

Determinazione di CA 27.29 nel carcinoma della mammella

Polidori Maria*, Di Pietro Nino*, Savini Fabio**, Ruffini Irma*, Nubile Giuseppe*

*Laboratorio Analisi, Presidio Ospedaliero G. Bernabeo Ortona, ASL Chieti

** Laboratorio Analisi, Presidio Ospedaliero S. Massimo Penne, ASL Pescara

ABSTRACT

Analysis of CA 27.29 in breast cancer

The measurement of the tumor marker CA 27.29 in serum is an useful tool for the early detection of mammary carcinoma. In our study, we analysed 1050 patients divided in three groups: 1) patients with mammary carcinoma; 2) patients with non-carcinogenic inflammatory or degenerative pathology; 3) healthy subjects. Among the 308 patients of the first group, 236 (76,6%) had serum concentration of CA 27.29 >25 U/ml (cut off). Among the 392 patients of the second group, 330 (84,2%) had concentration <25U/ml. Among the 350 healthy subjects, 339 (96,9%) had a concentration <25 U/mL. The overall sensitivity was 76,6%, the specificity 90,2% and the accuracy 86,2%. The positive predictive value was 76,4% while the negative predictive value was 90,3%. The odds ratio was 30,0.

RIASSUNTO

La misurazione del marcatore tumorale CA 27.29 del siero nel carcinoma della mammella costituisce un valido aiuto nella diagnosi precoce. Nel nostro studio sono stati inclusi 1050 pazienti suddivisi in tre gruppi: 1) pazienti con cancro mammario; 2) pazienti con patologia infiammatoria o degenerativa, non cancerogena; 3) pazienti sani. Nei 308 pazienti del 1° gruppo, 236 (76,6%) hanno mostrato una concentrazione di CA 27.29 > 25 U/mL (cut-off). Nei 392 pazienti del 2° gruppo, 330 (84,2%) hanno una concentrazione di marcatore < di 25 U/ml. Nei 350 pazienti sani, 339 (96,9%) hanno mostrato una concentrazione < 25 U/mL. La sensibilità globale è del 76,6%, la specificità del 90,2% e l'accuratezza del 86,2%. Il valore predittivo positivo è del 76,4% mentre il valore predittivo negativo è del 90,3%. L'odds ratio è 30,0.

INTRODUZIONE

Il marcatore tumorale CA 27.29 appartiene alla famiglia dei markers mucinici insieme a CA15.3, CA 125 e CA 19.9. Le mucine sono delle glicoproteine ad elevato peso molecolare caratterizzate dalla presenza di legami O-glicosidici e da elevata densità e viscosità.

Esse sono costituite da uno scheletro proteico (apomucina), al quale sono ancorate molte catene oligosaccaridiche, che costituiscono il 78% dell'intera molecola (1). Le mucine hanno un ruolo nei meccanismi di crescita ed invasione metastatica (2,3). Nelle neoplasie si riscontra un aumento secretivo di mucine nel torrente sanguigno e di conseguenza un aumento della loro concentrazione ematica (4).

Le linee guide per la diagnosi precoce del tumore della mammella, in considerazione della bassa sensibilità del CA 15.3 soprattutto nei tumori meno estesi, sono state aggiornate con l'aggiunta del CA 27.29, evidenziato dall'anticorpo monoclonale B 27.29 (5). Questo antigene, associato al carcinoma mammario, è codificato dal gene umano MUC-I ed è identificato da diversi nomi incluso MAM 6, latte mucina, CA 27.29. Si tratta di una glicoproteina dal peso molecolare 300-450 KDa che contiene una sequenza tandem ripetuta di 20 amminoacidi. Il numero di ripetizioni e il grado di glicosilazione sono variabili tra gli individui: di conseguenza, il CA 27.29 è molto eterogeneo nella sua struttura (6). Nelle cellule maligne il CA 27.29 è

localizzato sull'intera superficie cellulare ed è rilasciato nel torrente sanguigno (7). I tumori degli organi ghiandolari come la mammella, possono produrre alte concentrazioni di CA 27.29 nel siero, rendendolo utile come biomarcatore tumorale.

MATERIALI E METODI

Per la determinazione delle concentrazioni ematiche di CA 27.29 è stato utilizzato il kit ST AIA PACK 27.29 e l'analizzatore AIA 21 (TOSOH BIOSCENCE). Il kit utilizza un anticorpo monoclonale di topo antiCA 27.29, che riconosce 8 amminoacidi nella porzione tandem ripetuta della catena polipeptidica (8). Il metodo è basato su un saggio immunoenzimatico non-competitivo e il CA 27.29 presente nel campione da analizzare nel quale un anticorpo monoclonale è immobilizzato su sfere magnetiche ed un anticorpo monoclonale è coniugato con fosfatasi alcalina. Dopo l'incubazione con il campione, le sfere sono incubate con il substrato 4-metilumbelliferilfosfato (4UMP). La fosfatasi alcalina legata alle sfere converte il 4-metilumbelliferilfosfato a 4-metilumbelliferone (4UM) che è fluorescente. L'intensità della fluorescenza misurata in continuo con l'analizzatore è direttamente proporzionale alla concentrazione di CA 27.29 presente nel campione. La metodica è stata controllata giornalmente con i sieri di controllo "Tumor Marker Control" livello 1 e livello 2 (BIORAD).

RISULTATI

Nel nostro laboratorio, nell'arco di 18 mesi, sono state eseguite determinazioni di CA 27.29 su 1050 pazienti ripartiti in tre gruppi, ciascuno dei quali suddiviso in due sottogruppi (pre- e post-menopausa), come segue:

- gruppo 1, costituito da 308 pazienti con Ca-mammario, di cui 102 in premenopausa e 206 in postmenopausa;
- gruppo 2, costituito da 392 pazienti con patologia infiammatoria o degenerativa non maligna, di cui 162 in premenopausa e 230 in postmenopausa;
- gruppo 3 di controllo, costituito da 350 pazienti ripartito in 170 soggetti in premenopausa e 180 pazienti in postmenopausa.

Nella tabella 1 sono riportati i valori ottenuti nel controllo interno di qualità (valori medi, deviazione standard e coefficienti di variazione) con materiali a due livelli della ditta.

Nella tabella 2 sono riportati i risultati per i tre gruppi selezionati, dove si evidenzia che il 76,6% dei pazienti con cancro mammario (1° gruppo) presenta una concentrazione di CA 27.29 >25 U/ml; l'84,2% dei pazienti con patologia infiammatoria non cancerogena (2° gruppo) ha una concentrazione di marcatore < 25 U/ml; il 96,9% dei pazienti sani (3° gruppo) mostra una concentrazione di CA 27.29 < 25 U/ml.

L'accuratezza globale è del 86,2% (figura 1). Distinguendo i campioni in due gruppi abbiamo un'accuratezza di 93,1% per i pazienti in pre-menopausa e di 81,3% per

Tabella 1

Valori ottenuti nel controllo interno di qualità con materiali della ditta Biorad a due livelli (inferiore e superiore al cut-off di 25 U/ml)

Statistica	Tumor Marker Control	
	Livello 1	Livello 2
Valore teorico (U/ml)	14,3	38,0
Intervallo d'accettabilità (U/ml)	11,6-17	31,1-45
Valore medio (U/ml)	13,75	43,4
Deviazione standard (DS)	0,7	4,2
Coefficiente di variazione (CV)	4,5	8,1

Tabella 2

Statistiche descrittive dei valori riscontrati nei tre gruppi, divisi nei sottogruppi Pre- (pre-menopausa) e Post- (post-menopausa). Valore di cut-off: 25 U/mL.

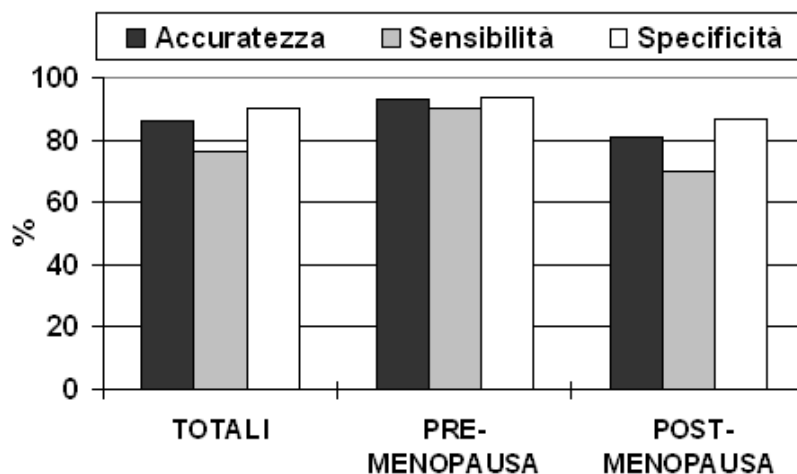
Statistica	Gruppo 1			Gruppo 2			Gruppo 3		
	Tutti	Pre-	Post-	Tutti	Pre-	Post-	Tutti	Pre-	Post-
N	308	102	206	392	162	230	350	170	180
Valori >cut-off, %	76,6	90,2	69,9	15,8	9,9	20,0	3,1	2,3	3,9
Valori <cut-off, %	23,4	9,8	30,1	84,2	90,1	80,0	96,9	97,7	96,1
Media, U/mL	46,2	44,1	47,2	20,3	19,3	20,8	11,7	10,4	13,4
D.S., U/mL	8,1	7,9	7,8	4,0	3,9	4,1	3,9	3,7	4,2
Valore min., U/mL	12	13,0	12,0	5,5	5,5	7,5	5,6	5,6	7,4
Valore max., U/mL	90	80,0	90,0	33,6	32	33,6	24,2	20,1	24,2
P**		0,001			0,000			0,000	

** Significatività delle variazioni Pre-/Post-. t di Student a due code.

quelli in post-menopausa. La sensibilità totale è del 76,6%, mentre per i due gruppi abbiamo una sensibilità del 90,2% per pazienti in pre-menopausa e del 69,9% per quelli in post-menopausa. La specificità totale è del 90,2%. Per i due gruppi abbiamo una specificità del 94,0% nei pazienti in pre-menopausa e del 87,1% per quelli in post-menopausa. Il valore predittivo positivo globale è del 76,4. Il valore predittivo negativo totale è del 90,3%. Il quoziente di probabilità positivo è di 7,8, mentre il quoziente di probabilità negativo è di 0,3, sempre riferito a tutti i campioni. L'odds ratio globale è di 30,0 (tabella 3).

DISCUSSIONE

Il CA 27.29, alla luce dei risultati ottenuti nel presente studio, può essere inserito tra i marcatori tumorali del carcinoma alla mammella come ulteriore ausilio diagnostico. I dati ottenuti hanno evidenziato che la rilevazione del marcatore CA 27.29 non può essere eseguita senza una preventiva indagine clinico-diagnostica e anamnestica del paziente. Ad esempio la semplice divisione tra pre- e post-menopausa, nei tre gruppi selezionati, ha determinato significative differenze nei valori riscontrati e negli indici di attendibilità diagnostica. Ciò potrebbe significare che anche in altre condizioni, come ad esempio fluttuazioni fisiologiche (ritmi circadiani), patologiche (patologie infiammatorie acute e croniche), vi potrebbe essere un'interpretazione del dato diversa. A conforto di quanto detto sono da considerare i riferimenti statistici di confronto dei tre gruppi selezionati, da cui si evidenziano le differenze d'accuratezza, di sensibilità e di specificità. Associato con gli altri marcatori tumorali, il CA 27.29 è anche utilizzabile per seguire l'evoluzione clinica del cancro mammario, in quanto evidenzia precocemente le recidive (metastasi locali) ed inoltre monitorizza l'andamento della patologia rispetto a terapie chemioterapiche e/o radioterapiche. In conclusione si può affermare che i criteri basilari e fondamentali di un biomarcatore sono stati riconosciuti alla molecola di CA 27.29.

**Figura 1**

Confronto tra i valori di accuratezza, sensibilità e specificità calcolati per i pazienti totali, per i pazienti in pre-menopausa e per quelli in post-menopausa

Tabella 3

Confronto degli indici di attendibilità del CA 27.29 calcolati per il totale dei pazienti, per quelli in pre-menopausa e per quelli in post-menopausa.

Indice	Totali pazienti	Pre-menopausa	Post-menopausa
Accuratezza	86,2%	93,1%	81,3%
Sensibilità	76,6%	90,2%	69,9%
Specificità	90,2%	94,0%	87,1%
Valore predittivo POS	76,4%	82,1%	73,1%
Valore predittivo NEG	90,3%	96,9%	85,2%
Quoziente di probabilità POS	7,8	15,0	5,4
Quoziente di probabilità NEG	0,3	0,10	0,3
Odds ratio	30,0	143,5	15,6

BIBLIOGRAFIA

- Hilkens J., Ligtenberg M., Vos Hl., Litinov S. Cell membrane-associated mucins and their adhesion modulating properties. Trends Biol. Sci. 1992; 17: 359-63.
- Taylor-Papadimitriou J., Burchell J., Miles D.W., Dalziel M. MUC 1 and cancer. Biochim. Biophys. Acta 1999; 1455:301-13.
- Bombardieri E., Seregini E., Giani D. et al. Heterogeneity and specificity of cancer associated mucins. J. Nucl.Med.Allied Sci. 1990; 34 (Suppl.to N°3): 163-9.
- Malvano R., Giraudi G. (eds) L'immonochimica analitica: principi, metodi, valutazione della qualità. Saluggia (VC). DiaSorin 1998.
- Hung M-C, lau Y-K. Basic science of Her2/neu: a review. Semin Oncol. 1999; 26 (Suppl.12): 52-9.
- Hilgers J., von Mensdorff-Pouilly S., Verstraeten A.A. and Kenemans P. Quantitation of polymorphich epitelial mucin a challenge for biochemists and immunologists. Scand J. Clin. Lab. Invest. 55 (suppl. 221): 81-86 1995.
- Hilkens, J Buijs F., Hageman P.,k Calafat J., Sonnenberg A. and Van Der Valk M. Monoclonal antibodies against human milk-fat globule membranes detecting differentiatio antigens of the mammary gland and its tumors. Int. J. Cancer 1984; 34: 197-206.
- Kufe, D.G., Inghirami, M., Abe, D., Hayes, H. Justi.Wheeler, H. and Schlom, H., Differential reactivity of a novel monoclonal antibody (DF3) With human malignant versus benign breast tumors. Hybridoma 1984; 3: 223-226.