

Gonadotropina corionica umana in oncologia: ruolo e responsabilità del laboratorio

Simona Ferraro, Federica Braga, Mauro Panteghini

Centro di Ricerca per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME), Università di Milano, Milano

La determinazione della gonadotropina corionica umana (hCG) ricopre un ruolo determinante nella diagnosi, nel monitoraggio e nel trattamento dei tumori a cellule germinali (TCG), ampiamente riconosciuto nelle linee guida relative sia alla popolazione pediatrica che adulta [1-3]. In oncologia pediatrica, a partire dall'età neonatale, valori anomali di hCG indicano la presenza di componenti significative di coriocarcinoma, anche in assenza di diagnosi istologica, quando quest'ultima sia resa difficile dalla presenza di una necrosi emorragica estesa, e sono anche osservabili in alcuni germinomi puri, quali seminomi testicolari, disgerminomi ovarici e germinomi intracranici [1,4]. È stato riportato che nei tumori intracranici non-seminomatosi (che includono coriocarcinoma, tumori del sacco vitellino, carcinomi embrionali e tumori misti) un incremento di hCG >50 IU/L nel siero o nel liquido cerebrospinale assume valenza diagnostica senza necessità di ricorrere a biopsia, mentre in quelli di tipo seminomatoso la determinazione di hCG nel siero/liquido cerebrospinale può contribuire a escludere la presenza di altre componenti tumorali prima di procedere alla biopsia [5]. Inoltre, incrementi anche minimi di hCG possono essere determinanti nell'indirizzare il trattamento secondo i protocolli operativi vigenti [1,4,5]. Nella popolazione adulta, per il tumore ovarico non epiteliale e per il TCG testicolare la determinazione di hCG ha un ruolo cardine nella diagnosi, nel riconoscimento precoce della recidiva e nella sorveglianza post-chirurgica e del trattamento chemioterapico [2,3]. Incrementi sierici di hCG sono rilevabili anche in pazienti con adenocarcinomi scarsamente differenziati, soprattutto del tratto gastrointestinale [1].

Negli ultimi anni, un'interessante discussione ha posto l'attenzione sull'importante ruolo svolto dal laboratorio nel dosaggio di hCG in campo oncologico, in particolare nella diagnostica e nel monitoraggio del tumore testicolare, malignità obiettivamente meno rara rispetto alle altre sopra citate (incidenza globale di circa 55.000 casi/anno), per la quale possono quindi essere raccolte casistiche di dati più congrue [6-10]. Questo ha offerto anche la possibilità di puntualizzare alcune importanti lacune presenti nelle linee guida, connesse con le caratteristiche biochimiche delle varianti di hCG associate alla diagnostica oncologica, e di fare quindi il punto sui saggi attualmente disponibili in grado di misurarle accuratamente.

L'IMPORTANZA DI CHIAMARSI 'HCG TOTALE'

È noto come i differenti isotipi neoplastici possano esprimere a livello tissutale e rilasciare in circolo diverse forme di hCG, anche in funzione dello stadio precoce o avanzato del tumore [11]. Nei seminomi puri, con incidenza

variabile tra 7% e 40%, si è dimostrata una secrezione di subunità β libera di hCG (hCG β), iperglicosilata e non, e valutazioni sistematiche hanno dimostrato che circa il 35% dei pazienti con seminoma è caratterizzato da un esclusivo incremento di hCG β e il 70% dei pazienti con TCG non-seminomatoso mostra un incremento di hCG molecola intatta e/o hCG + hCG β , con l'incremento di hCG β che varia in relazione a istotipo e stadio della neoplasia [6]. È quindi vitale utilizzare una nomenclatura relativa alle forme di hCG appropriata, nonché indicare quali e quante di queste vengano riconosciute nel saggio utilizzato. In laboratorio abbiamo a disposizione tre tipi di metodi di misura di 'hCG', che sono funzionali a differenti applicazioni del test:

a) metodi 'hCG intatta', che misurano l'ormone funzionante ed sono impiegabili in campo ostetrico per la diagnosi di gravidanza;

b) metodi 'hCG β libera', che in combinazione con il dosaggio della proteina plasmatica A associata alla gravidanza, vengono utilizzati per valutare il rischio di anomalie cromosomiche fetali durante il primo trimestre di gravidanza;

c) metodi 'hCG totale', che determinano entrambe le forme (hCG intatta + hCG β libera), e sono gli unici, per i motivi più sopra addotti, ad assicurare, almeno teoricamente, un'adeguata capacità di misura di tutte le forme potenzialmente rilevabili in campo oncologico.

Tra le linee guida cliniche recentemente rilasciate, che raccomandano la misurazione dei marcatori tumorali per la gestione del cancro ai testicoli, solo la linea guida dell'*American Society of Clinical Oncology* fa chiaro riferimento alle caratteristiche principali dei metodi di misura necessari per un uso appropriato del test 'hCG' in oncologia, e, cosa ancor più grave, una quota non trascurabile di laboratori confonde, e conseguentemente riporta, i risultati di 'hCG totale' come 'hCG intatta' e viceversa [12,13].

Nel 2013, un consenso di esperti facenti capo all'*International Society for Oncology and Biomarkers* ha fornito raccomandazioni relative alle combinazioni di anticorpi più appropriate per l'impiego clinico di un metodo di determinazione di hCG in campo oncologico, indicando come metodi di elezione quelli in grado di riconoscere in modo equimolare la forma intatta e la subunità β , utilizzando anticorpi monoclonali di cattura diretti contro l'epitopo β 1 della molecola in combinazione con anticorpi di rilevamento che riconoscano gli epitopi β 2 o β 4 [11]. Tuttavia, tale disegno anticorpale non è presente in alcuno dei metodi commercialmente disponibili e questo costringe a un approccio più pragmatico che raccomandi come requisito minimo per l'applicazione oncologica l'uso di un saggio caratterizzato da una pari rilevazione di hCG intatta e hCG β , considerando che, come detto, i tumori trofoblastici producono

hCG intatta ma che anche hCG β può predominare, essendo spesso l'unica forma nel siero dei pazienti con TCG, sconsigliando quindi in oncologia l'uso di saggi che non rilevano o sottostimano hCG β [6,14]. È estremamente importante, pertanto, considerare le specifiche del metodo selezionato e definire se queste corrispondano ai requisiti sopradescritti per un'applicabilità in campo oncologico, considerando che la scelta del metodo potrebbe avere un impatto significativo sull'informazione clinica fornita [7,15].

NON SOLO SELETTIVITÀ ANALITICA

In generale, le linee guida raccomandano la misura di 'hCG' per la gestione dei TCG, con sostanziali differenze in relazione al tipo istologico. Inoltre, nei tumori testicolari si raccomanda la valutazione del marcatore pre- e post-orchietomia, nei tumori non-seminomatosi assumendo anche valore prognostico oltre che nel monitoraggio della chemioterapia [2]. Alla luce di queste raccomandazioni, è necessario che il metodo utilizzato esibisca una sensibilità analitica elevata (basso limite di rilevanza) e un'incertezza di misura ottimale, funzionali a diagnosi precoce, riconoscimento precoce della malattia residua e monitoraggio efficace della terapia [9,16]. Va inoltre tenuto conto della possibile cross-reattività con l'ormone luteinizzante, che deve essere minima per evitare una classificazione errata dei pazienti monitorati durante chemioterapia massiva [7].

Stabilire a quanto corrisponda un'incertezza desiderabile per i metodi di misura di 'hCG totale' (e più in generale per tutti i metodi dei tre tipi precedentemente descritti) non è semplice e immediato, visto che al momento vengono a mancare i presupposti per l'impiego dei primi due modelli per la derivazione delle specifiche di qualità analitiche definiti nella Strategic Conference di Milano nel 2014 [17]. Infatti, non sono disponibili dati di impatto sull'obiettivo clinico (modello 1), né il misurando possiede caratteristiche che consentano l'utilizzo del modello basato sulla variabilità biologica (modello 2). È quindi unicamente possibile ricorrere al modello 3, che si basa sullo stato dell'arte della misura, definito come il più elevato livello di prestazione al momento ottenibile [17]. In un precedente lavoro, abbiamo confrontato l'incertezza standard di tre sistemi di misura ampiamente utilizzati per il dosaggio di hCG (Roche Modular Evo, Abbott Architect i2000SR e Abbott Alinity i), ottenendo valori di, rispettivamente, 2,3%; 5,4% e 3,8% [18]. Di conseguenza, la prestazione di incertezza della misura ottenuta con Modular Evo (2,3%) può essere utilizzata per la definizione, almeno provvisoriamente, dell'obiettivo di incertezza per hCG.

Mancando la possibilità di stabilire una differenza critica sulla base dell'approccio tradizionale utilizzando la variazione biologica del misurando, è difficile stabilire l'entità dell'incremento del marcatore che si possa correlare, con una certa probabilità, a una recidiva biochimica. L'utilizzo di dati di emivita biologica di hCG o di algoritmi di predizione del rischio non si è dimostrato molto utile nella definizione della progressione di malattia o dell'efficacia del trattamento, con possibili ripercussioni sul paziente data l'elevata tossicità della chemioterapia [7]. Tuttavia, le evidenze cliniche incoraggiano a sostenere il monitoraggio clinico di hCG, considerando anche che la diagnostica per immagini può restituire un risultato falso positivo nella lesione residua

dopo trattamento chemioterapico [19]. L'approccio ottimale per stabilire la progressione/remissione biochimica rimane però ancora da chiarire, considerando che l'entità della concentrazione iniziale influenza il tempo necessario alla decrescita dei valori circolanti e che un incremento repentino post-chemioterapia si può verificare nei 2-4 giorni successivi al suo inizio per semplice lisi cellulare. Inoltre, hCG β sembra decrescere più lentamente rispetto alla forma intatta e questo può ulteriormente complicare l'interpretazione dell'andamento temporale del marcatore.

Un ultimo aspetto riguarda la definizione delle soglie decisionali applicabili in ambito oncologico. La tabella 1 riporta quelle da noi utilizzate con l'impiego del metodo Roche 'hCG totale' selezionato per l'impiego in campo oncologico. In rari casi, sono stati tuttavia riportati incrementi dei valori, di probabile origine ectopica, nelle donne in post-menopausa affette da ipogonadismo, durante il ciclo mestruale e negli uomini affetti da ipogonadismo a seguito di trattamento chemioterapico prolungato [20].

Tabella 1

Soglie decisionali per 'hCG totale' applicate in ambito oncologico nel laboratorio degli autori. Metodo utilizzato: Elecsys 'hCG+ β ' assay (Roche Diagnostics).

Categoria (età)	Livello decisionale
Maschi (<50 anni)	0,3 U/L
Maschi (>50 anni)	2,3 U/L
Femmine (<50 anni)	2,1 U/L
Femmine (>50 anni)	5,6 U/L

CONCLUSIONI

Quanto sopra brevemente discusso ci porta ad affermare che si possono assicurare protocolli di cura ottimali in ambito oncologico solo se il laboratorio è in grado di garantire metodi di misura per hCG e competenza specialistica adeguati. Nel caso della gestione dei TCG, l'impiego di un metodo appropriato per la misura di 'hCG totale' ha un ruolo cruciale per contribuire a migliorare gli esiti clinici del paziente. Non è poi così raro osservare una discrepanza tra i risultati derivanti da istologia, diagnostica per immagini e dosaggio di hCG, sia in fase diagnostica che di monitoraggio del trattamento, cosa che può complicare, anche in modo importante, la gestione del paziente. Il laboratorio può diventare complice di queste 'incongruenze' se non si assume la responsabilità della corretta scelta del metodo più adeguato alla diagnostica oncologica, nonché quella di verificarne le prestazioni analitiche e controllarne il livello ottimale.

BIBLIOGRAFIA

1. Schneider DT, Calaminus G, Göbel U. Diagnostic value of alpha1-fetoprotein and beta-human chorionic gonadotropin in infancy and childhood. *Pediatr Hematol Oncol* 2001;18:11-26.

2. **NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Ovarian cancer including fallopian tube cancer and primary peritoneal cancer, Version 1.2020 – March 11, 2020.** https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/default.aspx#ovarian
3. **Gilligan T, Lin D, Aggarwal R, et al.** Testicular cancer, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2019;17:1529-1554.
4. **Blohm E, Calaminus G, Gnekow AK, et al.** Disseminated choriocarcinoma in infancy is curable by chemotherapy and delayed tumour resection. *Eur J Cancer* 2001;37:72-78.
5. **Calaminus G, Frappaz D, Kortmann RD, et al.** Outcome of patients with intracranial non-germinomatous germ cell tumors-lessons from the SIOP-CNS-GCT-96 trial. *Neuro Oncol* 2017;19:1661-72.
6. **Ferraro S, Trevisiol C, Gion M, et al.** Human chorionic gonadotropin assays for testicular tumors: closing the gap between clinical and laboratory practice. *Clin Chem* 2018;64:270-278.
7. **Ferraro S, Panteghini M.** A step forward in identifying the right human chorionic gonadotropin assay for testicular cancer. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:357-360.
8. **Pretorius CJ, du Toit S, Wilgen U, et al.** How comparable are total human chorionic gonadotropin (hCGt) tumour markers assays? *Clin Chem Lab Med* 2020;58:438-444.
9. **Ferraro S, Incarbone GP, Rossi RS, et al.** Human chorionic gonadotropin in oncology: a matter of tight (bio)marking. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:e57-e60.
10. **Ferraro S, Panteghini M.** More robust analytical evidence should support the selection of human chorionic gonadotropin assays for oncology application. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:e61-e63.
11. **Berger P, Paus E, Hemken PM, et al.** Members of the ISOBM TD-7 Workshop on hCG and related molecules. Candidate epitopes for measurement of hCG and related molecules: the second ISOBM TD-7 workshop. *Tumour Biol* 2013;34:4033-4057.
12. **Gilligan TD, Seidenfeld J, Basch EM, et al.** American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline on uses of serum tumor markers in adult males with germ cell tumors. *J Clin Oncol* 2010;28:3388-3404.
13. **Cao ZT, Rej R.** Are laboratories reporting serum quantitative hCG results correctly? *Clin Chem* 2008;54:761-764.
14. **Stenman UH, Tiitinen A, Alfthan H, et al.** The classification, functions and clinical use of different isoforms of HCG. *Hum Reprod Update* 2006;12:769-784.
15. **Fizazi K, Pagliaro L, Laplanche A, et al.** Personalised chemotherapy based on tumour marker decline in poor prognosis germ-cell tumours (GETUG 13): a phase 3, multicentre, randomised trial. *Lancet Oncol* 2014;15:1442-1450.
16. **Anckaert E, Ver Elst K, Mees M, et al.** Analytical and clinical evaluation of a human chorionic gonadotrophin plus β (hCG + β hCG) immunoassay in germ cell tumours and gestational trophoblastic disease. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 2005;20:11-15.
17. **Sandberg S, Fraser CG, Horvath AR, et al.** Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:833-835.
18. **Braga F, Pasqualetti S, Aloisio E, et al.** The internal quality control in the traceability era. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:291-300.
19. **Cathomas R, Klingbiel D, Bernard BD, et al.** FDG PET scan (PET) positive residual lesions after chemotherapy (chemo) for metastatic seminoma: results of an International Global Germ Cell Cancer Group (G3) registry. *J Clin Oncol* 2017;35(Suppl): abstract 4521.
20. **Alfthan H, Haglund C, Dabek J, et al.** Concentrations of human choriogonadotropin, its beta-subunit, and the core fragment of the beta-subunit in serum and urine of men and nonpregnant women. *Clin Chem* 1992;38:1981-1987.

Per corrispondenza:
 Dott.ssa Simona Ferraro
 UOC Patologia Clinica, Ospedale “Luigi Sacco”,
 Via GB Grassi, 74
 20157 Milano
 Tel.: 0239042743
 E-mail: simona.ferraro@asst-fbf-sacco.it