



DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ HUMANOG KORIONSKOG GONADOTROPINA KAO TUMORSKOG MARKERA

ADMIR DILBEROVIĆ¹, ANA STANIĆ¹, MIRELA ZEC^{2,3}

Cilj: Cilj ovog rada bio je odrediti pouzdanost metode za određivanje koncentracije beta podjedinice humanog korionskog gonadotropina (β hCG) i dijagnostički značaj β hCG u krvi kod pacijenata s karcinomom testisa.

Metode: Ispitivanje je uključilo 10 pacijenata muškog spola s potvrđenom dijagnozom karcinoma testisa i 10 pacijenata koji nemaju dijagnozu kao kontrolnu skupinu. Vrijednosti izmjerenih koncentracija prikupljene su iz arhive te su potom interpretirane u skladu s ostalom medicinskom dokumentacijom. Metoda istraživanja bila je retrospektivna deskriptivna analiza. U svih ispitanika koncentracija je izmjerena iz seruma koristeći imunokemijski analizator.

Rezultati: Provedena je verifikacija mjernog uređaja korištenjem komercijalnih seruma da se potvrdi pouzdanost metode za analizu. Dokazana je točnost, preciznost i ukupna greška metode koja zadovoljava nacionalne kriterije kontrole kvalitete i kriterije proizvođača. Pacijenti s dijagnozom karcinoma testisa pokazali su inicijalno povišene koncentracije β hCG ($>0,1$ IU/L). Mjesec dana nakon operativnog zahvata provedeno je kontrolno mjerenje, pri čemu su svi pacijenti bilježili smanjenje koncentracije β hCG ispod donje granice osjetljivosti metode ($<0,1$ IU/L). Koncentracija β hCG kod svih pacijenata bez dijagnoze karcinoma testisa bila je ispod donje granice osjetljivosti metode.

Zaključak: Verifikacija metode za određivanje β hCG-a pokazala je zadovoljavajuće rezultate za primjenu u dijagnostici. Na temelju dobivenih rezultata, β hCG se potvrdio kao pouzdan tumorski marker u dijagnostici i praćenju karcinoma testisa. Dobiveni rezultati sugeriraju da je ova pretraga pogodna za uvođenje u probir svih pacijenata koji se javljaju liječniku s boli u testisima, ali i za zdravu populaciju. Rana dijagnostika karcinoma testisa značajno pridonosi povoljnijim rezultatima u liječenju ove bolesti.

Ključne riječi: β hCG, KARCINOM TESTISA, TUMORSKI MARKER

UVOD

Humani korionski gonadotropin (hCG) je glikoprotein koji se sastoji od proteinske jezgre s razgranatim lancima ugljikohidrata koji se u većini slučajeva završavaju sijalinskom kiselinom. Ovaj hormon je heterodimer sastavljen od dvije različite, nekovalentno vezane glikoproteinske podjedinice alfa i beta (1). Hipofiza kod muškaraca i žena proizvodi 2-4 IU/L tog hormona, što je na granici

analitičke osjetljivosti većine imunokemijskih metoda (2).

Iako se primarno koristi za potvrdu trudnoće, veliki je značaj određivanja ovog hormona kao tumorskog markera. Tumorski markeri su molekule koje se mogu pronaći u promijenjenim koncentracijama u krvi, mokraći ili tkivima osoba s određenim vrstama malignih tumora. Zahvaljujući razvoju tehnologija, danas je moguće određivanje tumorskih markera na svim razinama laboratorijske dijagnostike, pri čemu se najčešće koriste imunokemijske metode i metode molekularne dijagnostike.

Tumorski markeri koji su važni za dijagnostiku, prognozu i praćenje bolesnika s karcinomom testisa su serumski alfa-fetoprotein (AFP), beta podjedinica humanog korionskog gonadotropina

(β hCG) i laktat dehidrogenaza (LDH). Ti parametri se koriste za procjenu volumena karcinoma i prognozu bolesti. Najčešće je povišen kod koriokarcinoma, ali može biti povišen i kod seminoma i neseminoma. AFP i β hCG su povišeni u otprilike 40-60% bolesnika s neseminomskim karcinomom testisa. LDH je nespecifični marker karcinoma testisa. Može biti povišen u otprilike 80% seminomskih tumora testisa i u otprilike 60% neseminomskih karcinoma testisa. Kod bolesnika s povišenim β hCG iznad 10.000 IU/L prije ili nakon povratka bolesti, preporučuje se napraviti magnetsku rezonancu mozga kako bi se isključile moždane metastaze (3).

Uloga β hCG-a, kao tumorskih markera u trofoblastnim neoplazmama i karcinomima germinativnih stanica, danas je od velike važnosti. Povećane

koncentracije β hCG primijećene su i kod melanoma, karcinoma dojke, gastrointestinalnih tumora i raka pluća. Manji postotak povišenja također se javlja u nekim benignim stanjima, poput ciroze jetre, duodenalnog ulkusa itd. (1).

Karcinom testisa je najčešći tumor kod muškaraca u dobi od 20 do 40 godina, ali ipak spada među rjeđe tumore, s učestalošću od 2 do 2,5 na 100.000 muškaraca. Može se podijeliti na dvije velike skupine malignih tumora: seminome i neseminome. Ova podjela proizlazi iz kliničkih podataka koji su pokazali visoku radiosenzitivnost seminoma, što je bitno pri planiranju liječenja.

U ovom radu prikazat ćemo značaj određivanja β hCG-a kao tumorskog markera kod pacijenata s karcinomom testisa. Određivanje β hCG-a zajedno s ostalim tumorskim markerima ima dijagnostičku, terapijsku i prognostičku vrijednost, te se mjeri neposredno prije početka, tijekom i nakon završetka liječenja (kirurškog i kemoterapijskog). Povišene vrijednosti AFP-a upućuju na neseminomski karcinom testisa (embrionalni karcinom i tumor žumanjčaste vreće), dok β hCG i LDH mogu biti povišeni i kod seminoma. Visoke vrijednosti tih markera ukazuju na mogućnost metastatske bolesti (4).

ISPITANICI I METODE

U istraživanju su korišteni podaci o vrijednostima β hCG-a kod pacijenata s potvrđenom dijagnozom karcinoma testisa, koji su prikupljeni iz arhive Odjela za laboratorijsku dijagnostiku Opće bolnice Dubrovnik. Povijest bolesti pacijenata s karcinomom testisa dobivena je od Odjela za onkologiju radi razlikovanja vrsta karcinoma. Istraživanje je obuhvatilo 20 pacijenata čiji su uzorci obrađeni tijekom perioda od osam godina. Kao metoda istraživanja korištena je retrospektivna deskriptivna metoda.

Sve vrijednosti β hCG-a dobivene su korištenjem imunokemijskog analizatora Cobas e411 (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka). Analizator koristi enzimoimunološke testove temeljene na heterogenim metodama s protutijelima vezanim za stijenke epruveta. Elektro-

Tablica 1.
Koncentracije komercijalnih seruma određene tijekom pet uzastopnih dana i preciznost metode izražena kroz koeficijent varijacije

Broj	Datum	PC U1	PC U2
1	22.07.2015.	5.36	41.71
2	22.07.2015.	5.24	40.68
3	22.07.2015.	4.86	38.89
1	23/07/2015	5.01	40.90
2	23/07/2015	4.86	40.56
3	23/07/2015	4.73	39.22
1	24.07.2015.	4.85	40.53
2	24.07.2015.	5.00	39.90
3	24.07.2015.	4.91	37.68
1	25.07.2015.	5.35	42.29
2	25.07.2015.	5.38	40.08
3	25.07.2015.	5.22	38.62
1	26.07.2015.	5.27	42.15
2	26.07.2015.	4.97	40.40
3	26.07.2015.	4.84	38.66
Sr (ponovljivost)		0.16	1.48
Sb (validacijska međupreciznost)		0.18	0.44
Sl (unutarlaboratorijska preciznost)		0.222	1.288
KV(SI)		4.40	3.21
KV(SI)-srednji		3.80	

kemiluminescencija (ECLIA) je visoko reaktivna metoda koja se pokazala izuzetno osjetljivom u određivanju β hCG-a. Sustav sadrži anti-hCG antitijela vezana za čvrstu fazu i monoklonska antitijela obilježena enzimom (5).

U kvantitativnim testovima za β hCG obično se koristi serum ili plazma kao uzorak. Uzorci krvi se sakupljaju u odgovarajuće epruvete bez antikoagulanasa, ostavljaju se oko pola sata na sobnoj temperaturi, a zatim se centrifugiraju 10 minuta na 3500 okretaja kako bi se izdvojio serum. Sve vrijednosti se određuju iz seruma čija je epruveta označena barkodom. Kao i kod većine bioloških materijala, treba izbjegavati ponovno zamrzavanje i odmrzavanje. Lipemični, hemolizirani ili ikterični uzorci seruma se ne koriste za analizu (6, 7).

Svi podaci prikupljeni u ovom istraživanju obrađeni su standardnim metodama statističke obrade, koje uključuju određivanje srednje vrijednosti, standardne devijacije (SD), koeficijenta varijacije, Levey-Jennings kontrolnih karata i biasa.

REZULTATI

Kako bismo potvrdili pouzdanost korištene metode, proveli smo verifikaciju testa β hCG na mjernom instrumentu Cobas e411 tvrtke Roche u razdoblju od 22.VII.2015. do 26.VII.2015. Verifikacija je provedena uz pomoć dva nivoa komercijalnog kontrolnog seruma, precicontrol universal 1 (PCU1) i precicontrol universal 2 (PCU2).

Kontrola je provedena u triplikatu tijekom pet uzastopnih dana, što je rezultiralo zadovoljavajućim koeficijentom

Tablica 2.
Koncentracije komercijalnih seruma određene tijekom pet uzastopnih dana i točnost metode izražena kroz ukupnu grešku

Datum	LEVEL 1	Dobivena vrijednost 1	Dobivena vrijednost 2	Dobivena vrijednost 3	Srednja vrijednost	Ciljna vrijednost	Bias
22/07/2015	mjerenje 1	5.36	5.24	4.86	5.15	5.49	-7.89
23/07/2015	mjerenje 2	5.01	4.86	4.73	4.87		
24/07/2015	mjerenje 3	4.85	5.00	4.91	4.92		
25/07/2015	mjerenje 4	5.35	5.38	5.22	5.32		
26/07/2015	mjerenje 5	5.27	4.97	4.84	5.03		
						7.89	
Datum	LEVEL 3	Dobivena vrijednost 1	Dobivena vrijednost 2	Dobivena vrijednost 3	Srednja vrijednost	Ciljna vrijednost	Bias
22/07/2015	mjerenje 1	41.71	40.68	38.89	40.43	42.8	-6.19
23/07/2015	mjerenje 2	40.90	40.56	39.22	40.23		
24/07/2015	mjerenje 3	40.53	39.90	37.68	39.37		
25/07/2015	mjerenje 4	42.29	40.08	38.62	40.33		
26/07/2015	mjerenje 5	42.15	40.40	38.66	40.40		
						6.19	
BIAS srednji		7.04					

varijacije (KV) za precicontrol universal 1 (KV PCU1 = 4,40%) i precicontrol universal 2 (KV PCU2 = 3,21%). Srednji koeficijent varijacije iznosio je 3,8%, što ukazuje na zadovoljavajuću preciznost testirane metode. Postupak verifikacije testa, odnosno ponovljivost i preciznost metode prikazan je u Tablici 1.

Odstupanje od vrijednosti komerci-

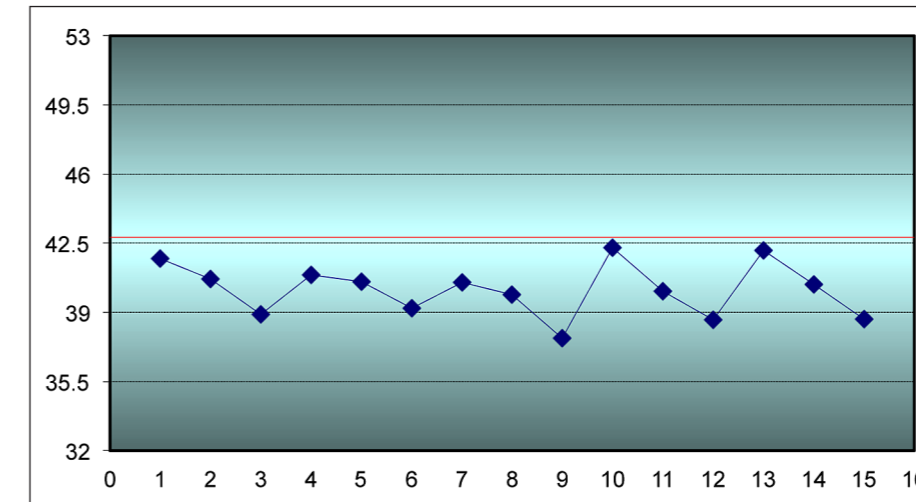
jalnih seruma iznosilo je 7,89% za PCU 1 i 6,19% za PCU 2, dok je ukupno odstupanje iznosilo 7,04%. Ukupna greška ispitivane metode iznosila je 14,5% što zadovoljava nacionalne kriterije kontrole kvalitete. Kriterij nacionalnog programa vanjske kontrole kvalitete (CROQALM) za β hCG iznosi 20%. To ukazuje na zadovoljavajuću točnost ispitivane metode, što je prikazano u Tablici 2.

Točnost metode određivanja prikazana je na dvije Levey-Jenningsove kontrolne karte, koje su prikazane na Slici 1 i Slici 2.

U ovom istraživanju analizirane su vrijednosti β hCG kod 10 muškaraca koji nemaju dijagnozu karcinoma testisa i kod 10 muškaraca s potvrđenom dijagnozom karcinoma testisa. Svi pacijenti koji nemaju dijagnozu karcinoma testisa pokazali su vrijednosti β hCG <0,1 IU/L, što je ispod donje granice osjetljivosti metode. Raspon dobnih skupina u istraživanju bio je od 18 do 58 godina.

Pacijenti s dijagnozom karcinoma testisa bolovali su od neseminomskog oblika, koji je karakteriziran povišenim vrijednostima β hCG (>0,1 IU/L). Svi pacijenti su inicijalno pokazivali povišene vrijednosti β hCG, a nakon operativnog zahvata izvršena je kontrolna analiza mjerenja β hCG-a mjesec dana kasnije. Rezultati tih mjerenja prikazani su u Tablici 3.

Tumorski markeri su raznoliki spojevi koji se pojačano proizvode u stani-



Slika 2.
Levey-Jenningsova kontrolna karta za precicontrol 2

cama karcinoma, uključujući proteine, hormone, enzime, stanične receptore i druge stanične produkte.

U početnim stadijima bolesti, karcinomi obično ne uzrokuju simptome kod pacijenta. Međutim, imunološki sustav vrlo rano prepoznaje abnormalne stanice karcinoma i započinje borbu protiv njih. Tijekom razvoja karcinoma luče se tumorski markeri čija koncentracija u krvi, urinu i tkivu raste, kod pacijenata s određenim vrstama karcinoma. Mogu biti proizvodi samog karcinoma ili odgovor imunološkog sustava na nekontroliranu podjelu stanica. Mjerenje tumorskih markera, u kombinaciji s drugim dijagnostičkim metodama, koristi se za

prevenciju, dijagnosticiranje određenih vrsta karcinoma, odabir odgovarajuće terapije, određivanje prognoze bolesti te praćenje tijeka ozdravljenja i uspjeha terapije nakon kirurškog zahvata, radioterapije ili kemoterapije. Međutim, mjerenje koncentracije tumorskih markera samo po sebi nije dovoljno za postavljanje dijagnoze karcinoma jer se povišene vrijednosti mogu javiti i kod osoba s određenim benignim stanjima. Stoga korištenje tumorskih markera za dijagnostiku zahtijeva kombinaciju s drugim dijagnostičkim metodama kako bi se postigla točnija i pouzdanija dijagnoza (3).

Humani korionski gonadotropin je heterodimer, što znači da se sastoji od

Tablica 3.
Vrijednosti β hCG kod pacijenata s karcinomom testisa prije i nakon provedenog liječenja

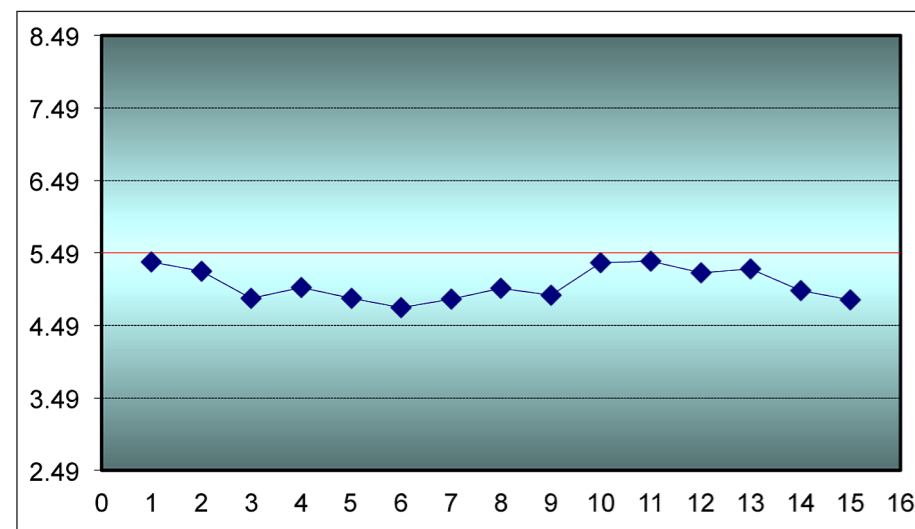
Pacijenti	Prva vrijednost β hCG (IU/L)	Druga vrijednost β hCG nakon provedenog liječenja (IU/L)
1	2497,00	<0,1
2	2 015 590	<0,1
3	989,30	<0,1
4	50,46	<0,1
5	4,89	<0,1
6	14,51	<0,1
7	2,36	<0,1
8	43,21	<0,1
9	10,54	<0,1
10	67,28	<0,1

dvije različite, nekovalentno vezane glikoproteinske podjedinice - alfa i beta podjedinice. U ovom istraživanju, fokus je bio na određivanju koncentracije beta podjedinice humanog korionskog gonadotropina, jer je ona specifična za taj hormon (1).

β hCG ima dijagnostičku, terapijsku i prognostičku ulogu kao tumorski marker kod karcinoma testisa. Njegova koncentracija se određuje prije početka liječenja, tijekom terapije i nakon završetka liječenja, kako kirurškog tako i kemoterapijskog. Najčešće se povišene vrijednosti primjećuju kod koriokarcinoma, ali mogu biti povišene i kod seminoma i neseminoma. Visoke vrijednosti β hCG-a mogu biti povezane s razvojem ginekoma mastije. Povišene vrijednosti β hCG-a opažene su kod otprilike 40-60% bolesnika s neseminomskim karcinomom testisa (3).

U ovom istraživanju analizirane su vrijednosti β hCG-a kod 10 muškaraca s potvrđenom dijagnozom karcinoma testisa i kod 10 muškaraca koji nemaju dijagnozu karcinoma testisa. Pacijenti koji nemaju dijagnozu karcinoma testisa su pokazali negativne vrijednosti β hCG (<0,1 IU/L), što je očekivano, jer je taj tumorski marker obično povišen samo kod osoba s karcinomom testisa.

Prikazani su rezultati za 10 pacijenata s neseminomskim tipom karcinoma testisa, koji su svi imali povišene inicijalne vrijednosti β hCG-a. Neseminomski karcinomi obično dovode do povećanja β hCG-a i smatraju se agresivnijim od seminoma. U većini slučajeva, neseminomski karcinomi se liječe operativnim zahvatom u kombinaciji s kemoterapijom, a stopa izlječenja je obično visoka. Nakon postavljanja dijagnoze, svi pacijenti su podvrgnuti operativnom zahvatu u skladu s preporukama dobre kliničke prakse urologa. Uklonjeni su retroperitonealni limfni čvorovi koji su bili zahvaćeni tumorskim stanicama. Nakon mjesec dana, kontrolno mjerenje β hCG-a pokazalo je vrijednosti ispod donje granice osjetljivosti metode. To ukazuje na uspješnost provedenog zahvata i smanjenje β hCG-a ispod razine detekcije.



Slika 1.
Levey-Jenningsova kontrolna karta za precicontrol 1

RASPRAVA

ZAKLJUČAK

Verifikacija metode za određivanje koncentracije β hCG pokazala je zadovoljavajuće rezultate za primjenu ove pretrage u dijagnostici karcinoma testisa. Na temelju provedenih istraživanja i dobivenih rezultata, β hCG se potvrdio kao pouzdan tumorski marker u dijagnostici i praćenju karcinoma testisa. Dobiveni rezultati sugeriraju da je ova pretraga pogodna za uvođenje u probir svih pacijenata koji se javljaju liječniku s bolom u testisima, ali i za zdravu populaciju. Karcinomi testisa imaju visok postotak izlječenja, a rana dijagnostika značajno pridonosi još povoljnijim rezultatima u liječenju ove bolesti. Kao glavni nedostatak ovog istraživanja, potrebno je navesti relativno mali broj pacijenata. Karcinomi testisa spadaju u rijetke tumore, pa bi za proširenje ovog istraživanja trebalo uključiti populaciju Republike Hrvatske i skupljati podatke tijekom duljeg vremenskog razdoblja, čak i nekoliko desetljeća. Povećanje broja ispitanika poboljšalo bi pouzdanost rezultata i omogućilo bolje razumijevanje varijacija između seminomskog i neseminomskog tipa karcinoma testisa.

NOVČANA POTPORA/FUNDING
Nema/NoneETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL
Nije potrebno/None

SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST
Autori su popunili *the Unified Competing Interest form* na www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./ *All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.*

LITERATURA

1. Szczerba A, Białas P, Pięta PP, Jankowska A. hCG - related molecules and their measurement. *Ginekol Pol.* 2016; 87 (1): 65-70. doi: 10.17772/gp/60981.
2. Čvorišćec D, Čepelak I. Štrausova medicinska biokemija, Zagreb: Medicinska naklada; 2009.

3. Jadranka Sertić i sur. Klinička kemija i molekularna dijagnostika u kliničkoj praksi, Zagreb: Medicinska naklada; 2015.
4. Vrdoljak E i sur. Klinička onkologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2013.
5. Roche Diagnostics cobas e411 analyzer manual. Dostupno na: <https://manualzz.com/doc/56042419/roche-cobas-e-411-operators-manual>, pristupljeno 4.4.2016.
6. Šimundić AM, Topic E, Nikolac N, Lippi G. Hemolysis detection and management of hemolysed specimens. *Biochem Med.* 2010; 20: 154-60.
7. Sturgeon CM, McAllister EJ. Analysis of hCG: clinical applications and assay requirements. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 460-91. doi: 10.1177/000456329803500402.

Summary

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN AS A TUMOR MARKER

Admir Dilberović, Ana Stanić, Mirela Zec

Aim: The aim of this study was to determine the reliability of the method for measuring the concentration of the beta subunit of human chorionic gonadotropin (β hCG) and the diagnostic significance of β hCG in the blood of patients with testicular cancer.

Methods: The study included 10 male patients with a confirmed diagnosis of testicular cancer and 10 patients without a diagnosis of testicular cancer who served as the control group. The measured concentration values were collected from the archive, and the research method used was a retrospective descriptive analysis. Concentrations were measured from serum using the immunochemical analyser.

Results: Verification of the measurement device was conducted using commercial serums to confirm the reliability of the analysis method. The accuracy, precision, and overall error of the method were demonstrated, meeting national quality control criteria and manufacturer specifications. Patients diagnosed with testicular cancer initially had elevated concentrations of β hCG (>0.1 IU/L). One month after the surgical intervention, a follow-up measurement was conducted, during which all patients recorded a decrease in β hCG concentrations below the lower limit of the method's sensitivity (<0.1 IU/L). The concentration of β hCG in all patients without a diagnosis of testicular cancer remained below the lower limit of the method's sensitivity.

Conclusion: Verification of the method for determining β hCG showed satisfactory results for its application in diagnostics. Based on the conducted research and obtained results, β hCG has been confirmed as a reliable tumour marker in the diagnosis and monitoring of testicular cancer. These findings suggest that this test is suitable for implementing screening in all patients presenting with testicular pain, as well as in the healthy population. Early diagnosis of testicular cancer significantly contributes to even more favourable treatment outcomes for this disease.

Keywords: β hCG, TESTICULAR CANCER, TUMOR MARKER

Primljeno/Received: 1. 8. 2023.

Prihvaćeno/Accepted: 25. 11. 2023.