



Continguts: <http://www.acclc.cat/volumen/vol-18/>

In vitro veritas

Pàgina web de la revista: www.acclc.cat/ivv.php



Actes-resums

Informe de la Jornada d'Actualització en Biomarcadors Oncològics

Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic
Secció de Biomarcadors Oncològics ¹

Josep Maria Augé Fradera ^a, Marta de Ramon Amat ^b, Xavier Filella Pla ^a, María Luisa Granada Ybern ^c, Jaume Trapé Pujol ^d

^a Servei de Bioquímica i Genètica Molecular (CDB), Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona

^b Laboratori de Referència de Catalunya, El Prat de Llobregat

^c Servei de Bioquímica, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona

^d Servei de Bioquímica Clínica, Departament de Diagnòstic Biològic, Altahia Xarxa Assistencial de Manresa, Manresa

¹ Membres de la Secció de Biomarcadors Oncològics durant la preparació d'aquest document: J.M. Augé Fradera, M.A. Bosch Ferrer, C. Colomé Mallolas, M. de Ramon Amat, X. Filella Pla (coordinador), M. Granada Ybern, J. Trapé Pujol

El dia 10 de novembre de 2016 es va celebrar a la Casa de Convalescència, seu de l'Institut d'Estudis Catalans, la Jornada d'Actualització en Biomarcadors Oncològics. L'esdeveniment va ser organitzat per la Secció de Biomarcadors Oncològics i l'Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic. Es pot consultar el programa a:

<<http://www.acclc.cat/continguts/prog2016c.pdf>>

A continuació es presenten els resums de les ponències, elaborats per cadascun dels ponents.

2017 © Publicat per l'Associació catalana de ciències de Laboratori Clínic

Estandardització i marcadors tumorals

(Xavier Filella Pla)

La concentració dels marcadors tumorals en el plasma és àmpliament utilitzada en la pràctica diària amb un impacte clínic significatiu en el maneig de pacients amb càncer. Nombroses publicacions avalen el seu ús, però sovint en aquestes no es considera que les diferències entre els seus valors poden ser causades per l'ús de diferents sistemes de mesura. No és estrany el cas en què, a l'apartat metodològic, no es descriu el sistema utilitzat.

El sistema de mesura emprat en cada cas és una informació rellevant ja que el seu canvi provoca diferències importants en els seus valors. Les diferències obtingudes com a conseqüència de la utilització de diferents sistemes poden ser causa d'error en la

interpretació dels resultats, més encara tenint en compte que no hi ha estudis que comparin els diferents sistemes de mesura en amplis grups de pacients, incloent pacients amb malalties benignes i pacients amb càncer.

En sistemes basats en la immunoanàlisi, aquestes diferències solen ser degudes a diversos factors com són: el tipus d'anticòs emprat, el temps d'incubació utilitzat, l'existència d'un efecte matriu, la diferent traçabilitat dels valors assignats als materials de calibratge, entre d'altres. Actualment, tan sols es disposa de patrons internacionals per l'alfa-fetoproteïna (AFP), la tiroglobulina, la calcitonina, l'antigen carcinoembrionari (CEA), la coriogonadotropina (HCG), l'antigen específic de la pròstata (PSA "total") i la fracció lliure de l'antigen específic de la pròstata (PSA "lliure").

La disponibilitat de patrons internacionals ha permès millorar la intercanviabilitat entre els seus valors. Tanmateix, fins i tot en

<http://www.acclc.cat/invitro/informe-de-la-jornada-dactualitzacio-en-biomarcadors-oncologics/>

2017 © ACCLC. Tots els drets reservats.

aquest cas, com succeeix per exemple amb la concentració de PSA en el plasma, hi ha certes diferències entre els seus valors quan s'empren sistemes de mesura de diferents fabricants. Aquestes diferències han de ser tingudes en compte a l'hora d'establir els valors de referència o els valors discriminants d'aquestes magnituds biològiques, així com a l'hora d'efectuar el seguiment d'una malaltia a partir del mesurament seqüencial de la concentració d'un marcador tumoral particular en el plasma.

Els especialistes de les ciències de laboratori clínic i els diferents especialistes clínics que utilitzen les magnituds relacionades amb els marcadors tumorals en el diagnòstic i seguiment dels malalts oncològics han de conèixer aquesta manca d'intercanviabilitat de valors entre els sistemes de mesura, per tal de poder interpretar adequadament el seu significat.

El laboratori ha d'informar sobre qualsevol canvi de sistema de mesura, particularment quan això implica modificacions en les concentracions d'un marcador tumoral. Així mateix, el valor discriminant ha de ser ajustat en relació al sistema emprat. Davant de qualsevol possible canvi en el sistema utilitzat que impliqui una modificació en els seus valors caldrà mesurar, en paral·lel, aquesta mateixa magnitud durant un cert període de temps per tots els sistemes de mesura (l'antic i el nou) o bé, si això no és possible, sol·licitar una nova mostra del pacient en un període de temps determinat per establir la nova "línia de base" i confirmar o no el canvi en els seus valors.

Les societats científiques i els professionals sanitaris hauríem d'exigir la completa estandardització dels sistemes emprats per al mesurament d'aquestes magnituds biològiques, a fi d'obtenir valors intercanviables. Això no tan sols facilitaria la transferibilitat dels resultats obtinguts, sinó que evitaria errors, permetria un millor aprofitament de la informació publicada i, en definitiva, la seva aplicació en benefici dels pacients.

Utilitat dels marcadors tumorals en una Unitat de Diagnòstic Ràpid

(Jaume Trapé Pujol)

Les unitats de diagnòstic ràpid del càncer (d'ara endavant UDR) tenen com funció estudiar els pacients amb símptomes i signes de càncer, per tal d'establir un diagnòstic i donar un tractament, a ser possible, en el període d'un mes (1). Els pacients enviats a aquestes UDR procedeixen d'assistència primària i urgències. La simptomatologia del càncer és inespecífica i pot haver-hi solapament amb malalties benignes. Així, l'hemoptisi es pot trobar en les pneumònies, la tuberculosi, la malaltia pulmonar obstructiva crònica i el càncer de pulmó. A més, en aquests casos, en els estudis d'imatge també pot haver-hi un cert grau de solapament entre els tumors i les malalties benignes. Tenim un escenari complex on és difícil de diagnosticar, on els estudis convencionals són cars i hi ha poca disponibilitat. Per tant, les anàlisis realitzades en un laboratori clínic que permetin ajudar al diagnòstic d'aquests pacients poden millorar el funcionament de les UDR. Els valors de la concentració dels marcadors tumorals en el plasma solen tenir poca sensibilitat diagnòstica en la detecció de tumors en les fases inicials de la malaltia, però aquesta s'incrementa molt en els processos metastàtics. L'objectiu és avaluar si les magnituds biològiques relacionades amb els marcadors tumorals tenen utilitat en un escenari tan complex com és una UDR.

Els valors d'aquestes magnituds presenten també un solapament entre les malalties benignes i les tumorals. Hi ha diferents malalties i estats fisiopatològics que poden incrementar les concentracions dels marcadors tumorals en el plasma (2). Les concentracions de marcadors com l'antigen carcinoembriogènec (CEA), l'antigen CA 15-3, l'antigen CA 72-4 es poden trobar augmentades fins a 4 o 5 vegades en les hepatopaties, les

gastritis, la insuficiència renal, i les malalties pulmonars. En aquests casos caldria utilitzar valors discriminants molt més alts per tal d'evitar falsos positius. La concentració d'altres marcadors pot incrementar-se a valors més alts o similars als que es troben en els pacients amb malaltia metastàtica com és el cas de l'antigen del carcinoma de cèl·lula escamosa (SCC) i la β -2-microglobulina en la insuficiència renal. En aquests casos cal identificar la malaltia benigne i no mesurar la concentració dels marcadors tumorals que tenen un increment tan important.

Hi ha pocs estudis que avaluin la capacitat diagnòstica dels valors de la concentració dels marcadors tumorals en els pacients amb símptomes i signes de càncer. El nostre grup va mesurar la concentració de CEA, l'antigen CYFRA 21-1 i l'antigen CA 19-9 en 234 pacients amb signes i símptomes de càncer, sent el 43,6 % dones (3). Es va observar que els pacients amb càncer tenien concentracions més altes de marcadors tumorals que els pacients amb malalties benignes. Establint valors discriminants molt alts (concentració de CEA = 43,8 μ g/L; concentració de CYFRA 21-1 = 15 μ g/L i concentració de CA19-9 = 7600 kU/L) es va obtenir una especificitat diagnòstica superior al 99 % però una sensibilitat diagnòstica del 46,6 %. Es va estudiar també si els pacients amb malalties benignes presentaven diferències entre les concentracions dels marcadors tumorals, classificant-les segons si presentaven alteracions en la funció renal (concentració de creatinina en el plasma > 132,6 μ mol/L (> 1,5 mg/dL)) o hepàtica (concentració de bilirubina en el plasma > 25,7 μ mol/L (> 1,5 mg/dL)). Es van trobar concentracions significativament més altes en els pacients que tenien alterada la funció hepàtica o renal que en aquells que tenien ambdues normals. Emprant valors discriminants específics per a cada grup, grup A (sense hepatopatia i disfunció renal) concentració de CEA = 13,8 μ g/L; concentració de CYFRA21-1 = 7,8 μ g/L i concentració de CA19-9 = 74 kU/L, grup B (amb disfunció renal o hepàtica), i els mateixos per tot el grup, es va obtenir una sensibilitat del 68,6 % en el grup A i del 42,4 % en el grup B sense disminuir l'especificitat. La sensibilitat combinant les dades dels dos grups va ser del 62,1 % a la màxima especificitat. Es detectaven el 75 % de tumors metastàtics i tan sols 29,0 % dels locoregionals. Utilitzar uns valors discriminants específics incrementa la sensibilitat sense disminuir l'especificitat.

Molina *et al* (4) van estudiar 2711 pacients, amb signes o símptomes de càncer, dels quals 1471 tenien neoplàsia i van establir criteris segons comorbiditats emprant diferents valors discriminants. Per exemple una concentració de CEA de 15 μ g/L sense cap comorbiditat o bé de 20 μ g/L si hi havia hepatopatia o insuficiència renal, o bé no mesurant aquesta magnitud si hi havia insuficiència renal com en el cas de la concentració de SCC. Van obtenir una sensibilitat del 67,5 %, una especificitat del 97,6 %, un valor predictiu positiu del 97,0 % i un valor predictiu negatiu del 71,0 %. L'estudi permetia distingir entre neoplàsia i malaltia benigne en diferents situacions clíniques, amb un alt valor predictiu positiu: icterícies, síndrome constitucional, tumor primari cerebral *versus* metastasis, masses o dolors ossis, tumors epitelials de no epitelials, hemoptisi i vessament.

En la nostra institució es van estudiar 438 pacients amb pèrdua de pes involuntària aïllada, definida per una pèrdua de pes de més del 5 % en 6 mesos sense cap altre símptoma guia, i que es caracteritza per anorèxia, sarcopènia, caquèxia i deshidratació amb seguiment d'un any. Dels pacients estudiats aproximadament al 24 % se'ls va diagnosticar una neoplàsia, al 43 % malaltia orgànica no neoplàsica i al 30 % malaltia psiquiàtrica. Es va emprar una combinació de 7 magnituds relacionades amb marcadors tumorals (CEA, CYFRA 21-1, CA19-9, enolasa neuronal específica (NSE), AFP, PSA, CA15-3 i β -2-microglobulina). Excepte pel que fa a les concentracions de

β -2-microglobulina en el plasma, la resta de magnituds presentaven concentracions significativament més elevades en els pacients amb càncer que amb malalties benignes. Obteníem una sensibilitat del 66,7 % a una especificitat del 98,2 % utilitzant els valors discriminants descrits per Molina *et al* (3). Es va establir un risc de tenir una neoplàsia en aquests pacients de 3,3 si la concentració d'algun dels marcadors estava entre el límit superior de referència i el valor discriminant, i un risc de 145 vegades més si, al menys, la concentració d'un marcador sobrepassava el valor discriminant. Detectàvem el 75 % del tumors epitelials i el 33 % dels tumors no epitelials. Tots els tumors no epitelials varen ser detectats amb la concentració de NSE. Els valors de la concentració de CEA, CYFRA21-1 AFP, PSA, CA19-9 i CA15-3 per sobre dels valors discriminants fixats tenen un valor predictiu superior al 99 % per la identificació de tumors epitelials. En la meitat dels pacients la neoplàsia era d'origen digestiu (estómac, colon, pàncrees i fetge). Alguns dels tumors presentaven un perfil característic: concentracions elevades de NSE en càncer microcític de pulmó, concentracions molt altes de CA19-9 i moderades de CEA en el càncer de pàncrees, concentracions altes d'AFP amb una concentració de CEA < 20 μ g/L i de CYFRA < 20 μ g/L en l'hepatocarcinoma o concentracions per sobre de 30 μ g/L per a la concentració de PSA en el càncer de pròstata. Així doncs, les magnituds relacionades amb els marcadors tumorals permeten orientar sobre l'origen del tumor primari i permeten planificar els altres estudis complementaris a realitzar. En aquests pacients està indicada la realització d'un TAC toraco-abdominal, gastroscòpia i colonoscòpia. Si la sospita és un càncer de pàncrees, hepatocarcinoma o càncer de pròstata caldria realitzar una biòpsia del tumor o metastasi. No caldria realitzar ni la gastroscòpia ni la colonoscòpia, ja que no trobaríem el tumor doncs l'origen no seria gàstric ni colònic.

La concentració dels marcadors tumorals en el plasma té utilitat en la discriminació entre malaltia maligne i benigne, sempre que emprem valors discriminants específics per l'estat fisio-patològic, i ens pot permetre optimitzar altres proves complementàries en l'estudi dels pacients amb signes i símptomes de càncer.

Biomarcadors oncològics en càncer de la tiroide

(María Luisa Granada Ybern)

El carcinoma diferenciat de tiroide (d'ara endavant CDT) és la neoplàsia endocrina més freqüent (90 % de totes les neoplàsies endocrines), i la principal causa de mort de tots els tumors endocrins. La forma de presentació més freqüent del càncer de tiroide és l'aparició d'un nòdul a la part anterior del coll, generalment asimptomàtic. La presència de nòduls tiroïdals és molt freqüent en la població general (5-20 % de les persones per palpació i fins a un 50 % si es realitzen estudis ecogràfics en la població general). La majoria dels nòduls tiroïdals són benignes, només un 5-15 % dels nòduls únics sense antecedents d'irradiació i el 20-25 % dels que han estat irradiats són malignes.

Davant de la sospita de càncer (nòduls amb diàmetre \geq 1 cm, patró ecogràfic sospitós, concentració de tirotropina en el plasma dintre o per sobre de l'interval de referència), l'estudi histològic de la citologia obtinguda per punció aspiració amb agulla fina (PAAF) ecodirigida permet fer el diagnòstic amb una sensibilitat del 83 % al 99 %, i una especificitat del 70 % al 90 %.

Hi ha diversos tipus histològics de càncer de tiroide: papil·lar (80 %), fol·licular (10 %), medul·lar (4-5 %) i anaplàstic (1-2 %). Els 2 primers suposen el 90 % dels càncers de la tiroide, s'originen a partir de les cèl·lules fol·liculars de la tiroide i pertanyen al grup de carcinomes diferenciats de la tiroide (CDT)

que es caracteritzen per respondre a l'estimulació de la tirotropina (TSH) i per sintetitzar i secretar tiroglobulina (Tg). El carcinoma medul·lar, s'origina a partir de les cèl·lules C parafol·liculars i té la capacitat de secretar calcitonina. En altres tumors molt més rars com l'anaplàstic, limfomes o sarcomes tiroïdals no es disposa de magnituds bioquímiques per dur a terme el seguiment dels seus valors.

El tractament del CDT es basa en l'extirpació quirúrgica de la glàndula tiroide, l'ablació de restes amb radioiode i el tractament supressor de la TSH amb L-tiroxina. El seguiment amb magnituds bioquímiques dels malalts amb CDT es fa mitjançant el mesurament de la concentració de Tg en el plasma que, en els malalts en remissió, ha d'estar per sota del límit inferior de l'interval de referència o ser indetectable.

La concentració de Tg en el plasma depèn de diferents factors, entre ells, de la massa de teixit present (aproximadament una concentració de massa de Tg de 1 μ g/L equival a 1 mg de teixit tiroïdal), del grau d'estimulació del receptor de TSH, i també del mètode emprat en la seva determinació. S'ha de tenir en compte si hi ha hagut algun episodi d'inflamació o dany de la glàndula tiroide que causi alliberament de tiroglobulina (realització de PAAF, cirurgia, administració d'¹³¹I).

El mesurament de la concentració de Tg en el plasma sol realitzar-se mitjançant procediments basats en la immunoanàlisi quimioluminescent, automatitzats i estandarditzats amb el material de referència del Community Bureau of Reference of the European Communities 457 (CRM-457). Hi ha una gran variabilitat entre les concentracions de Tg obtingudes amb diferents sistemes de mesura malgrat l'adopció generalitzada del material CRM-457. Aquesta variabilitat entre els resultats implica que els valors discriminants per a una sospita de recidiva, aportats per les guies clíniques, s'han d'interpretar com a xifres orientatives.

Conèixer la capacitat de detecció del sistema de mesura emprat per al mesurament de la concentració de Tg en el plasma és un factor crucial de cara a poder interpretar els valors d'aquesta magnitud en diferents tipus de malalties. El sistema de mesura ha de permetre diferenciar aquells valors que són propers al límit inferior de l'interval de referència en pacients eutiroidals (aproximadament 1 μ g/L) d'aquells valors que són indetectables com a conseqüència d'una tiroidectomia. Així doncs, el límit de quantificació ("sensibilitat funcional") del sistema de mesura, definit com el menor valor d'una magnitud biològica que pot ser detectat amb un coeficient de variació (CV) interdiari \leq 20 %, ha de ser < 1 μ g/L. Actualment existeixen diversos sistemes o procediments comercials basats en la immunoanàlisi amb una sensibilitat funcional 10 vegades més baixa (< 0,1 μ g/L) que els sistemes o procediments "clàssics". Aquests sistemes, anomenats "de segona generació", permeten mesuraments fiables a concentracions molt baixes de Tg en el plasma. Una concentració de Tg indetectable obtinguda amb un sistema de segona generació, en un malalt de baix risc i sense presència d'anticossos contra la Tg, té un elevat valor predictiu negatiu i pot evitar la necessitat de l'estímul amb TSH per considerar el pacient lliure de la malaltia. Si la concentració de Tg en el plasma és detectable però < 1 μ g/L és necessari realitzar una estimulació amb TSH.

De la mateixa manera, en el seguiment d'un pacient és convenient que els mesuraments de la concentració de Tg en el plasma es realitzin amb el mateix sistema i, si és possible, en el mateix laboratori. Abans de canviar de un sistema per un altre, és fonamental informar als metges d'aquest canvi per tal de poder obtenir valors "basals" d'aquesta magnitud abans de dur a terme el canvi definitiu de sistema. En els casos de resultats discrepants és important poder esbrinar si els canvis en la concentració de Tg són deguts a canvis clínics del pacient o a la variabilitat entre els sistemes. En els pacients amb una concentració de Tg en el

plasma indetectable i amb presència d'anticossos contra la Tg, l'evolució de la concentració d'anticossos en el plasma pot ser d'utilitat com a marcador tumoral subrogat. En absència d'estímul antigènic, la concentració d'anticossos contra la Tg tendeix a disminuir progressivament i, per tant, indica una remissió de la malaltia. Per contra, l'augment de la concentració d'anticossos contra la Tg indica la persistència o reparació de Tg en el plasma i, per tant, la recurrència de la malaltia.

Carcinoma medul·lar de tiroide

El carcinoma medul·lar de tiroide (CMT) és un tumor neuroendocrí que procedeix de les cèl·lules parafol·liculars (o cèl·lules C) de la tiroide, derivades de la cresta neural.

La principal funció d'aquestes cèl·lules és la secreció de calcitonina (Ctn). La Ctn és una hormona polipeptídica de 32 aminoàcids, derivada de la procalcitonina, que intervé en l'homeòstasi del calci, se secreta en resposta a l'augment de la concentració de calci en el plasma i inhibeix la reabsorció òssia. La seva funció estimuladora de calci però, és dèbil, i no requereix suplementar-se en cas d'extirpació de la tiroide. A part de Ctn, el CMT sol expressar també l'antigen carcinoembrionari (CEA), on la seva corresponent magnitud és menys sensible i específica per aquest tipus de tumor.

La majoria dels casos de CMT són esporàdics (75 %), mentre que la resta estan determinats genèticament. Les formes hereditàries poden formar part del que es coneix com neoplàsia endocrina múltiple de tipus 2 (MEN-2A i MEN2B) o presentar-se aïllades (CMT familiar). En un 50 % dels CMT es troben mutacions somàtiques en el gen RET i en un 18-80 % dels CMT esporàdics, que no presenten cap mutació d'aquest gen, es presenten mutacions somàtiques en el gen RAS.

El tractament del CMT és fonamentalment la tiroidectomia total amb l'extirpació, total o parcial dels ganglis cervicals. La quimioteràpia es reserva per aquells casos que presenten progressió de la malaltia (metàstasi pulmonars, cerebrals, òssies, etc.). El tractament substitutiu amb L-tiroxina en aquest tipus de tumor no ha de donar lloc a valors indetectables de la concentració de TSH, sinó que aquests s'han de mantenir dintre de l'interval de referència dels pacients eutiroidals.

Quan un pacient amb un nòdul tiroïdal es diagnostica histològicament de CMT s'ha de mesurar la concentració de Ctn i CEA en el plasma, a part de fer un estudi genètic de la mutació germinal RET. La concentració de Ctn preoperatòria és útil per establir l'extensió de la malaltia. Les millors magnituds pel seguiment bioquímic del CMT són la concentració de Ctn i de CEA en el plasma.

La concentració de Ctn és la magnitud bioquímica més específica per aquest tipus de tumor i la més fiable, sobre tot en aquells pacients que presentaven una concentració augmentada en el plasma en el moment del diagnòstic. Actualment la concentració de Ctn es mesura mitjançant sistemes basats en la immunoanàlisi, automatitzats i estandarditzats amb el 2º patró internacional WHO 89/260 que utilitza anticossos monoclonals sensibles i específics per la Ctn madura sense reacció creuada per la procalcitonina o els seus fragments.

La Ctn és produïda per les cèl·lules C però també per altres cèl·lules neuroendocrines. Per aquest motiu, la presència d'una concentració augmentada de Ctn en el plasma pot constituir, en un 0,36-4,5 % dels casos, un valor fals positiu (hipergastrinèmia, insuficiència renal, malaltia tiroïdal autoimmunitària, hipercalcèmia, hiperparatiroidisme, malalties granulomatoses, altres tumors neuroendocrins, càncer de pulmó, pròstata i mama, ús de tabac). En aquests casos, però, l'estimulació amb calci o pentagastrina no produeix l'augment de la concentració de Ctn en el plasma. Es poden obtenir valors falsos negatius en casos de desdiferenciació de cèl·lules tumorals, per la presència

d'isoformes no immunoreactives, per mala conservació de la mostra i per l'ús de valors de referència inadequats. A més, hi poden haver interferències analítiques amb els sistemes utilitzats degudes a la presència d'anticossos heteròfils o l'efecte prozona ("efecte ganxo").

Per interpretar de manera adequada la concentració de Ctn en el plasma cal tenir en compte les variacions en els valors que es presenten durant la infància i segons el sexe en els adults. Als recents nascuts les concentracions de Ctn són altes, però disminueixen ràpidament i, a partir dels 2-3 anys, es mantenen pràcticament estables de per vida.

Els valors de la concentració de calcitonina en el plasma presenten grans variacions segons el sistema emprat, i els resultats obtinguts amb diferents sistemes no són equivalents. Probablement, per aquest motiu, les guies clíniques no especifiquen els valors de referència de la Ctn en el plasma, basal o estimulada, i recomanen que cada laboratori defineixi els seus i avisi als clínics en el cas de qualsevol canvi de sistema.

La coriogonadotropina com a biomarcador tumoral

(Marta de Ramón Amat)

La coriogonadotropina humana (hCG) pertany a la família d'hormones glicoprotèiques juntament amb la lutropina (LH), la fol·litropina (FSH) i la tiotropina (TSH). Les subunitats α són comunes. Les subunitats β de la LH (LH β) i l'hCG (hCG β) mostren una homologia de més del 85 %. L'hCG β però, conté una regió carboxílica terminal, corresponent als aminoàcids 113 a 145, que no està present en la LH β . Aquesta zona es denomina regió CTP (acrònim de l'anglès *C-terminal peptide*) o hCG β CTP i és, per tant, específica de l'hCG β .

En l'actualitat, és conegut que existeixen cinc formes moleculars distintes (isoformes) d'hCG: l'hCG "intacta" (hCGi), l'hCG sulfatada, l'hCG hiperglicosilada "intacta" (hCG-H), la β -corigonadotropina "lliure" (hCG β L) i la β -corigonadotropina "lliure" hiperglicosilada (hCG β L-H).

L'hCGi i l'hCG-H són hormones biològicament independents, produïdes per les cèl·lules sincitiotrofoblàstiques i citotrofoblàstiques de la placenta, respectivament. L'hCG-H és molt important en les primeres setmanes de l'embaràs per la seva funció promotora de la invasió del blastòcit, i el seu paper ha estat crucial en l'evolució dels humans per al desenvolupament del sistema de placentació hemocorial. Aquesta mateixa funció ha conduït al fet que l'hCG-H i l'hCG β L-H es considerin molècules inductores de la invasió i creixement de les cèl·lules cancerígenes, efecte que duen a terme realitzant una acció antagonista sobre el receptor TGF β .

Les diferents isoformes citades anteriorment, a causa del seu metabolisme, produeixen altres formes moleculars o bé distints fragments d'aquestes com a conseqüència de la dissociació de les seves dues cadenes, del seu clivatge proteolític sense pèrdua d'aminoàcids o *nicking*, de la pèrdua del fragment CTP de la cadena β , i del metabolisme final en el ronyó, on s'obté el fragment β fc (hCG β fc), el qual és eliminat per l'orina.

Totes les diferents isoformes d'hCG, així com els fragments i les formes moleculars produïdes durant el metabolisme o degradació, es troben en la sang, en el líquid amniòtic i en l'orina en diferents proporcions, fet que dificulta el mesurament de la concentració d'hCG quan s'empen sistemes de mesura basats en la immunoanàlisi.

Existeixen diferents sistemes basats en la immunoanàlisi que permeten el mesurament de la concentració d'hCG en el plasma que difereixen, principalment, en quina és la traçabilitat dels valors assignats als materials de calibratge emprats, els anticossos i la combinació d'aquests utilitzats i, per tant, en

l'especificitat per detectar les diferents formes moleculars de l'hCG.

L'Organització Mundial de la Salut (OMS) ha preparat, al llarg del temps, diferents patrons de referència (internacionals) d'hCG, que han estat traçables a unitats internacionals (UI) i va establir, l'any 2001, 6 preparacions de reactius de referència (IRR) d'hCG incloent-hi les principals isoformes (hCG, hCGn, hCG β L, hCG β n, hCG β fc, i hCG α), els quals van ser destinats a la investigació i a la caracterització de l'especificitat dels principals sistemes que es fan servir per mesurar la concentració d'hCG. Encara no existeixen patrons de referència específics per algunes de les formes clínicament més rellevants, com l'hCG-H.

El grup de treball de la Societat Internacional d'Oncologia i Biomarcadors o ISOBM, l'any 2013, va identificar 26 epítops en la molècula d'hCG i les seves isoformes. També va identificar l'especificitat de 69 anticossos monoclonals (*mAbs*) dirigits contra cadascun d'ells, així com les combinacions més apropiades d'anticossos que haurien d'incloure els diferents sistemes basats en la immunoanàlisi, segons quina sigui la utilitat clínica de la concentració d'hCG. Els anticossos contra els epítops β 1- β 5 es denominen *pan hCG-mAbs* perquè reconeixen tant l'hCG intacta com un ampli interval de les seves isoformes, formes moleculars o fragments (hCGn + hCG β + hCG β n + hCG β fc). D'aquests destaquen els anticossos que presenten menys reacció creuada amb l'hLH o l'hLH β , els quals estan dirigits contra l'epítop β 1 (<0,1 %) i els dirigits contra els epítops β 2 i β 4 (<1,0 %).

Hi ha diversos estudis d'intercanviabilitat entre els principals sistemes de mesura comercials basats en la immunoanàlisi, que posen de manifest grans diferències en la capacitat per detectar les diferents isoformes, formes moleculars o fragments d'hCG degudes, fonamentalment, a la presència d'impureses en els patrons de referència i a la combinació d'anticossos utilitzats per cadascun.

Els valors de la concentració d'hCG en el plasma es troben augmentats en les malalties relacionades amb l'embaràs (embaràs ectòpic, malaltia trofoblàstica gestacional i la síndrome de Down), en tumors de cèl·lules germinals i en tumors malignes avançats de cèl·lules no germinals.

En la malaltia trofoblàstica gestacional i en les neoplàsies de cèl·lules germinals, l'hCG-H es produeix des de l'inici del tumor com a molècula independent. La malaltia trofoblàstica gestacional comprèn des de la mola hidatiforme al coriocarcinoma. La concentració d'hCG en el plasma és una de les magnituds biològiques que millor permet dur a terme el diagnòstic, seguiment i detecció de recidives d'aquesta malaltia amb una sensibilitat i especificitat al voltant del 100 %.

El càncer testicular representa l'1 % dels tumors malignes en homes, però és el més freqüent en homes de 15 a 35 anys. Aproximadament el 95 % és de cèl·lules germinals i se'n reconeixen 2 tipus: seminomes i no seminomes. La concentració d'hCG en el plasma conjuntament amb la concentració d'alfafetoproteïna (AFP) en el plasma i L-lactat-deshidrogenasa (LDH) en el plasma s'utilitzen per al diagnòstic, monitorització, estadiatge i pronòstic dels tumors de cèl·lules germinals.

Un 20-40 % de tumors malignes (gastrointestinal, de bufeta, de pulmó, cap i coll, etc.) expressen el gen de l'hCG β en fase avançada de la malaltia i produeixen hCG β L o hCG β L-H donant lloc a l'expansió del tumor i a l'aparició de metàstasi.

A excepció de l'embaràs sense complicacions, on predomina l'hCG intacta tant en el plasma com en l'orina (excepte en la primera setmana en què un 80 % és hCG-H), en la resta de malalties es troba un elevat percentatge de les altres formes moleculars o fragments d'hCG. Això és perquè la metabolització a les formes *nicked* és més ràpida en l'hCG-H i en la β hCG que en l'hCG intacta.

Per aquest motiu els sistemes de mesura basats en la immunoanàlisi més apropiats per al seguiment dels tumors són els que detecten tant l'hCGi i l'hCG β L com les seves formes moleculars i fragments, incloent-hi l'hCG β n i l'hCG β n-CTP.

Per tal de poder establir el sistema de mesura més apropiat per a cada indicació clínica, la documentació inclosa en els equips de reactius hauria de contenir la traçabilitat dels valors assignats als materials de calibratge i l'especificitat dels anticossos per les diferents isoformes, formes moleculars o fragments d'hCG.

Hemoglobina en femta. Més enllà del cribratge

(Josep Maria Augé Fradera)

L'extensió dels programes de detecció precoç del càncer de còlon i recte (d'ara endavant PDPCCR) ha convertit en un fet habitual el mesurament de la fracció de massa relatiu d'hemoglobina en la femta (d'ara endavant, hemoglobina en la femta) utilitzant sistemes de mesura basats en la immunoanàlisi que empren, principalment, mètodes immunoturbidimètrics.

La utilitat d'aquesta magnitud biològica està molt estudiada en els PDPCCR, mentre que la seva utilitat per assegurar o excloure la presència de lesions en el còlon i en el recte en població simptomàtica ha estat menys avaluada.

Se sap que de forma fisiològica s'elimina sang a través del tub digestiu i que en condicions normals es poden identificar traces d'hemoglobina en la femta (< 10 μ g/g). Habitualment, i utilitzant els sistemes actuals que donen valors escalars ("quantitatiu"), s'observa presència d'hemoglobina en la femta en aproximadament el 40-45 % de la població, però tan sols entre un 15-20 % dels pacients simptomàtics i entre un 5-10 % de la població asimptomàtica presenta valors per sobre de 20 μ g/g (valor discriminant més acceptat en els PDPCCR).

Quan es mesura l'hemoglobina en la femta en funció de les troballes obtingudes a l'endoscòpia, s'observa que les lesions que presenten valors més elevats són els tumors malignes de còlon i recte. Rarament aquestes lesions presenten valors per sota dels fisiològics i, encara amb menys freqüència, no es detecta hemoglobina en la femta.

A l'altre extrem s'hi troben aquells pacients amb una exploració endoscòpica normal, situació en la que en la majoria de casos, els valors d'hemoglobina en la femta són similars o inferiors als fisiològics; de tota manera es pot observar, tot i que en menys del 5 % dels casos, valors d'hemoglobina en la femta superiors al valor discriminant, fins i tot força més elevats.

En una situació intermèdia s'hi troben la resta de lesions, de les quals els adenomes de risc mig i elevat (lesions amb més probabilitat de transformació maligna) són les que presenten valors d'hemoglobina en la femta més elevats que en la resta de lesions, és a dir, en els adenomes de baix risc i altres lesions on inclouríem el pòlips hiperplàstics i inflamatoris, la malaltia inflamatòria intestinal, els diverticles, les hemorroides, etc.

En la població simptomàtica doncs, l'absència o la presència de valors d'hemoglobina en la femta per sota dels fisiològics dona lloc a un elevat valor predictiu negatiu, fet que permet descartar en aproximadament el 90 % dels casos (depenent de la població estudiada) la troballa de lesions neoplàsiques o preneoplàsiques. Per altra banda, la sensibilitat diagnòstica per la detecció d'aquestes lesions és moderada, aproximadament entre el 35 % i el 40 %. Aquest fet limita la seva utilitat com a magnitud biològica, sobretot pel que fa als adenomes de risc mig i elevat en que la sensibilitat diagnòstica és encara inferior. En aquelles situacions en que els pacients presentin valors d'hemoglobina en la femta molt elevats, entre 5 i 10 vegades superior al valor discriminant, la possibilitat de presentar una colonoscòpia patològica és molt elevada.

Des d'un punt de vista tècnic cal tenir en compte que, si la mostra no es conserva refrigerada, l'hemoglobina en contacte amb la femta és molt làbil. Les mostres cal conservar-les sempre refrigerades i cal que siguin processades quan més aviat millor (abans de 10 dies). Un altre aspecte a considerar és la forma d'expressar els valors d'hemoglobina en la femta. Aquests s'han d'expressar en funció de la massa de femta i no en relació al contingut de solució conservadora dels tubs de recollida de la femta doncs si no es fa així, al existir diferències de disseny entre els diferents fabricants, es cometria un error a l'hora d'interpretar el resultat obtingut.

Es pot concloure que la utilitat de l'hemoglobina en la femta en la detecció precoç del càncer de còlon i recte està àmpliament demostrada i avalada; tot i que cal saber en detall els aspectes preanalítics i analítics, cal ser conscient tant dels seus avantatges com inconvenients i conèixer la seva eficàcia diagnòstica per assegurar o descartar la presència de malaltia al còlon i recte en la població simptomàtica.

Bibliografia

- (1) Catsalut. Implantació del Programa de diagnòstic ràpid de càncer. Primera fase. http://cancer.gencat.cat/web/content/documentos/professionals/diagnostic/mama_pulmo_i_colorectal_instruccio_catsalut_042005.pdf > (Accés 2017-11-01).
- (2) Trapé J, Filella X, Alsina M, Juan Ll, Bosch A, Rigo R. Augments de la concentració de marcadors tumorals en el plasma en absència de neoplàsia. *In vitro veritas* 2010;11:28-59.
- (3) Trapé J, Sala M, Franquesa F, Ordeig JM, Soler-Bel JM, Bustamante E, Pérez R, Aligué J, Montesinos J, Arnau A, Ordeig-Villanueva R. Clinical utility of determining tumor markers in patients with signs and symptoms of cancer. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:485-91.
- (4) Molina R, Bosch X, Auge JM, Filella X, Escudero JM, Molina V, Solé M, López-Soto A. Utility of serum tumor markers as an aid in the differential diagnosis of patients with clinical suspicion of cancer and in patients with cancer of unknown primary site. *Tumour Biol* 2012 ;33:463-74.

Bibliografia adicional

- Filella X, Rigo R, Alsina M, Bosch MA, Juan Ll, Trapé J. Estandardització i marcadors tumorals. *In vitro veritas* 2012;13:51-56.
- de Ramon M, Granada ML, Colomé, C, Augé, J M, Filella X, Trapé J. Coriogonadotropina: una hormona complexa i polifacètica. *In vitro veritas*; 2016:17:9-19.