

Janina Kamińska¹, Maria Kowalska¹, Beata Kotowicz¹,
Małgorzata Fuksiewicz¹, Alicja Siedlecka¹, Mariusz Bidziński²

Received: 10.02.2006

Accepted: 02.03.2006

Published: 31.03.2006

Biochemical diagnostics of gynecological malignancies – what's new?

Biochemiczna diagnostyka nowotworów narządu płciowego kobiety
– co nowego?

Биохимический диагноз новообразований в половом органе женщины
– что нового?

¹ Zakład Markerów Nowotworowych Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie.

Kierownik: doc. dr hab. n. med. Janina Kamińska

² Klinika Nowotworów Narządów Płciowych Kobięcych Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie.

Kierownik: doc. dr hab. n. med. Mariusz Bidziński

Correspondence to: Zakład Markerów Nowotworowych Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie, ul. Roentgena 5, 02-781 Warszawa

To perform these studies, the Bioethical Committee of Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center in Warsaw agreement was obtained.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Centrum Onkologii – Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie.

Source of financing: Department own sources

Summary

The analysis of the utility of serum SCC determination, combined with other tumor markers and cytokine assessment in cervical cancer patients, was performed. However, only CA 125 levels were found to relate to the histopathological type of the tumor, and were higher in adenocarcinoma. In addition, in patients with adenocarcinoma, CA 125 presented higher diagnostic sensitivity than CEA, standard tumor marker for cervical cancer. We have also shown that complementary IL-6 and SCC assessment in patients with cervical cancer improve the diagnostic sensitivity, independent of histopathological type. This would be especially important for early diagnostics and monitoring of patients. We have also demonstrated the possible use of bone metabolism markers in patients after oncological treatment with posttreatment osteoporosis, which is a common side effect of cancer treatment. Actually, bone metabolism markers join the array of tumor markers, to monitor osteoporosis treatment. For the monitoring purposes, these markers are more efficient than densitometry methods. Our preliminary results on osteocalcin, PINP and Ctx point at PINP as the most promising marker.

Key words: tumor markers, cytokines, markers of bone turnover, cervical carcinoma, diagnostic sensitivity

Streszczenie

W pracy analizowano przydatność oznaczania SCC z innymi markerami nowotworowymi i cytokinami w surowicy krwi chorych na raka szyjki macicy. Analizując zależność pomiędzy stężeniami badanych markerów nowotworowych i cytokin a typem histopatologicznym, stwierdzono, że stężenia CA 125 były istotnie wyższe u chorych na gruczolowego raka szyjki macicy. Ponadto wykazano, że u chorych na gruczolowego raka szyjki macicy oznaczanie stężeń CA 125 ma większą przydatność diagnostyczną niż oznaczenia CEA, który uznawany jest za standardowy marker dla tego nowotworu. Stwierdzono również, że oznaczanie IL-6 z SCC u chorych na raka szyjki macicy, niezależnie od typu histopatologicznego, zwiększa czułość diagnostyczną, co ma szczególne znaczenie we wczesnych stopniach zaawansowania klinicznego i może być przydatne do monitorowania wyników leczenia. Omówiono także możliwość wykorzystania markerów obrotu kostnego po

leczeniu onkologicznym, które jest często przyczyną licznych powikłań, między innymi takich jak osteoporoza. W chwili obecnej panel markerów nowotworowych został poszerzony o markery obrotu kostnego, które mogą być przydatne w ocenie skuteczności leczenia osteoporozy. Od niedawna stosowane markery obrotu kostnego umożliwiają ocenę skuteczności leczenia w znacznie krótszym czasie niż metody densytometryczne. Do najczęściej wykorzystywanych markerów należą: osteokalcylna, PINP i Ctx. Wyniki naszych wstępnych badań sugerują jednak, że największą przydatność ma oznaczanie stężeń PINP.

Słowa kluczowe: markery nowotworowe, cytokiny, markery obrotu kostnego, rak szyjki macicy, czułość diagnostyczna

Содержание

В работе анализируется пригодность обозначения СЦЦ с другими маркерами новообразований и цитокинами в сыворотке крови больных страдающих раком шейки матки. При проведении анализа зависимости между концентрацией исследуемых маркеров новообразований и цитокин, а также гистопатологическим типом констатировано, что концентрации КА 125 были существенно выше у больных страдающих раком железы шейки матки. Кроме того констатировано, что у больных страдающих раком железы шейки матки обозначение концентрации КА 125 имеет большую диагностическую пригодность чем обозначение КЭА, который признается в качестве стандартного маркера для этого новообразования. Констатировано также, что обозначение ИЛ-6 с СЦЦ у больных страдающих раком шейки матки, независимо от гистопатологического типа, увеличивает диагностическую чувствительность, что это имеет особенное значение в ранних фазах клинического развития и может быть пригодным для мониторинга результатов лечения. Рассмотрена также возможность использования маркеров костного поворота после онкологического лечения, которое часто является причиной многих осложнений, в частности таких как остеопороз. В настоящее время список маркеров новообразований дополнен также маркерами костного поворота, которые могут быть пригодны при оценке эффективности лечения остеопороза. Применяемые в последнее время маркеры костного поворота дают возможность оценить действенность лечения в значительно более короткое время в сравнении с денситометрическими методами. К числу наиболее часто применяемых маркеров принадлежат: остеокальцин, ПИНП и Ктикс. Результаты наших предварительных исследований подсказывают однако, что больше всего пригодно обозначение концентрации ПИНП.

Ключевые слова: маркеры новообразований, цитокины, маркеры костного поворота, рак шейки матки, диагностическая чувствительность

Actual methods of oncological treatment are based on rising range of diagnostic methods, which help not only in optimal treatment method choice, but also more efficient its result evaluation. One of numerous methods, which allows for quick treatment result assessment, is the serum level tumor marker evaluation, used especially for this purpose. However, only not numerous, due to high diagnostic sensitivity and specificity, as β hCG in trophoblastic disease, have found their adaptation, both in diagnostic and treatment algorithms. Therefore, searching for new markers which together with already recognized would increase the diagnostic sensitivity to use them not only for treatment monitoring, but also in complex diagnostics of patient with malignancies. In early gynecological malignancies, especially in cervical cancer, the diagnostic sensitivity of standard markers is not satisfying, that's why searching for a new markers, especially in early cervical cancer, goes on. Such hope is set on cytokines⁽¹⁻⁵⁾. Very often in neoplastic processes takes place uncontrolled and frequently genes of cytokines overexpression and their receptors in the tumor cells, and increasing of their synthesis in stromal cells of organs with neoplastic lesions. If cytokines and their free receptors are released to the body fluids in sufficiently high concentration, may be the markers

Współczesne metody leczenia chorych na nowotwory złośliwe oparte są na coraz większym zakresie badań, które umożliwiają nie tylko dobór optymalnej strategii leczenia, ale również lepszą ocenę skuteczności jej stosowania. Do metod pozwalających na szybką ocenę odpowiedzi na leczenie zalicza się oznaczenie w surowicy krwi markerów nowotworowych, które są w tym celu przede wszystkim wykorzystywane. Jednak tylko nieliczne z nich, ze względu na wysoką czułość i swoistość diagnostyczną, tak jak β hCG w chorobie trofoblastycznej, znalazły zastosowanie zarówno w rozpoznawaniu, jak i algorytmie leczenia. Zatem nieustannie poszukuje się nowych markerów, które łącznie z już uznanymi zwiększyłyby czułość diagnostyczną na tyle, aby można je było wykorzystać nie tylko w monitorowaniu leczenia, ale również w kompleksowej diagnostyce chorych na nowotwory złośliwe. W niezaawansowanych nowotworach narządów rodnych kobiety, głównie w raku szyjki macicy, czułość diagnostyczna standardowych markerów nie jest satysfakcjonująca, dlatego poszukuje się nowych, przydatnych szczególnie we wczesnych etapach choroby. Nadzieje takie wiąże się z cytokinami⁽¹⁻⁵⁾. W procesach nowotworowych dochodzi bardzo często do nadmiernej i niekontrolowanej ekspresji genów cytokin i ich receptorów w komórkach nowotworowych oraz

useful in diagnostics, prognostication and monitoring of the malignant disease.

Increased cytokines release may be probably the factor connected with malignancy progression inter alia through the tumor cells stimulation, apoptosis inhibition, and the action, facilitating the healthy tissues malignant infiltration^(6,7). The fact that in many locations parallel growth of cytokines series and their free receptors, belonging to the different functions groups, is observed, takes notice⁽⁸⁻¹³⁾. Our earlier studies, analyzing the connection between different function cytokines concentration and clinical-pathologic features, as: large intestine cancer, lung cancer, soft tissue and bone sarcomas, demonstrated their utility in clinical practice⁽¹⁰⁻¹³⁾.

Also the studies, concerning the usefulness of cytokines: IL-6 and VEGF, and tumor markers, as: SCC, CEA and CA 125 assessment in cervical cancer patient, were performed.

The obtained results indicate that the IL-6 indicating with the standard SCC evaluation in cervical cancer patients, independently of the histological type of the tumor, improves the diagnostic sensitivity, what is especially important in early stage of the disease and may be helpful for the treatment monitoring. There was also demonstrated that in cervical adenocarcinoma cancer patients, the serum CA 125 concentration evaluation proved higher diagnostic utility than CEA, standard tumor marker for cervical cancer. In the literature we have not found the studies concerning the diagnostic sensitivity growth through the tumor marker, together with the cytokines assessment. Most of presented reports referred the cytokine utility evaluation as the independent prognostic factors^(2,9). Therefore, follow-up of cervical cancer patients, to determine if tested cytokines may have sense as the independent prognostic factors, is significant. Actually, bone metabolism markers have joined the array of tumor markers.

Significant problem in oncology is not only malignant disease treatment, but also the quality of life after treatment. The common side effect of cancer treatment is osteoporosis.

Osteoporosis is a bone disease, proceeding with the lowered bone mass, and going with deprived microarchitectonics of bone tissue. Both these processes lead to hypodensity and increased bone fracture risk.

The mineral bone density dysfunction is assessed with roentgen densitometry methods. However, the treatment effects may be evaluated with this method at the earliest after one year's treatment time. Short time since the bone metabolism markers, which are more efficient than densitometry methods, and enable the treatment effectiveness monitoring in 3 to 6 months after the treatment beginning, are used.

During the World Congress on Osteoporosis in 2000 year, there was recognized that from among wide panel of bone metabolism markers: b-ALP (bone fraction of

do ich zwiększonej syntezy w komórkach zrębu narządów, w których rozwija się nowotwór. Jeżeli cytokiny i ich wolne receptory są uwalniane do płynów ustrojowych w wystarczająco wysokich stężeniach, to mogą być markerami użytecznymi w rozpoznawaniu, prognozowaniu i monitorowaniu leczenia choroby nowotworowej.

Prawdopodobnie zwiększone uwalnianie cytokin może być czynnikiem związanym z progresją procesów nowotworowych między innymi poprzez stymulację komórek nowotworowych, hamowania apoptozy oraz oddziaływania ułatwiającego naciekanie przez nowotwór zdrowych tkanek sąsiednich^(6,7). Zwraca uwagę fakt, że w wielu lokalizacjach obserwuje się równoległy wzrost szeregu cytokin i ich wolnych receptorów należących do grup o różnych funkcjach⁽⁸⁻¹³⁾.

Wcześniejsze nasze badania analizujące związek stężeń cytokin o różnych funkcjach z cechami kliniczno-patologicznymi nowotworów, takich jak: rak jelita grubego, płuca, mięsaki tkanek miękkich i kości, wykazały ich przydatność w praktyce klinicznej⁽¹⁰⁻¹³⁾.

Prowadzono również badania oceny przydatności cytokin: IL-6 i VEGF oraz markerów nowotworowych: SCC, CEA i CA 125 u chorych na raka szyjki macicy. Uzyskane wyniki wskazują, że oznaczanie IL-6 ze standardowo oznaczanym SCC u chorych na raka szyjki macicy, niezależnie od typu histopatologicznego, zwiększa czułość diagnostyczną, co ma szczególne znaczenie we wczesnych stopniach zaawansowania klinicznego i może być przydatne do monitorowania wyników leczenia. Stwierdzono również, że u chorych na gruczołowego raka szyjki macicy oznaczanie stężeń CA 125 ma większą przydatność diagnostyczną niż oznaczenia CEA, który uznawany jest za standardowy marker dla tego nowotworu. W piśmiennictwie nie znaleziono prac dotyczących zwiększenia czułości diagnostycznej poprzez równoczesne oznaczenie markerów nowotworowych z cytokinami. Większość publikowanych prac dotyczyła przede wszystkim oceny przydatności cytokin jako niezależnych czynników prognostycznych^(2,9). Zatem istotna jest dalsza obserwacja chorych, celem określenia, czy badane cytokiny mogą mieć znaczenie jako niezależne czynniki prognostyczne u chorych na raka szyjki macicy.

W chwili obecnej panel markerów nowotworowych został poszerzony o markery obrotu kostnego.

Istotnym problemem w onkologii jest nie tylko wyleczenie choroby nowotworowej, ale także troska o komfort dalszego życia pacjentek. Stosowana terapia często stanowi powód licznych powikłań, między innymi takich jak osteoporoza.

Osteoporoza jest chorobą układu kostnego, przebiegającą ze zmniejszoną masą kostną i towarzyszącą upośledzoną mikroarchitektoniką tkanki kostnej. Oba te procesy powodują zmniejszoną odporność kości na urazy mechaniczne i zwiększone ryzyko złamań.

Zaburzenia gęstości mineralnej kości ocenia się przede wszystkim przy użyciu densytometrii rentgenowskiej.

alkaline phosphatase), OC (osteocalcin), PINP (N-ended propeptide of procollagen I) – bone development markers, and PYD (pyridinoline), DPD (deoxypyridinoline), Ntx (N-ended chained alpha collagen type I telopeptide) and Ctx (C-ended chained alpha collagen type I telopeptide) – resorption markers, may be the most useful⁽¹⁴⁾.

However, the most frequent used markers are: osteocalcin, PINP and Ctx, which serum concentration may be evaluated in analyzers, providing fast results obtainment. The bone metabolism markers measurement is mostly used for the treatment effectiveness assessment.

In the treatment response evaluation, the most important problem in clinical interpretation of the results is the definition of the threshold value (the lowest significant change of tumor marker concentration, which is not a result of individual variability). Its value depends mostly on the preparation used, and the type of the tumor marker. The marker serum concentration reduction is greater during the biphosphonate treatment than during the HRT.

The presented bone metabolism markers and the scheme of their application enable early treatment result evaluation, and the quality of life improvement in patients for who osteoporosis is not the only side effect of oncological treatment.

BIBLIOGRAPHY:

PISMIENNICTWO:

1. Atwell D.M., Grichnik K.P., Newman M.F. i wsp.: Balance of proinflammatory and antiinflammatory cytokines at thoracic cancer operation. *Ann. Thorac. Surg.* 1998; 66: 1145-1150.
2. Bachtary B., Selzer E., Knoke T.H. i wsp.: Serum VEGF levels in patients undergoing primary radiotherapy for cervical cancer: impact on progression-free survival. *Cancer Lett.* 2002; 179: 197-203.
3. Dinarello C.A.: The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343: 732-734.
4. Mitsuhashi A., Suzuka K., Yamazawa K. i wsp.: Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C levels as tumor markers in patients with cervical carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 724-730.
5. Ferdeghini M., Gadducci A., Prontera C. i wsp.: Serum interleukin-6 levels in uterine malignancies. Preliminary data. *Anticancer Res.* 1994; 14 (2B): 735-737.
6. Lin M.T., Juan C.Y., Chang K.J. i wsp.: IL-6 inhibits apoptosis and retains oxidative DNA lesions in human gastric cancer AGS cells through up-regulation of anti-apoptotic gene mcl-1. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1947-1953.
7. Miyamoto Y., Hosotani R., Doi R. i wsp.: Interleukin-6 inhibits radiation induced apoptosis in pancreatic cancer cells. *Anticancer Res.* 2001; 21 (4A): 2449-2456.
8. Kamińska J., Kowalska M., Rysińska A.: Cytokiny w surowicy krwi u chorych na nowotwory złośliwe. *Nowotwory* 1999; 49: 21.
9. Lebrecht A., Ludwig E., Huber A. i wsp.: Serum vascular endothelial growth factor and serum leptin in patients with cervical cancer. *Gynecol. Oncol.* 2002; 85: 32-35.
10. Kamińska J., Nowacki M.P., Kowalska M. i wsp.: Clinical significance of serum cytokine measurements in untreated

Metodą tą efekty leczenia mogą być jednak oceniane najwcześniej po rocznej terapii. Od niedawna stosuje się markery obrotu kostnego, które umożliwiają ocenę skuteczności leczenia w znacznie krótszym czasie, tj. po 3-6 miesiącach od rozpoczęcia terapii.

Na Światowym Kongresie Osteoporozy w 2000 roku uznano, że z szerokiego panelu markerów obrotu kostnego najbardziej przydatne w ocenie leczenia mogą być: b-ALP (frakcja kostna alkalicznej fosfatazy), OC (osteokalcyna) i PINP (N-końcowy propeptyd prokolagenu typu I) z markerów kościotworzenia oraz PYD (pyridinolina), DPD (deoksypyridinolina), Ntx (N-końcowy usieciowany telopeptyd łańcucha alfa kolagenu typu I) i Ctx (C-końcowy usieciowany telopeptyd łańcucha alfa kolagenu typu I) z markerów resorpcji⁽¹⁴⁾.

Jednak do najczęściej wykorzystywanych markerów należą: osteokalcyna, PINP i Ctx, których stężenia w surowicy krwi można oznaczyć na analizatorach, umożliwiającym szybkie uzyskanie wyników.

Pomiar stężenia markerów obrotu kostnego wykorzystywany jest przede wszystkim do oceny skuteczności stosowanego leczenia.

W ocenie odpowiedzi na leczenie najważniejszy problem w klinicznej interpretacji wyników stanowi określenie wartości progowej (najmniejszej znaczącej zmiany stężenia danego markera, która nie jest wynikiem zmienności wewnątrzosobniczej). Jej wartość zależy przede wszystkim od rodzaju stosowanego preparatu oraz oznaczanego markera. Obniżenie stężeń markerów jest większe w czasie leczenia bifosfonianami niż w czasie stosowania HRT. Przedstawione markery obrotu kostnego oraz schemat ich zastosowania umożliwiają wczesną ocenę skuteczności stosowanej terapii – jej celem jest zapewnienie komfortu życia chorym, dla których osteoporoza nie jest jedynym skutkiem ubocznym przebytego leczenia.

ed colorectal cancer patients: soluble tumor necrosis factor receptor type I – an independent prognostic factor. *Tumour Biol.* 2005; 26: 186-194.

11. Rutkowski P., Kamińska J., Kowalska M. i wsp.: Cytokine serum levels in soft tissue sarcoma patients: correlations with clinico-pathological features and prognosis. *Int. J. Cancer* 2002; 100: 463-471.
12. Rutkowski P., Kamińska J., Kowalska M. i wsp.: Cytokine and cytokine receptor serum levels in adult bone sarcoma patients: correlations with local tumor extent and prognosis. *J. Surg. Oncol.* 2003; 84: 151-159.
13. Kamińska J., Kowalska M., Kotowicz B. i wsp.: Pretreatment serum levels of cytokines and cytokine receptors in patients with non-small cell lung cancer, and correlations with clinicopathological features and prognosis. M-CSF – an independent prognostic factor. *Oncology w druku* 2006.
14. Karczmarewicz E.: Wartość diagnostyczna markerów obrotu kostnego – uzgodnienia 2000. W: Lorenc R.S. (red.): *Diagnostyka osteoporozy 2000*. Osteoforum, Warszawa 2000: 233-247.