

HE4, UN NUOVO BIOMARCATORE

M.T. Sandri

Unità di Medicina di Laboratorio, Istituto Europeo di Oncologia, Milano

L'utilizzo dei marcatori tumorali nella diagnosi e nella gestione clinica del carcinoma ovarico è un argomento dibattuto sia nelle finalità che in merito alle applicazioni in grado di garantire un migliore esito per le pazienti.

Il marcatore di elezione è il CA125, una mucina identificata nel 1981 tramite anticorpi monoclonali specifici diretti contro una linea cellulare derivata da una paziente affetta da carcinoma ovarico. Questa molecola viene misurata nel siero mediante immunodosaggi che impiegano sia gli originali anticorpi monoclonali OC 125 che quelli derivati dalla linea M11, in modo da identificare epitopi differenti e non sovrapposti per la cattura e la rilevazione. La mancanza di uno standard internazionale ostacola la standardizzazione dei numerosi immunodosaggi commerciali attualmente disponibili, e anche se la soglia di "normalità" è analoga per quasi tutti i dosaggi (35 U/mL), i valori ottenuti con metodi differenti non sono intercambiabili e rendono necessaria la rivalutazione dei risultati nelle pazienti sottoposte a monitoraggio qualora si decida di cambiare metodo. Oltre a queste considerazioni metodologiche, è opportuno ricordare che i valori di CA125 possono risultare incrementati in numerose condizioni fisiologiche (gravidanza e ciclo mestruale) e patologiche non correlate al carcinoma ovarico (epatopatia, pancreatite, flogosi peritoneale, ascite, pleurite, malattie autoimmuni, scompenso cardiaco, endometriosi). In ragione di questa variabilità e della bassa prevalenza ed incidenza del carcinoma ovarico, il valore predittivo positivo della positività per CA125 è inferiore al 10%, e ciò ha indotto anche recentemente a non raccomandarne l'utilizzo nello "screening" della popolazione asintomatica, mentre appare maggiormente consolidato il ruolo di questo marcatore sia nell'ambito più propriamente diagnostico che, soprattutto, nel monitoraggio delle pazienti già sottoposte a trattamento medico e/o chirurgico, al fine di poter ulteriormente verificare la radicalità del trattamento ed eventualmente anticipare la diagnosi di recidiva.

Oltre alle numerose situazioni che possono peggiorare la specificità del CA125 in maniera del tutto analoga a quanto avviene per le altre mucine (come il CA19-9 e il CA15-3), ulteriori difficoltà sono legate alle ripetute segnalazioni di una sensibilità relativamente bassa negli stadi iniziali del carcinoma ovarico; questo aspetto è assai rilevante, dal momento che i sintomi iniziali di questa patologia sono del tutto aspecifici e che la sopravvivenza a 5 anni peggiora drammaticamente nelle pazienti in cui la diagnosi viene posta in stadio avanzato (III-IV) rispetto a quelle nelle quali è possibile diagnosticare la neoplasia in stadio I o II.

Tutte queste ragioni hanno stimolato, negli ultimi anni, la ricerca di indicatori addizionali che siano in grado di incrementare sia la sensibilità che la specificità clinica per carcinoma ovarico, e a concentrare gli sforzi verso la ricerca di combinazioni di diversi marcatori che siano maggiormente in grado di soddisfare queste esigenze rispetto alla misurazione di un solo marcatore. Uno degli approcci maggiormente seguiti è basato sull'identificazione dei geni iperespressi in corso di patologia mediante "microarray" di cDNA; nel corso di studi di questo tipo sono stati identificati due geni (WFDC2 e MSLN), che sono amplificati nel carcinoma ovarico ma non nel tessuto normale. Il prodotto del primo è una proteina epididimale specifica, chiamata HE4 (human epididymis protein 4). Questa molecola appartiene ad una famiglia ("four-disulfide core") che comprende un gruppo eterogeneo di piccole proteine resistenti agli acidi ed al calore dalle diverse funzioni.

Al momento la funzione di HE4 non è nota, ma i dati della letteratura indicano concordemente che HE4 è maggiormente espressa rispetto a CA125 anche negli stadi iniziali delle neoplasie ovariche epiteliali e, soprattutto, che i livelli di questo indicatore non risentono, o risentono in minima parte, delle variabili fisiopatologiche che causano una

ridotta specificità del CA125, soprattutto nelle pazienti con patologie ovariche o annessiali benigne.

La disponibilità di dosaggi standardizzati per HE4, basati sull'impiego degli anticorpi monoclonali specifici 2H5 e 3D8, ha aperto la strada alle applicazioni di questa molecola nella pratica clinica e, in particolare, all'utilizzo combinato di HE4 e CA125 al fine di migliorare la capacità di discriminare nelle situazioni cliniche "borderline" (cisti ovariche, masse annessiali, patologie pelviche non caratterizzate) assai comuni e di difficile inquadramento. L'approccio recentemente suggerito e codificato con la dicitura ROMA (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm), prevede che i valori di CA125 ed HE4 vengano combinati mediante due formule differenti in pre-menopausa ed in menopausa al fine di produrre un "indice di rischio" per patologia neoplastica maligna dell'ovaio in donne che presentino una massa pelvica all'esame ecografico; le pazienti con un indice uguale o superiore alla soglia stabilita dovrebbero essere indirizzate ad un Centro specializzato in oncologia ginecologica per un approfondimento basato sia sulla diagnostica per immagini (RMN, TAC) che sull'indagine laparoscopica, mentre per le pazienti con indice di rischio inferiore alla soglia il valore predittivo negativo dovrebbe essere sufficientemente elevato da consentire un approccio dilazionato nel tempo. Come è ovvio, l'algoritmo combinatorio ROMA è costruito in modo da fornire un indice di rischio positivo anche in presenza di valori "normali" di CA125 e/o di HE4, in modo da incrementare la sensibilità soprattutto negli stadi iniziali; in particolare nella pre-menopausa un valore di HE4 superiore a 55 fmol/L è di per se indicativo di un rischio aumentato.

Nella nostra esperienza preliminare, HE4 è stato valutato insieme a CA125 nell'ambito di uno studio prospettico in doppio cieco condotto presso due Centri mediante arruolamento di pazienti che presentavano una massa annessiale ed erano candidate per una terapia chirurgica. La determinazione di HE4 e CA 125 e l'analisi ecografica sono state eseguite entro 30 giorni prima dell'intervento: le masse annessiali sono state classificate su base ecografica come certamente o probabilmente benigne, di difficile classificazione o probabilmente o certamente maligne. Un campione di siero di ciascuna paziente è stato analizzato sia per CA125 che per HE4 con metodiche CMIA (chemiluminescent microparticle immunoassay) su strumentazione automatizzata Abbott ARCHITECT (Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Germania). Oltre alla valutazione dei singoli marcatori, è stato calcolato l'algoritmo ROMA, in accordo con le indicazioni dell'inserito del metodo HE4 CMIA e quindi con differente indice di rischio in pre-menopausa (7,4) ed in menopausa (25,3). Le misure di esito erano la sensibilità a livelli predefiniti di specificità e l'accuratezza, espressa mediante curve ROC con intervallo di confidenza di 95% del ROMAR, del CA125 e dell'ecografia per la discriminazione delle masse pelviche.

I risultati preliminari sono relativi a 113 pazienti (51 in pre-menopausa e 62 in menopausa). L'analisi istopatologica ha consentito di diagnosticare 52 neoplasie ovariche maligne (46%), 12 lesioni "borderline" (10,6%) e 49 lesioni benigne (43,4%). L'approccio ultrasonografico, condotto da operatori esperti in un centro di riferimento per il trattamento del carcinoma ovarico, aveva la migliore sensibilità e accuratezza, ma l'algoritmo ROMA mostrava una sensibilità superiore rispetto alla sola determinazione del CA125 sia ad una specificità del 90% (79,7% contro 64,1%) che ad una specificità del 95% (71,1% contro 62,5%).

Questi risultati, in accordo con altri dati della letteratura, indicano che l'algoritmo ROMA classifica correttamente una percentuale elevata di donne con massa annessiale e può rappresentare una utile integrazione al CA125 nella diagnosi differenziale, garantendo una migliore sensibilità a livelli adeguati di specificità.

Bibliografia

1. Havrilesky LJ, Whitehead CM, Rubatt JM, Cheek RL, Groelke J, HE Q, et al. Evaluation of biomarker panels for early stage ovarian cancer detection and monitoring for disease recurrence. *Gynecol Oncol* 2008;110:374-382
2. Hellstrom I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker of ovarian carcinoma. *Cancer Res* 2003;63:3695-3700
3. Medeiros LR, Rosa DD, da Rosa MI, Bozzetti MC. Accuracy of CA 125 in the diagnosis of ovarian tumors: a quantitative systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;142:99-105
4. Montagnana M, Lippi G, Ruzzenente O, Bresciani V, Danese E, Scevarolli S, et al. The utility of serum human epididymis protein 4 (HE4) in patients with a pelvic mass. *Clin Lab Anal* 2009;23:331-335.
5. Moore RG, Brown AK, Miller MC, Skates S, Allard WG, Verch T, et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol* 2008;108:402-408.
6. Moore RG, McMeekin DS, Brown AK, et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol* 2009;112:40-46.
7. Nolen B, Velikokhatnaya L, Marrangoni A, De Geest K, Lomakin A, Bast RC, Lokshin A. Serum biomarker panels for the discrimination of benign from malignant cases in patients with an adnexal mass. *Gynecol Oncol* 2010;117:440-445.
8. Riedinger GM, Bonnetain F, Basujau JP, Dche N, Larbre H, Dalifard I, et al. Change in CA 125 levels after the first cycle of induction chemotherapy is an independent predictor of epithelial ovarian tumour outcome. *Ann Oncol* 2008;18:881-885.
9. Rosen DG, Wang L, Atkinson JN, Yu Y, Lu KH, Diamandis EP, et al. Potential markers that complement expression of CA125 in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2005;99:267-277.
10. Sturgeon CM, Duffy MJ, Stenman U-H, Lilja H, Bruenner N, Chan DW, et al. National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *Clin Chem* 2008;54:e11-e79