

REF		SYSTEM
05950929 190	100	Elecsys 2010 MODULAR ANALYTICS E170 cobas e 411 cobas e 601 cobas e 602

Lietuvių**Atkreipkite dėmesį**

Paciento mėginyje gauta HE4 reikšmė gali skirtis, priklausomai nuo naudoto tyrimo metodo. Todėl laboratorijos išvadose visada turi būti pateikta informacija apie tai, koks HE4 tyrimo metodas buvo naudojamas. Jei buvo naudojami skirtingi tyrimo metodai, pacientų mėginiuose gautų HE4 reikšmių negalima tiesiogiai lyginti tarpusavyje, tai taip pat gali būti klaidingų medicininių interpretacijų priežastis. Jei gydymo kontrolės metu HE4 tyrimo metodika pasikeičia, iki metodikos pakeitimo gautos HE4 reikšmės turi būti patvirtintos, lygiagrečiai atliekant matavimus abiem metodais.

Paskirtis

Imunologinis kiekybinis tyrimas, skirtas HE4 koncentracijos nustatymui žmogaus serume ir plazmoje. Šis tyrimas yra taikomas kaip pagalbinė priemonė epiteliniu kiaušidžių vėžiu sergančių pacientų stebėjimui dėl vėžio atsinaujinimo ar progresavimo. Serijinis pacientų HE4 reikšmių vertinimas turi būti derinamas su kitais klinikiniais duomenimis, kurie yra stebimi kiaušidžių vėžio atvejais.

Rekomenduojama šį tyrimą derinti kartu su Elecsys CA 125 II tyrimu, kai norima įvertinti priešmenopauzinio ir pomenopauzinio amžiaus moterų, kurioms buvo nustatytas darinys dubens srityje, riziką sirgti epiteliniu kiaušidžių vėžiu. Rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į kitus metodus bei laikantis standartinių klinikinės priežiūros reikalavimų.

Elektrochemiluminescencinis imunologinis tyrimas (angl. electrochemiluminescence immunoassay-ECLIA) yra skirtas naudoti Elecsys ir **cobas e** imunologiniuose analizatoriuose.

Santrauka

Žmogaus antsklidžio baltymas 4 (HE4, dar vadinamas WFDC2) priklauso išrūgų rūgštinių baltymų su keturių disulfidinių jungčių šerdimi (anglų k., whey acidic four-disulfide core, WFDC) šeimai, kurie, kaip spėjama, gali turėti tripsiną inhibuojančių savybių.^{1,2} Atitinkamas genas koduoja 13 kDa baltymą. Subrendusios glikozilintos formos baltymas yra maždaug 20-25 kDa molekulinės masės ir yra sudarytas iš vienos peptidinės grandinės, turinčios du WFDC domenų.³

Pirmą kartą HE4 buvo nustatytas distalinės antsklidžio dalies epitelyje.⁴ Geno ekspresija kvėpavimo takų ir reprodukcinių sistemos audiniuose, įskaitant ir kiaušides, yra nežymi, tačiau kiaušidžių vėžio audinyje jo ekspresija yra didelė.⁵ Didelė išsiskyrusi koncentracija aptinkama pacientų, sergančių kiaušidžių vėžiu, serume.⁶ Manoma, kad HE4 gali būti naudingas vertinant riziką epitelinio kiaušidžio vėžio atvejais.

Kiaušidžių vėžys yra ketvirtoje vietoje visame pasaulyje pagal moterų mirties atvejus, sukeltus vėžio. Tai yra pati letaliausia ginekologinio vėžio forma ir lengviausiai išgydoma jeigu yra nustatoma ankstyvuojų susirgimo periodu^{7,8} ir gydoma chirurgų, turinčių patirties gydant tokio vėžio formas.^{9,10} Tačiau kiaušidžių vėžio simptomai yra susiję su gimdos priklausiniuose esančiais dariniais ir dažniausiai yra neaiškūs ir nespecifiški. Dėl to 70-75 % visų kiaušidžių vėžio atvejų yra nustatomi vėlyvose stadijose. Tarptautinės vėžio tyrimo agentūros duomenimis, 5 metų išgyvenamumas sergant kiaušidžių vėžiu yra 46 %. Tačiau, jeigu liga diagnozuojama anksti, išgyvenamumo rodiklis išauga iki 94 %.

HE4 vertinant kaip vieną vėžio žymenį, jis yra jautriausias nustatant kiaušidžių vėžį, ypač I ligos stadijoje, ankstyvoje besimptomėje stadijoje. Derinant CA 125 ir HE4 žymenis, gaunamas didžiausias jautrumas - 76.4 %, specifiskumas - 95 %. HE4 taip pat yra jautresnis ankstyvos stadijos endometrio vėžio atveju, palyginus su CA 125. Padidėjusi serumo HE4 koncentracija, esant normaliai CA 125 koncentracijai, gali rodyti kiaušidžių ar kito tipo vėžio, pavyzdžiui endometrio vėžio, buvimą.^{11,12}

Kombinuojant su kitais vėžio žymenimis, tokiais kaip CA 125, HE4 gali būti naudingas, vertinant pre- ir pomenopauzinio amžiaus moterų darinius dubens srityje - ar jie yra gerybiniai, ar piktybiniai. Bet kokiu atveju dviejų žymenų, CA 125 ir HE4, naudojimas yra tikslesnė piktybinio proceso numatymo priemonė, nei jų naudojimas po vieną.¹¹ Huhtinen ir kt. paskelbė, kad kiaušidžių karcinomos ar endometrinio cistų atvejais jautrumas yra 78.6 % o specifiskumas 95 %.¹³ Kompiuterinės tomografijos būdu buvo patvirtinta, kad HE4 kiekis moterims sergančioms kiaušidžių karcinoma, koreliuoja su klinikinio atsaku į taikomą gydymą, taip pat jis parodo ir vėžio atsinaujinimo procesą. Todėl HE4 galėtų būti svarbus ankstyvas ligos atsinaujinimo indikatorius.¹⁴

Tyrimo principas

Sluoksninės struktūros principas. Bendra tyrimo trukmė: 18 minučių.

- 1-oji inkubacija: 10 µL mėginio, biotilintas monokloninis HE4-specifinis antikūnas ir monokloninis HE4-specifinis antikūnas, žymėtas rutenio kompleksu^{a)} reaguoją, sudarydami sluoksninės struktūros kompleksą.
- 2-oji inkubacija: Pridėjus streptavidiną dengtų mikrodalelių, sąveikaujant biotinui ir streptavidinui, kompleksas prisijungia prie kietosios fazės.
- Reakcijos mišinys įsiurbiamas į matavimo kamerą, kurioje ant elektrodo paviršiaus magnetiniu būdu surenkamos mikrodalelės. Nesurištos medžiagos pašalinamos naudojant ProCell/ProCell M. Prie elektrodo prijungus elektros srovę skatinama chemoluminescencinė emisija, kurios dydis išmatuojamas fotodaugintuvu.
- Rezultatai nustatomi iš kalibravimo kreivės, kuri kiekvienam analizatoriui generuojama iš 2 taškų kalibravimo ir iš pagrindinės kreivės, pateikiamos su reagentų brūkšninio kodu.

a) Tris(2,2'-bipiridil)rutenio(II) kompleksas (Ru(bpy)₃²⁺)

Reagentai - darbiniai tirpalai

Ši reagentų stovo pakuotė yra pažymėta HE4.

- M Streptavidiną dengtos mikrodalelės (permatomas dangtelis), 1 buteliukas, 6.5 mL:
Streptavidiną dengtos mikrodalelės, 0.72 mg/mL; konservantas.
- R1 Anti-HE4-Ab~biotinas (pilkas dangtelis), 1 buteliukas, 10 mL:
Biotilinti monokloniniai anti-HE4 antikūnai (pelės) 0.75 mg/L; fosfato buferis 100 mmol/L, pH 6.5; konservantas.
- R2 Anti-HE4-Ab~Ru(bpy)₃²⁺ (juodas dangtelis), 1 buteliukas, 10 mL:
Monokloniniai anti-HE4 antikūnai (pelės), žymėti rutenio kompleksu 1.5 mg/L; fosfato buferis 100 mmol/L, pH 7.4; konservantas.

Atsargumo priemonės ir įspėjimai

Skirta naudoti in vitro diagnostikai.
Laikytis įprastų atsargumo priemonių, būtinų dirbant su visais laboratorijos reagentais.
Visos atliekos turi būti tvarkomos laikantis vietos reikalavimų.
Saugos duomenų lapas pateikiamas profesionaliems naudotojams paprašius.

Dirbdami su visų rūšių reagentais ir mėginiais (mėginiais, kalibratoriais ir kontrolinėmis medžiagomis) venkite putų susidarymo.

Reagentų paruošimas

Visi rinkinio reagentai paruošti naudojimui, jų negalima naudoti atskirai nuo rinkinio.

Visa informacija, reikalinga tinkamam tyrimo atlikimui, gali būti nuskaityama nuo atitinkamo reagento brūkšninio kodo.

Laikymo sąlygos ir stabilumas

Laikyti 2-8 °C temperatūroje.

Žmogaus antskleidžio baltymas 4

Neužšaldykite.

Laikykite Elecsys reagentų rinkinį **statmenai**, kad mikrodalelės būtų visiškai prieinamos prieš procedūrą atliekamo automatinio maišymo metu.

Stabilumas:	
neatidarius, 2-8 °C temperatūroje	iki nurodytos galiojimo datos
atidarius, 2-8 °C temperatūroje	12 savaitių
analizatoriuose	28 dienos

Mėginių surinkimas ir paruošimas

Buvo patikrinti ir yra priimtini tik toliau išvardyti mėginiai.

Serumas surenkamas į standartinius mėgintuvėlius arba mėgintuvėlius su skiriančiuoju geliu.

Li-heparino, K₂- ir K₃-EDTA plazma, taip pat Li-heparino plazmos mėgintuvėliai su skiriančiuoju geliu.

Kriterijus: nuokrypis 0.9-1.1 + sankirtos taškas $\leq \pm 10$ pmol/L, koreliacijos koeficientas ≥ 0.95 .

Stabilūs 48 valandas 2-8 °C temperatūroje, 5 valandas 15-25 °C temperatūroje, 12 savaitių -20 °C temperatūroje. Mėginius galima užšaldyti du kartus.

Išvardintų rūšių mėginiai buvo tiriami, pasirinkus tyrimo metu rinkoje buvusius mėgintuvėlius, t.y. nebuvo patikrinti visų gamintojų mėgintuvėliai. Įvairių gamintojų mėginių surinkimo sistemose gali būti skirtingų medžiagų, kurios kai kuriais atvejais gali paveikti tyrimo rezultatus. Jei mėginius apdorojate pirminiuose mėgintuvėliuose (mėginių surinkimo sistemose), laikykite mėgintuvėlių gamintojo instrukcijų.

Prieš atlikdami tyrimą, mėginius su nuosėdomis centrifuguokite.

Nenaudokite mėginių, inaktyvintų dėl karščio poveikio.

Nenaudokite mėginių ir kontrolių, kurių stabilizavimui buvo naudotas azidas.

Užtikrinkite, kad mėginiai, kalibratoriai ir kontrolinės medžiagos prieš matavimą būtų 20-25 °C temperatūros.

Dėl galimo garavimo poveikio, mėginių, kalibratorių ir kontrolių matavimai analizatoriuose turėtų būti atlikti per 2 valandas.

Pateiktos medžiagos

Apie reagentus skaitykite skyriuje „Reagentai - darbiniai tirpalai“.

Reikalingos (bet nepateikiamos) medžiagos

- [REF] 05950945190, HE4 CalSet, skirtas 4 x 1 mL
- [REF] 05950953190, PreciControl HE4, skirtas 2 x 1 mL kiekvienam iš PreciControl HE4 1 ir 2
- [REF] 03609987190, Diluent MultiAssay, 2 x 16 mL mėginių skiediklis
- Bendra laboratorijos įranga
- Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 arba **cobas e** analizatorius

Epitelinio kiaušidžių vėžio rizikos vertinimui pagal algoritmą ROMA (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm):

- [REF] 11776223322, CA 125 II, 100 tyrimų
- [REF] 11776240322, CA 125 II CalSet, 4 x 1 mL
- [REF] 11776452122, PreciControl Tumor Marker, skirtas 2 x 3 mL kiekvienam iš PreciControl Tumor Marker 1 ir 2
- [REF] 11732277122, Diluent Universal, 2 x 16 mL mėginių skiediklis arba [REF] 03183971122, Diluent Universal, 2 x 36 mL mėginių skiediklis

Elecsys 2010 ir **cobas e** 411 analizatorių priedai:

- [REF] 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL sistemos buferis
- [REF] 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL matavimo kameros valymo tirpalas
- [REF] 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL plovimui skirtas vandens priedas
- [REF] 11933159001, Adapter for SysClean, adapteris
- [REF] 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 reakcijų indeliai
- [REF] 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pipečių antgaliai

MODULAR ANALYTICS E170, **cobas e** 601 ir **cobas e** 602 analizatorių priedai:

- [REF] 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L sistemos buferis
 - [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L matavimo kameros valymo tirpalas
 - [REF] 03023141001, PC/CC-Cups, 12 puodelių ProCell M ir CleanCell M paruošiamajam sušildymui prieš naudojimą
 - [REF] 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL valymo tirpalas finalizavimo etapui ir praplovimui reagentų keitimo metu
 - [REF] 03004899190, PreClean M, 5 x 600 mL matavimo sistemos valymo tirpalas
 - [REF] 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 dėtuvių x 84 reakcijos indeliai ar pipečių antgaliai, atliekų maišeliai
 - [REF] 03023150001, WasteLiner, atliekų maišeliai
 - [REF] 03027651001, SysClean Adapter M, adapteris
- Priedai visiems analizatoriams:
- [REF] 11298500316, Elecsys SysClean, 5 x 100 mL sistemos valymo tirpalas

Tyrimas

Kad tyrimas būtų atliktas tinkamai, laikykite šią dokumentą pateiktą analizatoriaus naudojimo instrukciją. Specifines analizatoriui tyrimo instrukcijas skaitykite atitinkamame naudotojo vadove.

Mikrodalelės pakartotinai suspenduojamos automatiškai, prieš panaudojimą. Specifinius tyrimo parametrus nuskaitykite iš reagento brūkšninio kodo. Išimtiniais atvejais, kai neįmanoma nuskaityti brūkšninio kodo, įveskite 15-os ženklų skaitmenų seką.

MODULAR ANALYTICS E170, **cobas e** 601 ir **cobas e** 602 analizatoriai: Reikia turėti PreClean M tirpalą.

Atvėsintus reagentus sušildykite iki maždaug 20 °C temperatūros ir įstatykite į analizatoriaus reagentų diską (20 °C). Venkite putų susidarymo. Sistema automatiškai reguliuoja reagentų temperatūrą ir buteliukų atidarymą/uždarymą.

Kalibravimas

Atsekamumas: Šis metodas buvo standartizuotas pagal HE4 EIA metodą iš Fujirebio Diagnostics, Inc.

Kiekviename Elecsys reagentų rinkinyje yra etiketė su brūkšniniu kodu, joje – konkreti tam tikros reagentų partijos kalibravimui reikalinga informacija. Numatytoji pagrindinė kreivė yra pritaikoma analizatoriui, naudojant atitinkamą CalSet.

Kalibravimo dažnis: kalibravimas turi būti atliekamas po vieną kartą su kiekviena reagentų partija, naudojant šviežią reagentą (t. y. praėjus ne daugiau nei 24 valandoms nuo reagentų rinkinio registravimo analizatoriuje). Kalibravimo atnaujinimas rekomenduojamas:

- po 12 savaitių, naudojant tos pačios partijos reagentus
- po 7 dienų (analizatoriuje naudojant tą patį reagentų rinkinį)
- pagal poreikį: pvz.: jei kokybės kontrolės rezultatai nepatenka į nurodytas ribas

Kokybės kontrolė

Kokybės kontrolei naudokite PreciControl HE4.

Papildomai galima naudoti kitą tinkamą kontrolinę medžiagą.

Skirtingiems koncentracijų intervalams skirtos kontrolės turėtų būti atliekamos atskirai (kiekviena) bent kartą per 24 valandas, kai tyrimas yra naudojamas; vieną kartą - viename reagentų rinkiniui, taip pat po kiekvieno kalibravimo.

Kontrolės intervalai ir apribojimai turėtų atitikti kiekvienos laboratorijos individualius reikalavimus. Gautos reikšmės turėtų patekti į nustatytas ribas. Kiekviena laboratorija turi numatyti korekcines priemones, kurių reikėtų imtis, reikšmėms nepatekus į nustatytas ribas.

Vadovaukitės nustatytais valstybiniais ir vietiniais reikalavimais kokybės kontrolei užtikrinti.

Skaiciavimas

Analizatorius automatiškai apskaičiuoja kiekvieno mėginio analitės koncentraciją pmol/L.

Apribojimai - poveikiai

Tyrimui įtakos neturi: gelta (bilirubinas < 1130 µmol/L arba < 66 mg/dL), hemolizė (Hb < 0.621 mmol/L arba < 1.0 g/dL), lipemija (intralipidai < 2000 mg/dL) ir biotinas (< 205 nmol/L arba < 50 ng/mL).

Kriterijus: atkartojamumas ± 10 % pradinės reikšmės ribose.

Pacientams, gydomiems didelėmis biotino dozėmis (t.y. > 5 mg/parai), kraujo mėginį galima imti praėjus ne mažiau kaip 8 valandoms po paskutinės biotino dozės suvartojimo.

Reumatoidinio faktoriaus įtaka nebuvo pastebėta, kai jo koncentracija siekė iki 1500 IU/mL.

Didelės dozės „kablo“ efektas nepasireiškia, kai HE4 koncentracija yra iki 40000 pmol/L.

Buvo atlikti in vitro tyrimai su 18 dažniausiai naudojamų medikamentų. Poveikis tyrimui nebuvo nustatytas.

Buvo tiriami specialūs, vėžio gydymui skirti vaistai, jų koncentracijos išvardintos žemiau pateiktoje lentelėje. Poveikis tyrimui nebuvo nustatytas.

Kriterijus: atkartojamumas ± 10 % pradinės reikšmės ribose.

Vaistas	Koncentracija (µg/mL)
Karboplatina	600
Cisplatina	180
Ciklofosfamid	500
Deksametazonas	20
Doksorubicinas	120
Leukovorinas	750
Melfalan	15
Metotreksato-dinatri	150
Paklitakselis	265
Fluorouracilas	900
Bevacizumabas (Avastin)	750
Erlotinibas (Tarceva)	150
Rituksimabas (MabThera)	750
Trastuzumabas (Herceptin)	600

Retais atvejais gali pasitaikyti trukdžių dėl ypač didelių specifinių tyrimo antikūnų, rutenio ar streptavidino antikūnų titrų. Šių trukdžių įtaką sumažina tam pritaikyta tyrimo procedūra.

Diagnozuojant, rezultatai visada turėtų būti vertinami kartu su paciento anamneze, fizinio ištyrimo duomenimis ir kitais radiniais.

Apribojimai ir reikšmių ribos**Matavimų ribos**

15.0-1500 pmol/L (apibrėžiamos pagal nustatymo ribą ir pagrindinės kreivės maksimumą). Reikšmės, esančios žemiau nustatymo ribos, yra pateikiamos, kaip < 15.0 pmol/L. Reikšmės, esančios virš matavimų ribos, yra pateikiamos, kaip > 1500 pmol/L (arba iki 30000 pmol/L 20 kartų atskiestuose mėginiuose).

Matavimo reikšmių apatinės ribos

Tuščioji riba (angl. Limit of Blank - LoB), aptikimo riba (angl. Limit of Detection - LoD) ir kiekio nustatymo riba (angl. Limit of Quantitation - LoQ)

Tuščioji riba = 5.00 pmol/L

Nustatymo riba = 15.0 pmol/L

Kiekybinio nustatymo riba = 20.0 pmol/L su bendra leistina paklaida 30 %

Tuščioji riba, aptikimo riba ir kiekybinio nustatymo riba buvo nustatyta pagal CLSI (Klinikinių ir laboratorinių standartų institutas, angl. Clinical and Laboratory Standards Institute) EP17-A reikalavimus.

Tuščioji riba yra 95-osios procentilės vertė, gauta iš mėginių, kuriuose nebuvo analizuojamosios medžiagos n ≥ 60 matavimų keliose nepriklausomose serijose. Tuščioji riba atitinka mažiausią koncentraciją, žemiau kurios tikimybė aptikti mėginius be analizuojamosios medžiagos yra 95 %.

Aptikimo riba yra nustatoma pagal tuščiąją ribą ir mažos koncentracijos mėginių standartinę nuokrypį. Nustatymo riba atitinka žemiausią analitės

koncentraciją, kurią galima nustatyti (reikšmė virš tuščiojo matavimo ribos su 95 % tikimybe).

Kiekybinio įvertinimo riba yra apibrėžiama kaip mažiausias analitės kiekis mėginyje, kurį galima tiksliai nustatyti, kai bendra leidžiama paklaida yra ≤ 30 %.

LoB ir LoD vertės nustatyti tyrime buvo naudojami 5 arklio serumo ir skiesto žmogaus serumo mėginiai. Mėginiai buvo išmatuoti atliekant 6 tyrimus per 3 dienas, 2 analizatoriais, n = 60 reikšmių. Pagal apskaičiavimus buvo gautos 0.358 pmol/L ir 0.661 pmol/L LoB ir LoD reikšmės. Nustatant LoQ reikšmę 3 žmogaus serumo mėginiai buvo praskiesti ir išmatuoti atliekant 6 tyrimus per 3 dienas, 2 analizatoriais. Visuminė leistina ≤ 30 % LoQ paklaida buvo 4.42 pmol/L.

Tiesiškumas

Elecsys HE4 tyrimo metodas yra tiesiškas matavimo intervale 15.0-1500 pmol/L. Mėginiai buvo paruošti pagal CLSI EP6-A, atskiedžiant 3 serumo ir 3 plazmos mėginius su Diluent MultiAssay skiedikliu per kelis etapus, nuo > 1500 pmol/L iki LoB.

Skiedimas

Mėginiai, kurių HE4 koncentracija viršija matavimų ribą, gali būti skiedžiami su Diluent MultiAssay. Rekomenduojamas atskiedimo santykis yra 1:20 (nustatomas automatiškai MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 arba **cobas e** analizatoriuose arba rankiniu būdu). Atskiesto mėginio koncentracija turi būti > 75 pmol/L.

Po rankiniu būdu atliekamo skiedimo rezultatą padauginkite iš skiedimo koeficiento.

Po atskiedimo analizatoriuje, MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 ir **cobas e** programa automatiškai įvertina atskiedimą skaičiuojant mėginių koncentraciją.

Tikėtinos reikšmės

Tyrimas atliktas viename klininiame centre Vokietijoje, Elecsys HE4 matavimo metodu buvo tiriamas 358 sveikų moterų serumas ir buvo gauti tokie rezultatai:

		HE4 (pmol/L)	
Amžius (metais)	N	Mediana	95-oji procentilė
< 40	127	42.0	60.5
40-49	65	44.3	76.2
50-59	60	47.9	74.3
60-69	60	55.0	82.9
≥ 70	46	62.1	104

Procentinis (%) HE4 tyrimo reikšmių pasiskirstymas buvo nustatytas atlikus matavimus dviejuose klininiuose centruose Ispanijoje ir Vokietijoje, Elecsys HE4 matavimo metodu buvo tiriami 896 moterų mėginiai ir buvo gauti žemiau esančioje lentelėje pateikti rezultatai:

		Elecsys HE4 reikšmės (pmol/L)				
		0.0-70.0	70.1-140	140.1-500	500.1-1500	> 1500
N (procentinis pasiskirstymas)						
Sveiki						
Premenopauzinio amžiaus	90	76 (84.4 %)	13 (14.4 %)	1 (1.1 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)
Pomenopauzinio amžiaus	106	63 (59.4 %)	40 (37.7 %)	3 (2.8 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)
Nepiktybinės būklės						
Premenopauzinio amžiaus	177	160 (90.4 %)	16 (9.0 %)	1 (0.6 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)
Pomenopauzinio amžiaus	102	62 (60.8 %)	31 (30.4 %)	9 (8.8 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)
Nėštumas	50	50 (100 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)
Neginekologinės ligos	35	16 (45.7 %)	6 (17.1 %)	6 (17.1 %)	7 (20.0 %)	0 (0.0 %)

		Elecsys HE4 reikšmės (pmol/L)				
		0.0-70.0	70.1-140	140.1-500	500.1-1500	> 1500
N (procentinis pasiskirstymas)						
SŠN ^{b)}	23	9 (39.1 %)	11 (47.8 %)	3 (13.0 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)
Vėžys						
Kiaušidžių vėžys	39	12 (30.8 %)	7 (17.9 %)	13 (33.3 %)	5 (12.8 %)	2 (5.1 %)
Premenopauzinio amžiaus						
Kiaušidžių vėžys	97	10 (10.3 %)	19 (19.6 %)	34 (35.1 %)	28 (28.9 %)	6 (6.2 %)
Pomenopauzinio amžiaus						
Endometrio vėžys	49	18 (36.7 %)	20 (40.8 %)	9 (18.4 %)	1 (2.0 %)	1 (2.0 %)
Krūties vėžys	47	22 (46.8 %)	19 (40.4 %)	5 (10.6 %)	1 (2.1 %)	0 (0.0 %)
Virškinamojo trakto vėžys	46	19 (41.3 %)	20 (43.5 %)	6 (13.0 %)	1 (2.2 %)	0 (0.0 %)
Plaučių vėžys	23	5 (21.7 %)	7 (30.4 %)	10 (43.5 %)	1 (4.3 %)	0 (0.0 %)
Šlapimo pūslės vėžys	12	3 (25.0 %)	4 (33.3 %)	4 (33.3 %)	1 (8.3 %)	0 (0.0 %)

b) SŠN = stazinis širdies nepakankamumas

Šio tyrimo metu buvo nustatyta, kad 84 % tiriamų sveikų premenopauzinio amžiaus moterų gautas Elecsys HE4 tyrimo rezultatas buvo mažesnis už 70 pmol/L, o 97 % sveikų pomenopauzinio amžiaus moterų gautas Elecsys HE4 tyrimo rezultatas buvo mažesnis už 140 pmol/L.

Šiame tyrime sveikų pre- ir pomenopauzinio amžiaus moterų (visų amžiaus grupių) 95-oji procentilė buvo atitinkamai 92.1 pmol/L ir 121 pmol/L.

Kiekviena laboratorija turėtų įvertinti tikėtinų reikšmių tinkamumą savų pacientų populiacijai ir, jei būtina, nustatyti savo rekomenduojamas reikšmes.

Pacienčių, kurioms diagnozuotas kiaušidžių vėžys, ligos būklės stebėjimas

Elecsys HE4 tyrimo efektyvumas atliekant pacienčių, sergančių kiaušidžių vėžiu, ligos būklės monitoringą buvo tiriamas vertinant HE4 koncentracijos pasikeitimus serijiniuose 100 pacienčių serumo mėginiuose ir lyginant ligos eigos pasikeitimus. Kiekvienos pacientės kraujas tyrimui buvo imamas ≥ 3 kartus, iš viso tyrime buvo atlikti 375 poriniai stebėjimai. HE4 reikšmės pasikeitimas buvo laikomas teigiamu, kai reikšmė buvo bent 20 % didesnė nei ankstesnė tyrimo reikšmė. 58.0 % (29/50) pacienčių mėginių kurie kito į teigiamą pusę, koreliavo su ligos progresavimu, tuo tarpu kai 84.0 % (273/325) pacienčių mėginių, be HE4 reikšmės kitimo koreliavo su vėžio neprogresavimu. Bendras atitikimas 80.5 % (302/375). Šioje lentelėje duomenys pateikiami 2 x 2 formatu.

Ligos eigos pasikeitimas kiekvienai sekančiai porai			
HE4 koncentracijos padidėjimas	Progresija	Be progresijos	Viso
> 20 %	29	52	81
≤ 20 %	21	273	294
Viso	50	325	375

Pacienčių, kurioms diagnozuotas dubens sritys darinys, rizikos vertinimas

Elecsys HE4 tyrimo, atliekamo kartu su Elecsys CA 125 II tyrimu, efektyvumas vertinant pacienčių, kurioms diagnozuotas dubens sritys darinys, riziką sirgti epitelinio kiaušidžių vėžiu, buvo nustatytas tarptautiniame daugelyje centrų atliktame klinikiniam tyrime, tyrimui buvo naudojami išsaugoti mėginiai. Epitelinio kiaušidžių vėžio rizikos vertinimui buvo sukurtas algoritmas (ROMA = Risk of Ovarian Malignancy Algorithm). Vertinant pagal šį algoritmą atsižvelgiama į HE4 ir CA 125 reikšmes, o taip pat į pacientės menopauzinę būseną. Naudojant šį algoritmą, galima

apskaičiuoti prognozinę tikimybę aptikti epitelinį kiaušidžių vėžį operacijos metu.

Prognozinio indekso (PI) skaičiavimas¹⁵

Prognozinis indeksas premenopauzinio ir pomenopauzinio amžiaus pacientėms apskaičiuojamas atskirai pagal žemiau pateiktas (1) ir (2) lygtis. Tyrimų rezultatai, gauti naudojant Elecsys HE4 ir Elecsys CA 125 II tyrimus, yra įrašomi į pateiktas lygtis ir priklausomai nuo moters menopauzinės būsenos yra apskaičiuojamas PI.

(1) Premenopauzinio amžiaus:

$$PI = -12.0 + 2.38 \cdot \ln[HE4] + 0.0626 \cdot \ln[CA125]$$

(2) Pomenopauzinio amžiaus:

$$PI = -8.09 + 1.04 \cdot \ln[HE4] + 0.732 \cdot \ln[CA125]$$

kur, LN = Natūrinis logaritmas. Nenaudokite LOG = Log₁₀

ROMA vertės apskaičiavimas¹⁵

ROMA vertės skaičiavimui (t.y. prognozinę tikimybę), lygtyje (3) įrašykite apskaičiuotą PI:

(3) ROMA vertė (%) = $\exp(PI) / [1 + \exp(PI)] \cdot 100$ kur, $\exp(PI) = e^{PI}$

PASTABA: šios lygtys buvo naudojamos skaičiuojant ROMA vertes su Elecsys HE4 tyrimais nuo 28.8-3847 pmol/L ir su Elecsys CA 125 II tyrimu nuo 6.42-5000 U/mL:

Žemiau pateikti pavyzdžiai skirti tik PI ir ROMA skaičiavimo patvirtinimui prieš paskelbiant pacientų rezultatus:

Menopauzinė būsena	Elecsys reikšmės		PI apskaičiavimas	PI	ROMA %
	HE4 (pmol/L)	CA 125 II (U/mL)			
Premenopauzinio amžiaus	37.5	74.9	-12.0 + (2.38*3.624) + (0.0626*4.316)	-3.10388	4.29
	387	21.8	-12.0 + (2.38*5.957) + (0.0626*3.082)	2.371517	91.5
Pomenopauzinio amžiaus	66.7	11.3	-8.09 + (1.04*4.200) + (0.732*2.425)	-1.94683	12.5
	383	22.7	-8.09 + (1.04*5.948) + (0.732*3.122)	0.381799	59.4

Priskyrimas didelės ir mažos rizikos grupėms

Į tyrimą buvo įtraukti viso 384 pacienčių išsaugoti mėginiai, buvo nustatyta kiaušidžių vėžio prognozinę tikimybę, ir galimybę suskirstyti pacientės į mažos ir didelės rizikos grupes atsižvelgiant į ROMA vertes.

Piktybinio proceso kiaušidėse rizikos algoritmas buvo naudojamas sluoksniuojant - suskirstant moteris į rizikos grupes pagal epitelinio kiaušidžių vėžio aptikimo tikimybę. Kad būtų užtikrintas 75 % specifiskumo lygis abiejose Elecsys HE4 ir Elecsys CA 125 II tyrimuose, buvo naudojamos tokios ribinės reikšmės (cut-points):

Premenopauzinio amžiaus moterų

ROMA vertė ≥ 11.4 % = didelė rizika aptikti epitelinį kiaušidžių vėžį

ROMA vertė < 11.4 % = maža rizika aptikti epitelinį kiaušidžių vėžį

Pomenopauzinio amžiaus moterų

ROMA vertė ≥ 29.9 % = didelė rizika aptikti epitelinį kiaušidžių vėžį

ROMA vertė < 29.9 % = maža rizika aptikti epitelinį kiaušidžių vėžį

Visų 384 pacienčių (194 pre- ir 190 pomenopauzinio amžiaus), kurioms diagnozuotas dubens sritys darinys, Elecsys HE4 tyrimo, atliekamo kartu su Elecsys CA 125 II tyrimu, priskyrimas rizikos grupėms pagal ROMA vertes pateikiamas šioje lentelėje:

Pacienčių grupės, kuriose stebėti dubens sritys dariniai	Premenopauzinio amžiaus pacientės			Pomenopauzinio amžiaus pacientės		
	N	ROMA < 11.4 %	ROMA ≥ 11.4 %	N	ROMA < 29.9 %	ROMA ≥ 29.9 %
I-II stadijos EKV ^{c)}	16	6 (37.5 %)	10 (62.5 %)	16	6 (37.5 %)	10 (62.5 %)

Žmogaus antskėlidžio baltymas 4

Pacienčių grupės, kuriose stebėti dubens srities dariniai	Premenopauzinio amžiaus pacientės			Pomenopauzinio amžiaus pacientės		
	N	ROMA < 11.4 %	ROMA ≥ 11.4 %	N	ROMA < 29.9 %	ROMA ≥ 29.9 %
I-IIIC stadijos EKV ^{d)}	21	7 (33.3 %)	14 (66.7 %)	34	9 (26.5 %)	25 (73.5 %)
I-IV stadijos EKV	25	7 (28.0 %)	18 (72.0 %)	53	10 (18.9 %)	43 (81.1 %)
III-IV stadijos EKV	9	1 (11.1 %)	8 (88.9 %)	37	4 (10.8 %)	33 (89.2 %)
Nestadijuojamas EKV	12	2 (16.7 %)	10 (83.3 %)	44	2 (4.5 %)	42 (95.5 %)
Nepiktybinis	157	118 (75.2 %)	39 (24.8 %)	93	71 (76.3 %)	22 (23.7 %)

c) EKV = epitelinis kiaušidžių vėžys

d) I-IIIB stadijos ir I-IIIC stadijos (taukinėje - neigiamas, limfmazgiuose - teigiamas) EKV

Jautrumas stratifikuojant pacientės, sergančias I-IV stadijos epiteliniu kiaušidžių vėžiu, buvo 84.3 %, kai nustatytas specifiskumas buvo 75 %, tokiu būdu 75.6 % moterų, kurioms buvo nustatytas gerybinis dubens srities darinys, pagal klasifikaciją pateko į mažos rizikos grupę. Teigiama ir neigiama prognozinė vertė buvo atitinkamai 64.9 % ir 90 %.

AUC (95 % CI):

Premenopauzinio amžiaus moterys = 0.858 (0.779-0.937)

Pomenopauzinio amžiaus moterys = 0.923 (0.885-0.962)

Turi būti atsižvelgta į šiuos aspektus

- HE4 koncentracijos rodiklis negali būti naudojamas kaip absoliutus vėžio buvimo ar nebuvimo įrodymas, o Elecsys HE4 tyrimo negalima taikyti patikros dėl vėžio tyrimams.
- Elecsys HE4 tyrimo rezultatai turi būti vertinami tik kartu su klinikiniais duomenimis; t.y. simptomais, ligos istorija ir kt.
- Tuo atveju, kai Elecsys HE4 rezultatai nesutampa su klinikiniais įrodymais, rezultato patvirtinimui būtina atlikti papildomus tyrimus.
- Negalima lyginti Elecsys HE4 tyrimo rezultatų su rezultatais, gautais naudojant kitų gamintojų HE4 nustatymo metodus.
- Negalima naudoti Elecsys CA 125 II tyrimo rezultatų, kartu su rezultatais, gautais naudojant kitų gamintojų metodus, skirtus CA 125 nustatymui ir ROMA apskaičiavimui.
- Pacienčių, kurioms kiaušidžių vėžio diagnozė jau yra patvirtinta, Elecsys HE4 reikšmės gali būti tokiose pačioje intervale kaip ir sveikų moterų. Kai kurie histologiniai kiaušidžių vėžio tipai (pvz. mukoziniai ar germinaliniai ląstelių navikai) retai kada ekspresuoja HE4, todėl nerekomenduojama naudoti Elecsys HE4 metodą pacientų, sergančių mukoziniais ar germinaliniais ląstelių navikais, ligos eigos stebėjimui.⁵ Ir priešingai, inkstų, kepenų ir nepiktybinėmis ligomis sergančių pacientų mėginiuose gali būti aptinkama padidėjusi HE4 antigeno koncentracija.
- ROMA nebuvo validuota šioms pacientų grupėms: pacientams anksčiau gydytiems dėl piktybinės ligos, pacientams šiuo metu gydomiems chemoterapija ir pacientams, kurie jaunesni nei 18 metų. Nepavykus pagal indikacijas atlikti Elecsys HE4 ir (arba) Elecsys CA 125 II tyrimų arba, jeigu skaičiavimo metu įvyks klaida, yra tikimybė kad bus neteisingai įvertinta rizika, todėl pacientui bus suteikta netinkama pagalba. Atskirais atvejais, gavus klaidingai mažą tyrimo rezultatą gali būti nuspręsta, kad pacientės rizika sirgti epiteliniu kiaušidžių vėžiu yra mažesnė, todėl pacientė gali būti priskirta grupei, kurioje užtikrinama tik mažiau specializuoto lygio priežiūra.

Specifiniai tyrimo atlikimo duomenys

Toliau pateikiami atitinkamų analizatorių tyrimo charakteristikų duomenys. Atskirose laboratorijose gauti rezultatai gali skirtis.

Glaudumas

Glaudumas buvo nustatytas, naudojant Elecsys reagentus, mėginius ir kontrolines medžiagas, pagal CLSI (Clinical and Laboratory Standards

Institute) protokolą (EP5-A2): 2 tyrimai per dieną, po du kartus, kiekvienas vykdomas 21 dieną (n = 84). Buvo gauti šie rezultatai:

Elecsys 2010 ir cobas e 411 analizatoriai					
		Atkartojamumas		Tarpinis glaudumas	
Mėginys	Vidurkis pmol/L	SD pmol/L	CV %	SD pmol/L	CV %
Žmogaus serumas 1	25.3	0.450	1.8	0.945	3.7
Žmogaus serumas 2	53.7	0.988	1.8	2.28	4.2
Žmogaus serumas 3	142	2.33	1.6	6.11	4.3
Žmogaus serumas 4	779	11.3	1.5	32.6	4.2
Žmogaus serumas 5	1437	18.9	1.3	39.4	2.7
PreciControl HE4 1	45.7	0.661	1.4	1.92	4.2
PreciControl HE4 2	345	5.67	1.6	11.8	3.4

MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 601 ir cobas e 602 analizatoriai:

		Atkartojamumas		Tarpinis glaudumas	
Mėginys	Vidurkis pmol/L	SD pmol/L	CV %	SD pmol/L	CV %
Žmogaus serumas 1	27.4	0.481	1.8	0.798	2.9
Žmogaus serumas 2	57.7	1.06	1.8	1.59	2.8
Žmogaus serumas 3	155	2.28	1.5	3.95	2.6
Žmogaus serumas 4	852	13.5	1.6	25.2	3.0
Žmogaus serumas 5	1390	26.9	1.9	44.9	3.2
PreciControl HE4 1	45.2	0.670	1.5	1.52	3.4
PreciControl HE4 2	345	6.06	1.8	11.2	3.2

Metodų palyginimas

Palyginus Elecsys HE4 tyrimą (y) su rankiniu būdu atliekamu HE4 metodu (x), naudojant klinikinius mėginius, gautos tokios koreliacijos:

Tirtų mėginių skaičius: 1502

$$\begin{aligned} \text{Passing/Bablok}^{16} & & \text{Tiesinė regresija} \\ y = 1.018x + 5.52 & & y = 1.10x + 1.64 \\ r = 0.808 & & r = 0.978 \end{aligned}$$

Mėginių koncentracijų reikšmės buvo apytiksliai nuo 22 iki 1150 pmol/L.

Palyginus Elecsys HE4 tyrimą (y) su automatiniu būdu atliekamu HE4 metodu (x), naudojant klinikinius mėginius, gautos tokios koreliacijos:

Tirtų mėginių skaičius: 703

$$\begin{aligned} \text{Passing/Bablok}^{16} & & \text{Tiesinė regresija} \\ y = 0.900x + 6.41 & & y = 0.875x + 11.0 \\ r = 0.836 & & r = 0.985 \end{aligned}$$

Mėginių koncentracijų reikšmės buvo apytiksliai nuo 20 iki 1400 pmol/L.

Analitinis specifiskumas

Buvo gautos tokios kryžminės reakcijos, atliekant tyrimus su HE4 koncentracijos reikšmėmis 65 ir 155 pmol/L:

Baltymai (WFDC šeima)	Tirta koncentracija pmol/L	Kryžminis reaktyvumas %
Elafinas ^{e)} /SKALP ^{f)}	54500	0.025
SLP ^{g)}	20833	0.088

e) Elafinas = elastazei-specifinis inhibitorius (angl. elastase-specific inhibitor)

f) SKALP = odos kilmės antileukoproteinazė (angl. skin-derived antileukoproteinase)

g) SLP = sekretinis leukocitų proteazių inhibitorius (angl. secretory leucocyte protease inhibitor)

Žmogaus antsklidžio baltymas 4**Nuorodos**

- 1 Israeli O, Goldring-Avram A, Rienstein S, et al. In silico chromosomal clustering of genes displaying altered expression patterns in ovarian cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2005;160:35-42.
- 2 Bouchard D, Morisset D, Bourbonnais Y, et al. Proteins with whey-acidic-protein motifs and cancer. *Lancet Oncol* 2006;7:167-174.
- 3 Bingle L, Singleton V, Bingle CD. The putative ovarian tumour marker gene HE4 (WFDC2), is expressed in normal tissues and undergoes complex alternative splicing to yield multiple protein isoforms. *Oncogene* 2002;21:2768-2773.
- 4 Kirchhoff C. Molecular characterization of epididymal proteins. *Rev Reprod* 1998;3:86-95.
- 5 Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, et al. Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer Res* 2005;65:2162-2169.
- 6 Hellström I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. *Cancer Res* 2003;63:3695-3700.
- 7 Pickle LW, Hao Y, Jemal A, et al. A new method of estimating United States and state-level cancer incidence counts for the current calendar year. *CA Cancer J Clin* 2007;57:30-42.
- 8 Cancer Mondial Statistical Information System: <http://www-dep.iarc.fr/>
- 9 Earle CC, Schrag D, Neville BA, et al. Effect of surgeon specialty on processes of care and outcomes for ovarian cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:172-180.
- 10 Engelen MJ, Kos HE, Willemse PH, et al. Surgery by consultant gynecologic oncologists improves survival in patients with ovarian carcinoma. *Cancer* 2006;106:589-598.
- 11 Moore RG, Brown AK, Miller MC, 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.
- 12 Moore RG, Brown AK, Miller MC, et al. Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Gynecol Oncol* 2008;110:196-201.
- 13 Huhtinen K, Suvitie P, Hiissa J, et al. Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts. *Br J Cancer* 2009;100:1315-1319.
- 14 Anastasi E, Marchei GG, Viggiani V, et al. HE4: a new potential early biomarker for the recurrence of ovarian cancer. *Tumor Biol* 2010;31:113-119.
- 15 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;111:40-46.
- 16 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.

Išsamesnės informacijos ieškokite jus dominančio analizatoriaus naudotojo vadove, atitinkamuose pritaikymo aprašuose, produkto informacijoje ir visų reikiamų komponentų pakuočių informaciniuose lapeliuose (jeigu jie prieinami jūsų šalyje).

Šiuose informaciniuose lapeliuose kaip dešimtainės trupmenos skyriklis visada naudojamas taškas, skiriantis sveikąjį skaičių nuo dešimtainės trupmenos skaitmenų. Tūkstančių skyrikliai nenaudojami.



FUJIREBIO
Diagnostics, Inc.

ROMA yra registruotas Fujirebio
Diagnostics, Inc. prekinis ženklas.

HE4 antigenai ir antikūnai, naudojami Roche
HE4 productuose, yra licencijuoti Fujirebio
Diagnostics, Inc.

Simboliai

Roche Diagnostics papildomai naudoja šiuos simbolius ir ženklus, be išvardintų standarte ISO 15223-1.

CONTENT

Rinkinio turinys

SYSTEM

Analizatoriai/instrumentai, su kuriais gali būti naudojami reagentai

REAGENT

Reagentas

CALIBRATOR

Kalibratorius



Tūris po atskiedimo arba maišymo

Reikšmingi papildymai ar pakeitimai yra pažymėti pakeitimų juosta parašėje.

© 2013, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

