

Celem pracy było określenie zależności pomiędzy stężeniami oznaczanych w surowicy krwi markerów nowotworowych (SCC, CEA, CA 125, CYFRY 21.1) i cytokin (IL-6, VEGF) a cechami kliniczno-patologicznymi oraz ocena ich komplementarnego oznaczania u chorych na raka szyjki macicy. Badania wykonano u 200 chorych przed leczeniem, z potwierdzonym rakiem szyjki macicy. Wykazano, że stężenia wszystkich badanych markerów nowotworowych i cytokin korelują ze stopniem zaawansowania klinicznego nowotworu. Stwierdzono, że stężenia CA 125 były istotnie wyższe u chorych na gruczolowego raka szyjki macicy. Ponadto u chorych na raka gruczolowego wykazano wyższą czułość diagnostyczną CA 125 niż CEA. Analizowano także przydatność komplementarnego oznaczania SCC z innymi markerami nowotworowymi i cytokinami w surowicy krwi chorych na raka szyjki macicy, w zależności od typu histopatologicznego nowotworu. U chorych z potwierdzonym rakiem płaskonabłonkowym największy wzrost czułości diagnostycznej zarówno we wczesnych, jak i w wyższych stopniach zaawansowania klinicznego uzyskano poprzez oznaczanie SCC z IL-6. U chorych na gruczolowego raka szyjki macicy uzyskano największy wzrost czułości diagnostycznej poprzez komplementarne oznaczanie SCC z cytokinami i CA 125.

Wnioski: Komplementarne oznaczanie IL-6 ze standardowym markerem SCC u chorych na raka szyjki macicy, niezależnie od typu histopatologicznego, zwiększa czułość diagnostyczną, co ma szczególne znaczenie we wczesnych stopniach zaawansowania klinicznego nowotworu. U chorych na gruczolowego raka szyjki macicy oznaczanie stężeń CA 125 ma większą przydatność diagnostyczną niż CEA.

Słowa kluczowe: markery nowotworowe, IL-6, VEGF, rak szyjki macicy.

Kliniczne znaczenie komplementarnych oznaczeń standardowych markerów nowotworowych i wybranych cytokin w surowicy krwi chorych na raka szyjki macicy

Clinical utility of complementary measurements standard tumor markers and cytokines in patients with cervical cancer

Beata Kotowicz, Maria Kowalska, Małgorzata Fuksiewicz, Janina Kamińska

Zakład Markerów Nowotworowych, Centrum Onkologii
– Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Wstęp

Rak szyjki macicy jest najczęstszym nowotworem złośliwym narządu rodowego kobiety. Można go wykryć już we wczesnym stadium rozwoju, dzięki prowadzonej na szeroką skalę skutecznej cytodiagnostyce. Badanie cytologiczne nie jest jednak wystarczającym testem przesiewowym dla raka gruczolowego szyjki macicy [1]. Wykrycie raka w jego stadium przedinwazyjnym pozwala na 100-% wyleczenie. Niestety, w Polsce rozpoznaje się go najczęściej w wysokich stopniach zaawansowania klinicznego. W przedstawionej pracy wyraźnie wyższy odsetek (71%) również stanowiły chore w wysokich stopniach zaawansowania klinicznego. Niekorzystna struktura w stopniach zaawansowania wpływa na wyniki leczenia i świadczy o nieefektywności działań profilaktycznych [2]. Dlatego obok doskonalenia programu badań przesiewowych istnieje potrzeba poprawy diagnostyki chorych poprzez prowadzenie różnorodnych badań, które mogą mieć wpływ na wczesne wykrywanie, ocenę skuteczności leczenia oraz prognozowanie przebiegu choroby nowotworowej.

Od wielu lat dokonuje się weryfikacji użyteczności diagnostycznej zarówno standardowych, jak i potencjalnych markerów nowotworowych. Jednym z budzących ogromne zainteresowanie kierunków poszukiwań są badania dotyczące znaczenia cytokin. W ostatnich latach okazało się, że cytokiny mogą być potencjalnymi markerami nowotworowymi, szczególnie przydatnymi w prognozowaniu i monitorowaniu leczenia [3–6].

Cel pracy

Celem badań było określenie zależności pomiędzy stężeniami oznaczanych w surowicy krwi markerów nowotworowych (SCC, CEA, CA 125, CYFRY 21.1) i cytokin (IL-6, VEGF) a stopniem zaawansowania klinicznego, stopniem złośliwości histologicznej i typem histopatologicznym u chorych na raka szyjki macicy.

Materiał i metody

Badania wykonano u 200 chorych przed leczeniem, z potwierdzonym rakiem szyjki macicy, w tym u 27 chorych na raka gruczolowego. Stopnie zaawansowania klinicznego określono wg klasyfikacji FIGO. Typ histopatologiczny raka i stopień złośliwości histologicznej oceniano na podstawie bada-

We aimed to relate the levels of serum tumour markers (CEA, CA 125, CYFRA 21.1) and cytokines (IL-6, VEGF) in cervical cancer patients to the clinicopathologic features of the disease and to estimate the value of these measurements as complementary to the standard tumour marker (SCC) assessment. The study comprised 200 untreated patients with confirmed cervical cancer. All the examined serum markers and cytokines were found to correlate with the clinical stage. CA 125 concentrations were found significantly higher in adenocarcinoma of the uterine cervix, as compared to squamous cell carcinoma. Circulating CA 125 in cervical adenocarcinoma proved to have a better diagnostic sensitivity than CEA. The best diagnostic sensitivity was shown for simultaneous measurements of SCC and IL-6. The use of other tumour markers and cytokines assessed complementary to SCC in the sera of patients with cervical cancer of different histopathological type was also studied. In patients with histologically confirmed squamous cell carcinoma the highest increase of diagnostic sensitivity was achieved by SCC measurements along with IL-6. In patients with adenocarcinoma, cytokine and CA 125 measurements complementary to SCC produced the best diagnostic sensitivity.

Conclusions: In patients with cervical carcinoma, serum IL-6 measurements complementary to SCC, the standard tumour marker assessed in cervical carcinoma patients, improve diagnostic sensitivity. This is especially important and useful for patients in the early clinical stages. In patients with cervical adenocarcinoma, CA 125 presents a better diagnostic value than CEA.

Key words: tumour markers, IL-6, VEGF, cervical cancer.

nia histopatologicznego. Cechy kliniczno-patologiczne chorych przedstawiono w tabeli 1.

Grupę referencyjną stanowiło 50 zdrowych osób, pracowników Centrum Onkologii – Instytutu w Warszawie w wieku 19–71 lat (mediana wieku – 49 lat).

U wszystkich badanych chorych oznaczano w surowicy krwi stężenia markerów nowotworowych, takich jak: SCC, CEA, CA 125, CYFRA 21.1 oraz cytokin: IL-6 i VEGF.

Markery nowotworowe – CEA i CA 125 – oznaczano w surowicy krwi w systemie AXSYM, a SCC w systemie IMX zestawami firmy Abbott Diagnostics, natomiast CYFRA 21.1 oznaczano w systemie Modular E170 zestawami firmy Roche Diagnostics. Cytokiny oznaczano metodą ELISA zestawami firmy R&D Systems (Minneapolis, USA).

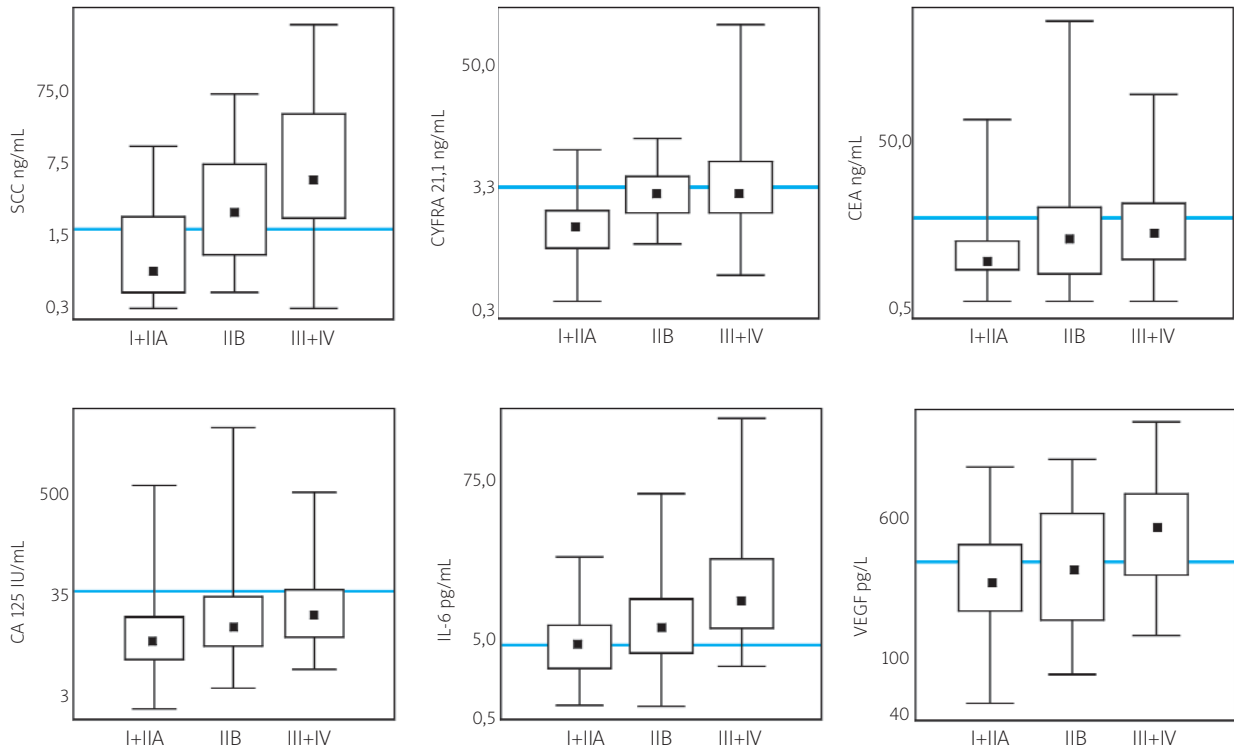
Wyniki

Wykazano, że stężenia wszystkich badanych markerów nowotworowych i cytokin korelują ze stopniem zaawansowania klinicznego nowotworu (ryc. 1). 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 (ryc. 2). Ponadto u chorych na raka gruczolowego wykazano wyższą czułość diagnostyczną CA 125 niż CEA, który jest uznawany za standardowy marker dla tego nowotworu. Nie wykazano różnic znamienych w zależności od stopnia złośliwości histologicznej.

Oceniano również przydatność komplementarnego oznaczania SCC z innymi markerami nowotworowymi i cytokinami w surowicy krwi chorych, w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego. Największą czułość diagnostyczną uzyskano dla komplementarnego oznaczania SCC z IL-6. U chorych we wczesnych stopniach zaawansowania klinicznego (I + IIA) niską czułość diagnostyczną SCC (28%) zwiększono do 60% poprzez oznaczanie SCC z IL-6 (ryc. 3.). U chorych w wyższych stopniach zaawansowania klinicznego, pomimo że czułość diagnostyczna SCC była wysoka: w stopniu IIB – 63%, a w stopniach III + IV – 80%, komplementarne oznaczanie SCC z IL-6 zwiększyło czułość odpowiednio do 91% i 100%. Analizowano także przydatność komplementarnego oznaczania SCC z innymi markerami nowotworowymi i cytokinami w surowicy krwi chorych na raka szyjki macicy, w zależności od typu histopatologicznego nowotworu. U chorych z potwierdzonym rakiem płaskonabłonkowym, który stanowił zdecydowaną przewagę w całej badanej grupie, naj-

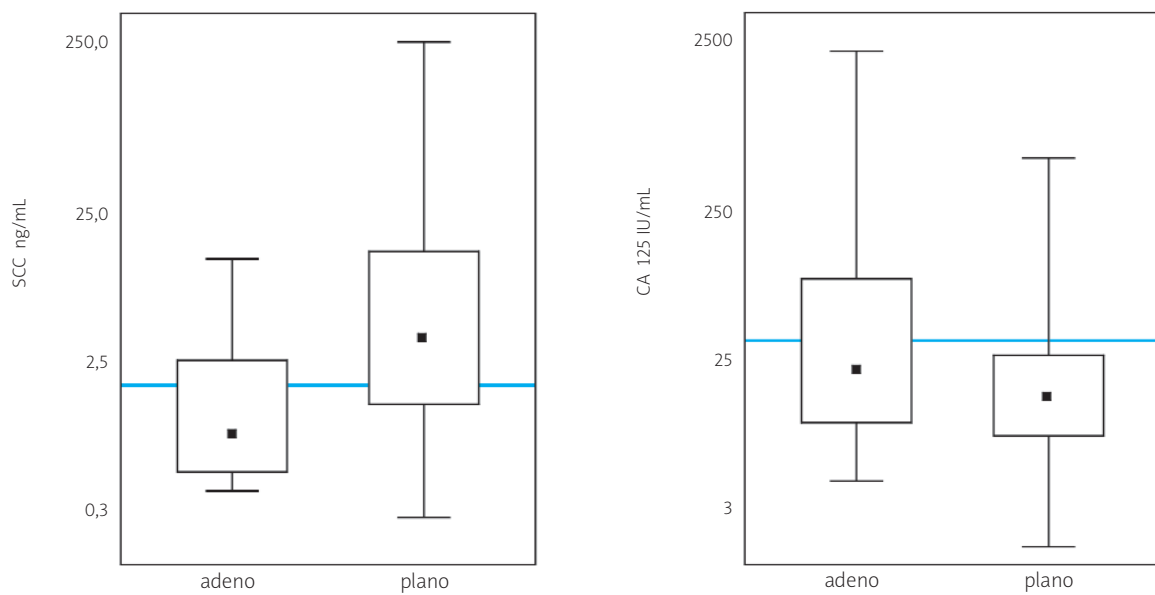
Tabela 1. Charakterystyka kliniczno-patologiczna chorych na raka szyjki macicy
Table 1. Clinicopathological characteristics of patients

Parametry	Liczba chorych	Odsetek chorych
1) wiek		
<50 lat (okres przedmenopauzalny)	73/200	37
≥50 lat (okres pomenopauzalny)	127/200	63
2) stopień zaawansowania klinicznego (FIGO)		
I	47/200	24
IIA	10/200	5
IIB	43/200	21
III	91/200	46
IV	9/200	4
3) typ histopatologiczny		
rak gruczolowy	27/200	14
rak płaskonabłonkowy	173/200	86
4) stopień złośliwości histologicznej (G)		
G1	8/95	8
G2	53/95	56
G3	34/95	36



Ryc. 1. Rozkład stężeń i median SCC, CYFRA 21.1, CEA, CA 125, IL-6 i VEGF w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego chorych na raka szyjki macicy

Fig. 1. Concentrations of serum SCC, CYFRA 21.1, CEA, CA 125, IL-6 and VEGF (ranges and medians) in patients with cervical cancer, related to clinical stage



Ryc. 2. Rozkład stężeń i median SCC i CA 125, w zależności od typu histopatologicznego raka szyjki macicy

Fig. 2. Concentrations of serum SCC and CA 125 (ranges and medians) in patients with cervical cancer, related to the histopathological type

większy wzrost czułości diagnostycznej zarówno we wczesnych, jak i w wyższych stopniach zaawansowania klinicznego uzyskano również poprzez oznaczanie SCC z IL-6. U chorych na gruczolakowatego raka szyjki macicy, które stanowiły stosunkowo niewielką grupę, w prowadzonej analizie nie uwzględniano stopnia zaawansowania klinicznego. Uzyskano największy wzrost czułości diagnostycznej poprzez komplementarne oznaczanie SCC (30%): IL-6 do 86%, VEGF do 65% i CA 125 do 63%.

Omówienie wyników

SCC jako antygen raka płaskonabłonkowego od dawna jest uznawany za standardowy marker nowotworowy raka szyjki macicy. Czulość diagnostyczna SCC zależy od stopnia zaawansowania klinicznego i kształtuje się u chorych na raka płaskonabłonkowego w granicach 28–80%, podczas gdy u chorych na raka gruczolakowatego, jest znacznie niższa (10–38%) [7–9]. W niskich stopniach zaawansowania klinicznego SCC charakteryzuje się z reguły niezadowalającą czułością diagnostyczną.

Na podstawie przeglądu piśmiennictwa z ostatnich lat wynika, że u chorych na raka szyjki macicy kliniczne znaczenie może mieć nie tylko oznaczanie stężeń SCC i CEA, ale również CA 125, CYFRA 21.1, IL-6 i VEGF [9–16].

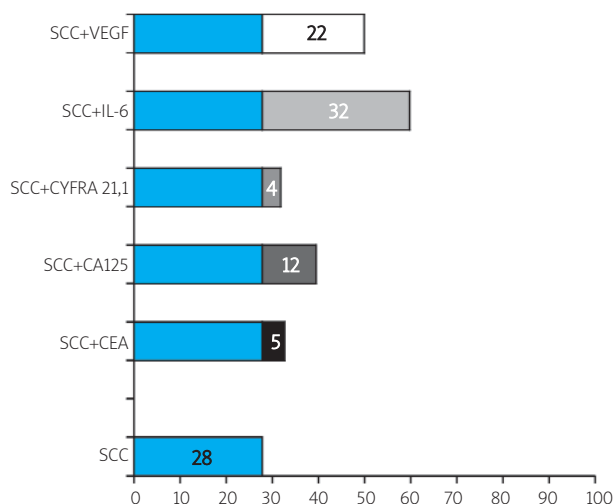
Wiadomo z piśmiennictwa, że u chorych na raka szyjki macicy częstość podwyższonych wyników CA125 zależy od stopnia zaawansowania klinicznego oraz od typu histopatologicznego nowotworu. Czulość diagnostyczna tego markera jest wyższa u chorych na raka gruczolakowatego w porównaniu z chorymi na raka płaskonabłonkowego [9, 17, 18].

W badaniach własnych wykazano, że w analizowanej grupie chorych, spośród oznaczanych markerów nowotworowych i cytokin, najczęściej podwyższone były stężenia IL-6, VEGF i SCC.

Wykazano znamienne wyższe stężenia IL-6 i VEGF w porównaniu z ich stężeniami w grupie referencyjnej. Uzyskane wyniki były zgodne z badaniami Mitsuhashi i wsp., którzy wykazali istotnie wyższe stężenia VEGF u chorych na raka niż u zdrowych kobiet [19]. Z kolei inni autorzy obserwowali wyższe stężenia IL-6 u chorych w porównaniu z osobami zdrowymi i chorymi z łagodnymi zmianami [11, 20]. W badaniach własnych wykazano wysoką czułość diagnostyczną dla cytokin IL-6 i VEGF. Podobne wyniki uzyskał Scambia i wsp., którzy wykazali wyższą czułość diagnostyczną IL-6 niż SCC [21].

Wykazano również dodatnią korelację stężeń badanych markerów nowotworowych i cytokin ze stopniem zaawansowania klinicznego chorych. Najsilniejszą korelację stwierdzono dla standardowego markera SCC oraz dla IL-6. Tylko w nielicznych pracach analizowano związek stężeń cytokin z cechami kliniczno-patologicznymi chorych na raka szyjki macicy. Autorzy ci wykazali podobną zależność dla IL-6 [11, 20]. Mitsuhashi i wsp. wykazali związek stężeń VEGF ze stopniem zaawansowania klinicznego tylko u chorych na płaskonabłonkowego raka szyjki macicy [19].

Analizując związek stężeń badanych markerów nowotworowych i cytokin ze stopniem złośliwości histologicznej (G), nie stwierdzono różnic znamienych statystycznie. W dostępnym piśmiennictwie spotkano tylko dwie prace,



Ryc. 3. Czulość diagnostyczna komplementarnego oznaczania SCC z: CEA, CA 125, CYFRA 21.1, IL-6 i VEGF u chorych na raka szyjki macicy w stopniach I + IIA

Fig. 3. Diagnostic sensitivity of CEA, CA 125, CYFRA 21.1, IL-6 and VEGF measurements complementary to SCC determinations in patients with the stages I + IIA cervical carcinoma

w których również autorzy nie wykazali takiej zależności dla SCC i VEGF [13, 22].

Istotną cechą kliniczno-patologiczną u chorych na raka szyjki macicy, budzącą duże zainteresowanie w ostatnich latach, jest typ utkania histopatologicznego nowotworu. W przedstawionej pracy wykazano istotnie wyższe stężenia jedynie CA 125 u chorych na raka gruczolakowatego w porównaniu z jego stężeniami u chorych na raka płaskonabłonkowego. Uzyskane wyniki są zgodne z doniesieniami literaturowymi, wskazującymi na związek tego markera z postacią gruczolakowatego raka [12, 17]. W badaniach własnych wykazano wyższą czułość diagnostyczną CA 125 w raku gruczolakowym w porównaniu z CEA, który jest uznanym markerem dla tego typu nowotworu.

W niniejszej pracy wykazano zależność stężeń SCC z typem histopatologicznym raka szyjki macicy, które były istotnie wyższe u chorych z płaskonabłonkowym typem raka. Nie wykazano natomiast istotnej zależności stężeń CEA z typem raka, obserwowano jedynie jego nieznacznie wyższą czułość diagnostyczną u chorych na raka gruczolakowatego, co jest zgodne z najnowszymi doniesieniami [14]. Na tej podstawie wydaje się, że oznaczanie CA 125 może być pomocne zarówno w diagnostyce, jak i monitorowaniu skuteczności leczenia chorych na raka szyjki macicy, szczególnie, gdy stężenia SCC pozostają poniżej punktu odcięcia.

W badaniach własnych oceniano czułość diagnostyczną komplementarnego oznaczania SCC z markerami: CEA, CA 125, CYFRA 21.1 oraz cytokinami: IL-6 i VEGF. Znaczny wzrost niskiej czułości SCC u chorych we wczesnych stopniach zaawansowania uzyskano poprzez oznaczanie tego markera z cytokinami, a szczególnie z IL-6. Równoczesne oznaczanie pozostałych markerów nowotworowych nie wpłynęło zasadniczo na uzyskaną czułość diagnostyczną, co jest zgodne z doniesieniami Moliny i wsp. [14].

U chorych na raka płaskonabłonkowego, które stanowią większość badanych, wykazano najwyższą czułość diagnostyczną łącznie oznaczania SCC z IL-6 i VEGF, podobnie jak w całej grupie chorych. Natomiast oznaczanie SCC z innymi markerami: CEA, CA 125, CYFRA 21.1 u chorych na raka płaskonabłonkowego nie wpłynęło na istotny wzrost czułości diagnostycznej. Zatem komplementarne oznaczanie SCC z IL-6 lub VEGF może mieć znaczną użyteczność kliniczną, przede wszystkim we wczesnych stopniach zaawansowania klinicznego.

U chorych na raka gruczołowego wykazano również najwyższą czułość diagnostyczną oznaczania SCC z cytokinami. Spośród badanych markerów nowotworowych komplementarne oznaczanie SCC z CA 125 2-krotnie zwiększa czułość diagnostyczną, natomiast pozostałe markery tylko nieznacznie wpływają na zwiększenie jej wartości. W dostępnym piśmiennictwie nie spotkano podobnych prac. Zatem u chorych na gruczołowego raka szyjki macicy najistotniejsze znaczenie kliniczne ma łącznie oznaczanie SCC z antygenem CA 125, wymaga to jednak potwierdzenia na większej liczbie chorych. Badanie stężeń CA 125 może mieć szczególne znaczenie w monitorowaniu leczenia tych chorych, u których wartości SCC pozostają niepodwyższone.

U chorych na raka szyjki macicy niezależnie od typu histopatologicznego komplementarne oznaczanie cytokiny IL-6 ze standardowym markerem SCC zwiększa czułość diagnostyczną, co ma szczególne znaczenie we wczesnych stopniach zaawansowania klinicznego i może być przydatne do monitorowania wyników leczenia.

Piśmiennictwo

1. Rekosz M, Karska A, Osiecka-Tęсны E, Jackowska A, Wójcińska M. 15 lat aktywnych badań przesiewowych raka szyjki macicy, prowadzonych przez Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Curie-Skłodowskiej w Warszawie – dotychczasowe rezultaty. *Nowotwory* 2003; 53 (supl. 2): 62-9.
2. Zieliński J, Rekosz M. Rak szyjki macicy – czy można zmniejszyć śmiertelność z powodu tej choroby w Polsce? *Współ Onkol* 2000; 4: 216-17.
3. Kamińska J, Nowacki MP, Kowalska M, Rysińska A, Chwaliński M, Fuksiewicz M, Michalski W, Chechlińska M. Clinical significance of serum cytokine measurements in untreated colorectal cancer patients: Soluble tumor necrosis factor receptor type I - an independent prognostic factor. *Tumor Biol* 2005; 26: 186-94.
4. Kamińska J, Kowalska M, Kotowicz B, Fuksiewicz M, Głogowski M, Wójcik E, Chechlińska M, Steffen J. 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* 2006; 70: 115-25.
5. Mroczko B, Szmitkowski M, Wereszczyńska-Sięmiątkowska U, Jurkowska G. Hematopoietic cytokines in the sera of patients with pancreatic cancer. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 146-50.
6. Rutkowski P, Kamińska J, Kowalska M, Ruka W, Steffen J. Cytokine serum levels in soft tissue sarcoma patients: Correlations with clinico-pathological features and prognosis. *Int J Cancer* 2002; 100: 463-71.
7. Kulpa J. Diagnostyka biochemiczna chorób nowotworowych. W: Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Dębińska-Kieć A, Nastalski J (red.). Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 2002; 853-83.
8. Kulpa J, Markowska J. Diagnostyka biochemiczna chorych na raka szyjki macicy. W: Onkologia ginekologiczna. Markowska J (red.). Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 2002; 470-9.
9. Massuger LF, Koper NP, Thomas CM, Dom KE, Schijf CP. Improvement of clinical staging in cervical cancer with serum squamous cell carcinoma antigen and CA125 determinations. *Gynecol Oncol* 1997; 64: 473-6.
10. Cheng WF, Chen CA, Lee CN, Wei LH, Hsieh FJ, Hsieh CY. Vascular endothelial growth factor and prognosis of cervical carcinoma. *Obstet Gynecol* 2000; 96: 721-6.
11. Ferdeghini M, Gadducci A, Prontera C, Bonuccelli A, Annicchiarico C, Fanucchi A, Facchini V, Bianchi R. Serum interleukin-6 levels in uterine malignancies. Preliminary data. *Anticancer Res* 1994; 14: 735-7.
12. Gadducci A, Cosio S, Carpi A, Nicolini A, Genazzani AR. Serum tumor markers in the management of ovarian, endometrial and cervical cancer. *Biomed and Pharmacoth* 2004; 58: 24-38.
13. Lebrecht A, Ludwig E, Huber A, Klein, Schneeberger C, Tempfer C, Koelbl H, Hefler L. Serum vascular endothelial growth factor and serum leptin in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2002; 85: 32-5.
14. Molina R, Filella X, Auge JM, et al. CYFRA 21.1 in patients with cervical cancer: comparison with SCC and CEA. *Anticancer Res* 2005; 25: 1765-71.
15. Wei LH, Kuo ML, Chen CA, Cheng WF, Cheng SP, Hsieh FJ, Hsieh CY. Interleukin-6 in cervical cancer: relationship with vascular endothelial growth factor. *Gynecol Oncol* 2001; 82: 49-56.
16. Puthucode-Easwaran S, Naik R, Athavale R, Handley G, Lopes A, Godfrey K, Hatem M. Comparison of pre-treatment CYFRA 21-1 and SCC-Antigen assay in primary cervical carcinoma - a preliminary report. *J Obstet Gynaecol* 2005; 25: 486-8.
17. Bender DP, Sorosky JI, Buller RE, Sood AK. Serum CA 125 is an independent prognostic factor in cervical adenocarcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 113-17.
18. Gocze PM, Vahrson HW, Freeman DA. Serum levels of squamous cell carcinoma antigen and ovarian carcinoma antigen (CA125) in patients with benign and malignant diseases of the uterine cervix. *Oncology* 1994; 51: 430-3.
19. Mitsuhashi A, Suzuka K, Yamazawa K, Matsui H, Seki K, Sekiya S. Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C levels as tumor markers in patients with cervical carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 724-30.
20. Chopra V, Dinh TV, Hannigan EV. Circulating serum levels of cytokines and angiogenic factors in patients with cervical cancer. *Cancer* 1998; 16: 152-9.
21. Scambia G, Testa U, Panici BP, et al. Interleukin-6 serum levels in patients with gynecological tumors. *Int J Cancer* 1994; 57: 318-23.
22. Zakrzewska I. TPS and SCC antigens in diagnosis and monitoring treatment of patients with cervical cancer. *Gin Pol* 2001; 72: 854-61.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Terenowej Komisji Etyki Badań Naukowych przy Centrum Onkologii – Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Adres do korespondencji

mgr **Beata Kotowicz**
Zakład Markerów Nowotworowych
Centrum Onkologii – Instytut
im. Marii Skłodowskiej-Curie
ul. Roentgena 5
02-781 Warszawa
tel./faks +48 22 644 76 07
e-mail: bkotowicz@coi.pl