

Univerzita Karlova Praha, Lékařská fakulta v Plzni

Gynekologicko – porodnická klinika

Biomarkery epiteliálních nádorů ovaria a endometria

Doktorandská disertační práce

MUDr. Jiří Presl

Školitel: Doc. MUDr. Zdeněk Novotný, CSc.

Plzeň 2013

Univerzita Karlova Praha, Lékařská fakulta v Plzni

Gynekologicko – porodnická klinika

Biomarkery epiteliálních nádorů ovaria a endometria

Doktorandská disertační práce

MUDr. Jiří Presl

Školitel: Doc. MUDr. Zdeněk Novotný, CSc.

Plzeň 2013

Prohlášení o autorství

Tímto předkládám k posouzení a obhajobě dizertační práci zpracovanou na závěr mého doktorandského studia na Lékařské Fakultě Univerzity Karlovy v Plzni.

Prohlašuji, že jsem se při psaní této práce opíral o pravdivé údaje získané jednak vlastní prací a jednak z citované použité literatury. Práci jsem vypracoval pod vedením školitele samostatně a za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Plzni dne 12.10.2013

Podpis

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval Doc. MUDr. Z. Novotnému, CSc. za jeho odborné vedení, cenné rady, všestrannou pomoc a trpělivost při vedení mé disertační práce. Dále bych chtěl velice poděkovat Prof. MUDr. O. Topolčanovi, CSc. za pomoc při zorientování se v problematice laboratorního zpracování, poskytnutá data a rady. Poděkování dále patří mým kolegům lékařům v onkogynekologickém týmu, zejména MUDr. P. Vlasákovi, MUDr. L. Betincové, a týmu sester na pooperačních odděleních, které se účastnily péče o naše pacientky.

Seznam použitých zkratek:

- AUC** Plocha pod ROC křivkou
- CA 125** Cancer (carbohydrate) antigen 125
- CA 19-9** Cancer (carbohydrate) antigen 19-9
- ELISA** Enzymatická imunoanalýza
- HE4** Human epididymis protein 4
- IRMA** Imunoradiometrická analýza
- MT** Monototal
- PPV+** Pozitivní prediktivní hodnota
- PPV –** Negativní prediktivní hodnota
- RIA** Radioimunoanalýza
- ROC** Curve receiver operating characteristic – křivka
- SD** Směrodatná odchylka (standard deviation)
- TK** Thymidinkináza
- TPS** Tkáňový specifický polypeptidický antigen
- LAVH** Laparoskopicky asistovaná vaginální hysterektomie
- TLH** Totální laparoskopická hysterektomie

Obsah

1	Strukturovaný souhrn	8
2	Structured abstract	11
3	Úvod	14
4	Nádory ovaria	15
4.1	Epidemiologie	15
4.2	Etiopatogeneze ovariálního karcinomu	18
4.3	Rizikové a protektivní faktory karcinomu vaječníku	19
4.4	Histologická klasifikace	20
4.5	Klinický obraz a diagnostické metody	20
4.6	Staging	22
4.7	Nádorové markery	23
4.8	Charakteristiky vybraných nádorových markerů využívaných v rámci vyšetřování pacientek s malignitou ovarii	26
4.9	Cíle výzkumné práce v rámci problematiky karcinomu ovaria	35
4.9.1	Porovnání senzitivity sledovaných markerů	35
4.9.1.1	Cíle	35
4.9.1.2	Soubor a metodika	35
4.9.1.3	Výsledky	36
4.9.1.4	Diskuze	38
4.9.1.5	Závěr	39
4.9.2	Porovnání falešné pozitivivity markerů CA 125 a HE4	40
4.9.3	CA 125, HE4 a ROMA v diagnostice ovariálního karcinomu	41
4.9.3.1	Cíle	41
4.9.3.2	Soubor a metodika	41
4.9.3.3	Výsledky	42
4.9.3.4	Diskuze	42
4.9.3.5	Závěr	46
4.10	Léčba ovariálních malignit	49
4.11	Sledování po léčbě = follow-up	50
4.11.1	CA125 a HE4 ve follow-up ovariálního karcinomu	51
4.11.2	Kazuistiky vybraných nemocných	53
4.12	Prognóza pacientek s karcinomem ovaria	57
4.13	Screening ovariálního karcinomu	58

5 Nádory endometria.....	59
5.1 Epidemiologie.....	59
5.2 Etiopatogeneze endometriálního karcinomu	61
5.3 Rizikové a protektivní faktory karcinomu endometria.....	61
5.4 Histologická klasifikace	62
5.5 Klinický obraz a diagnostické metody	62
5.6 Staging.....	64
5.7 Nádorové markery	65
5.8 Cíle výzkumné práce v rámci problematiky karcinomu endometria.....	66
5.8.1 CA125 a HE4 v předoperačním managementu endometriálního karcinomu	66
5.8.1.1 Cíle	66
5.8.1.2 Soubor a metodika.....	66
5.8.1.3 Výsledky.....	67
5.8.1.4 Diskuze.....	67
5.8.1.5 Závěr.....	68
5.9 Léčba endometriálních malignit	71
5.10 Sledování po léčbě = follow-up.....	72
5.11 Prognóza pacientek s karcinomem endometria	73
5.12 Screening endometriálního karcinomu	73
6 Závěr.....	75
7 Seznam použité literatury.....	78
8 Seznam vlastních publikací a prezentací tématu	84
8.1 Publikace s IF.....	84
8.2 Publikace v recenzovaných časopisech a ostatní	84
8.3 Abstrakta a postery	85
8.4 Přednášky	87
9 Přílohy	89

1 Strukturovaný souhrn

Cíl studie:

Ovariální karcinom

- 1/ porovnání senzitivit sledovaných markerů CA 125, HE4, CA 19-9, CEA, TK, TPS, MonoTotal
- 2/ porovnání falešné positivity markerů CA 125 a HE4
- 3/ využití CA 125, HE4 a ROMA indexu v diagnostice ovariálního karcinomu
- 4/ využití CA 125 a HE4 ve follow-up ovariálního karcinomu

Endometriální karcinom

- 1/ možnost využití biomarkerů CA125 a HE4 u pacientek s endometriálním karcinomem v předoperačním managementu

Typ studie: Retrospektivní analýza dat

Název a sídlo pracoviště: Gynekologicko – porodnická klinika LF UK a FN Plzeň

Soubor a metodika:

Ovariální karcinom

- 1/ Do vyhodnocení senzitivit markerů CA 125, HE4, CA 19-9, CEA, TK, TPS, MonoTotal bylo zařazeno 266 pacientek – 19 s ovariálním karcinomem a 247 s benigními nálezy.
- 2/ Do porovnání falešné positivity markerů CA125 a HE4 jsme zařadili celkem 390 pacientek s benigními diagnózami – 60 žen s endometriozou, 70 těhotných, 67 pacientek s ascitem, 60 s fluidothoraxem, 25 s kardiálním selháním, 80 s renální insuficiencí a 28 žen s jaterním selháním.
- 3/ V rámci tohoto cíle jsme hodnotily 552 pacientek s abnormálním nálezem v pánvi - 30 žen bylo s histologicky potvrzeným maligním nádorem ovarií. Dalších 522 žen mělo benigní nález. Podle hladiny FSH (folikulostimulačního hormonu) byly ženy v obou skupinách rozděleny na premenopauzální a postmenopauzální.
- 4/ Hodnocení follow-up 70 nemocných s karcinomem ovaria po dobu 4 let.

Endometriální karcinom

1/ V této části studie bylo zahrnuto 34 pacientek s diagnózou endometriálního karcinomu a 32 zdravých kontrol.

Všem ženám byla odebrána krev na vyšetření sledovaných nádorových markerů. Hodnoty markerů byly stanoveny imunoanalytickými metodami a korelovány se sledovanými veličinami.

Výsledky:

Ovariální karcinom

1/ Nejvyšší senzitivity při 95% specificitě dosáhl marker CA 125 89,5%, marker HE4 vykázal senzitivitu 73,3% a na hranici použitelnosti byl marker MonoTotal 63,2%.

2/ Marker CA 125 vykazoval vysokou falešnou pozitivitu prakticky u všech vybraných neoncologických diagnóz. Naopak marker HE4 se u většiny těchto stavů držel kolem 10% falešné positivity. U renální insuficience prakticky 100% zvýšení vykazovaly oba markery.

3/ Největší výtěžnost one-step postupu, tedy okamžitého vyšetření panelu nádorových markerů spolu s klinickým a sonografickým vyšetřením, je pro postmenopauzální pacientky, a pokud kombinujeme oba markery CA125 a HE4. Tehdy při stanovení menopauzálního statutu dle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 25,3% pro ROMA2, resp. námi nejbližší kalkulované hodnotě 26,4%, dosahuje ROMA2 senzitivity 92,3%, specificity 88,5 % a PV- 99,3%. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 25,3%, resp. námi nejbližší kalkulované hodnotě 26,3 %, dosahuje ROMA2 senzitivity 95,2 %, specificity 87,8 % a PV- 99,5 %.

4/ Při follow-up se lépe osvědčil marker HE4. Marker CA125 byl často dlouhodobě falešně pozitivní a nekoreloval s klinickým obrazem.

Endometriální karcinom

1/ Medián sérových hladin HE4 žen s endometriálním karcinomem vykazoval statisticky významný rozdíl ve srovnání se skupinou zdravých žen, 75,5 pmol/l vs. 40,0 pmol/l / $p < .0001$ /. Naproti tomu CA125 u nemocných s endometriálním karcinomem byl 19,0 IU/l, a v kontrolní skupině 15 IU/l, rozdíl byl statisticky nevýznamný / $p = 0,4442$ /.

Závěr:

Ovariální karcinom

1/ Stanovení CA 125 a HE4 zlepšuje primární detekci ovariálního karcinomu a zužuje diferenciálně diagnostický interval.

2/ HE4 má minimální výskyt nesprávně pozitivních výsledků, a může se tak uplatnit mimo jiné v kohortě polymorbidních pacientek s nejasným nálezem při klinickém a sonografickém vyšetření.

3/ Kombinace markerů HE4 a CA125 a současný výpočet ROMA indexu je vhodnou metodikou pro zlepšení záchytu ovariálního karcinomu a to zejména v populaci postmenopauzálních žen.

4/ Při monitoraci v rámci follow-up se nám více osvědčilo vyšetření markeru HE4, který až o 6 měsíců předchází progresi onemocnění, koreluje s průběhem onemocnění a nenalezli jsme nesprávnou negativitu ani pozitivitu.

Endometriální karcinom

1/ V našem pilotním souboru jsme zjistili, že současné vyšetření biomarkerů HE4 a CA125 může přispět k prebioptické verifikaci sonografického nálezu, jakožto korelát odrazu benigního či maligního procesu podílejícího se právě na sonografickém abnormálním nálezem a klinické symptomatologii.

Klíčová slova: ovariální karcinom, CA 125, HE4, ROMA, endometriální karcinom

2 Structured abstract

Study objectives:

Ovarian carcinoma

- 1/ comparison of sensitivities among monitored markers CA 125, HE4, CA 19-9, CEA, TK, TPS, MonoTotal
- 2/ comparison of false positivity of markers CA 125 and HE4
- 3/ use of CA 125, HE4 and ROMA index in the diagnostics of ovarian carcinoma
- 4/ use of CA 125 and HE4 in the follow-up of ovarian cancer

Endometrial carcinoma

- 1/ feasibility of use of biomarkers CA125 and HE4 in patients with endometrial cancer in pre-operative management

Study design: Retrospective data analysis

Settings: Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Faculty and Teaching Hospital in Pilsen

Patients and Methods:

Ovarian cancer

- 1/ Sensitivity of markers CA 125, HE4, CA 19-9, CEA, TK, TPS, and MonoTotal was assessed in 266 patients - 19 with ovarian cancer and 247 with benign disorders.
- 2/ False positivity of markers CA125 and HE4 was evaluated in a total of 390 patients with benign diagnoses – 60 women with endometriosis, 70 pregnant patients, 67 patients with ascites, 60 with pleural effusion, 25 with cardiac failure , 80 with renal insufficiency and 28 with hepatic failure.
- 3/ As a part of this objective we evaluated 552 patients with abnormal pelvic abnormality - 30 women had a histologically confirmed malignant ovarian tumor. Other 522 women had a benign condition. The women were divided to premenopausal and postmenopausal in both groups based on the level of FSH (Follicle-stimulating hormone).
- 4/ A four-year follow-up evaluation of 70 patients with ovarian cancer.

Endometrial carcinoma

1/ A total of 34 patients diagnosed with endometrial carcinoma and 32 healthy controls were enrolled in this part of the study.

Blood was taken for examination of monitored tumor markers in all women. The marker values were assessed using immunoanalytical methods and correlated with studied variables.

Results:

Ovarian carcinoma

1/ Marker CA 125 reached the highest sensitivity (89.5%) at 95% specificity, marker HE4 showed sensitivity of 73.3%, while marker MonoTotal was merely at the level of utility (63.2%).

2/ Marker CA 125 showed a high false positivity in virtually all selected non-oncologic diagnoses. Conversely, the false positivity of marker HE4 was around 10% in all abovementioned conditions. Both markers showed virtually a 100% increase in case of renal insufficiency.

3/ Postmenopausal women and a combination of both CA125 and HE4 are associated with the highest diagnostic yield of one-step procedure, i.e. immediate examination of the panel of tumor markers associated with clinical and ultrasound examination. ROMA2 reached 92.3% sensitivity, 88.5 % specificity and PV- 99.3% for a cut-off 25.3%, or the closest calculated value 26.4%, in postmenopausal women defined by FSH level above 40 IU/l. If we reduced the cut-off for FSH for laboratory assessment of menopausal status to 22 IU/l, the ROMA2 reached 95.2% sensitivity, 87.8% specificity and PV- 99.5% at the cut-off 25.3%, or the closest calculated value 26.3%.

4/ Marker HE4 was proven to be more suitable in follow-up. Marker CA125 was often false positive in a long-term and did not correlate with the clinical picture.

Endometrial carcinoma

1/ A statistically significant difference in median serum levels of HE4 was found in women with endometrial cancer compared to healthy women (75.5 pmol/l vs. 40.0 pmol/l, $p < 0.0001$). In case of CA125, the difference was not statistically significant (19.0 IU/l vs. 15 IU/l, $p = 0.4442$).

Conclusions:

Ovarian carcinoma

- 1/ Assessment of CA 125 and HE4 improves the primary detection of ovarian cancer and narrows differential diagnosis.
- 2/ HE4 has a minimum incidence of false positive results and may thus be used inter alia in a cohort of multimorbid patients with unclear findings in clinical and ultrasound examination.
- 3/ Combination of markers HE4 and CA125 with a simultaneous calculation of ROMA index is a suitable method for improvement of ovarian cancer detection especially in postmenopausal women.
- 4/ Marker HE4 assessment was proven more suitable in follow-up monitoring. It preceded the progression of the disease by up to 6 months, correlated well with the course of the disease and did not show false negativity or positivity.

Endometrial carcinoma

- 1/ In our pilot group we found that simultaneous assessment of biomarkers HE4 and CA125 may contribute to preoperative verification of ultrasound findings as a correlate of a benign or malignant process that contributes to the ultrasound abnormal findings and clinical symptomatology.

Key words: ovarian cancer, CA 125, HE4, ROMA, endometrial carcinoma

3 Úvod

Cílem práce „Biomarkery epiteliálních nádorů ovaria a endometria“ je v komplexním přehledu sumarizovat aktuální poznatky o karcinomu ovaria a endometria a didaktickou formou je předložit čtenáři. Hlavní důraz je kladen na prezentaci výsledků našeho dlouholetého sběru dat týkajících se nádorových markerů, zejména CA125 a HE4, a jejich vztahu ke zmíněným nádorům.

Z těchto výše uvedených důvodů má práce formát ucelených kapitol učebnice pojednávající o tolik palčivé problematice jakou je maligní onemocnění, jeho epidemiologie, diagnostika, léčba, follow-up či screening. Vzhledem k tomu, že hlavním jmenovatelem je sice téma nádorových markerů, ale studované kohorty a u nich použité metodiky nejsou identické, byla zvolena právě tato prezentační forma a struktura práce.

Jako hlavní motto mé disertační práce bych zvolil tvrzení: „Nádorové markery jsou velmi potřebné, jen je nutné najít pro ně správné umístění a využití.“

MUDr. Jiří Presl

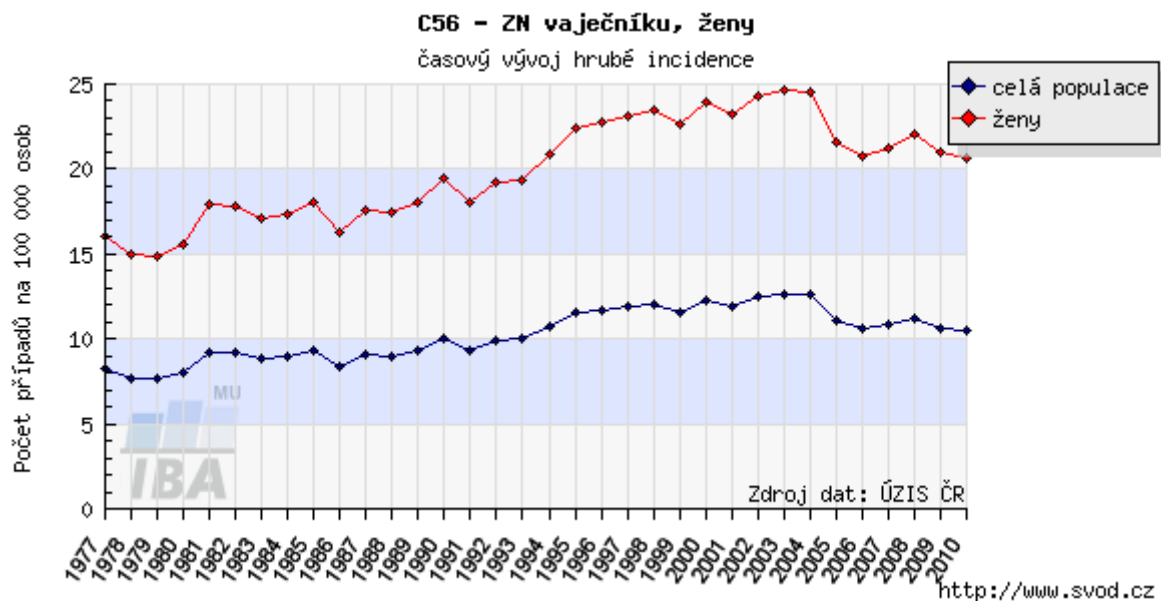
4 Nádory ovaria

Tato stať vychází z článku: **Presl J., Kučera R., Topolčan O., Novotný Z., Vrzalová J., Fuchsova R., Betincová L., Rokyta Z.: HE4 – biomarker ovariálního karcinomu. Česká gynekologie, 77:445-9, 2012**

4.1 Epidemiologie

Dle údajů NOR – Národního onkologického registru, incidence ovariálních zhoubných nádorů v České republice v 90. letech minulého století stoupala a v roce 2002-2003 dosáhla nejvyšší hodnoty 24,9 na 100 000 žen. Tato incidence byla identická i v následujícím roce. V roce 2005 jsme zaznamenali pokles mírně pod 22/100000 a v následujícím roce 2006 kolem 21/100000, což byla dosud nejnižší evidovaná incidence v ČR. Poslední data jsou t.č. dostupná za rok 2010, kdy byla incidence 20,64/100000[1].

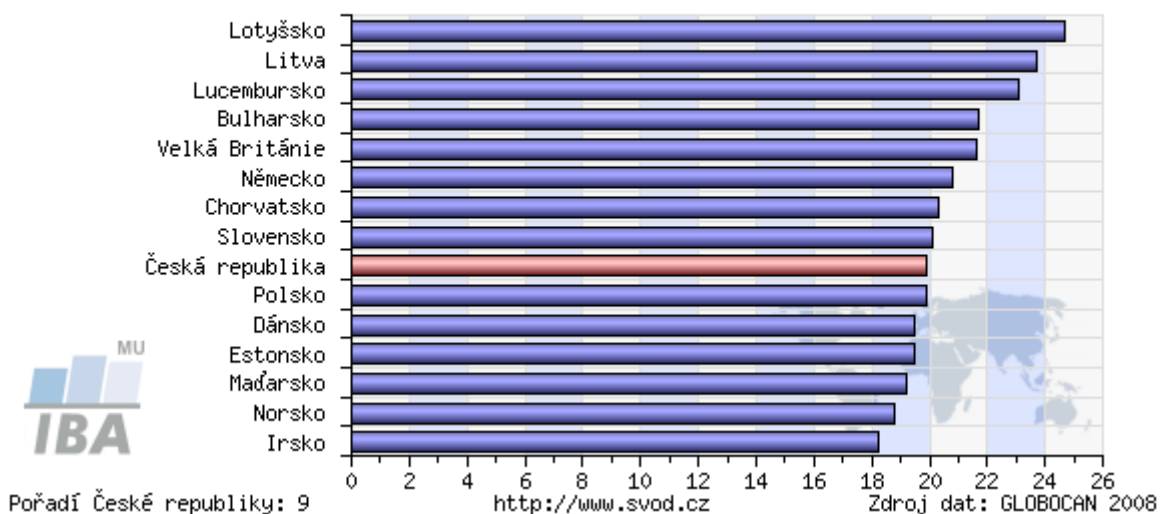
Časový vývoj hrubé incidence



V zemích západní Evropy, kde se masivně používá hormonální antikoncepce déle než 20 let, začíná incidence klesat.

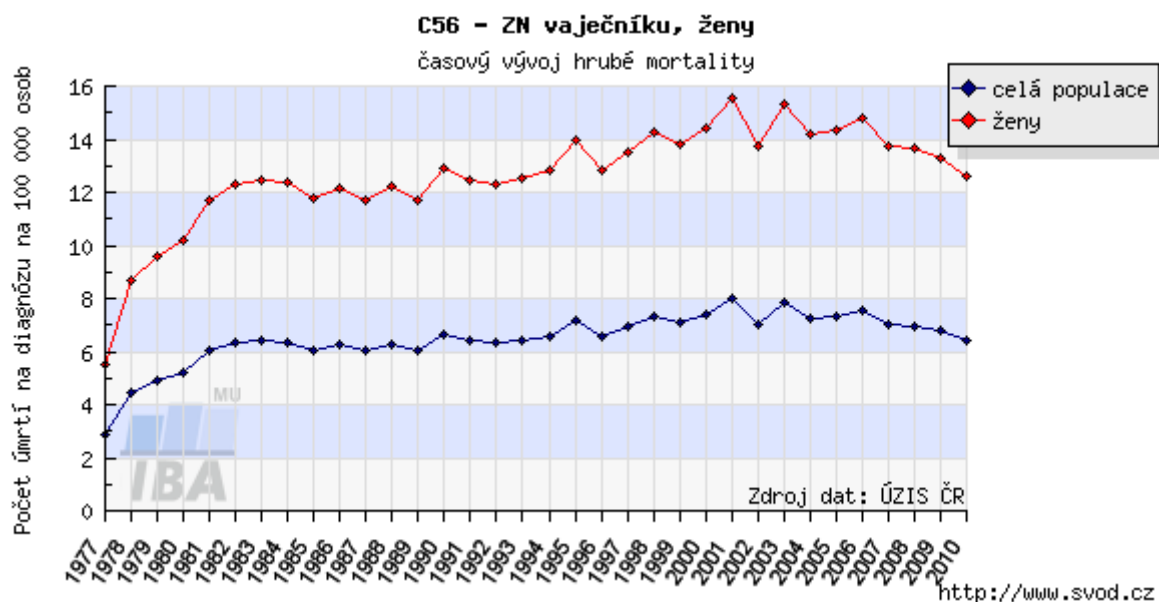
C56 - Vaječník, ženy

srovnání incidence v ČR s ostatními zeměmi světa, přepočet na 100 000 osob

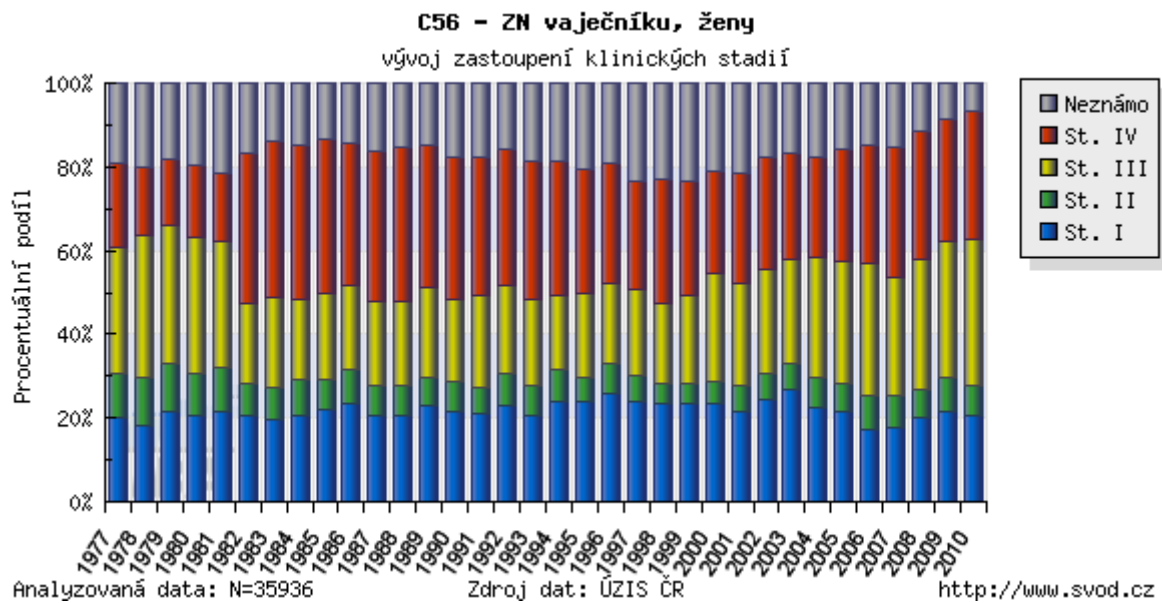


Mortalita je i přes pokles (za poslední 10 let poklesla incidence cca o 10 %) stále vysoká hlavně proto, že většina ovariálních nádorů (75–80 %) se diagnostikuje v pokročilých stádiích (FIGO III a IV)[2]. Dle NOR byla mortalita v roce 2010 - 11,93/100000 žen[1].

Časový vývoj hrubé mortality

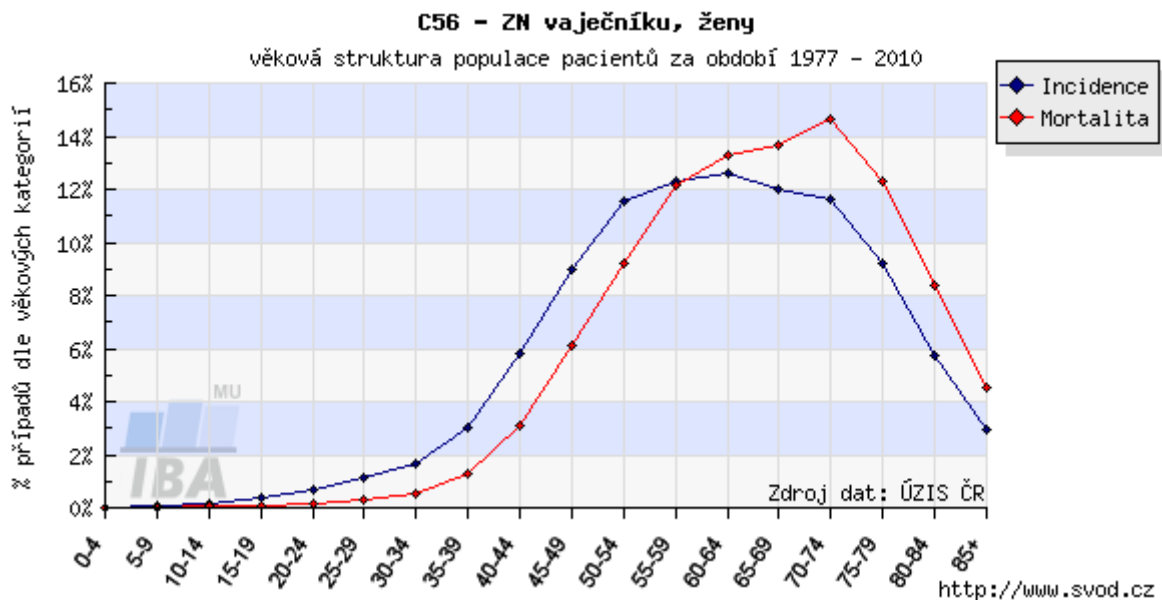


Zastoupení klinických stádií v čase



Ovariální nádory jsou z gynekologických nádorů nejčastější příčinou smrti – 47 %. Průměrný věk se značně liší v obou skupinách ovariálních zhoubných nádorů, ve skupině epitelálních zhoubných nádorů je průměrný věk v době diagnózy 57 let, u neepitelálních cca 33 let[3].

Věková struktura pacientek s epitelálními malignitami vaječníku



Incidence narůstá s věkem, riziko pro ženu 70 letou je 4 x větší než pro ženu 40 letou.

4.2 Etiopatogeneze ovariálního karcinomu [4]

V posledních pěti až šesti letech se událo na poli pochopení patogeneze epiteliálního ovariálního karcinomu mnohé. Původní a stále „částečně“ platné etiopatogenetické teze – hypotéza nepřetržitých ovulací, hypotéza gonadotropinová, jsou v současnosti nahrazeny jakýmsi dualistickým modelem tumorogeneze. Nový směr ukazují klinicko-patologické a molekulárně genetické studie, které přinášejí tento dualistický model tumorogeneze a dělí tak ovariální epiteliální malignity na **Typ I** a **Typ II**.

Malignity řadící se pod **Typ I** mají poměrně dobře identifikované prekuzory a jejich progresse jde po krocích od benigního cystického tumoru přes „borderline“ tumory k invazivnímu karcinomu. V době projevení bývají spíše omezené na vaječníky, chovají se jako „pomalé“ nádory, sdílejí společně mnohé molekulárně genetické alterace, které nelze najít u Typu II, jsou poměrně geneticky stabilní, vznikají obvykle kumulací somatických mutací v genech KRAS, BRAF, PTEN, PIK3CA, CTNNB1 (kodování genu beta catenin), a ARID1A PPP2R1A, ale jen velmi zřídka TP53. Inaktivace BRCA nebyla u typu I nalezena. Zahrnují:

- low-grade serozní a low-grade endometroidní karcinomy
- clear-cell a mucinozní karcinomy
- maligní Brennerův tumor

Např. u velmi častého low-grade serozního karcinomu je nový model postavený na teorii, že epitel vejcovodu se implantuje na ovariální povrch, postupně dojde ke vzniku inkluzní cysty a vlivem mutací ve specifických genech (viz výše) dojde k progresi do malignity. Podkladem pro endometroidní a clear-cell nádory vaječníku jsou pak dle tohoto modelu endometriální buňky, které při retrográdní menstruaci dají vznik ložisku ovariální endometriozy, ze které se opět mutacemi vyvine karcinom.

Nádory řadící se pod **Typ II** naopak bývají zachyceny v pokročilých stádiích, chovají se agresivně, typická je pro ně mutace genu TP53 (ve více než 95% případů) a jsou velice geneticky nestabilní. Inaktivace BRCA, mutací či metylací promotoru, se nachází u 40-50% high-grade serozních karcinomů. Hlavními tumory Typu II jsou:

- high-grade serozní karcinom
- karcinosarkom
- nediferencovaný karcinom

High-grade serozní karcinom představuje téměř 75% ze všech epiteliálních ovariálních karcinomů a sám se podílí cca 90% na příčině úmrtí na ovariální karcinom. Proto hledání etiopatogenetické cesty vzniku tohoto závažného tumoru je náplní řady výzkumů posledních

desetiletí. Dosud se předpokládalo, že nádor vzniká maligní transformací povrchového epitelu vaječníku. Nový pohled spatřuje možný původ ve vejcovodu, konkrétně v lézi nazývané „STIC – serous tubal intraepithelial carcinoma“, kterou se prezentuje zhruba 45-60% případů a kterou je možné při pečlivém histologickém zpracování sekčního materiálu nalézt vedle invazivního karcinomu.

Koncept, že část ovariálních karcinomů má původ mimo vaječník, je velkým odklonem od původního smýšlení a přinese jistě nové postupy včasné detekce, léčby a možné prevence tohoto závažného a devastujícího onemocnění. Jedním z takových preventivních postupů je například odstranění vejcovodů – profylaktická salpingektomie, v indikovaných případech.

4.3 Rizikové a protektivní faktory karcinomu vaječníku

Mezi rizikové faktory sporadických karcinomů patří[3]:

- nuliparita – RR 1,27 – 2,45
- časná menarche – kontroverzní RF
- věk – riziko CA ovaria stoupá s věkem
- sterilita – RR 2,7
- užívání HRT (hormonální substituční terapie) – ERT má RR 2 při užívání 10 a více let
- endometrióza – zvýšené riziko clear cell a endometroidního CA
- dietní návyky
- obezita

Za familiárními karcinomy stojí zejména tři hlavní hereditární syndromy:

- hereditární karcinom prsu a ovaria s mutací BRCA1 /riziko CA ovaria 40-60%/ a BRCA2 /riziko CA ovaria 23%/
- site-specific syndrom karcinomu ovaria
- Lynchův syndrom /riziko CA ovaria 4-12%/

Protektivní faktory jsou:

- multiparita – každý porod snižuje riziko o 10-15 %
- celková doba kojení (blokuje se ovulace)
- hormonální antikoncepce – RR je po 5 letech 0,5 a trvá 15-20 let
- sterilizace
- hysterektomie [3]

4.4 Histologická klasifikace

Histologicky jsou ovariální malignity velmi heterogenní skupinou. Můžeme sem zařadit

- nádory z povrchového epitelu a stromatu (karcinomy a borderline nádory) tvořící 80-90% ovariálních malignit
- nádory ze specializovaného mezodermu gonád = gonadostromální nádory (z granulózových buněk, Sertoliho buněk, stromálních buněk a steroidogenních buněk)
- nádory ze zárodečných buněk (z germinálních buněk, teratomy)
- nádory ostatní
- nádory sekundární – metastatické (žaludek, kolorektální oblast, apendix, prs)[3]

Většina ovariálních malignit má sporadický výskyt. Asi 5-10 % nádorů je familiárních.

4.5 Klinický obraz a diagnostické metody [3]

Časná stádia ovariálního karcinomu jsou na symptomatologii chudá. Často je ovariální malignita diagnostikována náhodou při operačním výkonu z jiné indikace. 75-80% nádorů vaječníku je diagnostikováno v pokročilých stádiích FIGO III a IV.

Pacientky si stěžují na:

- pocit plnosti
- nadýmání
- nechutenství
- zvětšování objemu břicha
- poruchy vyprazdňování stolice, event. obtíže při močení
- někdy může být prvním projevem onemocnění otok dolních končetin či trombóza

Pro diagnostiku je obligatorní:

- komplexní gynekologické vyšetření
- RTG vyšetření hrudníku
- sonografické vyšetření vaginální a abdominální sondou, ideálně expertní – při kombinaci sonomorfologických a dopplerovských kritérií dosahuje sonografie senzitivity 96% a specificity 90% při diferenciaci mezi benigním a maligním ovariálním postižením

Tyto postupy se obligatorně kombinují s **laboratorním stanovením sérových nádorových markerů**.

V rámci diferenciální diagnostiky byly testovány různé markery a jejich kombinace v různých panelech. Udávaných kombinací s dobrými výsledky je mnoho. Např. v práci kolektivu Yurkovetsky et al. uveřejněné v roce 2011 v Journal of Clinical Oncology, bylo cílem najít nejlepší kombinaci markerů pro včasnou detekci ovariálního karcinomu. Testováno bylo 96 sérových proteinů. Jako nejlepší se ukázala kombinace CA125 + HE4 + CEA + VCAM-1 /vascular cell adhesion molecule 1/. Tato kombinace dokázala odlišit ovariální karcinom od kolorektálního ve 100%, od karcinomu prsu v 94% a karcinomu plic v 64%. Závěrem je, že tato kombinace by mohla být primárním krokem ve dvoustupňovém procesu časně detekce ovar. karcinomu a sloužit jako třídící test k selekci pacientek pro následné vyšetření transvaginálním ultrazvukem[5]. Další práce zabývající se tímto problémem přinesla jako ideální kombinaci TU markerů CA125 + HE4 + CEA + CYFRA 21-1[6]. Jiné multiplexové analýzy kombinují např: CA 125 + CA72-4 + CEA + TPA.

Definitivní diagnóza je stanovena z histologického vyšetření tkáně získané v rámci primární operace či z minimálně invazivních postupů – laparoskopie, true-cut biopsie, FNAB /fine needle aspiration biopsy/, či na základě cytologického vyšetření vzorku ascitu či fluidothoraxu.

V případě nedostatečných informací z těchto vyšetření je pro klinický staging nutné někdy doplnit některé z fakultativních vyšetření:

- CT – má svůj význam ve stagingu pokročilých ovariálních karcinomů – přesnost 77%
- NMR – uplatňuje se v diferenciální diagnostice benigních a maligních nádorů – senzitivita 83% a specificita 84%
- PET/CT – užívá se diagnostice recidivy a rozsahu nádorového postižení – senzitivita 90% a specificita 86%
- IVU – vylučovací urografii
- cystoskopii
- rekto-/kolonoskopii

4.6 Staging

FIGO klasifikace /po revizi v roce 2009/

TNM	FIGO	Popis
T - tumor		
T1	I	Tumor omezený na vaječník /jeden nebo oba/
T1a	IA	nádor omezen na jeden vaječník; pouzdro intaktní, žádný nádor na povrchu vaječníku; v ascitu nebo peritoneálním výplachu nejsou maligní buňky
T1b	IB	nádor omezen na oba vaječníky; pouzdro intaktní, žádné známky nádoru na povrchu vaječníků; v ascitu nebo peritoneálním výplachu nejsou maligní buňky
T1c	IC	nádor ohraničen na jeden a / nebo oba vaječníky s čímkoliv následujícím: ruptura pouzdra, nádor na povrchu ovaria, maligní buňky v ascitu či peritoneálním výplachu
T2	II	nádor postihuje jeden nebo oba vaječníky se šířením v pánvi
T2a	IIA	šíření a / nebo implantace na dělohu a / nebo vejcovod(y); v ascitu nebo peritoneálním výplachu nejsou maligní buňky
T2b	IIB	šíření na jiné pánevní tkáň; v ascitu nebo peritoneálním výplachu nejsou maligní buňky
T2c	IIC	šíření v pánvi (2a nebo 2b) s maligními buňkami v ascitu nebo peritoneálním výplachu
T3 a/nebo N1	III	nádor postihuje jeden nebo oba vaječníky, s mikroskopicky prokázanými peritoneálními metastázami mimo pánev a/nebo metastázy v regionálních mízních uzlinách
T3a	IIIA	mikroskopické peritoneální metastázy mimo pánev
T3b	IIIB	makroskopické peritoneální metastázy mimo pánev 2 cm nebo méně v největším rozměru
T3c a/nebo N1	IIIC	peritoneální metastázy mimo pánev větší než 2 cm v největším rozměru a/nebo metastázy v regionálních mízních uzlinách
M1	IV	Vzdálené metastázy /mimo peritoneální metastázy/
Poznámka: Metastázy v pouzdru jater jsou klasifikovány jako stádium III, pro diagnózu stádia IV je potřeba průkazu intraparenchymatózních metastáz. Pleurální výpotek je klasifikován jako M1 při cytologickém průkazu maligních elementů.		
N – regionální mízní uzliny		
NX		Regionální mízní uzliny nelze posoudit
N0		Regionální mízní uzliny bez metastáz
N1		Metastázy v regionálních mízních uzlinách
M – vzdálené metastázy		
MX		Přítomnost vzdálených metastáz nelze určit
M0		Bez vzdálených metastáz
M1		Vzdálené metastázy
pTNM – patologická klasifikace		
pTNM		Patologická klasifikace odpovídá kategoriím TNM
pN0		Histologické vyšetření preparátu z pánevní lymfadenektomie musí obsahovat 10 nebo více uzlin

4.7 Nádorové markery

Produkce nádorových markerů patří mezi základní charakteristiky přítomnosti maligních nádorů. Mezi nádorové markery řadíme některé antigeny, enzymy, hormony, hormonální receptory a s nádorem sdružené proteiny. Tyto látky odrážejí proliferační aktivitu dané tkáně, buněčnou diferenciaci či buněčnou destrukci. Jedno z možných dělení nádorových markerů je na celulární a humorální, tedy takové, které se buď nacházejí v maligní tkáni či v tělesných tekutinách, nebo markery nádorem indukované nebo s nádorem asociované, tedy takové, které maligní tkáň sama produkuje nebo k jejich produkci stimuluje tkáň tělu vlastní – schéma možného dělení markerů ukazuje graf na konci této stati[7].

Ke zjištění jejich přítomnosti se vyšetřuje nejčastěji vzorek séra, dále moči či dalších tělesných tekutin a je možné je detekovat ve vlastním tumoru či jiných tkáních, jak je zmíněno výše. K detekci se nejčastěji užívají metody RIA, IRMA a ELISA s využitím komerčních kitů a automatických analyzátorů. Aby bylo dosaženo jednotného posuzování markerů u jednotlivých malignit a pro zajištění standardizace vyšetřovacích metod, byla ustanovena mezinárodní komise EGTM /European Group of Tumour Markers/ v roce 1997.

Markery samotné a jejich elevace však jen zřídka ukazují na přítomnost malignity. Většina markerů je také tvořena normálními buňkami a dochází k jejich elevaci i při řadě fyziologických situací. Naproti tomu stojí fakt, že některé malignity se vyskytují bez zvýšených hladin markerů.

Přes tato fakta jsou nádorové markery součástí naší denní rutiny. Obecně jsou využívány ve screeningu a časně detekci některých malignit, v diferenciatně diagnostickém algoritmu u pacientek s podezřením na malignitu, k určení prognózy onemocnění jako jeden z pomocných faktorů, při sledování účinnosti léčby a pátrání po recidivě onemocnění.

Bohužel, dosud nebyl objeven marker, který by se přibližoval „ideálnímu markeru“ tj.:

- produkovaly by jej pouze buňky maligního nádoru
- rychle by přecházel do tělesných tekutin, kde by dosahoval vysokých koncentrací již při malé velikosti nádoru
- hodnoty by korelovaly s objemem nádoru
- neexistovala by závislost na glomerulární filtraci atd.

Takový marker by měl mít téměř 100 % senzitivitu, specifickou a pozitivní prediktivní hodnotu.

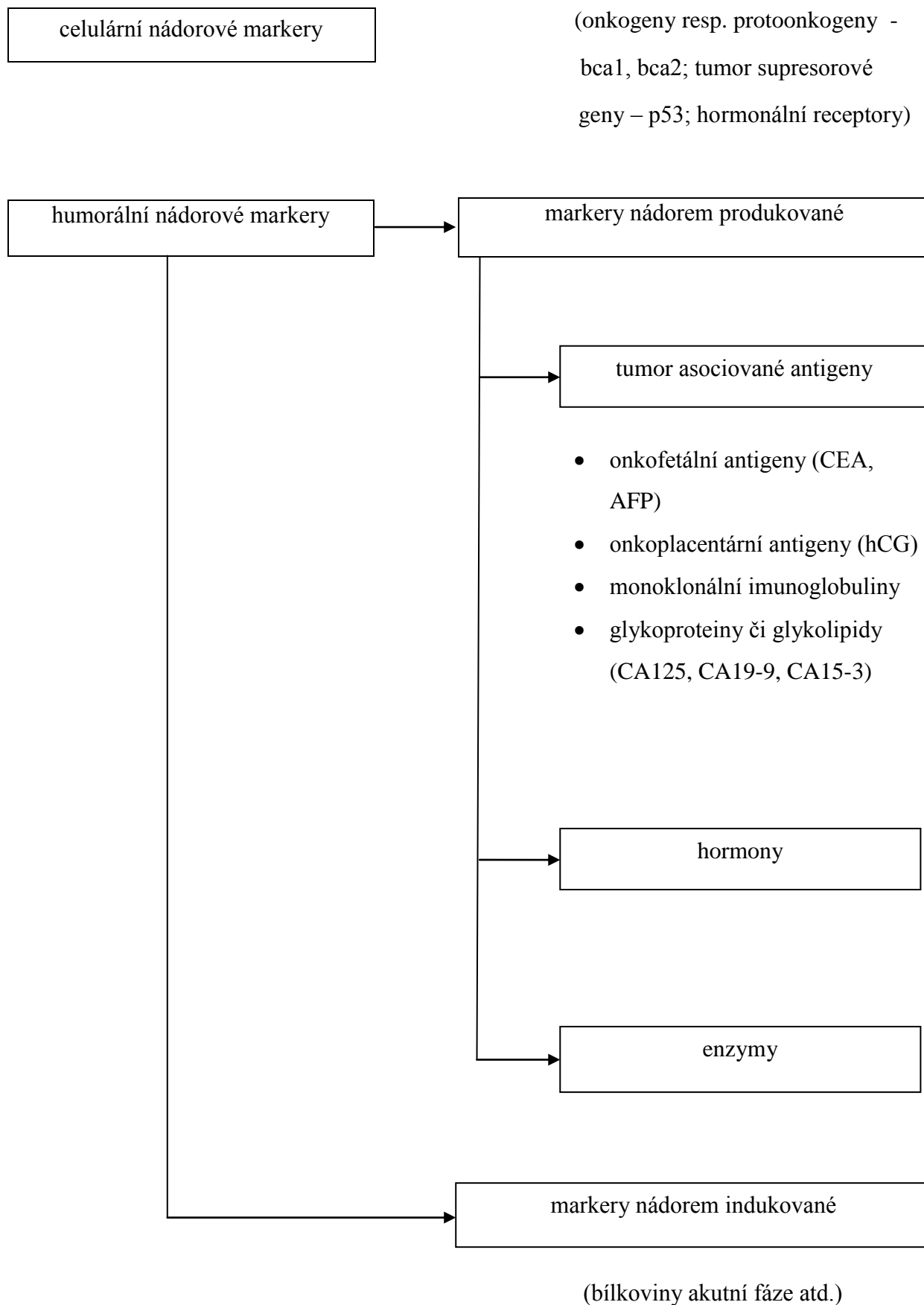
Důležitou charakteristikou markeru je jeho biologický poločas degradace. Na tomto faktu závisí vlastnost markerů rychle reflektovat změny nádorové hmoty. Ty markery, jejichž biologický poločas je krátký, reflektují změny velikosti tumorů rychleji, než ty markery s dlouhým biologickým poločasem. Paradoxní situací je pak elevace markerů po započatí onkologické léčby, kdy dojde k nekróze určitého procenta nádorové hmoty doprovázené uvolněním toho kterého markeru do oběhu pacientky. Tato situace tedy nemusí být signálem neúspěchu podávané kombinace chemoterapie, ale naopak[3].

Biologický poločas vybraných markerů (převzato z Cibula D, Petruželka L: Onkogynekologie. Praha, Grada Publishing, a.s., 2009)

Marker	Biologický poločas v hodinách
CA 125	96 /4 dny/
CA 19-9	120 /5 dní/
CEA	340 /14 dní/
TPS	170 /7 dní/

Dalším důležitým faktem je možná heterogenita nádorů, která sebou nese nutnost stanovení několika markerů k postihnutí přítomnosti a biologického chování možných více typů tkání v nádoru obsažených.

Schéma možného dělení markerů – převzato z Racek J et al.: *Klinická biochemie*. Praha, Galén, 1999



4.8 Charakteristiky vybraných nádorových markerů využívaných v rámci vyšetřování pacientek s malignitou ovarii

Antigen CA125

Antigen CA125, první sérový nádorový marker testovaný pro ovariální karcinom, byl představen v roce 1983 kolektivem kolem profesora Roberta C. Basta z MD Anderson, USA[8]. Jedná se o glykoprotein o molekulové hmotnosti 500 kD. Ve fetálním období zjišťujeme jeho přítomnost v povrchovém epitelu orgánů coelomového původu. Zvýšené hodnoty je možné naměřit i za fyziologických stavů: menstruace, gravidita. Dále u benigních nádorů ovarii, u endometriózy, adnexitidy, myomů a při jakémkoliv dráždění serózních blan bez ohledu na etiologii procesu. Hodnoty se zvyšují na jedné straně u benigních onemocnění jako je kardiální, jaterní selhání selhání, virové a bakteriální záněty na druhé straně u maligních procesů včetně primárních a sekundárních nádorů peritonea, pleury a perikardu[9]. Z malignit zvyšuje jeho hladiny zejména serózní cystadenokarcinom ovaria a další histotypy, karcinom endometria a endocervixu. Zvýšené hladiny je možné zaznamenat u nádorů prsu, plic, GIT. Z výše uvedeného je zřejmá nízká specificita tohoto antigenu.

Dle NACB (National Academy of Clinical Biochemistry) a EGTM (European Group of Tumour Markers) bylo stanoveno několik doporučení týkajících se vyšetřování a využití CA 125, která postupně v následujícím textu budou zmíněna.

Dop. 1/ se týká odběru krve na stanovení CA 125 – v ideálním případě by měla být analýza prováděna krátce po rychlé centrifugaci vzorku a separaci séra od sedimentu, a vzorek by měl být skladován buď při 4st.C. (1-5 dní) či při -20st.C. (2 týdny-3 měsíce) v krátkodobém režimu vyšetřování či při -70st.C. při dlouhodobém režimu skladování/vyšetřování[10].

Velká snaha je trvale věnována využití stanovení CA 125 spolu s dalšími vyšetřovacími modalitami při hledání optimálního screeningového programu karcinomu vaječníku.

Dop. 2/ se týká využití markeru CA 125 ve screeningu – vyšetření markeru CA 125 není doporučeno pro screening asymptomatických žen. Spolu s ultrazvukovým vyšetřením je však

možné využít marker CA 125 pro včasnou detekci ovariálních malignit u selektované skupiny žen s hereditárními syndromy[10].

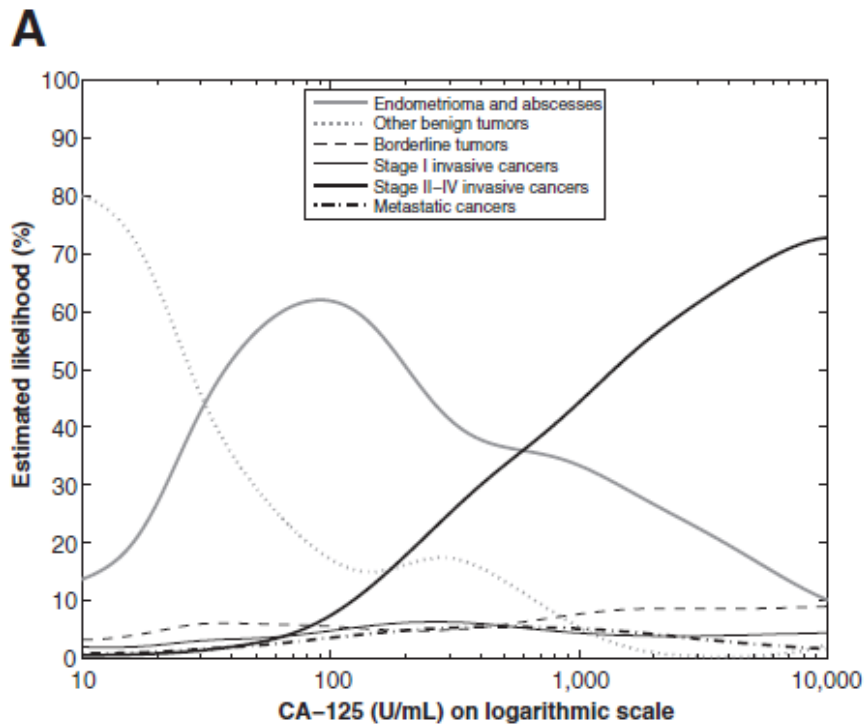
Stanovení hodnoty markeru CA 125 hraje svoji zásadnější roli, v porovnání s hledáním optimálního screeningového programu, v diferenciální diagnostice tumorů malé pánve. Více než 80 % pacientek s karcinomem ovaria má zvýšené hodnoty CA 125 s tím, že elevace doprovází kolem 50-60% případů stadia I, 80-90% pacientek má elevaci CA125 ve stadiu II a více než 90% v pokročilých stádiích III a IV[11]. Negativní hodnoty tedy nevylučují přítomnost maligního onemocnění[12].

CA 125 je nedílnou součástí RMI (risk of malignancy index), který je vodítkem pro další management pacientek s adnexální či pánevní rezistencí. RMI je výsledkem koncentrace CA 125 násobené menopauzálním stavem (1x u premenopauzálních žen, 3x u postmenopauzálních žen) a dále násobené ultrazvukovým skóre (0, 1, 3 dle sono znaků). Při překročení cut-off pro RMI (</> 200 či 250) je pacientka referována na onkogynekologické pracoviště k další léčbě. Senzitivita RMI se udává 71-78% a specificita 75-94%.

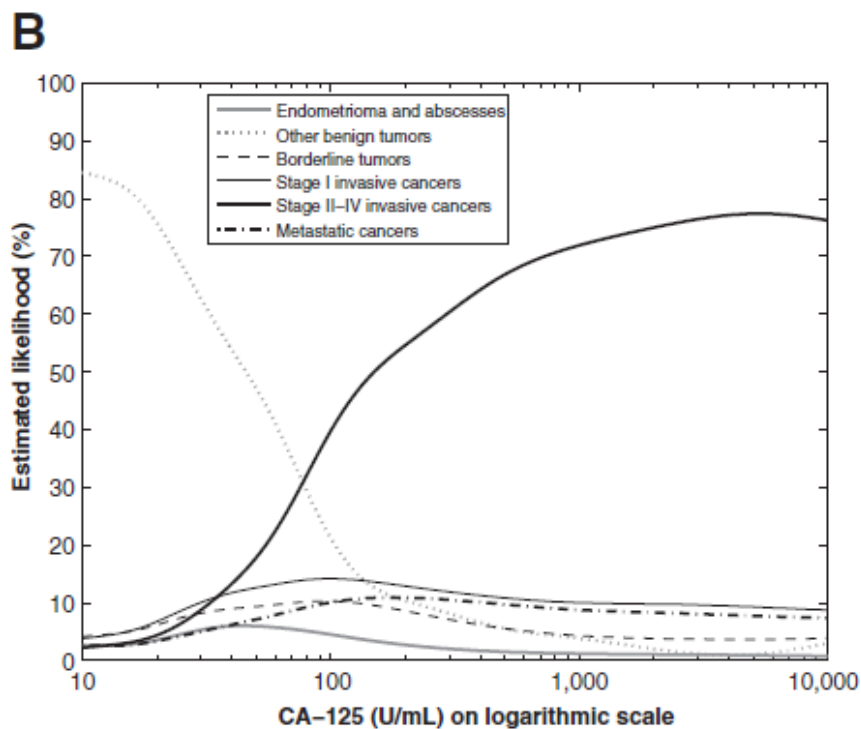
Dop. 3/ vyšetření markeru CA 125 je doporučeno jako doplňkové vyšetření při rozhodování o benigní či maligní povaze pánevního nálezu zejména u postmenopauzálních žen.

V roce 2011 byla publikována zajímavá práce skupiny IOTA (International Ovarian Tumor Analysis) stanovující pravděpodobnost přítomnosti určitého ovariálního nádorového postižení u premenopauzálních a postmenopauzálních žen na základě hodnot CA 125, nikoli tedy pouze na základě pozitivního či negativního výsledku testu[13].

Převzato z: Van Calster B, Valentin L, Van Holsbeke C, et al: A novel approach to predict the likelihood of specific ovarian tumor pathology based on serum CA-125: a multicenter observational study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 20:2420-8, 2011



A – premenopauzální ženy



B – postmenopauzální ženy

Kromě diagnostiky se využívá stanovení CA 125 zejména v rámci sledování odpovědi na léčbu, chirurgickou či onkologickou a ve follow-up onkologických pacientek s diagnózou karcinomu vaječníku. Hodnoty CA125, kterých je dosaženo po léčbě a jsou v referenčních mezích, jsou normální hodnoty pro tu kterou pacientku. Pokud dojde k vzestupu této hodnoty o 50 %, byť v rámci normy, signalizuje tento vzestup počínající recidivu. Vzestup sérového markeru CA125 předchází klinickým projevům nemoci a detekci zobrazovací metodou o 3-4 měsíce. Bohužel, včas zahájená léčba reagující na tento vzestup neprokázala prodloužení přežití.

Evropská společnost gynekologické onkologie – ESGO /European Society of Gynaecological Oncology/ přijala v roce 2011 usnesení k roli stanovení CA 125 u pacientek ve follow-up ovariálního karcinomu[14, 15]. Tento statement je uveden na konci této práce.

Marker CA125 je jedním z panelu markerů, který FDA (Food and Drug Administration) schválila jako doplňkové vyšetření ke gynekologickému vyšetření a fyzikálnímu vyšetření v triage pacientek pro jejich odeslání na vyšší pracoviště, tj. do onkogynekologického centra. Jedná se o panel OVA1 (Transthyretin nebo prealbumin, Apolipoprotein A-1, beta-2-mikroglobulin, transferin, CA 125). Vždy je nutná též kombinace se zobrazovacím vyšetřením.

U pacientek s endometriálním karcinomem se udává, že pouze 10 až 20% pacientek v časném stadiu a 25% asymptomatických pacientek s rekurentním onemocněním má zvýšenou hodnotu markeru CA 125[16]. Více o této problematice pojednává stať o endometriálním karcinomu.

HE4, human epididymis protein 4 = lidský epididymální protein 4

HE4 /lidský epididymální protein 4/ známý jako WFDC2 /Whey acidic four-disulfide core 2/ byl poprvé klonován jako jeden ze čtyř cDNA vysoce exprimovaných v lidské epididymis v roce 1991[17], protilátky proti proteinu HE4 poprvé byly připravené v roce 2003[18].

Je produktem jednoho ze 14 homologních genů na chromosomu 20q12-13.1 kódujících proteiny s whey-acidic-protein /WAP/ - type four disulphide core /WFDC/ doménou. HE4 cDNA kóduje protein částečně homologický s extracelulárními proteinovými inhibitory[17].

Fyziologická role HE4 se zatím určuje, přesto je však zřejmé, že geny v WFDC lokusu pravděpodobně hrají jistou roli v přirozené imunitě a podílejí se na antimikrobiální a protizánětlivé aktivitě[19, 20]. O možné roli HE4 v kancerogenezi je známo málo.

Genová exprese HE4 byla zjištěna v některých plicních, endometriálních, prsních a ovariálních adenokarcinomech. Méně často pak v karcinomech gastrointestinálního traktu a urologických nádorech.

Řada studií poukázala na upregulaci exprese HE4 genu v epiteliálních ovariálních karcinomech, a to sehrálo velkou roli ve stanovení HE4 jako biomarkeru ovariálního karcinomu. Exprese HE4 dle histologického typu ovariálního karcinomu se uvádí následovně[21]:

- serózní ovariální karcinom 93%
- endometrioidní ovariální karcinom 100%
- světlobuněčný ovariální karcinom 50%
- mucinózní ovariální karcinom 0% (HE4 vůbec neprodukuje)

Vzhledem k výše zmíněným skutečnostem u markeru CA 125 je zřejmá jeho nízká specificita a to zejména u premenopauzálních žen. V řadě studií se zkouší jiné markery, samotné či jejich kombinace, avšak v rámci diagnostiky ovariálního karcinomu se jako nejlepší jeví právě lidský epididymální protein 4 – HE4. Vykazuje nejvyšší senzitivitu jako single biomarker pro ovariální karcinom /73%/, pokud je však využit v kombinaci právě s CA 125 je senzitivita 76%. Ostatní zkoušené biomarkery jako CA 72-4, activin, inhibin, osteopontin, EGF, jen minimálně zvyšují senzitivitu CA 125[22].

Kolem 20% epiteliálních ovariálních karcinomů vykazuje malou, pokud nějakou, expresi CA125, a tudíž samotný marker CA125 může být nedostatečný. U více než 50% těchto malignit můžeme pozorovat zvýšené hladiny HE4, a proto kombinace markerů může tyto pacientky, resp. ovariální malignity u těchto pacientek zachytit[22].

Porovnáním falešné pozitivita markerů HE4 a CA 125 se zabývá jedna z částí této práce. Obecně lze říci, že specificita markeru HE4 je v porovnání s CA 125 vyšší. Jedním z mála stavů, který zvyšuje hladinu HE4 a není stavem nádorovým, je renální insuficience. V tomto případě dochází k elevaci HE4 prakticky ve 100% případů.

Dosavadní práce přinášejí slibné výsledky i v rámci follow-up, sledování odpovědi na léčbu a monitorování rekurence onemocnění[23].

ROMA, risk of ovarian malignancy algorithm, byl vyvinut k odhadu rizika epiteliálního ovariálního karcinomu. Tento algoritmus počítá s hodnotami CA125 a HE4 a bere v úvahu menopauzální statut pacientky. Ultrazvukový nález v hodnocení není zohledněn. Výsledkem je číselně vyjádřená pravděpodobnost nálezu ovariálního karcinomu při chirurgickém výkonu. ROMA index pacientky stratifikuje do 2 skupin: low risk x high risk, tedy takové, u kterých je pravděpodobnost nálezu malignity v průběhu operačního výkonu nízká či vysoká. Slouží tak k triage pacientek. Při 75% specificitě jsou hodnoty ROMA pro premenopauzální ženy - 7,4%, pro postmenopauzální ženy - 25,3%. PPH 58%, NPH 97% [24].

ROMA index

$$ROMA (\%) = \frac{e^{PI}}{1 + e^{PI}} \times 100$$

PI (po menop)

$$= -8,09 + 1,04 \times \ln HE4 + 0,732 \times \ln CA125$$

PI (před menop)

$$= -12,0 + 2,38 \times \ln HE4 + 0,0626 \times \ln CA125$$

CA 19-9

Tento marker je monoklonální protilátkou definovaný mucin-sialo-glykolipid s molekulovou hmotností 36 kDa. Epitop představuje sialylovaný pentasacharid lakto-N-fukopentaózy II, t.j. haptén determinanty lidské krevní skupiny typu Lewis (a). Výskyt CA 19-9 úzce souvisí s Lewis(a) determinantou krevní skupiny. U vzácně se vyskytující Lewis(a-/b-) skupiny není

tento nádorový marker produkován. U plodu se vyskytuje v epitelových buňkách, především trávicího ústrojí, pankreatu a jater. U dospělých je produkován jen ve velice omezené míře epiteliálními buňkami bronchů a trávicího ústrojí. V minimálních koncentracích se vyskytuje v krvi, pleurálním výpotku, ascitu a mozkomíšním moku. CA19-9 se eliminuje výhradně žlučí. Fyziologická funkce není známa. Využívá se pro diagnostiku a k monitorování léčby Ca pankreatu, Ca žlučníku a žlučových cest, Ca jater, kolorektálního Ca (v kombinaci s CEA). Zvýšené hladiny se mohou vyskytnout u dalších maligních onemocnění, a to u Ca žaludku, Ca prsu, Ca ovaríí (především mucinózního typu), Ca dělohy a při metastázách výše uvedených karcinomů do jater. V málo diferencovaných karcinomech se jeho produkce snižuje a v anaplastických úplně chybí. Zvýšené hodnoty lze nalézt i při benigní etiologii onemocnění - cirhóza jater, primární biliární cirhóza, akutní hepatitida, toxická hepatitida, chronická hepatitida, cholecystitida, cholangitida, choledocholitíza, benigní onemocnění žaludku a střeva (především zánětlivá), akutní a chronická pankreatitida [3].

CEA

CEA (Karcinoembryonální antigen) je glykoprotein s molekulovou hmotností 180 kDA, který je z 55% tvořen sacharidy a ze 45% bílkovinami. Vysoká heterogenita molekuly je dána heterogenitou sacharidové složky, proteinová složka je konstantní. CEA je onkofetální bílkovina, kterou lze prokázat v epitelových buňkách hlavně trávicího ústrojí a bronchů. V minimálních koncentracích se vyskytuje v krvi, pleurálního výpotku, ascitu, likvoru. Nejvyšší koncentrace jsou ve slinných žlázách a jejich vývodech. CEA je metabolizován v játrech. U plodu není jasná a u dospělých se předpokládá funkce adhezivní molekuly především v játrech základní význam má stanovení CEA u nádorů tlustého střeva, nádorů prsu a nádorů plic. Zvýšené hladiny lze nalézt u dalších maligních nádorových onemocnění: Ca žaludku, Ca vaječnicků, Ca dělohy a Ca prostaty. Zvýšené hodnoty nacházíme i při benigní etiologii onemocnění: u kuřáků, po provedeném vyšetření per rektum, při chronickém renálním selhání, u chronického onemocnění jater, chronické hepatitidy, chronické pankreatitidy, ulcerózní kolitidy, m. Crohn, bronchopneumonie, chronické bronchitidy, TBC, mukoviscidózy, autoimunitních chorob, v tekutině cyst prsu a vaječnicků, v kloubní tekutině u chronické revmatoidní artritidy atd [3].

Thymidinkináza (TK)

TK je enzym katalyzující přímou fosforylaci thymidinu na thymidinmonofosfát(TMP). TMP je převeden v několika krocích na trifosfát, který je zabudován do DNA. TK hraje podstatnou roli při zpracování thymidinu v buňce. Jako substrát používá TK buď exogenní thymidin z potravy nebo endogenní uvolněný z odbourávacích reakcí. *De novo* probíhá syntéza TMP za katalýzy TK z deoxyuridinmonofosfátu za přítomnosti kyseliny listové a vit. B12. U zdravého dospělého se nachází v séru jen nízké koncentrace TK, vyšší hodnoty mohou být u nádorových onemocnění a některých infekcí. U virových infekcí jsou hladiny TK mnohdy až extrémně vysoké. Zvýšené hladiny u pacientů s maligními nádorovými onemocněními jsou především u hematologických maligních onemocnění (lymfomy a především hemoblastózy) v dětském věku. Zde má vyšetření TK kromě významu pro monitorování onemocnění i diagnostický význam. TK může být prakticky zvýšena u všech nádorových onemocnění. Je zvýšena všude tam, kde dochází k rychlému buněčnému dělení, a proto vysokou hladinu nacházíme především u aplastických forem karcinomu a při generalizaci. Je označována za proliferační prognostický nádorový marker. A je především doplňkovým markerem. Z vysoké hladiny lze usuzovat na rychle probíhající progresi nádoru a má tedy charakter markeru prognostického svědčící pro nepříznivou prognózu.

MonoTotal (MT)

Je cytokeratinovým nádorovým markerem tvořeným cytokeratinovými fragmenty. Fyziologicky lze MonoTotal prokázat i v intenzivně se dělících epiteliích různých orgánů vyvíjejícího se plodu. U zdravých dospělých jsou nalézány v malých koncentracích v tkáni močového měchýře, mléčné žlázy, plic a trávicího ústrojí. Fyziologická funkce je nejasná. Indikace k vyšetření: monitorování nádorů prsu, nádorů kolorekta, nádorů plic, nádorů moč. měchýře (vyšetření v moči) a nádory orofaciální oblasti. Zvýšené hladiny se nacházejí u pacientů s dalšími maligními nádorovými onemocněními - Ca jater, Ca pankreatu, nádory varlat, Ca prostaty, Ca štítné žlázy, Ca ledvin a Ca ovarií. Zvýšené hodnoty jsou i při benigní etiologii onemocnění: hepatitida, jaterní cirhóza, diabetes mellitus, infekce respiračního traktu, benigní onemocnění prsu, benigní onemocnění trávicího ústrojí a pooperační stavy.

TPS

TPS (Tkáňový specifický polypeptidický antigen) patří k solubilním fragmentům cytokeratinů typu středních filament. Obsahuje fragment 8 a 18. Fragmentsy cytokeratinů se pravděpodobně uvolňují do tělních tekutin během proliferace nádorových buněk či během nekrózy buněk. Často bývá zařazen mezi proliferační nádorové markery. Ve většině chorobných stavů, a to jak maligních tak benigních, se chová zcela odlišně od výše diskutovaného cytokeratinového markeru MonoTotal. U zdravých dospělých je nalézán v malých koncentracích ve tkáni trávicího ústrojí a plic. TPS přechází do séra jako fragmenty cytoskeletálních proteinů. Fyziologická funkce je nejasná. Indikace k vyšetření nejčastěji uváděné v literatuře jsou monitorování Ca ledvin a monitorace Ca ovarií. Z našich zkušeností se využívá při generalizaci nádorového onemocnění do jater. Umožňuje predikovat disease free interval a přežití po radikální chirurgické terapii nebo po onkologické terapii. Zvýšené hodnoty při benigní etiologii onemocnění nacházíme při hepatitidě, jaterní cirhóze, diabetu, bakteriálních infekcích respiračního traktu, benigních onemocněních prsu, při benigních onemocnění trávicího ústrojí (GIT), v prvních dnech po operaci, při revmatických onemocněních a u imuno alteračních onemocněních[3].

4.9 Cíle výzkumné práce v rámci problematiky karcinomu ovaria

- porovnání senzitivity sledovaných markerů
- porovnání falešné pozitivivity markerů CA 125 a HE4
- CA 125, HE4 a ROMA v diagnostice ovariálního karcinomu
- CA 125 a HE4 ve follow-up ovariálního karcinomu

4.9.1 Porovnání senzitivity sledovaných markerů

4.9.1.1 Cíle

První částí práce bylo, porovnat senzitivity výše zmíněných markerů a tím zjistit jejich využití v triage pacientek na skupinu s pravděpodobně benigním pánevním nálezem vs. skupinu s pravděpodobně maligním onemocněním. Dalším cílem bylo zjistit využití každého jednoho markeru v diagnostice ovariálního karcinomu. Do porovnání byly zařazeny markery: CA 125, HE4, CA 19-9, CEA, TK, TPS, MonoTotal.

4.9.1.2 Soubor a metodika

Vzorky séra od 266 pacientek byly analyzovány v imunoanalytické laboratoři FN Plzeň. Pacientky byly rozděleny do 2 skupin. Počty pacientek a věkovou strukturu ukazuje tabulka 4.9.1 - 1. První skupina byla tvořena 19 ženami s ovariálním karcinomem, vždy histologicky verifikovaným – zahrnuta byla všechna stadia FIGO I-IV, druhá skupina zahrnovala 247 žen s benigními onemocněními (ovariální cysty, myomy).

Tabulka 4.9.1 – 1 – Počty pacientek a věkové rozložení souboru

Diagnoza	N	Věk			
		Mean	Median	Min.	Max.
Karcinom ovaria	19	65.63	62	43	84
Benigní nálezy	247	61.24	54	33	79

Vzorky séra byly zajištěny před operačním výkonem či jinou léčebnou modalitou. Odběry byly realizovány systémem VACUETTE (Greiner Bio-one Company, Kremsmünster, Austria). Krev byla centrifugována 10 minut při 1700 otáčkách a získané vzorky byly ihned zmrazeny na -80st.C. Rozmrazení proběhlo vždy pouze jednou, před analýzou.

Stanovení CA 125, CEA a CA 19-9 bylo realizováno pomocí přístroje DxI (Beckman Coulter, Brea, California, USA). Hodnoty HE4 byly měřeny pomocí EIA (Fujirebio Diagnostics, Göteborg, Švédsko).TK byla stanovena RIA metodikou (Immunotech, Praha, Česká republika).TPS a MonoTotal byly stanoveny pomocí IRMA (IDL Biotech, Bromma, Švédsko).

SAS 9.2(Statistický analytický Software verze9.2, SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) byl použit pro všechny statistické analýzy. Přehled statistických výsledků pro věk a sérové hladiny každého z analytů je předložen níže. Citlivost byla vyhodnocena jako poměr mezi počtem pacientek s malignitou, jejichž hladiny markerů byly zvýšeny ku celkovému počtu pacientek s malignitou. Specificita byla vypočtena jako poměr mezi počtem pacientek bez malignity s normálními hodnotami nádorových markerů ku celkovému počtu pacientek bez malignity. Pozitivní prediktivní hodnota (PPV) byla vypočtena jako poměr mezi pacientkami se zvýšenými nádorovými markery a malignitou ku součtu všech případů se zvýšenými nádorovými markery. Negativní prediktivní hodnota (NPV) byla vypočtena jako poměr mezi pacientami s negativním výsledkem markerů a bez malignity ku celkovému počtu nemocných s negativním výsledkem. Plocha pod křivkou (AUC) byla vypočtena pro všechny analyty. Wilcoxonův test byl použit k porovnání distribuce hodnot mezi benigními a maligními nádory. Hladina statistické významnosti byla stanovena na $p < 0,05$.

4.9.1.3 Výsledky

Při porovnání výsledků markerů skupin pacientek s benigním a maligním nálezem bylo statistické významnosti dosaženo u markerů CA 125, HE4, Monototal a TPS (pro každý marker $p < 0,0001$). Porovnání markerů CA19-9, TK a CEA nedosáhlo statistické významnosti. Všechny výsledky jsou uvedeny v tabulce 4.9.1 - 2.

Tabulka 4.9.1 – 2 – Výsledky porovnání senzitivit jednotlivých markerů pro odlišení benigní či maligní pánevní/ovariální léze

Parametr (jednotky)	Diagnoza	N	Mean	Median	Rozmezí	p-Value Wilcoxon test
CA 125 (kIU/l)	Maligní	19	1669	1725	54.00 - 4621	<0.0001
	Benigní	247	27.50	14.00	23.00 – 1244	
HE4 (pmol/l)	Maligní	19	595.06	421.9	50.87 - 3266	<0.0001
	Benigní	247	80.24	52.70	23.00 – 1570	
MonoTotal (IU/l)	Maligní	19	626.9	501.7	710.9 - 2844	<0.0001
	Benigní	247	79.50	49.90	5.00 – 2255	
TPS (IU/l)	Maligní	19	309.1	144.0	25.00 - 1453	<0.0001
	Benigní	247	83.27	46.00	10.00 – 1226	
TK (IU/l)	Maligní	19	11.11	9.50	3.50 – 24.10	0.3022
	Benigní	247	9.56	5.90	2.50 – 29.80	
CA 19-9 (kIU/l)	Maligní	19	23.00	11.00	1.00 – 124.0	0.3060
	Benigní	247	16.27	8.00	1.00 - 428.0	
CEA (µg/l)	Maligní	19	25.00	5.30	2.50 – 225.0	0.1471
	Benigní	247	1.83	1.20	0.50 – 20.60	

Následující tabulka 4.9.1 – 3 ukazuje analytické parametry všech sledovaných markerů ve studii. Bylo stanoveno cut-off, senzitivita, pozitivní prediktivní hodnota (PPV) a negativní prediktivní hodnota (NPV) při 95% specificitě. Kalkulována byla plocha pod křivkou (AUC). Největší AUC dosáhl marker CA 125 (AUC=0,987), další byl marker HE4 (AUC=0,907) a nejnižší CEA (AUC=0,483).

Tabulka 4.9.1 – 3 - Analytické parametry všech sledovaných markerů

Parametr (jednotky)	CA 125 (kIU/l)	HE4 (pmol/l)	MonoTotal (IU/l)	TPS (IU/l)	TK (IU/l)	CA 19-9 (kIU/l)	CEA (µg/l)
AUC	0.987	0.907	0.836	0.755	0.676	0.573	0.483
Cut-off	70.00	124.1	231.1	248.7	17.00	43.00	4.60
Senzitivita	89.50	73.33	63.28	36.81	22.28	16.71	11.10
PPV	50.00	50.18	63.16	29.21	18.28	15.84	11.17
NPV	99.00	97.51	97.90	96.52	96.00	95.40	95.00

4.9.1.4 Diskuze

Při hodnocení výsledků jsme se v naší práci zaměřili na možnost využití jednotlivých markerů v diagnostice ovariálního karcinomu. Náš diagnostický panel zahrnoval tradiční markery CA 125, CA 19-9, CEA, které se ve vztahu k diagnostice ovariálního karcinomu využívají již dlouhou dobu, dále jsme do vyšetření zahrnuli i relativně nový marker HE4, a celý biomarkerový panel jsme doplnili markery proliferace ze skupiny cytokeratinů – TPS, MonoTotal, a nespecifickým markerem TK.

Někteří autoři si slibují dobré výsledky ve včasné detekci ovariálního karcinomu od sériového vyšetření kombinace markeru CA 125 a sonografie[25-27]. Problémem tohoto přístupu jsou skutečnosti, že některé malignity neexprimují CA 125, udává se až 20%, dalším nedostatkem CA 125 je jeho malá specifita, což limituje zejména včasnou diagnostiku časných stádií tohoto maligního onemocnění. Proto se ukazuje jako důležité, kombinovat CA 125 s dalšími markery.

Kombinace CA 125 s HE4 zlepšuje výsledky CA 125 samotného. Kolem 20% epiteliálních ovariálních karcinomů vykazuje malou, pokud nějakou, expresi CA125, a tudíž samotný marker CA125 může být nedostatečný. U více než 50% těchto malignit můžeme pozorovat

zvýšené hladiny HE4, a proto kombinace markerů může tyto pacientky, resp. ovariální malignity u těchto pacientek zachytit[22].

Na druhou stranu i užití markeru HE4 samotného je také problematické. Např. mucinozní ovariální karcinomy HE4 neexprimují vůbec. Dalším problémem je elevace HE4 u pacientek s renální insuficiencí. Většina studií však ukazuje, že HE4 má ve srovnání s CA 125 vyšší senzitivitu i specificitu[23, 24, 28, 29]. Naše práce však tato data nepotvrzuje a řadí se tak do druhé skupiny studií, které prokazují vyšší senzitivitu CA 125 ve srovnání s HE4[30, 31].

Cytokeratiny jsme do naší práce zařadili proto, že signifikantně zvýšené hladiny TPS byly nalezeny u pacientek s ovariálním karcinomem ve srovnání s pacientkami s benigní diagnózou[32]. Markery CA19-9, TK a CEA v našem souboru nevykázaly statistickou významnost. TK je zvýšena zejména u pacientků s hematologickými malignitami, CA19-9 a CEA potom u pacientků s onemocněním gastrointestinálního traktu.

4.9.1.5 Závěr

Stanovení CA 125 a HE4 zlepšuje primární detekci ovariálního karcinomu a zužuje diferenciálně diagnostický interval. MonoTotal a TPS jsou jasnými markery proliferace a mohou být použity v monitoraci aktivity a agresivity tumoru, CA19-9, TK a CEA nevykázaly statistickou významnost.

Dedikace

Podpořeno MZ ČR - RVO (Fakultní nemocnice Plzeň - FNPI, 00669806)

4.9.2 Porovnání falešné positivity markerů CA 125 a HE4

Cílem této části práce bylo porovnat výskyt nesprávné (falešné) positivity u tradičního nádorového markeru CA 125 a u nádorového markeru HE4. Srovnání nesprávných pozitivit jednoznačně vyplývá z následující tabulky 4.9.2 - 1.

Do porovnání jsme zařadili celkem 390 pacientek s benigními diagnózami.

Tabulka 4.9.2 – 1 – Srovnání falešné positivity markerů HE4 a CA125

Dg.	N	HE4	CA 125	p=
Endometrioza	60	6 (10%)	57 (95%)	0,001
Těhotenství	70	0 (0%)	30 (43%)	0,001
Ascites	67	6 (9%)	61 (91%)	0,0001
Pohrudniční výpotek	60	2 (4%)	58 (98%)	0,0001
Kardiální selhání NYHA IV	25	8 (32%)	21 (84%)	0,01
Renální insuficience	80	80 (100%)	70 (88%)	NS
Jaterní selhání	28	3 (13%)	25 (89%)	0,01

Nesprávná pozitivita má vyšší frekvenci u HE4 pouze v případě poruchy funkce ledvin, kde jsme prokázali u nemocných s renální insuficiencí prakticky ve 100% hodnoty vyšší než nejvyšší bod kalibrační křivky. Na našem pracovišti proto prosazujeme, aby v případě poruchy renálních funkcí nebyl indikován marker HE4. Horní hranicí pro toto rozhodnutí je hodnota kreatininu vyšší než 150 $\mu\text{mol/l}$. Důvodem je jednak zábrana nesprávné interpretaci výsledku a tím zabránit možným negativním důsledkům pro pacientku a současně dochází i k ekonomické úspoře. Za mimořádně důležité považujeme zjištění, že HE4 se prakticky nezvyšuje při endometrioze, při přítomnosti ascitu, pohrudničním výpotku, kardiální dekompenzaci, kdy je ve velikém procentu nesprávně pozitivní CA 125. U všech těchto stavů, jak je zřejmé z tabulky, je signifikantně vyšší falešná pozitivita sérových hodnot CA 125 a tím se samozřejmě snižuje specificita vyšetření a spolehlivost výsledků. Rovněž tam, kde lze předpokládat, že může být CA 125 ve více než 50 % nesprávně pozitivní se doporučuje tento marker nevyšetřovat. CA 125 se tedy doporučuje nevyšetřovat při dráždění serózních blan jakékoliv etiologie, renálním a jaterním selhání, klinicky manifestním závažným srdečním

selhání. Z této části práce vyplynulo, že HE4 je vhodným markerem pro detekci ovariálního karcinomu, protože má minimální výskyt nesprávně pozitivních výsledků.

4.9.3 CA 125, HE4 a ROMA v diagnostice ovariálního karcinomu

4.9.3.1 Cíle

Jak bylo uvedeno výše, dosud nebyl objeven nádorový marker, který by se přibližoval „ideálnímu markeru“[3]. Až do nedávné doby byl nádorový marker CA125 jediným využívaným nádorovým markerem u pacientek s abnormálním nálezem v pánvi. Je senzitivní avšak málo specifický[9]. Po roce 2000 se objevili práce s využitím markeru HE4 (Human epididymis protein 4)[18]. Do klinické praxe byl uveden v roce 2009. V posledních několika letech vedla snaha o zvýšení efektivity diagnostického procesu k zavedení ROMA indexu (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm)[33]. K výpočtu indexu se využívá naměřených hodnot HE4 a CA125 a bere se též v úvahu menopauzální status pacientky. Zjištění řady autorů ohledně senzitivity a specifity HE4 a ROMA indexu jsou velmi povzbudivá, rozhodli jsme se proto ověřit jejich použití v populaci českých žen.

Cílem naší práce bylo vyhodnotit biomarker HE4 a metodiku výpočtu ROMA indexu, které by mohly zvýšit senzitivitu a specifitu dosud používaného nádorového markeru CA125, a dále porovnat jejich senzitivitu a specifitu zejména pro diagnostiku rakoviny vaječnicků a pro některé benigní diagnózy.

4.9.3.2 Soubor a metodika

V období od 24.6.2010 až do 1.12.2011 bylo na Gynekologicko-porodnické klinice UK a FN Plzeň vyšetřeno 552 pacientek s abnormálním nálezem v pánvi. Soubor tvořily dvě skupiny pacientek. 30 žen bylo s histologicky potvrzeným maligním nádorem ovarií. Dalších 522 žen mělo benigní nález. Podle hladiny FSH (folikulostimulačního hormonu) byly ženy v obou skupinách rozděleny na premenopauzální, s hladinou FSH <40IU/L, a postmenopauzální, s hladinou FSH ≥ 40 IU/L – viz tabulka 4.9.3 – 1. [34]. Protože je nám známo, že v určování menopauzálního statutu žen se používá více metodik a obávali jsme se velkých diskrepancí v získaných výsledcích AUC, senzitivit a specifit při použití různých metodik, zařadili jsme

do naší studie ještě druhou metodiku[33], kdy je pro premenopauzální ženy cut-off FSH <22 IU/L a postmenopauzální cut-off FSH ≥ 22 IU/L – viz tabulka 4.9.3 – 2. [33].

U všech žen byla odebrána krev z kubitální žíly vždy ráno mezi 7 -10 hodinou do odběrových zkumavek VACUETTE ®, (Greiner Bio-One, Rakousko) na stanovení CA 125, HE4 a FSH. Sérum bylo odděleno centrifugací při $1700 \times g$ po dobu 10 minut a vzorky byly buď okamžitě zpracovány nebo pokud je nebylo možno zpracovat do 24 hodin byly uchovávány až do doby stanovení při -80°C . CA125 a HE4 byly stanovovány chemiluminiscenční metodou na přístroji Architect 1000i (Abbott, USA), FSH chemiluminiscenční metodou na přístroji DxI 800 (Beckman Coulter, USA). Kromě toho byl v souladu s pracemi Moora a spol. [33] u všech premenopauzálních žen vypočítán ROMA1 index a u všech postmenopauzálních žen ROMA2 index. Pro deskriptivní statistiku a pro výpočet dalších potřebných parametrů byl použit statistický software SAS 9.2 (Statistical Analysis Software release 9.2).

4.9.3.3 Výsledky

V tabulkách 4.9.3 - 3-6 je uveden přehled základních parametrů porovnávaných skupin pacientek. U sledovaných markerů CA125, HE4 a dále ROMA indexů je vždy uvedena AUC, senzitivita, specifita, pozitivní (PV+) a negativní (PV-) prediktivní hodnota a relativní riziko (RR) pro hodnotu cut-off používaného v současné době v naší rutinní praxi. Tyto cut-off bez rozdílu věku a menopauzálního stavu jsou následující: pro CA125 35 IU/ml, HE4 89 pmol/l, index ROMA1 < 7.4 % a ROMA2 $< 25,3$ %. Na druhém řádku jsou vždy uvedeny hodnoty, které odpovídají specifitě 95% pro hodnocený marker. Dle metodiky výpočtu ROMA indexu [33] je pro ženy po menopauze – viz tabulka 4.9.3 – 3 a 5 - uvedena hodnota indexu ROMA2, pro ženy před menopauzou pak následující tabulky 4.9.3 – 4 a 6 - uvádí hodnotu indexu ROMA1. Výsledky jsou uvedeny u dvou způsobů určování menopauzálního statusu žen. V prvním případě je použit cut-off FSH 40 IU/l [34] a v druhém případě cut-off FSH 22 IU/l [33]. Při takto razantní změně cut-off FSH došlo ke změně počtu žen v jednotlivých skupinách – viz tabulky 4.9.3 – 1 a 2. Předpokládali jsme výrazné změny specifit, senzitivit a AUC. Naše předpoklady se však nenaplnily.

4.9.3.4 Diskuze

Současná praxe na našem pracovišti je taková, že již při první návštěvě je pacientce s abnormálním nálezem v pánevi odebrána krev na vyšetření markerů: CA125 a HE4, je stanovena hodnota FSH a vypočten ROMA index. Současně je provedeno komplexní gynekologické vyšetření a expertní ultrazvukové vyšetření, a tím jsou během jednoho sezení získány komplexní informace o povaze abnormálního pánevního nálezu.

S ohledem na věkovou distribuci epitelálního ovariálního karcinomu jsme se soustředili zejména na skupinu postmenopauzálních pacientek. Data z našeho souboru ukazují, že největší výtěžnost námi užívaného one-step postupu pro postmenopauzální pacientky je dosaženo, pokud kombinujeme oba markery CA125 a HE4. Tehdy při stanovení menopauzálního statutu dle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 25,3% pro ROMA2, resp. námi nejbližší kalkulované hodnotě 26,4%, dosahuje ROMA2 senzitivity 92,3%, specificity 88,5 % a PV- 99,3%. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 25,3%, resp. námi nejbližší kalkulované hodnotě 26,3 %, dosahuje ROMA2 senzitivity 95,2 %, specificity 87,8 % a PV- 99,5 %.

Moore et al. v roce 2009 publikovali v *Gynecologic Oncology* výsledky multicentrické prospektivní studie na 531 pacientkách. Tehdy při cut-off 27,7% pro ROMA2 byla senzitivita 92,3%, specificita 74,7% a PV- 92,6%. Pro ROMA1, zmíněný níže, při cut-off 13,1% byla senzitivita 76,5%, specificita 74,8% a negativní prediktivní hodnota 95%[24]. Stejný autor v roce 2011 v *Obstetrics&Gynecology* uvedl výsledky dalšího souboru 472 pacientek. V této kohortě dosahoval ROMA2 senzitivity 90,2% při specificitě 76% a PV- 95,8%. ROMA1 dosáhl senzitivity 81,3% při specificitě 74,2% a PV- 98,3%. [33] Naše zjištění jsou v souladu s nálezy těchto studií.

Pro samotný marker CA125, při stanovení menopauzálního statutu dle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 35 IU/ml pro CA125, resp. námi nejbližší stanovené hodnotě 36 IU/ml, dosahuje CA125 senzitivity 92,3%, specificity 85,3 % a PV- 99,3%. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 35 IU/ml, resp. námi nejbližší stanovené hodnotě 36 IU/ml, dosahuje CA125 senzitivity 95,2%, specificity 84,6% a PV- 99,5%.

Marker HE4, při stanovení menopauzálního statusu dle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 89 pmol/l pro HE4, dosahuje senzitivity 76,9%, specificity 86,2% a PV- 98,0%, pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 89 pmol/l dosahuje HE4 senzitivity 71,4%, specificity 87,5% a PV- 97,1%.

Z výše uvedeného vyplývá, že kombinace obou markerů zlepšuje výsledky, kterých dosahuje marker CA125 samotný. Navíc kolem 20% epiteliálních ovariálních karcinomů vykazuje malou, pokud nějakou, expresi CA125, a tudíž samotný marker CA125 může být nedostatečný. U více než 50% těchto malignit můžeme pozorovat zvýšené hladiny HE4, a proto kombinace markerů může tyto pacientky, resp. ovariální malignity u těchto pacientek zachytit[22].

Další faktor podporující kombinaci obou markerů, CA125 a HE4, je ten, že zvýšené hodnoty CA125 je možné naměřit u fyziologických stavů jako je menstruace, gravidita, dále u benigních nádorů ovarií, zánětů, u endometriózy a při přítomnosti myomů. Tato falešná pozitivita může ve skupině premenopauzálních pacientek činit v běžné klinické praxi potíže. Proto kombinace markerů CA125 s HE4 zvyšující specificitu a senzitivitu vyšetření, je pro triage pacientek významným posunem vpřed.

Situace u premenopauzálních pacientek je v některých aspektech odlišná, proto při stanovení menopauzálního statusu dle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 7,4% pro ROMA1, resp. námi nejbližší kalkulované hodnotě 7,5%, dosahuje ROMA1 senzitivity 70,5%, specificity 83,2% a PV- 98,2%. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 7,4%, resp. námi nejbližší kalkulované hodnotě 7,3%, dosahuje ROMA1 senzitivity 55,5%, specificity 84,8% a PV- 98,3%. Cut-off CA125 je na našem pracovišti identické pro obě skupiny pacientek, pre- i postmenopauzální, 35 IU/l. Ve shodě se zahraničními pracovišti se však jeví jako přínosný posun horní hranice normy u premenopauzální skupiny na hodnoty cca dvojnásobné, tj. 70-80 IU/l. Na rozdíl od pacientek postmenopauzálních, u premenopauzálních jsme dosáhli ve sledovaném souboru nejvyšší senzitivity 94,1%, specificity 89,2% při cut-off 68 IU/ml. Laboratorní známkou menopauzy byla opět hodnota FSH 40 IU/l. Při cut-off FSH 22 IU/l byla senzitivita 88,8%, specificita 91,2% při cut-off 85 IU/ml. HE4 u skupiny premenopauzálních pacientek, při stanovení menopauzálního statusu dle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 89 pmol/l pro HE4, resp. námi nejbližší stanovené hodnotě 88 pmol/l, dosahuje senzitivity 52,9%,

specificity 96,8% a PV- 97,6%. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 89 pmol/l, resp. námi nejbližší stanovené hodnotě 86 pmol/l, dosahuje HE4 senzitivity 44,4%, specificity 97,9% a PV- 98,2%.

Pokud budeme sledovat výsledky ROC analýzy se zaměřením na cut-off jednotlivých markerů a jejich kombinací odpovídající 95% specifivitě, bude situace u skupiny pre- a postmenopauzálních pacientek následující.

Největší výtěžnost ve skupině postmenopauzálních pacientek opět dosahuje kombinace markerů CA125 a HE4. Při cut-off FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje ROMA2 senzitivity blížící se 85% při cut-off 37,7%. Při cut-off FSH 22 IU/l je situace identická. Marker CA125 užívaný se skupině postmenopauzálních pacientek při cut-off FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 85% při cut-off 63 IU/l. Při cut-off FSH 22 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 81% při cut-off 81 IU/l. Samotný marker HE4 v této sledované kohortě při cut-off FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 77 % při cut-off 115 pmol/l. Při cut-off FSH 22 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 72% při cut-off 112 pmol/l. ROMA1, při cut-off pro laboratorní diagnózu menopauzy FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 59% při cut-off 19,9%. Při cut-off FSH 22 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 56% při cut-off 17,6%.

CA125 užívaný samostatně ve skupině premenopauzálních pacientek při cut-off FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 59% při cut-off 130 IU/l. Při cut-off FSH 22 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 45% při cut-off 143 IU/l. Samotný marker HE4 u premenopauzálních pacientek při cut-off FSH 40 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 53% při cut-off 80 pmol/l. Při cut-off FSH 22 IU/l a při hranici specificity 95%, dosahuje senzitivity blížící se 56% při cut-off 74 pmol/l.

Chang et al. publikovali v červenci 2011 v International Journal of Gynecological Cancer výsledky studie na 491 čínských ženách, kde sledovali senzitivitu a specifitu samotných markerů HE4 oproti CA125 a tytéž parametry u kombinace HE4 s CA125. Senzitivita pro ovariální karcinom, při porovnávací skupině pacientek s benigním ovariálním nálezem, byla při 95% specifitě u HE4 74%, CA125 82% a kombinace markerů dosáhla 86%. Při 98% specifitě dosáhla HE4 senzitivity 72%, CA125 68% a kombinace markerů 76%[30]. Námi získané hodnoty jsou v souladu s nálezy této studie.

AUC, senzitivita a negativní prediktivní hodnota pro sledované markery či jejich kombinace vztažené k věku a FSH, byla vždy největší pro ROMA2, následně CA125, ROMA1 a HE4. Tyto naše údaje jsou ve shodě s prací Partheen et al. ze Švédska, jejichž studie hodnotila soubor 394 pacientek[31].

4.9.3.5 Závěr

Ovariální karcinom je svojí incidencí a vysokou mortalitou celosvětovým problémem. Jedním z důvodů je chybějící symptomatologie časných stádií a dalším z důvodů je zatím neexistující screening. Donedávna byl jediným rutinně užívaným markerem pro ovariální abnormality marker CA125. V naší práci jsme na populaci českých žen dokázali, že marker HE4 dosahuje senzitivity i specifity použitelné v každodenní praxi. Kombinace markerů HE4 a CA125 a současný výpočet ROMA indexu je vhodnou metodikou pro zlepšení záchytu ovariálního karcinomu.

Tato studie byla podpořena z grantu MZ ČR IGA NS 10258-3.

Tabulka 4.9.3 – 1 - Počet žen ve skupinách po rozdělení podle FSH cut-off 40 IU/l a diagnóz

Diagnóza	FSH \geq 40 IU/l	FSH <40 IU/l	Celkem
Benigní	177	345	522
Maligní	13	17	30
Celkem	190	362	552

Tabulka 4.9.3 – 2 - Počet žen ve skupinách po rozdělení podle FSH cut-off 22 IU/l a diagnóz

Diagnóza	FSH \geq 22 IU/l	FSH <22 IU/l	Celkem
Benigní	235	287	522
Maligní	21	9	30
Celkem	256	296	552

Tabulka 4.9.3 – 3 - Ženy po menopauze (cut-off FSH \geq 40 IU/l), maligní vs. benigní

Metoda	AUC maligní vs. benigní	cut-off	Specificita	Senzitivita	PV+	PV-	RR
CA 125	0.97153	36.00	85.3107	92.3077	31.5789	99.3421	48.0000
		63.00	94.9153	84.6154	55.0000	98.8235	46.7500
HE4	0.93451	89.00	86.2857	76.9231	29.4118	98.0519	15.0980
		115.00	94.8571	76.9231	52.6316	98.2249	29.6491
ROMA 2	0.97767	26.40	88.5057	92.3077	37.5000	99.3548	58.1250
		37.70	94.8276	84.6154	55.0000	98.8024	45.9250

Tabulka 4.9.3 – 4 - Ženy před menopauzou (cut-off FSH <40 IU/l), maligní vs. benigní

Metoda	AUC maligní vs. benigní	cut-off	Specificita	Senzitivita	PV+	PV-	RR
CA 125	0.95337	68.00	89.2754	94.1176	30.1887	99.6764	93.2830
		130.00	95.0725	58.8235	37.0370	97.9104	17.7249
HE4	0.87016	88.00	96.8116	52.9412	45.0000	97.6608	19.2375
		80.00	95.0725	52.9412	34.6154	97.6190	14.5385
ROMA 1	0.88166	7.50	83.2353	70.5882	17.3913	98.2639	10.0174
		19.90	95.0000	58.8235	37.0370	97.8788	17.4603

Tabulka 4.9.3 – 5 - Ženy po menopauze (FSH \geq 22 IU/l), maligní vs. benigní

Metoda	AUC maligní vs. benigní	cut-off	Specificita	Senzitivita	PV+	PV-	RR
CA 125	0.97315	36.00	84.6809	95.2381	35.7143	99.5000	71.4286
		81.00	94.8936	80.9524	58.6207	98.2379	33.2672
HE4	0.91518	89.00	87.5536	71.4286	34.0909	97.1429	11.9318
		112.00	94.8498	71.4286	55.5556	97.3568	21.0185
ROMA 2	0.98031	26.30	87.8788	95.2381	41.6667	99.5098	85.0000
		37.70	95.2381	85.7143	62.0690	98.6547	46.1379

Tabulka 4.9.3 – 6 - Ženy před menopauzou (FSH <22 IU/l), maligní vs. benigní

Metoda	AUC maligní vs. benigní	cut-off	Specificita	Senzitivita	PV+	PV-	RR
CA 125	0.94696	85.00	91.2892	88.8889	24.2424	99.6198	63.7576
		143.00	95.1220	44.4444	22.2222	98.2014	12.3556
HE4	0.81611	86.00	97.9094	44.4444	40.0000	98.2517	22.8800
		74.00	95.1220	55.5556	26.3158	98.5560	18.2237
ROMA 1	0.83235	7.30	84.8057	55.5556	10.4167	98.3607	6.35417
		17.60	95.0530	55.5556	26.3158	98.5348	17.9605

4.10 Léčba ovariálních malignit

Základní léčebnou modalitou ovariálního karcinomu je léčba chirurgická. Je vyžadován tzv. „optimální debulking“ = maximální cytoredukce s nulovým pooperačním nádorovým reziduem. Střední přežití vzrůstá o 5,5% s každými 10% cytoredukčního výkonu. Dle některých prací se udává přežití pacientek ve III. stadiu onemocnění ve vztahu k velikosti pooperačního nádorového rezidua: R0 – 52 měsíců, R<2 cm – 28 měsíců, R>2 cm – 13 měsíců.

Operační výkon se skládá z těchto částí: dolní střední laparotomie s možností rozšíření do nadbřišku, laváž/odběr ascitu, explorace dutiny břišní, exstirpace adhezí, exstirpace všech suspektních ložisek a metastaticky postižených tkání i za cenu resekčních výkonů na postižených orgánech, random /náhodné/ biopsie, extrafasciální hysterektomie, oboustranná adnexektomie, omentektomie totální resp. infrakolická, apendektomie, pánevní a paraaortální lymfadenektomie.

IDS /interval debulking surgery/ je časná 2. operace po 3-4 seriích chemoterapie po neradikální operaci, operaci s reziduem, po probatorní laparotomii či laparoskopii, po biopsii či punkci ascitu s průkazem maligních buněk.

Další léčebnou metodou je chemoterapie a to buď neoadjuvantní /před cytoredukčním operačním výkonem/, adjuvantní /po cytoredukčním výkonu k léčbě reziduální nemoci/, kurativní /po výkonu s R=0 k léčbě mikroskopické nemoci/ či paliativní /s cílem redukovat velikost tumoru či snížit potíže pacientky/. Chemoterapie je aplikována pacientce téměř vždy s výjimkou stadia Ia, Ib G1.

V 1. linii je aplikován platinový derivát + taxan, a to zpravidla 6-8 cyklů.

Ve 2. a další linii záleží volba preparátu na intervalu recidivy od primární léčby, event. perzistujících nežádoucích projevech úvodní chemoterapie, objemu tumoru v době recidivy a hladině nádorových markerů. Postup je vždy individualizován.

V onkologii další běžně užívaná léčebná modalita, adjuvantní či primární radioterapie, není běžně u pacientek s karcinomem ovaria indikována. Vzhledem ke vzorci šíření ovariálních malignit a rozsahu postižení k době diagnózy ve III. a IV. stadiu je celobřišní ozáření (WART – whole abdomen radiotherapy) minoritním léčebným přístupem. Konzolidační radioterapie přináší velmi kontroverzní výsledky, salvage léčba lze využít u pacientek s minimální chorobou rezistentní na platinový derivát a paliativní radioterapie lze připustit u nálezů recidiv izolovaných v pánvi.

U 60% pacientek dojde během 2 let k recidivě onemocnění i při optimální úvodní léčbě. Toto riziko stoupá se stadiem nemoci v době diagnózy. Od projevu recidivy je průměrná doba

přežívání kratší než 2 roky, 5 leté přežití je menší než 10%. Nejčastějším projevem recidivy je ascites a karcinomatosa peritonea, dále pak recidiva v lymfatických uzlinách či lokálně v pánvi. Vzdálené postižení se projevuje hlavně v játrech, v plicích a na pleuře.

Se znalostí této skutečnosti se jeví nová biologická léčba bevacuzimabem /Avastin/ - inhibitor VEGF /růstový faktor cévního endotelu/ → inhibitor angiogeneze, jako vhodný doplněk stávajícího schématu chemoterapie taxanem a platinovým derivátem u pacientek s pokročilým karcinomem vaječníku. Dle výsledků studií /GOG-0218 a ICON7/ současné podávání bevacuzimabu s chemoterapií 1. linie a pokračování v monoterapii po dokončení chemoterapie do 12 až 15 měsíců dle schématu, prodlužuje PFS /progression free survival – přežití bez progresse/.

4.11 Sledování po léčbě = follow-up

Jestliže je léčbou dosaženo klinické remise, je pacientka zařazena do programu následného sledování – dispenzarizace – follow-up.

Schéma v současnosti užívaného oficiálního doporučeného postupu follow-up pacientek po léčbě karcinomu ovaria:

Převzato z Zikán M., Cibula D., Fischerová D. et al: Guideline gynekologických zhoubných nádorů: Standard – Komplexní léčba ovariálních epiteliálních zhoubných nádorů; 2013

Pacientku dispenzarizuje a kontroluje pracoviště, které provádí komplexní léčbu.

V současné době lze nalézt data podporující jak aktivní přístup (opatření směřující k časně detekci často asymptomatické recidivy), tak přístup symptomatický (důraz je kladen na symptomy případné recidivy). Obtížné je jasně definovat pacientky, které budou profitovat z jednoho nebo druhého přístupu. Postup je možno volit na základě zkušeností pracoviště a průběhu onemocnění a léčby u konkrétní pacientky s přihlédnutím k přání pacientky.

A) aktivní přístup – pacientka, která může profitovat z časně detekce recidivy, s vysokou pravděpodobností možné sekundární chirurgické léčby

- 1.,2. a 3. rok každé 3 měsíce
- 4.,5. rok každých 6 měsíců
- poté jednou ročně

- kontroly standardně: komplexní gynekologické vyšetření; CA 125 a zobrazovací vyšetření dle zvyklostí pracoviště (v případě fertilitu šetřící léčby vždy ultrazvukové vyšetření ponechaného ovaria)

- mamografie po 45. roku věku a 1-2 roky

- další vyšetření pouze dle symptomatologie a klinické indikace (CT, RTG S+P a jiná)

B) symptomatický přístup – pacientka s vysokým rizikem recidivy nádoru, s nízkou pravděpodobností sekundární chirurgické léčby

- komplexní gynekologické vyšetření se zaměřením na symptomy, nežádoucí účinky léčby a kvalitu života; každé 3 měsíce

C) kombinovaný přístup

- první rok dle B, dále dle A

4.11.1 CA125 a HE4 ve follow-up ovariálního karcinomu

Cílem této části práce bylo markerové monitorování nemocných při follow-up s gynekologickými malignitami. Sledování bylo prováděno celkem u 70 nemocných v průběhu 4 let, u nichž bylo provedeno celkem 540 náběrů na vyšetření nádorových markerů CA 125 a HE4. Nejdelší sledování bylo po dobu 2,5 roku, nejkratší 6 měsíců. Hlavním problémem byl malý počet nemocných, únik z evidence, pokud nemocná neměla trvalé bydliště v Plzni, apod. Proto jsme se u těchto nemocných zaměřili na zjištění remisních hodnot a hodnot při progresi. Velký počet hodnot byl nejednoznačně klasifikovatelný, protože nebylo možné jednoznačně určit, zda se jedná o stabilizovaný stav nebo parciální remisi. V praxi se lépe osvědčil marker HE4, jak vyplývá z deskriptivních hodnot v remisi a především z nízké variability. Navíc u CA125 jsme se setkali opakovaně s dlouhodobě zvýšenými hodnotami bez klinického nálezu, kdy hodnota HE4 byla v souladu s klinickým stavem zcela normální. Při posuzování markerů při follow-up je hodnota ROMA bezcenná vzhledem k většinou nízkým hodnotám obou markerů hluboko v referenčním rozmezí a nastavené indexy opět způsobují v řadě případů nesprávnou pozitivitu. Přehled výsledků je v tabulkách 4.11.1 – 1 a 2. Diagnóza remise splňovala předepsaná kritéria a jako progresi jsme brali hodnotu při prvním projevu klinické progresi. V tomto se nám, bohužel, nepodařilo realizovat náš cíl, aby do sledování byly zařazeny jen pacientky, které byly v rámci studie diagnostikovány a museli jsme brát v úvahu i výsledky u nemocných v různém stupni léčení,

mnohdy i nemocné, které byly operovány na jiném pracovišti. Za cenné zjištění považujeme, že byla HE4 souhlasně s CA 125 zjištěna 3 měsíce před operací u 7 z 8 nemocných s progresí a 6 měsíců před operací byly zvýšené hodnoty v 6 případech HE4 a v 5 případech CA 125. Pokud to tato malá čísla umožňují, zdá se, že prediktivní význam nádorových markerů je velký.

Tabulka 4.11.1 – 1 - Stanovení HE4 u nemocných po operaci karcinomu ovaria

(*N= počty provedených vyšetření, sledovaných nemocných bylo 26.*)

Doba odběru	N	Medián	Min	Max	Stat. význam
Remise	156	50	3	96	
Progrese	8	350	160	900	0,01
3 měsíce	8	240	80	845	
6 měsíců	8	180	78	650	

Tabulka 4.11.1 – 2 - Stanovení CA 125 u nemocných po operaci karcinomu ovaria

(*N= počty provedených vyšetření, sledovaných nemocných bylo 26.*)

Doba odběru	N	Průměr	Min	Max	Stat. význam
Remise	156	23	3	96	
Progrese	8	498	15	900	0,01
3 měsíce	8	325	15	700	0,01
6 měsíců	8	260	21	650	0,01

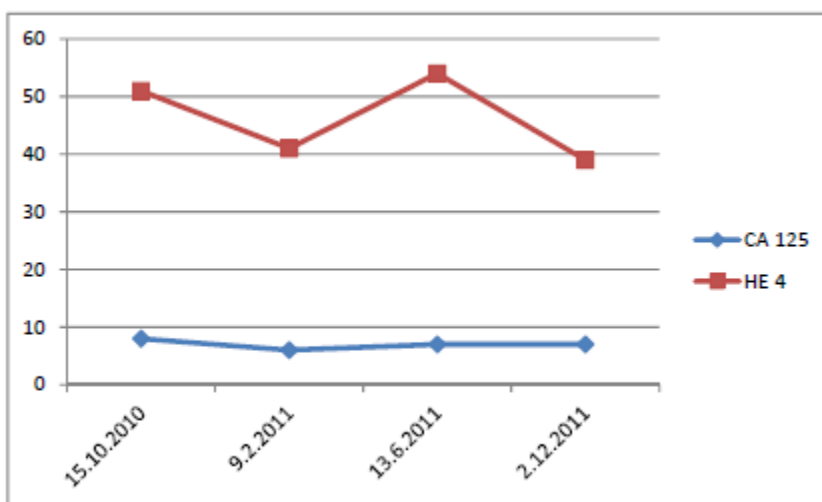
Statistické hodnocení vzhledem k malému počtu progresí je samozřejmě zatíženo chybou malých čísel. HE4 daleko lépe korelovalo s klinickým stavem, při námi zachycených progresích ve všech případech bylo HE 4 zvýšeno již 6 měsíců před vznikem progresie, naproti tomu i při zcela jasné progresi nebo trvale nepříznivém stavu nemocné jsme nikdy nezaznamenali hodnotu pod námi určený cut-off v laboratoři 89 pmol/l. Naproti tomu jsme opakovaně zjistili i při progresi, 3, 6 měsíců před progresí ev. i přímo při klinické manifestaci hodnoty CA 125 zcela normální. Níže jsou 4 typické kasuistiky.

Sledování efektu léčby pomocí markeru HE4 vyžaduje rozsáhlou nadnárodní studii.

4.11.2 Kazuistiky vybraných nemocných

Kazuistika nemocné v remisi

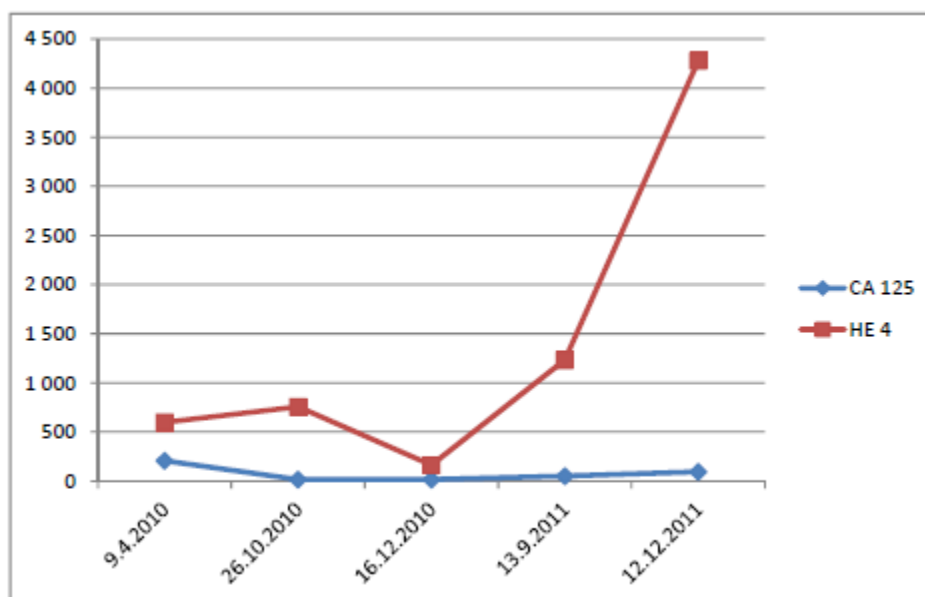
(Pacientka J. K., 1944)



J.K., 67 let, pacientka po abdominální hysterektomii s oboustrannou adnexektomií 11/2008 v okresní nemocnici. Dle definitivní histologie cystopapilární adenokarcinom vaječníku v iniciálním stádiu IA. Onkologem vzhledem k vysoké mitotické aktivitě tumoru indikována adjuvantní chemoterapie. Aplikováno celkem 6. cyklů, léčba dokončena 3/2009, dosaženo kompletní remise onemocnění. Tabulka znázorňuje remisní hodnoty markerů během follow-up. V tomto případě oba markery shodně po celou dobu sledování byly zcela v mezích normy.

Kazuistika nemocné s nepříznivou prognózou, stav neovlivnitelný léčbou

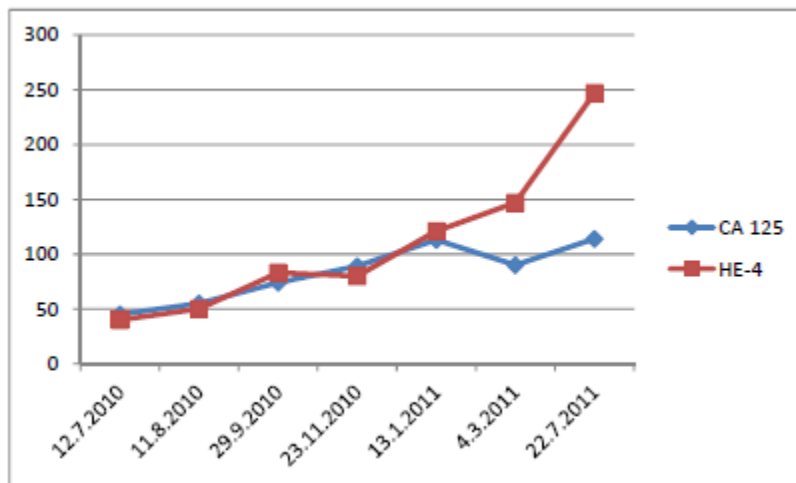
(Pacientka J. Š., 1948)



J.Š., 64 let, 3/2010 provedena probatorní laparotomie s infrakolickou omentektomií pro generalizovaný papilární serózní adenokarcinom ovarií IIIC. Následovalo 6 cyklů chemoterapie. První hodnoty v grafu jsou po probatorním výkonu před chemoterapií. Hodnota druhá je po 6 cyklech chemoterapie, radikalizaci výkonu a následných dalších 3 seriích chemoterapie. Dle PET/CT však i po této léčbě popisována generalizace onemocnění v dutině břišní. Následné hodnoty jsou během další onkologické léčby, kdy i při trvale podávané chemoterapii v různých schématech došlo k další progresi onemocnění. Tato nemocná dokonale dokumentuje spolehlivost HE4 v průběhu follow-up, kdy jsou trvale přítomny zvýšené hodnoty, ani jednou nedosáhly normy, zatím co hodnoty CA 125 jsou zpočátku velice nízké a pak pouze lehce stoupají.

Kazuistika nemocné s progresí

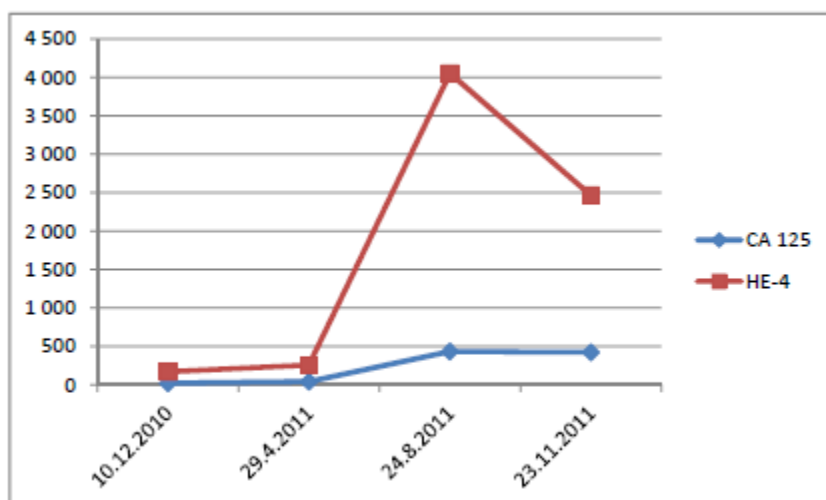
(Pacientka J. J., 1943)



J. J., 68 let, v roce 1983 odstraněna děloha a pravý vaječník a vejcovod, v 10/2006 provedena laparotomie pro dediferencovaný serózní papilární karcinom ovaria, nádorové reziduum po výkonu 1 cm³. Následovalo 6 cyklů pooperační chemoterapie do 2/2007, dosaženo remise. 6/2008 recidiva onemocnění, započato s paliativní chemoterapií. 9/2008 dosaženo opět remise. 6/2009 opět recidiva onemocnění, indikována 3. linie chemoterapie. Téměř kompletní remise dosaženo 4/2010. První hodnoty v grafu jsou hodnoty během follow-up, kdy pacientka chtěla být pouze sledována vzhledem k příznivému nálezu dle zobrazovacích vyšetření a dyskomfortu při opakované chemoterapii. Dle PET/CT 8/2010 další progresse onemocnění. Započato s další linií chemoterapie, při které však onemocnění progreduje - viz hodnoty v grafu. Na progresi onemocnění opět jako v předchozí kazuistice daleko lépe reaguje marker HE4 než marker CA 125.

Kazuistika nemocné s paliativní terapií

(Pacientka J. J., 1945)



J. J., 67 let, polymorbidní pacientka, 6/2010 provedena probatorní laparotomie pro generalizovaný ovariální karcinom se vzdálenými metastázami. Vzhledem k polymorbiditě a generalizovanému postižení indikována nejprve pouze symptomatická terapie. 8/2010 započato s paliativní chemoterapií. První hodnoty v grafu jsou z období v průběhu onkologické léčby 1. linie chemoterapie. Paliativní chemoterapie ukončena 12/2010. Dle zobrazovacích vyšetření parciální regrese onemocnění. 8/2011 zahájena 2. linie paliativní chemoterapie, plně nedokončena. Hodnoty v grafu jsou z průběhu tohoto intervalu, tedy po ukončení 1. linie chemoterapie a během 2. linie, kdy je patrný mírný pokles markerů. Jako v předcházejících případech pouze HE4 koreluje s klinickým průběhem onemocnění.

ESGO usnesení k roli stanovení CA 125 u pacientek ve follow-up ovariálního karcinomu[14, 15]

Na podkladě studií OV05/EORTC 55955 týkajících se využití CA 125 ve follow-up pacientek s ovariálním karcinomem vypracovalo ESGO doporučení, že je možné upustit od rutinního monitorování CA 125 krom skupiny žen, které by mohli profitovat z včasné detekce vzestupné dynamiky CA125. Je tedy doporučeno, začlenit CA 125 do follow-up pacientek po úplné odpovědi na primární léčbu – v klinické remisi, které byly nebo jsou léčeny v rámci klinických studií, které byly shledány vhodnými pro budoucí studie se second-line terapií, u kterých se předpokládá, že nebudou z různých důvodů pravidelně vyšetřovány v rámci follow-up každé 3 měsíce včetně zobrazovacích metod, a které by mohli profitovat ze sekundárního výkonu při zjištění rekurence onemocnění.

Vždy je nutné pacientce vysvětlit smysl follow-up vč. odběrů CA 125 a seznámit ji s faktem, že zjištěná elevace CA 125 nemusí nutně vést k chirurgické či onkologické intervenci.

4.12 Prognóza pacientek s karcinomem ovaria

Prognóza pacientek s karcinomem ovaria závisí na několika faktorech, především[3]:

- na stadiu onemocnění v době diagnózy
- na reziduálním objemu tumoru po provedené chirurgické léčbě (u pokročilých nálezů)
- na věku a na celkovém stavu (komorbidity, limitace agresivity léčby ve starším věku)
- důležitou roli hraje i histologický typ nádoru. Grade hraje roli zejména ve stadiu I.

Pětileté přežití pacientek s karcinomem vaječníku v závislosti na stadiu onemocnění (převzato z Cibula D, Petruželka L: Onkogynekologie. Praha, Grada Publishing, a.s., 2009)

Stadium	Pětileté přežití
IA G1	90%
IA G>1	60-85%
IB, IC, IIA, Gx	40-60%
IIB, IIC, III R0	20-40%
III (R < 2 cm)	15-25%

III (R > 2 cm)	5-15%
IV	<5%

R = reziduální tumor

4.13 Screening ovariálního karcinomu[3]

Funkční organizovaný screening ovariálního karcinomu dosud neexistuje. Jak bylo uvedeno v úvodu, karcinom ovaria má špatnou prognózu zejména kvůli pozdní detekci v pokročilých stadiích. Proto je celosvětově věnována pozornost možnostem vyhledávání - screeningu časných stadií. Jsou diskutovány dvě strategie:

- populační screening /dosud považován za náročný, drahý, málo efektivní/ a
- screening zaměřený na rizikovou skupinu pacientek s familiárním výskytem ovariálních či jiných malignit v rámci hereditárních syndromů zmíněných výše /kombinace CA125, ev. HE4 a sonografického vyšetření/.

Dosavadní výsledky těchto snažení však nejsou nijak uspokojivé a nepřinášejí výrazné zlepšení výsledků hlavních pozorovaných ukazatelů, zejména celkového přežití /OS/[3].

Ve Velké Británii v současnosti stále probíhá asi dosud největší prospektivní randomizovaná studie – UKCTOCS – UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening, jejíž výsledky budou k dispozici v roce 2015. Tato studie si klade za cíl sestavení schématu pro populační screening. Rozbor designu této studie překračuje rámec tohoto sdělení, avšak vzhledem k předpokládanému pozitivnímu dopadu odkazují na web: http://www.instituteforwomenshealth.ucl.ac.uk/academic_research/gynaecologicalcancer/gcrc/ukctocs/design

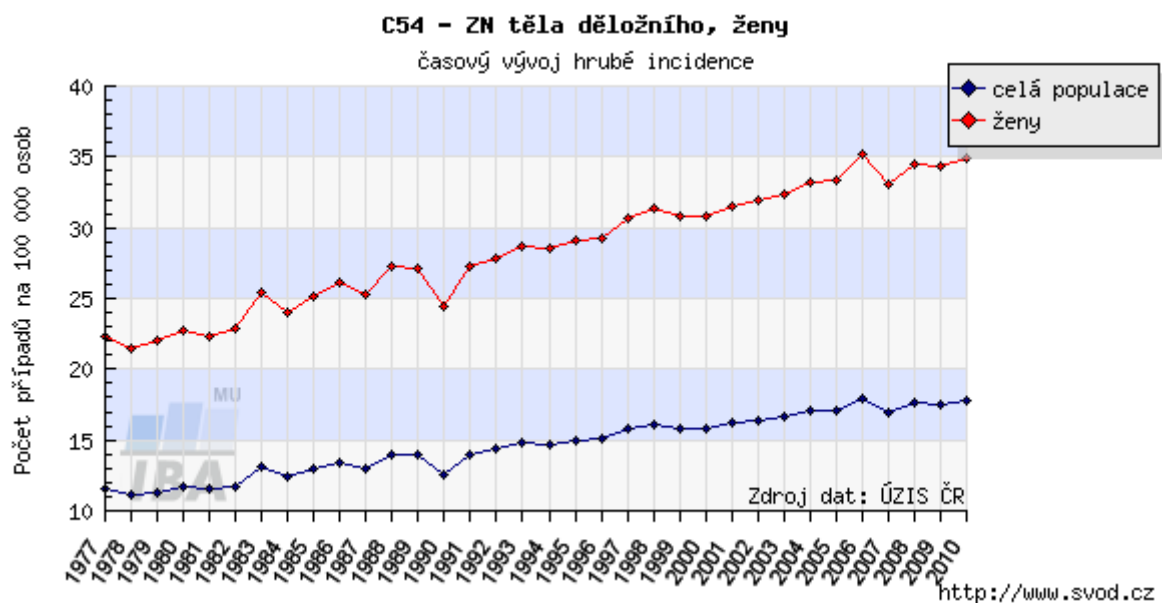
Co se týká pacientek s familiárním karcinomem vaječníku, tak i na tuto skupinu je v současnosti zaměřena studie probíhající ve Velké Británii – UKFOCSS – UK Familial Ovarian Cancer Screening Study. Více viz web: http://www.instituteforwomenshealth.ucl.ac.uk/academic_research/gynaecologicalcancer/gcrc/ukfocss/trial-design.

5 Nádory endometria

5.1 Epidemiologie

Endometriální karcinom je v České republice nejčastější gynekologickou malignitou. Dle posledních dat z Národního onkologického registru z roku 2010, je jeho incidence 34,86/100000 žen[1], což je 1870 nových nemocných za rok.

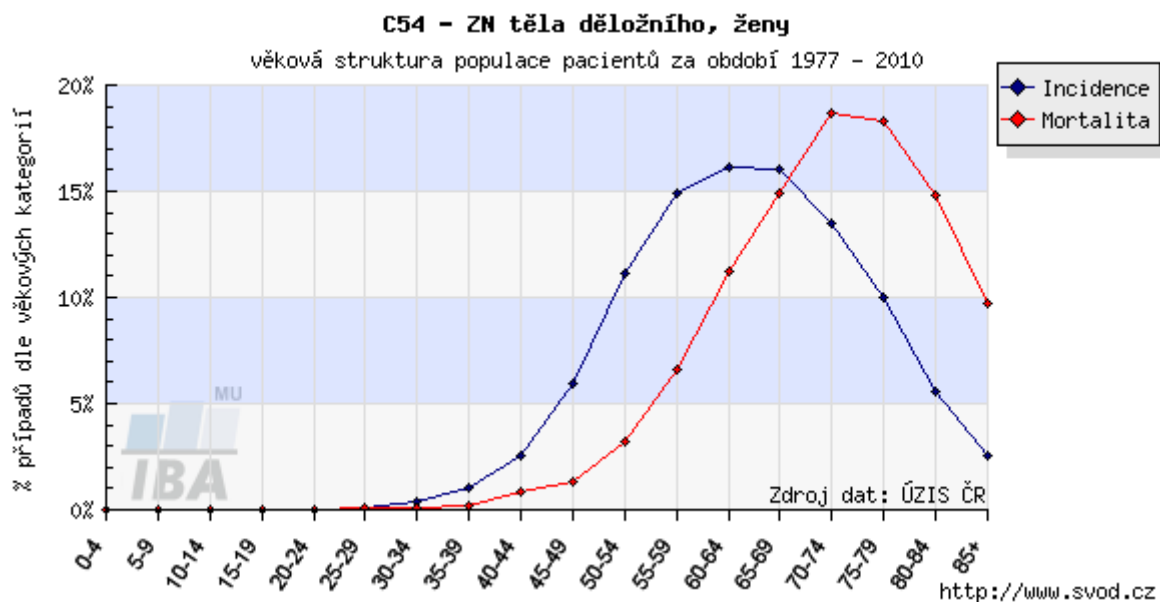
Časový vývoj hrubé incidence



Mortalita se pohybuje kolem 5,48/100000 žen[1], což v absolutních číslech znamená 294 pacientek zemřelých pro malignitu endometria.

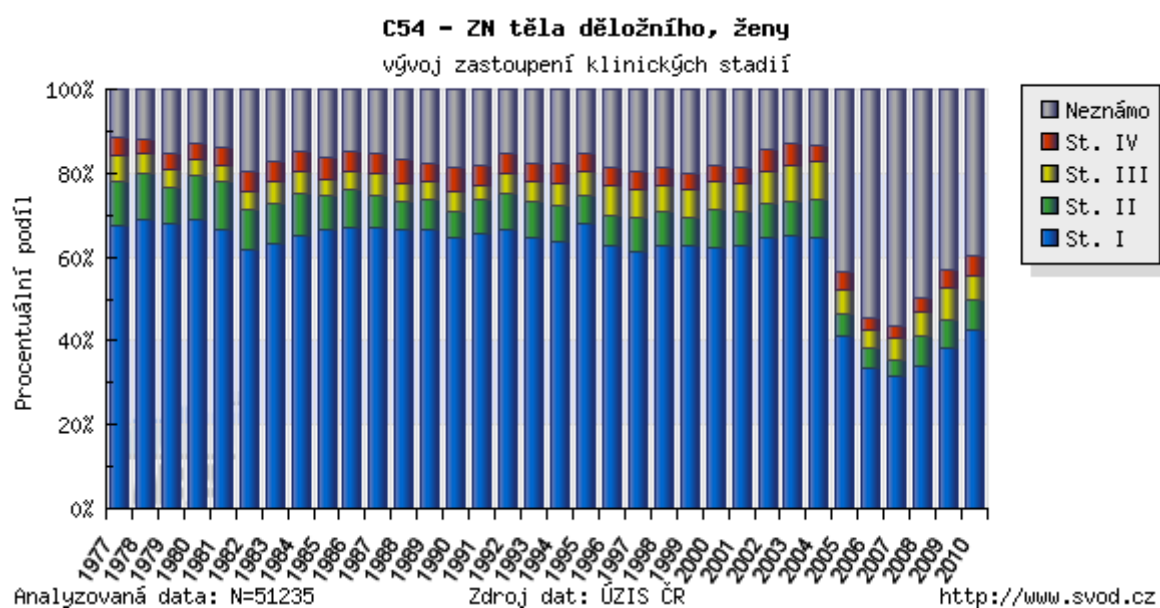
Nejčastěji onemocní pacientky v 5. a 6. dekádě života. 20-25% pacientek pak premenopauzálně.

Věková struktura pacientek s nádory těla děložního



Většina případů je diagnostikována a léčena v časných stádiích vzhledem k časně symptomatologii ve formě krvácení různého stupně.

Zastoupení klinických stádií v čase



5.2 Etiopatogeneze endometriálního karcinomu [3, 4]

Malignity endometria se dělí na podkladě etiopatogenetických, klinických a molekulárně genetických charakteristik na Typ I a Typ II.

Nádory spadající pod Typ I jsou hormonálně dependentní, tzn. mají vztah k absolutnímu či relativnímu hyperestrinismu. Relativní či absolutní nadbytek estrogenů vede k hyperplazii děložní sliznice a přes vznik buněčných atypií /atypická hyperplazie/ může stav dospět do nálezu, který již splňuje kriteria malignity. Většina případů endometriálních malignit, 80 %, je právě tohoto typu. Jedná se zejména o perimenopauzální pacientky jejichž prognóza je dobrá. Nádory jsou zpravidla dobře diferencované a hormonálně dependentní.

Nádory typu II postihují zpravidla starší ženy /v 6., 7. a 8. deceniu/, jejich etiopatogeneze je nejasná /uplatňují se zde pravděpodobně nahromaděné mutace související s věkem/, u postižených pacientek nelze nalézt typické rizikové faktory jako u nádorů Typu I a tyto malignity vznikají v atrofickém endometriu. V současnosti se předpokládá prekurzorovaný endometriální karcinom in situ. Typickým příkladem malignit Typu II je serozní a clear-cell karcinom. V těchto lézích lze poměrně často zjistit overexpresi antionkogenu p53. Tato skupina tvoří zbývajících 20 % endometriálních malignit. Prognóza je ve srovnání s typem I horší, diferenciace nádorů je nižší.

5.3 Rizikové a protektivní faktory karcinomu endometria

Mezi rizikové faktory karcinomu Typu I patří[3]:

- věk– riziko stoupá s věkem
- pozdní menopauza– RR 2,4
- nuliparita– RR 2-3
- sterilita – RR 2-3
- obezita – RR 2-4,5
- diabetes mellitus – RR 2-4
- arteriální hypertenze
- aplikace neoponovaných estrogenů a ERT – RR 2,17 po 5 letech užívání
- užívání Tamoxifenu /SERM/ - RR 2,5 po více než 5 letech užívání
- atypická hyperplazie endometria – riziko progresu do karcinomu ve 29-40%
- genetické riziko – u pacientek s Lynchovým II syndromem /celoživotní riziko karcinomu endometria je 40-60% / a nositelka BRCA při současném užívání Tamoxifenu

Protektivní faktory jsou[3]:

- multiparita
- hormonální antikoncepce
- kouření cigaret
- LNG-IUS /Mirena/

5.4 Histologická klasifikace [3]

- nádory epitelové – Typ I 80%, Typ II 20%
- nádory mezenchymové /sarkomy/
- nádory smíšené – epitelové a mezenchymové
- sekundární nádory – přímým prorůstáním z okolí /rektum, močový měchýř, ovaria, cervix/, vzdálené metastázy /karcinom prsu a žaludku/

5.5 Klinický obraz a diagnostické metody [3]

Většina případů karcinomu endometria je diagnostikována a léčena v časných stádiích vzhledem k časně symptomatologii ve formě krvácení různého stupně. Pokud žena referuje nepravidelné gynekologické krvácení, je nutné vždy myslet v rámci diferenciální diagnostiky na malignitu endometria. Další příznaky jako bolesti, nechutenství, únava atd. bývají vyjádřené spíše až u pokročilého onemocnění.

Pro diagnostiku je obligatorní:

- komplexní gynekologické vyšetření a laboratorní vyšetření
- RTG vyšetření hrudníku
- sonografické vyšetření vaginální a abdominální sondou, ideálně expertní– sonografie dosáhla přesnosti 84% v určení invaze tumoru do myometria a 92% v přesnosti hodnocení postižení stromatu hrdla děložního

Definitivní diagnóza je stanovena z histologického vyšetření tkáně získané v rámci primární operace či z minimálně invazivních postupů – hysteroskopie, kyretáž.

V případě nedostatečných informací z těchto vyšetření je pro klinický staging nutné někdy doplnit některé z fakultativních vyšetření:

- CT – využití ve stanovení postižení retroperitoneálních uzlin a parenchymatozních orgánů

- NMR - přesnost 81% v určení invaze tumoru do myometria a 85% v určení propagace do stromatu hrdla děložního
- PET/CT – detekce rozsahu recidivy onemocnění a postižení lymfatických uzlin – zde dosahuje senzitivity 67% a specificity 94%.
- uretrocystoskopii, rekto-/kolonoskopii
- nádorový marker CA 125

5.6 Staging

FIGO klasifikace /po revizi v roce 2009/

TNM	FIGO	Popis
T - tumor		
T1	I	Tumor ohraničený na tělo děložní
T1a	IA	Invaze nepřítomna, invaze zasahující maximálně do ½ tloušťky myometria
T1b	IB	Invaze rovná nebo více než ½ tloušťky endometria
T2	II	Nádor zasahuje do stromatu hrdla děložního, ale nešíří se mimo dělohu
T3	III	Lokální a/nebo regionální šíření nádoru
T3a	IIIA	Nádor prorůstá na serozu dělohy a/nebo na adnexa
T3b	IIIB	Prorůstání na pochvu a/nebo do parametrií
T3c	IIIC	Metastatické postižení pánevních a/nebo paraaortálních lymfatických uzlin
T3c1	IIIC1	Postižení pánevních lymfatických uzlin
T3c2	IIIC2	Postižení paraaortálních uzlin
T4	IV	Nádor postihuje močový měchýř a/nebo střevo, a/nebo jsou přítomné vzdálené metastázy
T4a	IVA	Postižení mukózy močového měchýře a/nebo střeva
T4b	IVB	Vzdálené metastázy, včetně intraabdominálních metastáz a/nebo postižení inguinálních lymfatických uzlin
N – regionální mízní uzliny		
NX		Regionální mízní uzliny nelze posoudit
N0		Regionální mízní uzliny bez metastáz
N1		Metastázy v regionálních pánevních mízních uzlinách
N2		Metastázy v regionálních paraaortálních uzlinách
M – vzdálené metastázy		
MX		Přítomnost vzdálených metastáz nelze určit
M0		Bez vzdálených metastáz
M1		Vzdálené metastázy
pTNM – patologická klasifikace		
pTNM		Patologická klasifikace odpovídá kategoriím TNM
pN0		Histologické vyšetření preparátu z pánevní lymfadenektomie musí obsahovat 10 nebo více uzlin

5.7 Nádorové markery

V současné době není k dispozici ideální sérový biomarker pro eventuální screening endometriálního karcinomu, k monitoraci odpovědi na léčbu, follow-up či sloužící jako prediktor intra či extrauterinního šíření nádoru k lepšímu plánování operační léčby a jejího rozsahu. Dosud slouží k těmto účelům sledování klinických symptomů, gynekologické vyšetření a zobrazovací vyšetření, zejména sonografie.

Vysoké hodnoty markeru CA 125 zjištěné v rámci klinického stagingu částečně korelují s extrauterinním šířením nádoru[3].

U pacientek s endometriálním karcinomem se udává, že pouze 10 až 20% pacientek v časném stadiu a 25% asymptomatických pacientek s rekurentním onemocněním má zvýšenou hodnotu markeru CA 125[16, 35, 36].

Pokud vezmeme do porovnání pacientky s nádory vaječníků, tak v jejich případě hodnoty CA 125 poměrně úzce korelují s regresí a progresí onemocnění[37]. Rostoucí pooperační hodnoty markeru CA 125 mají v predikci nádorového relapsu senzitivitu 84-94 %[38, 39].

Tato data ukazují na potřebu podobného markeru pro pacientky s diagnózou nádoru endometria.

Data z několika studií posledních let ukazují overexpresi genu HE4 v endometriálních karcinomech, což vzbudilo zájem o HE4 jakožto marker využitelný právě pro pacientky s touto diagnózou[40-43].

5.8 Cíle výzkumné práce v rámci problematiky karcinomu endometria

- CA 125 a HE4 u pacientek s endometriálním karcinomem

5.8.1 CA125 a HE4 v předoperačním managementu endometriálního karcinomu

5.8.1.1 Cíle

V současné době není v klinické praxi používán žádný ideální sérový biomarker v managementu karcinomu endometria. Cílem naší práce bylo porovnat využití biomarkerů CA125 a HE4 u pacientek s diagnózou endometriálního karcinomu v předoperačním managementu a zaměřit se zejména na vztah CA125 a HE4 ke stagingu onemocnění, tedy k predikci myometriální invaze či již extrauterinního šíření tumoru.

5.8.1.2 Soubor a metodika

V období od května 2012 do března 2013 bylo do pilotní studie zařazeno 34 pacientek s diagnózou endometriálního karcinomu a 32 zdravých kontrol. Věkový průměr zdravých žen byl 58,5 roku (37,0 – 79,0), ve skupině žen s endometriálním karcinomem 65,0 roku (43,0 – 88,0). Věková distribuce obou sledovaných skupin je v grafu 5.8.1 - 1.

Ve skupině žen s endometriálním karcinomem bylo: 18 žen ve stadiu IA, 8 žen ve stadiu IB, 5 žen ve stadiu II a 2 ženy ve stadiu IIIa.

U všech žen byla odebrána krev na vyšetření nádorových markerů CA125 a HE4 z kubitální žíly vždy ráno mezi 7-10 hodinou do odběrových zkumavek VACUETTE®, (Greiner Bio-One, Rakousko). Sérum bylo odděleno centrifugací při $1700 \times g$ po dobu 10 minut a vzorky byly buď okamžitě zpracovány nebo pokud je nebylo možno zpracovat do 24 hodin byly uchovávány až do doby stanovení při -80°C . Hodnoty obou markerů byly stanoveny v imunoanalytické laboratoři FN Plzeň chemiluminiscenční metodou na přístroji Architect 1000i (Abbott, USA). Dále bylo provedeno expertní sonografické vyšetření v přesně definovaném standardizovaném rozsahu, a společně s gynekologickým vyšetřením bylo předoperačně stanoveno klinické stadium onemocnění. V případě, že žena byla operována, bylo perioperačně provedeno vyšetření histologického preparátu metodou frozen section a dle nálezů byl proveden adekvátní operační výkon v předepsaném rozsahu pro chirurgický staging endometriálního karcinomu.

Pro veškeré statistické výpočty byl použit statistický software SAS 9.3. U obou analytů byl vypočítán cut-off, senzitivita, specificita, pozitivní a negativní prediktivní hodnota (PV+, PV-) a hodnota plochy pod ROC křivkou (AUC). Vzhledem k tomu, že data nejsou normálně rozdělena, byl pro porovnání souboru nemocných osob a zdravých kontrol použit Wilcoxonův test.

5.8.1.3 Výsledky

Z box-plotů v grafu 5.8.1 - 2 a 3 vyplývá vysoce signifikantní rozdíl $/p<.0001/$ v mediánech sérových hladin HE4, ženy s endometriálním karcinomem 75,5 pmol/l, zdravé ženy 40,0 pmol/l. Naproti tomu statisticky nesignifikantně $/p=0,4442/$ vyšlo porovnání mediánů CA125, ženy s endometriálním karcinomem 19,0 IU/l, zdravé ženy 15 IU/l.

Oba markery signifikantně korelovaly s histopatologickým stagingem onemocnění (Spearman) jak ukazuje tabulka 5.8.1 - 1.

Senzitivity a specificity a jim odpovídající cut-off pro oba nádorové markery jsou uvedeny v tabulce 5.8.1 - 2. Z tabulky plyne, že HE4 je v diferenciální diagnostice mezi benigním a maligním endometriálním nálezem ve všech parametrech markerem výhodnějším.

5.8.1.4 Diskuze

Endometriální karcinom má v České republice nejvyšší incidenci z gynekologických malignit[1]. U většiny žen je diagnostikován a léčen v časných stádiích vzhledem k časně symptomatologii ve formě krvácení různého stupně. Po stanovení histologické diagnózy stojí onkogynekologický tým před rozhodnutím, zda na základě provedených obligatorních vyšetření pacientka patří do skupiny low risk či high risk, z čehož se odvíjí následný operační a pooperační management. K této stratifikaci slouží zatím pouze sledování klinických symptomů, gynekologické vyšetření a zobrazovací vyšetření, zejména sonografie. V současné době není k dispozici sérový biomarker pro event. screening endometriálního karcinomu, k monitoraci odpovědi na léčbu, follow-up či sloužící právě jako prediktor intra či extrauterinního šíření nádoru k lepšímu plánování operační léčby a jejího rozsahu.

Myometriální invaze je v rámci stadia I, spolu s gradingem nádoru a histologický typem nádoru, jedním z nejdůležitějších faktorů rozhodujících o rozšíření chirurgického výkonu o pánevní a paraaortální lymfadenektomii. Pokud vezmeme v úvahu časté interní komorbidity léčených žen, arteriální hypertenzi, diabetes mellitus, dále jejich věk a častou nadváhu až

obezitu, jedná se o velmi rizikovou část operace, která je stále předmětem debat na světových fórech s účastí předních odborníků na danou problematiku[44, 45].

Fakultativně užívaný marker CA125 má velmi nízkou senzitivitu a specificitu[46-49]. Udává se, že pouze 10 až 20% pacientek v časném stadiu a 25% asymptomatických pacientek s rekurentním onemocněním má zvýšenou hodnotu markeru CA125[16, 35, 36]. Až vysoké hladiny CA 125 signalizují extrauterinní šíření tumoru[3]. Pokud vezmeme do porovnání pacientky s nádory vaječníků, tak v jejich případě hodnoty CA 125 poměrně úzce korelují s regresí a progresí onemocnění[37]. Rostoucí pooperační hodnoty markeru CA 125 mají v predikci nádorového relapsu senzitivitu 84-94 %[38, 39].

Z těchto údajů vyplývá potřeba nového biomarkeru pro pacientky s diagnózou endometriálního karcinomu.

V posledních letech řada prací ukazuje, že sérový biomarker HE4, který podstatně zlepšil diagnostiku ovariálního karcinomu[50], je zvýšen i u endometriálního karcinomu typu I i II [40, 51], což vzbudilo zájem o HE4 jakožto marker využitelný právě pro pacientky s touto diagnózou[40-43]. Naše data se shodují s tvrzením, že medián sérových hladin HE4 žen s endometriálním karcinomem ve srovnání se skupinou zdravých žen vykazují statisticky signifikantní rozdíl [16]. Oproti markeru CA125 vykazuje HE4 v naší studované kohortě žen s endometriálním karcinomem vyšší senzitivitu, což opět je ve shodě s dosud publikovanými pracemi [16, 52].

Ke statistickému vyhodnocení výsledků žen ve stadiu onemocnění IA proti skupině žen ve stadiu onemocnění IB, tedy s hloubkou myometriální invaze endometrálního karcinomu <50% vs. >50% je zapotřebí většího studovaného souboru.

5.8.1.5 Závěr

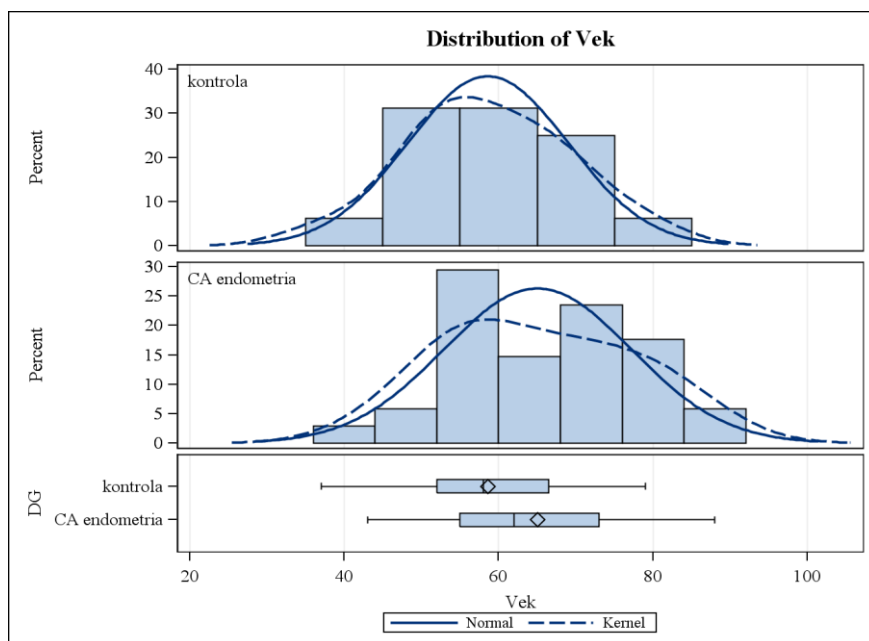
V naší pilotní studii jsme zjistili, že současné vyšetření biomarkerů HE4 a CA125 může přispět k prebiptické verifikaci sonografického nálezu endometriálních abnormalit. V některých případech mohou markery upřesnit předoperační staging endometriálního karcinomu jakožto přidaná hodnota k hraničním výsledkům rutinně prováděných obligatorních vyšetření. Pro širší zapracování markerů do klinického vyšetřování symptomatických pacientek či asymptomatických žen s abnormálním ultrazvukovým obrazem a dále do předoperačního vyšetřovacího schématu, jsou však zjištěné výsledky nedostačující. Ve studii na gynekologické klinice v Plzni dále pokračujeme a domníváme

se, že studie na větším souboru nemocných nám umožní zařadit sledování HE4 do rutinní praxe.

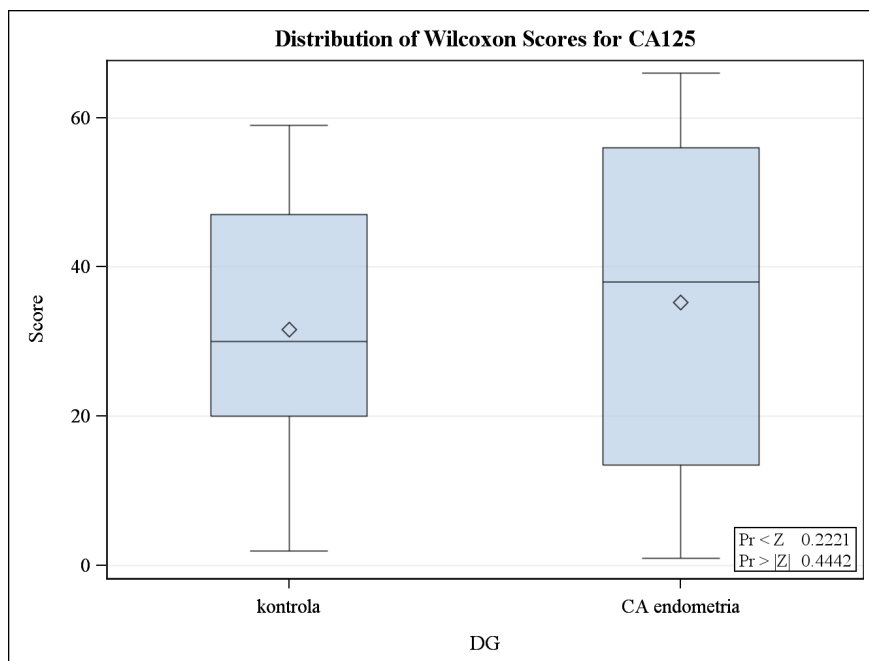
Dedikace

Podpořeno MZ ČR - RVO (Fakultní nemocnice Plzeň - FNPI, 00669806)

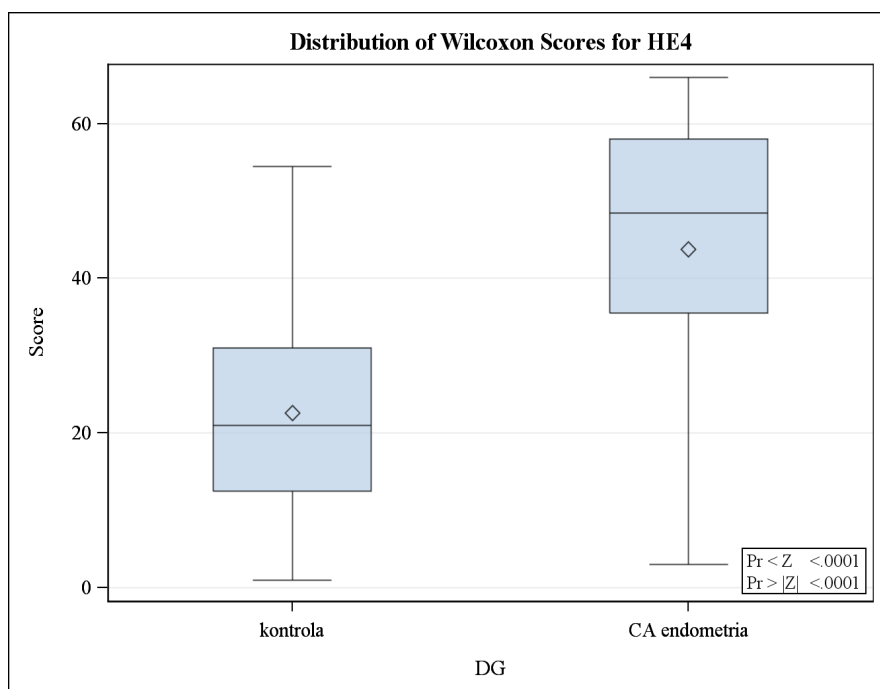
Graf 5.8.1 – 1 - Věková distribuce obou sledovaných skupin



Graf 5.8.1 – 2 - Distribuce Wilcoxon skóre pro CA125



Graf 5.8.1 – 3 - Distribuce Wilcoxon skóre pro HE4



Tabulka 5.8.1 – 1 – Korelace výsledků s histopatologickým stagingem onemocnění

Parametr	Spearman correlation coefficient/r =/	pValue
CA125	0.6120	0.0002
HE4	0.5047	0,0027

Tabulka 5.8.1 – 2 - Senzitivity a specificity a jim odpovídající cut-off pro oba nádorové markery

Metoda	AUC	Cut-off	Specificita	Senzitivita	PV+	PV-
CA125	0,5699	32.00	93.7500	26.4706	81.8182	54.5455
		31.00	87.5000	32.3529	73.3333	54.9020
		42.00	96.8750	20.5882	87.5000	53.4483
HE4	0,8056	90.00	96.8750	41.1765	93.3333	60.7843
		62.00	90.6250	55.8824	86.3636	65.9091
		73.00	96.8750	52.9412	94.7368	65.9574
		49.00	78.1250	79.4118	79.4118	78.1250

5.9 Léčba endometriálních malignit

Hlavní léčebnou modalitou je léčba chirurgická. Po posouzení rizikových faktorů a s výsledky předoperačních vyšetření stanovujeme klinický staging onemocnění. Dle toho je rozhodnuto o rozsahu operačního výkonu. V předoperační rozvaze se hodnotí tyto faktory: histologický typ nádoru /I či II/, grading nádoru = stupeň diferenciacie, míra myometriální invaze, invaze nádoru do lymfatických či krevních cév /LVSI/, rozměry nádoru, vaskularizace, postižení stromatu hrdla děložního, eventuální šíření mimo dělohu a celkový stav pacientky /performance status – Karnofsky index či dle WHO/. Zhodnocením těchto faktorů je možno pacientky statifikovat na skupinu nízkého rizika /low risk/ a vysokého rizika /high risk/.

Kriteria pro zařazení pacientky do skupiny low risk jsou:

- endometroidní nebo mucinozní histologický typ nádoru
- stadium I, grade 1, bez ohledu na hloubku myometriální invaze
- stadium I, grade 2, myometriální invaze do ½ síly myometria

Do skupiny high risk jsou zařazeny všechny pacientky, které nesplňují kriteria pro zařazení do low risk skupiny.

Základním operačním výkonem a zároveň výkonem dostatečným u pacientek skupiny low risk je: lavage peritoneální dutiny, explorace dutiny břišní, abdominální extrafasciální hysterektomie a oboustranná adnexektomie. Výkon je tradičně prováděn z laparotomického přístupu z dolní střední laparotomie. V posledních letech je však patrný příklon k minimálně invazivní chirurgii – laparoskopii – LAVH, TLH.

U pacientek skupiny high risk je navíc indikován kompletní chirurgický staging, tedy pánevní a paraaortální lymfadenektomie až do úrovně levé renální žíly.

U zvláště závažných nálezů serozního karcinomu a clear cell karcinomu je postupováno jako v případě ovariálního karcinomu, tedy je připojena omentektomie a eventuálně apendektomie. Právě role lymfadenektomie je v posledních letech největším a nejčastějším zdrojem kontroverzí vzhledem k věku, konstituci a komorbiditám operovaných pacientek. Je diskutována její role ve vztahu k celkovému přežití a ke vzniku rekurence onemocnění[45, 53].

Ve stadiu II, tedy v případě nádorového postižení stromatu hrdla děložního, je indikována radikální hysterektomie typ B[54], oboustranná adnexektomie a lymfadenektomie.

V pokročilých stádiích FIGO III-IV, která tvoří méně než 20 %, je snahou provedení maximální cytoredukce.

Další léčebnou modalitou je radioterapie. Tato metoda se uplatňuje jednak jako radikální (kurativní) radioterapie u pacientek s kontraindikací chirurgické léčby či u inoperabilních pacientek ve stadiu FIGO III a IV, dále jako adjuvantní radioterapie, jejíž indikace vychází z rozsahu onemocnění a adekvátnosti operačního výkonu a slouží k lokoregionální kontrole onemocnění, a v poslední řadě se uplatňuje jako paliativní radioterapie[3].

Systémová léčba ve formě chemoterapie a hormonální léčby je indikována jako paliativní /nekurativní/ léčba u recidivujícího či metastazujícího onemocnění.

5.10 Sledování po léčbě = follow-up

Jestliže je léčbou dosaženo klinické remise, je pacientka zařazena do programu následného sledování – dispenzarizace – follow-up.

Schéma v současnosti užívaného oficiálního doporučeného postupu follow-up pacientek po léčbě karcinomu endometria:

Převzato z Chovanec J., Feranec R., Mouková L. et al: Guideline gynekologických zhoubných nádorů: Standard – Komplexní léčba zhoubných nádorů endometria; 2013

Ženu dispenzarizuje pracoviště, které provádí základní modalitu komplexní léčby(komplexní léčbu) po dobu minimálně 2 let v intervalu 3 – 6 měsíců.

Interval:

- 1., 2. rok každé 3 – 6 měsíců
- 3., 4., 5. rok každých 6 měsíců
- poté každý 1 rok

Další dispenzární péče musí být organizačně zajištěna v onkogynekologickém centru nebo registrujícím gynekologem. Kontroly standardně zahrnují: komplexní gynekologické vyšetření a vyšetření vaginálním ultrazvukem. Další vyšetření (laboratorní, zobrazovací metody) provádíme individuálně podle stupně rizika, symptomatologie a klinického nálezu.

Udává se, že záchyt recidivy u asymptomatické pacientky se pohybuje při standardním follow-up mezi 9-54 %. Dosud nebyl prokázán vztah mezi pravidelným sledováním a zlepšením přežití asymptomatických pacientek s karcinomem endometria. Dominantním tak v rámci follow-up po léčbě stále zůstává fyzikální vyšetření a anamnéza symptomů.

5.11 Prognóza pacientek s karcinomem endometria

Prognostické faktory karcinomu endometria[3]

- staging – hloubka myometriální invaze, extrauterinní šíření tumoru, postižení děložního hrdla resp. jeho stromatu
- grading
- stav lymfatických uzlin
- lokalizace a velikost tumoru v dutině děložní
- hodnoty CA 125 předoperačně
- overexprese onkogenu HER2/neu

Pětileté přežití pacientek s karcinomem endometria v závislosti na grade onemocnění[55] (tabulka převzata z Cibula D, Petruželka L: Onkogynekologie. Praha, Grada Publishing, a.s., 2009)

Grade	Pětileté přežití
I	94 %
II	88 %
III	79 %

Pětileté přežití pacientek s karcinomem endometria v závislosti na hloubce invaze do myometria[55] (tabulka převzata z Cibula D, Petruželka L: Onkogynekologie. Praha, Grada Publishing, a.s., 2009)

Hloubka myometriální invaze	Pětileté přežití
<1/3	82 %
1/3-1/2	78 %
>1/2	66 %

5.12 Screening endometriálního karcinomu [3, 4]

Stejně jako je tomu u karcinomu ovaria, není k dispozici žádná metoda, která by splňovala požadavky na fungující screening pro ženy s karcinomem endometria. Biopsie endometria či

endometriální cytologie nemají dostatečnou senzitivitu pro zachycení nitroděložních patologií. Pravidelné plošné vyšetření transvaginálním ultrazvukem je organizačně a ekonomicky prakticky nerealizovatelné. Transvaginální ultrazvuk má ale své postavení v selektované skupině žen peri a postmenopauzálních, tedy v kohortě s nejvyšší incidencí endometriálního karcinomu. Během tohoto vyšetření posuzujeme výšku děložní sliznice, její homogenitu, ohraničení, a rovněž abnormality děložní svaloviny. Za horní hranici normy je považována výška endometria do 5 mm resp. 5,15 mm /při této hodnotě je senzitivita 80,5% a specificita 86,2% pro endometriální patologie/[56]. Vždy je ale nutné zjištěný nález vztáhnout k symptomatologii pacientky. U asymptomatických žen je možné tolerovat i vyšší výšku endometria /až 8mm/.

U žen s Lynchovým II syndromem a nositelek BRCA mutací patří sonografie, biopsie endometria a stanovení hladin markeru CA 125 do pravidelného sledování.

6 Závěr

Nejdůležitější závěry vycházející z naší práce týkající se ovariálního karcinomu

Hlavním problémem sledování významu a použitelnosti nádorových markerů u nemocných s ovariálním karcinomem je relativně nízký počet nemocných s časným stadiem onemocnění. Tento problém se projeví při porovnání relativně malého počtu nádorových výsledků s prakticky neomezeně možným počtem vyšetření u benigních onemocnění. To vždy vede ke značným rozdílům v senzitivitách a specificitách nádorových markerů, které se i v našich souborech výrazně měnily v závislosti na velikosti souborů. Malé soubory nám např. neumožnily korelovat nálezy s histologickým typem nádoru.

- HE4 - ELISA metoda na stanovení HE4 od výrobce Fujirebio /Švédsko/ má senzitivitu 73,3% při 95 % specificitě pro diferenciální diagnostiku ovariálního karcinomu proti benigním ovariálním lézím
- CA 125 stanovovaný chemiluminiscenční metodou od firmy Beckman Coulter měl senzitivitu 89,5% při 95 % specificitě pro diferenciální diagnostiku ovariálního karcinomu proti benigním ovariálním lézím
- Monototal cytokeratinový fragment jako jediný z dalších námi sledovaných markerů měl senzitivitu nad 50 % a to 63%, při senzitivitě 95%.
- V anamnéze a při fyzikálním vyšetření nemocných bychom měli aktivně zjišťovat, zda nejsou přítomny chronická onemocnění ledvin, jater, jakákoliv zánětlivá či nádorová onemocnění serózních blan, kardiální dekompenzace pokročilého stadia. Tato zjištění jsou důležitá pro rozhodování o indikaci nádorových markerů, jak je uvedeno v následujících třech bodech.
- HE4 a CA 125 nevyšetřovat při renálních onemocněních s poruchou funkce ledvin: Hladina při ledvinném selhání bývá extrémně vysoká a nehodnotitelná. V tomto případě se musíme obejít bez pomoci nádorových markerů.

- CA 125 nevyšetřovat především u všech nemocných s jakýmkoliv drážděním serózních blan bez ohledu na etiologii. Rovněž neprovádět vyšetření u všech chronických onemocnění ledvin, jater a chronické kardiální dekompenzaci.
- Při endometrióze, adnexálních zánětů apod. je vyšetření obou markerů tj. CA 125 a HE4 možné, i když musíme počítat s vysokým procentem nesprávné pozitivitu u CA 125. Výrazný rozpor ve výsledku, tedy normální hodnota HE4 a vysoká hodnota CA 125 nám může pomoci při upřesnění diagnózy.
- Referenční cut-off v naší laboratoři používáme pro HE4 89 pmol/l, a pro CA 125 35 IU/ml. Hranice u obou biomarkerů používáme bez rozlišení na pre a post menopauzální. Ve shodě se zahraničními pracovišti se však jeví jako přínosný posun horní hranice normy u premenopauzální skupiny na hodnoty cca dvojnásobné, tj. 70-80 IU/l. Hranice normy pro ROMA1 je < 7.4 %, ROMA2 < 25,3 %. Minimálně ve sporných případech, zda se jedná o pre nebo postmenopauzální ženu, je nutno vyšetřit FSH, cut-off je 22 IU /l resp. 40 IU/l.
- Námi zjištěné nejvyšší senzitivity markerů CA 125 a HE4 při použití chemiluminiscenční metody na přístroji Architect 1000i (Abbott, USA) při 95% specificitě dosáhly hodnot 84,6% resp. 76,9% pro kohortu postmenopauzálních žen
- ROMA index je přínosnější ve skupině postmenopauzálních pacientek vzhledem k vysokému podílu benigních stavů zvyšujících hladiny markeru CA 125 v kohortě fertálních žen
- Při monitoraci v rámci follow-up se daleko více osvědčuje vyšetření HE4 , které až o 6 měsíců předchází progresi onemocnění, koreluje s průběhem onemocnění a nenalezli jsme nesprávnou negativitu ani pozitivitu. Vyšetření ROMA indexu ani vyšetření FSH nemá diagnostický přínos při follow-up ovariálního karcinomu
- Při současném stavu poznání není možné screening ovariálního karcinomu postavit na plošném vyšetřování nádorových markerů

Nejdůležitější závěry vycházející z naší práce týkající se endometriálního karcinomu

Pro širší zpracování markerů CA125 a HE4 do klinického vyšetřování symptomatických pacientek či asymptomatických žen s abnormálním ultrazvukovým obrazem a dále do předoperačního vyšetřovacího schématu, jsou naše výsledky nedostačující a je nutné vyhodnocení většího souboru pacientek a popřípadě i multicentrická studie.

- V našem pilotním souboru jsme zjistili, že současné vyšetření biomarkerů HE4 a CA125 může přispět k prebiptické verifikaci sonografického nálezu, jakožto korelát odrazu benigního či maligního procesu podílejícího se právě na sonografickém abnormálním nálezu a klinické symptomatologii. V některých případech mohou markery upřesnit předoperační staging endometriálního karcinomu jakožto přidaná hodnota k hraničním výsledkům rutinně prováděných obligatorních vyšetření.

7 Seznam použité literatury

1. REGISTRY, N.C. Cancer Incidence 2010, in *Health Statistics 2013: Czech republic*, Prague.
2. JURGA, L.M., *Klinická a radiačná onkológia 2010*, Martin: Osveta.
3. CIBULA, D., PETRUŽELKA, L. *Onkogynekologie*, 2009, Grada Publishing, a.s.: Praha.
4. AYHAN, A., REED, N., GULTEKIN, M., et al. *Textbook of Gynaecological Oncology*. Vol. 2. 2012, Ostim/Ankara/Turkey: Günes Publishing. 1138.
5. YURKOVETSKY, Z., SKATES, S., LOMAKIN, A., et al. Development of a multimarker assay for early detection of ovarian cancer. *J Clin Oncol*, 2010, **28**(13), p. 2159-2166.
6. NOLEN, B., VELIKOKHATNAYA, L., MARRANGONI, A., et al. Serum biomarker panels for the discrimination of benign from malignant cases in patients with an adnexal mass. *Gynecol Oncol*, 2010, **117**(3), p. 440-445.
7. RACEK, J., et al. *Klinická biochemie 1999*, Praha: Galén. 317.
8. BAST, R.C., JR., KLUG, T.L., ST JOHN, E., et al. A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med*, 1983, **309**(15), p. 883-887.
9. FRITSCHÉ, H.A. a BAST, R.C. CA 125 in ovarian cancer: advances and controversy. *Clin Chem*, 1998, **44**(7), p. 1379-1380.
10. STURGEON, C.M., DUFFY, M.J., STENMAN, U.H., 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**(12), p. e11-79.

11. DUFFY, M.J., BONFRER, J.M., KULPA, J., et al. CA125 in ovarian cancer: European Group on Tumor Markers guidelines for clinical use. *Int J Gynecol Cancer*, 2005, **15**(5), p. 679-691.
12. VAN CALSTER, B., TIMMERMAN, D., BOURNE, T., et al. Discrimination between benign and malignant adnexal masses by specialist ultrasound examination versus serum CA-125. *J Natl Cancer Inst*, 2007, **99**(22), p. 1706-1714.
13. VAN CALSTER, B., VALENTIN, L., VAN HOLSBEKE, C., et al. A novel approach to predict the likelihood of specific ovarian tumor pathology based on serum CA-125: a multicenter observational study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2011, **20**(11), p. 2420-2428.
14. VAN DER ZEE, A.G., COLOMBO, N., GITSCH, G., et al. ESGO statement on the role of CA-125 measurement in follow-up of epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*, 2012, **22**(1), p. 175.
15. VERHEIJEN, R.H., CIBULA, D., ZOLA, P., et al. Cancer antigen 125: lost to follow-up?: a European society of gynaecological oncology consensus statement. *Int J Gynecol Cancer*, 2012, **22**(1), p. 170-174.
16. KALOGERA, E., SCHOLLER, N., POWLESS, C., et al. Correlation of serum HE4 with tumor size and myometrial invasion in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*, 2012, **124**(2), p. 270-275.
17. KIRCHHOFF, C., HABBEN, I., IVELL, R., et al. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular proteinase inhibitors. *Biol Reprod*, 1991, **45**(2), p. 350-357.
18. HELLSTROM, I., RAYCRAFT, J., HAYDEN-LEDBETTER, M., et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. *Cancer Res*, 2003, **63**(13), p. 3695-3700.
19. CLAUSS, A., LILJA, H. a LUNDWALL, Å. The evolution of a genetic locus encoding small serine proteinase inhibitors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2005, **333**(2), p. 383-389.

20. BINGLE, L., CROSS, S.S., HIGH, A.S., et al. WFDC2 (HE4): a potential role in the innate immunity of the oral cavity and respiratory tract and the development of adenocarcinomas of the lung. *Respir Res*, 2006, **7**, p. 61.
21. DRAPKIN, R., VON HORSTEN, H.H., 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**(6), p. 2162-2169.
22. MOORE, R.G., BROWN, A.K., MILLER, M.C., et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecologic Oncology*, 2008, **108**(2), p. 402-408.
23. ANASTASI, E., MARCHEI, G.G., VIGGIANI, V., et al. HE4: a new potential early biomarker for the recurrence of ovarian cancer. *Tumour Biol*, 2010, **31**(2), p. 113-119.
24. MOORE, R.G., MCMEEKIN, D.S., BROWN, A.K., 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**(1), p. 40-46.
25. JACOBS, I.J. a MENON, U. Progress and challenges in screening for early detection of ovarian cancer. *Mol Cell Proteomics*, 2004, **3**(4), p. 355-366.
26. BAST, R.C., JR., BADGWELL, D., LU, Z., et al. New tumor markers: CA125 and beyond. *Int J Gynecol Cancer*, 2005, **15 Suppl 3**, p. 274-281.
27. ROSENTHAL, A.N., MENON, U. a JACOBS, I.J. Screening for ovarian cancer. *Clin Obstet Gynecol*, 2006, **49**(3), p. 433-447.
28. ESCUDERO, J.M., AUGÉ, J.M., FILELLA, X., et al. Comparison of serum human epididymis protein 4 with cancer antigen 125 as a tumor marker in patients with malignant and nonmalignant diseases. *Clin Chem*, 2011, **57**(11), p. 1534-1544.
29. SANDRI, M.T., BOTTARI, F., FRANCHI, D., et al. Comparison of HE4, CA125 and ROMA algorithm in women with a pelvic mass: correlation with pathological outcome. *Gynecol Oncol*, 2013, **128**(2), p. 233-238.

30. CHANG, X., YE, X., DONG, L., et al. Human epididymis protein 4 (HE4) as a serum tumor biomarker in patients with ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Cancer*, 2011, **21**(5), p. 852-858.
31. PARTHEEN, K., KRISTJANSDOTTIR, B. a SUNDFELDT, K. Evaluation of ovarian cancer biomarkers HE4 and CA-125 in women presenting with a suspicious cystic ovarian mass. *J Gynecol Oncol*, 2011, **22**(4), p. 244-252.
32. SEDLACZEK, P., FRYDECKA, I., GABRYS, M., et al. Comparative analysis of CA125, tissue polypeptide specific antigen, and soluble interleukin-2 receptor alpha levels in sera, cyst, and ascitic fluids from patients with ovarian carcinoma. *Cancer*, 2002, **95**(9), p. 1886-1893.
33. MOORE, R.G., MILLER, M.C., DISILVESTRO, P., et al. Evaluation of the diagnostic accuracy of the risk of ovarian malignancy algorithm in women with a pelvic mass. *Obstet Gynecol*, 2011, **118**(2 Pt 1), p. 280-288.
34. ČEPICKÝ, P., BURDOVÁ, M., CIBULA, D., et al. Doporučení k hormonální terapii a substituci perimenopauzy a postmenopauzy. *Česká gynekologie*, 2006, **71**(2), p. 150-152.
35. DUK, J.M., AALDERS, J.G., FLEUREN, G.J., et al. CA 125: a useful marker in endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol*, 1986, **155**(5), p. 1097-1102.
36. NILOFF, J.M., KLUG, T.L., SCHAETZL, E., et al. Elevation of serum CA125 in carcinomas of the fallopian tube, endometrium, and endocervix. *Am J Obstet Gynecol*, 1984, **148**(8), p. 1057-1058.
37. HAWKINS, R.E., ROBERTS, K., WILTSHAW, E., et al. The clinical correlates of serum CA125 in 169 patients with epithelial ovarian carcinoma. *Br J Cancer*, 1989, **60**(4), p. 634-637.
38. RUSTIN, G.J., NELSTROP, A.E., TUXEN, M.K., et al. Defining progression of ovarian carcinoma during follow-up according to CA 125: a North Thames Ovary Group Study. *Ann Oncol*, 1996, **7**(4), p. 361-364.

39. RUSTIN, G.J., MARPLES, M., NELSTROP, A.E., et al. Use of CA-125 to define progression of ovarian cancer in patients with persistently elevated levels. *J Clin Oncol*, 2001, **19**(20), p. 4054-4057.
40. GALGANO, M.T., HAMPTON, G.M. a FRIERSON, H.F., JR. Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues. *Mod Pathol*, 2006, **19**(6), p. 847-853.
41. DESOUZA, L.V., GRIGULL, J., GHANNY, S., et al. Endometrial carcinoma biomarker discovery and verification using differentially tagged clinical samples with multidimensional liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics*, 2007, **6**(7), p. 1170-1182.
42. LI, H., DESOUZA, L.V., GHANNY, S., et al. Identification of candidate biomarker proteins released by human endometrial and cervical cancer cells using two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Proteome Res*, 2007, **6**(7), p. 2615-2622.
43. MOORE, R.G., BROWN, A.K., MILLER, M.C., et al. Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Gynecol Oncol*, 2008, **110**(2), p. 196-201.
44. POWELL, M.A. Lymph node dissection in endometrial cancer treatment--to do or not to do, that remains the question. *Gynecol Oncol*, 2012, **127**(1), p. 1-2.
45. BENEDETTI PANICI, P., BASILE, S., MANESCHI, F., et al. Systematic pelvic lymphadenectomy vs. no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst*, 2008, **100**(23), p. 1707-1716.
46. GINATH, S., MENCZER, J., FINTSI, Y., et al. Tissue and serum CA125 expression in endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer*, 2002, **12**(4), p. 372-375.
47. SOOD, A.K., BULLER, R.E., BURGER, R.A., et al. Value of Preoperative CA 125 Level in the Management of Uterine Cancer and Prediction of Clinical Outcome. *Obstetrics & Gynecology*, 1997, **90**(3), p. 441-447.

48. HSIEH, C.-H., CHANGCHIEN, C.-C., LIN, H., et al. Can a Preoperative CA 125 Level Be a Criterion for Full Pelvic Lymphadenectomy in Surgical Staging of Endometrial Cancer? *Gynecologic Oncology*, 2002, **86**(1), p. 28-33.
49. VUENTO, M.H., STENMAN, U.-H., PIRHONEN, J.P., et al. Significance of a Single CA 125 Assay Combined with Ultrasound in the Early Detection of Ovarian and Endometrial Cancer. *Gynecologic Oncology*, 1997, **64**(1), p. 141-146.
50. NOVOTNY, Z., PRESL, J., KUCERA, R., et al. HE4 and ROMA index in Czech postmenopausal women. *Anticancer Res*, 2012, **32**(9), p. 4137-4140.
51. BIGNOTTI, E., RAGNOLI, M., ZANOTTI, L., et al. Diagnostic and prognostic impact of serum HE4 detection in endometrial carcinoma patients. *Br J Cancer*, 2011, **104**(9), p. 1418-1425.
52. MOORE, R.G., MILLER, C.M., BROWN, A.K., et al. Utility of tumor marker HE4 to predict depth of myometrial invasion in endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Int J Gynecol Cancer*, 2011, **21**(7), p. 1185-1190.
53. KITCHENER, H., SWART, A.M., QIAN, Q., et al. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet*, 2009, **373**(9658), p. 125-136.
54. QUERLEU, D. a MORROW, C.P. Classification of radical hysterectomy. *Lancet Oncol*, 2008, **9**(3), p. 297-303.
55. DISAIA, P., CREASMAN, W.T. *Clinical Gynaecologic Oncology*. 7 ed2007, Philadelphia: Mosby.
56. JACOBS, I., GENTRY-MAHARAJ, A., BURNELL, M., et al. Sensitivity of transvaginal ultrasound screening for endometrial cancer in postmenopausal women: a case-control study within the UKCTOCS cohort. *Lancet Oncol*, 2011, **12**(1), p. 38-48.

8 Seznam vlastních publikací a prezentací tématu

8.1 Publikace s IF

Novotny Z, **Presl J**, Kucera R, Topolcan O, Vrzalova J, Fuchsova R, Betincova L, Rokyta Z.: HE4 and ROMA index in Czech postmenopausal women. *Anticancer Res.* 2012 Sep;32(9):4137-40. IF 1,725

Presl J, Novotny Z, Topolcan O, Vlasak P, Kucera R, Vrzalova J, Fuchsova R, Betincova L: CA125 and HE4 in the preoperative management of endometrial cancer. *Anticancer Res.* IF 1,713 – článek přijat k tisku

8.2 Publikace v recenzovaných časopisech a ostatní

Presl J., Kučera R., Topolčan O., Novotný Z., Vrzalová J., Fuchsova R., Betincová L., Rokyta Z.: HE4 –biomarker ovariálního karcinomu. *Česká gynekologie*, 77:445-9, 2012

Kučera R., **Presl J.**, Topolčan O., Novotný Z., Fuchsová R., Vrzalová J., Betincová L., Rokyta Z.: Změny sérových hladin nádorových markerů u ovariálního karcinomu a benigních onemocnění, *Klin. Biochem. Metab.*, 20 (41), 2012, No. 3, p. 170–173.

Kučera R., Topolčan O., **Presl J.**, Novotný Z., Svobodová Š., Vrzalová J., Fuchsová R., Betincová L., Rokyta Z.: Klinický přínos ROMA indexu při diagnostice ovariálního karcinomu, *Klin. Biochem. Metab.*, 20 (41), 2012, No. 4, p. 248-251.

R. Kucera, O. Topolcan, S. Svobodova, **J. Presl**, R. Fuchsova, J. Vrzalova, Z. Rokyta, L. Betincova, Z. Novotny: HE4 and other markers in ovarian cancer ; sborník - 17th World

congress on controversies in obstetrics, gynecology & infertility (COGI), 8.-11.11.2012, Lisabon

O. Topolčan, R. Kucera, **J. Presl**, R. Fuchsova, J. Vrzalova, Z. Novotny, Z. Rokyta, L. Betincova: ROMA2 index in post-menopausal women; sborník - 17th World congress on controversies in obstetrics, gynecology & infertility (COGI), 8.-11.11.2012, Lisabon

Presl J., Karlíková M. et al.: Karcinom ovaria – kapitola k publikaci Biomarkery u karcinomu prsu, ovarii a prostaty. Tribun EU, 2012

8.3 Abstrakta a postery

2010

Novotný Z., Topolčan O., Vrzalová J., **Presl J.**, Časová M., Kokeš V., Rokyta Z., Pražáková M., Svobodová S.: HE4 – New tumor marker. CD of abstracts + poster. 13th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society 2010, Praha s.1348

Novotný Z., Topolčan O., Vrzalová J., **Presl J.**, Časová M., Kokeš V., Rokyta Z., Pražáková M., Svobodová S.: HE4 a new tumor marker in ovarian cancer. Poster. 17. Jihočeských onkologických dnů v Českém Krumlově, říjen 2010

Novotný Z., Topolčan O., Vrzalová J., **Presl J.**, Časová M., Kokeš V., Rokyta Z., Pražáková M., Svobodová S.: HE4 a new tumor marker in ovarian cancer. 23.-26.10.2010, Poster. 13th Biennial Meeting of International Gynecologic Cancer Society /IGCS 2010/ v Praze

Vrzalová J., Novotný Z., **Presl J.**, Kokeš V., Rokyta Z., Pražáková M., Pešta M., Svobodová S.: The test of multiplex panel for ovarian carcinoma. Poster. 13th Biennial Meeting of International Gynecologic Cancer Society /IGCS 2010/ v Praze

2011

Presl J., Topolčan O., Novotný Z., Vrzalová J., Kokeš V., Pražáková M., Časová M., Svobodová S., Rokyta Z.: HE4 - The new way to diagnosis. The 17th International Meeting of the European society of gynaecological oncology, Itálie, Miláno, CD abstrakt 2011 s.:64

Presl J., Topolčan O., Novotný Z., Vrzalová J., Kokeš V., Pražáková M., Časová M., Svobodová S., Rokyta Z.: HE4 – nová cesta k diagnóze? 1.Konference nemocničních gynekologů a porodníků. Praha, abstrakt 2011

Presl J., Topolčan O., Novotný Z., Vrzalová J., Kokeš V., Pražáková M., Časová M., Svobodová S., Rokyta Z.: Clinical use of HE4. International Conference on Ovarian Cancer Screening; Anglie, Londýn, CD abstrakt 2011

2012

S. Svobodova, R. Kucera, O. Topolcan, **J. Presl**, R. Fuchsova, J.Vrzalova, Z. Rokyta, L. Betincova, Z. Novotny: Comparison of HE4 with other tumor markers in ovarian cancer diagnostics, ISOBM, Jeruzalem, 2012

R. Kucera, O. Topolcan, S. Svobodova, **J. Presl**, R. Fuchsova, J. Vrzalova, Z. Rokyta, L. Betincova, Z. Novotny: HE4 and other markers in ovarian cancer ; sborník - 17th World congress on controversies in obstetrics, gynecology & infertility (COGI), 8.-11.11.2012, Lisabon

O. Topolčan, R. Kucera, **J. Presl**, R. Fuchsova, J. Vrzalova, Z. Novotny, Z. Rokyta, L. Betincova: ROMA2 index in post-menopausal women; sborník - 17th World congress on controversies in obstetrics, gynecology & infertility (COGI), 8.-11.11.2012, Lisabon

J. Presl, O. Topolčan, Z. Novotny, J. Vrzalova, R. Fuchsova, M. Casova, S. Svobodova, Z. Rokyta: Human epididymis protein 4 (HE4) as a biomarker in patients with ovarian cancer in the population of Czech women, 14th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society (IGCS), Vancouver, 2012

2013

J. Presl, Z. Novotny, O. Topolčan, P. Vlasak, R. Kucera, R. Fuchsova, J. Vrzalova, L. Betincova: CA125 and HE4 in the preoperative management of endometrial cancer, The 18th International Meeting of the European society of gynaecological oncology, Velká Británie, Liverpool, 2013 /poster/

8.4 Přednášky

Presl J.: Nádory ovaria a sérové nádorové markery, nový marker HE4. Přednáška v rámci kurzu „Využití imunoanalýzy v onkologii“ – projekt OPVK 2.3 – Imunoanalýza v klinické praxi – cyklus kurzů pro lékaře a odborné pracovníky ve výzkumu /bez sborníku abstrakt/

Presl J.: Nový nádorový marker HE4 a nádory ovaria. Přednáška, XV. Pracovní setkání gynekologů. Plzeň, prosinec 2010 /bez sborníku abstrakt/

Presl J., Topolčan O., Novotný Z., Vrzalová J., Kokeš V., Pražáková M., Časová M., Svobodová S., Rokyta Z.: HE4 – nová cesta k diagnóze?; 1.Konference nemocničních gynekologů a porodníků. Praha, 2011

Presl J., Vlasák P., Novotný Z., Topolčan O.: Využití biomarkerů HE4 a CA 125 k predikci myometriální invaze, velikosti tumoru a volbě terapie endometriálního karcinomu; Celostátní konferenci SNGP /Sdružení nemocničních gynekologů a porodníků/, Přerov, 2.-4.11.2012

Presl J., Vlasák P., Novotný Z., Topolčan O.: Využití biomarkerů HE4 a CA 125 k predikci myometriální invaze, velikosti tumoru a volbě terapie endometriálního karcinomu; Imunoanalytické dny, Plzeň, 14.-16.4.2013

Clinical use of HE4

Presl J.¹, Topolcan O.², Novotny Z.¹, Vrzalova J.², Svobodova S.², Betincova L.¹, Casova M.², Kokes V.¹, Rokyta Z.¹

¹ Department of Obstetrics and Gynaecology Faculty Hospital and Charles University Prague - Medical Faculty Pilsen Czech Republic

² Department of Nuclear Medicine Faculty Hospital and Charles University Prague - Medical Faculty Pilsen Czech Republic

Sponsored by research project VZ MSM 0021620819, grant project NS10258-3 and EPMA (European Association for Predictive, Preventive & Personalized Medicine)

Address: ^{1, 2} - Alej Svobody 80, Pilsen, 30460, Czech republic, preslj@fnplzen.cz

Aim of study 1: To compare the new tumor marker HE4 with CA 125 and to evaluate false positivity of HE4 and to compare it with false positivity of CA125.

Aim of study 2: To evaluate use of HE4 for routine practice.

Ovarian cancer was the 6th malignant tumor in women between 2001 and 2007 in Czech republic. Incidence rate in Czech republic is the 2nd worse in Europe after Lithuania. Situation in our Department of Ob/Gyn. during the years:

Absolute numbers of patients with ovarian cancer and mortality in the Czech Republic during the years.

2008

All Cancer Types: 182 patients
Ovarian cancer: 56 patients

2010

All Cancer Types: 202 patients
Ovarian cancer: 69 patients

Year	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2007
Incidence	1240	1200	1244	1260	1265	1121	1185
Deaths	719	795	727	792	743	749	748

Groups of patients - Study 1 (2008)

- 19 women with ovarian cancer FIGO stage II - III (S1)
- 72 women with benign ovarian tumors verified histology (S2)
- 50 women with cervical cancer (S4)
- 53 pregnant women
 - 22 pregnant women I. trimester
 - 20 pregnant women II. trimester
 - 7 women during delivery
 - 4 women with abortion
- 17 women with endometriosis
- 25 women with renal failure
- 30 women with cardiac failure

Groups of patients - Study 2 - July 2010 - September 2011

- 299 women with benign pelvic mass - not verified histology - Group 1
- 134 women with benign ovarian tumor or cyst - verified histology - Group 2
- 30 women with ovarian cancer - FIGO stage II - III - verified histology - Group 3
- 5 women with ovarian border-line tumor - primary detection - Group 4
- 16 women with endometriosis - Group 5
- 15 women with cervical cancer - Group 6

Pre - postmenopausal status

Group	n	Age	ESH	KIU/L
		<50	<50	<40
		<50	>40	<30
		>40	<30	>30
1	399	147	154	195
		104	159	140
3	134	72	62	90
		43	77	57
2+3	430	209	224	285
		145	236	197
4	30	6	24	12
		18	6	24

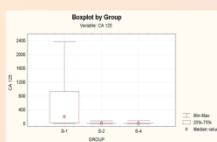
Methods

Parameter	Assay	Company	Units
HE4	ESA	PIVDRESD Diagnostica	ng/L
CA125	LSA	Beckman DxC 800	U/ml
FSH	LSA	Beckman DxC 800	U/ml
HE4	CMIA	Abbott Architect 100	ng/L
CA125	CMIA	Abbott Architect 100	U/ml
FSH	LSA	Beckman DxC 800	U/ml

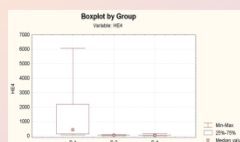
Study I: women were not divided into subgroups pre- and postmenopausal and ROMA index was not calculated

Study II: women were divided into subgroups pre- and postmenopausal, ROMA index was calculated. FSH was used to determine the exact menopausal status.

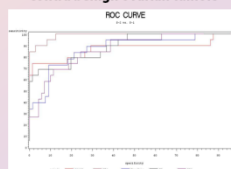
Box plot CA 125



Box plot HE4



Malignant ovarian tumors contra benign ovarian tumors



Study I - results: Clinical significance of tumor markers

Marker	Optimal Cut-off	Specificity	Sensitivity	AUC
HE4	89	97	89	0.9814
CA 125	47	97	74	0.8638

Study 1 - results:

53 women with pregnancy increased values:
CA 125 18 cases (34%)
HE4 no elevation

25 women with renal failure increased values:
CA 125 all values increased
HE4 all values above calibration curve range

17 women with endometriosis increased values:
CA 125 in 12 cases (71%)
HE4 in only 1 case (6%)

30 women with cardiac failure increased values:
CA 125 in 18 cases (60%)
HE4 in only 3 cases (10%)

HE4

Group	n	Mean	SD	Median	Quartil	Min - Max	Stat. Sign.
1	299	50	40.77	38	30	49	3-119
2	134	194	64.94	92	50	95	3-331
3	30	145	593.00	81	40	560	25-1971
4	5	50	85.91	44	38	68	52-297
5	16	34	9.34	31	26	54	27-91
6	17	179	63.83	92	79	146	59-244
7+8	430	51	59.62	30	28	49	3-121

CA125

N	Mean	SD	Median	Quartil	Min - Max	Stat. Sign.	
1	299	54	77.39	50	35	3-274	
2	134	185	180.95	96	9	23	3-977
3	30	2337	2252	111	56	934	7-4460
4	5	399	363.95	180	70	175	14-1049
5	16	169	48.52	49	29	60	19-195
6	17	181	49.28	91	19	47	30-195
7+8	430	39	145.07	16	11	27	3-977

Ovarian border-line tumors

	CA 125	HE4	ROMA 1	ROMA 2	FSH
1	116	32	3,1	26,8	81,2
2	14	44	5,6	9,8	86,0
3	33	297	85,4	59,7	97,4
4	173	68	16,3	51,8	73,9
5	189	70	17,4	54,1	83,4

Endometriosis

	CA 125	HE4	ROMA 1	ROMA 2	FSH
1	45	18	0,8	9,1	10,1
2	15	26	1,7	6,2	4,4
3	38	25	1,6	11,1	9,2
4	45	46	6,6	21,1	5,9
5	68	32	3,0	19,8	8,2
6	25	28	2,0	9,4	5,1
7	45	27	2,0	13,3	2,1
8	77	30	2,6	20,2	4,1
9	15	40	4,5	9,4	15,4
10	195	37	4,4	38,3	5,2
11	52	30	2,5	16,0	4,8
12	39	38	4,3	16,4	5,8
13	16	48	6,8	11,6	6,7
14	142	51	8,9	40,8	3,4
15	39	27	1,9	12,1	1,6
16	33	41	5,0	15,9	2,4

Ovarian cancer - tumor markers and ROMA index

No.	CA125	HE4	ROMA 1	ROMA 2	FSH
1	56	72	17,2	33,3	89,5
2	90	44	6,2	29,7	2,7
3	755	1500	99,7	98,7	121,6
4	16	35	3,3	8,6	76,2
5	10	35	3,2	6,3	77,6
6	105	45	6,6	32,6	31,2
7	1000	143	56,1	89,4	60,0
8	934	96	27,5	82,5	20,9
9	33	297	85,4	59,7	97,4
10	11	42	5,0	8,0	53,5
11	44850	1850	99,9	100,0	57,5
12	83	40	5,0	26,5	8,1
13	77	312	87,4	74,3	95,1
14	65	185	66,5	59,7	26,7
15	32	77	19,1	26,2	87,3
16	1593	1971	99,9	99,4	52,5
17	2453	542	97,0	98,5	54,7
18	109	152	47,9	60,4	23,3
19	8252	600	97,8	99,4	37,5
20	656	719	98,3	97,1	61,9
21	4455	1462	99,7	99,6	13,0
22	346	58	12,2	60,2	43,5
23	2807	566	97,3	98,7	38,0
24	172	66	15,4	50,9	25,0
25	113	46	7,0	34,3	5,9
26	798	405	93,7	95,5	69,5
27	109	26	1,8	22,0	10,1
28	130	1199	99,4	94,5	5,5
29	7	25	1,5	3,5	54,9
30	19	37	3,8	10,2	71,4

Conclusions: HE4 has the highest sensitivity for detecting ovarian cancer. Combined with CA 125 it was found to be more accurate predictor of malignancy than either alone. HE4 has a higher specificity than CA125. Reliability of ROMA index increased with the concurrent FSH assessment in order to differentiate the pre- and postmenopausal status. The optimal cut-off for HE4 appears to be 79 IU / l. The optimal cut-off for ROMA1 is 7.49% and 24.1% for ROMA2. ROMA increases the sensitivity of CA 125 + HE4 in the differential diagnosis of abdominal resistance, but HE4 is more specific. ROMA can not be used in patients with negative tumor markers. HE4 elevation precedes the elevation of CA125 or the onset of clinical symptoms or recurrence of malignancy discovered by imaging



CA125 and HE4 in the preoperative management of endometrial cancer

JIRI PRESL¹, ZDENEK NOVOTNY¹, ONDREJ TOFOULANY¹, PAVEL LADAKY¹, RADEK KUCERA¹, JINDRA VEZALOVA¹, RADKA FUCHSOVA¹, LUCIE BETNOVA¹
¹Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty Hospital in Pilsen, Pilsen, Czech Republic
²Laboratory of Immunobiology, Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic



BACKGROUND

Endometrial cancer is the most common gynecologic malignancy in the Czech Republic. According to the last data from the National Oncologic Register from 2010, its incidence is 34.86/100000 women, which corresponds to 1870 newly diagnosed patients per year. The mortality is around 5.48/100000 women, which in absolute numbers means that 294 patients die from endometrial malignancy every year. Patients in the 5th and 6th decade of their life have the highest incidence of the disease. Only 20-25% of patients are diagnosed before menopause.

AIMS

At present, no ideal serum biomarker for endometrial cancer management is used in clinical practice. The aim of our study was to compare use of biomarkers HE4 and CA125 in preoperative management of patients diagnosed with endometrial cancer and to focus mainly on the association of CA125 and HE4 with the staging of the disease, i.e. prediction of myometrial invasion or extrauterine growth of the tumor.

MATERIALS & METHODS

A total of 34 patients diagnosed with endometrial carcinoma and 32 healthy controls were enrolled in the pilot study in the period from May 2012 until March 2013. The mean age was 58.5 (37.0 – 79.0) years in the group of healthy women, and 65.0 (43.0 – 88.0) years in the group of women with endometrial cancer. Age distribution of both studied groups is demonstrated in Graph 1.

The following staging composition was found in women with endometrial cancer; stage IA in 18, IB in 8, II in 6, and IIIA in 2 women.

RESULTS

A highly significant difference in median serum levels of HE 4 between women with endometrial cancer and healthy controls (75.5 pmol/l vs. 40.0 pmol/l respectively, p<0.0001) was observed and is well demonstrated in box-plots in Graph 2 and Graph 3. On the other hand, the comparison of median CA125 was not statistically significant (19.0 IU/l vs. 15 IU/l respectively, p=0.4442).

Both markers correlated significantly with pathological staging of the disease (Spearman's correlation) as is demonstrated in Table 1. Sensitivity and specificity and corresponding cut-offs for both tumor markers are provided in Table 2. The table demonstrates that marker HE4 is superior in all aspects in the differential diagnosis between a benign and malignant endometrial finding.

Figure No. 1. Age distribution

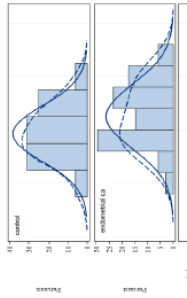
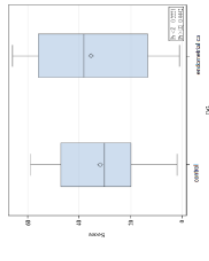


Figure No. 2. Distribution of P-fraction scores for CA 125



RESULTS (cont.)

Figure No. 3. Distribution of P-fraction scores for HE4

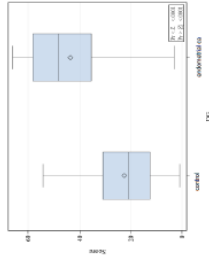


Table No. 1

Parameter	Spearman coefficient (r _s)	p-value
CA125	0.0120	0.0002
HE4	0.5947	0.0007

Table No. 2

Method	AUC	Cutoff	Specificity	Sensitivity	Pv+	Pv-
CA125	0.6099	32.00	93.7500	26.4706	01.9382	54.5445
		31.00	87.5000	32.3529	73.3333	54.9820
		42.00	88.8750	29.8565	67.5000	52.4483
HE4	0.8959	90.00	98.8750	41.1765	93.3333	60.7943
		62.00	98.8750	56.8284	86.9296	65.8991
		73.00	98.8750	52.8412	94.7268	65.8974
		49.00	78.1250	79.4118	79.4118	71.1250

CONCLUSION

In our pilot study we were able to demonstrate that simultaneous examination of biomarkers HE4 and CA125 may contribute to preoperative verification of the ultrasound examination of endometrial abnormalities. In some cases the markers can improve the preoperative staging of the endometrial carcinoma as an added value to borderline results of routinely performed obligatory examinations. Nonetheless, the data is not sufficient for general incorporation of the markers into clinical investigation of symptomatic patients or asymptomatic women with abnormal ultrasound findings, but also into preoperative assessment of women diagnosed with endometrial cancer. The study is still ongoing at our department and we believe that a study on a larger population will enable incorporation of HE4 assessment into common practice.

Acknowledgements:
 Supported by MOH CR - RVO (Faculty hospital Pilsen - FNPI, 00669806)

REFERENCES

- REGISTRY A.C. Cancer incidence 2010. In: Health Data 2012/13. Czech Republic, Prague, 2012. Available at: <http://www.zdravotnicka-statistika.cz>.
- GRANTON-THORNTON J, BALLET S, MANDROVIC A, et al. Multicenter study of the prognostic value of CA125 in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2003; 90: 1071-1076.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- COOKS A, BOLLIGER R, BORDINO P, et al. Meta-analysis of CA125 levels in the management of endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.
- WANG S, HAN X, LIU X, et al. The association between CA125 and endometrial cancer: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1272-1276.

