k monitorování léčby nádorových onemocnění. Konkrétně CEA v kombinaci s CA15-3 se používají k monitorování léčby karcinomu prsu (2). Naše údaje získané ohledně těchto dvou nádorových markerů korelují s dnes všeobecně uznávanými skutečnostmi. Předoperační hladiny CEA byly zvýšené u 43 % žen a CA 15-3 u 58 % žen, což znamená, že k primární diagnostice nejsou tyto markery příliš vhodné. Co se týká snížení hladin po operaci, docházelo ke snížení i tehdy, pokud se předoperační hladiny nacházeli v referenčním rozmezí. Zejména CEA je považován za nádorový marker spojený s množstvím nádorové hmoty (3). Naše pozorování jsou v souladu s tímto zjištěním.

IGF1 je produkován v játrech a jeho zvýšené hladina v séru je podle výsledků některých studií jedním z faktorů rozvoje nádorového onemocnění (4, 5). Na vzniku nádoru se samozřejmě může též podílet zvýšená parakrinní produkce IGF1 ve tkáních. Tato produkce se však na sérových hladinách projevuje minimálně (6). Naše zjištění tuto teorii podporují. IGF1 se v našem porovnání předoperačních a pooperačních hladin pohybovalo na hranici

statistické významnosti, což svědčí o tom, že pokud by probíhala parakrinní produkce v námi studovaných nádorech, tak ani u vyšších stadií nejsou hladiny IGF1 tímto významně ovlivněny.

Růstový faktor HGF je podle výsledků řady studií považován za marker progresu metastatického procesu u karcinomu prsu (7, 8). Ohledně využití HGF v námi řešené otázce však žádné využití HGF není možné doporučit.

Růstový faktor EGF patří k nejdůležitějším růstovým faktorům působícím regulaci růstu, proliferace a diferenciace buněk (9). Dokonce se již v onkologické praxi používají léky blokující EGF receptor. Jednou z indikací je i léčba karcinomu prsu (10). Léky na blokování EGF receptoru mohly být vyvinuty díky tomu, že se podařilo dobře zmapovat celou signální dráhu EGF (11). Navzdory tomuto velkému přínosu EGF pro léčbu nádorů, není úloha EGF v nádorové diagnostice příliš jasná. V našem souboru žen se EGF neukázal jako vhodný marker jak pro monitorování úspěšnosti operační léčby. Průměr i medián předoperačních hodnot byl sice vyšší než pooperačních, ale statistická významnost poklesu prokázána nebyla.

Úloha VEGF v organismu spočívá v napomáhání obnovy a novotvorby cév včetně vaskularizace nádorové tkáně. Zvýšené hladiny VEGF jsou považovány za signál růstu a agresivity nádoru (12). Pokles mezi předoperačními a pooperačními hladinami VEGF byl v našem souboru statisticky významný. Tato statistická významnost sice nebyla tak silná, jako u CEA a CA 15-3, ale v literatuře je možné dohledat pooperační pokles u souboru 44 žen (13), kde měření hladin VEGF probíhala před operací, dále pak 1., 7. a 30. den po operaci. 1. a 7. Den po operaci byl zaznamenán signifikantní pokles. 30. den se hladiny VEGF vrátily na úroveň předoperačních. Naše měření probíhala 7. den po operaci, takže naše zjištění jsou v souladu s literárními údaji.

ZÁVĚR

U všech námi sledovaných parametrů docházelo po operaci k poklesu hladin. Signifikantní pokles byl přítomen u CEA, CA 15-3 a VEGF. Pokles hladin CEA a CA 15-3 je možno považovat za měřítko efektu operačního zákroku. VEGF vykázal pokles na hranici signifikance. Pro jeho posouzení bude třeba zhodnotit větší soubor pacientek. Ostatní biomarkery k posouzení efektu chirurgického zákroku nejsou vhodné.

SOUHRN

U nádorů prsu na rozdíl od nádorů jiných lokalizací existuje jen málo prací, které by se věnovaly problematice vývoje hladin biomarkerů v závislosti na chirurgickém zákroku. V tomto článku se zabýváme srovnáním diagnostického použití panelu vybraných růstových faktorů a klasických nádorových markerů CEA a CA 15-3 u nádorů prsu. Sledovaný soubor tvořilo 89 žen s maligním nádorem prsu ve stadiích I–III, medián věku 65 let (min. 32 – max. 84 let). U každé ženy jsme měli k dispozici dva vzorky krve. První vzorek byl

posledním náběrem před operací a druhý vzorek byl nabrán sedm dní po operaci. Sledovali jsme následující parametry: CEA, CA 15-3, IGF1, HGF, EGF, VEGF. Hodnotili jsme změny hladin jednotlivých biomarkerů před operací a po operaci. Sérové hladiny CEA a CA 15-3 byly stanoveny analytickým systémem DxI firmy Beckman Coulter (USA), IGF1 pak radioizotopovou metodou IRMA IGF1 IMMUNOTECH (Francie). Pro stanovení růstových faktorů HGF, EGF a VEGF byl použit multiplexový panel xMAP Luminex od firmy MERCK (USA). Průměry a mediány předoperačních hodnot byly u všech biomarkerů vyšší než pooperační. Po operaci jsme prokázali signifikantní pokles u CEA ($p = 0,0046$), CA 15-3 ($p = 0,0278$) a VEGF ($p = 0,0434$). Ostatní biomarkery měli vyšší hodnoty před operací a nižší po operaci, ale rozdíl nebyl statisticky signifikantní. U všech námi sledovaných parametrů docházelo po operaci k poklesu hladin. Signifikantní pokles byl přítomen u CEA, CA 15-3 a VEGF. Pokles hladin CEA a CA 15-3 je možno považovat za měřítko efektu operačního zákroku. VEGF vykázal pokles na hranici signifikance.

Comparison of selected tumor marker levels before and after surgery

SUMMARY

In breast cancer, unlike other cancers, there are few studies which take attention to the levels of biomarkers according to the surgery. In this article, we compare the diagnostic using of selected growth factors and the classical tumor markers CEA and CA 15-3 in breast cancer. The group of patients consisted of 89 women with malignant breast cancer in stages I–III, median age 65 years (min. 32 – max. 84 years). For each woman we had two blood samples. The first sample was the final examination before surgery and the second sample was taken up for seven days after surgery. We determined the following parameters: CEA, CA 15-3, IGF1, HGF, EGF, VEGF. We assessed changes in levels of various biomarkers before and after surgery. Serum CEA and CA 15-3 were determined by an analytical system DxI Beckman Coulter (USA), IGF1 using the radioisotopic method IGF1 by IMMUNOTECH IRMA (France). For determination of growth factors HGF, EGF and VEGF was used multiplex panel Luminex xMAP by MERCK (USA). Mean and median of the preoperative values for all biomarkers were higher than postoperative. After the surgery, we have demonstrated a significant decrease in CEA ($p = 0.0046$), CA 15-3 ($p = 0.0278$) and VEGF ($p = 0.0434$). Other biomarkers had higher values before and after the operation lower, but the difference was not statistically significant. In all monitored biomarkers the decreasing the level was observed. A significant decrease was present in CEA, CA 15-3, and VEGF. Decrease in the levels of CEA and CA 15-3 can be considered as a measure of the effect of surgery. VEGF showed a decline on the borderline of significance.

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie byla podpořena projektem Ministerstva zdravotnictví koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00669806 – FN Plzeň a Projektem Ministerstva školství OPVK č. CZ (1.07/2.3.00/20.0040).

LITERATURA

1. Černá M., Ňaršanská A., Třeška V. et al.: IGF1 and tumor markers in different breast cancer stages. *Rozhl. Chir.* 90 (12), 2011: 688–694. – 2. Nekulová M., Simicková M., Pecan L. et al.: Early diagnosis of breast cancer dissemination by tumor markers follow-up and method of prediction. *Neoplasma* 41 (2), 1994: 113–118. – 3. Uratani R., Toiyama Y., Shimura T. et al.: Preoperative Lower Body Mass Index Correlates with Poorer Prognosis in Patients Undergoing Curative Laparoscopic Surgery for Colorectal Cancer. *Anticancer Res.* 35 (10), 2015: 5639–5648. – 4. Samani A. A., Yakar S., LeRoith D. et al.: The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. *Endoc. Rev.* 28, 2007: 20–47. – 5. Chen W., Wang S., Tian T. et al.: Phenotypes and genotypes of insulin-like growth factor 1, IGF-binding protein-3 and cancer risk: evidence from 96 studies. *Eur. J. Hum. Genet.* 17 (12), 2009: 1668–1675. – 6. Werner H., Bruchim I.: The insuline-like growth factor-I receptor as an oncogene. *Arch. Physiol. Biochem.* 115 (2), 2009: 58–71. – 7. Maemura M., Iiono Y., Yokoe T. et al.: Serum concentration of hepatocyte growth factor in patients with metastatic breast cancer. *Cancer Lett.* 126 (2), 1998: 215–20. – 8. El-Attar H. A., Ragab M. S., Sheta Mi. et al.: Hepatocyte Growth Factor in Egyptian Females with Breast Benign Lumps and Cancers, *Asian Pacific J. cancer Prev.* 11, 2010: 893–896. – 9. Carpenter G., Cohen S.: „Epidermal growth factor“. *J. Biol. Chem.* 265 (14), 1990: 7709–12. – 10. Mendes D., Alves C., Afonso N.: The benefit of HER2-targeted therapies on overall survival of patients with metastatic HER2-positive breast cancer – a systematic review. *Breast Cancer Res.* 17 (1), 2015: 140–147. – 11. Booy E. P., Henson E. S., Gibson S. B.: Epidermal growth factor regulates Msl-1 expression through the MAPK-Elk-1 signaling pathway contributing to cell survival in breast cancer, *Oncogene* 30 (20), 2011: 2367–2378. – 12. Holmes K., Roberts, Owain L. I., Thomas, Angharad M.: „Vascular endothelial growth factor receptor-2: Structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition“. *Cellular Signalling* 19 (10), 2007: 2003–2012. – 13. Jing J., Zhao Y. B., Li H. J.: Change and clonic significance of serum VEGF level before and after Brest cancer patiens treated, *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 37 (6), 2006: 889–892.

Adresa autora: R. K., Dr. E. Beneše 13, 305 99 Plzeň