

# Tolkningsproblem vid mätning av koriongonadotropin

I Läkartidningen 10/99 beskriver Folke Flam och Steffan Lundberg ett fall av utomkvedshavandeskap som utvecklade akut massiv intraabdominell blödning sex veckor efter laparoskopisk tubotomi [1]. Vid detta ingrepp avlägsnades graviditetsvävnad, bekräftat genom histologisk undersökning. Serumkoncentrationen av koriongonadotropin, HCG, angavs vara 5 170 IE/l. Hormonet kunde inte längre påvisas i serum två veckor efter ingreppet.

Patienten genomgick ett andra ingrepp med laparotomi och evakuering av en färsk blödning (1 500 ml) som utgick från del av äggledaren, där tubotomi tidigare utförts. Äggledaren exstirperades och den efterföljande histologiska undersökningen angavs visa korionvilli med trofoblaster. Författarna spekulerar i att blödningen kunde ha orsakats av diatermiskada med nekros och kärlgenombrott i tubarväggen, men påpekar samtidigt att ingenting pekade i den riktningen »vid okulär besiktning av äggledaren eller vid den mikroskopiska undersökningen». De diskuterar därför alternativa diagnostiska möjligheter. En mycket liten cellansamling, av den storleken att den inte ger mätbara serumkoncentrationer av HCG, kunde ha penetrerat kärl i tubarväggen. Penetreringen kunde också ha orsakats av intermediära trofoblaster, med negligerbar förmåga att bilda HCG, vilka är invasiva vid implantationsprocessen.

Vi anser att den kliniska handläggningen av detta ovanliga fall var helt korrekt och hade skett i enlighet med rekommenderade rutiner vid uppföljningen av patienter som opererats med

minimalinvasiv kirurgi [2, 3].

Flams och Lundbergs inlägg aktualiserar viktiga frågor kring diagnostik av utomkvedshavandeskap och uppföljning efter behandling. Vilka laboratoriemetoder bör användas [4]? Kan immunhistokemiska undersökningar av graviditetsvävnaden [5, 6] vara vägledande för valet av metodik för mätningar i blod? Hur säkra är mätmetoderna [7, 8]?

## Diagnostisk sensitivitet vid HCG-mätningar

Mätning av HCG vid misstanke på utomkvedshavandeskap utförs

- för att påvisa graviditet hos en patient med symtom och/eller tecken förenliga med utomkvedshavandeskap;

- för att tillsammans med övriga undersökningar (serieprovtagning för HCG och eventuellt andra mätningar samt transvaginalt ultraljud) klargöra om det föreligger normal graviditet med foster i livmodern eller om det finns hållpunkter för abnorm graviditet, framför allt utomkvedshavandeskap [9-15].

Mätning av det så kallade core-fragmentet i urin har ansetts erbjuda diagnostiska fördelar jämfört med mätningar av intakt HCG [16].

I det förra fallet är det tillfyllest att påvisa HCG-relaterade peptider med en metod som med hög grad av säkerhet kan påvisa värden över en given beslutsgräns, exempelvis dubbelt så hög koncentration som övre referensintervallsgränsen för icke-gravida kvinnor i barnafödande ålder. Den diagnostiska sensitiviteten anges vara hög. Med de metoder som var tillgängliga i början av 1980-talet var sensitiviteten omkring 95 procent [4, 17, 18]. Den metodologiska utvecklingen, ledande till högre analytisk specificitet och lägre detektionsgränser, har lett till att den diagnostiska sensitiviteten befunnits vara mycket nära 100 procent idag [19-23], men enstaka fall av utomkvedshavandeskap med akuta symtom missas fortfarande med mätning av HCG [20, 24-28]. Det är givetvis svårt att med säkerhet uttala sig om hur många fall av utomkvedshavandeskap som aldrig får en diagnos som följd av att detta regre-

## Sammanfattat

- En mångfald metoder har utvecklats för mätning av HCG-relaterade peptider. Den kliniska frågeställningen bör avgöra valet av metod och komponent.
- Analytisk interferens kan vara ett problem, mer för vissa företags metoder än för andras.
- Vid redovisning av HCG-värden – glöm inte att även ange metod, fabrikat, analytisk specificitet, kalibrator, detektionsgräns och relevant referensintervall.
- Immuncytokemiska undersökningar av graviditetsvävnaden skulle kunna vara vägledande för mätning av cirkulerande graviditetsproteiner vid utomkvedshavandeskap.

dierar spontant utan ruptur av äggledaren [26, 28].

## Hur vital var vävnaden? Bildade den placentaproteiner?

Förutom av HCG-metodernas egenskaper bestäms den diagnostiska sensitiviteten för graviditetsdiagnostik av graviditetsvävnadens bildning och frisättning av hormonet och dess komponenter, samt av eliminationshastigheten av dem från blodbanan. En genomgång av litteraturen fram till mitten av 1980-talet visade att det som regel förelegat degenererade embryon hos patienter med symtomgivande utomkvedshavandeskap, men utan påvisbar koncentration av koriongonadotropin i serum eller urin [25]. Undersökning av trofoblastvävnad har emellertid i enstaka fall av utomkvedshavandeskap påvisat avsaknad av HCG men närvaro av andra placentaproteiner [5]. Så kallade intermediära trofoblaster har beskrivits ha liknande egenskaper [6, 30, 31]. Det är alltså möjligt att immuncytokemisk un-

## Författare

GÖRAN LINDSTEDT

professor, överläkare, avdelningen för klinisk kemi och transfusionsmedicin

PER OLOF JANSON

professor, överläkare, avdelningen för obstetrik och gynekologi; båda Sahlgrenska Universitetssjukhuset/Sahlgrenska, Göteborg.

**Tabell I.** HCG-relaterade molekyllag (frånsett fri  $\alpha$ -peptid) som iakttagits i serum och urin från gravida kvinnor, patienter med trofoblastsjukdom och/eller tumör.

Komponent	Molekylmassa (kDa)	Approximerad halveringstid i blodbanan	Biologisk aktivitet	Kommentar
Intakt HCG	37	40 tim	Ja	Även benämnd HCG-heterodimer.
»Nicked» HCG	37	<11 tim	Låg	Klyvning(ar) i regionen för aminosyror 43 och 49 i $\beta$ -peptiden. Har iakttagits hos cancerpatienter.
N-terminal heterogenitet av HCG	37	Okänt	Ja	1–4 aminosyror saknas från $\alpha$ -peptiden. Dominerande form av HCG i urin.
C-terminal heterogenitet av HCG	ca 28	Okänt	Varierande?	Saknar den för HCG $\beta$ unika peptiden. Kan ses vid trofoblastsjukdom.
Kolhydratheterogenitet av HCG	Varierande	Okänt	Varierande?	Påvisat under graviditet och vid trofoblastsjukdom. Urin-HCG kan skilja sig från serum-HCG,
Fri $\beta$ -peptid (»HCG $\beta$ »)	22	4 tim	Nej	Har iakttagits vid graviditet och hos tumörpatienter.
»Nicked» HCG $\beta$	22	Okänt	Nej	Klyvning(ar) i regionen för aminosyror 43 och 49. Förekommer framför allt i urin.
»Core fragment» från HCG $\beta$	9–12	Mycket låg	Nej	Dominerande form av fri $\beta$ -peptid i urin. Mycket låga koncentrationer i plasma. Skilda uppgifter om molekulmassan.
C-terminal peptid från HCG $\beta$	5	Okänt	Nej	Unik för HCG $\beta$ . Har iakttagits i urin från patienter med trofoblastsjukdom.

dersökning av graviditetsvävnaden avseende placenta proteiner hade varit av intresse i det aktuella fallet för bedömning av trofoblastets vitalitet och proteinsyntetiska potential. Sådana undersökningar skulle kunna utgöra led i ett utvecklingsarbete kring metodiker för serumbestämningar.

### Vilken metod använde författarna?

Observationen att HCG-koncentrationen sjunkit till icke påvisbar koncentration mellan de två mätningarna talar för kort elimineringsstid från blodbanan, med halveringstid av storleksordningen ett dygn eller lägre. Detta kan ibland ses normalt även om halveringstid upp till tre dygn anses förekomma för det biologiskt aktiva hormonet. Fragment elimineras emellertid snabbare (Tabell I). Detta ger anledning att fråga sig om patientens immunreaktiva HCG inkluderade sådant material.

Det framgår emellertid inte av artikeln vilken metod som använts för HCG-mätningen, inte heller vilken analytisk specificitet denna hade. Alltsedan man började tillämpa immunkemiska mätningar av HCG för kliniskt bruk har man iakttagit att vissa metoder för mätning av prov från enstaka patienter givit mätvärden som varit starkt avvikande från värdena med andra metoder. Skälen var oftast okända. Sådana litteraturrapporter var legio under 1970- och 1980-talen [32–34]. Med ökande kun-

skaper om strukturen hos HCG och många normalt förekommande molekyllära varianter har mekanismerna för dessa skillnader blivit bättre kända [35–43]. För att kunna tolka publicerade mätvärden för »HCG» bör man alltså känna till åtminstone vilken metod som författarna använt.

### Flera molekyllära varianter av »HCG»

Beroende på sammansättningen av reagenserna kommer en metod för HCG-mätning att omfatta ett större eller mindre antal molekyllag. Tabell I ger exempel på HCG-relaterade molekyllag [37, 43]. Fri  $\alpha$ -peptid tas inte upp i detta sammanhang.

Liksom hypofysens glykoprotein-hormoner (TSH, FSH och LH) är »intakt» HCG (alternativt benämnt HCG heterodimer) sammansatt av två skilda peptider benämnda  $\alpha$  och  $\beta$ .  $\alpha$ -peptiden är gemensam för de fyra hormonerna även om vissa strukturella skillnader kan förekomma.  $\beta$ -peptiden är karakteristisk för vart och ett av hormonerna, men  $\beta$ -peptiden för LH företer stora strukturella likheter med den för HCG ( $\beta$ -peptiden i HCG har dock en unik karboxyterminal del omfattande 24 aminosyror). Vanliga varianter av  $\beta$ -peptiden, såväl fri peptid som i bunden form i HCG, har klyvts i regionen för aminosyror 43 och 49 och benämns »nicked» (nicked HCG $\beta$  respektive nicked HCG, Tabell I). Vanligt före-

kommande fragment av  $\beta$ -peptiden är »core fragment», ungefär hälften så stort, och den nämnda C-terminala peptiden. Även för intakt HCG finns varianter, se Tabell I.

Elimineringen från blodbanan är betydligt snabbare för fria  $\beta$ -peptider och andra fragment än för intakt HCG.

### Varför inte mäta enbart intakt HCG?

Medan intakt HCG dominerar vid normal graviditet kan andra former dominera vid trofoblastsjukdom, inklusive koriokarcinom, samt vid malign sjukdom med ektopisk bildning av HCG-relaterade peptider (tumörer utgående från exempelvis lunga, lever, tarmkanal, pankreas, urinvägar, ovarier eller uterus). Ibland kan intakt HCG inte påvisas trots påtagligt förhöjda värden för fri  $\beta$ -peptid [44–49], vilket förklarar att dessa fall inte företer tecken till bildning av biologiskt aktivt HCG. Liksom fallet är för immunoglobuliner vid plasmocytom anses dominans av fria subenheter alternativt molekyllfragment vara ett tecken på låg differentiering av den aktuella vävnaden [50]. Av detta skäl används mätning av fri  $\beta$ -subenhet vid malignitetsmisstanke.

Vid beställning av »HCG»-mätning måste man alltså klargöra vad mätningen avses påvisa [51]. Rutinen för onkologfall vid Sahlgrenska Universitetssjukhuset sedan två decennier är att som förstahandsanalys mäta intakt

## Exempel på orsaker till tolkningsproblem för »HCG»-mätningar

- Falskt höga mätvärden som följd av analytisk interferens, exempelvis heterofila antikroppar [7, 33, 54].
- Falskt höga eller falskt låga mätvärden som följd av korsreaktion (i det senare fallet »covert crossreactants» [55]).
- Fynd av falskt låga mätvärden beroende på »high-dose hook effect» [56] om laboratoriet inte tar hänsyn till denna risk vid utförandet av mätningen.
- Falskt låga mätvärden som följd av att metoden inte upptäcker den (de) molekylära variant(er) av koriongonadotropin eller av dess fria  $\beta$ -subenhet som cirkulerar i patientens blod eller utsöndras i urinen [35-38, 41-43, 48, 49].
- Nomenklatur
  - » $\beta$ -HCG»: Ofta används benämningen » $\beta$ -HCG» för metoder som mäter HCG med minimal korsreaktion med HLH. Termen introducerades av Vaitukaitis et al [57]. Emellertid används » $\beta$ -HCG» också för metoder som specifikt mäter den fria  $\beta$ -peptiden. Denna benämning bör således inte användas [44].
  - »Totalt HCG»: Metoder för HCG + fri  $\beta$ -peptid anges ibland mäta »totalt HCG». Denna benämning är olämplig av åtminstone två skäl. Metoderna medbestämmer inte fri  $\alpha$ -peptid. Korsreaktion med såväl fri  $\beta$ -peptid som »nicked» HCG varierar påtagligt mellan skilda metoder.
- Kalibrering [33, 58]. Skilda internationella standarder har använts, framför allt i tidigare litteratur.
- Skilda referensintervall för individer med normal respektive låg gonadfunktion, det vill säga barn, kvinnor före och efter klimakteriet, tidigt och sent i klimakteriet, respektive män [33]. Utan kännedom om referensintervallet för kvinnor i barnafödande ålder kan man inte formulera adekvata beslutsgränser för diagnostik av graviditet när man misstänker utomkvedshavandeskap.

HCG + fri  $\beta$ -peptid, eventuellt efterföljd av specifika mätningar för de enskilda komponenterna.

### Många mättekniska problem

Mätningen av »HCG» är en av de mätningar av polypeptidhormon som är bäst känd för att ge upphov till tolkningsproblem. Såväl falskt höga som falskt låga mätvärden kan förekomma (Se Faktaruta).

Det är en allmänt accepterad uppfattning att rapporter om HCG-mätningar bör redovisa använd metodik och – om möjligt – dess analytiska specificitet. Likaså kan det vara nödvändigt att ange kalibrering och referensintervall för den använda metoden (Faktaruta). I de fall där man särskilt intresserat sig för låga värden kan uppgift om detektionsgränsen (och hur den definierats) vara av betydelse för tolkningen av värdena. Det är vidare viktigt att nomenklaturen för de skilda mätmetoderna anpassas till de nya kunskaperna om HCG och dess fragment [52]. Lämplig nomenklatur bör på basen av internationella rekommendationer [37, 58] utformas av de vetenskapliga sektioner inom Svenska Läkaresällskapet som närmast berörs, det vill säga för klinisk kemi, obstetrik och gynekologi samt onkologi.

### Slutkommentar

Flams och Lundbergs fallbeskrivning bekräftar ett litet antal tidigare rapporter och utgör ett värdefullt budskap till de kliniker som exponeras för problematiken kring behandling av utomkvedshavandeskap. Lika litet som

fyndet av en för graviditetstiden normal serumkoncentration av HCG i enstaka prov kan utelåsa diagnosen [53] kan avsaknad av påvisbart HCG helt utelåsa risken för ett allvarligt, behandlingskrävande tillstånd på grund av rester från ett utomkvedshavandeskap.

Från den aktuella fallbeskrivningen, där resultaten från den patologisk-anatomiska undersökningen från den primära och den sekundära operationen samt metoden för HCG-bestämning dock saknas, kan man inte säkert avgöra om ytterligare information kunde ha erhållits genom en skärpt laboratoriediagnostik. Fallet ger anledning att ta upp diskussioner kring användningen av skilda mätmetoder för placenta proteiner vid dessa frågeställningar, liksom möjligheten att immunocyto kemiska undersökningar av vävnaden skulle kunna vara vägledande för valet av metoder för analys av kroppsvätskorna.

### Referenser

1. Flam F, Lundberg S. Utomkvedshavandeskap trots negativt HCG. *Läkartidningen* 1999; 96: 1195.
4. Lindstedt G, Lundberg PA, Janson PO, Thorburn J. Biochemical diagnosis of ectopic pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest* 1982; 42: 201-10.
5. Taylor RN, Padula C, Goldsmith PC. Pitfall in the diagnosis of ectopic pregnancy. Immunocytochemical evaluation in a patient with false-negative serum  $\beta$ -hCG levels. *Obstet Gynecol* 1988; 71: 1035-8.
6. Kurman RJ. The morphology, biology, and pathology of intermediate trophoblast: a look back to the present. *Hum Pathol* 1991; 22: 847-55.
7. Cole LA, Rinne KM, Shahabi S, Omrani A.

False-positive hCG assay results leading to unnecessary surgery and chemotherapy and needless occurrences of diabetes and coma. *Clin Chem* 1999; 45: 313-4.

8. Lindstedt G, Ekman E, Fernlund, Forberg R, Lindblad B, Hellsing K et al. Kan man lita på laboratoriet? Ökat behov av patientrelaterad kvalitetssäkring. *Läkartidningen* 1999; 96: 4028-31.
11. Buster JE, Carson SA. Ectopic pregnancy: new advances in diagnosis and treatment. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1995; 7: 168-76.
12. Emerson DS, McCord ML. Clinician's approach to ectopic pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 1996; 39: 199-222.
14. Mayer IE, Hussain H. Abdominal pain during pregnancy. *Gastroenterol Clin North Am* 1998; 27: 1-36.
15. Marill KA, Ingmire TE, Nelson BK. Utility of a single beta HCG measurement to evaluate for absence of ectopic pregnancy. *J Emerg Med* 1999; 17: 419-26.
33. Aakvaag A, Leskinen E, Lindstedt G, Möller J, Nyberg A, Weber T. Kits for the quantitative assay of chorionic gonadotropin. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48: 299-302.
37. Stenman UH, Bidart JM, Birken S, Mann K, Nisula B, O'Connor J. Standardization of protein immunoprocudures. Choriogonadotropin (CG). *Scand J Clin Lab Invest* 1993; 53 suppl 216: 42-78.
38. O'Connor JF, Birken S, Lustbader JW, Kritchevsky A, Chen Y, Canfield RE. Recent advances in the chemistry and immunochemistry of human chorionic gonadotropin: impact on clinical measurements. *Endocr Rev* 1994; 15: 650-83.
42. Lustbader JW, Lobel L, Wu H, Elliott MM. Structural and molecular studies of human chorionic gonadotropin and its receptor. *Recent Prog Horm Res* 1998; 53: 395-424.
43. Sturgeon CM, McAllister EJ. Analysis of hCG: clinical applications and assay requirements. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 460-91.
44. Lindstedt G, Lundberg PA, Hedman LA. Circulating choriogonadotropin  $\beta$  subunit in a patient with primary amenorrhea and embryonal ovarian carcinoma. *Clin Chim Acta* 1980; 104: 195-200.
46. Alftan H, Stenman UH. Pathophysiological importance of various molecular forms of human choriogonadotropin. *Mol Cell Endocrinol* 1996; 125: 107-20.
48. Mitchell H. Analysis of hCG: clinical applications and assay requirements. *Ann Clin Biochem* 1999; 36: 259.
52. Cole LA. Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites. *Clin Chem* 1997; 43: 2233-43.
56. Flam F, Hansson LO. Se upp för falskt låga hCG-värden! *Läkartidningen* 1997; 94: 1614-5.

*En fullständig referenslista kan erhållas från Göran Lindstedt, Avdelningen för klinisk kemi och transfusionsmedicin, Sahlgrenska Universitetssjukhuset/Sahlgrenska, 413 45 Göteborg.*