

UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w
POZNANIU

Adam Malinger

**Ocena wybranych markerów nowotworowych u kobiet z
rakiem jajnika i innymi chorobami narządu rodne**

Rozprawa doktorska

Promotor: prof. dr hab. Tomasz Opala

Katedra Zdrowia Matki i Dziecka

Wydział Nauk o Zdrowiu

Poznań, 2014

POZNAN UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES

Adam Malinger

**Assessment of chosen ovarian cancer markers in women with
ovarian cancer and other gynecologic diseases.**

Doctoral dissertation

Supervisor: prof. dr hab. Tomasz Opala

Chair of Mother`s and Child`s Health

Faculty of Health Sciences

Poznań, 2014

*Składam serdeczne podziękowania
panu prof. dr hab. Tomaszowi Opali
za wszechstronną pomoc, wsparcie
i motywację w napisaniu tej pracy*

Spis treści

Wykaz skrótów użytych w niniejszej pracy.....	
1. Wstęp.....	1
1.1 Rak jajnika – epidemiologia i czynniki ryzyka.....	1
1.2 Rak jajnika – diagnostyka i przebieg kliniczny.....	2
1.3 Leczenie raka jajnika	4
1.3.1 Chirurgia w raku jajnika	6
1.3.2 Chemioterapia raka jajnika	9
1.3.3 Monitorowanie terapii.....	17
1.4 Biologia raka jajnika	18
1.4.1 Histopatologia raka jajnika	18
1.4.2 Nowe spojrzenie na pochodzenie i podział raka jajnika.....	22
1.4.3 Pochodzenie raka jajnika	23
1.5 Wczesne wykrycie raka jajnika.....	26
1.5.1 Znaczenie wczesnej diagnostyki raka jajnika.....	26
1.5.2 Screening raka jajnika	27
1.5.3 Różnicowanie zmian w obrębie przydatków	36
2. Cel pracy.....	41
3. Materiał i metody	42
4. Wyniki	45
4.1 Analiza wieku badanej populacji.....	45
4.2 Analiza poziomów Ca125 i HE4 w badanej populacji.....	47
4.2.1 Analiza poziomów Ca125 w badanej populacji	47
4.2.2 Analiza poziomów HE4 w badanej populacji.....	50
4.3 Analiza czułości i swoistości testów diagnostycznych	52
4.3.1. Analiza czułości i swoistości testów diagnostycznych u pacjentek bez ograniczeń wiekowych	52
4.3.2. Analiza czułości i swoistości testów diagnostycznych u pacjentek po menopauzie	55
4.4 Analiza krzywych ROC	57
4.4.1. Analiza krzywych ROC u pacjentek bez ograniczeń wiekowych.....	57
4.4.2. Analiza krzywych ROC u kobiet po menopauzie	62
5. Dyskusja	68
6. Wnioski.....	81

Streszczenie	82
Summary	84
Piśmiennictwo	86

Wykaz skrótów użytych w niniejszej pracy

ACOG	American College of Obstetricians and Gynecologists
CA125	Cancer Antigen 125 - antygen nowotworowy 125
BRCA 1 /BRCA2	BRCAst CAnCER 1 i 2 - geny człowieka, których mutacje mogą stać się przyczyną dziedzicznych form raka piersi i jajnika
ct DNA	circulating tumor DNA - krążące DNA guza
ECLIA	Immunoelktrochemiluminescencja
FGFR2	Fibroblast Growth Factor Receptor 2 - Receptor 2 czynnika wzrostu fibroblastów
FGR	Fibroblast Growth Factor - czynnik wzrostu fibroblastów
FIGO	International Federation of Gynecologists and Obstetricians - Międzynarodowa Federacja Ginekologów i Położników
HE4	Human Epidydimis Protein 4 - ludzkie białko najądrza 4
HGSC	High Grade Squamous Carcinoma - nabłonkowy rak jajnika wysokiego stopnia
LGSC	Low Grade Squamous Carcinoma - nabłonkowy rak jajnika niskiego stopnia
mi RNA	micro RNA
MMS	Multimodal Screening - screening multimodalny
OS	Overall Survival - całkowita przeżywalność pacjentów
PET	Positron Emission Tomography - pozytronowa tomografia emisyjna
PFS	Progression-Free Survival - czas przeżycia bez progresji nowotworu
PDGF	Platelet Derived Growth Factor - płytkopochodny czynnik wzrostu
PFI	Platinum Free Interval - czas do wystąpienia wznowy nowotworu jajnika
PLCO	Prostate, Lung, Ovarian, Colon – badanie w kierunku screeningu raka prostaty, płuc, jajnika i jelita grubego przeprowadzone w USA
PLD	Pegylated Liposomal Doxorubicine - pegylowana liposomalna Doksorubicyna
PPV	Positive Predictive Value - dodatnia wartość predykcyjna
RMI	Risk of Malignancy Index – wskaźnik ryzyka nowotworu
ROMA	Risk of Malignancy Algorithm - algorytm ryzyka raka jajnika
SN	Sensitivity - czułość
SP	Specificity - swoistość
STIC	Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma - Surowiczy, śródnabłonkowy rak jajowodu
STIL	Serous Tubal Intraepithelial Lesion - Surowicza zmiana w obrębie jajowodu
STIN	Serous Tubal Intraepithelial Neoplasia - Śródnabłonkowe, surowicze nowotworzenie w jajowodzie
TA-US	Trans-abdominal Ultrasound - ultrasonografia przezbrzuszną
TV-US	Trans-Vaginal Ultrasound - ultrasonografia przezpochwową
UKCTOCS	United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening - jedno z badań w kierunku screeningu raka jajnika przeprowadzane w Wielkiej Brytanii

UKFOCSS United Kingdom Familial Ovarian Cancer Screening Study - Badanie
screeningu raka jajnika u osób z obciążonym wywiadem rodzinnym

VEGF Vascular Endothelial Growth Factor - Naczyniowy czynnik wzrostu
śródbłónka

1. Wstęp

1.1 Rak jajnika – epidemiologia i czynniki ryzyka

Rak jajnika jest drugim co do częstości nowotworem kobiecych narządów rodnych [1]. Zdecydowana większość raków jajnika (95%) wywodzi się z komórek nabłonkowych. Pozostałe 5% pochodzi z innych typów komórek budujących jajnik [2]. Wśród nabłonkowych nowotworów jajnika rak surowiczy występuje najczęściej i stanowi około 75% wszystkich nowotworów tego narządu [3]. Na całym świecie rozpoznaje się rocznie około 225,000 przypadków raka jajnika, który prowadzi do śmierci około 140 000 kobiet [4]. W krajach rozwiniętych jest to drugi co do częstości nowotwór kobiecych narządów rodnych (zachorowalność: 9,4/100,000 kobiet; umieralność: 5,4/100,000). W krajach rozwijających się zajmuje on natomiast trzecie miejsce po raku szyjki macicy a zapadalność i umieralność na ten nowotwór jest o połowę mniejsza (zachorowalność: 5,0/100 000; umieralność: 3,1/100,000) [4]. Średni wiek w momencie rozpoznania wynosi około 63 lata [5]. Zachorowalność utrzymuje się na niskim poziomie do około 40 roku życia, po czym rośnie wraz z wiekiem do około 65 roku życia [5]. Życiowe ryzyko zachorowania na raka jajnika zostało oszacowane na ok 1,4% [5].

Czynniki warunkujące powstanie nowotworu złośliwego w obrębie jajników nie zostały do końca poznane. Do ogólnie przyjętych czynników ryzyka należą: wiek, wczesny wiek pierwszej miesiączki i późna menopauza, nierodność, niepłodność, endometrioza, zespół PCO, stosowanie hormonalnej terapii zastępczej, stosowanie wewnątrzmacicznej wkładki antykoncepcyjnej, palenie tytoniu, otyłość oraz czynniki genetyczne [6]. Wyróżnia się również czynniki zmniejszające ryzyko zachorowania na raka jajnika. Możemy do nich zaliczyć stosowanie doustnej antykoncepcji, wielodzietność i karmienie piersią [6].

1.2 Rak jajnika – diagnostyka i przebieg kliniczny

Dawniej pod pojęciem raka jajnika rozumiano guz o utkaniu nowotworowym wywodzący się z jajnika. Obecnie, z uwagi na wspólne cechy kliniczne, przebieg naturalny i leczenie, pod pojęciem raka jajnika rozumie się nowotwory wywodzące się z jajnika, jajowodu a także pierwotne nowotwory otrzewnej, które skutkują powstaniem guza nowotworowego w obrębie przydatków. Obraz kliniczny raka jajnika, może być ostry lub podostry. Pewna część tych nowotworów jest również wykrywana przypadkowo podczas zabiegów operacyjnych w obrębie jamy brzusznej.

Do ostrych objawów raka jajnika możemy zaliczyć wodobrzusze lub prześiek w jamie opłucnej, objawy niedrożności jelit oraz wystąpienie powikłań zakrzepowo-zatorowych przy braku innych czynników ryzyka. Objawy te często występują u pacjentów z zaawansowanym procesem nowotworowym i wymagają pilnej pomocy lekarskiej. Stwierdzenie prześieku w otrzewnej lub opłucnej powinno zakończyć się nakłuciem jednej z tych jam i pobraniem płynu do badania cytologicznego. Stwierdzenie komórek pochodzenia Müllerskiego sugeruje obecność raka jajnika i kieruje dalszą diagnostykę na narząd rodny. Innym często spotykanym objawem są nudności i wymioty spowodowane niedrożnością w skutek zajęcia jelit przez proces nowotworowy. Czasem, pierwszym objawem raka jajnika są powikłania zakrzepowo-zatorowe. W grupie 12 000 pacjentów z rakiem jajnika u 27 kobiet wystąpiły powikłania zakrzepowo-zatorowe w ciągu roku poprzedzającego diagnozę. Stanowi to trzykrotny wzrost ryzyka w stosunku do populacji ogólnej [7].

U większości pacjentów rak jajnika przebiega jednak w sposób podostry i skąpoobjawowy, co utrudnia rozpoznanie. Typowym dla raka jajnika jest wykrycie guza jajnika w badaniu ginekologicznym bądź obrazowym miednicy mniejszej. Guzy te są na ogół bezobjawowe. Czasami pacjenci skarżą się na bóle brzucha, powiększenie obwodu brzucha, wczesne uczucie sytości i zmiany rytmu wypróżnień bądź mikcji. Objawy te, choć bardzo nieswoiste mogą występować również we wczesnych stadiach choroby. Trwają prace mające na celu opracowanie testów wykorzystujących te objawy do rozpoznawania raka jajnika [8-10]. Rodzaj i nasilenie objawów nie korelują ze stopniem zaawansowania nowotworu. Patogeneza objawów brzusznych przy chorobie

ograniczonej do jajników nie jest znana. Wyżej wymienione objawy występują również w innych schorzeniach gastroenterologicznych, urologicznych i innych. Ten fakt sprawia, że rozpoznanie raka jajnika jest często opóźnione, co niekorzystnie wpływa na wyniki leczenia.

Pacjentki, u których podejrzewa się nowotwór jajnika powinny zostać poddane szczegółowej diagnostyce mającej na celu wykluczenie, bądź potwierdzenie raka. Podstawą rozpoznania jest operacja zwiadowcza z pobraniem biopsji i następowym badaniem histopatologicznym. Nie należy jednak wykonywać operacji u każdej pacjentki. Najpierw należy ocenić ryzyko wystąpienia raka jajnika poprzez poszukiwanie guza w obrębie przydatków, płynu w jamie otrzewnowej, bądź innych zmian mogących sugerować obecność raka jajnika. Podstawą tego etapu diagnostyki jest dokładny wywiad, badanie ginekologiczne z ultrasonografią przezpochwową. Często wykorzystuje się również ocenę poziomu markerów nowotworowych – Ca125 i HE4, mimo iż ich zastosowanie w tym przypadku nie jest zgodne ze wskazaniami rejestracyjnymi. Dopiero, gdy wyniki tych badań sugerują wystąpienie nowotworu przeprowadza się operację zwiadowczą. Celem operacji jest histopatologiczne potwierdzenie nowotworu, ocena stopnia zaawansowania oraz próba usunięcia zmiany w całości, bądź przeprowadzenia cytoredukcji. U pacjentów z wodobrzuszem bądź wysiękiem w opłucnej można wykonać paracentezę bądź torakocentezę celem pobrania płynu i badania na obecność komórek nowotworowych.

Nieleczony rak jajnika kończy się śmiercią. Z uwagi na fakt, że większość przypadków raka jajnika wykrywana jest w zaawansowanym stadium odległe wyniki leczenia są złe. Ogólny odsetek przeżyć pięcioletnich kształtuje się na poziomie 44,6% [5].

1.3 Leczenie raka jajnika

Ogólnie przyjęty standard leczenia raka jajnika zakłada pierwotną operację zwiadowczą mającą na celu histopatologiczne potwierdzenie choroby nowotworowej, ocenę stopnia jej zaawansowania (staging) oraz próbę usunięcia, bądź przeprowadzenia cytoredukcji guza. U pacjentek ze znacznym stopniem zaawansowania nowotworu wskazane jest zastosowanie adjuwantowej chemioterapii. Takie postępowanie skutkuje poprawą przeżywalności pacjentów [11]. Mimo to, jak wykazują badania, znaczna część kobiet nie jest leczona w sposób prawidłowy [12]. Istotne jest, aby pierwotne leczenie chirurgiczne i staging były wykonywane przez specjalistów w onkologii ginekologicznej, gdyż wykazano, że takie postępowanie wiąże się z lepszymi efektami terapii [13, 14].

Podstawą oceny stopnia zaawansowania raka jajnika jest system zaproponowany przez FIGO (Międzynarodowy Związek Położników i Ginekologów) [15]. System ten został przedstawiony w tabeli 1.

STOPIEŃ 1 - Guz ograniczony do jajnika/jajników	
1A	<ul style="list-style-type: none"> guz ograniczony do jednego jajnika; torebka nietknięta, brak guza na powierzchni jajnika; brak komórek nowotworowych w płynie otrzewnowym lub popłuczynach otrzewnowych
1B	<ul style="list-style-type: none"> guz ograniczony do obydwu jajników; torebka nietknięta, brak guza na powierzchni jajnika; brak komórek nowotworowych w płynie otrzewnowym lub popłuczynach otrzewnowych
1C	<ul style="list-style-type: none"> guz ograniczony do jednego lub obydwu jajników z jakkolwiek z następujących cech: przerwana torebka, guz na powierzchni jajnika; komórki nowotworowe w płynie otrzewnowym lub popłuczynach otrzewnowych
STAGE 2 – Guz zajmuje jeden lub obydwa jajniki z naciekaniem miednicy	
2A	<ul style="list-style-type: none"> naciekanie i/lub implanty w macicy i/lub jajowodzie; brak komórek nowotworowych w płynie otrzewnowym lub popłuczynach otrzewnowych
2B	<ul style="list-style-type: none"> naciekanie innych tkanek miednicy; brak komórek nowotworowych w płynie otrzewnowym lub popłuczynach otrzewnowych
2C	<ul style="list-style-type: none"> naciekanie miednicy (2a lub 2b) z komórkami nowotworowymi w płynie otrzewnowym lub popłuczynach otrzewnowych
STAGE 3 – Guz zajmuje jeden lub obydwa jajniki z mikroskopowo potwierdzonymi przerzutami otrzewnowymi poza miednicą i/lub przerzutami do regionalnych węzłów chłonnych. Przerzuty do torebki wątroby	
3A	<ul style="list-style-type: none"> mikroskopowe przerzuty otrzewnowe poza miednicą
3B	<ol style="list-style-type: none"> otrzewnowe przerzuty poza miednicą widoczne makroskopowo o największej średnicy 2 cm lub mniejszej
3C	<ul style="list-style-type: none"> otrzewnowe przerzuty poza miednicą o największej średnicy większej niż 2 cm i/lub przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych
STAGE: 4 – Odległe przerzuty, przerzuty do miększu wątroby	

Tabela 1. Klasyfikacja stopnia zaawansowania raka jajnika wg FIGO [15].

Przedstawiona powyżej klasyfikacja stanowi podstawę dalszej terapii raka jajnika. U około 25% pacjentów rozpoznaje się raka ograniczonego do jajnika (FIGO I), bądź wychodzącego poza jajnik, ale ograniczonego do miednicy (FIGO II). U tych pacjentów leczenie operacyjne (poza postawieniem rozpoznania i stagingiem) ma na celu możliwie całkowite usunięcie guza. Adjuwantowa chemioterapia nie jest na ogół potrzebna, jednak może być zastosowana w niektórych przypadkach [16, 17]. U

pozostałych 75% pacjentów rozpoznaje się guz, który rozmiarami wyrósł poza miednicę i przerzuca do okołoaortalnych lub pachwinowych węzłów chłonnych (FIGO III), lub daje odległe przerzuty (FIGO IV). Standard terapii tych pacjentów obejmuje leczenie chirurgiczne z następową chemioterapią adjuwantową [18]. U niektórych pacjentów zaleca się neoadjuwantową chemioterapię – zastosowanie leczenia cytostatykami przed lub zamiast leczenia operacyjnego. Leczenie takie jest zasadne u pacjentów z licznymi chorobami towarzyszącymi, którzy nie mogą być poddawani rozległym zabiegom chirurgicznym oraz tych, u których ze względu na rozległość procesu nowotworowego nie można by uzyskać optymalnej cytoredukcji [19]. U tych pacjentów należy jednak uzyskać potwierdzenie histologiczne guza na podstawie biopsji bądź badania płynu z jamy brzusznej. Dodatkową zaletą postępowania neoadjuwantowego może być odstąpienie od agresywnego leczenia chirurgicznego w przypadku stwierdzenia braku odpowiedzi na pierwotne leczenie chemioterapią. U tych pacjentów wyniki leczenia są złe.

1.3.1 Chirurgia w raku jajnika

Rolą postępowania chirurgicznego w raku jajnika, poza ostatecznym potwierdzeniem nowotworu i określeniem stopnia zaawansowania, jest podjęcie cytoredukcji – usunięcia, lub zmniejszenia objętości guza. Uzasadnieniem dla takiego postępowania jest fakt, że we wczesnych postaciach raka jajnika radykalne usunięcie guza prowadzi do wyleczenia pacjenta. Również u chorych z zaawansowanym procesem nowotworowym obserwuje się lepszą odpowiedź na chemioterapię przy pozostawieniu możliwie małej ilości komórek nowotworowych. Leki cytostatyczne działają lepiej w małych guzach o dobrym unaczynieniu i z dużą aktywnością mitotyczną. Większe guzy cechują się gorszym unaczynieniem, co może skutkować mniejszą ekspozycją komórek nowotworowych na działanie leku, prowadząc do subletalnych zmian w komórce nowotworowej i selekcji klonów opornych na leczenie [20]. Wykazano, że czas do wznowy i średni czas przeżycia są odwrotnie proporcjonalne do objętości guza pozostającej po wstępnym leczeniu operacyjnym. Kolejnym uzasadnieniem dla postępowania chirurgicznego jest fakt, że objawy

związane z guzem takie jak: bóle, zwiększony obwód brzucha, wczesne uczucie sytości i duszność są związane z jego wielkością. Leczenie chirurgiczne pozwala zmniejszyć lub wyeliminować te dolegliwości, prowadząc do poprawy jakości życia pacjentów. Należy jednak pamiętać o możliwych powikłaniach postępowania chirurgicznego, które w skrajnych przypadkach mogą prowadzić nawet do śmierci chorego.

W postępowaniu chirurgicznym istotna jest radykalność zabiegu. Jeśli to możliwe należy usunąć guz w całości. Gdy jest to niemożliwe należy dążyć do pozostawienia minimalnej ilości nowotworu. W tym celu wprowadzono pojęcie optymalnej cytoredukcji. Jest ona definiowana jako minimalna objętość nowotworu, która pozostaje po leczeniu operacyjnym. Jak dotąd nie powstała jednak ostateczna definicja optymalnej cytoredukcji. Większość ekspertów jest zgodna, że optymalna cytoredukcja oznacza pozostawienie guza o średnicy poniżej 2cm [21]. Pojawiają się jednak prace wykazujące wyższość zmniejszenia tej granicy do 1cm. U takich pacjentów obserwuje się lepszą odpowiedź na chemioterapię, mniejszą oporność na cytostatyki oraz dłuższą przeżywalność pacjentek [22-24]. Na razie jednak dowody te są zbyt słabe, aby wprowadzić te zalecenia do praktyki klinicznej. Przewaga operacji radykalnych została potwierdzona w licznych badaniach klinicznych. Pacjentki, u których wykonano optymalną cytoredukcję mają o średnio 20 miesięcy dłuższy czas przeżycia, w stosunku do kobiet, u których nie uzyskano optymalnej cytoredukcji [25]. Leczenie operacyjne powinno być przeprowadzane przez chirurgów obytych z onkologią ginekologiczną, gdyż stopień cytoredukcji zależy od doświadczenia chirurga, jego oceny i radykalności jego postępowania. Należy być przygotowanym na wykonanie rozległego zabiegu chirurgicznego wraz z resekcją jelit, śledziony, częściową resekcją wątroby itp. Do czynników utrudniających optymalną cytoredukcję zalicza się: obecność przerzutów poza jamą brzuszną, zajęcie jelit, przerzuty do miększu wątroby, występowanie wodobrzusza i wycieńczenie [26, 27]. Należy również pamiętać o zwiększonej jatrogennej chorobowości i śmiertelności związanej z radykalnym postępowaniem chirurgicznym, szczególnie w rozległych zabiegach w obrębie jelit i wątroby.

W opublikowanych dotychczas pracach podkreślano wyższość optymalnej cytoredukcji nad niekompletną resekcją guza [28, 29]. Okazuje się jednak, że

optymalna cytoredukcja nie jest możliwa do uzyskania u co najmniej 25% chorych [30]. Jak dotąd nie wyszczególniono czynników pozwalających przewidzieć szanse powodzenia cytoredukcji. Próbowano wykorzystać markery nowotworowe oraz techniki obrazowania, jednak bez zadowalających rezultatów. Nie jest również jasne jak należy postępować u pacjentów, u których pierwotnie nie uzyskano optymalnej cytoredukcji. Przeprowadzone dotychczas badania nie są spójne w ocenie przeżywalności pacjentów, u których wykonano ponowną próbę cytoredukcji po adjuwantowej chemioterapii [31-33]. W świetle tych danych należy dążyć do uzyskania optymalnej cytoredukcji guza już podczas pierwszej interwencji chirurgicznej [25].

Operacja ze wskazań onkologicznych powinna być wykonana według ściśle określonych zasad warunkujących jej skuteczność. Należy pamiętać, że do celów takiej operacji zalicza się: określenie miejsca wyjścia nowotworu, stopnia jego rozległości, określenia schorzeń towarzyszących oraz podjęcie próby optymalnej cytoredukcji. Nacięcie skóry powinno być wykonywane w linii pośrodkowej ciała, aby umożliwić odpowiedni wgląd w miednicę, jamę brzuszną i przestrzeń pozaotrzewnową. Powinno się unikać otwierania jamy brzusznej sposobem Pfannenstiela. Po otwarciu jamy brzusznej należy przeprowadzić dokładny staging raka jajnika w oparciu o wytyczne FIGO [15]. Na początek należy pobrać wolny płyn do badania cytologicznego lub, w razie jego braku, wykonać płukanie jamy brzusznej z następowym badaniem zaaspirowanego płynu. Następnym krokiem jest dokładna ocena wszystkich narządów i powierzchni jamy brzusznej: jelit, krezki, żołądka, wyrostka robaczkowego, śledziony, wątroby, sieci, całej powierzchni otrzewnej oraz narządów pozaotrzewnowych - trzustki, węzłów chłonnych i nerek. Następnie należy przystąpić do możliwie radykalnego usunięcia zajętych narządów. Standardowym postępowaniem jest usunięcie macicy wraz z przydatkami. Istotne jest, aby nie doszło do uszkodzenia torebki jajnika, gdyż jest to czynnik prognostycznie niekorzystny. Należy również pobrać biopsję z wszystkich podejrzanych o przerzuty miejsc. Następnym krokiem jest resekcja sieci, appendektomia, resekcja węzłów chłonnych okołoaortalnych i miednicznych. W razie potrzeby wykonuje się również splenektomię, częściową resekcję wątroby oraz resekcje lub zespolenia omijające zajętych fragmentów jelita. Przy wszystkich tych zabiegach należy dążyć do możliwie doszczętnej resekcji guza.

Należy jednak powstrzymać się przed obciążającymi zabiegami jak na przykład resekcja jelita, jeśli mimo tego nie uda się uzyskać optymalnej cytoredukcji.

Osobnym zagadnieniem jest próba zachowania płodności. Takie postępowanie może być rozważane u młodych kobiet, z niezaawansowanym, dobrze zróżnicowanym rakiem ograniczonym do jednego jajnika (FIGO IA). Mimo próby wykonania operacji oszczędzającej należy wykonać pełny staging z pobraniem wymazów cytologicznych, resekcją sieci, appendektomią i resekcją węzłów chłonnych. Zaleca się nie poszerzanie zakresu operacji tylko w przypadku braku przerzutów w wyżej wymienionych narządach.

1.3.2 Chemioterapia raka jajnika

Drugą składową kompleksowego leczenia raka jajnika jest chemioterapia. Przez chemioterapię rozumie się stosowanie leków cytostatycznych w celu zabicia komórek nowotworowych. Decyzja o wdrożeniu chemioterapii jest uzależniona od zaawansowania choroby w momencie rozpoznania. Dość arbitralnie wprowadzono tu podział na raka niezaawansowanego (FIGO I i II) oraz raka zaawansowanego (FIGO III i IV). Obecnie dostępne wyniki badań sugerują, aby terapią z wyboru u pacjentów z zaawansowanym rakiem jajnika było leczenie chirurgiczne połączone z adjuwantową chemioterapią. U pacjentów z niezaawansowanym rakiem jajnika postępowanie powinno być zindywidualizowane i w pewnych przypadkach można odstąpić od chemioterapii.

1.3.2.1 Chemioterapia we wczesnym raku jajnika

Wczesne postacie raka jajnika rozpoznaje się tylko u ok 25% pacjentów. Większość z tych pacjentów ma dobre rokowanie. Czynniki mającymi wpływ na przeżywalność są: stopień zaawansowania, obecność komórek nowotworowych w płynie z otrzewnej, typ histologiczny nowotworu i stopień jego zróżnicowania. W związku z powyższymi cechami zaleca się odstąpienie od chemioterapii adjuwantowej u pacjentów z rakiem jajnika FIGO IA i IB, u których guz jest dobrze zróżnicowany

(grade I), i u których wykonano optymalną cytoredukcję [34]. Ta podgrupa pacjentów ma dobre rokowanie. Przeżywalność 5-letnia kształtuje się na poziomie 90% [17, 35]. Włączenie adjuwantowej chemioterapii jest natomiast postępowaniem zalecanym u pacjentów z nowotworem jajnika w stopniu IC lub II, rakiem jasnokomórkowym oraz rakiem niezróżnicowanym (grade III). Wyżej wymienione cechy związane są z gorszym rokowaniem, a przeżywalność 5-letnia kształtuje się na poziomie 40-80% [35, 36]. U tych pacjentów zaleca się chemioterapię i.v. Nie ma danych sugerujących wyższość jednego schematu nad innym. W większości przypadków stosuje się standardową chemioterapię opartą o związki platyny i taksany (np. Carboplatyna+Paclitaxel) jak w zaawansowanym raku jajnika. Zaleca się od 3 do 6 cykli takiej terapii. Nie zaleca się natomiast chemioterapii dootrzewnowej [34]. Po leczeniu obowiązuje standardowa obserwacja w pacjenta na wypadek wznowy. W związku z brakiem udowodnionej skuteczności nie zaleca się stosowania przedłużonych schematów chemioterapii. Pięcioletnia przeżywalność pacjentów leczonych w ten sposób kształtuje się na poziomie 82%. Wznowa występuje u około 25% pacjentów [36].

1.3.2.2 Chemioterapia pierwszorzędowa w zaawansowanym raku jajnika

Okolo 75% raków jajnika rozpoznawanych jest w zaawansowanym stadium [FIGO III lub IV]. U większości z tych pacjentów najbardziej adekwatnym postępowaniem leczniczym jest radykalne leczenie operacyjne połączone z adjuwantową chemioterapią. U znacznej części pacjentów tego typu leczenie prowadzi do regresji choroby. Niestety, u większości z nich dojdzie również do wznowy nowotworu. Wyróżnia się chemioterapię standardową opierającą się o stosowanie związków platyny i taksanów oraz eksperymentalne schematy chemioterapii. Leki cytostatyczne mogą być podawane dożylnie i dootrzewnowo. Trwają również badania nad alternatywnymi formami chemioterapii – użyciem inhibitorów angiogenezy, chemioterapią śródoperacyjną i innymi.

Przed rokiem 1990 możliwości leczenia adjuwantowego raka jajnika były niewielkie. Najszerszej stosowanym wówczas lekami były środki alkilujące takie jak Mephalan i Cyklofosfamid. Wyniki leczenia uzyskiwane przy ich pomocy były dalekie od

satysfakcjonujących. Prawdziwym przełomem w leczeniu raka jajnika było wynalezienie Cisplatyny. Był to pierwszy lek, który znacząco zmienił rokowanie u pacjentów z rakiem jajnika. Później wynaleziona Karboplatyna cechowała się mniejszą toksycznością w stosunku do Cisplatyny. Przeprowadzono liczne badania stosując Cisplatynę lub Karboplatynę zarówno w mono jak i politerapii. Najkorzystniejsze efekty osiągnięto łącząc je z Paclitaxelem lub jego pochodną Docetaxelem [37]. Połączenie to stało się standardem adjuwantowej terapii zaawansowanego raka jajnika.

Standardowa chemioterapia dożylna

Preferowanym schematem w chemioterapii raka jajnika jest dożylne podawanie związków platyny i taksanów (cisplatyna/carboplatyna+docelaxel/paclitaxel). Z tych substancji preferuje się carboplatynę i paclitaxel z uwagi na mniejszą skłonność do dawania efektów ubocznych [38, 39]. Zaleca się podawanie do 6 cykli chemioterapii. Nie wykazano, aby większa liczba cykli wpłynęła na przeżywalność pacjentów [40-42]. Nie zaleca się stosowania monoterapii związkami platyny. Również zastosowanie cytostatyku z innej niż taksany grupy leków nie prowadzi do poprawy efektów terapii [43]. Podejmowano próby zmodyfikowania tego schematu poprzez dodanie trzeciego cytostatyku lub zastosowanie chemioterapii wysokodawkowej w połączeniu z autologicznym przeszczepem szpiku nie uzyskując jednak zadowalających efektów [44-50]. Chemioterapię należy włączyć tak szybko jak to możliwe. W praktyce oznacza to 2-4 tygodnie po operacji. U większości pacjentów cytostatyki podaje się tylko drogą dożylną. U części pacjentów można zastosować również chemioterapię dootrzewnową. Standardowo chemioterapia jest podawana w cyklach powtarzających się co 21 dni. Stosuje się do 6 cykli chemioterapii. U pacjentów, u których nie udało się uzyskać optymalnej cytoredukcji guza można zastosować zmodyfikowany schemat chemioterapii (ang: dose-dense treatment) w postaci wlewów dożylnych Carboplatyny co 3 tygodnie i Paclitaxelu co tydzień przez w sumie 15 tygodni [51, 52]. Schemat ten, w stosunku do terapii standardowej, skutkuje dłuższym czasem bez progresji (28 vs. 17,5 tygodni) i dłuższym czasem przeżycia pacjentów (100.5 vs. 62 miesiące). Schemat ten okazał się szczególnie skuteczny u pacjentów z guzami surowiczymi. U pacjentów z rakiem jasnokomórkowym i śluzowym nie zaobserwowano wyżej wymienionych efektów.

Chemioterapia dootrzewnowa

Chemioterapia dootrzewnowa jest alternatywą dla leczenia dożylnego. Uzasadnieniem tej drogi podania cytostatyku jest fakt, że główną drogą rozprzestrzeniania się raka jajnika jest eksfoliacja i szerzenie się raka wewnątrz jamy otrzewnej [53]. Ta droga podania umożliwia osiągnięcie wielokrotnie wyższych stężeń terapeutycznych leku w jamie otrzewnowej, tym samym zwiększając skuteczność chemioterapii. W praktyce nie stosuje się jednak schematu czysto dootrzewnowego. Jak dotąd opisano łączony schemat dożylny i dootrzewnowy. Dwie metaanalizy wykazały wyższą skuteczność tej terapii u pacjentów z zaawansowanym rakiem jajnika, u których udało się przeprowadzić optymalną cytoredukcję [54, 55]. Zaobserwowano zmniejszone ryzyko śmierci i poprawę czasu przeżycia bez progresji nowotworu (progression-free survival – PFS). U kobiet, u których radykalna operacja nie była możliwa stosuje się raczej standardową chemioterapię dożylną. Jest to uzasadnione faktem, że cytostatyki penetrują tylko na kilka milimetrów w głąb guza. Do najczęstszych powikłań chemioterapii dootrzewnowej zalicza się: bóle brzucha, zakażenia, uszkodzenia jelit i problemy z drożnością portu i podaniem leku. Mimo iż występują one u ok 10-35% pacjentów, u większości z nich możliwe jest dokończenie terapii [56]. Najszerzej stosowany schemat chemioterapii dootrzewnowej składa się z Paclitaxelu i.v. w 1 dniu cyklu, Cisplatyny i.p. podanej w 2 dniu terapii i Paclitaxelu i.p. podanego w 8 dniu terapii [57]. Jednym z wariantów leczenia dootrzewnowego jest podanie śródoperacyjnej hipertermicznej chemioterapii dootrzewnowej (Hypertermic Intraoperative i.p. Therapy – HIPEC). Jak dotąd, ze względu na brak dowodów na skuteczność i bezpieczeństwo tej formy terapii nie zaleca się jej stosowania poza badaniami klinicznymi [58-60].

Eksperymentalne schematy chemioterapii

Poza standardową chemioterapią opartą o związki platyny i taksany stosuje się również eksperymentalne schematy chemioterapii. Jeden z nich oparty jest o stosowanie inhibitorów angiogenezy. W odróżnieniu od klasycznych cytostatyków selektywnie blokują one powstawanie nowych naczyń krwionośnych. Angiogeneza jest istotnym elementem zarówno fizjologicznej jak i patologicznej funkcji jajnika [61, 62]. Jednym z lepiej poznanych czynników angiogenezy jest VEGF. Zarówno VEGF jak i jego receptor (VEGFR) pełną ważną rolę w patogenezie raka jajnika [63]. Ich obecność wiąże się z występowaniem wodobrzusza i złym rokowaniem dla pacjentów [64-66]. Zaobserwowano, że blokowanie VEGF może przyczynić się do zahamowania wzrostu guzów w modelach zwierzęcych [67]. W 1997r przeprowadzono humanizację przeciwciał przeciw VEGF. W ten sposób powstał lek Bevacizumab, który wkrótce dopuszczono do stosowania u ludzi [68]. Jak dotąd Bevacizumab znalazł zastosowanie w leczeniu wielu typów nowotworów. W Europie lek jest zarejestrowany do leczenia zaawansowanych stadiów raka jelita grubego, raka piersi, raka płuc, raka nerki i raka jajnika [69]. Przeprowadzone dotychczas badania wskazują skuteczność Bevacizumabu w leczeniu wznowy raka jajnika, zarówno w mono jak i politerapii [70-72]. Skuteczność Bevacizumabu w pierwszorzędowej terapii raka jajnika jest kontrowersyjna. Dwie przeprowadzone dotąd metaanalizy wykazały poprawę w zakresie czasu przeżycia bez progresji (PFS), nie zwiększając jednak całkowitego przeżycia (overall survival - OS) [62, 73, 74]. W związku z powyższym - nie zaleca się rutynowego stosowania Bevacizumabu w pierwszorzędowej terapii raka jajnika.

Poza VEGF istnieją również inne, mniej zbadane czynniki promujące angiogenezę. Zalicza się do nich: pochodzący od płytek czynnik wzrostu (Platelet-Derived Growth Factor - PDGF) oraz czynnik wzrostu fibroblastów (Fibroblast Growth Factor – FGF). Podwyższony poziom PDGF obserwuje się w raku jajnika oraz wodobrzuszu nowotworowym i wiąże się go z gorszą prognozą [75-77]. Inne badania sugerują związek FGF z angiogenezą, fizjologią jajnika i wodobrzuszem [76, 78, 79]. Obydwa szlaki mogą stanowić alternatywę dla angiogenezy stymulowanej przez VEGF. Z tego powodu blokada wszystkich wyżej wymienionych szlaków angiogenezy może przyczynić się do zwiększenia skuteczności terapii [78, 80-82]. Do najbardziej

obiecujących leków mogących blokować PDGF i FGF zalicza się Aflibercept, AMG-386, BIBF 1120; Sorafenib, Pazopanib i Cediranib. Wszystkie te substancje są obecnie w różnych fazach badań klinicznych i nie zaleca się obecnie ich stosowania w praktyce klinicznej.

1.3.2.3 Chemioterapia w leczeniu wznowy raka jajnika

Osobnym zagadnieniem jest leczenie wznowy raka jajnika. Pomimo dobrych efektów pierwotnego leczenia, u większości pacjentów obserwuje się nawrót choroby. Całkowite prawdopodobieństwo nawrotu wynosi około 62%. U kobiet z III i IV stopniem zaawansowania jest ono wyższe i sięga 80-85% [83]. Ryzyko nawrotu zależy od wielu czynników takich jak: zaawansowanie choroby w momencie rozpoznania, skuteczność pierwotnego leczenia, reakcja na chemioterapię i stan ogólny pacjenta. W leczeniu wznowy raka jajnika istotny jest parametr zwany PFI (Platinum-Free Interval – czas bez leczenia związkami platyny). Jest to czas, jaki mija od zaprzestania ostatniego cyklu chemioterapii do stwierdzenia klinicznej wznowy nowotworu. Jeśli ten czas jest dłuższy niż 6 miesięcy, to mówimy o raku wrażliwym na chemioterapię (chemotherapy sensitive disease/platinum sensitive disease). Gdy czas ten jest krótszy niż 6 miesięcy, to jest to rak oporny na chemioterapię (chemotherapy resistant disease/platinum resistant disease) [83]. U niektórych chorych obserwuje się progresję raka jeszcze w trakcie pierwszorzutowej chemioterapii. Stwierdzenie czy mamy do czynienia z rakiem opornym czy wrażliwym na chemioterapię jest istotnym czynnikiem wpływającym na decyzje odnośnie leczenia i na rokowanie dla pacjenta.

Rak wrażliwy na chemioterapię

W przypadku rozpoznania wznowy raka wrażliwego na chemioterapię należy rozważyć drugorzutową cytoredukcję i chemioterapię. Najważniejszym czynnikiem rokowniczym jest czas bez progresji choroby. Rozpoznanie wznowy powinno opierać się o objawy kliniczne i radiologiczne cechy wznowy. U tych pacjentów należy wdrożyć leczenie drugorzędowe [83]. Kontrowersyjne jest rozpoznawanie wznowy biorąc pod uwagę tylko podwyższony poziom markerów nowotworowych (np. Ca 125). W świetle obecnej wiedzy pacjenci ci nie powinni otrzymywać drugiego rzutu chemioterapii [83].

Pacjenci, u których rozpoznaje się wznowę po okresie dłuższym niż 6 miesięcy od zakończenia chemioterapii mają większą szansę na skuteczne leczenie związkami platyny (cisplatyna, carboplatyna). Zaleca się stosowanie chemioterapii łączonej (związki platyny + drugi cytostatyk) z uwagi na lepsze wyniki terapii [84-86]. Nie ma obecnie zgodności, co do optymalnego schematu chemioterapii. Najczęściej stosowane schematy to: Carboplatyna + Paclitaxel [87], Carboplatyna + Gemcytabina [88] lub Carboplatyna + pegylowana, liposomalna Doxorubicyna (PLD) [89, 90]. Wśród nich schemat Carboplatyna+PLD wyróżnia się dużą skutecznością, łatwością stosowania i niskim ryzykiem toksyczności i reakcji alergicznych. Wszystkie wyżej opisane schematy terapii łączonej cechują się wyższą skutecznością w porównaniu do leczenia związkami platyny w monoterapii. U pacjentów w złym stanie ogólnym, bądź z silnie wyrażonymi objawami toksyczności związkami platyny można rozważyć monoterapię przy użyciu innych leków. Do najczęściej stosowanych leków można zaliczyć: Etoposid [91], Topotecan [92], pegylowaną, liposomalną Doksorubicynę (PLD) [92], Gemcytabinę [93], Trabectedynę [94] i Paclitaxel w postaci nanocząsteczek związanych z albuminami (nanoparticle albumin-bound Paclitaxel) [95]. Mimo dobrej na ogół reakcji pacjentów leczenie drugorzutowe nie prowadzi do wyleczenia. Tylko u około 3% pacjentów udaje się uzyskać PFS dłuższy niż w terapii pierwszego rzutu [96]. Na ogół podaje się 6 cykli chemioterapii drugiego rzutu. Trwają badania na temat leczenia podtrzymującego, stosowanego po chemioterapii drugorzutowej. Do badanych leków zalicza się inhibitory VEGF (Cediranib, Bevacizumab) [97, 98] oraz inhibitory PARP (Olaparib) [99]. Obecny stan wiedzy nie potwierdza jednoznacznie ich skuteczności i nie zaleca się rutynowego stosowania tych leków w terapii podtrzymującej.

Osobnym zagadnieniem jest chirurgiczne leczenie wznowy raka jajnika. Jest to leczenie w głównej mierze paliatywne – przedłużające życie i poprawiające jego jakość. Próby wtórnej cytoredukcji są podejmowane z uwagi na fakt, iż większość wzów raka jajnika występuje w obrębie jamy brzusznej i istnieje możliwość chirurgicznego ich usunięcia. Rola wtórnej cytoredukcji nie jest jasna z uwagi na brak dużych, randomizowanych badań potwierdzających jej skuteczność. Wobec dostępnych obecnie danych wtórna cytoredukcja może być wskazana u pacjentów spełniających poniższe kryteria: z PFS powyżej 12 miesięcy, tych z lokalną wznową, u których można

będzie usunąć większość choroby, tych, którzy dobrze odpowiedzieli na pierwszorazową terapię i tych w dobrym stanie ogólnym [22, 100-104]. Osobnym zagadnieniem jest leczenie typowo paliatywne, jak wyłonienie przetoki jelitowej bądź nefrostomii, w przypadku niedrożności jelit lub moczowodów spowodowanej naciekiem nowotworowym. Niestety wyniki leczenia tych pacjentów nie są dobre. Czas przeżycia po operacji jest krótki. Z uwagi na brak odpowiednich badań nie istnieją również rekomendacje co do kolejnych operacji. Niektórzy autorzy sugerują zwiększone przeżycie u pacjentów, u których uzyskano optymalną cytoredukcję podczas kolejnych operacji [105]. W związku z tym zaleca się indywidualizację podejścia do leczenia danego pacjenta.

Rak niewrażliwy na chemioterapię

Inne jest podejście do leczenia u pacjentów z rakiem opornym na chemioterapię. Chemioporność jest definiowana jako wznowa choroby w czasie krótszym niż 6 miesięcy od zakończenia pierwszorazowej chemioterapii. W tej sytuacji również zaleca się drugorzutową chemioterapię. Z uwagi na brak odpowiednich badań nie ma ogólnie przyjętego schematu, który byłby nadrzędny w stosunku do innych. W odróżnieniu od raka wrażliwego na chemioterapię w tym przypadku zaleca się monoterapię, w razie potrzeby zmieniając cytostatyk na inny [106]. W przypadku kobiet, które nie otrzymywały dotąd Paclitaxelu można rozpocząć leczenie właśnie tym lekiem z uwagi na znaczny odsetek kobiet odpowiadających na leczenie [107-110]. U pacjentów, u których zastosowano już leczenie skojarzone przy użyciu związków platyny i taksanów zaleca się stosowanie pegylowanej, liposomalnej Doksorubicyny, Docetaxelu, Etoposidu, Topotecanu, Gemcitabinu, Vinorelbiny, Isofosfamidu i innych. Wszystkie z nich wykazują podobny efekt terapeutyczny, różnią się jedynie profilem efektów ubocznych [106].

1.3.3 Monitorowanie terapii

U większości pacjentek z zaawansowanym rakiem jajnika dojdzie do wznowy. Istotne jest zatem odpowiednie monitorowanie wyników leczenia i poszukiwanie ewentualnych oznak nawrotu choroby. Monitorowanie terapii powinno składać się z regularnych wizyt ginekologicznych co 3-6 miesięcy przez 5 lat. Później można obniżyć częstotliwość badania do jednego w ciągu roku. We wskazanych przypadkach zaleca się również stosowanie technik obrazowania takich jak ultrasonografia przezpochwowa. Monitorowanie wznowy przy użyciu osoczowych markerów nowotworowych jest kontrowersyjne. Zarówno Ca125, jak i HE4 są zarejestrowane do monitorowania wznowy u pacjentów z rozpoznaniem już rakiem jajnika. Randomizowane badanie odnośnie skuteczności tych markerów dało jednak niezadowalające rezultaty. Prowadzenie monitoringu przy pomocy markerów osoczowych doprowadziło do wcześniejszej identyfikacji wznowy i wcześniejszego włączenia chemioterapii. Mimo to, przeżywalność pacjentów 57 miesięcy po randomizacji nie różniła się pomiędzy grupą badaną a kontrolną [111]. Zastosowanie markerów w monitorowaniu wznowy nie wiązało się również z dłuższym okresem remisji, a prowadziło do obniżenia jakości życia związanego z wdrożeniem wtórnego leczenia. W innym badaniu użycie Ca125 przyniosło jednak korzystne rezultaty pod postacią szybszego leczenia chirurgicznego wznowy i większego odsetka pacjentów, u których udało się przeprowadzić optymalną cytoredukcję [112]. Nieznany jest jednak wpływ wcześniejszej cytoredukcji na przeżywalność pacjentów. Odpowiednie badanie kliniczne jest w toku. W związku z niezbadaną wciąż skutecznością monitoringu opartego o markery nowotworowe zaleca się ostrożne podejście do jego stosowania i uzgodnienie korzyści jak i potencjalnych powikłań z pacjentką.

1.4 Biologia raka jajnika

1.4.1 Histopatologia raka jajnika

Nabłonkowy rak jajnika jest najczęstszym nowotworem złośliwym tego narządu i stanowi około 90% wszystkich nowotworów jajnika [113]. W związku z narastającą liczbą dowodów o wspólnym pochodzeniu raka jajnika, jajowodu i otrzewnej niektórzy autorzy zaliczają wszystkie te nowotwory do jednej grupy. Rak jajnika jest heterogenną grupą nowotworów o różnym pochodzeniu histologicznym [114]. W chwili obecnej wyróżnia pięć głównych typów histologicznych raka jajnika [114]. Są to:

- Rak surowiczy wysokiego stopnia (70-80%)
- Rak endometrialny (10%)
- Rak jasnokomórkowy (10%)
- Rak śluzowy (3%)
- Rak surowiczy niskiego stopnia (<3%)

Uważa się, że rak surowiczy wysokiego i niskiego stopnia to dwie różne jednostki chorobowe o różnej etiologii i patogenezie [115].

Rak surowiczy wysokiego stopnia (High Grade Serous Carcinoma – HGSC)

Rak surowiczy wysokiego stopnia (HGSC) jest najczęstszym typem histologicznym raka jajnika. Średni wiek w momencie zachorowania wynosi 57 lat [116]. Większość nowotworów tego typu rozpoznawana jest w zaawansowanym stadium (III i IV stopień wg FIGO) i cechuje się złym rokowaniem [117]. Guz ten może osiągać wymiary od mikroskopowych do większych niż 20cm średnicy [118]. Makroskopowo guz może być gładki, bądź pokryty brodawkowatymi wyrostkami. Na przekroju nowotwór ten ma na ogół budowę cystyczno-litą z wieloma komorami. Wewnątrz komór często obserwuje się brodawkowate wyrośla. Widoczne bywają wylewy krwawe i ogniska martwicy. W momencie rozpoznania często obecne są też makroskopowe przerzuty do otrzewnej i sieci większej. Mają one charakter twardych guzków mogących zlewać się w większe twory. U około 25% pacjentów mimo braku makroskopowych przerzutów obserwuje się je w badaniu mikroskopowym [118]. Mikroskopowo rak surowiczy wysokiego stopnia cechuje się skomplikowanym

utkaniem, silnie wyrażoną atypią oraz wzmożoną aktywnością mitotyczną. Guzy te posiadają również silną ekspresję białka p53, WT-1, receptora estrogenowego i PAX8. Raki te cechują się dużą niestabilnością genetyczną. 50-80% raków surowicznych wysokiego stopnia ma mutacje w obrębie genu TP53 [119]. Obserwuje się również związek z genami BRCA1 i 2 [120].

Rak surowiczy niskiego stopnia (Low Grade Serous Carcinoma – LGSC)

Ten typ raka jajnika, w odróżnieniu od raka wysokiego stopnia, występuje rzadko. Podobnie jak poprzedni nowotwór na ogół rozpoznawany jest późno, co skutkuje złym rokowaniem [121]. Rak surowiczy niskiego stopnia jest nowotworem wolno rosnącym. Często obserwuje się oporność na chemioterapię opartą o związki platyny [122]. Zaobserwowano, że nowotwory te występują razem z surowiczymi guzami o granicznej złośliwości (borderline tumors). Jako, że surowicze guzy graniczne występują częściej uważa się, że rak surowiczy niskiego stopnia może być efektem progresji guza granicznego. Makroskopowo rak surowiczy niskiego i wysokiego stopnia nie różni się od siebie. Jedną z cech mikroskopowych raka surowiczego niskiego stopnia jest większa jednorodność wielkości jąder komórkowych i znacząco niższa ilość podziałów mitotycznych obserwowanych w tym nowotworze [123]. Immunofenotyp raka surowiczego niskiego stopnia przypomina ten obserwowany w guzach granicznych i HGSC. Badania molekularne wykazały, że cechą charakterystyczną LGSC są mutacje w genach *BRAF* i *KRAS* [124]. Ponadto, w odróżnieniu od HGSC, są to nowotwory o raczej stabilnym genomie [125]. Te różnice doprowadziły do teorii o dwóch różnych drogach nowotworzenia w raku surowiczym jajnika. HGSC rozwija się w związku z mutacjami genu p53. LGSC zależny jest natomiast od mutacji genów *BRAF* i *KRAS*. HGSC jest osobną jednostką chorobową i nie występuje progresja LGSC do HGSC [126]. Te różnice mogą pomóc w stworzeniu spersonalizowanych terapii celujących w szlaki obserwowane w danym typie nowotworu.

Rak endometrialny (endometrioid carcinoma)

Rak endometrialny stanowi ok. 10% wszystkich raków jajnika. Średni wiek zachorowania wynosi 56 lat [127, 128]. Rak endometrialny często jest rozpoznawany we wczesnym stadium, co w połączeniu z dobrą odpowiedzią na chemioterapię

skutkuje korzystniejszym rokowaniem dla pacjentów. Raki endometrialne są na ogół dobrze zróżnicowane (niskiego stopnia). Uważa się, że raki endometrialne wysokiego stopnia nie różnią się molekularnie od HGSC i mogą być jego podtypem [129]. Prekursorem raka endometrialnego mogą być ogniska endometriozy obserwowane u ok 42% pacjentów z tym typem nowotworu [114]. Endometrialny rak jajnika w 15-20% przypadków współistnieje z rakiem endometrium [130]. Z uwagi na podobieństwo histologiczne istnieje prawdopodobieństwo, że rak jajnika może być przerzutem raka endometrium, bądź odwrotnie. Makroskopowo guzy te są dość zróżnicowane. Mogą być lite, bądź cystyczne. Mogą występować resztkowe ogniska endometriozy, a wewnątrz guza może wypełniać czekoladowa treść. Powierzchnia guza jest na ogół gładka. Brak jest brodawkowatych wyrostki charakterystycznych dla guzów surowicznych. Histologicznie guz ten przypomina raka endometrium niskiego stopnia. Rak endometrialny jajnika cechuje się ekspresją vimentyny, receptora estrogenowego, receptora progesteronowego, PAX-8 i Ca125. Raki endometrialne wysokiego stopnia posiadają ekspresję p53, p16 i WT-1 i są tym samym podobne do HGSC. Jak dotąd zidentyfikowano kilka mutacji związanych z rakiem endometrialnym. Najczęściej występujące z nich to mutacje genów CTNNB-1, PTEN, PIK3CA i AIRD1A [131-134]. Ponadto obserwuje się znaczną niestabilność mikrosatelitarną DNA. Jest to również najczęściej spotykany nowotwór jajnika u osób z zespołem Lyncha [135].

Rak jasnokomórkowy (clear cell carcinoma)

Rak jasnokomórkowy stanowi 5-10% typów histologicznych raka jajnika. Podobnie jak rak endometrialny, najczęściej jest on rozpoznawany we wczesnym stadium i ma dobre rokowanie. Kiedy jednak ten nowotwór zostanie rozpoznany w zaawansowanym stadium rokowanie jest złe w związku z niewrażliwością na chemioterapię [136]. Podobnie jak rak endometrialny może być on związany z endometriozą [137]. Makroskopowo są to na ogół duże guzy o średnicy kilkunastu centymetrów. Często składają się z wielokomorowej torbieli o grubościenną torebce, wypełnionej treścią surowiczą, bądź śluzową. We wnętrzu guza występują guzkowate wyrostki. Guzy powstające z ognisk endometriozy mogą być wypełnione czekoladową treścią. Mikroskopowo guzy te mogą być zróżnicowane. Najczęściej obserwuje się architekturę litą, rurkowo-cystyczną i brodawkowatą. Występuje ponadto znaczna

atypia jąder komórkowych. Rak jasnokomórkowy ma unikalny immunofenotyp. Brakuje w nim receptorów estrogenowych i WT-1. Mogą posiadać niewielkiego stopnia ekspresję p53, jednak jest ona o wiele mniejsza niż w przypadku HGSC. Typowymi markerami raka jasnokomórkowego są: czynnik indukowany hipoksją 1 alfa (Hypoxia Induced Factor 1–alpha – HIF1-alpha), glypican 3 oraz czynnik jądrowy hepatocytów 1-beta (Hepatocyte Nuclear Factor 1-beta – HNF1-beta) [138-140]. HNF1-beta jest najlepszym z nich i występuje u 82-100% przypadków raka jasnokomórkowego i sporadycznie w innych typach nowotworów [140]. W tym typie nowotworu obserwuje się mutacje genów KRAS, PTEN, PIK3CA i ARID1A, co czyni ten nowotwór podobnym do raka endometrialnego [141-143]. Ponadto, wiele raków jasnokomórkowych cechuje się niestabilnością mikrosatelitarną [144].

Rak śluzowy (mucinous carcinoma)

Rak śluzowy stanowi 3-4% wszystkich raków jajnika [145]. Najczęściej rozpoznaje się ten nowotwór w okresie okołomenopauzalnym. Zdecydowana większość śluzowych raków jajnika rozpoznawana jest we wczesnym stadium zaawansowania. Częstym niezłośliwym nowotworem jajnika jest gruczolak śluzowy (cystadenoma mucinosum) [146]. Uważa się, że rak śluzowy wywodzi się z gruczolaka śluzowego poprzez stadium pośrednie-śluzowy guz graniczny (mucinous borderline tumor) [147]. Ponadto, dość często obserwuje się raki śluzowe będące przerzutami guzów przewodu pokarmowego [145]. Guzy te mogą osiągać znaczne rozmiary. Mają one strukturę cystyczno-litą i na ogół są ograniczone do jednego jajnika [146]. Obecność raka śluzowego w obu jajnikach wskazuje raczej na wtórny charakter guza [148]. Mikroskopowo komórki raka śluzowego przypominają te z jelita, żołądka lub kanału szyjki macicy. Podobną strukturę mają guzy typu borderline. Czynnikiem różniącym jest obecność inwazji podścieliska. Guzy te często przypominają budową cewy gruczołowe. Na komórkach guzów śluzowych często znajdują się markery guzów przewodu pokarmowego takie jak: CK20, CDX2 i CK7 [149, 150]. Guzy te na ogół nie posiadają receptora estrogenowego i progesteronowego, WT-1 i Ca125 [149]. Ponad 75% raków śluzowych jajnika posiada mutacje w obrębie genów KRAS. Podobne mutacje obserwuje się w gruczolakach śluzowych i guzach śluzowych typu

borderline. Ponadto raki te posiadają geny MUC2, MUC3 i MUC17, charakterystyczne dla raków śluzowych niezależnie od pochodzenia [151].

Guzy granicznej złośliwości (borderline tumors)

Ta kategoria guzów jajnika została wprowadzona w latach 70-tych aby opisać grupę guzów, które nie wykazywały jawnych cech złośliwości (naciekanie tkanek otaczających) a mimo to sporadycznie dawała przerzuty do otrzewnej [127]. Te cechy plasują te guzy pomiędzy złośliwymi rakami a niezłośliwymi gruczolakami. Do guzów typu borderline zalicza się guzy surowicze, śluzowe, endometrialne i jasnokomórkowe. Cechą wspólną tych guzów jest korzystne rokowanie i rzadkie dawanie wznowy, choć nie jest to niemożliwe [152].

1.4.2 Nowe spojrzenie na pochodzenie i podział raka jajnika

Mimo wielu przeprowadzonych badań nie udało się całkowicie wyjaśnić pochodzenia raka jajnika. Dotychczas uznawano pogląd, że rak jajnika wywodzi się ze zmutowanego nabłonka pokrywającego jajnik bądź z torbieli inkluzyjnych w jajniku. Ostatnie badania dowodzą jednak, że rak jajnika należy traktować raczej jako heterogenną jednostkę chorobową w skład której wchodzi guzy o różnym pochodzeniu, biologii i zachowaniu klinicznym. Co więcej, istnieje coraz więcej dowodów na to, że znaczna część raków jajnika wcale nie wywodzi się z jajnika a z jajowodu [117]. W związku z całkowicie nowym podejściem do patogenezy raka jajnika proponuje się również nowy ich podział, w zależności od pochodzenia, charakterystyki klinicznej i sposobu leczenia [151]. Zaproponowano podział na guzy typu I i II [153]. Guzy typu I są guzami o powolnym wzroście. Na ogół są ograniczone do jajnika w momencie rozpoznania i rozwijają się z dobrze zdefiniowanych zmian przednowotworowych - guzów granicznych. Nowotwory te są na ogół stabilne genetycznie i często posiadają mutacje genów KRAS, BRAF, PTEN i beta-kateniny. Do guzów typu I zalicza się: raka surowiczego niskiego stopnia oraz raki endometrialne, śluzowe i jasnokomórkowe. Guzy typu II są natomiast guzami szybko rosnącymi i agresywnymi, dla których nie znaleziono jeszcze jednoznacznych zmian prekursorowych. W momencie rozpoznania guzy te często występują w

zaawansowanym stadium, co skutkuje złym rokowaniem. Do guzów tych zalicza się wysokiego stopnia raki surowicze, mięsakoraki, i raki niezróżnicowane. Nowotwory te cechują się niestabilnością genetyczną i często posiadają mutacje genu TP53. Co ciekawe, duża część guzów typu drugiego może wcale nie wywodzić się z jajnika, a ze zmian w jajowodach, bądź otrzewnej i wtórnie zajmować jajnik.

1.4.3 Pochodzenie raka jajnika

Jak dotąd zaproponowano kilka prekursorów raka jajnika. Istotne jest, że makroskopowo podobny obraz choroby może wywodzić się z różnych prekursorów. Obecny stan wiedzy wskazuje na to, że nowotwory niskiego stopnia powstają wieloetapowo wskutek licznych mutacji genetycznych w komórkach pochodzenia Müllerskiego. Fakt ten skutkuje powolnym wzrostem, zachowaniem różnicowania nabłonkowego i stopniową progresją do nowotworu złośliwego. W odróżnieniu od nich nowotwory wysokiego stopnia powstają w wyniku gwałtownej przemiany z komórek niezłośliwych, czemu często towarzyszy utrata zróżnicowania komórkowego. Zmianą prekursorową dla raka wysokiego stopnia wydaje się być surowicze, śródnabłonkowe nowotworzenie w jajowodzie (serous tubal intraepithelial neoplasia/carcinoma – STIN/STIC). Jest to również zmiana najlepiej zbadana. Ponadto, proponuje się zaliczenie do zmian przednowotworowych torbieli inkluzyjnych i ognisk endometriozy [117].

Surowicze, śródnabłonkowe nowotworzenie w jajowodzie (serous tubal intraepithelial neoplasia - STIN)

Jak wspomniano powyżej potencjalnym prekursorem raka surowiczego wysokiego stopnia jest STIN. Jest on definiowany, jako zmiana o charakterze rozrostowym w jajowodzie, posiadająca mutacje genu TP53 i cechująca się atypią komórkową [117]. Odkrycie STIN rzuciło nowe światło na patogenezę raka jajnika. Może ono sugerować, że jajowód jest miejscem wyjścia dla surowicznych guzów w obrębie przydatków i miednicy mniejszej. Histologicznie zmiany tego typu w jajowodach są różnorodne. Nie ustalono jednoznacznie, które z nich stwarzają zagrożenie dla życia pacjentów, a które nie. Opisano wiele zmian cechujących się rozrostem, jednak bez atypii koniecznej do rozpoznania nowotworu złośliwego. Dla

zmian tych zaproponowano nazwę surowiczych, śródnabłonkowych zmian w jajowodzie (serous tubal intraepithelial lesions – STIL) [117]. Historia rozwoju tych zmian i ich ewentualna progresja do STIC lub raka inwazyjnego jest jak dotąd nieznaną.

Torbiele inkluzyjne

Innym potencjalnym prekursorem raka jajnika mogą być torbiele inkluzyjne. Torbiele inkluzyjne powstają w jajniku na skutek owulacji. Powtarzająca się owulacja powoduje stres oksydacyjny, który może w końcu doprowadzić do przemiany nowotworowej [154]. Mimo tej obiecującej hipotezy jak dotąd nie udało się jednoznacznie potwierdzić związku między torbielami inkluzyjnymi a rakiem. Torbiele inkluzyjne najczęściej współistnieją są z guzami niskiego stopnia i guzami typu borderline. Sporadycznie występują również wraz z guzami wysokiego stopnia, jednak uważa się, że nie jest to typowe dla patogenezy tych guzów.

Endometrioza

Ogniska endometriozy również mogą stanowić punkt wyjścia dla niektórych typów surowiczego raka jajnika. Najczęściej współistnieją z rakiem endometrialnym lub jasnokomórkowym. Od czasu do czasu spotyka się raka surowiczego wywodzącego się z miejsc, w których występowała endometrioza [143, 155].

Pochodzenie raka surowiczego wysokiego stopnia

Do niedawna większość badaczy uważała, że rak surowiczy wysokiego stopnia wywodzi się z nabłonka pokrywającego jajnik lub z torbieli inkluzyjnych. W latach 90-tych zaczęto wiązać stwierdzane coraz częściej zmiany typu STIN/STIC z występowaniem raka jajnika [156, 157]. Fakt ten wynikał ze wzrostu liczby profilaktycznych histerektomii z przydatkami wykonywanych u kobiet z mutacjami genów BRCA1 i BRCA2. Zauważono wówczas, że 4-17% z kobiet uważanych za zdrowe miało raka przedinwazyjnego lub inwazyjnego w obrębie miednicy mniejszej. Około 80% z tych zmian było zlokalizowana w dystalnej części jajowodu [158-161]. W związku z tym powstała hipoteza mówiąca o przerzutowaniu pierwotnych ognisk raka z jajowodu do jajnika. Teoria ta wydaje się znajdować potwierdzenie w analizie ekspresji genów raka jajnika. Okazało się, że komórki raka surowiczego wysokiego stopnia są dużo bardziej podobne do komórek nabłonka jajowodu, niż do nabłonka

pokrywającego jajnik [162]. W 2007 roku przeprowadzono badania na grupie kobiet z rakiem jajnika nieuwarunkowanym genetycznie. U 61% z nich stwierdzono ogniska śródnabłonkowego nowotworzenia w jajowodzie [163]. Z uwagi na fakt, iż były one związane z rakiem surowiczym, a nie endometrialnym, bądź śluzowym nazwano je surowiczym śródnabłonkowym rakiem jajowodu (serous tubal intraepithelial carcinoma – STIC). Dokładniejsze badania wykazały, że zmiany typu STIC w 92% posiadają mutacje genu TP53, które są identyczne jak te obserwowane w raku jajnika [164]. Zmiany typu STIC są najwcześniejszymi prekursorami raka jajnika, jakie udało się znaleźć. Nie jest jasne, na jakich zasadach ewoluują one w kierunku inwazyjnego raka jajnika lub jajowodu. Zaskakuje jednak rzadkość, z jaką zmiany te występują samodzielnie, bez współistnienia z rakiem inwazyjnym. Co ciekawe, zmiany typu STIC kontrastują z typowym obrazem zmian przedrakowych, które powstają w skutek powolnej, bądź niekompletnej transformacji nowotworowej. Taka przemiana obserwowana jest na przykład w raku szyjki macicy, co skutkuje większą ilością zmian przedinwazyjnych w stosunku do inwazyjnych. W raku jajnika tendencja ta jest odwrotna.

Innym możliwym punktem wyjścia surowiczego raka jajnika wysokiego stopnia są torbiele inkluzyjne [165]. Wyróżnia się dwa rodzaje torbieli inkluzyjnych. Pierwsze są wysłane płaskim nabłonkiem podobnym do nabłonka pokrywającego jajnik. Drugie wysłane są urzęsionym nabłonkiem walcowatym, podobnym do tego obserwowanego w jajowodzie. Poza komórkami nabłonka obserwuje się tu też liczne komórki układu odpornościowego. Potwierdzeniem roli torbieli inkluzyjnych w patogenezie raka jajnika mogą być doniesienia o aneuploidii komórek obserwowanych wewnątrz torbieli inkluzyjnych [165]. Rola torbieli inkluzyjnych w patogenezie raka jajnika nie została jednak ostatecznie wyjaśniona i obecnie wiąże się je raczej z rakiem surowiczym niskiego stopnia.

Pochodzenie raka surowiczego niskiego stopnia

Surowicze raki jajnika niskiego stopnia i guzy typu borderline wydają się wywodzić z jajnika i mieć wspólną patogenezę. Raki surowicze niskiego stopnia, podobnie jak raki wysokiego stopnia mają skłonność do rozprzestrzeniania się wewnątrztrzewnowo, różnią się one od nich jednak znacząco. Ich komórki wyglądem przypominają zdrową

śluzówkę, mają mniejszy indeks proliferacji oraz nie posiadają mutacji genu TP53 [166]. Podobnie jak w rakach wysokiego stopnia ich komórki wydają się przypominać komórki jajowodu- posiadają one jednak rzęski, co jest dowodem na ich lepsze zróżnicowanie [119]. Prawdopodobnie raki te wywodzą się z ektopowego nabłonka Müllerskiego obecnego w torbielach inkluzyjnych w jajniku. Taki nabłonek może powstawać w obrębie torbieli inkluzyjnych w procesie metaplastji, albo poprzez bezpośrednie przeniesienie z jajowodu podczas owulacji. Interakcja zrębu jajnika z nabłonkiem wydaje się być niezbędna do zainicjowania procesu karcynogenezy. Znaczna część raków niskiego stopnia nabywa z czasem mutacje genów KRAS lub BRAF, co jest cechą charakterystyczną dla guzów tego typu [124, 167]. Kolejnymi genami mogącymi mieć znaczenie dla rozwoju raków surowicznych niskiego stopnia są geny HOX (homeobox regulatory genes). Jest to rodzina genów swoistych dla różnych tkanek pochodzenia Müllerskiego [168]. Na podstawie obserwacji w modelach mysich zauważono, że ektopowa ekspresja tych genów może prowadzić do powstawania surowicznych guzów o pochodzeniu zależnym od genów HOX [169].

1.5 Wczesne wykrycie raka jajnika

1.5.1 Znaczenie wczesnej diagnostyki raka jajnika

Mimo starań wyniki leczenia raka jajnika są złe. Średnie przeżycie pięcioletnie kształtuje się na poziomie 45% [5]. Wynika to z faktu, iż u większości pacjentów rozpoznaje się raka w zaawansowanym stadium, gdy obecny jest rozsiew nowotworu poza miednicę mniejszą. Co ciekawe, gdy nowotwór zostanie wykryty wcześniej to rokowanie jest dobre i odsetek przeżyć pięcioletnich wynosi 90% [170]. Fakt ten kładzie szczególny nacisk na rozpoznawanie raka jajnika we wczesnym stadium. Niestety, jak dotąd nie udało się osiągnąć tego celu. Do metod wczesnej diagnostyki raka jajnika możemy zaliczyć screening – badania przeprowadzane w populacji kobiet zdrowych oraz badania różnicujące guzy jajnika przeprowadzane u kobiet z wykrytą już patologią w obrębie przydatków.

1.5.2 Screening raka jajnika

Mimo wielu prób nie opracowano jak dotąd skutecznego programu badań przesiewowych w kierunku raka jajnika. Badanie przesiewowe (screening) jest badaniem przeprowadzanym u osób bez objawów choroby w celu wczesnego jej wykrycia, leczenia i zapobieżenia odległym jej następstwom. Badania przesiewowe mogą być wykonywane na całej populacji, bądź tylko w grupach ryzyka. Można na jego podstawie rozpoznać chorobę, jednak zaleca się jej potwierdzenie testami o wyższej skuteczności. Wymagania, jakie stawia się badaniom przesiewowym są następujące: schorzenie powinno stanowić istotny problem zdrowia publicznego; powinna występować wczesna, bezobjawowa faza schorzenia; dostępne jest odpowiednie badanie przesiewowe; istnieje uznany standard leczenia tego schorzenia oraz istnieją dowody na to, że leczenie tego schorzenia we wczesnej fazie będzie miało wpływ na stan pacjenta w przyszłości [171]. Nie jest pewne, czy rak jajnika spełnia te kryteria. Przede wszystkim nie zidentyfikowano jak dotąd w sposób pewny form przedrakowych. Co prawda, opisano ostatnio ogniska nowotworzenia surowiczego w jajowodzie (serous tubal intraepithelial neoplasia – STIN), jednakże nie jest jasne, na jakich zasadach przebiega ich progresja w kierunku raka inwazyjnego, ile to trwa i czy można te zmiany odpowiednio wcześnie wykryć i leczyć.

Należy pamiętać, że badania przesiewowe, poza oczywistymi korzyściami w postaci wcześniejszego wykrycia nowotworu, może wiązać się z pewnym ryzykiem. Przede wszystkim screening w kierunku raka jajnika kończy się na ogół operacją zwiadowczą. Procedury operacyjne związane są ze znaczącym ryzykiem powikłań, które w skrajnych przypadkach mogą nawet zagrażać życiu. W jednym z przeprowadzonych dotychczas badań odsetek powikłań pooperacyjnych wyniósł 15% [172]. Poza tym, niska czułość i swoistość testów dostępnych obecnie skutkuje znacznym odsetkiem wyników fałszywie pozytywnych, narażając pacjentów na niepotrzebne procedury medyczne i stres. Przy obecnych możliwościach screening wiąże się również ze znacznymi kosztami, co stawia pod znakiem rentowność takiego przedsięwzięcia. Ponadto, co najważniejsze, żadne z przeprowadzonych dotychczas badań przesiewowych w kierunku raka jajnika nie wykazało zmniejszenia śmiertelności na ten nowotwór, co wyklucza ich zastosowanie na szeroką skalę.

W związku z powyższymi faktami opracowano teoretyczne wymagania, jakie musi spełniać test, aby możliwe było jego zastosowanie w screeningu raka jajnika. Dodatnia wartość predykcyjna (PPV) powinna wynosić co najmniej 10%. Oznacza to, że co najwyżej 9 zdrowych kobiet może być poddanych niekoniecznym procedurom w wyniku dodatniego wyniku badania przesiewowego, aby wykryć jeden przypadek raka jajnika [173-175]. PPV zależy od zachorowalności na daną chorobę w populacji oraz czułości (sensitivity-SN) i swoistości (specificity-SP) zastosowanego testu diagnostycznego. W przypadku raka jajnika, w populacji powyżej 50 roku życia test przesiewowy powinien mieć czułość >99,6% przy swoistości 80% aby osiągnąć PPV rzędu 10%. W praktyce testami, które mogą spełnić te wymagania są serologiczne markery nowotworowe i ultrasonografia przezpochwowa. Inne testy, takie jak badanie ginekologiczne, czy tomografia komputerowa mają zbyt małą czułość, aby znaleźć praktyczne zastosowanie w screeningu.

1.5.2.1 Surowicze markery nowotworowe

Surowicze markery nowotworowe są obecnie intensywnie badane pod kątem ich przydatności w screeningu raka jajnika. Do głównych zalet markerów zalicza się ich nieinwazyjność, powtarzalność, relatywnie niski koszt i obiektywność. Najlepiej zbadanymi markerami są jak dotąd CA125 i HE4.

CA125

CA125 jest najlepiej jak dotąd zbadanym markerem raka jajnika. Białko CA125 jest produktem genu *MUC16*. Jest to duża, przezbłonowa glikoproteina pochodząca komórek nabłonkowych z jam ciała (osierdzie, otrzewna, opłucna) jak i nabłonka Müllerskiego (jajowody, endocervix, endometrium). Kompleks antygenowy zbudowany jest z podjednostek A i B. Podjednostka A zawiera sekwencje docelowe dla przeciwciał OC125 i M11 [176]. Obecnie w użyciu są dwa testy wykrywające Ca125. Test Ca125 I wykrywa tylko sekwencje OC125. Test Ca125 II natomiast jest w stanie wykryć obie wyżej wymienione podjednostki. Ca125 II wydaje się być bardziej swoisty, jednak brak jest na to jednoznacznych naukowych dowodów [177]. Nie ma zgodności, co do wartości referencyjnych dla Ca125 I i II. Przyjmuje się, że wartości te powinny

wynosić <35 U/ml dla Ca125 I i <20 U/ml dla Ca125 II. U kobiet przed menopauzą wartości te mogą być wyższe i wynosić nawet do 200 U/ml, co ma związek z naturalnymi zmianami Ca125 w cyklu miesięczkowym i częstym występowaniem funkcjonalnych zmian w obrębie przydatków [178]. Wartości CA125 są podwyższone u około 50% pacjentów z wczesnym rakiem i u ok 80% z zaawansowanym nowotworem [179]. Mimo to, swoistość CA125 jest ograniczona. Jego wartości zmieniają się w trakcie cyklu miesięczkowego i są podwyższone u ok. 1% kobiet [180]. Ponadto, wartości tego markera są podwyższone w wielu schorzeniach takich jak: endometrioza, mięśniaki macicy, marskość wątroby, stany zapalne, nowotwory endometrium, piersi, płuca i trzustki oraz w wysięku w opłucnej lub otrzewnej, niezależnie od pochodzenia [181-185]. Co więcej, średnie wartości CA125 wydają się być zależne od przynależności etnicznej, palenia tytoniu oraz wieku pacjenta [186]. Mimo to, prospektywne badanie wykazało, że podwyższony poziom CA125 (>30U/mL) był dobrym wskaźnikiem ryzyka rozwoju raka jajnika. Relatywne ryzyko wynosiło 35,9% w pierwszym roku i 14,3% w ciągu 5 lat [187]. Dokładniejsze badania wykazały jednak, że zastosowanie pomiarów CA125 raz w roku w populacji o zwykłym ryzyku rozwoju raka cechuje się zbyt małą swoistością, aby można było go praktycznie wykorzystać. Badania te zostały ograniczone do kobiet po menopauzie z uwagi na niską zachorowalność na raka jajnika u kobiet młodszych oraz z uwagi na wysoką zapadalność na schorzenia łagodne, co powodowałoby wysoki odsetek wyników fałszywie pozytywnych. Dwa badania wykonane w Szwecji i Wielkiej Brytanii wykazały, że swoistość pojedynczego oznaczenia CA125 wynosi około 98,6-99,4% i skutkuje nieakceptowalną PPV w granicach 3% [188, 189]. Kolejnym badaniem, które sprawdziło przydatność CA125 w screeningu raka jajnika było badanie PLCO. W badaniu tym oferowano zdrowym ochotnikom coroczne badanie poziomów CA125 i USG dopochwowe. Podwyższone wartości CA125 stwierdzono u ok 436 kobiet z 28,816 (1,5%). PPV wyniosło 3,7% [190]. W czteroletnim okresie obserwacji odsetek podwyższonych wartości pozostał niezmienny, skutkując PPV równą 2,6% [172]. Innym sposobem wykorzystania CA125 może być analiza zmian jego poziomu w czasie. W Wielkiej Brytanii trwa badanie, które zakłada wykorzystanie wielokrotnych pomiarów CA125 oraz specjalnie stworzonego algorytmu matematycznego służącego obliczaniu ryzyka raka jajnika. Wstępne wyniki wskazują na podniesienie czułości w wykrywaniu raka jajnika z 62 do 86% przy stałej

swoistości wynoszącej 98% [191, 192]. Ostateczne wyniki badania będą jednak znane dopiero w 2017 roku.

Inne markery nowotworowe

Poza CA125 wiele innych markerów jest obecnie badanych pod kątem ich przydatności w wykrywaniu raka jajnika. Jak dotąd, żaden z nich nie okazał się lepszy niż CA125. Nowe markery można zastosować pojedynczo albo w kombinacji, co może przyczynić się do dodatkowego zwiększenia ich skuteczności. Jednym z lepiej zbadanych markerów jest ludzkie białko najądrza 4 (human epididymis protein 4 – HE4). Białko to charakteryzuje się porównywalną do CA125 czułością w różnicowaniu chorych z rakiem jajnika od zdrowych. Co ciekawe, czułość jest wyższa, gdy markera tego użyje się do różnicowania raka od innych chorób ginekologicznych [193, 194]. W jednym badaniu przeprowadzonym na kobietach z guzem jajnika użycie HE4 pozwoliło prawidłowo zakwalifikować 93,8% kobiet z rakiem jajnika do grupy wysokiego ryzyka [195]. W innym badaniu zastosowano panel markerów składający się z CA125, HE4, CEA i VCAM-1, który osiągnął czułość 86% i swoistość 98% w wykrywaniu raka jajnika [196]. Badanie to nie zostało jednak przeprowadzone na populacji przeciętnego ryzyka i nie można jednoznacznie odnieść osiągniętych wyników w stosunku do badania screeningowego. Mimo to, jego wyniki są obiecujące i sugerują, że panele markerów nowotworowych mogą osiągnąć lepsze wyniki od pojedynczych markerów. Komercyjny test do oznaczania HE4 jest dostępny, a sam marker został zaaprobowany przez FDA do monitorowania choroby u kobiet z rozpoznanym już rakiem jajnika [197]. Jak dotąd HE4 nie został dopuszczony do screeningu raka jajnika. Opracowano również panel składający się z CA125 i HE4 o nazwie ROMA, który został zarejestrowany do przedoperacyjnej oceny charakteru zmian w jajniku [198].

1.5.2.2 Indeks objawów raka jajnika (Ovarian Cancer Symptom Index)

Indeks objawów raka jajnika jest próbą wykorzystania objawów podmiotowych pacjentki w celu wykrycia raka jajnika. Mimo, iż objawy raka jajnika są niespecyficzne, udało się opracować test, który może zostać zastosowany w rozpoznawaniu tej choroby. Indeks ten uznaje się za pozytywny, gdy pacjentka zgłasza bóle brzucha,

wzdęcia, powiększanie się obwodu brzucha, problemy z jedzeniem i wczesne uczucie sytości częściej niż 12 razy w miesiącu [199]. W badaniu na grupie kobiet z wysokim ryzykiem zachorowania na raka jajnika stwierdzono, że połączenie indeksu objawów, CA125 i HE4 pozwala wykryć raka z czułością 83,8% i swoistością 98,5% gdy 2 z 3 testów są pozytywne. Na chwilę obecną indeks objawów raka jajnika nie powinien być stosowany jako metoda screeningowa. Brak jest badań populacyjnych potwierdzających jego skuteczność i bezpieczeństwo. Pozytywny wynik testu powinien zawsze być zweryfikowany przez inne badania.

1.5.2.3 Ultrasonografia przezpochwowa (TV-US) i przezbrzuszną (TA-US)

Podjęmowano też próby zastosowania ultrasonografii przezbrzuszej (TA-US) i przezpochwowej (TV-US) jako narzędzia w screeningu raka jajnika. Ultrasonografia przezpochwowa cechuje się większą dokładnością, mniejszą zależnością od masy ciała pacjenta i krótszym czasem badania w stosunku do ultrasonografii przezbrzuszej. Obydwie metody są jednak subiektywne i zależne od doświadczenia wykonującego je lekarza. Obecnie używane systemy oceny zmian jajnika uwzględniają wielkość, cechy morfologiczne i obraz dopplerowski jajników [200]. Czułość i swoistość ultrasonografii przezpochwowej jest duża w przypadku retrospektywnego badania kobiet z już rozpoznany rakiem jajnika. Wartości SN i SP kształtują się na poziomie odpowiednio 80-100% i 94-99% [179]. Badania populacyjne wypadają jednak znacznie gorzej. W grupie 4526 kobiet z podwyższonym ryzykiem raka jajnika wieloletnie badania, w trakcie których wykonano ponad 12000 badań TV-US, pozwoliły wykryć raka jajnika tylko w III stopniu zaawansowania. Nie udało się wykryć wczesnych form raka jajnika [201]. Nieco lepiej wypadają próby zastosowania TV-US w populacji o niskim ryzyku zachorowania na raka jajnika. Próby te opisane są dwóch pracach. Pierwsze opracowanie wykonano na podstawie badań u 37,293 kobiet bez objawów klinicznych w wieku powyżej 50 lat i powyżej 25 lat w przypadku rozpoznania raka jajnika w rodzinie[202]. Badanie rozpoczęło się w roku 1987 i czas obserwacji niektórych pacjentek wynosi obecnie 20 lat. W badaniu tym wykonywano TV-US raz w roku. SN i PPV wyniosły odpowiednio 98,5% i 8,9%. W wyniku screeningu przeprowadzono 11,1

operacji, aby wykryć jeden przypadek raka. 70% z 47 przypadków raka jajnika wykrytych dzięki screeningowi było na I lub II stopniu zaawansowania. Współczynnik 5-letnich przeżyć wynosił 84,6% dla kobiet z rakiem jajnika rozpoznany dzięki screeningowi i 53,7% dla kobiet z rakiem rozpoznany poza programem. Wyniki te wymagają jednak potwierdzenia przez badania randomizowane. Drugą pracą opisującą zastosowanie TV-US w screeningu raka jajnika jest praca podsumowująca brytyjski program UKCTOCS (United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening) [203]. W tym badaniu 48,230 kobiet w wieku 50-74 lat zostało podzielonych na trzy grupy. W pierwszej zastosowano screening multimodalny (multimodal screening - MMS), w drugiej zastosowano screening przy użyciu TV-US a w trzeciej nie stosowano żadnej metody screeningu. W grupie TV-US wykryto 45 przypadków raka jajnika. 20 z nich było guzami o granicznej złośliwości a 12 z 25 guzów złośliwych wykryto w I i II stopniu zaawansowania. Czułość, swoistość i PPV wyniosły odpowiednio: 84,9%, 98,2% i 5,3%. Dodatkowa diagnostyka była wykonana u 12% (5779) pacjentek a leczenie operacyjne zastosowano u 1,8% (845) z nich. Swoistość TV-US była jednak niższa niż w grupie z MMS, co skutkowało 9-krotnie większą liczbą operacji potrzebnych do wykrycia jednego przypadku raka jajnika.

1.5.2.4 Screening multimodalny (multimodal screening - MMS)

Screening multimodalny jest wynikiem połączenia oceny markerów nowotworowych i technik obrazowania (TV-US) w spójną strategię screeningu. Jak dotąd przeprowadzono trzy badania biorące pod uwagę ocenę poziomu CA125 i wyniku ultrasonografii przezpochwowej. Wyniki ostateczne jednego badania są dostępne [172]. Dwa pozostałe jeszcze trwają [203, 204].

Pierwsze badanie (program PLCO- Prostate Lung Colorectal and Ovarian Cancer Screening) zostało przeprowadzone na grupie 68,557 kobiet w wieku 55-74 lat, które zostały losowo podzielone na dwie podgrupy [172]. Pierwsza została poddana screeningowi polegającemu na ocenie CA125 i TV-US. Druga natomiast otrzymała standardową opiekę medyczną. Głównym celem badania była analiza śmiertelności pacjentów z powodu raka. Ponadto analizowano zachorowalność na raka jajnika,

stopień zaawansowania w momencie rozpoznania, powikłania wynikające ze screeningu oraz ogólną śmiertelność. Screening przeprowadzono u 28,816 kobiet. Na początku badania 1740 z nich miało nieprawidłowy wynik CA125 lub TV-US. U 34 kobiet wyniki obu tych badań były nieprawidłowe. Jedna trzecia z kobiet z nieprawidłowym wynikiem screeningu została poddana operacji (570 kobiet). Wykryto 29 przypadków raka jajnika. Z tej grupy 90% było na III i IV stopniu zaawansowania. Po wstępnych badaniach kobiety z grupy screeningu przechodziły raz do roku badanie CA125 i TV-US (CA125-przez 6 lat; TV-US-przez 4 lata). Decyzja co do podjęcia leczenia należała do ich lekarzy prowadzących. Podporządkowanie się pacjentów wynosiło ok 85% na początku badania i spadło nieznacznie do 73% w ostatnim roku screeningu. W wyniku screeningu otrzymano pomiędzy 1,4 a 1,8% wyników pozytywnych dla CA125 i pomiędzy 2,9 a 4,6% dla TV-US. Follow-up prowadzono przez 13 lat, po czym zaprzestano go z powodu nie wykazania jego przydatności. Wykryto 212 przypadków raka jajnika w grupie poddanej screeningowi i 176 w grupie kontrolnej. Nie wykazano różnic w zaawansowaniu nowotworu w momencie wykrycia pomiędzy grupami. Zarówno zachorowalność, jak i śmiertelność z powodu raka jajnika były nieznacznie większe w grupie poddanej screeningowi. Zarejestrowano 3285 wyników fałszywie pozytywnych. 1080 kobiet zostało poddanych operacji 15% z nich ucierpiało z powodu poważnych komplikacji pooperacyjnych. Podsumowując, screening prowadzony w ten sposób nie zmniejszył śmiertelności z powodu raka jajnika a przyczynił się do wzrostu liczby powikłań w związku z wynikami fałszywie pozytywnymi.

Druga próba przeprowadzenia screeningu multimodalnego to opisany już wcześniej program UKCTOCS [203]. W badaniu tym skorzystano z wcześniejszych doświadczeń i opracowano algorytm interpretujący wyniki oznaczeń Ca125 i ultrasonografii przezpochwowej [191, 203, 205]. Do badania włączono 202,638 kobiet w wieku 50-74 lat. Zostały one podzielone na trzy grupy. W pierwszej nie zastosowano żadnego screeningu. Druga została objęta corocznym screeningu przy pomocy TV-US. W trzeciej zastosowano screening multimodalny przy użyciu Ca125 i TV-US według specjalnego algorytmu [192]. Wstępny screening MMS wykrył 42 pierwotne raki jajnika i jajowodu. 47% z nich było w I i II stopniu zaawansowania. Czulość, swoistość i PPV wyniosły odpowiednio: 89,4; 99,8 i 43%. Dodatkowe badania były konieczne u 8,7%

pacjentów a interwencja chirurgiczna została przeprowadzona u 0,2% z badanych kobiet. Swoistość była znacząco wyższa w grupie MMS w porównaniu do grupy TV-US. Dane odnośnie śmiertelności pacjentów nie są jeszcze dostępne.

Ostatnie badanie dotyczące screeningu multimodalnego jest prowadzone obecnie w Japonii. Z 82,000 kobiet po menopauzie biorących w nim udział 42,000 zostało poddanych corocznemu screeningowi z użyciem TV-US i Ca125 [204]. Nie stwierdzono różnic w wykrywalności raka jajnika wśród obu grup kobiet. Stwierdzono nieistotny statystycznie trend w kierunku wykrywania raka we wcześniejszym stadium. W grupie poddanej screeningowi. 33 operacje chirurgiczne były konieczne, aby wykryć jeden przypadek raka jajnika. Dane dotyczące śmiertelności nie są jeszcze dostępne.

Przeprowadzone dotychczas badania dotyczące screeningu raka jajnika w populacji ogólnej przy użyciu Ca125 i TV-US dały nieco odmienne rezultaty. Jedynie badanie UKTOCS dało wyniki mogące potwierdzać przydatność markerów nowotworowych i TV-US w screeningu. Ostateczna ocena tej metody screeningu będzie jednak możliwa dopiero po otrzymaniu danych dotyczących śmiertelności. Zakończenie tego badania planowane jest na rok 2017.

1.5.2.5 Screening w populacji wysokiego ryzyka

W tej grupie kobiet niełatwo jest prowadzić randomizowane badania kliniczne oceniające skuteczność screeningu z uwagi na fakt, iż niewiele kobiet zgodziłoby się trafić do grupy nieobjętej screeningiem. Prospektywne badania kohortowe wykonane dotychczas nie dały jednoznacznych wyników. W największym z nich-badaniu UK FOCS (United Kingdom Familial Ovarian Cancer Screen Study) screeningowi zostało poddanych 3563 kobiet z rodzinie uwarunkowanym ryzykiem zachorowania na raka jajnika, które zrezygnowały z profilaktycznej histerektomii z przydatkami [206]. U kobiet tych zastosowano screening oparty o TV-US i Ca125. Czułość w wykrywaniu raka jajnika wyniosła pomiędzy 81 a 87% w zależności od przyjętej metody oceny. PPV wyniosło 25,5%, co przekracza próg 10% uznany za minimalny dla testu używanego w screeningu raka jajnika. Wśród wykrytych nowotworów 30,8% było w I lub II stopniu zaawansowania. Co więcej, u kobiet poddanych screeningowi rok przed wykryciem

nowotworu rzadziej wykrywano go w zaawansowanym stadium (26,1 vs. 85,7%). Badanie to nie zostało zaprojektowane do wykazania zmniejszenia śmiertelności w wyniku screeningu, jednakże umożliwienie wykrycia raka we wcześniejszym stadium wydaje się być godną rozważenia opcją dla kobiet z rodzinie uwarunkowanym ryzykiem rozwoju raka jajnika, które nie chcą poddać się profilaktycznej histerektomii z przydatkami. Poza tym badaniem przeprowadzono jeszcze dwa, które nie wykazały korzyści płynących z screeningu, gdyż większość z przypadków raka była wykrywana w III stopniu zaawansowania [3, 207].

1.5.2.6 Screening – podsumowanie

Praktyczne postępowanie kliniczne powinno być uzależnione od indywidualnie ocenionego ryzyka rozwoju raka u danej pacjentki. U kobiet z umiarkowanym ryzykiem screening przy użyciu Ca125 i TV-US nie jest zalecany [208]. Dodatnia wartość predykcyjna któregokolwiek z nich jest zbyt niska (poniżej 3%) i powoduje zbyt wysoki odsetek wyników fałszywie pozytywnych i związanych z tym powikłań i kosztów. Połączenie obu tych metod nie zmniejszyło śmiertelności pacjentów w trakcie 13-letniego okresu obserwacji. Spowodowało natomiast szkody w postaci powikłań po nieuzasadnionych operacjach w przypadku wyników fałszywie pozytywnych [172]. Wśród kobiet z podwyższonym ryzykiem zachorowania na raka jajnika należy rozróżnić te z rzadko występującym rodzinnym zespołem ryzyka raka jajnika od tych, u których wystąpił przypadek raka jajnika w rodzinie, ale bez cech rodzinnej skłonności w kierunku nowotworów. U kobiet, u których występuje podwyższone ryzyko rozwoju raka jajnika, a nie stwierdza się cech rodzinnego jego występowania zaleca się zindywidualizowane podejście do screeningu. Należy poinformować pacjentkę, że nie wykazano jednoznacznych zalet płynących ze screeningu oraz, że może się on wiązać z potencjalnym ryzykiem powikłań. U kobiet z wysokim, rodzinie uwarunkowanym ryzykiem rozwoju raka jajnika zaleca się skierowanie pacjentki do genetyka celem zbadania mutacji w genach BRCA1 i 2 i genów związanych z zespołem Lyncha. U kobiet z potwierdzonymi mutacjami genów BRCA1 i 2 zaleca się rozważenie profilaktycznej histerektomii z przydatkami, wprowadzenie screeningu i stosowanie metod

obniżających ryzyko zachorowania na raka jajnika takich jak antykoncepcja hormonalna. Nie ustalono jak dotąd optymalnego protokołu screeningowego. W związku z brakiem randomizowanych badań klinicznych American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) i National Comprehensive Cancer Network (NCCN) zalecają rozpoczęcie screeningu u kobiet z mutacjami genów BRCA1 i 2 w wieku 30-35 lat lub 5 do 10 lat przed wystąpieniem raka jajnika u najmłodszego członka rodziny. Screening należy oprzeć o badanie ginekologiczne, TV-US i Ca125 powtarzane co 6-12 miesięcy [209, 210].

1.5.3 Różnicowanie zmian w obrębie przydatków

Osobnym zagadnieniem jest przedoperacyjna ocena zmian patologicznych w obrębie przydatków. Guzy w tej okolicy są częstym problemem klinicznym. Mogą mieć charakter nowotworowy, zapalny, bądź być wynikiem innych procesów patologicznych w obrębie jamy brzusznej i miednicy mniejszej. Postępowanie uzależnione jest charakteru zmiany, rodzaju objawów klinicznych występujących u pacjenta i prawdopodobieństwa procesu nowotworowego. Głównym celem przedoperacyjnej diagnostyki zmian w obrębie przydatków jest ocena ryzyka złośliwości zmiany. W tej ocenie bierze się pod uwagę wygląd zmiany w ultrasonografii, wiek pacjentki, poziomy markerów nowotworowych, objawy kliniczne i czynniki ryzyka raka jajnika. Na podstawie tych parametrów zmiany klasyfikuje się, jako wysokiego, pośredniego i niskiego ryzyka [211]. Postępowanie zależy od ryzyka złośliwości zmiany, wieku pacjentki, jej preferencji dotyczących leczenia i innych czynników. Możliwe jest postępowanie chirurgiczne i zachowawcze. Postępowanie chirurgiczne wskazane jest w przypadku zmian o wysokim ryzyku złośliwości. W przypadku zmian o pośrednim i niskim ryzyku złośliwości zaleca się obserwację zmiany i postępowanie zachowawcze. Z tego też względu istotna jest przedoperacyjna klasyfikacja zmian. Wczesne podjęcie decyzji o leczeniu może mieć duże znaczenie dla wyników terapii pacjentów z rakiem jajnika.

1.5.3.1 Rola biomarkerów w diagnostyce zmian w przydatkach

Jak napisano powyżej - celem przedoperacyjnej diagnostyki jest określenie ryzyka złośliwego charakteru zmiany przydatków. Użycie osoczowych markerów w tym celu jest obecnie jednym z intensywniej badanych zagadnień w ginekologii. Mimo przeanalizowania wielu potencjalnych markerów tylko kilka z nich zostało dopuszczonych do użycia klinicznego i jest dostępnych komercyjnie. Są to: markery CA125 i HE4 oraz panele markerów OVA-1, ROMA (Risk of Ovarian Malignancy) i RMI (Risk of Malignancy Index). Żaden z powyższych nie służy jednak do rozpoznawania raka a jedynie do oceny ryzyka jego wystąpienia.

Najlepiej zbadanym i najczęściej stosowanym markerem jest CA125. Jego charakterystyka została już opisana wcześniej. Użycie CA125 jako markera raka jajnika zostało opisane już w 1983 roku [180]. Obecnie marker ten został dopuszczony przez FDA do monitorowania terapii u kobiet z już rozpoznanym rakiem jajnika. Często jednak używa się CA125 poza rejestracją do oceny charakteru guza jajnika.

Kolejnym markerem używanym w diagnostyce różnicowej guzów jajnika jest HE4. Białko to zostało dopuszczone przez FDA w 2008 roku do monitorowania wznowy bądź postępu choroby u pacjentów z rozpoznanym już rakiem jajnika [208]. Marker ten jest również jednym z elementów składowych panelu ROMA. HE4 jest produktem genu WFDC2, którego nadekspresja występuje u pacjentów z surowiczym i endometrialnym rakiem jajnika [212]. Wartości <150pM/ml uważa się za normalne i odpowiadają one 95 percentylowi u kobiet przed i po menopauzie. Markera tego raczej nie używa się pojedynczo. Wchodzi on w skład panelu ROMA (Risk of Malignancy Algorithm). Algorytm został dopuszczony do użytku w 2011 roku do oceny złośliwości guza jajnika u kobiet u których planuje się leczenie chirurgiczne [208].

Ponadto trwają prace nad wykorzystaniem innych markerów. Substancje takie jak osteopontyna, mezotelina, haptoglobina, transtyretyna, apolipoproteina A1 i inne są wymieniane jako najbardziej obiecujące w tym zakresie [213-216]. Badania nad ich skutecznością są w toku.

Poza pojedynczymi markerami stosuje się również panele składające się z kilku markerów. OVA1 wykorzystuje 5 markerów (CA125 II, β -2 mikroglobulina,

transferyna, transtyretyna i transferyna). Panel ten został dopuszczony do użytku w 2009 roku do oceny ryzyka nowotworu złośliwego u pacjentek, u których planuje się operację z powodu guza jajnika [208]. Odpowiedni algorytm oblicza ryzyko na podstawie wartości poszczególnych markerów i podaje wartość punktową w zakresie od 1,0 do 10,0. Wartości poniżej 5 dla kobiet przed menopauzą i 4,4 po menopauzie wskazują na niskie ryzyko raka jajnika. Wartości większe wskazują podwyższone ryzyko [208].

Kolejną próbą przedoperacyjnej diagnostyki guzów jajnika jest połączenie markerów nowotworowych, ultrasonografii i statusu menopauzalnego. W ten sposób powstał panel RMI (Risk of Malignancy Index) [217]. Ten opracowany w 1990 roku jest wykorzystywany głównie w Wielkiej Brytanii. Jak dotąd powstały cztery wersje tego algorytmu. Markerem wykorzystywanym w tym panelu jest CA125. Ocenie ultrasonograficznej podlega morfologia guza. Panel ten jest wykorzystywany głównie w Wielkiej Brytanii.

1.5.3.2 Rola objawów w diagnostyce zmian w przydatkach

Początkowo uważano, że rak jajnika nie ma swoistych objawów. Ostatnie badania dowodzą jednak, że analiza objawów, z jakimi zgłaszają się pacjenci może mieć pewne znaczenie w rozpoznawaniu raka jajnika. Do objawów, które mogą wskazywać na raka jajnika zalicza się: wzdęcia, częstsze oddawanie moczu, problemy z jedzeniem i wczesne uczucie sytości, bóle w obrębie brzucha i miednicy [9]. Na podstawie tych objawów stworzono indeks objawów raka jajnika (Ovarian Cancer Symptom Index) [9]. Test uznaje się za pozytywny, jeśli pacjentka podaje którykolwiek z wyżej wymienionych objawów, jeśli pojawił się on w ciągu ostatniego roku i powtarza się co najmniej 12 razy w miesiącu. Test ten wymaga jednak walidacji i nie został jeszcze dopuszczony do zastosowania klinicznego.

1.5.3.3 Rola technik obrazowania w diagnostyce zmian w przydatkach

Dwuwymiarowa ultrasonografia przezpochwowa jest podstawowym badaniem służącym ocenie charakteru guza jajnika. Cechuje się ona niskim kosztem oraz brakiem

ekspozycji na promieniowanie jonizujące. Czułość i swoistość ultrasonografii dwuwymiarowej kształtuje się na poziomie SN=86-91% i SP=68-83% [218]. Jest to uwarunkowane faktem, że znaczna część guzów jajnika ma typowy obraz ultrasonograficzny, pozwalający na trafną diagnozę. Wieloośrodkowe badanie wykazało, iż ultrasonografia pozwoliła prawidłowo ocenić charakter zmiany u ok 90% pacjentów [219].

Do sonograficznych cech złośliwości guza zalicza się: znaczny rozmiar guza, skomplikowaną budowę wewnętrzną z licznymi torbielami oraz elementami litymi wewnątrz guza, obecność grubych i dobrze unaczynionych przegród w guzie oraz obecność wolnego płynu w jamie otrzewnej [220-223]. Guzy posiadające te cechy są z dużym prawdopodobieństwem złośliwe i wymagają interwencji chirurgicznej.

Guzy łagodne natomiast mają inny charakter. Najczęściej są to pojedyncze torbiele proste, o gładkich ścianach wypełnione hypoechogenną treścią [224]. Charakterystyczny jest też obraz torbieli endometrialnych – są to guzy wypełnione homogenną, hyperechogenną treścią. Mogą być one mnogie. Do łatwych do rozpoznania guzów zaliczyć możemy również dojrzałe potworniaki – są to guzy o niejednorodnej echogenności występujące na ogół u młodych kobiet [225-227].

Osobnym zagadnieniem jest wykorzystanie technik ultrasonografii dopplerowskiej. Do głównych celów jej stosowania zalicza się uwidocznienie wzmożonego unaczynienia wewnątrz guza i pomiar parametrów przepływu krwi wewnątrz guza [228]. Pierwsza technika znalazła uznanie i w rękach doświadczonego sonografisty może być użyteczna [229]. Pomiar parametrów przepływu krwi w guzie okazał się być mało skuteczny z uwagi na duże zakresy norm dla przepływu krwi zarówno w guzach łagodnych jak i złośliwych [221].

Podsumowując – ultrasonograficzna ocena pozostaje jedną z głównych metod przedoperacyjnej oceny charakteru guza jajnika. Mimo braku pełnej skuteczności pozwala ona z dużym prawdopodobieństwem przewidzieć charakter zmiany. Trwają obecnie prace nad poprawieniem czułości i swoistości ultrasonografii. Dużym zainteresowaniem cieszy się ultrasonografia kontrastowa, podczas której obraz guza

jest wzmacniany poprzez podanie odpowiednio spreparowanych mikropęcherzyków powietrza [230]. Prace nad praktycznym zastosowaniem tej metody są w toku.

2. Cel pracy

Celem pracy jest dokładniejsze zbadanie roli osoczowych markerów nowotworowych w diagnostyce różnicowej guzów jajnika i innych zmian w obrębie miednicy mniejszej. Cel ten będzie realizowany poprzez opisanie poziomów wybranych markerów nowotworowych u pacjentek chorujących na nowotwory złośliwe jajnika, jak i u kobiet zdrowych, bądź z niezłośliwymi chorobami narządu rodneho. Celem pośrednim jest zbadanie czułości i swoistości osoczowych markerów w rozpoznawaniu nowotworu złośliwego jajnika. Zostanie też podjęta próba optymalizacji wykorzystania tych markerów.

3. Materiał i metody

Do badania włączono 191 kobiet rekrutowanych w okresie 09.2012-03.2014 w Ginekologiczno-Położniczym Szpitalu Klinicznym Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Wśród nich były pacjentki zarówno zdrowe, z rozpoznanym guzem jajnika (zarówno złośliwym jak i niezłośliwym) jak i innymi chorobami narządu rodnego (endometrioza, mięśniaki macicy, wypadanie narządu rodnego, wysiłkowe nietrzymanie moczu, niepłodność). Wiek pacjentek w momencie włączenia do badania wynosił 18-81 lat. W późniejszej części badania grupa ta została podzielona na pacjentki przed menopauzą i po menopauzie, celem ujednoczenia średnich wieku w grupach.

Pacjentki podzielono na trzy główne grupy. Kryterium włączenia był wynik badania histopatologicznego pochodzący z materiału operacyjnego. Grupę pierwszą stanowiły pacjentki z rozpoznanym rakiem jajnika, jajowodu lub otrzewnej. Do grupy tej włączono 62 pacjentki. Wśród nich stwierdzono 25 gruczolakoraków surowicznych jajnika, 10 raków niezróżnicowanych, 4 gruczolakoraki śluzowe, 2 gruczolakoraki endometrioidalne, 2 raki lite gruczołowopochodne, 2 ziarniszczaki oraz 1 przypadek mięsakoraka. U 16 kobiet nie ustalono jednoznacznie typu nowotworu. Drugą grupę (66 kobiet) stanowiły pacjentki z guzem jajnika o charakterze niezłośliwym (po wykluczeniu złośliwego procesu nowotworowego w badaniu histopatologicznym). W tej grupie najczęstsze były torbiele endometrioidalne - 18 kobiet. Następnie - torbiele surowicze - 16, dojrzałe potworniaki - 9, torbielakogruczolaki surowicze - 6, guzy zapalne - 7, torbiele ciała żółtego - 6, włókniaki - 2 oraz torbielakogruczolaki śluzowe i torbiele tekaluteinowe - po jednym przypadku. Trzecią grupę stanowiły pacjentki, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego ani w badaniu histopatologicznym ani nie wysnuto podejrzenia nowotworu na podstawie badania klinicznego. Do grupy tej zaliczono więc zarówno kobiety zdrowe, jak i te, u których rozpoznano niezłośliwe guzy jajnika, mięśniaki macicy i inne niezłośliwe choroby narządów rodnych. Grupę tę stanowiło 129 kobiet - 66 z niezłośliwymi guzami jajnika, 14 z niepłodnością, 28 z mięśniakami macicy, 14 z wypadaniem narządu rodnego i wysiłkowym nietrzymaniem moczu, 3 z polipami endometrialnymi i 4 z nieprawidłowymi krwawieniami z dróg

rodnych (nie o etiologii nowotworowej). Z grup II i III wyróżniono dodatkowo grupę pacjentek z endometriozą (torbiele endometrialne lub endometrioza otrzewnowa) – grupa IV i grupę pacjentek z mięśniakami macicy – grupa V. W grupie IV znalazło się 18 kobiet, natomiast w grupie V – 28.

U każdej pacjentki starannie zebrano wywiad dotyczący okoliczności zachorowania. U wszystkich pacjentek pobrano również krew do oznaczeń biochemicznych. Krew została dostarczona do laboratorium w ciągu 1 godziny od pobrania. Po odwirowaniu elementów morfotycznych krwi osocze zostało zamrożone w -80°C i przechowywane celem oznaczenia poziomu markerów nowotworowych. Oznaczeń dokonano metodą immunoelektrochemiluminescencji (ECLIA) przy użyciu analizatora Cobas 6000. Do oznaczeń wykorzystano odczynniki firmy Roche. Oznaczono poziomy CA125 i HE4. Za wartości referencyjne przyjęto: 35U/ml dla CA125 i 150pmol/l dla HE4 [231].

Poziomy markerów nowotworowych opisano przy pomocy średniej arytmetycznej, odchylenia standardowego oraz wartości minimalnych i maksymalnych. Dla sprawdzenia zgodności rozkładu z rozkładem normalnym wykonano test D'Agostino i Pearsona. Porównano wariancje w badanych grupach. Celem porównania średnich wartości badanych cech wykonano analizę wariancji ANOVA dla danych zgodnych z rozkładem normalnym lub zastosowano test Kruskalla-Wallisa dla danych niezgodnych z rozkładem normalnym. Celem dokładniejszego opisanie badanych populacji zastosowano również testy wielokrotnych porównań Tukey'a i Dunn'a. Dane te przedstawiono za pomocą wykresów słupkowych wykonanych w programie Microsoft Excel.

Na podstawie zebranych wyników oceniono czułość i swoistość wyżej wymienionych markerów nowotworowych i ich kombinacji dla wykrywania raka jajnika. W tym celu utworzono tablice kontyngencji według wzoru:

	Choroba	Brak choroby
Test+		
Test-		

W odpowiednie miejsca wpisywano liczebność pacjentek z danym rozpoznaniem, u których uzyskano pozytywny bądź negatywny wynik testu diagnostycznego. Przyjęto następujące wartości odcięcia do kwalifikowania wyniku testu, jako pozytywnego: CA125>35 U/ml; HE4: >140 pmol/l. Do zbadania zależności między wynikami testów diagnostycznych a przynależności do grup badanych zastosowano test dokładny Fishera. Czułość i swoistość testów obliczono według wzorów: $\text{czułość(SN)} = \frac{\text{ilość wyników prawdziwie dodatnich}}{\text{ilość wyników prawdziwie dodatnich} + \text{ilość wyników fałszywie ujemnych}}$; $\text{swoistość(SP)} = \frac{\text{ilość wyników prawdziwie ujemnych}}{\text{ilość wyników prawdziwie ujemnych} + \text{ilość wyników fałszywie dodatnich}}$. Obliczeń dokonano w grupie pacjentek bez ograniczeń wiekowych i w grupie pacjentek po menopauzie. Nie wykonano obliczeń SN i SP w grupie pacjentek przed menopauzą z uwagi na małą liczbę pacjentek z rakiem jajnika w tej grupie (2 pacjentki)

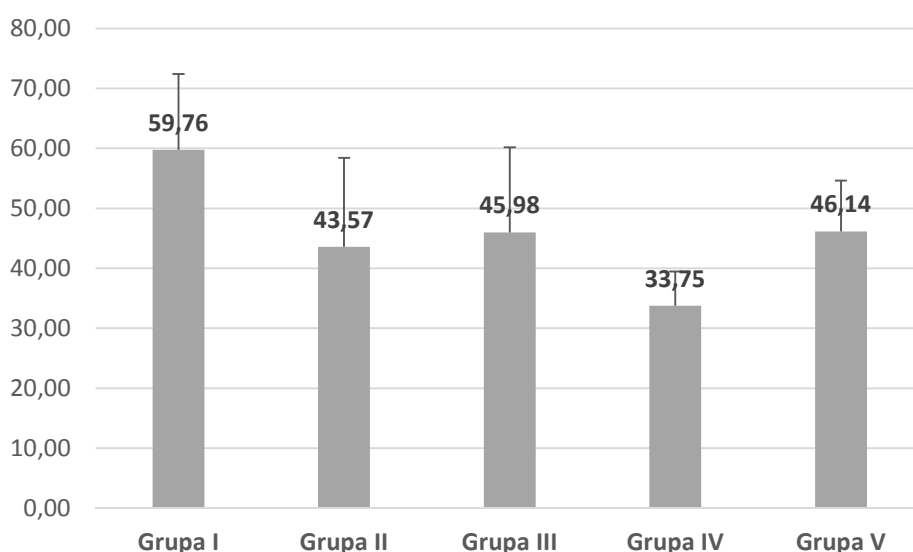
Utworzono również krzywe ROC. Do obliczeń wykorzystano program Statistica. Do opisu krzywych ROC wykorzystano parametr AUC – pola powierzchni pod krzywą

Obliczeń statystycznych dokonano przy użyciu programu GraphPad Prism 5 oraz Statistica w wersji 10. Za istotne statystycznie przyjęto hipotezy, dla których $p < 0,05$.

4. Wyniki

4.1 Analiza wieku badanej populacji

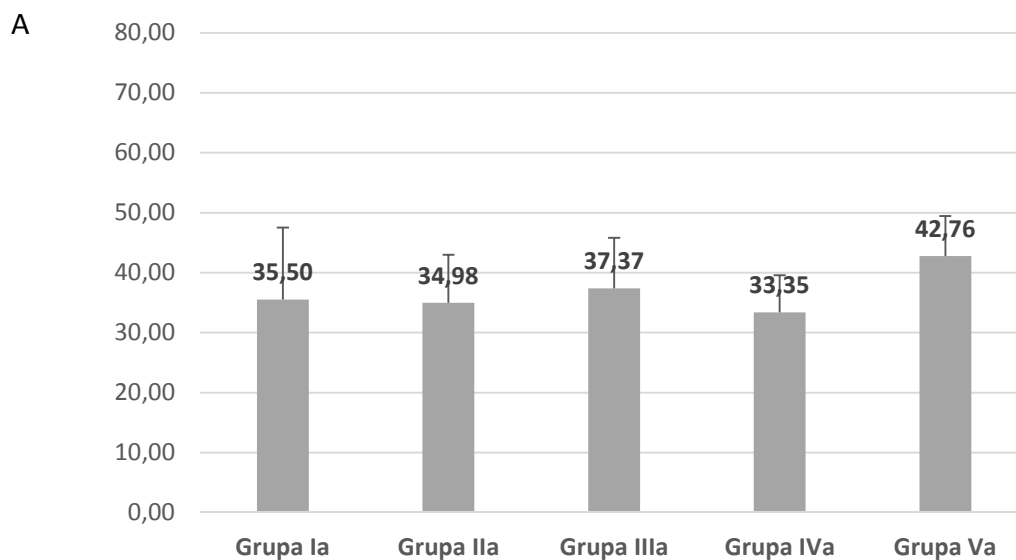
Średnia wieku całej badanej populacji wynosiła $50,17 \pm 14,94$ lat. W podgrupach średnia wieku pacjentek kształtowała się następująco: Grupa I - $59,76 \pm 12,63$ lat, grupa II - $43,57 \pm 14,86$ lat, grupa III - $45,98 \pm 14,17$ lat, grupa IV - $33,75 \pm 5,73$ lat oraz grupa V - $46,14 \pm 8,49$ lat. Wyniki przedstawione są na ryc. 1. Różnice wyników pomiędzy grupą I a każdą z pozostałych grup były istotne statystycznie ($p < 0,05$).

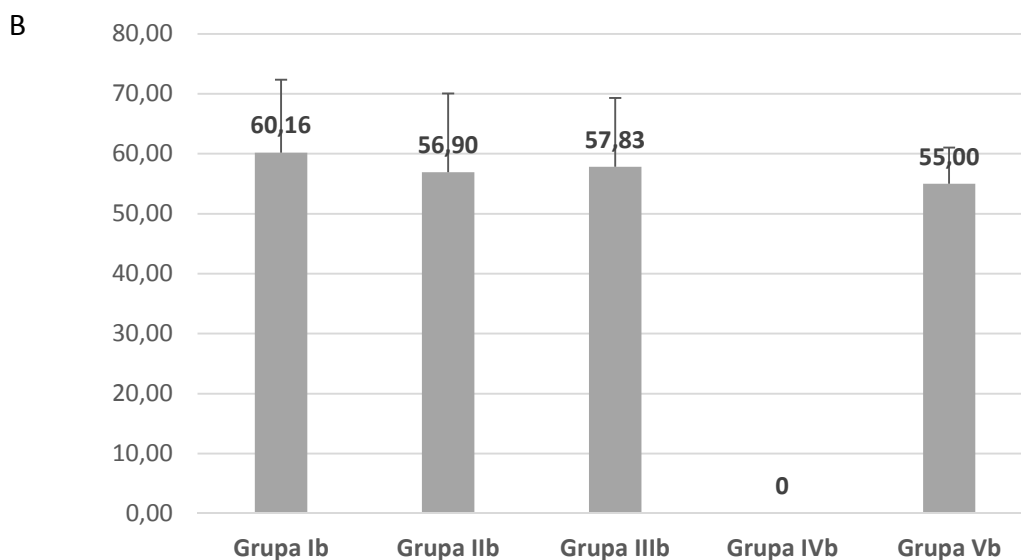


Ryc. 1. Średnia wieku pacjentek w poszczególnych grupach. Na wykresie przedstawiono średnią arytmetyczną \pm odchylenie standardowe (SD) wyrażoną w latach.

Celem eliminacji wpływu różnic wieku pacjentek na wyniki badania podzielono pacjentki na te w wieku przedmenopauzalnym (75 pacjentek) i pomenopauzalnym (116 pacjentek). W grupie pacjentek przed menopauzą raka jajnika rozpoznano u 2 pacjentek (grupa Ia, obydwa przypadki gruczolakoraka surowiczego). Następną grupę utworzono z pacjentek w wieku przedmenopauzalnym z niezłośliwymi guzami jajnika (grupa IIa – 39 kobiet). Do grupy IIIa zaliczono pacjentki w wieku przedmenopauzalnym, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego - 73 kobiety. Analogicznie jak w grupie kobiet bez ograniczeń wiekowych utworzono również grupę pacjentek z endometriozą – grupa IVa (18 kobiet) i grupę pacjentek z mięśniakami macicy – grupa Va (20 kobiet). W grupie kobiet po menopauzie znalazło się 60

pacjentek z rakiem jajnika (grupa Ib) (wśród nich stwierdzono 23 gruczolakoraki surowicze jajnika, 10 raków niezróżnicowanych, 4 gruczolakoraka śluzowe, 2 gruczolakoraki endometrioidalne, 2 raki lite gruczołowopochodne, 2 ziarniszczaki oraz 1 przypadek mięsaka. U 16 kobiet nie ustalono jednoznacznie typu nowotworu. Grupę IIb stanowiło 27 pacjentek z niezłośliwymi guzami jajnika. Do grupy IIIb włączono 53 pacjentki, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego. Ponadto utworzono grupę IVa – grupę kobiet z endometriozą (0 pacjentek) oraz grupę Va – grupę kobiet z mięśniakami macicy (8 pacjentek). Średnie wieku dla pacjentek przed i po menopauzie przedstawione są na ryc. 2. W grupie kobiet przed menopauzą średnia wieku w grupie Ia wyniosła 35,5 lat, w grupie IIa – 34,98 lat, w grupie IIIa – 37,37 lat, w grupie IVa – 33,35 lat oraz w grupie Va – 42,76 lat. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy średnią wieku pacjentek z rakiem jajnika (grupa Ia) i innymi grupami pacjentek ($p>0,05$). W grupie kobiet po menopauzie uzyskano następujące wyniki: grupa Ib – 60,16 lat, grupa IIb – 56,90 lat, grupa IIIb – 57,83 lat, grupa IVb – brak pacjentek, grupa Vb – 55,0 lat. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy wyżej wymienionymi grupami ($p>0,05$).



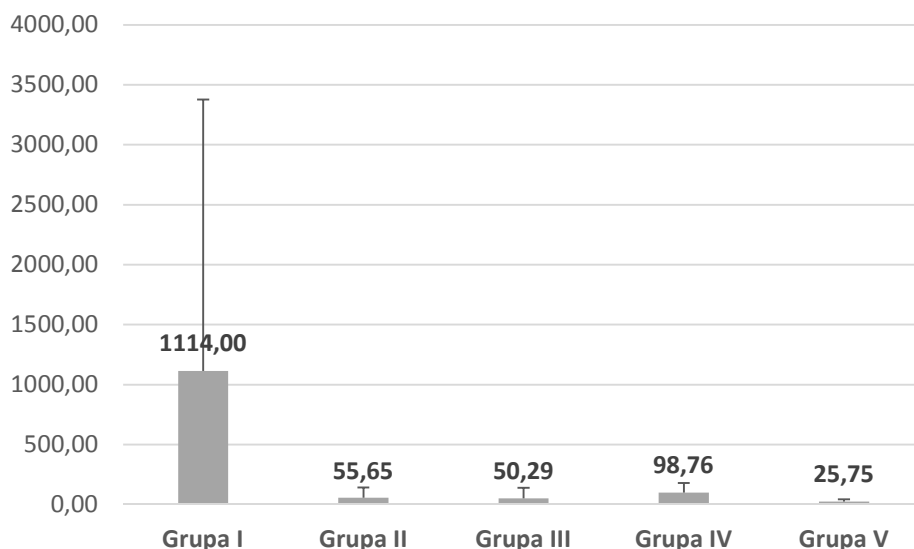


Ryc. 2. Średnia wieku pacjentek w grupie kobiet przed menopauzą (A) i po menopauzie (B). Na wykresie przestawiono średnią arytmetyczną \pm SD wyrażoną w latach

4.2 Analiza poziomów Ca125 i HE4 w badanej populacji

4.2.1 Analiza poziomów Ca125 w badanej populacji

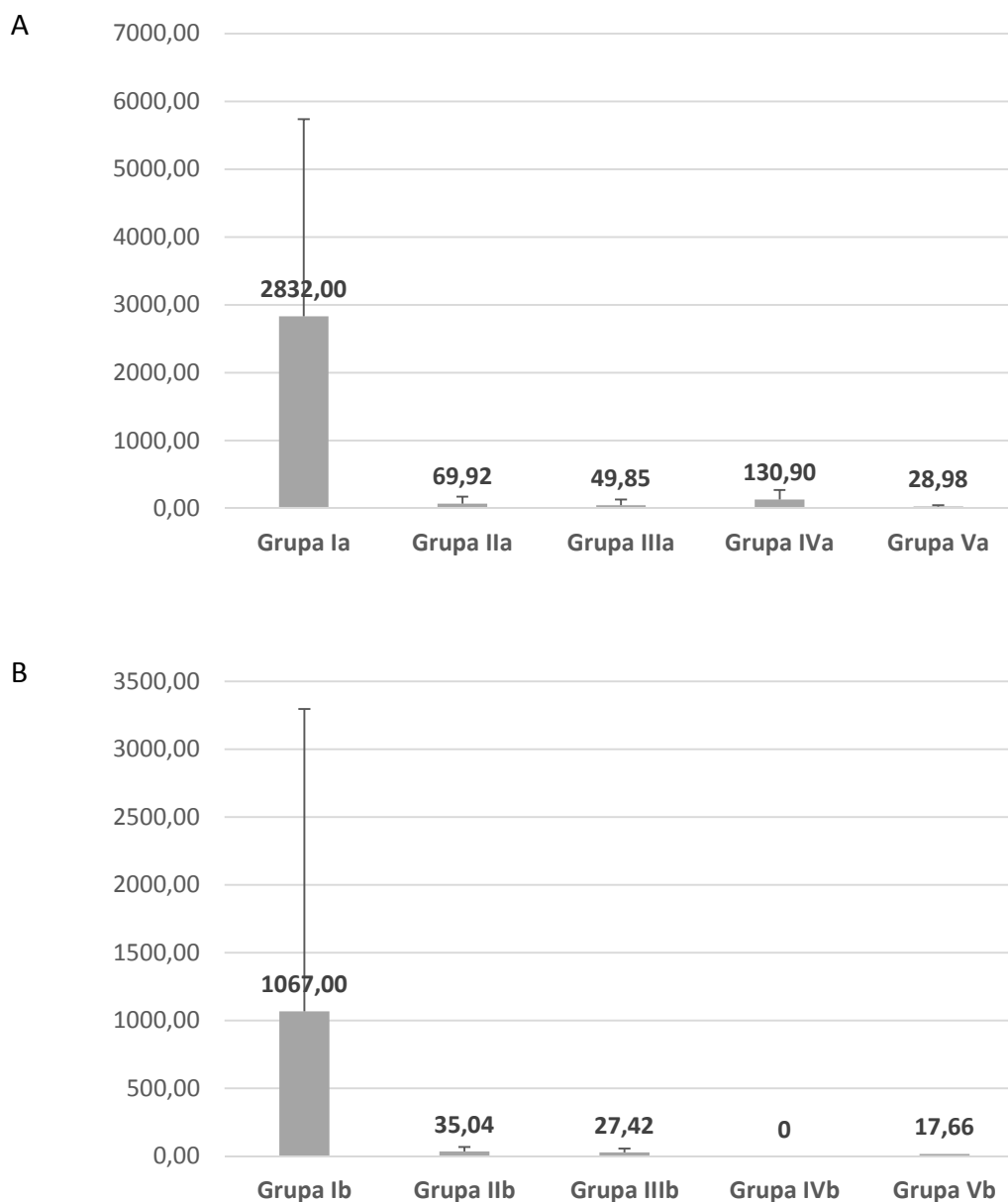
W grupie I średni poziom Ca125 wyniósł $1114,00 \pm 2262,00$ U/ml. U kobiet z grupy II poziom ten był równy $55,65 \pm 85,26$ U/ml. U kobiet z grupy III poziom ten wyniósł $50,29 \pm 89,80$ U/ml, w grupie IV - $98,76 \pm 81,51$ U/ml. W grupie V natomiast - $25,75 \pm 17,82$ U/ml. Średni poziom Ca125 we wszystkich podgrupach za wyjątkiem kobiet z grupy IV był różny od poziomu u kobiet z grupy I i osiągnął statystyczną istotność na poziomie $p < 0,05$. Wyniki przedstawione są na ryc. 3.



Ryc. 3. Poziomy Ca125 w badanych grupach. Wyniki opracowano dla grupy kobiet niezależnie od wieku. Na wykresie przedstawiono średnią±SD w U/ml.

Podobną analizę przeprowadzono w grupach kobiet przed i po menopauzie. U kobiet przed menopauzą średni poziom Ca125 wyniósł: 2832,00±2905,00 U/ml w grupie Ia, 69,92±105,40 U/ml w grupie IIa, 49,85±80,54 U/ml w grupie IIIa, 130,90±140,20 U/ml w grupie IVa oraz 28,98±19,68 U/ml w grupie Va. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy średnim poziomem Ca125 u pacjentek z grupy Ia i którąkolwiek z pozostałych grup pacjentek. Zaobserwowano istotne statystycznie różnice pomiędzy pacjentkami z grupy IIa i Va i pomiędzy grupami IVa i Va ($p<0,05$). Wyniki przedstawiono graficznie na ryc. 4A.

U kobiet po menopauzie średni poziom Ca125 wynosił 1067,00±2228,00 U/ml w grupie Ib, 35,04±34,40 U/ml w grupie IIb, 27,42±28,59 U/ml w grupie IIIb oraz 17,66±8,29 U/ml w grupie Vb. Do grupy IVb nie włączono żadnej pacjentki. Istotną statystycznie różnicę ($p<0,05$) zaobserwowano pomiędzy grupą Ib i wszystkimi innymi grupami pacjentek. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami IIb, IIIb i Vb. Wyniki przedstawiono na ryc. 4B.

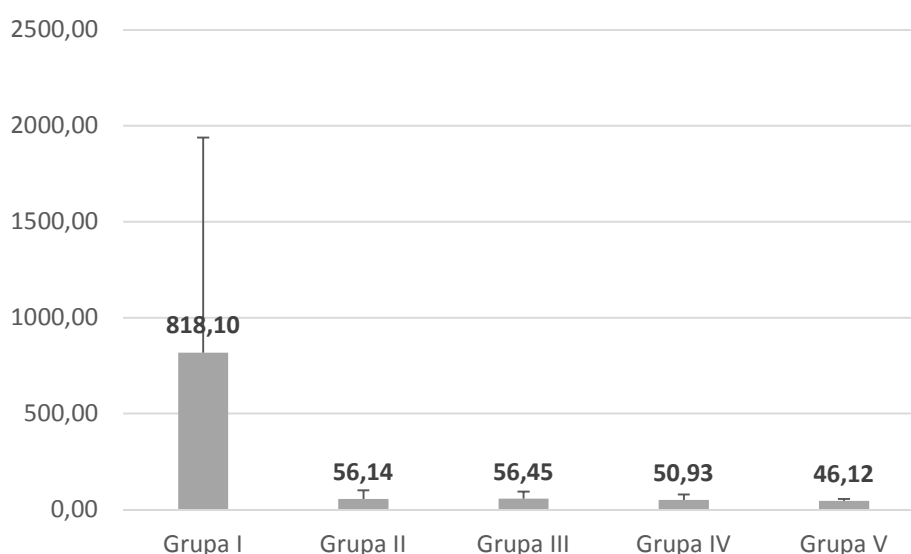


Ryc. 4. Poziomy Ca125 w grupie kobiet przed menopauzą (A) i po menopauzie (B). Na wykresie przedstawiono średnią±SD w U/ml.

Porównanie średnich wartości Ca125 dla poszczególnych grup pacjentek przed i po menopauzie wykazało statystycznie istotne różnice pomiędzy pacjentkami z grup IIIa i IIIb ($p < 0,05$). Nie zaobserwowano różnic pomiędzy pacjentkami z grup IIa i IIb oraz pomiędzy pacjentkami z grup Va i Vb. Z uwagi na małą liczbę pacjentek w grupie kobiet przed menopauzą nie można było wykonać testu Manna-Whitneya u pacjentek z grup Ia i Ib, podobnie jak u pacjentek z grup IVa i IVb.

4.2.2 Analiza poziomów HE4 w badanej populacji

Następnie przeanalizowano poziomy HE4 w wybranych grupach pacjentek. U kobiet w grupie I średnia wartość HE4 wyniosła $818,1 \pm 1121$ pmol/l, $56,14 \pm 45,12$ pmol/l w grupie II, $56,45 \pm 37,49$ pmol/l w grupie III, $50,93 \pm 28,57$ pmol/l w grupie IV oraz $46,12 \pm 9,079$ pmol/l w grupie V. Istotną statystycznie różnicę ($p < 0,05$) zaobserwowano pomiędzy grupą I i wszystkimi pozostałymi grupami pacjentek. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami II, III, IV i V. Wyniki przedstawiono na ryc. 5.

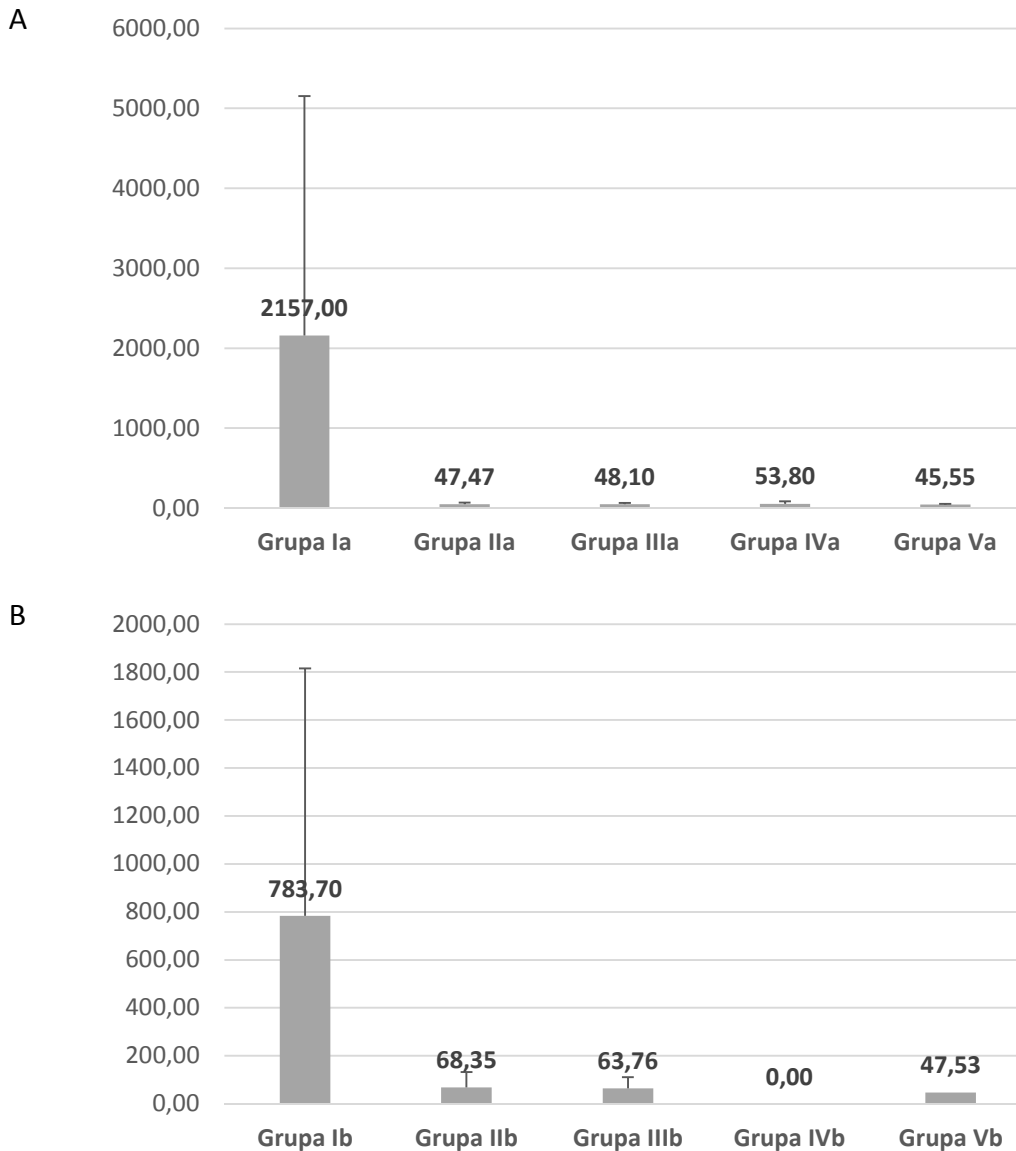


Ryc. 5. Poziomy HE4 u pacjentek bez względu na wiek. Na wykresie przedstawiono średnią \pm SD wyrażoną w pmol/l.

Następnie przeanalizowano poziomy HE4 w grupach kobiet przed i po menopauzie. U kobiet przed menopauzą średni poziom HE4 wyniósł $2157,00 \pm 2995,00$ pmol/l w grupie Ia, $47,47 \pm 21,35$ pmol/l w grupie IIa, $48,10 \pm 17,65$ pmol/l w grupie IIIa, $53,80 \pm 30,91$ pmol/l w grupie IVa oraz $45,55 \pm 8,719$ pmol/l w grupie Va. Pomiędzy żadną z wyżej opisanych grup nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic. Fakt ten może wynikać z niewielkiej liczby pacjentek w grupie Ia ($n=2$). Wyniki przedstawiono na ryc 6A.

U kobiet po menopauzie średni poziom HE4 wyniósł $783,70 \pm 1032,00$ pmol/l w grupie Ib, $68,35 \pm 64,01$ pmol/l w grupie IIb, $63,76 \pm 47,84$ pmol/l w grupie IIIb i $47,53 \pm 10,41$ pmol/l w grupie Vb. Do grupy IVb nie włączono żadnej pacjentki. Istotność

statystyczną osiągnęły różnice pomiędzy grupą Ib i grupami IIb, IIIb i Vb ($p < 0,05$). Wyniki przedstawiono na ryc 6B.



Rys. 6. (Poprzednia strona) Poziomy HE4 u pacjentek przed (A) i po menopauzie (B). Na wykresie przedstawiono średnią \pm SD wyrażoną w pmol/l.

Porównano wartości HE4 dla poszczególnych rozpoznań u kobiet przed i po menopauzie. Zaobserwowano istotne statystycznie różnice pomiędzy pacjentkami z grup IIa i IIb oraz pomiędzy pacjentkami z grup IIIa i IIIb ($p < 0,05$). Nie zaobserwowano różnic pomiędzy pacjentkami z grup Va i Vb. Z uwagi na małą liczbę pacjentek w grupie Ia ($n=2$) nie można było przeprowadzić testu Manna-Whitneya dla pacjentek z grup Ia i Ib.

4.3 Analiza czułości i swoistości testów diagnostycznych

4.3.1. Analiza czułości i swoistości testów diagnostycznych u pacjentek bez ograniczeń wiekowych

Obliczeń czułości i swoistości markerów osoczowych dokonano przy założeniu wartości referencyjnych na poziomie <35U/ml dla CA125 i <150pmol/l dla HE4. Wartości te zostały odzwierciedlają zalecenia producentów testów i dane literaturowe [231].

Wśród pacjentek z grupy bez ograniczeń wiekowych uzyskano następujące wyniki. Podwyższony poziom Ca125 stwierdzono u 58 pacjentek na 61 (95,08%) kobiet z grupy I, 24 na 66 (36,36%) kobiet z grupy II, 40 na 129 (31,00%) kobiet z grupy III i 14 na 18 (77,78%) kobiet z grupy IV. Przy pomocy tego markera prawidłowo zakwalifikowano 58 na 61 (95,08%) kobiet z grupy I, 42 na 66 (63,63%) kobiet z grupy II, 89 na 129 (68,99%) kobiet z grupy III i 4 na 18 (22,22%) kobiet z grupy IV. Odsetek nieprawidłowych kwalifikacji (stosunek sumy błędnych kwalifikacji do wszystkich wykonanych badań) wyniósł 21,25% dla porównania złośliwy nowotwór jajnika vs. niezłośliwy guz jajnika (grupa I vs. grupa II), 22,63% dla porównania złośliwy nowotwór jajnika vs. pacjentki, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa I vs. grupa III) i 21,51% dla porównania złośliwy nowotwór jajnika vs. endometrioza (grupa I vs. grupa IV).

Podwyższony poziom HE4 stwierdzono u 42 na 59 (71,19%) pacjentek z grupy I, 3 na 65 (4,62%) pacjentek z grupy II, 6 na 127 (4,72%) pacjentek z grupy III i 1 na 17 (5,88%) pacjentek z grupy IV. Przy użyciu tego markera prawidłowo zakwalifikowano 42 na 59 (71,19%) kobiet z grupy I, 62 na 65 (95,38%) kobiet z grupy II, 121 na 127 (95,27%) kobiet z grupy III i 16 na 17 (94,11%) kobiet z grupy IV. Odsetek nieprawidłowych kwalifikacji wyniósł 16,12% dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. niezłośliwy guz jajnika (grupa I vs grupa II), 12,29% dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. pacjentki, u których nie rozpoznano nowotworu

złośliwego (grupa I vs. grupa III) i 23,68% dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. endometrioza (grupa I vs. grupa IV).

Obliczono również, jaka część pacjentek ma podwyższone wyniki obu markerów. Podwyższone poziomy obu markerów stwierdzono u 37 na 52 (71,15%) pacjentek z grupy I, 2 na 65 (3,08%) pacjentek z grupy II, 3 na 127 (2,36%) pacjentek z grupy III i 1 na 17 (5,88%) pacjentek z grupy IV. Przy pomocy panelu prawidłowo zakwalifikowano 37 na 52 (71,15%) pacjentki z grupy I, 63 na 65 (96,92%) pacjentek z grupy II, 124 na 127 (97,63%) pacjentek z grupy III oraz 16 na 17 (94,11%) pacjentek z grupy IV. Odsetek nieprawidłowych kwalifikacji wyniósł 14,52% dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. niezłośliwy guz jajnika (grupa I vs. grupa II), 23,18% dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. pacjentki, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa I vs. grupa III) i 23,18% dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. endometrioza (grupa I vs. grupa IV).

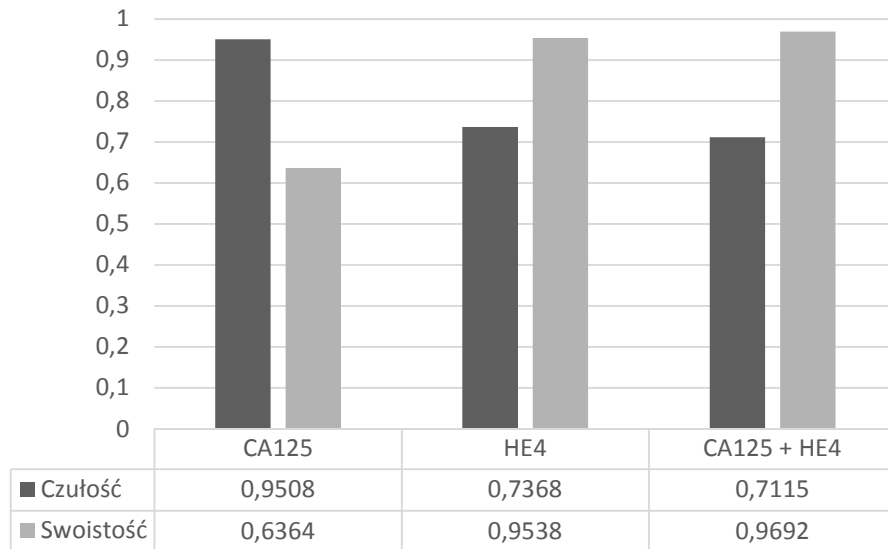
Na podstawie powyższych danych obliczono czułość (SN) i swoistość (SP) wyżej wymienionych markerów w grupie kobiet bez ograniczeń wiekowych. Dla odróżniania nowotworu złośliwego jajnika od niezłośliwego guza jajnika (grupa I vs. grupa II), dla Ca125, czułość i swoistość wyniosła odpowiednio SN=95,08% i SP=63,64%. Dla HE4 wartości te wyniosły SN=73,68% i SP=95,38%. Połączenie obu markerów charakteryzowało się najniższą czułością równą SN=71,15% i najwyższą swoistością równą SP=96,92%. Najbardziej czułym markerem okazał się być Ca125. Najbardziej swoistym natomiast panel łączony Ca125+HE4. Wyniki przedstawiono na ryc. 8A.

Dla odróżnienia nowotworu złośliwego jajnika od endometriozy (grupa I vs. grupa IV) czułość i swoistość wyniosła dla Ca125: SN=95,08% i SP=22,22%, dla HE4: SN=71,19% i SP=94,12% i dla panelu łączonego CA125+HE4: SN=71,15% i SP=94,12%. Najbardziej czułym markerem w tym zestawieniu okazał się być Ca125. Najbardziej swoistym natomiast HE4 i panel łączony Ca125+HE4. Zwraca uwagę niska swoistość Ca125 w różnicowaniu raka jajnika i endometriozy. Wyniki przedstawiono na ryc. 8B.

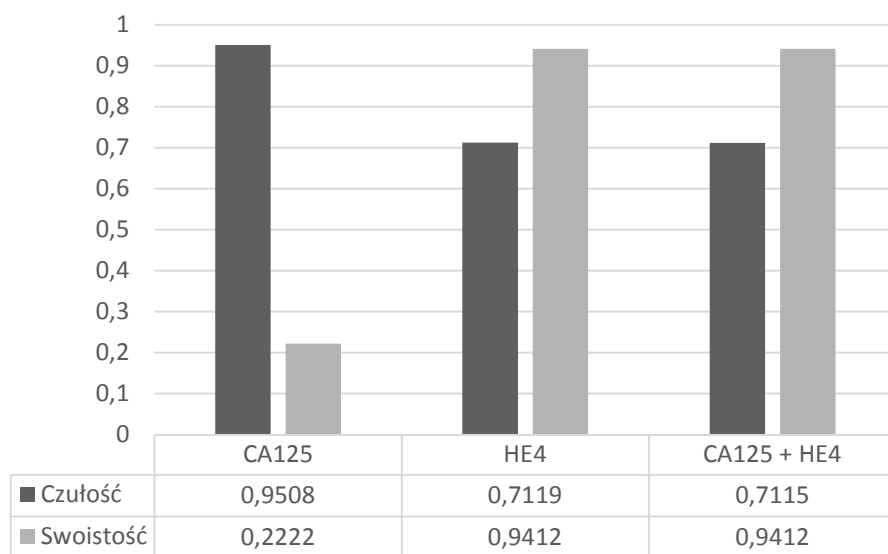
Dla odróżnienia pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika od pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa I vs. grupa III) czułość i swoistość Ca125 wyniosła odpowiednio: SN=95,08% i SP=68,99%. Dla HE4 wartości te wyniosły: SN=78,68% i SP=95,31%. Panel łączony Ca125+HE4 charakteryzował się SN=71,15% i

SP=97,64%. Najczulszym markerem okazał się Ca125, najbardziej swoistym natomiast panel łączony Ca125+HE4. Wyniki przedstawiono na ryc. 8C.

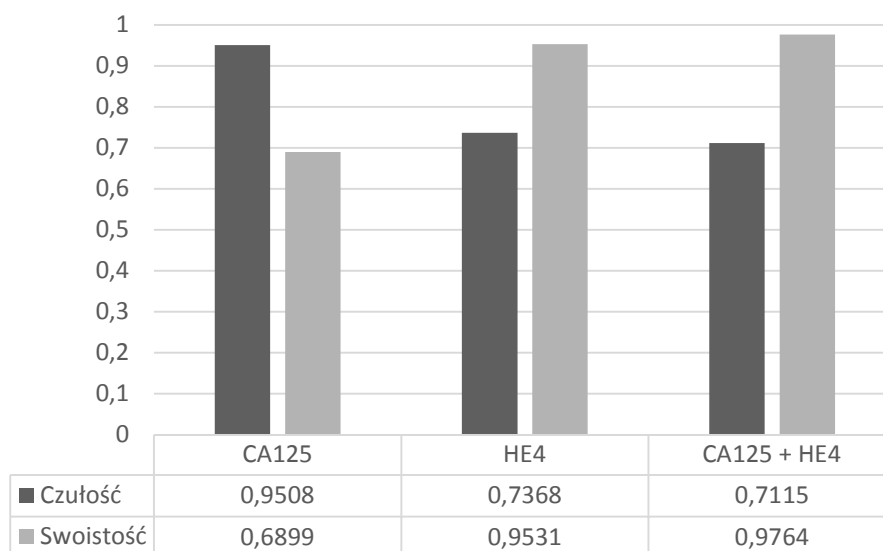
8 A



8 B



8 C



Ryc. 8 (poprzednia i bieżąca strona). Czułość i swoistość wybranych markerów nowotworowych w odróżnianiu pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika od pacjentek z niezłośliwymi guzami jajnika (A), endometriozą (B) i pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu (C). Słupki przedstawiają wartości czułości i swoistości. Obliczenia wykonano na grupie pacjentek bez ograniczeń wiekowych.

4.3.2. Analiza czułości i swoistości testów diagnostycznych u pacjentek po menopauzie

U kobiet po menopauzie wyniki kształtowały się następująco. Podwyższony poziom Ca125 stwierdzono u 57 na 60 (95,00%) pacjentek z grupy Ib, 8 na 27 (29,62%) pacjentek z grupy IIb i 12 na 53 (22,64%) pacjentek z grupy IIIb. Przy pomocy tego markera prawidłowo zakwalifikowano 57/60 (95,00%) pacjentek z grupy Ib, 19/27 (70,37%) pacjentek z grupy IIb i 41/53 (77,36%) pacjentek z grupy IIIb. Odsetek nieprawidłowych kwalifikacji wyniósł 12,64% dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. niezłośliwy guz jajnika (grupa Ib vs. grupa IIb) i 13,27% dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. pacjentki, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa Ib vs. grupa IIIb).

Podwyższony poziom HE4 stwierdzono u 42 na 58 (72,41%) pacjentek z grupy Ib, 1 na 27 (3,70%) pacjentek z grupy IIb i u 1 na 53 (1,88%) pacjentek z grupy IIIb. Przy użyciu tego markera prawidłowo zakwalifikowano 42/58 (72,41%) pacjentek z grupy Ib, 26/27 (96,29%) pacjentek z grupy IIb i 52/53 (98,11%) pacjentek z grupy IIIb. Odsetek nieprawidłowych kwalifikacji wyniósł 20,00% dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. niezłośliwe guzy jajnika (grupa Ib vs. grupa IIb) i 15,31% dla porównania

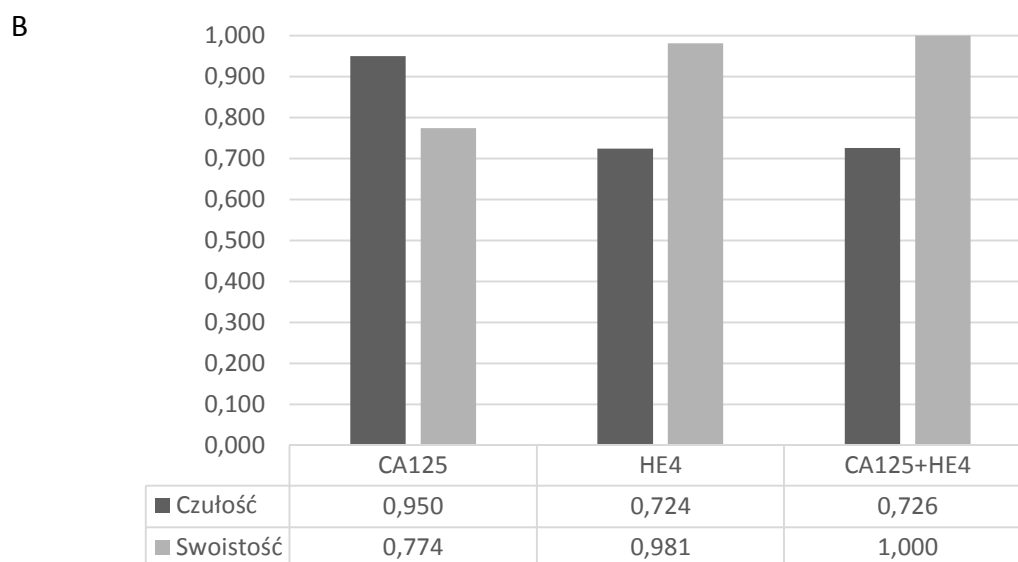
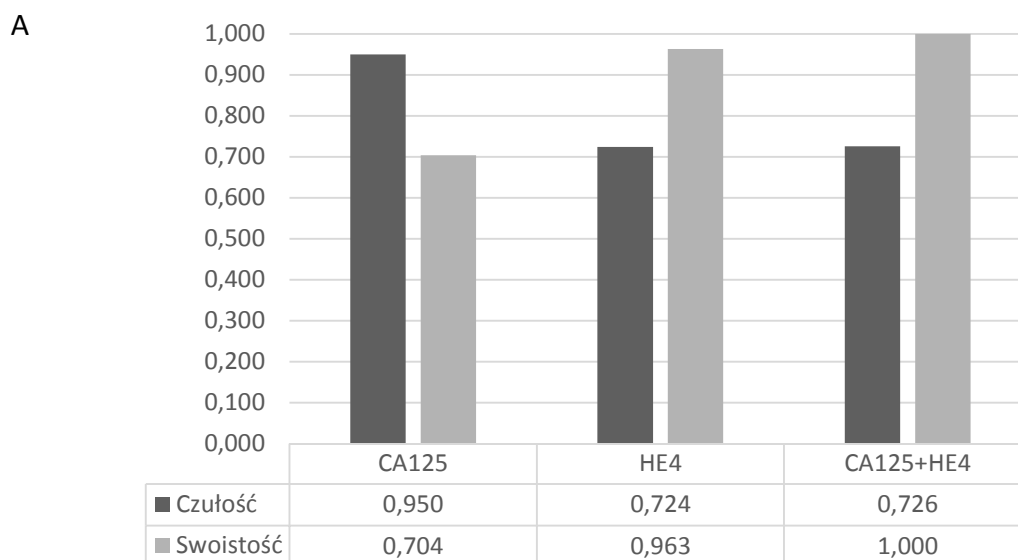
nowotwór złośliwy jajnika vs. pacjentki, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa Ib vs. grupa IIIb).

Podwyższone poziomy obu markerów stwierdzono u 37 na 51 (72,54%) pacjentek z grupy Ib, 0 na 27 (0,00%) pacjentek z grupy IIb i u 0 na 53 pacjentki (0,00%) z grupy IIIb,. Przy pomocy tego panelu prawidłowo zakwalifikowano 37/51 (72,54%) pacjentek z grupy Ib, 27/27 (100%) pacjentek z grupy IIb i 51/51 (100,00%) pacjentek z grupy IIIb. Odsetek nieprawidłowych kwalifikacji wyniósł 17,94% dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. niezłośliwy guz jajnika (grupa Ib vs. grupa IIb) i 13,46% dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. pacjentki, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa Ib vs. grupa IIIb).

Na podstawie powyższych danych obliczono czułość i swoistość markerów odróżnianiu pacjentek z rakiem jajnika od pacjentek z niezłośliwymi guzami jajnika (grupa Ib vs. grupa IIb) i pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu (grupa Ib vs. grupa IIIb), w grupie kobiet po menopauzie.

Dla odróżniania nowotworu złośliwego jajnika od niezłośliwych guzów jajnika (grupa Ib vs. grupa IIb) Ca125 charakteryzował się SN=95,00% i SP=70,40%, HE4 - SN=72,40% i SP=96,30%, natomiast panel łączony Ca125+HE4 - SN=72,55% i SP=100,00%. Najbardziej czułym markerem okazał się Ca125, najbardziej swoistym - panel łączony Ca125+HE4. Wyniki przedstawiono na ryc. 9A.

Dla odróżniania pacjentek z rakiem jajnika od pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa Ib vs. grupa IIIb) Ca125 charakteryzował się SN=95,00% i SP=77,40%, HE4 - SN=72,41% i SP=98,11%, natomiast panel łączony Ca125+HE4 - SN=72,60% i SP=100,00%. Najbardziej czułym markerem okazał się Ca125. Najbardziej swoistym natomiast panel Ca125+HE4. Wyniki przedstawiono na ryc 9B.

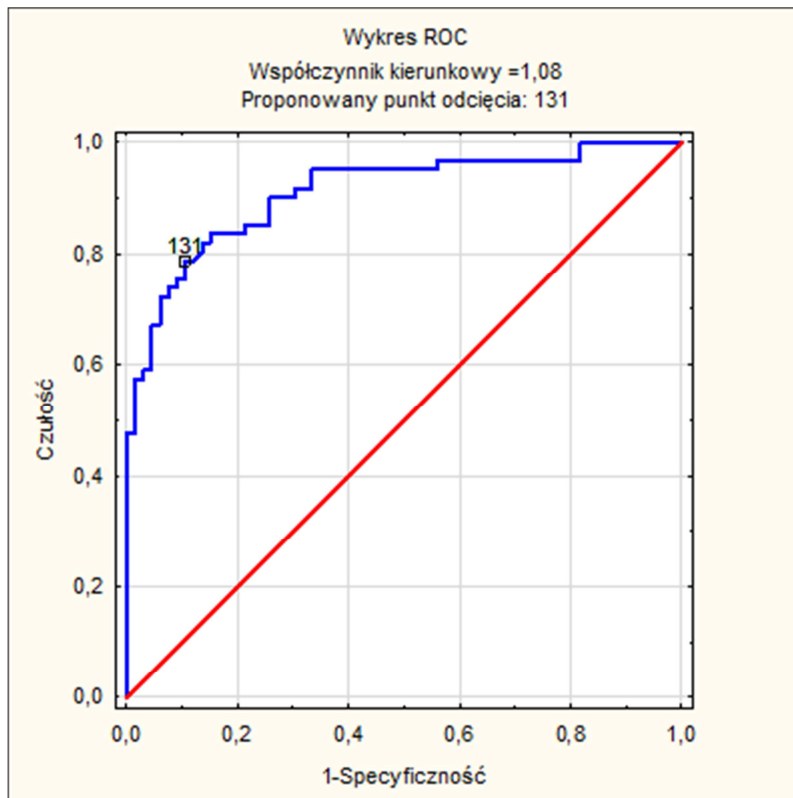


Ryc. 9. Czułość i swoistość markerów nowotworowych u kobiet po menopauzie w odróżnianiu pacjentek z rakiem jajnika od pacjentek z niezłośliwym guzem jajnika (grupa Ib vs. grupa IIb) (A) i pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa Ib vs. grupa IIIb) (B)

4.4 Analiza krzywych ROC

4.4.1. Analiza krzywych ROC u pacjentek bez ograniczeń wiekowych

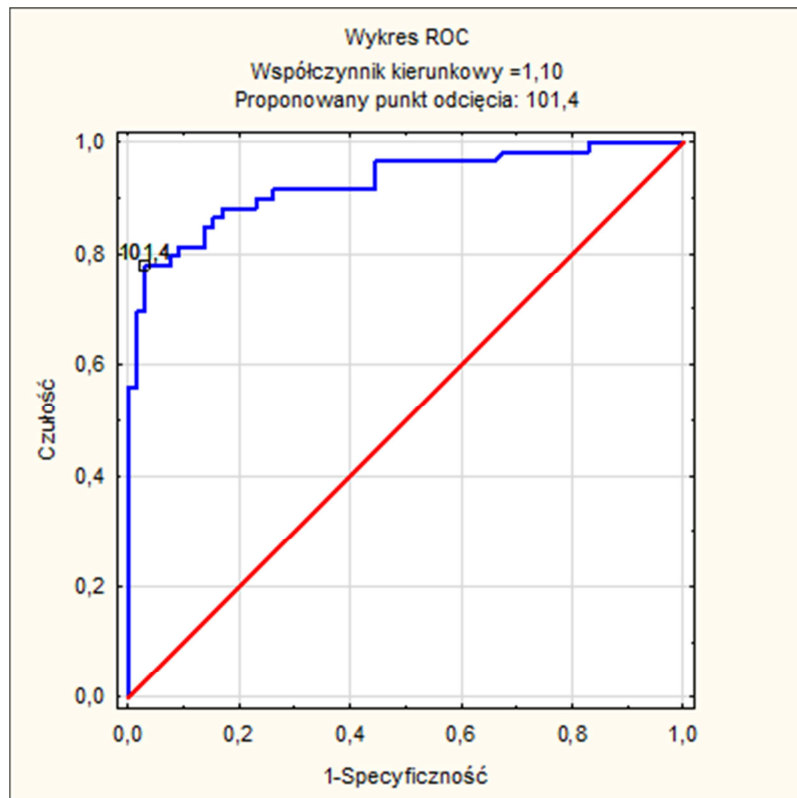
Utworzono krzywe ROC dla porównania rak jajnika vs. niezłośliwy guz jajnika (grupa I vs. grupa II). Uzyskano AUC równe 0,91. Kształt krzywej przedstawiono na ryc. 10.



Ryc. 10. Krzywa ROC dla Ca125 w odróżnianiu pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika od pacjentek z niezłośliwymi guzami jajnika (grupa I vs. grupa II).

Punkt o najniższym współczynniku błędnych kwalifikacji wyniósł 131 U/ml. Wartość ta cechuje się SN=78,70% i SP=89,4%. Odsetek nieprawidłowych kwalifikacji wyniósł 15,74% (w porównaniu z SN=95,08%, SP=63,64% i odsetkiem błędu=21,25% dla punktu odcięcia równego 35U/ml).

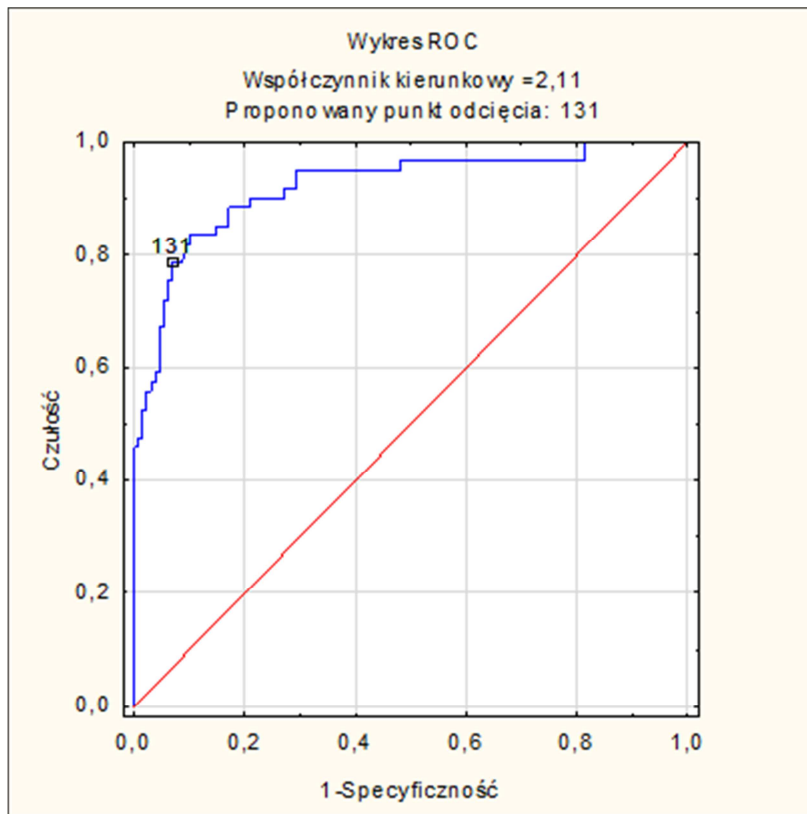
Następnie obliczono krzywą ROC dla HE4 dla odróżniania pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika od pacjentek z niezłośliwymi guzami jajnika (grupa I vs. grupa II). Uzyskano AUC równe 0,926. Kształt krzywej ROC przedstawiono na ryc. 11.



Ryc. 11. Krzywa ROC dla HE4 w odróżnianiu pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika od pacjentek z niezłośliwymi guzami jajnika (grupa I vs. grupa II).

Na podstawie analizy krzywej ROC zaproponowano punkt odcięcia równy 101,4pmol/ml. Punkt ten cechuje się SN=77,97%, SP=95,38% i odsetkiem błędu równym 12,09%. Dla porównania punkt odcięcia o wartości 150pmol/l charakteryzował się SN=73,68%, SP=95,38% i odsetkiem błędu równym 16,12%.

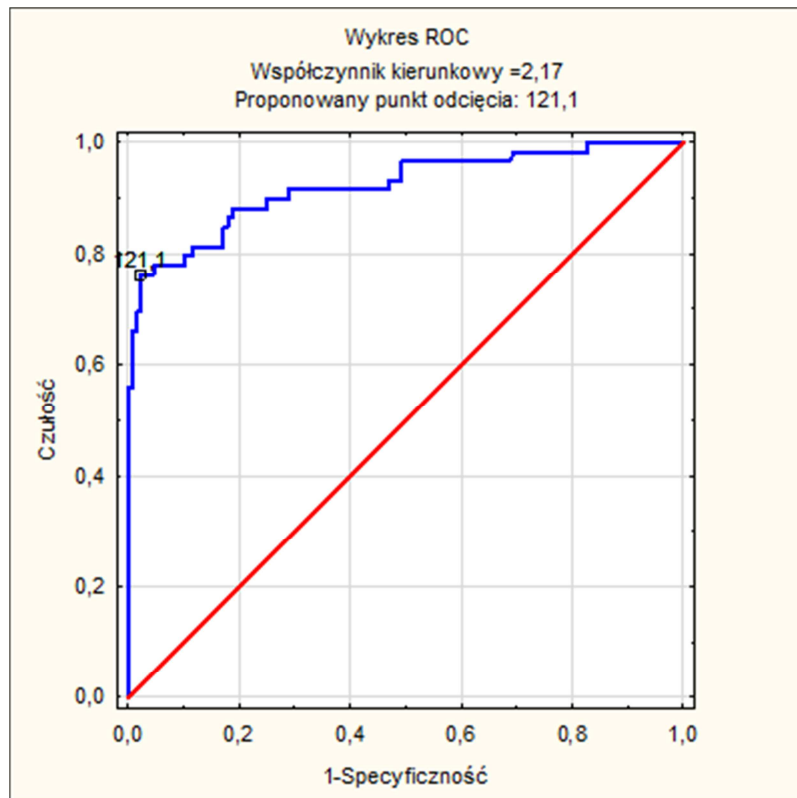
Utworzono również krzywe ROC dla rozróżniania pacjentek z rakiem jajnika i pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu (grupa I vs. grupa III). Dla Ca125, uzyskano wartość AUC=0,922. Kształt krzywej ROC przedstawiono na ryc. 12.



Ryc. 12. Krzywa ROC dla Ca125 w odróżnianiu pacjentek z rakiem jajnika od pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa I vs. grupa III).

Na podstawie zebranych danych zaproponowano punkt odcięcia dla Ca125 równy 131U/ml. Taki punkt cechuje się SN=78,7% i SP=93,0% i najniższym odsetkiem błędu wynoszącym 11,58%. Punkt odcięcia równy 35U/ml charakteryzował się SN=95,08% i SP=68,99% oraz odsetkiem błędu wynoszącym 22,63%

W tej samej grupie pacjentek stworzono krzywą ROC dla HE4. Dla odróżniania pacjentek z grupy z nowotworem złośliwym jajnika od pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu (grupa I vs. grupa III) uzyskano AUC=0,921. Kształt krzywej ROC przedstawiono na ryc. 13.



Ryc. 13. Krzywa ROC dla HE4 w odróżnianiu pacjentek z rakiem jajnika od pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa I vs. grupa III).

Na podstawie zebranych danych zaproponowano punkt odcięcia równy 121 pmol/l. Przy takim punkcie test charakteryzuje się SN=74,58% i SP=95,31%. Odsetek błędnych kwalifikacji wynosi 9,09% (w porównaniu do SN=78,68%, SP=95,31% i odsetka błędu=12,29% dla punktu odcięcia wynoszącego 150 pmol/l).

Obliczono również czułość i swoistość panelu łączonego Ca125+HE4 dla wyżej wymienionych punktów odcięcia. Dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. niezłośliwy guz jajnika (grupa I vs. grupa II) uzyskano SN=67,31% i SP=98,46% przy odsetku nieprawidłowych kwalifikacji wynoszącym 11,17%. Dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. pacjentki, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa I vs. grupa III) uzyskano SN=65,38% i SP=97,64% przy odsetku nieprawidłowych kwalifikacji wynoszącym 23,18%.

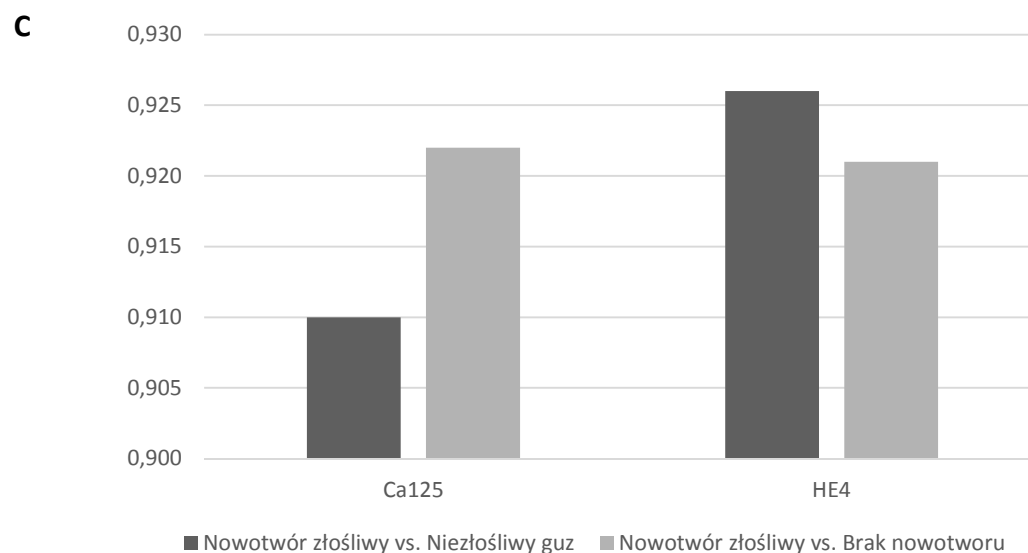
Porównanie wartości czułości i swoistości dla różnych wartości punktu odcięcia oraz porównanie AUC dla CA125 i HE4 przedstawiono na ryc. 14.

A

	Ca125> 35	Ca125> 131	HE4>150	HE4> 101,4	CA125>35+HE4 >150	Ca125>131+HE4> 101,4
SN	95,08%	78,70%	73,68%	77,97%	71,15%	65,38%
SP	63,64%	89,40%	95,38%	95,38%	96,92%	98,94%
Odsetek błędów	21,25%	15,74%	16,12%	12,09%	14,52%	16,23%

B

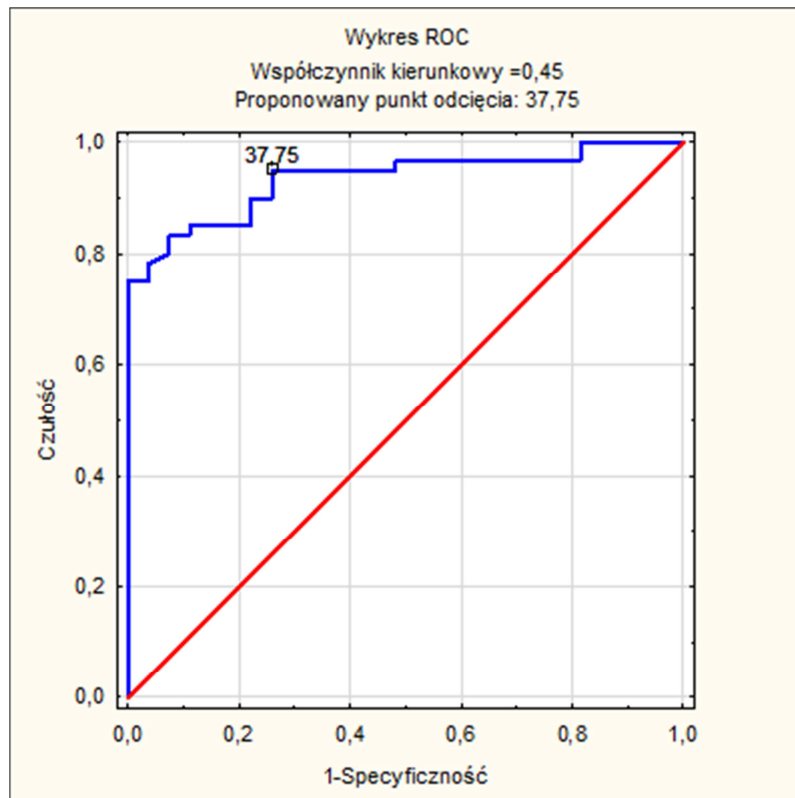
	Ca125> 35	Ca125>131	HE4>150	HE4> 121,1	CA125>35+HE4 >150	Ca125>131+HE4> 121,1
SN	95,08%	78,70%	78,68%	74,58%	71,15%	65,38%
SP	68,99%	93,00%	95,31%	95,31%	97,64%	98,47%
Odsetek błędów	22,63%	11,58%	12,29%	9,09%	10,05%	11,17%



Ryc. 14. Porównanie czułości i swoistości testów diagnostycznych dla różnych wartości punktu odcięcia dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs niezłośliwy guz jajnika (grupa I vs. grupa II) (A) oraz nowotwór złośliwy jajnika vs. pacjentki, u których nie rozpoznano nowotworu (grupa I vs. grupa III) (B). Porównanie AUC dla CA125 i HE4 (C)

4.4.2. Analiza krzywych ROC u kobiet po menopauzie

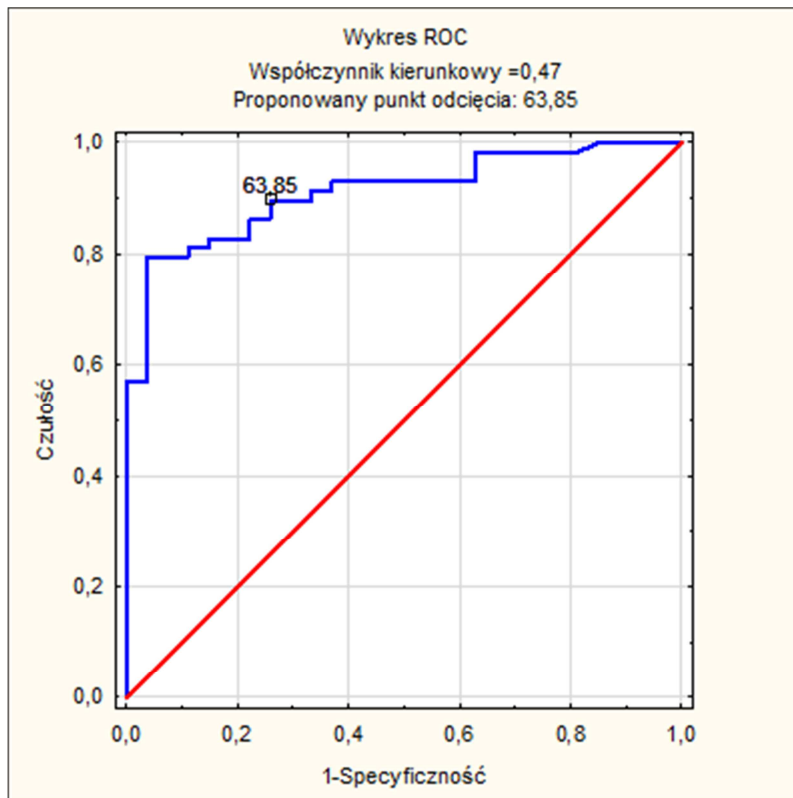
Krzywe ROC utworzono również u pacjentek po menopauzie. Dla porównania pacjentek z rakiem jajnika i pacjentek z niezłośliwymi guzami jajnika (grupa Ib vs. grupa IIb), dla Ca125, uzyskano AUC=0,934 (95%CI=0,884-0,984). Kształt krzywej ROC przedstawiono na ryc. 15.



Ryc. 15. Krzywa ROC dla Ca125 dla porównania pacjentek z rakiem jajnika i pacjentek z niezłośliwymi guzami jajnika (grupa Ib vs grupa IIb). Obliczeń dokonano u pacjentek w wieku pomenopauzalnym.

Na podstawie krzywej ROC zaproponowano punkt odcięcia dla Ca125 równy 37,75 U/ml. Przy tak dobranym punkcie test ten uzyskuje SN=95,00% i SP=74,1% przy odsetku błędnych kwalifikacji=11,49% (dla porównania – gdy punkt odcięcia jest równy 35U/ml uzyskano wartości SN=95,0% i SP=70,40%; odsetek błędu wyniósł 12,64%)

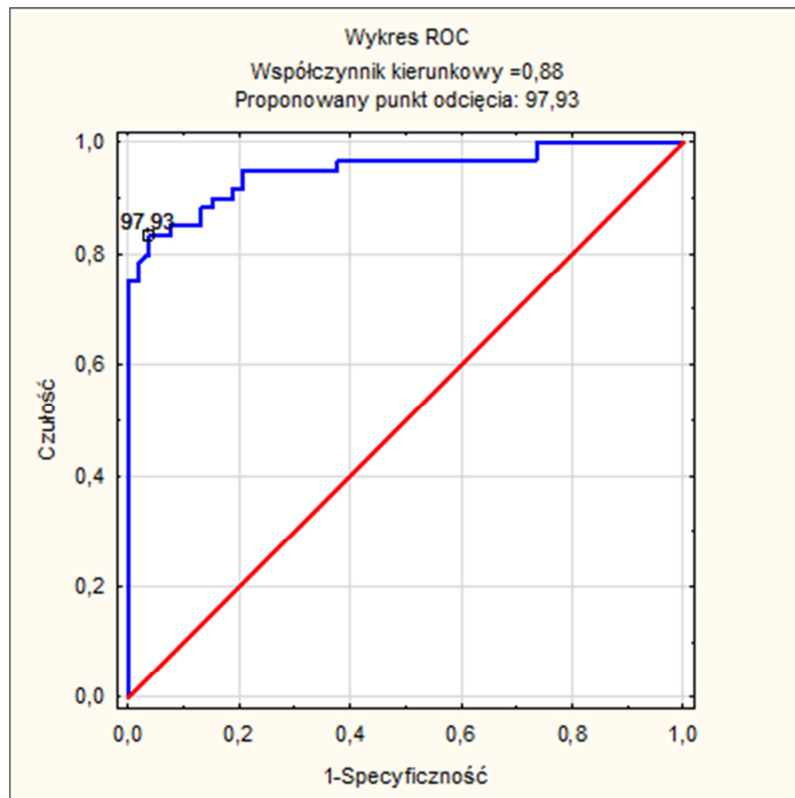
Dla HE4 dla porównania pacjentek z rakiem jajnika i pacjentek z niezłośliwymi guzami jajnika uzyskano AUC=0,912. Kształt krzywej ROC przedstawiono na ryc. 16.



Ryc. 16. Krzywa ROC dla HE4 dla porównania pacjentek z rakiem jajnika i pacjentek z niezłośliwymi guzami jajnika (grupa Ib vs grupa IIb). Obliczeń dokonano wśród kobiet w wieku pomenopauzalnym.

Na podstawie analizy krzywej ROC zaproponowano punkt odcięcia dla HE4 równy 63,85 pmol/l. Przy takim punkcie odcięcia uzyskano SN=89,7% i SP=74,1% przy odsetku błędnych kwalifikacji równym 15,29% (dla porównania – przy punkcie odcięcia równym 150pmol/l uzyskano SN=72,4% i SP=96,3%; odsetek błędnych kwalifikacji wyniósł 20,22%).

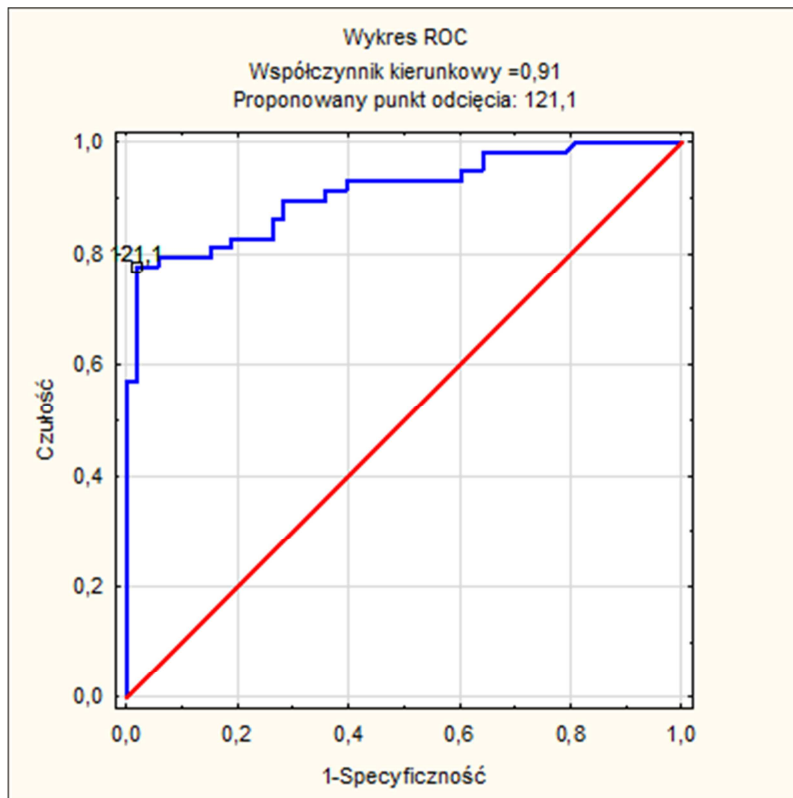
Dla odróżniania pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika od pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa Ib vs. grupa IIIb), dla Ca125, uzyskano AUC=0,949. Kształt krzywej ROC przedstawiono na ryc. 17.



Ryc. 17. Krzywa ROC dla Ca125 w odróżnianiu pacjentek z rakiem jajnika od pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa Ib vs grupa IIIb). Krzywą wykonano dla pacjentek w wieku pomenopauzalnym.

Na podstawie zebranych danych zaproponowano punkt odcięcia dla Ca125 równy 97,93 U/l. Przy takim punkcie uzyskano SN=83,3% i SP=96,20%. Odsetek błędnych kwalifikacji wyniósł 10,61% (dla porównania dla punktu odcięcia=35 U/l uzyskano SN=95,0% i SP=77,4%; odsetek błędów wyniósł 13,27%)

Następnie utworzono krzywą ROC dla HE4 w odróżnianiu pacjentek z rakiem jajnika od pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa Ib vs. grupa IIIb). Uzyskano AUC=0,911. Kształt krzywej ROC przedstawiono na ryc. 18.



Ryc. 18. Krzywa ROC dla HE4 w odróżnianiu pacjentek z rakiem jajnika od pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa Ib vs grupa IIIb). Krzywą wykonano dla pacjentek w wieku pomenopauzalnym.

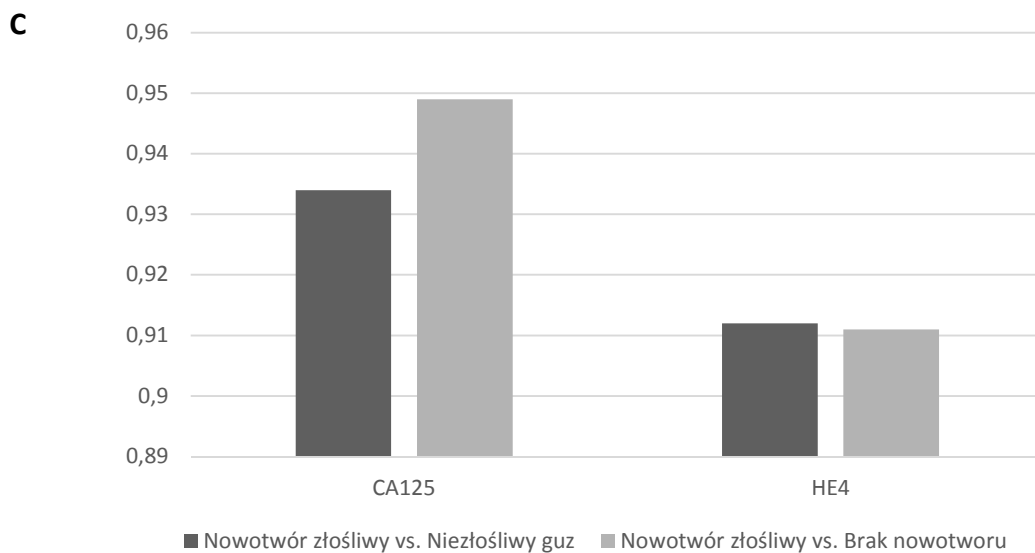
Na podstawie zebranych danych zaproponowano punkt odcięcia równy 121,1 pmol/l. Przy takiej wartości punktu odcięcia uzyskano SN=77,6% i SP=98,1%. Odsetek błędnych kwalifikacji wyniósł 12,61% (dla porównania dla punktu odcięcia=150pmol/l uzyskano SN=72,4% i SP=98,11%; odsetek błędów wyniósł 15,31%).

Następnie obliczono SN i SP dla panelu łączonego Ca125+HE4 w odróżnianiu pacjentek z rakiem jajnika od pacjentek z niezłośliwymi guzami jajnika. Uzyskano SN=86,27% i SP=96,30%. Odsetek błędnych kwalifikacji wyniósł 10,25%. Dla odróżniania pacjentek z rakiem jajnika od pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego uzyskano SN=70,60% i SP=100,0%. Odsetek błędnych kwalifikacji wyniósł 14,42%.

Podsumowanie SN i SP uzyskanych przez Ca125 i HE4 przedstawiono na ryc. 19.

A		Ca125> 35	Ca125> 37,75	HE4>150	HE4>63,85	Ca125>35+ HE4>140	Ca125>37,75 + HE4>63,85
	SN	95,00%	95,00%	72,40%	89,70%	72,60%	86,27%
	SP	70,40%	74,10%	96,30%	74,10%	100,00%	96,30%
	Odsetek błędów	12,64%	11,49%	20,00%	15,29%	17,94%	10,25%

B		Ca125> 35	Ca125> 97,93	HE4>150	HE4> 121,1	Ca125>35 +HE4>140	Ca125>97,93 + HE4>121,1
	SN	95,00%	83,30%	72,40%	77,60%	72,60%	70,60%
	SP	77,40%	96,20%	98,11%	98,10%	100,00%	100,00%
	Odsetek błędów	13,27%	10,61%	15,31%	12,61%	13,46%	14,42%



Ryc. 19. Porównanie czułości i swoistości testów diagnostycznych dla różnych wartości punktu odcięcia dla porównania nowotwór złośliwy jajnika vs. niezłośliwy guz jajnika (grupa Ib vs. grupa IIb) (A) oraz nowotwór złośliwy jajnika vs. pacjentki, u których nie rozpoznano nowotworu (grupa Ib vs. grupa IIIb) (B). Porównanie AUC dla CA125 i HE4 (C). Obliczeń dokonano dla pacjentek w wieku pomenopauzalnym.

5. Dyskusja

Rak jajnika jest drugim co do częstości nowotworem kobiecych narządów rodnych [1]. Mimo znaczących postępów w rozpoznawaniu i leczeniu nowotworów skuteczność terapii u pacjentów z rakiem jajnika pozostaje niezadowalająca. Przeżywalność pacjentek chorujących na raka jajnika jest uzależniona od stopnia zaawansowania nowotworu w momencie rozpoznania. 5-letnia przeżywalność wynosi ok 90% w przypadku rozpoznania raka w I stopniu zaawansowania i spada do 25% w IV stopniu zaawansowania. Całkowite 5-letnie przeżycie wynosi poniżej 45%. Fakt ten związany jest z tym, że w momencie rozpoznania, u 75% pacjentek obecne są już odległe przerzuty [170]. Dużą uwagę przywiązuje się więc do wykrywania wczesnych form raka jajnika. Diagnostyka raka jajnika opiera się o analizę danych klinicznych, badanie ginekologiczne, techniki obrazowania i markery nowotworowe. Niestety żadna z powyższych metod nie cechuje się obecnie dostateczną czułością i swoistością w wykrywaniu wczesnych postaci nowotworu [174]. Obecnie trwają intensywne poszukiwania markerów nowotworowych będących w stanie skutecznie wykrywać raka we wczesnych stadiach. Celem niniejszej pracy była ocena nowoczesnych markerów nowotworowych – CA125 i HE4 pod kątem różnicowania zmian w jajnikach. Analizę rozpoczęto od zbadania średnich poziomów markerów w badanych grupach. Następnie obliczono czułość i swoistość markerów w wykrywaniu raka jajnika w różnych populacjach chorych. Ostatnim elementem pracy była optymalizacja zastosowania wyżej wymienionych markerów.

W grupie kobiet z rakiem jajnika po menopauzie (grupa Ib), średni poziom Ca125 wyniósł 1067 U/ml i był wyższy niż we wszystkich grupach pacjentek, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupy IIb, IIIb i Vb). Również średni poziom HE4 okazał się być wyższy w grupie pacjentek z rakiem jajnika (grupa Ib) i wyniósł 818,10 pmol/l. Stwierdzenie podwyższonego poziomu tych markerów może więc stanowić podstawę do podejrzewania choroby nowotworowej w obrębie przydatków. Nie zaobserwowano natomiast istotnej statystycznie różnicy pomiędzy średnimi poziomami Ca125 u kobiet z endometriozą (grupa IV) i nowotworem złośliwym jajnika (grupa I) (kobiety bez ograniczeń wiekowych). Przyczyn tego zjawiska można upatrywać się w występowaniu podwyższonego poziomu Ca125 w wielu różnych

schorzeniach, między innymi w endometriozie, co powoduje niską swoistość tego markera. Przez ten fakt Ca125 nie jest dobrym markerem do różnicowania torbieli endometrialnych z nowotworami złośliwymi jajnika. Jak wykazały badania moje i innych HE4 pozbawione jest tej wady [232, 233]. U kobiet z endometriozą średnie poziomy HE4 kształtują się na poziomie porównywalnym z innymi niezłośliwymi chorobami narządu rodnego i różnią się o więcej niż rząd wielkości od poziomów spotykanych u kobiet chorujących na raka jajnika. Wobec powyższych danych połączenie tych dwóch markerów wydaje się być zasadne i może skutkować w podwyższeniu skuteczności tak powstałego panelu w różnicowaniu guzów jajnika. Należy zauważyć, że endometrioza i rak jajnika dotyczą różnych populacji chorych. Endometrioza jest domeną kobiet młodych [234]. Rak jajnika częściej występuje u kobiet w wieku pomenopauzalnym [53]. Z uwagi jednak na występowanie przypadków raka jajnika u młodych kobiet wskazana jest dokładna ocena zmian w obrębie przydatków również w tej populacji.

Moje obserwacje znajdują odzwierciedlenie w wynikach badań innych. W badaniu Moore i współpracowników [195] mediana poziomów Ca125 w przypadku rozpoznania niezłośliwej zmiany jajnika wyniosła 20,5 U/ml. W przypadku kobiet po menopauzie wartość ta wyniosła 17,8 U/ml, a w przypadku kobiet przed menopauzą 24,3 U/ml. Mediana poziomów Ca125 dla pacjentek z rakiem jajnika wyniosła 210,9 U/ml. Różnica ta była istotna statystycznie na poziomie $p < 0,0001$. W tym samym badaniu mediana poziomów HE4 dla kobiet, u których nie rozpoznano nowotworu jajnika wyniosła 58,6 pmol/l. Wartości HE4 były wyższe u kobiet po menopauzie w stosunku do kobiet przed menopauzą (70,8 vs. 51,2 pmol/l). U kobiet, u których rozpoznano raka jajnika wartości HE4 były znamienne wyższe. Mediana była równa 274,4 pmol/l. Różnice pomiędzy grupami osiągnęły istotność statystyczną na poziomie $p < 0,0001$. Obserwujemy więc istotny wzrost poziomu obu badanych markerów w przypadku wystąpienia choroby nowotworowej. W razie jej braku – markery pozostają na niskim poziomie.

Podobne badanie przeprowadził Park i współpracownicy [235]. Podają oni, że mediana poziomów Ca125 wynosiła 11kU/l (11U/ml) w grupie kobiet zdrowych, 30kU/l (30U/ml) w grupie kobiet z niezłośliwymi chorobami kobiecych narządów rodnych i

130kU/l (130U/ml) w grupie kobiet z rakiem jajnika ($p < 0,0001$). Ponadto stwierdzono podwyższony poziom Ca125 u pacjentów z nowotworami innymi niż narządów płciowych (mediana 62kU/l; $p < 0,0001$) oraz u kobiet ciężarnych (mediana 77kU/l). W tym samym badaniu stwierdzono, że mediana poziomów HE4 w grupie zdrowych kobiet wyniosła 48pmol/l. Było to tyle samo, co w grupie kobiet z niezłośliwymi schorzeniami narządów rodnych. W grupie kobiet z rakiem jajnika poziomy HE4 były znacząco wyższe. Mediana wynosiła 87pmol/l ($p = 0,0005$). Podobnie jak w przypadku Ca125 marker ten był znacząco podwyższony w przypadku nowotworów innych niż kobiecych narządów płciowych (mediana 84 pmol/l; $p = 0,0005$). W tej samej pracy stwierdzono również znamienne zwiększony poziom HE4 u pacjentów z przewlekłymi chorobami nerek (mediana 1636 pmol/l, $p = 0,0072$).

Następnym elementem mojej pracy było stworzenie tablic kontyngencji i obliczenie czułość i swoistość w wykrywaniu nowotworu złośliwego jajnika. Jako wartości referencyjnych użyto tych zaproponowanych przez producentów testu - 35U/ml dla Ca125 i 150pmol/l dla HE4 [231]. Analizowano następujące porównania: dla kobiet bez ograniczeń wiekowych - nowotwór złośliwy jajnika vs. niezłośliwy guz jajnika (grupa I vs. grupa II), endometrioza (grupa I vs. grupa IV) lub kobiety, u których nie rozpoznano nowotworu (grupa I vs. grupa III). U kobiet w wieku przedmenopauzalnym nie przeprowadzono analizy z uwagi na niewielką ilość kobiet z nowotworem złośliwym jajnika w tej grupie (2 osoby). U kobiet po menopauzie natomiast przeprowadzono analizę w zestawieniach nowotwór złośliwy jajnika vs. niezłośliwy guz jajnika (grupa Ib vs. grupa IIb) lub nowotwór złośliwy jajnika vs. kobiety, u których nie rozpoznano nowotworu (grupa Ib vs. grupa IIIb). Zrezygnowano z porównania pacjentek z endometriozą z uwagi na sporadyczne występowanie tej choroby u kobiet po menopauzie [234]. Taki podział pacjentek wydaje się odzwierciedlać najczęściej zadawane pytania kliniczne – czy dany guz jajnika jest złośliwy oraz czy u danej pacjentki występuje nowotwór złośliwy jajnika. Pominięto różnicowanie raka jajnika z mięśniakami macicy, z uwagi na na wysoką skuteczność ultrasonografii przezpochwowej w różnicowaniu mięśniaków macicy [236]. W moich badaniach najbardziej czułym markerem okazał się być CA125, którego czułość we wszystkich zestawieniach oscylowała w okolicy 95%. HE4 i panel łączony CA125+HE4

wypadły w tym porównaniu gorzej i ich czułość oscylowała na poziomie 72-78%. Wysoka czułość CA125 została okupiona zdecydowanie niższą swoistością wahającą się od 63 do 77%, w zależności od zestawienia. W skrajnych przypadkach – dla porównania raka jajnika i endometriozy swoistość osiągnęła tylko 22%. Oznacza to, że tylko 22% pacjentek z podwyższonym poziomem CA125 rzeczywiście choruje na raka jajnika. Tak niska swoistość może skutkować wysokim odsetkiem wyników fałszywie pozytywnych, narażając pacjentki na zbędne procedury medyczne i stres. Z drugiej jednak strony postępowaniem z wyboru w leczeniu guzów endometrialnych jajnika jest ich operacyjne usunięcie. Przedoperacyjne poznanie charakteru zmiany pozwoliłoby jednak lepiej zaplanować przebieg operacji i postępowanie pooperacyjne. HE4 i panel łączony Ca125+HE4 cechowały się wyższą swoistością oscylującą na poziomie 95-98%. W przypadku kobiet po menopauzie panel łączony osiągnął nawet 100% swoistość. Ten wynik należy jednak traktować raczej jako rezultat małej ilości pacjentek w badaniu, niż rzeczywistą cechą testu. Czułość HE4 była wysoka również w przypadku kobiet z endometriozą, co wydaje się potwierdzać zasadność stosowania tego markera u kobiet w wieku przedmenopauzalnym. Warto również zwrócić uwagę na wyższe wartości czułości i swoistości obserwowane u kobiet po menopauzie. Jest to cecha, która będzie skutkować większą skutecznością w wykrywaniu raka jajnika w grupie kobiet najbardziej na niego narażonych. Czynnikiem wpływającym na ten fakt jest rzadsze występowanie w tej grupie kobiet endometriozy, zapaleń przydatków i innych schorzeń, które mogą dawać fałszywie dodatnie wyniki testu CA125.

Podobnych obliczeń czułości i swoistości dokonał również cytowany już wcześniej Park i współpracownicy [235]. Na podstawie zebranych danych stworzyli oni krzywe ROC i obliczyli czułość w wykrywaniu raka, która wynosiła 44,8% dla HE4 i 55,2% dla Ca125 przy 95% swoistości. Wartości te uzyskano stosując punkt odcięcia wynoszący 123 kU/l dla Ca125 i 94 pmol/l dla HE4. Zwracają uwagę niskie wartości czułości i swoistości charakteryzujące markery w tym badaniu. W mojej pracy przy porównywalnych wartościach punktu odcięcia ($CA125 < 131$ U/ml) czułość i swoistość wyniosła $SN=78,7\%$ przy $SP=93\%$. Dla $HE4 < 101,4$ pmol/l uzyskano wartość $SN=78\%$ przy $SP=96,90\%$. Przyczyny tej różnicy są trudne do ustalenia. Być może istotny jest tutaj odpowiedni dobór grupy kontrolnej.

Kolejną pracą opisującą skuteczność markerów w wykrywaniu raka jajnika jest metaanaliza 77 badań wykonana w 2012 roku [237]. Podwyższony poziom Ca125 (>35U/ml) charakteryzował się czułością i swoistością rzędu 78% i 78%. Wartości te są dość niskie i odstają od opisywanych przeze mnie. Szczególnie niską czułość i swoistość opisywano dla wykrywania wczesnych postaci raka jajnika. Czynniki, które obniżają skuteczność tego markera są: wiek przed menopauzą i niektóre typy guzów, takie jak guzy śluzowe i jasnokomórkowe [179, 238]. Inna metaanaliza porównała skuteczność Ca125 w rozpoznawaniu raka u kobiet przed i po menopauzie [218]. Podwyższony poziom Ca125 (>35U/ml) pozwalał rozpoznać raka z czułością 69-87% i swoistością 81-93%, u kobiet po menopauzie. U kobiet przed menopauzą parametry te były niższe. Czuość wynosiła 50-74% a swoistość 69-78%. Różnica ta może wynikać z faktu, iż podwyższony poziom Ca125 występuje w wielu schorzeniach nienowotworowych, które są często obserwowane u kobiet w wieku rozrodczym. W związku z niezadowalającą czułością i swoistością Ca125 u kobiet przed menopauzą próbowano podnieść punkt odcięcia dla podejrzenia nowotworu do 200U/ml. Retrospektywne badanie dowiodło, że taka zmiana skutkuje dodatnią wartością predykcyjną rzędu 70% i ujemną wartością predykcyjną rzędu 85%. Czuość natomiast wyniosła 70% [239]. Powyższa koncepcja nie weszła jednak do zaleceń ACOG dotyczących postępowania z guzami jajnika z 2011 roku [240]. W mojej pracy zaobserwowałem porównywalne wyniki dla kobiet w wieku pomenopauzalnym. Dla kobiet w wieku przedmenopauzalnym nie mogłem przeprowadzić takiej analizy z uwagi na małą liczbę pacjentek z rakiem jajnika objętych badaniem.

W wyniku połączenia Ca125, HE4 i stanu menopauzalnego pacjentki powstał algorytm ROMA [195]. Skuteczność tego algorytmu została zwalidowana w wieloośrodkowym badaniu przeprowadzonym na 531 pacjentach (występowanie raka wynosiło 24%). W tej populacji czuość w wykrywaniu raka wyniosła 92% a swoistość 76% [195]. W późniejszym badaniu potwierdzono skuteczność algorytmu ROMA na populacji z mniejszym ryzykiem zachorowania na raka jajnika. W grupie 472 kobiet (10% raków jajnika) czuość wyniosła 92% przy swoistości 76% dla kobiet przed menopauzą. U kobiet po menopauzie parametry te wyniosły odpowiednio 100% i 74%. W późniejszej metaanalizie 11 badań wykazano, że czuość ROMA w wykrywaniu raka

jajnika wynosiła 89% przy 83% swoistości. Dla wczesnych postaci raka wartości te były niższe i wyniosły odpowiednio 81 i 76%. Dla kobiet przed menopauzą wartości czułości i swoistości wyniosły 82%. Dla kobiet po menopauzie czułość wyniosła 93% a swoistość 79% [241]. Porównanie ROMA, HE4 i Ca125 dowiodło, że ROMA jest testem najbardziej czułym (ROMA: 86%, HE4: 80%; Ca125: 84%). HE4 jest natomiast testem najbardziej swoistym (ROMA: 84%, HE4: 94%; Ca125: 78%). Różnice te nie były jednak istotne statystycznie [241]. W innym badaniu [242] porównano czułość i swoistość Ca125, HE4 i ROMA w różnicowaniu guzów jajnika. Ogólna czułość była najwyższa dla ROMA i wynosiła 84,4%. Ca125 osiągnęło czułość 73,1% a HE4 83,1% przy założonej 90% swoistości. W grupie kobiet przed menopauzą, przy założeniu 90% swoistości wartości czułości wynosiły odpowiednio: 74,1% dla Ca125, 83,3% dla HE4 i 83,3% dla ROMA. W grupie kobiet po menopauzie uzyskano nieco gorsze wyniki. Przy 90% swoistości wartości czułości wynosiły odpowiednio: 69,8% dla Ca125, 81,1% dla HE4 i 79,2% dla ROMA. Wykonano również analizę przy użyciu krzywych ROC. W grupie wszystkich pacjentów i pacjentów przed menopauzą wartości AUC wynosiły 0,90-0,93 i różnice między nimi nie były istotne statystycznie. Istotne różnice zaobserwowano w grupie kobiet po menopauzie. Największe AUC miał panel ROMA (0,93), następnie HE4 (0,91) i Ca125 (0,90). Z drugiej jednak strony istnieją badania, które negują skuteczność łączenia Ca125 i HE4 w panel. Przykładem jest tu badanie przeprowadzone na grupie 389 kobiet, które wykazało, że zastosowanie Ca125 i HE4 w kombinacji nie przynosi żadnych korzyści w stosunku do stosowania tych markerów osobno [243]. Te prace częściowo potwierdzają wyniki uzyskane przeze mnie. Połączenie CA125 i HE4 w panel nie przyczyniło się do znaczącego wzrostu skuteczności testu diagnostycznego. Co prawda nieznacznie zwiększyła się swoistość, było to jednak okupione zauważalnym spadkiem czułości. Należy jednak zwrócić uwagę, że test ROMA wykorzystuje matematyczny algorytm do obliczania procentowego ryzyka raka jajnika w obserwowanej zmianie. W moim badaniu przyjąłem, że dodatni wynik oby dwóch markerów w panelu CA125+HE4 wskazuje na zmianę złośliwą a nie tylko na ryzyko wystąpienia raka. Fakt ten mógł wpłynąć na różnicę wyników moich i Moore`a.

Wobec wysokiej skuteczności panelu ROMA zaproponowano również bardziej skomplikowane panele. OVA1 jest panelem 5 markerów wprowadzonym w roku 2009.

Został on zarejestrowany do szacowania prawdopodobieństwa wystąpienia choroby nowotworowej u kobiet z guzem jajnika, u których planowana jest operacja. Największe przeprowadzone dotąd badanie porównywało skuteczność OVA1, Ca125 II i oceny klinicznej przez lekarza [244]. Wśród tych metod OVA1 okazał się być testem najczulszym, ustępując jednak znacząco Ca125 pod względem swoistości. Wartości te wynosiły odpowiednio: OVA1-czułość: 93%, swoistość 43%, Ca125-czułość 69%, swoistość 84%, ocena kliniczna - czułość: 96%, swoistość: 35%. W porównaniu – w moim badaniu Ca125 osiągnęło porównywalną czułość do OVA1 i zdecydowanie wyższą swoistość, szczególnie u kobiet po menopauzie. Z tej obserwacji można wysnuć wniosek, że największą wartość w różnicowaniu guzów jajnika posiada wciąż Ca125 a dodatkowe parametry jedynie modyfikują rezultaty uzyskane przy pomocy Ca125, niekoniecznie z korzystnym efektem.

Innym podejściem do problemu różnicowania guzów jajnika jest Risk of Malignancy Index (RMI). Jest to kompleksowy test wykorzystujący poziom Ca125, ocenę ultrasonograficzną i status menopauzalny pacjentki [9]. Jak dotąd powstały cztery generacje tego testu różniące się założeniami i punktem odcięcia. Czulość tych testów kształtowała się na poziomie 78-79% a swoistość 81-89% [245]. Zaletą RMI jest fakt, że wykorzystuje on trzy najbardziej istotne klinicznie elementy w ocenie guza jajnika. Z drugiej jednak strony wykorzystuje on rzeczywisty poziom Ca125, zamiast przyznawać punkty za odpowiednie zakresy wartości. Właściwość ta powoduje, że jego zastosowanie może być problematyczne we wczesnych postaciach raka jajnika, jak również u kobiet przed menopauzą. Tym niemniej, RMI stanowi ciekawe połączenie markerów osoczowych z badaniem ultrasonograficznym. W moim badaniu nie przeprowadzałem oceny ultrasonograficznej zmian w jajnikach.

Warto również przeanalizować skuteczność markerów osoczowych na tle innych metod wykrywania raka jajnika. W metaanalizie 204 badań Myers i współpracownicy [246] podają wartości czułości i swoistości dla różnych metod diagnostycznych: badanie ginekologiczne: SN=45%, SP=90%; TV-US: SN=86-91% i SP=68-83%; rezonans magnetyczny: SN=91; SP=88%; tomografia komputerowa: SN=90%; SP=75%; PET: SN=67%, SP=79%; CA125: SN=78%, SP=78%. Można zauważyć,

że wyniki te nie różnią się znacząco od wyników charakteryzujących markery osoczowe opisywane w tej pracy.

Podsumowując, zarówno moje jak i badania innych [237, 242] ukazują CA125 i HE4 jako markery, przy pomocy których jesteśmy w stanie wykryć raka jajnika z wysoką czułością i swoistością. Dokładna charakterystyka tych markerów różni się jednak wśród badaczy. Wyniki uzyskane w mojej pracy są porównywalne do tych podawanych przez innych autorów. Należy jednak zwrócić uwagę, że część z cytowanych prac wykonywana była na wielokrotnie większej próbie, co mogło mieć wpływ na jakość moich wyników. Również dobór pacjentów do grup badawczych może mieć istotne znaczenie dla uzyskanego rezultatu. Nie wszystkie typy nowotworów złośliwych powodują wzrost poziomu markerów w surowicy pacjentów – ograniczenie analizy do pacjentek z gruczolakorakiem surowiczym może znacząco poprawić skuteczność markerów w wykrywaniu raka [19]. Analogicznie, niektóre choroby (np. niewydolność nerek) mogą zwiększać poziom markerów nowotworowych, przyczyniając się do wyników fałszywie pozytywnych [235]. W związku, z tym należałoby wprowadzić jednolite zasady kwalifikacji pacjentek do grup badanych, aby uniknąć różnic wynikających z przyjętej metodologii.

Niektórzy autorzy sugerują również zastosowanie innych niż ogólnie przyjęte wartości referencyjnych dla markerów nowotworowych, celem poprawienia skuteczności markerów w wykrywaniu raka jajnika [239]. Zmiana wartości referencyjnych może skutkować poprawą bądź pogorszeniem skuteczności testów diagnostycznych. Zwiększając czułość na ogół zmniejsza się swoistość testu i odwrotnie. Jedną z metod służących do ustalania optymalnych wartości punktu odcięcia są krzywe ROC. Na podstawie analizy krzywych ROC stworzonych dla moich danych obliczono pola powierzchni pod wykresem (AUC) dla pacjentek przed i po menopauzie dla odróżniania raka jajnika od niezłośliwych guzów jajnika (grupa I vs. grupa II) oraz dla odróżniania kobiet z rakiem jajnika od kobiet, u których nie rozpoznano nowotworu złośliwego (grupa I vs. grupa III). Wartości AUC kształtowały się pomiędzy 0,910 a 0,949. Najwyższe wyniki uzyskano dla CA125 u kobiet w wieku pomenopauzalnym. Oznacza to, że w tej grupie kobiet marker ten najlepiej różnicuje grupę pacjentek z rakiem jajnika od kobiet zdrowych. Gorsze wyniki uzyskano

natomiast w grupie kobiet bez ograniczeń wiekowych. Jest to zrozumiałe mając na uwadze częstsze występowanie chorób niezłośliwych, charakteryzujących się podwyższonym poziomem CA125 w tej grupie kobiet. Wyniki AUC uzyskane przeze mnie są porównywalne z danymi z literatury [242]. Na podstawie analizy krzywych ROC zaproponowałem nowe wartości punktów odcięcia. Kryterium wyboru był odsetek nieprawidłowych kwalifikacji – im mniejszy, tym mniej błędów popełnionych zostanie podczas różnicowania guzów jajnika. Dla kobiet w grupie bez względu na wiek zaproponowałem następujące punkty: dla CA125 -131 U/ml a dla HE4 - 101,4 i 121pmol/l odpowiednio dla różnicowania raka z niezłośliwym guzem jajnika i kobietami, u których nie rozpoznano nowotworu (grupy II i III). Zmiana tych wartości pozwoliła znacząco zmienić odsetek błędnych kwalifikacji – w niektórych przypadkach aż o 50%. Oznacza to, że mniej kobiet zostanie nieprawidłowo zakwalifikowana przy pomocy tych testów. W przypadku kobiet w wieku pomenopauzalnym uzyskałem podobne wyniki. Dla różnicowania nowotworu złośliwego jajnika i niezłośliwych guzów jajnika (grupa Ib vs. grupa IIb) zaproponowano punkt odcięcia równy 37,75 U/ml dla CA125 i 63,85 pmol/l dla HE4. Warto zwrócić uwagę, że wartość punktu odcięcia dla CA125 nie różni się wiele od ogólnie przyjętych wartości referencyjnych [231]. Wartość tego punktu dla HE4 natomiast różni się znacząco. Wyniki dla tej grupy pacjentek należy traktować jednak z wielką ostrożnością, z uwagi na niewielką liczbę pacjentek (n=27) z niezłośliwymi guzami jajnika. Dla różnicowania nowotworu złośliwego jajnika i kobiet zdrowych (grupa Ib vs. grupa IIIb) zaproponowałem natomiast punkt odcięcia wynoszący 97,93 U/ml dla CA125 i 121,1 pmol/l dla HE4. Również w tym zestawieniu uzyskano zmniejszenie odsetka nieprawidłowych kwalifikacji. Zastosowanie nowych wartości testu pozwoli postawić pewną diagnozę większej liczbie kobiet. Duża część z nich może uniknąć dzięki temu niepotrzebnych zabiegów diagnostycznych i terapeutycznych. Należy jednak zastanowić się czy stosowanie zmienionych wartości jest korzystne dla pacjentek. W moich rozważaniach wartość punktu odcięcia została zwiększona w przypadku CA125 i zmniejszona w przypadku HE4. Zwiększenie wartości punktu odcięcia skutkuje zmniejszeniem czułości na rzecz swoistości. Dzięki temu, podwyższony poziom markera z większym prawdopodobieństwem wskazuje na nowotwór. Z drugiej jednak strony, część pacjentek z rakiem, z tylko nieznacznie podwyższonymi poziomami CA125 nie zostanie zakwalifikowana jako chore. Gdyby

oprzeć decyzję o leczeniu operacyjnym o wyniki markerów nowotworowych, to takie pacjentki nie zostałyby zoperowane – później wykryto by u nich nowotwór, co najprawdopodobniej wpłynęłoby negatywnie na rokowanie. Z punktu widzenia biologii raka jajnika i dobra pacjenta korzystniejsze wydaje się być uzyskanie fałszywie pozytywnego wyniku markerów nowotworowych i usunięcie niezłośliwego guza jajnika niż przeoczenie wczesnej postaci raka jajnika. Postępowanie takie naraża jednak system opieki zdrowotnej na koszty niepotrzebnych operacji a pacjenta na ryzyko powikłań około i pooperacyjnych. Dokładne badania, które mogłyby wykazać czy włączenie markerów nowotworowych w proces decyzyjny przy leczeniu raka jajnika wpłynie na umieralność pacjentów nie zostały jak dotąd przeprowadzone. Przez to markery opisane w niniejszej pracy pełnią funkcję tylko pomocniczą. Zostały one zarejestrowane do wspomagania decyzji o skierowaniu pacjentki do leczenia w wykwalifikowanym ośrodku onkologii ginekologicznej, oraz do monitorowania leczenia u pacjentek z już rozpoznanym rakiem jajnika [197, 247].

W związku z niesatysfakcjonującą skutecznością osoczowych markerów raka jajnika trwają poszukiwania innych metod, dzięki którym można by wykryć ten nowotwór. Z uwagi na położenie jajników w jamie brzusznej niemożliwe jest bezpośrednio ich zbadanie i pobranie wycinka do badań histopatologicznych bez narażania pacjentki na zabieg operacyjny. Ani USG ani markery nowotworowe nie mają dostatecznie wysokiej czułości i swoistości do wykrywania wczesnych raka in situ, bądź wczesnych form inwazyjnych [172, 174, 248]. Ponadto, niektóre formy histologiczne raka jajnika nie powodują wzrostu ani CA125 ani HE4 [19, 238]. Rozwiązaniem tych problemów może być dołączenie dodatkowych markerów do panelu. Jak dotąd nie odniesiono jednak znaczących postępów w tej dziedzinie [249]. Trwają więc intensywne prace mające na celu stworzenie nowych metod wykrywania raka jajnika. Na uwagę zasługują tutaj eksperymentalne techniki obrazowania. Opisano na przykład metody ultrasonografii kontrastowej. Wykazano, że kontrast zawierający mikropęcherzyki gazu gromadzi się w miejscach neowaskularyzacji, takich jak wczesne postaci raka jajnika [230]. Co więcej, mikropęcherzyki mogą zostać sprzężone z przeciwciałami przeciwko integrynom, endoglinom lub VEGF, co czyni je narzędziem funkcjonującym już na poziomie molekularnym [250]. Innym ciekawym zagadnieniem

jest zastosowanie wewnętrznej fluorescencji tkankowej (intrinsic tissue fluorescence). Fluorescencja ta występuje w zdrowych tkankach, może jednak zaniknąć w tkankach dysplastycznych bądź nowotworowych. Jak dotąd zastosowano tą technikę w wykrywaniu nowotworów szyjki macicy, skóry, jamy ustnej i przełyku. Ostatnio opisano zastosowanie wewnętrznej fluorescencji tkankowej w rozpoznawaniu zmian typu STIC w jajowodach usuniętych podczas operacji [251].

Inne doniesienia [252] wskazują, że prosty i tani wymaz cytologiczny również może mieć znaczenie w diagnostyce nowotworów endometrium i jajnika. Cytologia jest badaniem, które zrewolucjonizowało diagnostykę i terapię nowotworów szyjki macicy. Od jego wprowadzenia śmiertelność z powodu raka szyjki macicy zmniejszyła się o ponad 75% [253]. Od dłuższego czasu w badaniu cytologicznym obserwowano atypowe komórki gruczołowe (AGC) w wymazach cytologicznych. Nie znano jednak ich pochodzenia. Występowanie AGC może być związane z występowaniem zmian przednowotworowych i nowotworowych w szyjce macicy, endometrium oraz jajniku. Trudno jest jednak odróżnić skąd pochodzą te nietypowe komórki. Kinde i współpracownicy zaproponowali więc aby przeanalizować DNA pochodzące z AGC pod kątem mutacji somatycznych związanych z rakiem endometrium i jajnika [252]. Wykazano w ten sposób, że mutacje charakterystyczne dla tych nowotworów są obecne w odpowiednio 100% wymazów pochodzących od pacjentek z rakiem endometrium i 41% pacjentek z rakiem jajnika. Wynik ten, choć bardzo dobry dla raka endometrium nie jest spektakularny dla raka jajnika. Wskazuje on jednak potencjalną drogę rozwoju opartą o prosty i rozpowszechniony test. Autorzy wyżej wymienionej publikacji podają również sposoby mogące poprawić wykrywalność raka w wymazie cytologicznym. Jednym ze sposobów jest zwiększenie liczby mutacji wykrywanych przez test genetyczny. Inną metodą może być pobieranie próbki z większej głębokości, a nie tylko z tarczy i kanału szyjki macicy.

Odmianą strategią w wykrywaniu raka jajnika może być również analiza krążącego we krwi pacjentki DNA i RNA pochodzącego z guza. Jest to zagadnienie nowatorskie. Jedną z metod zakłada wykorzystanie micro-RNA (miR). Jest to klasa ewolucyjnie chronionych 22-nukleotydowych fragmentów niekodującego RNA. Mogą się one wiązać z fragmentem 3' swoistego mRNA i regulować jego translacyjną represję

bądź degradację [254]. Tysiące fragmentów mikro RNA jest związanych z licznymi procesami biologicznymi takimi jak różnicowanie komórek, proliferacja, apoptoza i funkcje metaboliczne. Niektóre micro-RNA związane są z patogenezą nowotworów i mogą pełnić rolę onkogenów bądź supresorów [255]. Początkowo poszukiwania micro-RNA ograniczone były do fragmentów guza, gdzie ich nieprawidłowa ekspresja mogła dawać wgląd w pochodzenie nowotworu. Ostatnie badania dowodzą jednak, że mikro RNA jest uwalniane również do krwiobiegu, co czyni go bardzo atrakcyjnym kandydatem na marker nowotworowy [256, 257]. Jak dotąd wykryto 8 typów miR, które wykazują różną ekspresję u chorych na raka jajnika i zdrowych osób [257]. Co więcej, ich profile mogą różnić się w zależności od stopnia zaawansowania choroby, a pojawienie się niektórych z nich zdaje się wyprzedzać wzrost Ca125, co może mieć kluczowe znaczenie we wczesnej diagnostyce raka [258]. Innym zastosowaniem micro-RNA może być różnicowanie typu nowotworu, ustalanie prognozy i personalizacja leczenia [259, 260]. Podobne zastosowanie może znaleźć krążące DNA guza (circulating tumor DNA - ctDNA). Marginetti i współpracownicy opisali przebieg choroby u pacjentki z rakiem jajnika [261]. W opisanym przypadku ctDNA okazało się być bardziej swoistym i czułym markerem raka niż Ca125. Co więcej, ci sami badacze wykazali wrażliwość komórek nowotworowych pochodzących od tego pacjenta na lek będący inhibitorem FGFR2 (Fibroblast Growth Factor Receptor 2). Analizy ctDNA wykazały, że właśnie ten receptor jest zmutowany w komórkach nowotworu. Dokładniejsze badania wykazały, że tylko komórki nowotworowe pochodzące od tego pacjenta reagują na takie leczenie. Powyższa obserwacja stwarza zupełnie nowe możliwości we wczesnej diagnostyce raka jajnika i personalizację terapii.

Podsumowując, markery nowotworowe są coraz dokładniejsze i są w stanie z dużą czułością i swoistością wspomóc diagnostykę nowotworów złośliwych jajnika. Dwa markery przebadane w mojej pracy są obecnie często używane w przedoperacyjnej ocenie guzów jajnika. Mimo dobrych parametrów producent nie zaleca jednak ich stosowania przy podejmowaniu decyzji o leczeniu pacjenta. Wskazaniem rejestracyjnym jest wsparcie decyzji do skierowania pacjenta do leczenia w specjalistycznym ośrodku zajmującym się onkologią ginekologiczną oraz monitorowanie terapii u pacjentów z już rozpoznanym rakiem jajnika. Wyniki mojej

pracy potwierdzają wysoką skuteczność markerów w różnicowaniu guzów jajnika. Potrzebne są jednak dalsze badania mające ustalić optymalny punkt odcięcia. Wyniki przedstawione w mojej pracy sugerują, że zmieniając ten punkt można skutecznie manipulować czułością i swoistością testu. Moja praca stanowi również próbę przełożenia obserwacji wykonanych w innych krajach na populację polską. Wskazuje, że wyniki innych badaczy można z dużą skutecznością odnieść do kobiet w Polsce. Niezbadaną do końca kwestią pozostaje rola wyżej wymienionych markerów w screeningu raka jajnika. Niezbędne są więc dalsze prace mające na celu dokładniejsze zbadanie właściwości markerów nowotworowych w diagnostyce wczesnych postaci raka jajnika.

6. Wnioski

1. Średnie poziomy zarówno CA125 jak i HE4 znacząco różnią się u pacjentek z rakiem jajnika i większością niezłośliwych schorzeń narządu rodowego
2. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy średnimi poziomami CA125 u pacjentek z rakiem jajnika i endometriozą – marker ten nie pozwala na pewne różnicowanie tych chorób.
3. Odmiennie cechy charakteryzowały HE4 – stwierdzono istotną statystycznie różnicę pomiędzy średnimi poziomami HE4 u pacjentek z rakiem jajnika i endometriozą. Marker ten może więc służyć do różnicowania tych dwóch chorób
4. Obydwa markery osiągnęły wysoką czułość i swoistość w różnicowaniu zmian w obrębie przydatków. Przy ich pomocy można skutecznie kwalifikować zmiany przydatków do grup wysokiego i niskiego ryzyka występowania raka jajnika. Nie podjęto jak dotąd próby przypisania markerom większej roli przy podejmowaniu decyzji podczas leczenia guzów jajnika
5. Czułość i swoistość tych markerów w różnicowaniu raka jajnika może zostać zoptymalizowana poprzez zmianę punktu odcięcia. Niejasna jest jednak wpływ innych wartości punktów odcięcia na skuteczność wykrywania i terapii raka jajnika. Wymagane są dalsze badania w tej kwestii
6. Potrzebne są dodatkowe badania mające wyjaśnić przydatność wyżej wymienionych markerów w screeningu raka jajnika

Streszczenie

Rak jajnika jest drugim do częstości nowotworem kobiecych narządów rodnych. Mimo postępów w rozpoznawaniu i leczeniu raka jajnika skuteczność terapii jest niezadowalająca. Większość przypadków raka zostaje wykryta w zaawansowanym stadium. Całkowite przeżycie 5-letnie wynosi około 45%. Obecnie trwają intensywne prace badające możliwości wczesnego wykrycia raka jajnika. W tej dziedzinie dużym zainteresowaniem cieszą się surowicze markery raka jajnika. Są to białka, które mogą być wykryte we krwi osób chorych i tym samym wskazać na występowanie choroby. Celem niniejszej pracy było zbadanie właściwości dwóch nowoczesnych markerów raka jajnika – CA125 i HE4 w diagnostyce zmian przydatków.

Średnie poziomy oby dwóch markerów były znacząco podwyższone u kobiet z rakiem jajnika zarówno u kobiet przed, jak i po menopauzie. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy średnimi poziomami CA125 u pacjentek z rakiem jajnika i endometriozą – marker ten źle różnicuje tego typu zmiany. W odróżnieniu od CA125 – średnie poziomy HE4 u pacjentek z rakiem jajnika i endometriozą były znacząco różne. Użycie HE4 może więc skutecznie pomóc w diagnostyce guzów jajnika u młodych kobiet.

Obydwa markery charakteryzowały się wysoką czułością i swoistością w odróżnianiu pacjentek z rakiem jajnika od pacjentek z niezłośliwymi zmianami w obrębie przydatków bądź zdrowych kobiet. Najbardziej czułym markerem okazał się być CA125. Najbardziej swoistym – HE4, bądź panel łączony CA125+HE4. Poprzez połączenie oby dwóch markerów uzyskano test o zwiększonej swoistości oraz porównywalnej czułości w stosunku do pojedynczych markerów.

Utworzono również krzywe ROC dla markerów w badanej populacji. Dzięki analizie krzywych ROC ustalono, że poprzez zmianę punktu odcięcia można modyfikować czułość i swoistość markerów. Konieczne są dodatkowe badania aby ocenić wpływ zmiany wartości punktu odcięcia na skuteczność terapii raka jajnika

Podsumowując – wyniki uzyskane w tej pracy potwierdzają wysoką skuteczność CA125 i HE4 w wykrywaniu raka jajnika. Dane uzyskane przeze mnie są porównywalne

z wynikami innych badaczy. Konieczne są jednak dalsze badania mające na celu ustalenie wpływu stosowania markerów na śmiertelność pacjentów z powodu raka jajnika, oraz wyjaśnienie roli tych markerów w screeningu raka jajnika.

Summary

The ovarian cancer is the second most common gynecologic malignancy. Despite advances in diagnostics and treatment the efficacy of the therapy remains unsatisfactory. Most of the ovarian cancer cases are diagnosed in advanced stage. The overall 5-year survival accounts about 45%. Much effort is done nowadays to research early diagnosis modalities for ovarian cancer. In this field serologic ovarian cancer biomarkers are of much attention. These are proteins, which can be found in the blood of patients and indicate the presence of the disease. The aim of this work was to examine the properties of two modern ovarian cancer biomarkers – CA125 and HE4 in the workup of ovarian tumors.

The mean levels of both biomarkers were significantly elevated in ovarian cancer patients, both pre- and post-menopausal. No statistically significant differences in the levels of CA125 were found between ovarian cancer and endometriosis patients. This marker distinguishes these two diseases poorly. In contrast, the mean levels of HE4 among ovarian cancer and endometriosis patients were significantly different. The use of HE4 might therefore facilitate the differential diagnosis of ovarian tumors in young women.

Both biomarkers were characterized by high sensitivity and specificity in distinguishing ovarian cancer patients among women suffering from benign ovarian tumors and healthy women. CA125 turned out to be the most sensitive biomarker. On the other hand HE4 or a panel consisting of CA125 and HE4 were the most sensitive markers. Joining these two markers together raised the specificity while maintaining good sensitivity for diagnosis of ovarian cancer.

The ROC curves were created to examine the influence of cutoff point adjustments on the sensitivity and specificity of biomarkers. New cutoff points with optimized sensitivity, specificity and error rate were proposed. The role of this adjustments in the diagnosis of ovarian cancer is to be evaluated.

To sum up – the results of this work indicate high efficacy of CA125 and HE4 in the diagnosis of ovarian cancer. Results of my work are comparable to results

published by other authors. Still, more research is necessary to determine the influence of ovarian cancer biomarkers on the mortality of the patients and their role in the screening of ovarian cancer

Piśmiennictwo

1. Siegel, R., D. Naishadham, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2013*. CA Cancer J Clin, 2013. **63**(1): p. 11-30.
2. JV, L., *Ovarian neoplasia*. In: *Robboy's Pathology of the Female Reproductive Tract, 2nd ed.*, Robboy SL, Mutter GL, Prat J, et al.. (Eds), Churchill Livingstone Elsevier, Oxford 2009. p.601. 2009.
3. Lacey, J.V., Jr., et al., *Ovarian cancer screening in women with a family history of breast or ovarian cancer*. Obstet Gynecol, 2006. **108**(5): p. 1176-84.
4. Jemal, A., et al., *Global cancer statistics*. CA Cancer J Clin, 2011. **61**(2): p. 69-90.
5. Various authors, *SEER Stat Fact Sheets: Ovary Cancer*. 2014. Surveillance, epidemiology and end result program. <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>; viewed on 05.09.2014
6. Lee-may Chen, M., *Epithelial carcinoma of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: Epidemiology and risk factors*. 2014.
7. White, R.H., et al., *Incidence of venous thromboembolism in the year before the diagnosis of cancer in 528,693 adults*. Arch Intern Med, 2005. **165**(15): p. 1782-7.
8. Goff, B.A., et al., *Ovarian carcinoma diagnosis*. Cancer, 2000. **89**(10): p. 2068-75.
9. Goff, B.A., et al., *Development of an ovarian cancer symptom index: possibilities for earlier detection*. Cancer, 2007. **109**(2): p. 221-7.
10. Olson, S.H., et al., *Symptoms of ovarian cancer*. Obstet Gynecol, 2001. **98**(2): p. 212-7.
11. Boente, M.P., D.S. Chi, and W.J. Hoskins, *The role of surgery in the management of ovarian cancer: primary and interval cytoreductive surgery*. Semin Oncol, 1998. **25**(3): p. 326-34.
12. Goff, B.A., et al., *Ovarian cancer: patterns of surgical care across the United States*. Gynecol Oncol, 2006. **103**(2): p. 383-90.
13. Munstedt, K., et al., *Centralizing surgery for gynecologic oncology--a strategy assuring better quality treatment?* Gynecol Oncol, 2003. **89**(1): p. 4-8.
14. Giede, K.C., et al., *Who should operate on patients with ovarian cancer? An evidence-based review*. Gynecol Oncol, 2005. **99**(2): p. 447-61.
15. Heintz, A.P., et al., *Carcinoma of the ovary. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer*. Int J Gynaecol Obstet, 2006. **95 Suppl 1**: p. S161-92.
16. Young, R.C., et al., *Staging laparotomy in early ovarian cancer*. JAMA, 1983. **250**(22): p. 3072-6.
17. Young, R.C., et al., *Adjuvant therapy in stage I and stage II epithelial ovarian cancer. Results of two prospective randomized trials*. N Engl J Med, 1990. **322**(15): p. 1021-7.
18. Thomas J Herzog, M.D.K.A., MD, *First-line chemotherapy for advanced (stage III or IV) epithelial ovarian, fallopian tubal, and peritoneal cancer*. http://www.uptodate.com/contents/first-line-chemotherapy-for-advanced-stage-iii-or-iv-epithelial-ovarian-fallopian-tubal-and-peritoneal-cancer?source=see_link, viewed on 05.09.2014.19. Cannistra, S.A., *Cancer of the ovary*. N Engl J Med, 2004. **351**(24): p. 2519-29.

20. Covens, A.L., *A critique of surgical cytoreduction in advanced ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 2000. **78**(3 Pt 1): p. 269-74.
21. Hoskins, W.J., et al., *The effect of diameter of largest residual disease on survival after primary cytoreductive surgery in patients with suboptimal residual epithelial ovarian carcinoma*. *Am J Obstet Gynecol*, 1994. **170**(4): p. 974-9; discussion 979-80.
22. Chi, D.S., et al., *What is the optimal goal of primary cytoreductive surgery for bulky stage IIIc epithelial ovarian carcinoma (EOC)?* *Gynecol Oncol*, 2006. **103**(2): p. 559-64.
23. Winter, W.E., 3rd, et al., *Tumor residual after surgical cytoreduction in prediction of clinical outcome in stage IV epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study*. *J Clin Oncol*, 2008. **26**(1): p. 83-9.
24. Eisenhauer, E.L., et al., *The effect of maximal surgical cytoreduction on sensitivity to platinum-taxane chemotherapy and subsequent survival in patients with advanced ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 2008. **108**(2): p. 276-81.
25. Bristow, R.E., et al., *Delaying the primary surgical effort for advanced ovarian cancer: a systematic review of neoadjuvant chemotherapy and interval cytoreduction*. *Gynecol Oncol*, 2007. **104**(2): p. 480-90.
26. Axtell, A.E., et al., *Multi-institutional reciprocal validation study of computed tomography predictors of suboptimal primary cytoreduction in patients with advanced ovarian cancer*. *J Clin Oncol*, 2007. **25**(4): p. 384-9.
27. Yazdi, G.P., B.W. Miedema, and L.J. Humphrey, *High mortality after abdominal operation in patients with large-volume malignant ascites*. *J Surg Oncol*, 1996. **62**(2): p. 93-6.
28. Bristow, R.E., et al., *Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis*. *J Clin Oncol*, 2002. **20**(5): p. 1248-59.
29. Wimberger, P., et al., *Prognostic factors for complete debulking in advanced ovarian cancer and its impact on survival. An exploratory analysis of a prospectively randomized phase III study of the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group (AGO-OVAR)*. *Gynecol Oncol*, 2007. **106**(1): p. 69-74.
30. Chi, D.S., et al., *Improved optimal cytoreduction rates for stages IIIc and IV epithelial ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer: a change in surgical approach*. *Gynecol Oncol*, 2004. **94**(3): p. 650-4.
31. Redman, C.W., et al., *Intervention debulking surgery in advanced epithelial ovarian cancer*. *Br J Obstet Gynaecol*, 1994. **101**(2): p. 142-6.
32. van der Burg, M.E., et al., *The effect of debulking surgery after induction chemotherapy on the prognosis in advanced epithelial ovarian cancer. Gynecological Cancer Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer*. *N Engl J Med*, 1995. **332**(10): p. 629-34.
33. Rose, P.G., et al., *Secondary surgical cytoreduction for advanced ovarian carcinoma*. *N Engl J Med*, 2004. **351**(24): p. 2489-97.
34. Thomas J Herzog, M.D.K.A., MD, *Adjuvant therapy of early stage (stage I and II) epithelial ovarian, fallopian tubal, or peritoneal cancer*. 2014.
35. Ahmed, F.Y., et al., *Natural history and prognosis of untreated stage I epithelial ovarian carcinoma*. *J Clin Oncol*, 1996. **14**(11): p. 2968-75.

36. Chan, J.K., et al., *Prognostic factors for high-risk early-stage epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study*. *Cancer*, 2008. **112**(10): p. 2202-10.
37. McGuire, W.P., et al., *Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer*. *N Engl J Med*, 1996. **334**(1): p. 1-6.
38. Vasey, P.A., et al., *Phase III randomized trial of docetaxel-carboplatin versus paclitaxel-carboplatin as first-line chemotherapy for ovarian carcinoma*. *J Natl Cancer Inst*, 2004. **96**(22): p. 1682-91.
39. du Bois, A., et al., *A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer*. *J Natl Cancer Inst*, 2003. **95**(17): p. 1320-9.
40. Hogberg, T., B. Glimelius, and P. Nygren, *A systematic overview of chemotherapy effects in ovarian cancer*. *Acta Oncol*, 2001. **40**(2-3): p. 340-60.
41. Aabo, K., et al., *Chemotherapy in advanced ovarian cancer: four systematic meta-analyses of individual patient data from 37 randomized trials*. *Advanced Ovarian Cancer Trialists' Group*. *Br J Cancer*, 1998. **78**(11): p. 1479-87.
42. Stewart, L., *Chemotherapy for advanced ovarian cancer*. *Advanced Ovarian Cancer Trialists Group*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2000(2): p. CD001418.
43. Kyrgiou, M., et al., *Survival benefits with diverse chemotherapy regimens for ovarian cancer: meta-analysis of multiple treatments*. *J Natl Cancer Inst*, 2006. **98**(22): p. 1655-63.
44. du Bois, A., et al., *Addition of epirubicin as a third drug to carboplatin-paclitaxel in first-line treatment of advanced ovarian cancer: a prospectively randomized gynecologic cancer intergroup trial by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group and the Groupe d'Investigateurs Nationaux pour l'Etude des Cancers Ovariens*. *J Clin Oncol*, 2006. **24**(7): p. 1127-35.
45. Bookman, M.A., et al., *Evaluation of new platinum-based treatment regimens in advanced-stage ovarian cancer: a Phase III Trial of the Gynecologic Cancer Intergroup*. *J Clin Oncol*, 2009. **27**(9): p. 1419-25.
46. Alberts, D.S., et al., *Randomized phase 3 trial of interferon gamma-1b plus standard carboplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel alone for first-line treatment of advanced ovarian and primary peritoneal carcinomas: results from a prospectively designed analysis of progression-free survival*. *Gynecol Oncol*, 2008. **109**(2): p. 174-81.
47. Aravantinos, G., et al., *Carboplatin and paclitaxel versus cisplatin, paclitaxel and doxorubicin for first-line chemotherapy of advanced ovarian cancer: a Hellenic Cooperative Oncology Group (HeCOG) study*. *Eur J Cancer*, 2008. **44**(15): p. 2169-77.
48. Bolis, G., et al., *Paclitaxel/carboplatin versus topotecan/paclitaxel/carboplatin in patients with FIGO suboptimally resected stage III-IV epithelial ovarian cancer a multicenter, randomized study*. *Eur J Cancer*, 2010. **46**(16): p. 2905-12.
49. du Bois, A., et al., *Phase III trial of carboplatin plus paclitaxel with or without gemcitabine in first-line treatment of epithelial ovarian cancer*. *J Clin Oncol*, 2010. **28**(27): p. 4162-9.
50. Hoskins, P., et al., *Advanced ovarian cancer: phase III randomized study of sequential cisplatin-topotecan and carboplatin-paclitaxel vs carboplatin-paclitaxel*. *J Natl Cancer Inst*, 2010. **102**(20): p. 1547-56.

51. Katsumata, N., et al., *Long-term results of dose-dense paclitaxel and carboplatin versus conventional paclitaxel and carboplatin for treatment of advanced epithelial ovarian, fallopian tube, or primary peritoneal cancer (JGOG 3016): a randomised, controlled, open-label trial*. *Lancet Oncol*, 2013. **14**(10): p. 1020-6.
52. Katsumata, N., et al., *Dose-dense paclitaxel once a week in combination with carboplatin every 3 weeks for advanced ovarian cancer: a phase 3, open-label, randomised controlled trial*. *Lancet*, 2009. **374**(9698): p. 1331-8.
53. Lengyel, E., *Ovarian cancer development and metastasis*. *Am J Pathol*, 2010. **177**(3): p. 1053-64.
54. Jaaback, K. and N. Johnson, *Intraperitoneal chemotherapy for the initial management of primary epithelial ovarian cancer*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006(1): p. CD005340.
55. Hess, L.M., et al., *A meta-analysis of the efficacy of intraperitoneal cisplatin for the front-line treatment of ovarian cancer*. *Int J Gynecol Cancer*, 2007. **17**(3): p. 561-70.
56. Black, D., et al., *Low risk of complications associated with the fenestrated peritoneal catheter used for intraperitoneal chemotherapy in ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 2008. **109**(1): p. 39-42.
57. Armstrong, D.K., et al., *Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer*. *N Engl J Med*, 2006. **354**(1): p. 34-43.
58. Deraco, M., et al., *Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy as upfront therapy for advanced epithelial ovarian cancer: multi-institutional phase-II trial*. *Gynecol Oncol*, 2011. **122**(2): p. 215-20.
59. Di Giorgio, A., et al., *Cytoreductive surgery (peritonectomy procedures) combined with hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) in the treatment of diffuse peritoneal carcinomatosis from ovarian cancer*. *Cancer*, 2008. **113**(2): p. 315-25.
60. Chua, T.C., et al., *Establishing evidence for change in ovarian cancer surgery--proposing clinical trials of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) in ovarian cancer peritoneal carcinomatosis*. *Gynecol Oncol*, 2009. **115**(1): p. 166-8; author reply 168-9.
61. Brown, M.R., J.O. Blanchette, and E.C. Kohn, *Angiogenesis in ovarian cancer*. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2000. **14**(6): p. 901-18.
62. Burger, R.A., *Overview of anti-angiogenic agents in development for ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 2011. **121**(1): p. 230-8.
63. Ramakrishnan, S., et al., *Angiogenesis in normal and neoplastic ovaries*. *Angiogenesis*, 2005. **8**(2): p. 169-82.
64. Mahner, S., et al., *TIMP-1 and VEGF-165 serum concentration during first-line therapy of ovarian cancer patients*. *BMC Cancer*, 2010. **10**: p. 139.
65. Cooper, B.C., et al., *Preoperative serum vascular endothelial growth factor levels: significance in ovarian cancer*. *Clin Cancer Res*, 2002. **8**(10): p. 3193-7.
66. Gadducci, A., et al., *Serum preoperative vascular endothelial growth factor (VEGF) in epithelial ovarian cancer: relationship with prognostic variables and clinical outcome*. *Anticancer Res*, 1999. **19**(2B): p. 1401-5.
67. Kim, K.J., et al., *Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo*. *Nature*, 1993. **362**(6423): p. 841-4.

68. Presta, L.G., et al., *Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders*. *Cancer Res*, 1997. **57**(20): p. 4593-9.
69. European Medicines Agency, *Summary of opinion1 (post authorisation) - Avastin*. 2014.
70. Burger, R.A., et al., *Phase II trial of bevacizumab in persistent or recurrent epithelial ovarian cancer or primary peritoneal cancer: a Gynecologic Oncology Group Study*. *J Clin Oncol*, 2007. **25**(33): p. 5165-71.
71. Garcia, A.A., et al., *Phase II clinical trial of bevacizumab and low-dose metronomic oral cyclophosphamide in recurrent ovarian cancer: a trial of the California, Chicago, and Princess Margaret Hospital phase II consortia*. *J Clin Oncol*, 2008. **26**(1): p. 76-82.
72. Nimeiri, H.S., et al., *Efficacy and safety of bevacizumab plus erlotinib for patients with recurrent ovarian, primary peritoneal, and fallopian tube cancer: a trial of the Chicago, PMH, and California Phase II Consortia*. *Gynecol Oncol*, 2008. **110**(1): p. 49-55.
73. Cohn, D.E., et al., *At what cost does a potential survival advantage of bevacizumab make sense for the primary treatment of ovarian cancer? A cost-effectiveness analysis*. *J Clin Oncol*, 2011. **29**(10): p. 1247-51.
74. Perren, T.J., et al., *A phase 3 trial of bevacizumab in ovarian cancer*. *N Engl J Med*, 2011. **365**(26): p. 2484-96.
75. Apte, S.M., et al., *Targeting the platelet-derived growth factor receptor in antivascular therapy for human ovarian carcinoma*. *Clin Cancer Res*, 2004. **10**(3): p. 897-908.
76. Lu, C., et al., *Impact of vessel maturation on antiangiogenic therapy in ovarian cancer*. *Am J Obstet Gynecol*, 2008. **198**(4): p. 477 e1-9; discussion 477 e9-10.
77. Matei, D., et al., *Autocrine activation of PDGFRalpha promotes the progression of ovarian cancer*. *Oncogene*, 2006. **25**(14): p. 2060-9.
78. Erber, R., et al., *Combined inhibition of VEGF and PDGF signaling enforces tumor vessel regression by interfering with pericyte-mediated endothelial cell survival mechanisms*. *FASEB J*, 2004. **18**(2): p. 338-40.
79. Steele, I.A., et al., *Induction of FGF receptor 2-IIIb expression and response to its ligands in epithelial ovarian cancer*. *Oncogene*, 2001. **20**(41): p. 5878-87.
80. Bergers, G. and D. Hanahan, *Modes of resistance to anti-angiogenic therapy*. *Nat Rev Cancer*, 2008. **8**(8): p. 592-603.
81. Laschke, M.W., et al., *Combined inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF), fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor, but not inhibition of VEGF alone, effectively suppresses angiogenesis and vessel maturation in endometriotic lesions*. *Hum Reprod*, 2006. **21**(1): p. 262-8.
82. Lu, C., et al., *Dual targeting of endothelial cells and pericytes in antivascular therapy for ovarian carcinoma*. *Clin Cancer Res*, 2007. **13**(14): p. 4209-17.
83. Robert L Coleman, M.P.S., MD, *Medical treatment for relapsed epithelial ovarian, fallopian tubal, or peritoneal cancer: Platinum-sensitive disease*. 2014.
84. Markman, M., et al., *Second-line platinum therapy in patients with ovarian cancer previously treated with cisplatin*. *J Clin Oncol*, 1991. **9**(3): p. 389-93.
85. Rose, P.G., et al., *Prolonged oral etoposide as second-line therapy for platinum-resistant and platinum-sensitive ovarian carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study*. *J Clin Oncol*, 1998. **16**(2): p. 405-10.

86. Hoekstra, A.V., et al., *The combination of monthly carboplatin and weekly paclitaxel is highly active for the treatment of recurrent ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 2009. **115**(3): p. 377-81.
87. Parmar, M.K., et al., *Paclitaxel plus platinum-based chemotherapy versus conventional platinum-based chemotherapy in women with relapsed ovarian cancer: the ICON4/AGO-OVAR-2.2 trial*. *Lancet*, 2003. **361**(9375): p. 2099-106.
88. Pfisterer, J., et al., *Gemcitabine plus carboplatin compared with carboplatin in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer: an intergroup trial of the AGO-OVAR, the NCIC CTG, and the EORTC GCG*. *J Clin Oncol*, 2006. **24**(29): p. 4699-707.
89. Pujade-Lauraine, E., et al., *Pegylated liposomal Doxorubicin and Carboplatin compared with Paclitaxel and Carboplatin for patients with platinum-sensitive ovarian cancer in late relapse*. *J Clin Oncol*, 2010. **28**(20): p. 3323-9.
90. Joly, F., et al., *Decreased hypersensitivity reactions with carboplatin-pegylated liposomal doxorubicin compared to carboplatin-paclitaxel combination: analysis from the GCG CALYPSO relapsing ovarian cancer trial*. *Gynecol Oncol*, 2011. **122**(2): p. 226-32.
91. Rose, P.G., et al., *Second-line therapy with paclitaxel and carboplatin for recurrent disease following first-line therapy with paclitaxel and platinum in ovarian or peritoneal carcinoma*. *J Clin Oncol*, 1998. **16**(4): p. 1494-7.
92. Gordon, A.N., et al., *Recurrent epithelial ovarian carcinoma: a randomized phase III study of pegylated liposomal doxorubicin versus topotecan*. *J Clin Oncol*, 2001. **19**(14): p. 3312-22.
93. Ferrandina, G., et al., *Phase III trial of gemcitabine compared with pegylated liposomal doxorubicin in progressive or recurrent ovarian cancer*. *J Clin Oncol*, 2008. **26**(6): p. 890-6.
94. Krasner, C.N., et al., *A Phase II study of trabectedin single agent in patients with recurrent ovarian cancer previously treated with platinum-based regimens*. *Br J Cancer*, 2007. **97**(12): p. 1618-24.
95. Teneriello, M.G., et al., *Phase II evaluation of nanoparticle albumin-bound paclitaxel in platinum-sensitive patients with recurrent ovarian, peritoneal, or fallopian tube cancer*. *J Clin Oncol*, 2009. **27**(9): p. 1426-31.
96. Markman, M., et al., *Duration of response to second-line, platinum-based chemotherapy for ovarian cancer: implications for patient management and clinical trial design*. *J Clin Oncol*, 2004. **22**(15): p. 3120-5.
97. Ledermann JA, P.T., Raja FA, et al. , *Randomised double-blinded phase III trial of cediranib (AZD 2171) in relapsed platinum-sensitive ovarian cancer: Results of the ICON 6 trial*. Late Breaking Abstract. Presented at the European Cancer Congress, Amsterdam, 2013, 2013.
98. Aghajanian, C., et al., *OCEANS: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent epithelial ovarian, primary peritoneal, or fallopian tube cancer*. *J Clin Oncol*, 2012. **30**(17): p. 2039-45.
99. Ledermann, J., et al., *Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer*. *N Engl J Med*, 2012. **366**(15): p. 1382-92.

100. Munkarah, A.R. and R.L. Coleman, *Critical evaluation of secondary cytoreduction in recurrent ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 2004. **95**(2): p. 273-80.
101. Gungor, M., et al., *The role of secondary cytoreductive surgery for recurrent ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 2005. **97**(1): p. 74-9.
102. Onda, T., et al., *Secondary cytoreductive surgery for recurrent epithelial ovarian carcinoma: proposal for patients selection*. *Br J Cancer*, 2005. **92**(6): p. 1026-32.
103. Berek, J.S., C. Trope, and I. Vergote, *Surgery during chemotherapy and at relapse of ovarian cancer*. *Ann Oncol*, 1999. **10 Suppl 1**: p. 3-7.
104. Salani, R., et al., *Secondary cytoreductive surgery for localized, recurrent epithelial ovarian cancer: analysis of prognostic factors and survival outcome*. *Cancer*, 2007. **109**(4): p. 685-91.
105. Shih, K.K. and D.S. Chi, *Maximal cytoreductive effort in epithelial ovarian cancer surgery*. *J Gynecol Oncol*, 2010. **21**(2): p. 75-80.
106. Michael J Birrer, M., PhD, *Medical treatment for relapsed epithelial ovarian, fallopian tubal, or peritoneal cancer: Platinum-resistant disease*. http://www.uptodate.com/contents/medical-treatment-for-relapsed-epithelial-ovarian-fallopian-tubal-or-peritoneal-cancer-platinum-resistant-disease?source=search_result&search=relapsed+ovarian+cancer&selectedTitle=2~19, viewed on 05.09.2014.
107. Seewaldt, V.L., et al., *Paclitaxel (Taxol) treatment for refractory ovarian cancer: phase II clinical trial*. *Am J Obstet Gynecol*, 1994. **170**(6): p. 1666-70; discussion 1670-1.
108. Gore, M.E., et al., *Paclitaxel (Taxol) in relapsed and refractory ovarian cancer: the UK and Eire experience*. *Br J Cancer*, 1995. **72**(4): p. 1016-9.
109. Bruzzone, M., et al., *Salvage chemotherapy with paclitaxel in platinum-resistant advanced ovarian cancer patients*. *Oncology*, 1996. **53**(5): p. 349-53.
110. Ezcurdia, L., et al., *Paclitaxel in platinum-resistant ovarian cancer patients. Argentine Multicenter Taxol Group*. *Semin Oncol*, 1997. **24**(5 Suppl 15): p. S15-53-S15-56.
111. Rustin, G.J., *Follow-up with CA125 after primary therapy of advanced ovarian cancer has major implications for treatment outcome and trial performances and should not be routinely performed*. *Ann Oncol*, 2011. **22 Suppl 8**: p. viii45-viii48.
112. Fleming, N.D., et al., *CA125 surveillance increases optimal resectability at secondary cytoreductive surgery for recurrent epithelial ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 2011. **121**(2): p. 249-52.
113. Heintz, A.P., et al., *Carcinoma of the ovary*. *J Epidemiol Biostat*, 2001. **6**(1): p. 107-38.
114. Lee K, T.F., Prat J, et al., *Tumors of the ovary and peritoneum*. . World Health Organization classification of tumours: Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs, 2003. **IARC Press**: p. 117.
115. Singer, G., et al., *Patterns of p53 mutations separate ovarian serous borderline tumors and low- and high-grade carcinomas and provide support for a new model of ovarian carcinogenesis: a mutational analysis with immunohistochemical correlation*. *Am J Surg Pathol*, 2005. **29**(2): p. 218-24.
116. Kobel, M., et al., *Differences in tumor type in low-stage versus high-stage ovarian carcinomas*. *Int J Gynecol Pathol*, 2010. **29**(3): p. 203-11.
117. Kurman, R.J., *Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma*. *Ann Oncol*, 2013. **24 Suppl 10**: p. x16-21.

118. Kurman RJ, E.L., Ronnett RM., *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract, 6th ed.* 2011(Springer, New York 2011.).
119. Kurman, R.J. and M. Shih le, *The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory.* Am J Surg Pathol, 2010. **34**(3): p. 433-43.
120. Hennessy, B.T., et al., *Somatic mutations in BRCA1 and BRCA2 could expand the number of patients that benefit from poly (ADP ribose) polymerase inhibitors in ovarian cancer.* J Clin Oncol, 2010. **28**(22): p. 3570-6.
121. Gershenson, D.M., et al., *Clinical behavior of stage II-IV low-grade serous carcinoma of the ovary.* Obstet Gynecol, 2006. **108**(2): p. 361-8.
122. Gershenson, D.M., et al., *Recurrent low-grade serous ovarian carcinoma is relatively chemoresistant.* Gynecol Oncol, 2009. **114**(1): p. 48-52.
123. Malpica, A., et al., *Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system.* Am J Surg Pathol, 2004. **28**(4): p. 496-504.
124. Singer, G., et al., *Mutations in BRAF and KRAS characterize the development of low-grade ovarian serous carcinoma.* J Natl Cancer Inst, 2003. **95**(6): p. 484-6.
125. Bonome, T., et al., *Expression profiling of serous low malignant potential, low-grade, and high-grade tumors of the ovary.* Cancer Res, 2005. **65**(22): p. 10602-12.
126. Bodurka, D.C., et al., *Reclassification of serous ovarian carcinoma by a 2-tier system: a Gynecologic Oncology Group Study.* Cancer, 2012. **118**(12): p. 3087-94.
127. Seidman, J.D. and R.J. Kurman, *Pathology of ovarian carcinoma.* Hematol Oncol Clin North Am, 2003. **17**(4): p. 909-25, vii.
128. Seidman, J.D., et al., *The histologic type and stage distribution of ovarian carcinomas of surface epithelial origin.* Int J Gynecol Pathol, 2004. **23**(1): p. 41-4.
129. Tothill, R.W., et al., *Novel molecular subtypes of serous and endometrioid ovarian cancer linked to clinical outcome.* Clin Cancer Res, 2008. **14**(16): p. 5198-208.
130. Karseladze, A.I., *[WHO histological classification of ovarian tumors. Geneva, 1999 (R.E.Scully, L.H.Sobin)].* Arkh Patol, 2005. **Suppl**: p. 1-64.
131. Catasus, L., et al., *Molecular genetic alterations in endometrioid carcinomas of the ovary: similar frequency of beta-catenin abnormalities but lower rate of microsatellite instability and PTEN alterations than in uterine endometrioid carcinomas.* Hum Pathol, 2004. **35**(11): p. 1360-8.
132. Obata, K., et al., *Frequent PTEN/MMAC mutations in endometrioid but not serous or mucinous epithelial ovarian tumors.* Cancer Res, 1998. **58**(10): p. 2095-7.
133. Palacios, J. and C. Gamallo, *Mutations in the beta-catenin gene (CTNNB1) in endometrioid ovarian carcinomas.* Cancer Res, 1998. **58**(7): p. 1344-7.
134. Brucka, A. and K. Szylo, *Immunoexpression of the PTEN protein and matrix metalloproteinase-2 in endometrial cysts, endometrioid and clear cell ovarian cancer.* Ginekol Pol, 2013. **84**(5): p. 344-51.
135. Gras, E., et al., *Microsatellite instability, MLH-1 promoter hypermethylation, and frameshift mutations at coding mononucleotide repeat microsatellites in ovarian tumors.* Cancer, 2001. **92**(11): p. 2829-36.
136. Goff, B.A., et al., *Clear cell carcinoma of the ovary: a distinct histologic type with poor prognosis and resistance to platinum-based chemotherapy in stage III disease.* Gynecol Oncol, 1996. **60**(3): p. 412-7.

137. Tan, D.S. and S. Kaye, *Ovarian clear cell adenocarcinoma: a continuing enigma*. J Clin Pathol, 2007. **60**(4): p. 355-60.
138. Lee, S., et al., *Over-expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha in ovarian clear cell carcinoma*. Gynecol Oncol, 2007. **106**(2): p. 311-7.
139. Stadlmann, S., et al., *Glypican-3 expression in primary and recurrent ovarian carcinomas*. Int J Gynecol Pathol, 2007. **26**(3): p. 341-4.
140. Kato, N., S. Sasou, and T. Motoyama, *Expression of hepatocyte nuclear factor-1beta (HNF-1beta) in clear cell tumors and endometriosis of the ovary*. Mod Pathol, 2006. **19**(1): p. 83-9.
141. Sato, N., et al., *Loss of heterozygosity on 10q23.3 and mutation of the tumor suppressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: possible sequence progression from benign endometrial cyst to endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary*. Cancer Res, 2000. **60**(24): p. 7052-6.
142. Kuo, K.T., et al., *Frequent activating mutations of PIK3CA in ovarian clear cell carcinoma*. Am J Pathol, 2009. **174**(5): p. 1597-601.
143. Wiegand, K.C., et al., *ARID1A mutations in endometriosis-associated ovarian carcinomas*. N Engl J Med, 2010. **363**(16): p. 1532-43.
144. Cai, K.Q., et al., *Microsatellite instability and alteration of the expression of hMLH1 and hMSH2 in ovarian clear cell carcinoma*. Hum Pathol, 2004. **35**(5): p. 552-9.
145. Riopel, M.A., B.M. Ronnett, and R.J. Kurman, *Evaluation of diagnostic criteria and behavior of ovarian intestinal-type mucinous tumors: atypical proliferative (borderline) tumors and intraepithelial, microinvasive, invasive, and metastatic carcinomas*. Am J Surg Pathol, 1999. **23**(6): p. 617-35.
146. Hart, W.R. and H.J. Norris, *Borderline and malignant mucinous tumors of the ovary. Histologic criteria and clinical behavior*. Cancer, 1973. **31**(5): p. 1031-45.
147. de Nictolis, M., et al., *Benign, borderline, and well-differentiated malignant intestinal mucinous tumors of the ovary: a clinicopathologic, histochemical, immunohistochemical, and nuclear quantitative study of 57 cases*. Int J Gynecol Pathol, 1994. **13**(1): p. 10-21.
148. Young, R.C., *Advances in the management of early stage ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 1991. **43**(3): p. 193-4.
149. Vang, R., et al., *Immunohistochemical expression of CDX2 in primary ovarian mucinous tumors and metastatic mucinous carcinomas involving the ovary: comparison with CK20 and correlation with coordinate expression of CK7*. Mod Pathol, 2006. **19**(11): p. 1421-8.
150. Baker, P.M. and E. Oliva, *Immunohistochemistry as a tool in the differential diagnosis of ovarian tumors: an update*. Int J Gynecol Pathol, 2005. **24**(1): p. 39-55.
151. Kurman, R.J. and M. Shih le, *Pathogenesis of ovarian cancer: lessons from morphology and molecular biology and their clinical implications*. Int J Gynecol Pathol, 2008. **27**(2): p. 151-60.
152. Seidman, J.D. and R.J. Kurman, *Ovarian serous borderline tumors: a critical review of the literature with emphasis on prognostic indicators*. Hum Pathol, 2000. **31**(5): p. 539-57.
153. Nowak-Markwitz, E. and M. Spaczynski, *[Ovarian cancer--modern approach to its origin and histogenesis]*. Ginekol Pol, 2012. **83**(6): p. 454-7.

154. Hutson, R., J. Ramsdale, and M. Wells, *p53 protein expression in putative precursor lesions of epithelial ovarian cancer*. *Histopathology*, 1995. **27**(4): p. 367-71.
155. Oral, E., et al., *Prevalence of endometriosis in malignant epithelial ovary tumours*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2003. **109**(1): p. 97-101.
156. Sedlis, A., *Primary carcinoma of the fallopian tube*. *Obstet Gynecol Surv*, 1961. **16**: p. 209-26.
157. Yoonessi, M., *Carcinoma of the fallopian tube*. *Obstet Gynecol Surv*, 1979. **34**(4): p. 257-70.
158. Colgan, T.J., et al., *Occult carcinoma in prophylactic oophorectomy specimens: prevalence and association with BRCA germline mutation status*. *Am J Surg Pathol*, 2001. **25**(10): p. 1283-9.
159. Finch, A., et al., *Clinical and pathologic findings of prophylactic salpingo-oophorectomies in 159 BRCA1 and BRCA2 carriers*. *Gynecol Oncol*, 2006. **100**(1): p. 58-64.
160. Leeper, K., et al., *Pathologic findings in prophylactic oophorectomy specimens in high-risk women*. *Gynecol Oncol*, 2002. **87**(1): p. 52-6.
161. Powell, C.B., et al., *Risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA mutation carriers: role of serial sectioning in the detection of occult malignancy*. *J Clin Oncol*, 2005. **23**(1): p. 127-32.
162. Tone, A.A., et al., *Gene expression profiles of luteal phase fallopian tube epithelium from BRCA mutation carriers resemble high-grade serous carcinoma*. *Clin Cancer Res*, 2008. **14**(13): p. 4067-78.
163. Kindelberger, D.W., et al., *Intraepithelial carcinoma of the fimbria and pelvic serous carcinoma: Evidence for a causal relationship*. *Am J Surg Pathol*, 2007. **31**(2): p. 161-9.
164. Kuhn, E., et al., *TP53 mutations in serous tubal intraepithelial carcinoma and concurrent pelvic high-grade serous carcinoma--evidence supporting the clonal relationship of the two lesions*. *J Pathol*, 2012. **226**(3): p. 421-6.
165. Pothuri, B., et al., *Genetic analysis of the early natural history of epithelial ovarian carcinoma*. *PLoS One*, 2010. **5**(4): p. e10358.
166. Dehari, R., et al., *The development of high-grade serous carcinoma from atypical proliferative (borderline) serous tumors and low-grade micropapillary serous carcinoma: a morphologic and molecular genetic analysis*. *Am J Surg Pathol*, 2007. **31**(7): p. 1007-12.
167. Mayr, D., et al., *KRAS and BRAF mutations in ovarian tumors: a comprehensive study of invasive carcinomas, borderline tumors and extraovarian implants*. *Gynecol Oncol*, 2006. **103**(3): p. 883-7.
168. Taylor, H.S., G.B. Vanden Heuvel, and P. Igarashi, *A conserved Hox axis in the mouse and human female reproductive system: late establishment and persistent adult expression of the Hoxa cluster genes*. *Biol Reprod*, 1997. **57**(6): p. 1338-45.
169. Cheng, W., et al., *Lineage infidelity of epithelial ovarian cancers is controlled by HOX genes that specify regional identity in the reproductive tract*. *Nat Med*, 2005. **11**(5): p. 531-7.
170. Barnholtz-Sloan, J.S., et al., *Ovarian cancer: changes in patterns at diagnosis and relative survival over the last three decades*. *Am J Obstet Gynecol*, 2003. **189**(4): p. 1120-7.

171. Wilson JM, *Principles and Practice of Screening for Disease*. WHO, 1968.
172. Buys, S.S., et al., *Effect of screening on ovarian cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Randomized Controlled Trial*. JAMA, 2011. **305**(22): p. 2295-303.
173. Jacobs, I., *Genetic, biochemical, and multimodal approaches to screening for ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 1994. **55**(3 Pt 2): p. S22-7.
174. Rosenthal, A.N., U. Menon, and I.J. Jacobs, *Screening for ovarian cancer*. Clin Obstet Gynecol, 2006. **49**(3): p. 433-47.
175. Moore, R.G., S. MacLaughlan, and R.C. Bast, Jr., *Current state of biomarker development for clinical application in epithelial ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 2010. **116**(2): p. 240-5.
176. Kenemans, P., et al., *Heterologous double-determinant immunoradiometric assay CA 125 II: reliable second-generation immunoassay for determining CA 125 in serum*. Clin Chem, 1993. **39**(12): p. 2509-13.
177. Eltabbakh, G.H., et al., *Comparison between Centcor CA 125 and CA 125 II assays*. Eur J Gynaecol Oncol, 1996. **17**(6): p. 504-6.
178. Grover, S., et al., *The effect of the menstrual cycle on serum CA 125 levels: a population study*. Am J Obstet Gynecol, 1992. **167**(5): p. 1379-81.
179. Carlson, K.J., S.J. Skates, and D.E. Singer, *Screening for ovarian cancer*. Ann Intern Med, 1994. **121**(2): p. 124-32.
180. Bast, R.C., Jr., et al., *A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer*. N Engl J Med, 1983. **309**(15): p. 883-7.
181. Mol, B.W., et al., *The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis*. Fertil Steril, 1998. **70**(6): p. 1101-8.
182. Zuckerman, E., et al., *Cancer antigen 125: a sensitive marker of ascites in patients with liver cirrhosis*. Am J Gastroenterol, 1999. **94**(6): p. 1613-8.
183. Devarbhavi, H., et al., *Cancer antigen 125 in patients with chronic liver disease*. Mayo Clin Proc, 2002. **77**(6): p. 538-41.
184. Sjovall, K., B. Nilsson, and N. Einhorn, *The significance of serum CA 125 elevation in malignant and nonmalignant diseases*. Gynecol Oncol, 2002. **85**(1): p. 175-8.
185. Topalak, O., et al., *Serum, pleural effusion, and ascites CA-125 levels in ovarian cancer and nonovarian benign and malignant diseases: a comparative study*. Gynecol Oncol, 2002. **85**(1): p. 108-13.
186. Johnson, C.C., et al., *The epidemiology of CA-125 in women without evidence of ovarian cancer in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer (PLCO) Screening Trial*. Gynecol Oncol, 2008. **110**(3): p. 383-9.
187. Jacobs, I.J., et al., *Risk of diagnosis of ovarian cancer after raised serum CA 125 concentration: a prospective cohort study*. BMJ, 1996. **313**(7069): p. 1355-8.
188. Einhorn, N., et al., *Prospective evaluation of serum CA 125 levels for early detection of ovarian cancer*. Obstet Gynecol, 1992. **80**(1): p. 14-8.
189. Jacobs, I., et al., *Prevalence screening for ovarian cancer in postmenopausal women by CA 125 measurement and ultrasonography*. BMJ, 1993. **306**(6884): p. 1030-4.
190. Prorok, P.C., et al., *Design of the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial*. Control Clin Trials, 2000. **21**(6 Suppl): p. 273S-309S.

191. Skates, S.J., et al., *Calculation of the risk of ovarian cancer from serial CA-125 values for preclinical detection in postmenopausal women*. J Clin Oncol, 2003. **21**(10 Suppl): p. 206s-210s.
192. Menon, U., et al., *Prospective study using the risk of ovarian cancer algorithm to screen for ovarian cancer*. J Clin Oncol, 2005. **23**(31): p. 7919-26.
193. Clarke-Pearson, D.L., *Clinical practice. Screening for ovarian cancer*. N Engl J Med, 2009. **361**(2): p. 170-7.
194. Shah, C.A., et al., *Influence of ovarian cancer risk status on the diagnostic performance of the serum biomarkers mesothelin, HE4, and CA125*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2009. **18**(5): p. 1365-72.
195. Moore, R.G., 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. 40-6.
196. Yurkovetsky, Z., et al., *Development of a multimarker assay for early detection of ovarian cancer*. J Clin Oncol, 2010. **28**(13): p. 2159-66.
197. FDA, 2008. <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/08/briefing/220028-4403b1-02-Proposed%20HE4%20EIA%20Package%20Insert%20%20.pdf> (Accessed on August 20, 2012).
198. FDA, *ROMA FDA Decision Summary*. 2011. http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K103358.pdf. viewed on 05.09.2014
199. Andersen, M.R., et al., *Combining a symptoms index with CA 125 to improve detection of ovarian cancer*. Cancer, 2008. **113**(3): p. 484-9.
200. Kinkel, K., et al., *US characterization of ovarian masses: a meta-analysis*. Radiology, 2000. **217**(3): p. 803-11.
201. Fishman, D.A., et al., *The role of ultrasound evaluation in the detection of early-stage epithelial ovarian cancer*. Am J Obstet Gynecol, 2005. **192**(4): p. 1214-21; discussion 1221-2.
202. van Nagell, J.R., Jr., et al., *Long-term survival of women with epithelial ovarian cancer detected by ultrasonographic screening*. Obstet Gynecol, 2011. **118**(6): p. 1212-21.
203. Menon, U., et al., *Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS)*. Lancet Oncol, 2009. **10**(4): p. 327-40.
204. Kobayashi, H., et al., *A randomized study of screening for ovarian cancer: a multicenter study in Japan*. Int J Gynecol Cancer, 2008. **18**(3): p. 414-20.
205. Jacobs, I.J., et al., *Screening for ovarian cancer: a pilot randomised controlled trial*. Lancet, 1999. **353**(9160): p. 1207-10.
206. Rosenthal, A.N., et al., *Results of annual screening in phase I of the United Kingdom familial ovarian cancer screening study highlight the need for strict adherence to screening schedule*. J Clin Oncol, 2013. **31**(1): p. 49-57.
207. Hermsen, B.B., et al., *No efficacy of annual gynaecological screening in BRCA1/2 mutation carriers; an observational follow-up study*. Br J Cancer, 2007. **96**(9): p. 1335-42.

208. FDA, *Decision on approval of HE4 for medical use*. 2006 http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K042731.pdf (Accessed on August 20, 2012).
209. ACOG Practice Bulletin No. 103: *Hereditary breast and ovarian cancer syndrome*. Obstet Gynecol, 2009. **113**(4): p. 957-66.
210. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). *NCCN Clinical practice guidelines in oncology*. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp (Accessed on April 01, 2014).
211. Muto, M., *Management of an adnexal mass*. 2014. http://www.uptodate.com/contents/management-of-an-adnexal-mass?source=search_result&search=adnexal+mass&selectedTitle=2~117, viewed on 05.09.2014
212. Drapkin, R., 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. 2162-9.
213. Kim, J.H., et al., *Osteopontin as a potential diagnostic biomarker for ovarian cancer*. JAMA, 2002. **287**(13): p. 1671-9.
214. Hassan, R., et al., *Detection and quantitation of serum mesothelin, a tumor marker for patients with mesothelioma and ovarian cancer*. Clin Cancer Res, 2006. **12**(2): p. 447-53.
215. Zhao, C., et al., *Circulating haptoglobin is an independent prognostic factor in the sera of patients with epithelial ovarian cancer*. Neoplasia, 2007. **9**(1): p. 1-7.
216. Moore, L.E., et al., *Evaluation of apolipoprotein A1 and posttranslationally modified forms of transthyretin as biomarkers for ovarian cancer detection in an independent study population*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2006. **15**(9): p. 1641-6.
217. Jacobs, I., et al., *A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound and menopausal status for the accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer*. Br J Obstet Gynaecol, 1990. **97**(10): p. 922-9.
218. Myers, E.R., et al., *Management of adnexal mass*. Evid Rep Technol Assess (Full Rep), 2006(130): p. 1-145.
219. Valentin, L., et al., *Ultrasound characteristics of different types of adnexal malignancies*. Gynecol Oncol, 2006. **102**(1): p. 41-8.
220. Brown, D.L., et al., *Benign and malignant ovarian masses: selection of the most discriminating gray-scale and Doppler sonographic features*. Radiology, 1998. **208**(1): p. 103-10.
221. Buy, J.N., et al., *Characterization of adnexal masses: combination of color Doppler and conventional sonography compared with spectral Doppler analysis alone and conventional sonography alone*. AJR Am J Roentgenol, 1996. **166**(2): p. 385-93.
222. Hata, K. and T. Hata, *Intratumoral blood flow analysis in ovarian cancer: what does it mean?* J Ultrasound Med, 1996. **15**(8): p. 571-5.
223. Sladkevicius, P., L. Valentin, and K. Marsal, *Transvaginal Doppler examination for the differential diagnosis of solid pelvic tumors*. J Ultrasound Med, 1995. **14**(5): p. 377-80.
224. Szczyblewski, P., et al., *[Assessment of ultrasonography markers and CA125 usefulness in the diagnosis of ovarian cysts]*. Ginekol Pol, 2008. **79**(12): p. 856-61.

225. Levine, D., et al., *Management of asymptomatic ovarian and other adnexal cysts imaged at US: Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference Statement*. Radiology, 2010. **256**(3): p. 943-54.
226. Patel, M.D., et al., *Cystic teratomas of the ovary: diagnostic value of sonography*. AJR Am J Roentgenol, 1998. **171**(4): p. 1061-5.
227. Patel, M.D., et al., *Endometriomas: diagnostic performance of US*. Radiology, 1999. **210**(3): p. 739-45.
228. Douglas L Brown, M., *Sonographic differentiation of benign versus malignant adnexal masses*. 2014.
229. Valentin, L., *Pattern recognition of pelvic masses by gray-scale ultrasound imaging: the contribution of Doppler ultrasound*. Ultrasound Obstet Gynecol, 1999. **14**(5): p. 338-47.
230. Fleischer, A.C., et al., *Advances in sonographic detection of ovarian cancer: depiction of tumor neovascularity with microbubbles*. AJR Am J Roentgenol, 2010. **194**(2): p. 343-8.
231. Li, U.F.R.A.J., *Serum biomarkers for evaluation of an adnexal mass for epithelial carcinoma of the ovary, fallopian tube, or peritoneum*. 2014.
232. Ortiz-Munoz, B., et al., *HE4, Ca125 and ROMA algorithm for differential diagnosis between benign gynaecological diseases and ovarian cancer*. Tumour Biol, 2014. **35**(7): p. 7249-58.
233. Anastasi, E., et al., *The use of HE4, CA125 and CA72-4 biomarkers for differential diagnosis between ovarian endometrioma and epithelial ovarian cancer*. J Ovarian Res, 2013. **6**(1): p. 44.
234. Schenken, R.S., *Pathogenesis, clinical features, and diagnosis of endometriosis*. 2014.
235. Park, Y., et al., *Diagnostic performances of HE4 and CA125 for the detection of ovarian cancer from patients with various gynecologic and non-gynecologic diseases*. Clin Biochem, 2011. **44**(10-11): p. 884-8.
236. Dueholm, M., et al., *Accuracy of magnetic resonance imaging and transvaginal ultrasonography in the diagnosis, mapping, and measurement of uterine myomas*. Am J Obstet Gynecol, 2002. **186**(3): p. 409-15.
237. Dodge, J.E., et al., *Preoperative identification of a suspicious adnexal mass: a systematic review and meta-analysis*. Gynecol Oncol, 2012. **126**(1): p. 157-66.
238. Jacobs, I. and R.C. Bast, Jr., *The CA 125 tumour-associated antigen: a review of the literature*. Hum Reprod, 1989. **4**(1): p. 1-12.
239. Im, S.S., et al., *Validation of referral guidelines for women with pelvic masses*. Obstet Gynecol, 2005. **105**(1): p. 35-41.
240. *Committee Opinion No. 477: the role of the obstetrician-gynecologist in the early detection of epithelial ovarian cancer*. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice. Obstet Gynecol. 2011;**117**(3):742. 2011.
241. Li, F., et al., *Does risk for ovarian malignancy algorithm excel human epididymis protein 4 and CA125 in predicting epithelial ovarian cancer: a meta-analysis*. BMC Cancer, 2012. **12**: p. 258.
242. Sandri, M.T., 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. 233-8.

243. Van Gorp, T., et al., *HE4 and CA125 as a diagnostic test in ovarian cancer: prospective validation of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm*. Br J Cancer, 2011. **104**(5): p. 863-70.
244. Ueland, F.R., et al., *Effectiveness of a multivariate index assay in the preoperative assessment of ovarian tumors*. Obstet Gynecol, 2011. **117**(6): p. 1289-97.
245. Geomini, P., et al., *The accuracy of risk scores in predicting ovarian malignancy: a systematic review*. Obstet Gynecol, 2009. **113**(2 Pt 1): p. 384-94.
246. Myers ER, B.L., Havrilesky LJ, et al., *Management of Adnexal Mass. Evidence Report/Technology Assessment No.130*. Agency for Healthcare Research and Quality, Rockville, 2006.
247. FDA, 2012. http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K042731.pdf (Accessed on August 20, 2012).
248. Karen J Carlson, M., *Screening for ovarian cancer*. 2014. http://www.uptodate.com/contents/screening-for-ovarian-cancer?source=search_result&search=ovarian+cancer+biomarkers+screening&selectedTitle=1~150#H26, viewed on 05.09.2014
249. Duffy, M.J., et al., *CA125 in ovarian cancer: European Group on Tumor Markers guidelines for clinical use*. Int J Gynecol Cancer, 2005. **15**(5): p. 679-91.
250. Deshpande, N., et al., *Tumor angiogenic marker expression levels during tumor growth: longitudinal assessment with molecularly targeted microbubbles and US imaging*. Radiology, 2011. **258**(3): p. 804-11.
251. McAlpine, J.N., et al., *Autofluorescence imaging can identify preinvasive or clinically occult lesions in fallopian tube epithelium: a promising step towards screening and early detection*. Gynecol Oncol, 2011. **120**(3): p. 385-92.
252. Kinde, I., et al., *Evaluation of DNA from the Papanicolaou test to detect ovarian and endometrial cancers*. Sci Transl Med, 2013. **5**(167): p. 167ra4.
253. Anttila, A., et al., *Barriers in cervical cancer screening programs in new European Union member states*. Tumori, 2010. **96**(4): p. 515-6.
254. Bartel, D.P., *MicroRNAs: target recognition and regulatory functions*. Cell, 2009. **136**(2): p. 215-33.
255. Adams, B.D., A.L. Kasinski, and F.J. Slack, *Aberrant Regulation and Function of MicroRNAs in Cancer*. Curr Biol, 2014. **24**(16): p. R762-R776.
256. Hausler, S.F., et al., *Whole blood-derived miRNA profiles as potential new tools for ovarian cancer screening*. Br J Cancer, 2010. **103**(5): p. 693-700.
257. Taylor, D.D. and C. Gercel-Taylor, *MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 2008. **110**(1): p. 13-21.
258. Resnick, K.E., et al., *The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform*. Gynecol Oncol, 2009. **112**(1): p. 55-9.
259. Yang, H., et al., *MicroRNA expression profiling in human ovarian cancer: miR-214 induces cell survival and cisplatin resistance by targeting PTEN*. Cancer Res, 2008. **68**(2): p. 425-33.
260. Zhu, H.L., et al., *[Classification tree analysis in serous ovarian adenocarcinoma patients for prognostic factors associated with three-year survival probability]*. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 2008. **43**(3): p. 201-4.

261. Martignetti, J.A., et al., *Personalized ovarian cancer disease surveillance and detection of candidate therapeutic drug target in circulating tumor DNA*. *Neoplasia*, 2014. **16**(1): p. 97-103.