

Porównania testów: ARCHITECT SCC i COBAS SCC

The comparison of Architect SCC and cobas SCC tests

Ewa Wójcik, Krzysztof Reinfuss, Zofia Stasik, Urszula Rychlik, Jadwiga Tarapacz, Jan K. Kulpa

Zakład Analityki i Biochemii Klinicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie

Streszczenie

Wprowadzenie: Antygen raka płaskonabłonkowego wyizolowany przez Kato i Torigoe w 1977 r., należący do inhibitorów proteaz serynowych i cysteinowych uznawany jest za marker z wyboru dla raka szyjki macicy, aczkolwiek wzmożoną jego ekspresję stwierdza się również w nowotworach o innej lokalizacji narządowej, takich jak niedrobnokomórkowy rak płuca, czy nowotwory głowy i szyi.

Materiał i metody: Przez wiele lat w oznaczeniach SCC-Ag w surowicy krwi stosowano metodę chemiluminescencyjną, wykorzystującą standard referencyjny przygotowany przez firmę Abbott Diagnostics. W ostatnich latach w oznaczeniach antygenu wykorzystywana jest również metoda elektrochemiluminescencyjna opracowana przez firmę Roche Diagnostics. Metodę tę wystandaryzowano wobec metody ARCHITECT SCC firmy Abbott Diagnostics.

Wyniki: Wykazano istotną korelację pomiędzy wynikami obu analizowanych testów. Badania markera wykonano u 101 chorych na raka szyjki macicy za pomocą testu ARCHITECT SCC oraz COBAS SCC. Analizy porównawcze oznaczeń na obu analizatorach wskazują na wyższe wyniki testu COBAS SCC w porównaniu do ARCHITECT SCC w całym zakresie stężeń.

Komentarz: Stwierdzone w prezentowanych badaniach istotne różnice w stężeniach COBAS SCC oraz ARCHITECT SCC mogą wiązać się z różnicami we właściwościach przeciwciał monoklonalnych przeciwko izoformom SCCA1 i SCCA2.

Summary

Introduction: Squamous cell carcinoma antigen isolated by Kato and Torigoe in 1977, belonging to the serine and cysteine proteases inhibitors has been recognized as the marker of choice for the cervical cancer. However, high SCC expression has been also found in others neoplasms such as non-small cell lung cancer and head and neck carcinoma.

Material and Methods: For many years, for serum SCC-Ag determination the chemiluminescent microparticle immunoassay with the reference standard from Abbott Diagnostics has been used. Recently, also the electrochemiluminescence immunoassay produced by Roche Diagnostics is applied. This method has been standardized against the ARCHITECT SCC assay from Abbott Diagnostics.

Results: Significant correlations between the results of both analyzed tests were shown. The concentration of squamous cell antigen was tested using the ARCHITECT SCC and COBAS SCC test in 109 patients with cervical cancer. The comparative analyses have revealed the higher COBAS SCC results in comparison with the ARCHITECT SCC assay across the all concentration range. The results obtained with the new COBAS SCC test were significantly higher than the previously used ARCHITECT SCC test.

Comments: The significant differences between SCC-Ag concentration of COBAS SCC and ARCHITECT SCC may be due to the different SCCA1 and SCCA2 properties of monoclonal antibodies.

Słowa kluczowe: antygen raka płaskonabłonkowego, izoformy SCC-Ag, rak szyjki macicy, metody oznaczeń

Key words: squamous cell carcinoma antigen, SCC isoforms, cervical cancer, methods of determination

Wstęp

Rak szyjki macicy należy do najczęstszych nowotworów złośliwych narządu rodowego, przy czym częstość zachorowań wykazuje duże zróżnicowanie w zależności od regionu świata.

W porównaniu do innych krajów w Polsce zachorowalność utrzymuje się na średnim poziomie, w 2011 r. odnotowano 3078 nowych zachorowań. Duży niepokój budzą natomiast relatywnie wysokie w naszym kraju wskaźniki umieralności z powodu tego

nowotworu, odsetki 5-cio letnich przeżyć względnych należą do najniższych w Europie [1, 2, 3]. O ile u chorych we wczesnych stadiach zaawansowania choroby odsetki 5-cio letnich przeżyć są wysokie, bliskie 100 %, to w stadiach zaawansowania IIIA i IIIB kształtują się w granicach 20 – 30%, co wskazuje, że nowotwór rozpoznawany jest u stosunkowo znacznej liczby chorych w zaawansowanych stadiach. Do czynników zwiększonego ryzyka zachorowania na raka szyjki macicy zalicza się: infekcja HPV typami

onkogennymi [16, 18], wczesne rozpoczęcie współżycia płciowego, duża liczba partnerów seksualnych, duża (>5) liczba porodów, palenie papierosów, niski status socjoekonomiczny oraz dysplazja szyjki macicy. Prawdopodobny wpływ na rozwój nowotworu, ale nie poparty dowodami naukowymi, ma również: wieloletnie stosowanie hormonalnych środków antykoncepcyjnych, dieta uboga w antyoksydanty, niektóre infekcje narządu rodowego (chlamydia, rzeżączka, wirus opryszczki, wirus cytomegalii) oraz infekcja wirusem HIV. Dotychczas nie wykazano obecności rodzinnych predyspozycji do występowania raka szyjki macicy.

Uważa się, że jednym z najważniejszych czynników ryzyka rozwoju raka szyjki macicy jest zakażenie wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV; *human papilloma virus*) komórek nabłonka szyjki macicy. Zakażenie szyjki macicy wirusem HPV jest całkowicie bezobjawowe, a dochodzi do niego głównie (choć nie tylko) drogą płciową. W przeważającej większości przypadków organizm kobiety sam usuwa wirusa, jednak w pewnym odsetku przypadków dochodzi do zakażenia przetrwałego. Oznacza to, że wirus wbudowuje się na trwałe w komórki nabłonka szyjki macicy, co może doprowadzić do ich zmian, tzw. dysplazji, prowadzących do zaburzeń funkcji i rozwoju, a niekiedy do złośliwienia oraz rozwoju nowotworu. Do głównych typów onkogenego wirusa zaliczane są HPV16 i HPV18, przy czym częstość występowania tego pierwszego typu wirusa w populacjach jest znacznie wyższa. Bardziej zależne od infekcji HPV18 są natomiast raki gruczołowe i gruczołowo-płaskonabłonkowe, co może tłumaczyć znaczną przewagę typu raka płaskonabłonkowego u chorych na raka szyjki macicy [4]. Histologiczna klasyfikacja wyróżnia raki płaskonabłonkowe, raki gruczołowe, nowotwory mieszane nabłonkowo-nienabłonkowe, nowotwory nie nabłonkowe. Ocenia się, że raki płaskonabłonkowe występują u 75% chorych na raka szyjki macicy, jakkolwiek ich częstość stopniowo się zmniejsza.

Antygen raka płaskonabłonkowego (SCC-Ag; *squamous cell carcinoma antigen*) jako pierwszy wyizolowali Kato i Torigoe w 1977 r. z tkanki raka szyjki macicy, jako frakcję białka TA-4. Badacze ci scharakteryzowali własności biochemiczne antygeny oraz opracowali radioimmunochemiczną metodę oznaczania jego stężenia w surowicy krwi. SCC-Ag jest glikoproteiną o ciężarze cząsteczkowym 45 kDa, zaliczaną do rodziny inhibitorów proteaz serynowych i cysteinowych, uczestniczących w procesach degradacji zewnątrzkomórkowej macierzy, inwazji i tworzeniu przerzutów [5, 6]. O ile w prawidłowym nabłonku macicy stwierdza się obecność antygeny tylko w śladowych ilościach, to w zmianach dysplastycznych, a zwłaszcza w płaskonabłonkowym raku macicy jego nasiloną ekspresję wykazano u znacznego odsetka chorych. Antygen raka płaskonabłonkowego jest uznawany za marker z wyboru w diagnostyce nowotworów raka szyjki macicy. Obserwuje się wyraźną tendencję do wzrostu poziomu markera, a także częstości podwyższonych jego stężeń wraz ze stadium zaawansowania raka szyjki macicy, stopniem złośliwości histologicznej, stanem węzłów chłonnych a także głębokością zmiany i średnicą guza [7, 8]. Wzmoczoną ekspresję SCC-Ag wykazano również w nowotworach płaskonabłonkowych o innej lokalizacji narządowej, a m.in. niedrobnokomórkowym raku płuca, nowotworach regionu głowy i szyi, raku przełyku [9, 10, 11, 12].

U chorych na raka szyjki macicy czułość diagnostyczna wyników oznaczeń stężenia SCC-Ag kształtuje się w granicach 30 – 90 % w zależności do stadium zaawansowania choroby, natomiast swoistość diagnostyczna wyników oznaczeń markera jest stosunkowo niska [13, 14]. Podwyższone stężenia SCC-Ag spotyka się w niektórych schorzeniach dermatologicznych, łuszczycy, niedomozdze nerek, sarkoidozie, gruźlicy płuc [15, 16].

Jakkolwiek Kato i wsp. w 1979 r. opracowali radioimmunochemiczną metodę oznaczania stężenia SCC-Ag w surowicy krwi, to zasadniczo przez szereg lat dostępna była tylko metoda chemiluminescencyjna (CMIA), z wykorzystaniem automatycznego analizatora immunochemicznego, opracowana przez firmę Abbott Laboratories. Obecnie dostępna jest również dla oznaczeń tego markera metoda elektrochemiluminescencyjna (ECLIA) opracowana przez firmę Roche Diagnostics.

Celem prezentowanych badań było porównanie wyników uzyskanych obu metodami i technikami.

Materiał i metody

Przed rozpoczęciem analiz porównawczych dokonano kalibracji obu testów. Dla testu ARCHITECT SCC przeprowadzono 6-punktową kalibrację korzystając z kalibratorów zawierających ludzki antygen, przygotowany w buforze boranowym z bydłym stabilizatorem białkowym o stężeniach: 0, 1, 5, 20, 40 i 70 ng/ml. Dla testu SCC COBAS przeprowadzono 2-punktową rekalkibrację, stosując kalibratory o stężeniach 0,55 i 19,50 ng/ml zawierające liofilizowaną surowicę ludzką z dodatkiem rekombinowanego białka SCC i surowicy końskiej jako stabilizatora, rozpuszczone w objętości 1,0 ml wody dejonizowanej.

Dla obu porównywanych metod zakres pomiarowy był ten sam i wynosił: 0,10 – 70 ng/ml. Dla testu ARCHITECT SCC korzystano z surowic kontrolnych: CONTROL L i CONTROL M SCC zawierające ludzki antygen SCC rozpuszczony w buforze boranowym ze stabilizatorem białkowym (bydłym), zachowujące w temp. 2-8°C stabilność do daty ważności. Dla testu COBAS SCC próbki surowicy kontrolnej: PreciControl Lung Cancer przygotowywano w oparciu o liofilizowane ludzkie surowice: PC LC1 i PC LC2, które na 15 minut przed oznaczeniami rozpuszcza się w 3 ml wody dejonizowanej. Zachowują stabilność 7 dni w temp. 2-8°C. Stabilność próbek rekonstruowanych wydłuża się do 28 dni, jeśli zostaną zamrożone w temp. -20° C.

W ocenie użyteczności analitycznej metod korzystano z zaleceń Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), stosownie do protokołu EP5-A3 [CLSI EP5] dokonano oceny precyzji, a zgodnie z protokołem EP6-A [CLSI EP-6] oceny liniowości [17, 18].

W badaniach porównawczych wyników oznaczeń antygeny SCC obu technikami pomiarowymi wykorzystano 101 próbek surowic krwi pozostających po badaniach wykonywanych u chorych na nowotwory narządu rodowego, u których na różnych etapach diagnostyki i leczenia w Centrum Onkologii, Oddział w Krakowie kontrolowano poziom antygeny. 90% stanowiły próbki od chorych na raka szyjki macicy, 8% od chorych na raka trzonu macicy, a pozostałe 2% od chorych na raka jajnika. Próbki gromadzone były od maja 2016 roku, a po wykonaniu oznaczeń zamrażane w temp. -20 C. W trakcie ewaluacji testu COBAS SCC próbki wcze-

śniej oznaczane na analizatorze Architect i1000 były powtórnie badane.

W opracowaniu wyników posłużono się pakietem statystycznym MedCalc 12.1.4. W ocenie istotności różnic pomiędzy wartościami wyników ARCHITECT SCC i COBAS SCC korzystano z testu T dla par pomiarów zależnych, a dla oceny zależności pomiędzy wynikami uzyskanymi dla obu analizatorów (Architect i1000 Abbott oraz cobas e411 Roche) wykorzystano z równania regresji wg Passing i Bablok [19], której uzupełnienie stanowi porównawcza ocena graficzna wyników wg Bland – Altman [20] oraz „Mountain Plot” [21].

Wyniki

Precyzję określono zgodnie z protokołem CLSI EP05-A3, wykonując oznaczenia surowic kontrolnych na dwóch poziomach 2 razy dziennie przez 20 dni. W ocenie precyzji testu ARCHITECT SCC korzystano z surowic kontrolnych CONTROL L o stężeniu 2 ng/ml i CONTROL M o stężeniu 10 ng/ml. W ocenie precyzji testu COBAS SCC korzystano z surowic kontrolnych PC LC1 o stężeniu 1,78 i PC LC2 o stężeniu 20,30 ng/ml (tab. I).

Dla wykonania 5 prób odzysku, po uprzednim oznaczeniu stężenia markera w badanych próbkach na dwóch analizatorach (Architect i1000 oraz cobas e411) mieszało surowice A i B w stosunku 1:1, wymieszano i w tak przygotowanej próbce C, oznaczano stężenie antygenu SCC. Odzysk wyliczano jako wartości odsetkowe stosunku zmierzzonego poziomu w próbce C do poziomu przewidywanego (wyliczonego) na podstawie oznaczeń próbek wyjściowych A i B oraz proporcji rozcieńczeń. Wyniki przedstawiono w tabeli II.

Dla testu ARCHITECT SCC wartości odzysku mieściły się w zakresie od 96,7 % do 109,5 %, a dla testu COBAS SCC – w zakresie od 101,2 do 108,6%.

W ocenie liniowości dla analizatora cobas e411 korzystano z próbek o bardzo wysokich stężeniach z możliwością automatycznego rozcieńczania diluentem w proporcji: 1:2, 1:5, 1:10, 1:20, 1:50 i 1:100. Wyliczone równania regresji kształtowały się dla próbek o stężeniu:

- 51,81 ng/ml: $[y = -0,055 + 0,9952 * \text{COBAS SCC}]$; $r = 0,99995$;
- 225,12 ng/ml: $[y = -0,055 + 0,9952 * \text{COBAS SCC}]$; $r = 0,99995$
- 276,28,12 ng/ml: $[y = -0,067 + 0,9825 * \text{COBAS SCC}]$; $r = 0,9998$.

Analizator Architect i1000 nie ma możliwości wykonania automatycznych rozcieńczeń próbek, z tego względu próbki rozcieńczano manualnie, dla próbki o najwyższym stężeniu na podstawie 5 punktów pomiarowych, uzyskano następujące równanie regresji:

- $[y = 0,812 + 0,9693 * \text{ARCHITECT SCC}]$; $r = 0,99953$.

W analizie porównawczej wykorzystano równanie regresji wg Passing i Bablok, które przy braku istotnych odchyłek od liniowości ($p > 0,10$) wykazało liniową zależność pomiędzy wynikami oznaczeń uzyskanymi dla obu testów SCC (ryc. 1a)

- $[\text{COBAS SCC} = -0,072 + 1,2486 \text{ ARCHITECT SCC}]$

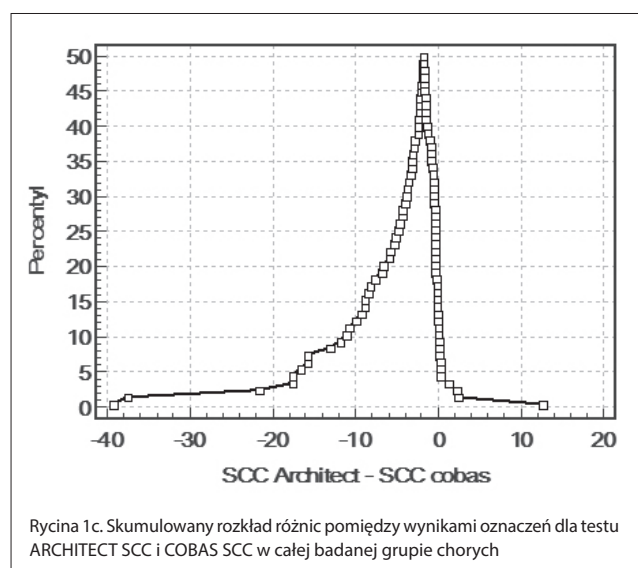
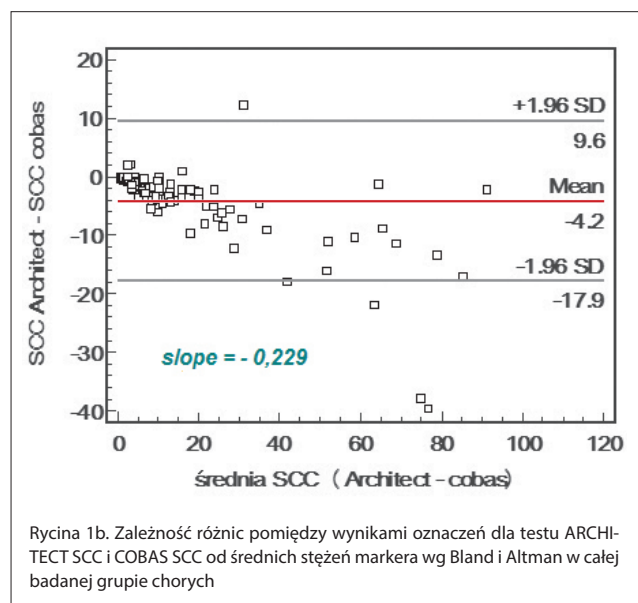
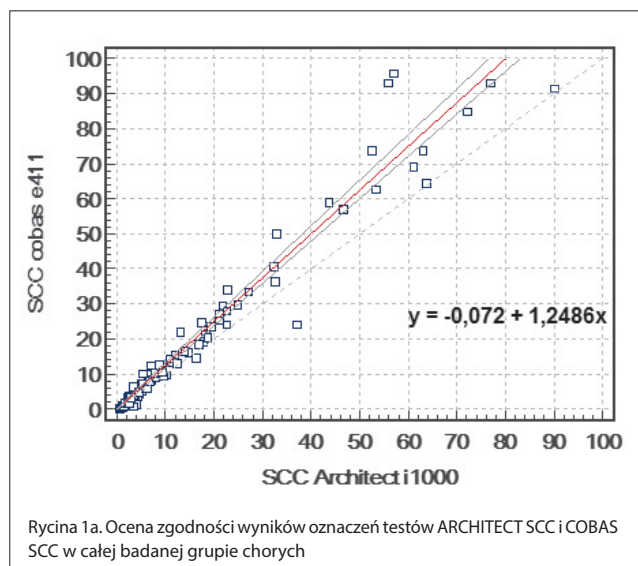
Wyniki równocześnie wykonywanych na obu analizatorach oznaczeń stężenia SCC-Ag w surowicy krwi u chorych na nowotwory narządu rodno różniły się istotnie ($p < 0,0001$). Średnie stężenie antygenu dla testu ARCHITECT SCC wynosiło 16,08 ng/ml (SD 19,52 ng/ml) i było istotnie niższe w porównaniu do średniej dla testu COBAS SCC, wynoszącej 20,24 ng/ml (SD 24,51 ng/ml) (ryc. 1b). Potwierdzał to wykres Bland i Altman`a dla zależności różnic po-

Tabela I. Wyniki oceny precyzji ARCHITECT SCC i COBAS SCC.

Próbka kontrolna	Wartość nominalna	Min. (ng/ml)	Max. (ng/ml)	średnia (ng/ml)	SD (ng/ml)	CV (%)	bias	%bias
CONTROL L	2,00	1,83	2,17	1,977	0,07	3,69	-0,023	-1,15
CONTROL M	10,00	9,54	11,16	10,24	0,44	4,32	0,240	2,40
PC LC1	1,78	1,62	1,97	1,794	0,09	5,02	0,014	0,78
PC LC2	20,30	19,86	22,77	20,247	0,94	4,65	-0,053	-0,26

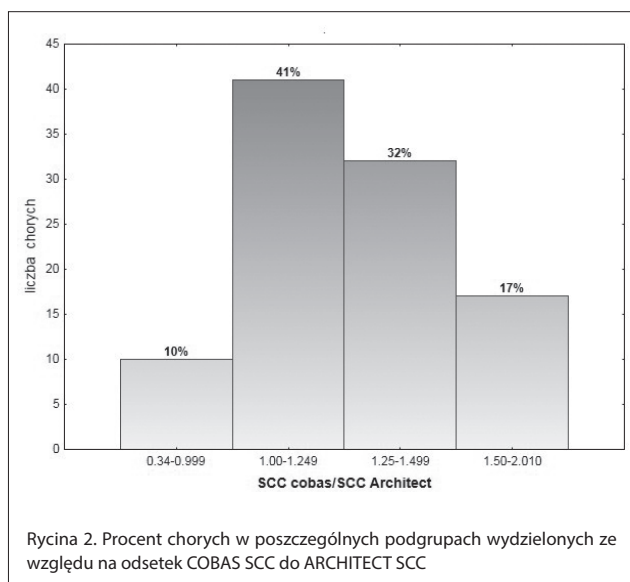
Tabela II. Wyniki prób odzysku dla oznaczeń antygenu SCC.

	Pomiar Cobas e411	Stężenie wyliczone (ng/ml)	ODZYSK cobas (%)	Pomiar Architect i1000	Stężenie wyliczone (ng/ml)	ODZYSK Architect (%)
Próbka A1	14,98			16,18		
Próbka B1	38,97			39,48		
Próbka C1	27,31	26,98	101,2	28,69	27,83	103,1
Próbka A2	5,38			3,93		
Próbka B2	10,93			9,17		
Próbka C2	8,50	8,16	104,2	7,17	6,55	109,5
Próbka A3	24,43			36,92		
Próbka B3	17,03			13,76		
Próbka C3	23,56	21,69	108,6	25,66	25,34	101,3
Próbka A4	64,53			63,50		
Próbka B4	13,29			12,27		
Próbka C4	40,76	38,91	104,8	36,74	37,88	97,0
Próbka A5	8,46			8,00		
Próbka B5	19,67			19,10		
Próbka C5	14,70	14,06	104,5	13,10	13,55	96,7



między wynikami obu testów dla oznaczania antygenu SCC-Ag względem średnich stężeń markera w całej badanej grupie próbek. Niesymetryczność percentylowego rozkładu różnic pomiędzy wynikami uzyskanymi dla obu testów SCC potwierdza ponadto

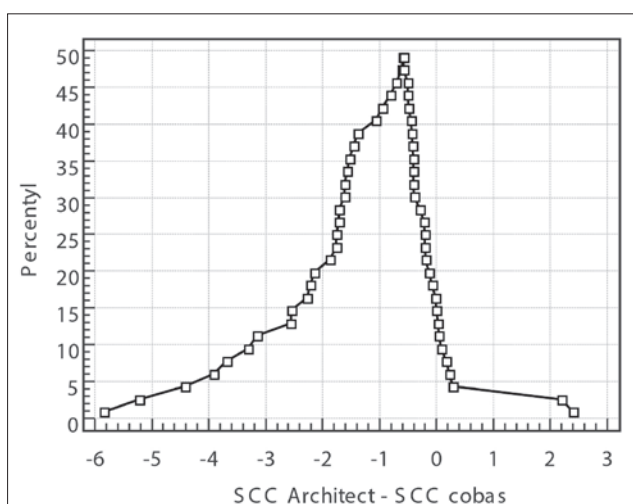
metoda „Mountain plot”. 95% wartości różnic pomiędzy wynikami obu testów mieszczą się w zakresie od -21,6 ng/ml do 2,17 ng/ml przy medianie różnic wynoszącej -1,87 ng/ml (ryc. 1c). Tylko w 9% przypadków wyniki dla testu COBAS SCC były niższe od uzyskanych dla ARCHITECT SCC. W jednym przypadku, u chorej na raka trzonu macicy, stosunek COBAS SCC do ARCHITECT SCC wynosił tylko 0,34. W badanej grupie chorych, COBAS SCC/ ARCHITECT SCC w wyznaczonych przedziałach 1.00 -1.249, 1,25 -1,499 i 1,50 - 2,01 odsetki chorych kształtowały się następująco: 42%, 31% i 18% (ryc. 2).



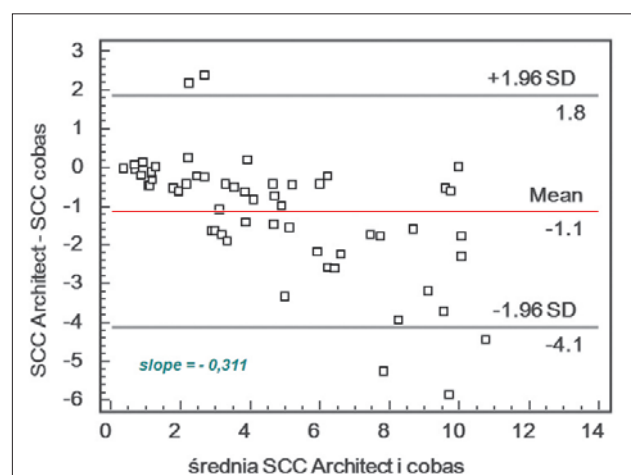
U kilku chorych możliwa była obserwacja zmian wyników SCC w czasie stosowanej terapii. U jednej chorej na raka szyjki macicy w stadium IIA w trakcie radiochemioterapii wystąpiła progresja choroby (przerzuty do kośćca). Obserwowano wzrost stężenia markera w tym czasie: dla testu COBAS SCC od 7,69; 10,65; 11,37; 34,35 do 50,27, jednak stosunek stężenia COBAS SCC do ARCHITECT SCC wynosił odpowiednio 1,41; 1,42; 1,48; 1,53; 1,54. Podczas gdy u innej chorej na raka szyjki macicy w czasie terapii obserwowano fluktuacje wyników COBAS SCC: 18,73; 3,75; 11,19; 20,73 i 29,88, a stosunki stężenia testu COBAS SCC do ARCHITECT SCC kształtowały się następująco: 1,12; 1,15; 1,25; 1,13 i 1,39. U chorej w IV stadium zaawansowania choroby stosunek stężenia COBAS SCC do ARCHITECT SCC w próbkach o wysokich stężeniach markera, ocenianych w odstępie 1 miesiąca, wynosił odpowiednio 1,69 i 1,67 (punkty odstające na rycinie 3b).

Analizy porównawcze wyników oznaczeń dla obu testów przeprowadzono ponadto w podgrupach wydzielonych ze względu na wartości stężenia markera do 10 ng/ml i powyżej 10 ng/ml wg testu ARCHITECT SCC celem weryfikacji, czy wraz ze wzrostem stężenia markera różnice pomiędzy wynikami ulegają nasileniu. Stężenie ARCHITECT SCC niższe od 10 ng/ml stwierdzono u 58 chorych na nowotwory narządu rodnego. Równanie regresji wg Passing i Bablok przy SCC-Ag < 10 ng/ml kształtowało się następująco

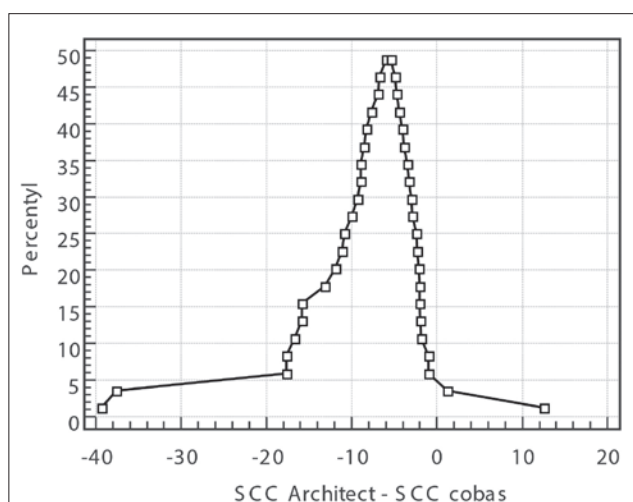
- $COBAS\ SCC = -0,228 + 1,331 \times ARCHITECT\ SCC,$
- a w podgrupie SCC-Ag > 10 ng/ml następująco
- $COBAS\ SCC = 0,301 + 1,225 \times ARCHITECT\ SCC.$



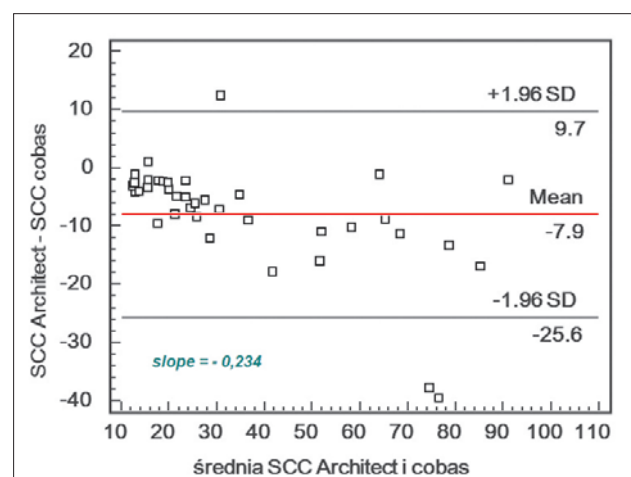
Rycina 3a. Skumulowany rozkład różnic pomiędzy wynikami oznaczeń dla testu ARCHITECT SCC do COBAS SCC w podgrupie chorych ze stężeniem markera niższym od 10 ng/ml.



Rycina 4a. Zależność różnic pomiędzy wynikami oznaczeń dla testu ARCHITECT SCC i COBAS SCC od średnich stężeń markera wg Bland i Altman w podgrupie chorych ze stężeniem markera niższym od 10 ng/ml.



Rycina 3b. Skumulowany rozkład różnic pomiędzy wynikami oznaczeń dla testu ARCHITECT SCC i COBAS SCC w podgrupie chorych ze stężeniem markera wyższym od 10 ng/ml.



Rycina 4b. Zależność różnic pomiędzy wynikami oznaczeń dla testu ARCHITECT SCC i COBAS SCC od średnich stężeń markera wg Bland i Altman w podgrupie chorych ze stężeniem markera wyższym od 10 ng/ml.

W obu podgrupach nie stwierdzano odchyżeń od liniowości. Stężenie markera dla testu ARCHITECT SCC w podgrupie pierwszej (<10ng/ml) wynosiło średnio 4,04 ng/ml (SD 2,66 ng/ml) i było istotnie niższe ($p < 0,0001$) w porównaniu do średniej testu COBAS SCC wynoszącej 5,18 ng/ml (SD 3,60 ng/ml). Średnia stężenia ARCHITECT SCC w podgrupie drugiej (>10 ng/ml) wynosiła 32,31 ng/ml (SD 20,69 ng/ml) i była istotnie niższa w porównaniu do średniej COBAS SCC, wynoszącej 40,55 ng/ml (SD 26,03 ng/ml). Potwierdzeniem niższych wyników testu ARCHITECT SCC w porównaniu do COBAS SCC są również wykresy „Mountain plot”. 95% różnic pomiędzy wynikami w pierwszej podgrupie zawartych było w przedziale -5,26 do 2,21, przy medianie: -0,59 (rycyna 3a), a w drugiej podgrupie w przedziale od -38,39 do 6,28 przy medianie: - 5,69 (rycyna 3b). Występowanie istotnych różnic pomiędzy wynikami dla testów ARCHITECT SCC i COBAS SCC zarówno w przedziale stężeń poniżej 10 ng/ml jak i powyżej 10 ng/ml potwierdziła również analiza wg Bland i Altman (rycyna 4a i 4b).

Współczynnik nachyleniowy równania regresji w zakresie ARCHITECT SCC do 10 ng/ml wynosił - 0,311, a w przedziale stężeń ARCHITECT SCC powyżej 10 ng/ml - 0,234. Wyniki te nie wskazują

na występowanie większych różnic pomiędzy wynikami oznaczeń wraz ze wzrostem mierzonych stężeń markera.

Dyskusja

Wyniki szeregu badań podkreślają, że u chorych na raka szyjki macicy stężenie SCC-Ag pozostaje w wyraźnej zależności od stadium zaawansowania choroby i stopnia złośliwości histologicznej. We wczesnych stadiach zaawansowania choroby badania antygenu raka płaskonabłonkowego mają ograniczoną użyteczność w diagnostyce. Podwyższone stężenia markera stwierdza się u 24 – 53 % chorych w stopniach zaawansowania IB – IIA oraz u ok. 67 – 88 % chorych w stadiach IIB – IV [13, 14, 22]. Czułość i swoistość diagnostyczna stężenia SCC-Ag w odniesieniu do potwierdzenia przerzutów do węzłów chłonnych kształtuje się w odpowiednio 60 – 83 % i 41 – 91% [14, 22, 23]. Stężenie markera pozostaje w zależności od głębokości nacieku zmiany nowotworowej [13, 24]. Półkres zaniku podwyższonego stężenia SCC-Ag po leczeniu jest bardzo krótki i ocenia się na ok. 20 min., co stwarza nader sprzyjające warunki dla szybkiego podjęcia decyzji odnośnie prowadzenia terapii uzupełniającej [24].

Opinie odnośnie wartości prognostycznej podwyższonego stężenia SCC-Ag nie są jednoznaczne, większość badaczy przypisuje jednak wyjściowemu stężeniu markera istotną wartość prognostyczną dla oceny czasu przeżycia wolnego od choroby jak i przeżycia całkowitego. Wyjściowe stężenie markera, stadium zaawansowania nowotworu, stan węzłów chłonnych, stopień zróżnicowania są uznawane za czynniki ryzyka nawrotu choroby. Przedmiotem dyskusji jest wielkość wyjściowego stężenia markera [25]. Stężenie SCC-Ag przed leczeniem wyższe od 1,86 ng/ml uznawane jest za niezależny, niekorzystny czynnik prognostyczny. Jakkolwiek w grupie chorych w stadiach zaawansowania IA2 – IIB uważa się że niekorzystnym, niezależnym czynnikiem prognostycznym jest zasadniczo stężenie markera wyższe od 3,0 ng/ml. Dyskutowana jest również wartość prognostyczna stężenia markera po leczeniu pierwszo–razowym w warunkach ocenianej remisji całkowitej [22, 26, 27, 28, 29].

W szeregu pracach eksponuje się użyteczność wyników oznaczeń SCC-Ag w kontroli chorych po leczeniu, głównie po radioterapii względnie chemio-radioterapii [30]. Ocenia się że po zakończeniu leczenia u chorych ze stwierdzoną całkowitą remisją stężenie SCC-Ag jest prawie u wszystkich chorych niższe od przyjmowanych wartości odcinających. Ohara i wsp. wykazali, że po zakończeniu radioterapii lub chemioterapii prawidłowe stężenie markera wiąże się z dłuższym o ponad 2 lat okresem wolnym od nawrotu choroby w porównaniu z chorymi o utrzymującym się podwyższonym poziomie markera, bezpośrednio po leczeniu. Ocenia się że wzrost stężenia SCC-Ag wyprzedza kliniczne objawy nawrotu choroby u 46 – 92% chorych przeciętnie o 2 do 7,8 miesięcy [31–36].

W założeniu wyniki markerów nowotworowych powinny cechować się bliską 100% czułością i swoistością diagnostyczną, pozwalającą na wysoką zdolność różnicowania pomiędzy chorymi na nowotwory złośliwe i tymi wszystkimi osobami z niezłośliwymi zmianami lub osobami zdrowymi. Tylko w odniesieniu do niektórych z poznanych markerów nowotworowych przed wdrożeniem do praktyki klinicznej przeprowadzona została tego rodzaju walidacja użyteczności klinicznej w oparciu o szeroko zakrojone badania prospektywne lub meta-analizy o charakterze badań retrospektywnych/prospektywnych. Przeprowadzonych w mniej licznych próbach. Spełniające te wymagania markery nowotworowe, takie jak CEA, AFP, beta-hCG, LDH, czy CA 125 są zaliczane do 1 klasy markerów nowotworowych [37]. Użyteczność badań antygenu raka płaskonabłonkowego w diagnostyce, ocenie rokowania, monitorowania leczenia i kontroli po leczeniu u chorych na raka szyjki macicy jak i w innych nowotworach płaskonabłonkowych jest nadal przedmiotem weryfikacji, rozbieżnych opinii, wypracowania optymalnej formy rekomendacji. Antygen raka płaskonabłonkowego zaliczany pod względem własności biochemicznych do frakcji białka TA-4 jest glikoproteiną należącą do rodziny inhibitorów proteaz serynowych i cysteinowych, obecnych w komórkach prawidłowego nabłonka szyjki macicy a którego wzmożoną ekspresję stwierdza się w zmianach dysplastycznych oraz w komórkach płaskonabłonkowego raka szyjki macicy, szczególnie w typach cechujących się przeciętnym lub dobrym stopniem zróżnicowania. W oparciu o technikę ogniskowania izoelektrycznego wyodrębniono dwie podgrupy izoform

antygeny raka płaskonabłonkowego: kwaśną o pI < 6,25 i obojętną o pI > 6,25 do których zalicza się ponad 10 różnych białek. Wykazano, że w raku szyjki macicy ekspresja izoformy kwaśnej (SCCA2) jest znacznie bardziej nasiloną aniżeli izoformy obojętnej (SCCA1). Zasadniczo forma obojętna przeważa wewnątrz prawidłowych komórek płaskonabłonkowych, podczas gdy ekspresja izoformy kwaśnej dominuje w komórkach płaskonabłonkowego raka szyjki macicy i jest ona uwalniana do krążenia [38, 39]. Antygen jest w znacznych ilościach uwalniany z komórek raka szyjki macicy a nasilenie jego ekspresji zależy od stopnia zróżnicowania komórek [40, 41, 42, 43]. Podkreśla się, że badanie stosunku stężenia SCCA2/SCCA1 mogą wnosić istotne informacje w diagnostyce i zwłaszcza ocenie rokowania chorych. Wysuwa się jednak sugestię, że zestawy odczynnikowe ARCHITECT SCC nie pozwalają na różnicowanie SCCA1 i SCCA2 w taki sposób aby możliwa była ich wykorzystanie w diagnostyce różnicowej raka szyjki macicy i chorób alergicznych [44].

Stwierdzone w prezentowanych badaniach istotne różnice w stężeniach COBAS SCC oraz ARCHITECT SCC mogą wiązać się z różnicami we własnościach przeciwciał monoklonalnych przeciwko SCCA1 i SCCA2 stosowanych w obu testach.

Piśmiennictwo

1. Bielska-Lasota M, Ingelhelmann R, van der de Poll-Franse L, et al. EURO CARE Working Group. Trends in cervical cancer survival in Europe, 1983 – 1994; a population-based study. *Gynecol Oncol* 2007; 105: 609-619.
2. Wronkowski Z, Zwierko M. *Epidemiologia raka szyjki macicy* Wyd. Czelej, Lublin, 2006; 21-52.
3. Clement PB. Pathology of the uterine corpus. *Human Pathol* 1991; 22: 776-791.
4. Sikorski M. Zakażenia HPV – współczesne poglądy i praktyka. *Termiedia Wyd Med* 2008: 21.
5. Kato H, Torigoe T. Radioimmunoassay for tumor antigen of human cervical squamous cell carcinoma. *Cancer* 1977; 40: 1621-1628.
6. Suminami Y, Kishi F, Segikuchi K, et al. Squamous cell carcinoma antigen is a new member of the serine protease inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 181: 51-58.
7. Kato H, Miyauchi F, Marioka H, et al. Tumor antigen of human cervical squamous cell carcinoma. Correlation of circulating levels with disease progress. *Cancer* 1979; 43: 585-590.
8. Gadducci A, Tana R, Cosio S, et al. The serum assay of tumor markers in the prognostic evaluation, treatment monitoring and follow-up of patients with cervical cancer: A review of the literature. *Critical Rev Oncol Hematol* 2008; 66: 10-20.
9. Molina R, Filella X, Torres MD, et al. SCC antigen measured in malignant and nonmalignant diseases. *Clin Chem* 1990; 36: 251-254.
10. Kulpa J, Wójcik E, Reinfuss M, et al. Carcinoembryonic antigen, squamous cell carcinoma antigen, CYFRA 21-1, and neuron-specific enolase in squamous cell lung cancer patients. *Clin Chem* 2002; 48: 1931-1937.
11. Adel M, Tsao C-K, Wei F-C, et al. Preoperative SCC antigen, CRP serum levels, and lymph node density in oral squamous cell carcinoma. *Medicine* 2016; 95: 1-7.
12. Shimada Y, Watanabe G, Kawamura I, et al. Clinical significance of osteopontin in esophageal squamous cell carcinoma comparison with common tumor markers. *Onology* 2005; 68: 285-292.
13. Duk JM, de Bruijn HWA, Groenier KH, et al. Cancer of the uterine cervix: sensitivity and specificity of the serum squamous cell carcinoma antigen determinations. *Gynecol Oncol* 1990; 39: 186-194.
14. de Bruijn HWA, Duk JM, van der Zee, et al. The clinical values of squamous cell carcinoma antigen in cancer of the uterine cervix. *Tumor Biol* 1998; 19: 505-516.
15. Beynon DW, Lopez A, Robertson G, et al. Squamous cell carcinoma antigen: pretreatment levels as an indicator of advanced or metastatic disease. *Int J Gynecol; Cancer* 1994; 4: 206-210.
16. Cases A, Filella X, Molina R, et al. Tumor markers in chronic renal failure and hemodialysis patients. *Nephron* 1991; 57: 183-186.

17. CLSI. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical Approach; Approved Guideline. EP06-A. 2003
18. CLSI. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; Approved Guideline – Third Edition. EP05-A3. 2014
19. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. Part I. Clin Chem Clin Biochem 1983; 21: 709-720.
20. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods. Lancet 1986; 307-310.
21. Krouwer JS, Monti KL. A simple, graphical method to evaluate laboratory assays Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995; 33: 525-527.
22. Gaarenstroom KN, Kenter GG, Bonfrer JMG et al. Can initial serum Cyfra 21-1, SCC antigen, and TPA levels in squamous cell cervical cancer predict lymph node metastases or prognosis? Gynecol Oncol 2000; 77: 164-170.
23. Dasari S, Wudayagiri R, Valluru L. Cervical cancer: Biomarkers for diagnosis and treatment. Clinica Chim Acta 2015; 445: 7-11.
24. Takeda M, Sukuragi N, Okamoto K, et al. Preoperative serum SCC, CA 125 and CA19-9 levels and lymph nodes status in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Acta Obstet Gynecol Scand 2002; 81: 451-457.
25. Lekskul N, Charakorn C, Lerthachonsuk A-A, et al. The level of squamous cell carcinoma antigen and lymph node metastasis in locally advanced cervical cancer. Asian Pac J Cancer Prev 2015; 16: 4719-4722.
26. Strauss HG, Laban C, Lautenschlager C, et al. SCC antigen in the serum as an independent prognostic factor in operable squamous cell carcinoma of the cervix. Eur J Cancer 2002; 38: 1987-1991.
27. Hong JH, Tsal CS, Chang JT, et al. The prognostic significance of pre- and posttreatment SCC levels in patients with squamous cell carcinoma of the cervix treated by radiotherapy. Int J Radiat Oncol Bio Biophys 1998; 41: 823-830.
28. Ryu HK, Baek JS, Kang WD, et al. The prognostic value of squamous cell carcinoma antigen for predicting tumor recurrence in cervical squamous cell carcinoma patients. Obstet Gynecol Sci 2015; 58: 368-376.
29. Jeong BK, Choi DH, Huh SJ, et al. The role of squamous cell carcinoma antigen as a prognostic and predictive factor in carcinoma of uterine cervix. Radiat Oncol J 2011; 29:191-198.
30. Oh J, Lee HJ, Lee TS, et al. Clinical value of routine squamous cell carcinoma antigen in follow-up of patients with locally advanced cervical cancer treated with radiation or chemoradiation. Obstet Gynecol Sci 2015; 59: 269-278.
31. Ohara K, Tanaka Y, Tsunoda H, et al. Assessment of cervical cancer radioresponse by serum squamous cell carcinoma antigen and magnetic resonance imaging. Obstet Gynecol, 2002; 100(4): 781-7.
32. Wang Y, Cut T, Du L, et al. The correlation between the serum squamous carcinoma antigen and the prognosis of recurrent cervical squamous carcinoma. J Clin Lab Anal 2017; 31: e220.
33. Salvatici M, Achilarré MT, Sandri MT, et al. Squamous cell carcinoma antigen (SCC-Ag) during follow-up of cervical cancer patients: Role in the early diagnosis of recurrence. Gynecol Oncol 2016; 142: 115-119.
34. Shimura K, Mabuchi S, Yokoi, et al. Utility of serum squamous cell carcinoma antigen levels at the time of recurrent cervical cancer diagnosis in determining the optimal treatment choice. J Gynecol Onkol 2013; 24: 321-329.
35. Esajas MD, Duk M, de Bruijn HWA, et al. Clinical value of routine serum squamous cell carcinoma antigen in follow-up of patients with early-stage cervical cancer. 2001; 19: 3960-3966.
36. Hirakawa M, Nagui Y, Inamine M, et al. Predictive factor of distant recurrence in locally advanced squamous cell carcinoma of the cervix treated with concurrent chemoradiotherapy. Gynecol Oncol 2008; 108: 126-129.
37. Duffy MJ. Tumor markers in clinical practise: a review focusing on common solid cancers. Med Princ Pract, 2013; 22: 4-11.
38. Einarsson R. Squamous cell carcinoma antigen (SCCA) isomers – markers for squamous cell carcinoma. Adv Clin Exp Med 2005; 14: 643-648.
39. Einarsson R. Squamous cell carcinoma antigen: more sensitive second generation assays. CLI 2004.
40. Suminami Y, Nawata S, Kato H. Biological role of SCC antigen. Tumor Biol 1998; 19: 488-493
41. Crombach G, Scharl A, Vierbuchen M, et al. Detection of squamous cell carcinoma antigen in normal squamous epithelia and in squamous cell carcinomas of the uterine cervix. Cancer 1989; 63: 1337-1342.
42. Kato H, Nagaya T, Torigoe T. Heterogeneity of tumor antigen TA-4 of squamous cell carcinoma in relation to its appearance in the circulation. Gann 1984; 75: 433-435.
43. Craig SS, Schwartz LB. Tryptase and chymase, markers of distinct types of human mast cells. Immunol Res 1989; 8: 130-148.
44. Mitsushi K, Nakamura T, Sakata Y, et al. The squamous cell carcinoma antigen as relevant biomarkers of atopic dermatitis. Clin Exp Allergy 2005 ;35: 1327-1333.

Autor do korespondencji:

prof. dr hab. Jan Kanta Kulpa
 Zakład Analizy i Biochemii Klinicznej
 Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
 31-115 Kraków, ul. Garncarska 11
 tel. +48 12 6348484
 e-mail: z5jkulpa@cyfronet.pl

Otrzymano: 13.03.2017

Akceptacja do druku: 03.08.2017

Konflikt interesów: nie zgłoszono

