

BADANIA NAD WYSTĘPOWANIEM PRZECIWCIAŁ
ONKONEURONALNYCH I ANTYNEURONALNYCH U
CHORYCH Z NOWOTWORAMI JAJNIKA

The evaluation of frequency of onconeural and antineuronal
antibodies in patients with ovarian tumors.

Promotor: dr hab. n. med. Dariusz Szpurek

Lekarz medycyny Joanna Krygowska-Zielińska

Klinika Ginekologii Operacyjnej

Oddział Ginekologiczny IV

Ginekologiczno-Położniczy Szpital Kliniczny

Ul. Polna 33; Poznań

Poznań 2010

str. 1

SPIS TREŚCI:

1.	WSTĘP	
1.1.	Wprowadzenie.....	6
1.2.	Nowotwór złośliwy jajnika – aktualny problem kliniczny.....	8
1.3.	Neurologiczne zespoły paranowotworowe.....	13
1.3.1.	Charakterystyka ogólna.....	13
1.3.2.	Mechanizm rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych.....	17
1.3.3.	Charakterystyka kliniczna klasycznych neurologicznych zespołów paranowotworowych.....	20
1.3.3.1.	Paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku i podostra neuropatia czuciowa w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika.....	20
1.3.3.2.	Kliniczne ujęcie pozostałych klasycznych neurologicznych zespołów paranowotworowych.....	22
1.3.4.	Możliwości diagnozowania i leczenia neurologicznych zespołów paranowotworowych.....	24
1.3.5.	Rodzaje i znaczenie przeciwciał onkoneuronalnych w diagnostyce neurologicznych zespołów paranowotworowych.....	27
1.3.5.1.	Grupa przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych.....	29
1.3.5.2.	Przeciwciało anty-Tr i anty-NMDA – częściowo określone przeciwciała onkoneuronalne.....	31
1.3.6.	Przeciwciała przeciwko składowym osłonek włókien nerwowych.....	32
1.3.7.	Inne przeciwciała w zespołach paranowotworowych.....	33
2.	CEL PRACY.....	34
3.	MATERIAŁ I METODYKA.....	35
3.1.	Charakterystyka badanej grupy pacjentek.....	35
3.2.	Testy weryfikujące obecność przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych.....	36
3.3.	Analiza statystyczna.....	37

4.	WYNIKI.....	39
4.1.	Kliniczna analiza badanej grupy pacjentek.....	39
4.2.	Obecność przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych w odniesieniu do badanej grupy pacjentek.....	51
4.3.	Ocena częstości występowania analizowanych przeciwciał w badanych grupach pacjentek.....	57
4.4.	Szczegółowa analiza występowania przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych.....	58
4.5.	Charakterystyka występowania przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych u kobiet z guzami jajnika.....	61
4.6.	Analiza występowania przeciwciał antyneuronalnych w przebiegu nowotworów jajnika.....	64
4.7.	Ocena stężenia wybranych markerów nowotworowych.....	66
4.7.1.	Analiza stężenia markera CA 125 w surowicy krwi pacjentek z guzami jajnika.....	66
4.7.2.	Porównanie poziomu markera CEA w odniesieniu do badanych grup guzów jajnika.....	70
4.7.3.	Analiza uzyskanych wartości markera AFP w badanych grupach chorych w zależności od wykrytych przeciwciał.....	73
5.	DYSKUSJA.....	74
5.1.	Uwagi ogólne.....	74
5.2.	Analiza ogólna występowania badanych przeciwciała w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika.....	77
5.3.	Przeciwciała anti-Yo i paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku, jako najczęstsze wykładniki zespołu paranowotworowego w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika.....	81
5.4.	Przegląd występowania pozostałych przeciwciał onkoneuronalnych w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika.....	87
5.5.	Nowotwory niezłośliwe jajnika w odniesieniu do badanych przeciwciał.....	89
5.5.1.	Ocena współwystępowania potworniaka dojrzałego i przeciwciał anti-NMDA.	90

5.6.	Znaczenie przeciwciał antyneuronalnych w przebiegu nowotworu jajnika.....	94
5.7.	Podsumowanie.....	95
6.	WNIOSKI.....	97
7.	STRESZCZENIE.....	98
8.	ABSTRACT.....	101
9.	BIBLIOGRAFIA.....	104
10.	SPIS RYCIN I TABEL.....	115

WYKAZ SKRÓTÓW I SYMBOLI ZASTOSOWANYCH W PRACY.

Ag – antygen

Anty – GAD – przeciwciała przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego
(ang.: anti-glutamic-acid-decarboxylase antibody)

Anty – MAG – przeciwciała przeciwko glikoproteinie związanej z mieliną
(ang.: anti-myelin-associated-glycoprotein antibody)

Anty – NMDA – przeciwciała przeciwko receptorom N-metylo-D-asparagianu
(ang.: anti-N-methyl-D-aspartate antibody)

Anty – Tr – przeciwciała anty-Tr

DM – zapalenie skórno – mięśniowe (ang.: dermatomyositis)

FITC – anty – ludzka immunoglobulina znakowana fluoresceiną
(ang.: fluorescein-labelled secondary antibody)

HSV - wirus opryszczki pospolitej (herpes simplex virus)

IEF – ogniskowanie izoelektryczne (ang.: isoelectric focusing)

IF - immunofluorescencja

Ig – immunoglobulina

IOTA – międzynarodowa klasyfikacja ultrasonograficzna guzów jajnika
(ang.: International Ovarian Tumor Analysis)

LE – zapalenie układu limbicznego (ang.: limbic encephalitis)

LEMS – zespół miasteniczny Lamberta – Eatona (ang.: Lambert-Eaton myasthenic syndrome)

OCB – prążki oligoklonalne (ang.: oligoclonal bands)

PCD – paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku
(ang.: paraneoplastic cerebellar degeneration)

PEM – paranowotworowe zapalenie mózgu i rdzenia (ang.: paraneoplastic encephalomyelitis)

POM – zespół opsoklonie-mioklonie (ang.: paraneoplastic opsoclonus-myoclonus)

PNS - neurologiczny zespół paranowotworowy (ang.: paraneoplastic neurological syndrome)

Przeciwciała ANNA – przeciwciała przeciwjądrowe
(ang.: anti – neuronal nuclear antibody)

Przeciwciała PCA – przeciwciała przeciwko komórkom Purkiniego
(ang.: anti – Purkinje cell antibody)

SCLC – rak drobnokomórkowy płuc (ang.: small cell lung cancer)

SPS – zespół sztywności uogólnionej (ang.: stiff person syndrome)

SSN – podostra czuciowa neuropatia (ang.: subacute sensory neuronopathy)

1. WSTĘP

1.1. Wprowadzenie

Wczesne rozpoznanie guzów jajnika, zwłaszcza zmian o charakterze nowotworów złośliwych stanowi wciąż problem w onkologii ginekologicznej. Wprowadzanie nowoczesnych metod diagnostycznych, coraz powszechniej dostępnych nie przyniosło spodziewanych rezultatów. Utrzymująca się wysoka umieralność wśród kobiet spowodowana rozwojem nowotworu złośliwego jajnika jest tego jednoznacznym dowodem. Nadal, aż 75% raków jajnika rozpoznawane jest w późnym stadiach choroby, a pięcioletnie przeżycia dotyczą zaledwie 25-58% chorych odpowiednio w IV i III stopniu zaawansowania klinicznego [57]. W głównej mierze wynika to z podstępного rozwoju i przebiegu klinicznego nowotworu złośliwego jajnika, co powoduje, iż objawy są bagatelizowane, a pacjentki przechodzą często długą drogę zanim diagnostyka zostanie ukierunkowana na właściwe rozpoznanie. Utrudnia to wykrycie zmian w ich wczesnym etapie rozwoju, kiedy rokowanie dla chorych jest najkorzystniejsze. Nadal bez jednoznacznej odpowiedzi pozostaje wiele pytań dotyczących etiologii raka jajnika. Przyczynia się do tego również brak wartościowych, wysoce swoistych badań, które pozwalałyby sprecyzować rozpoznanie na etapie wczesnej diagnostyki.

Obecnie powszechnie przyjęty schemat diagnostyki guzów jajnika obejmuje badanie ginekologiczne, ultrasonografię przy użyciu sondy dopochwowej, oraz ocenę poziomu markera CA-125. W zależności od dostępności wykorzystuje się również dodatkowe badania obrazowe, oraz ocenę mniej swoistych markerów nowotworowych, których jednoczesowa ocena wpływa na poprawę jakości diagnostyki różnicowej. Jednak żadna z wykorzystywanych współcześnie metod diagnostycznych stosowana pojedynczo, czy też w kombinacji nie spełnia wymogów skринingu populacyjnego.

Sytuacja ta skłania do podejmowania dalszych, intensywnych prób poszukiwania efektywniejszych testów diagnostycznych. Dlatego też coraz większą uwagę zwraca fakt współwystępowania nowotworów złośliwych żeńskich narządów płciowych i przeciwciał onkoneuronalnych, oraz antyneuronalnych, będących istotnym kryterium rozpoznania neurologicznych zespołów paranowotworowych. Systematycznie wzrasta liczba publikacji dotyczących zagadnień związanych z neurologicznymi zespołami paranowotworowymi (ang.: paraneoplastic neurological syndromes), co wskazuje na ich rosnące znaczenie kliniczne. Nadal nie w pełni poznany pozostaje jednak stopień tej zależności, oraz procesy prowadzące

do rozwoju PNS. Najbardziej prawdopodobny i jak dotąd najlepiej poznany wydaje się być mechanizm oparty na odpowiedzi immunologicznej.

Objawy neurologiczne u 70-80% chorych wyprzedzają kliniczne rozpoznanie nowotworu złośliwego, co przy odpowiedniej znajomości problematyki pozwala właściwie ukierunkować diagnostykę wstępną [14,63]. Stwierdzenie u pacjentki objawów o podłożu neurologicznym powinno wiązać się z konsultacją specjalisty neurologa i jednoczesnym poszerzeniem zakresu diagnostyki o badania ukierunkowane na poszukiwanie zmian rozrostowych w obrębie żeńskich narządów płciowych. Nawet przy braku klinicznych wykładników rozwijającego się procesu nowotworowego, ale przy obecnych charakterystycznych zaburzeniach neurologicznych wskazujących na zespół paranowotworowy, należy rozważyć obecność nowotworu złośliwego na wczesnym etapie jego rozwoju. Najczęstszym neurologicznym zespołem paranowotworowym towarzyszącym, bądź też wyprzedzającym kliniczne rozpoznanie nowotworu złośliwego jajnika jest paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku [9,11,29,107]. Dane dotyczące częstości współwystępowania nowotworów złośliwych i neurologicznych zespołów paranowotworowych są zróżnicowane w zależności od analizowanej grupy populacyjnej i dotyczą od 1% do 10-15% chorych [82]. Dotychczasowe badania kliniczne, wskazują na istotne znaczenie obecności przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych we wstępnej diagnostyce nowotworowej, o czym wspomniano powyżej. Rozpoznanie neurologicznego zespołu paranowotworowego, a następnie pierwotnego nowotworu umożliwia rozpoczęcie adekwatnego leczenia, co sprzyja właściwemu postępowaniu onkologicznemu. Ma również niebagatelny wpływ na poprawę jakości życia chorych i tym samym efektywności prowadzonego leczenia podstawowego. Diagnostyka w kierunku obecności przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych pozwala ponadto na różnicowanie pomiędzy następstwami choroby podstawowej, a występowaniem powikłania po przebytych leczeniu onkologicznym.

Powyższe obserwacje, oraz możliwość przyszłościowego wykorzystania badań nad obecnością przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych nie tylko w przebiegu neurologicznych zespołów paranowotworowych, ale przede wszystkim w aspekcie diagnostyki i przebiegu nowotworów złośliwych jajnika stwarzają szerokie pole do dalszych, nowatorskich badań klinicznych. Badania te wydają się być również kolejnym krokiem w kierunku udoskonalenia i zwiększenia czułości współcześnie stosowanej diagnostyki onkologicznej.

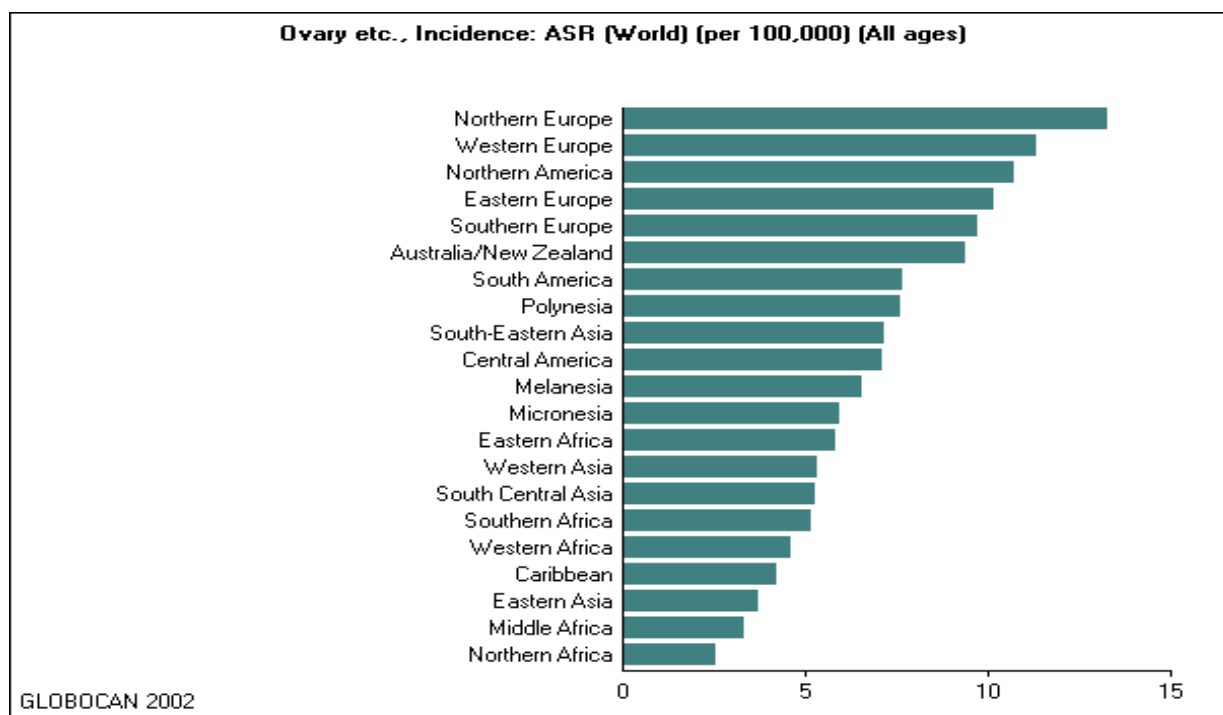
1.2. Nowotwór złośliwy jajnika – aktualny problem kliniczny

Pomimo coraz większego postępu, jaki obserwowany jest w medycynie, a tym samym coraz lepszej dostępności do zaawansowanych metod diagnostycznych i zwiększonych możliwości leczenia rak jajnika pozostaje nadal nowotworem wykrywanym w późnych stadiach zaawansowania klinicznego i cechuje się wysoką śmiertelnością. Według danych przedstawionych w rejestrze Globocan w ciągu roku odnotowuje się 192 000 nowych przypadków zachorowań na nowotwory złośliwe jajnika na świecie, co stanowi 4% wszystkich nowotworów złośliwych wykrywanych wśród kobiet [57]. Prawie 61 000 przypadków dotyczy Europy, przy śmiertelności sięgającej 39 000 pacjentek rocznie [12]. Powoduje to, iż nowotwór złośliwy jajnika zajmuje w Europie szóste miejsce pod względem częstości występowania wśród wszystkich nowotworów złośliwych diagnozowanych u kobiet. Według prognoz WHO liczba nowych przypadków zachorowań będzie stale wzrastać. Szacuje się, iż w 2030 roku dotyczyć będzie 355145, a w 2050 roku aż 452320 kobiet rocznie na świecie [26].

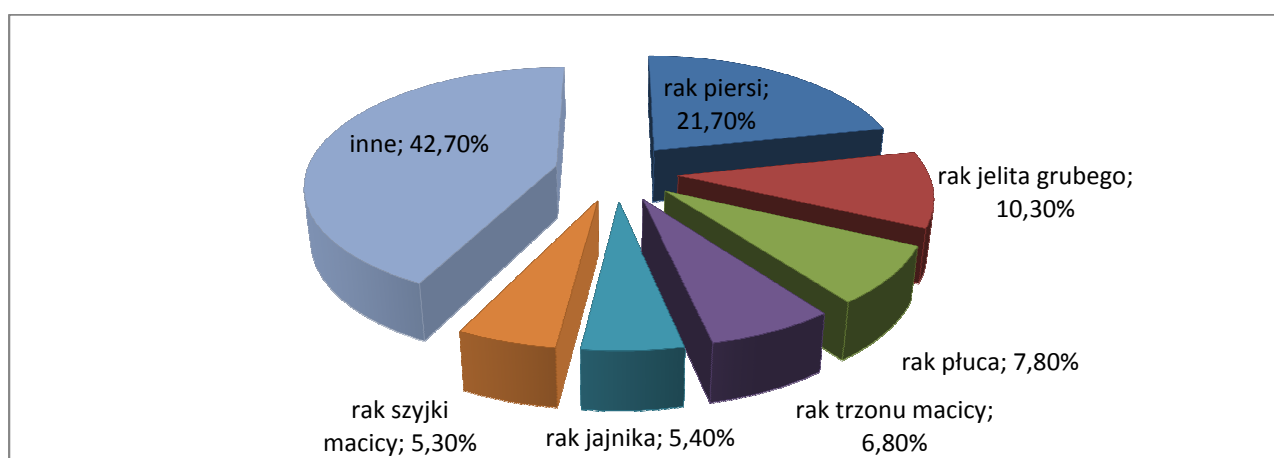
Uwzględniając regiony geograficzne najwyższą zachorowalność stwierdza się w krajach z obszaru Europy północnej i zachodniej, oraz Ameryki Północnej, a najniższą wśród populacji Afryki północnej i środkowej [26]. Najwyższe standaryzowane współczynniki zachorowalności stwierdzono w Islandii, Izraelu, oraz Kalifornii, odpowiednio 16.2, 16.0, 14.5 [57]. Natomiast w Europie najwyższą zachorowalność oprócz wymienionej powyżej Islandii stwierdza się w Czechach, Wielkiej Brytanii, Austrii, oraz Irlandii, gdzie standaryzowane współczynniki zachorowalności wynoszą odpowiednio 15.1, 14.2, 13.6 i 13.5 [57] Wyjaśnieniem tej sytuacji wydaje się być geograficzne i kulturowe zróżnicowanie pod względem zachowań seksualnych, a tym samym schematy społeczne dotyczące rozrodczości, oraz wpływ czynników środowiskowych w tym między innymi sposobu odżywiania [12].

Zróżnicowanie pod względem zachorowalności dotyczy również przynależności do grupy etnicznej. Najmniejszą zapadalność odnotowuje się wśród kobiet pochodzenia afrykańskiego, latynoskiego i azjatyckiego, a największą wśród kobiet białych [56]. Polska cechuje się stosunkowo wysoką zachorowalnością na nowotwory złośliwe jajnika. W latach 1963 – 1996 standaryzowany współczynnik zachorowalności wzrósł ponad dwukrotnie od poziomu 5.9 do wartości 12.2 [119]. W oparciu o aktualny raport bazy Krajowego Rejestru Nowotworów na podstawie danych Centrum Onkologii, który obejmuje lata 1999 – 2007 można stwierdzić, iż zachorowalność w ostatnim dziesięcioleciu utrzymuje się na podobnym poziomie [26]. W roku 1999 odnotowano 3151 nowych zachorowań na nowotwory złośliwe

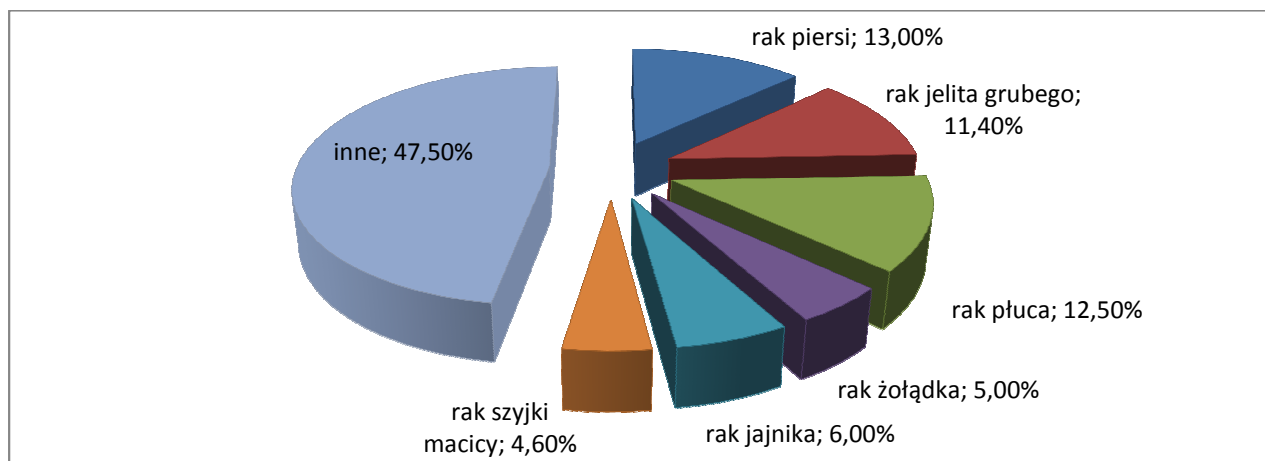
jajnika przy wartości standaryzowanego współczynnika zachorowalności 11.4. Osiem lat później zarejestrowano 3214 nowych przypadków, a wymieniany powyżej współczynnik wyniósł 10.4 [26]. Liczba odnotowanych zgonów wzrosła natomiast z 1959 w roku 1999 do 2485 w roku 2007 (standaryzowany współczynnik odpowiednio: 6.7 i 7.8) [57]. Obecnie nowotwór złośliwy jajnika zajmuje pod względem zachorowalności piątą, a pod względem liczby zgonów czwartą pozycję wśród wszystkich nowotworów złośliwych diagnozowanych u kobiet w Polsce [21].



Rycina1: Zapadalność na raka jajnika na świecie w zależności od regionu geograficznego [26].



Rycina 2: Odsetek zachorowań na nowotwory złośliwe kobiet w Polsce w roku 2005 [21].



Rycina 3: Odsetek zgonów na nowotwory złośliwe kobiet w Polsce w roku 2005 [21].

Nowotwór złośliwy jajnika występuje głównie u kobiet po 40 roku życia. Tylko 1% diagnozowanych przypadków dotyczy pacjentek poniżej 20 roku życia [57]. Jak wynika z Krajowego Rejestru Nowotworów Centrum Onkologii w 2007 roku w Polsce zdiagnozowano 3214 nowych przypadków nowotworów złośliwych jajnika, z czego 13 wykryto u pacjentek poniżej 20 roku życia [21]. W Polsce szczyt zachorowań przypada na 50 – 59 rok życia, przy czym 60% zachorowań i 50% zgonów dotyczy grupy wiekowej pacjentek poniżej 65 roku życia [21]. Odsetek całkowitych pięcioletnich przeżyć wśród chorych na nowotwory złośliwe jajnika w Polsce wynosi nieco ponad 30%, podobnie jak w Czechach, Słowacji, Estonii i Wielkiej Brytanii. Natomiast w krajach takich jak Szwecja, Hiszpania, Niemcy czy Islandia odsetek ten jest o ponad 10% wyższy [3].

W prognozowaniu istotną rolę odgrywa stopień zaawansowania klinicznego nowotworu, typ histologiczny, stopień zróżnicowania, wiek chorej, oraz zakres przeprowadzonej operacyjnie pierwotnej cytoredukcji i dalsze, adjuwantowe leczenie [57]. Niekorzystna rokowniczo jest również obecność wodobrzusza, przerwanie ciągłości torebki guza, rozrost egzofityczny, oraz infiltracja nowotworowa na struktury sąsiednie bądź też przerzuty odległe [12]. Największą przeżywalność odnotowuje się wśród chorych z nowotworem złośliwym jajnika w stopniu I według klasyfikacji FIGO. Niestety prawie 75% przypadków diagnozowana jest dopiero na etapie III i IV stopnia zaawansowania klinicznego [57]. Oszacowane pięcioletnie przeżycie ulega zróżnicowaniu w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego w chwili postawienia rozpoznania. Wynosi ono odpowiednio: Ia – 89,9%, Ib – 84,7%, Ic – 80,0%, IIa – 69,9%, IIb – 63,7%, IIc – 66,5%, IIIa – 58,5%, IIIb – 39,3%, IIIc – 28,7%, IV – 25,0% [57].

Rozwój nowotworu złośliwego jajnika jest procesem długotrwałym, oraz złożonym i jak do tej pory nie w pełni poznanym. Istnieje kilka hipotez tłumaczących proces inicjacji karcynogenezy w obrębie jajnika. Za powszechnie uznany czynnik ochronny uważa się dużą liczbę przebytych ciąż, laktację, oraz długi okres zahamowania owulacji [56,57,90]. Po raz pierwszy teorię próbującą wyjaśnić korelację pomiędzy częstością owulacji, a ryzykiem rozwoju raka jajnika przedstawił w latach 70-tych ubiegłego wieku Fathalla [25]. Comiesięczny proces owulacji prowadzący do uszkodzenia komórek nabłonka jajnika w miejscu pęknięcia pęcherzyka i następowy proces proliferacji może wiązać się z błędnym procesem odnowy DNA komórek nabłonka jajnika i inicjować mutagenezę [2,10,90]. Teoria ta wydaje się tłumaczyć ochronny wpływ doustnej antykoncepcji, który zaczyna się już po 6 miesiącach od momentu jej rozpoczęcia. Uważa się, iż ryzyko ulega redukcji o 50% po pięciu latach stosowania doustnej antykoncepcji i utrzymuje się do 10 lat po zaprzestaniu jej stosowania [56,57]. W powiązaniu z powyższą teorią za czynniki ryzyka uznaje się również wczesny wiek wystąpienia menarche i późny wiek menopauzy [56,57].

Jak wspomniano powyżej zablokowanie owulacji czy to poprzez doustną antykoncepcję, czy też w wyniku ciąży, lub laktacji ma ochronny wpływ względem ryzyka rozwoju nowotworu złośliwego jajnika. Nie odnotowano jednak podobnej korelacji w stosunku do liczby poronień [57]. Nadal niejednoznaczny pozostaje związek pomiędzy niepłodnością, a ryzykiem zachorowania na nowotwór złośliwy jajnika. Zaburzenia owulacji, endometrioza, oraz niepłodność o niewyjaśnionej etiologii wydają się być najczęściej powiązane z ryzykiem złośliwej przemiany nowotworowej w obrębie jajnika [10]. Schildkraut i wsp. wykazali ponadto dwukrotnie większe ryzyko zachorowania na nowotwór złośliwy jajnika wśród kobiet z rozpoznaniem zespołem policystycznych jajników (PCOS), jako przyczyną niepłodności [84]. Sugeruje się również możliwy udział w etiologii nowotworów złośliwych jajnika leków stymulujących owulację w tym kломifenu i gonadotropin [10].

Pomimo szeregu przeprowadzonych badań rola hormonalnej terapii zastępczej w etiopatogenezie raka jajnika jest wciąż niejednoznaczna. Według części badań fakt stosowania hormonalnej terapii zastępczej pozostaje bez wpływu na ryzyko rozwoju nowotworu złośliwego jajnika. Inne tego nie potwierdzają, a wręcz wskazują na wzrost ryzyka wraz z upływem czasu stosowania HTZ [57].

Mechanizm inicjacji procesu złośliwej transformacji komórek na podłożu endometriozy nie został do końca poznany. Wydaje się, iż istotną rolę odgrywają w tym

przypadku mediatory procesu zapalnego takie jak makrofagi, cytokiny czy też czynniki wzrostu aktywowane pod wpływem ektopowo umiejscowionej tkanki endometrium [44,69].

Szczegółowa analiza zwyczajów żywieniowych praktykowanych przez kobiety, u których rozpoznano nowotwór złośliwy jajnika pozwoliła stwierdzić, iż spożywanie w większych ilościach kawy, oraz alkoholu nie wpływa na zwiększenie ryzyka przemiany nowotworowej w obrębie jajnika o charakterze złośliwym [104]. Palenie papierosów koreluje natomiast z potencjalnie większym ryzykiem rozwoju nowotworu typu śluzowego, przy czym ryzyko to wzrasta wraz z ilością wypalonych papierosów i czasem trwania nałogu [43]. Dopiero po około 20 – 30 latach od zaprzestania palenia maleje ono do wartości jaka występuje u kobiet niepalących [43]. Duża zawartość w spożywanych produktach kwasu mlekowego i tłuszczów zwierzęcych, jak również niskie spożycie zielonych warzyw mogą sprzyjać złośliwej transformacji nowotworowej komórek jajnika [57].

Wysunięto również hipotezę, wskazującą na możliwość wpływu aktywność fizycznej, jako czynnika protekcyjnego w stosunku do ryzyka rozwoju nowotworu złośliwego jajnika. Prawdopodobny mechanizm w tym przypadku opiera się na redukcji masy ciała, zmniejszeniu ilości adipocytów w tkance tłuszczowej i pośrednio zmniejszeniu poziomu estrogenów, oraz powiązanego z tym faktem ograniczeniem częstości owulacji [49]. Oceniano również izolowany wpływ wartości indeksu masy ciała - BMI na ryzyko zachorowania na nowotwór złośliwy jajnika. Leitzmann i wsp. w badaniu obejmującym ponad 94 000 kobiet stwierdzili zwiększoną zachorowalność wśród pacjentek z BMI > 30 kg/m² [48].

Za około 5 – 10% wszystkich nowotworów złośliwych jajnika odpowiedzialne są trzy zespoły występujące rodzinie: zespół rodzinnego występowania raka jajnika (ang.: hereditary ovarian syndrome – HOC), zespół rodzinnego występowania raka sutka i raka jajnika (ang.: hereditary breast ovarian cancer – HBOC), zespół Lynch II (ang.: hereditary nonpolyposis colorectal cancer – HNPCC) [12]. Najistotniejszym czynnikiem ryzyka w powyższych zespołach jest stopień obciążenia rodzinnego. W przypadku posiadania krewnej w pierwszym stopniu pokrewieństwa chorej na nowotwór złośliwy jajnika ryzyko wynosi 4-7%. Przy dwóch lub więcej osobach w pierwszym stopniu pokrewieństwa ryzyko to wzrasta do 7-15% [12]. Zespół HBOC najczęściej związany jest z mutacją w obrębie genu BRCA 1, rzadziej BRCA 2. Wśród pacjentek z potwierdzoną mutacją ryzyko rozwoju raka jajnika i raka piersi wynoszą odpowiednio 35-85%, oraz 15-60% [12]. W przypadku obciążenia rodzinnym występowaniem nowotworu złośliwego jajnika zaleca się wykonanie profilaktycznego usunięcia jajników, co nie daje jednak całkowitej ochrony. Odnotowano,

bowiem, iż u 1,8-10,7% kobiet poddanych operacji o charakterze profilaktycznym istnieje ryzyko rozwoju pierwotnego raka wewnątrztrzewnowego odpowiadającego histopatologicznie nowotworom nabłonkowym jajnika [12,56].

1.3. Neurologiczne zespoły paranowotworowe

1.3.1. Charakterystyka ogólna

Neurologiczne zespoły paranowotworowe (ang.: paraneoplastic neurological syndromes-PNS) to zróżnicowana grupa klinicznych objawów uszkodzenia układu nerwowego, które pojawiają się, jako powikłanie choroby nowotworowej, nie są jednak spowodowane miejscowym oddziaływaniem nowotworu, obecnością przerzutów w obrębie układu nerwowego, nieprawidłowościami naczyniowymi, metabolicznymi, infekcjami, ani też toksycznym oddziaływaniem leków. Zaburzenia funkcjonowania dotyczyć mogą zarówno ośrodkowego, jak i obwodowego układu nerwowego, oraz złącza nerwowo – mięśniowego [62,63,70].

Dane dotyczące częstości występowania neurologicznych zespołów paranowotworowych są rozbieżne i w dużej mierze zależą od badanej populacji, rodzaju nowotworu, oraz postaci neurologicznej zespołu paranowotworowego. Dotyczą od 1% [77] do 10% [75], a nawet 15% [82] wszystkich chorych na nowotwory złośliwe. Pittock i wsp. w roku 2004 opublikowali wyniki czteroletniej analizy obejmującej pacjentów z wykrytym nowotworem złośliwym i podejrzeniem PNS. Wśród 60 000 chorych w 553 przypadkach, co stanowiło 0.9% badanej grupy potwierdzono obecność w surowicy krwi przeciwciał onkoneuronalnych i wystąpienie klinicznych wykładników neurologicznego zespołu paranowotworowego [14].

W populacji kobiet z nowotworem narządów płciowych najczęstszą przyczyną rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych jest nowotwór złośliwy jajnika i piersi [6,61,62,106]. Zazwyczaj zespoły te pojawiają się u pacjentek w starszym, lub podeszłym wieku. W badaniu obejmującym grupę ponad 60 pacjentów z Wielkiej Brytanii średni wiek wystąpienia objawów neurologicznego zespołu paranowotworowego wynosił 66 lat (zakres wiekowy 30-80), przy czym tylko 7 pacjentów (11%) było poniżej 50 roku życia [8]. U 84% pacjentów objawy neurologiczne wyprzedziły rozpoznanie nowotworu złośliwego. W tym samym badaniu stwierdzono częstsze występowanie PNS u kobiet niż

u mężczyzn (3,2:1). Nawet po korekcie wykluczającej nowotwór piersi i żeńskich narządów płciowych stosunek ten wyniósł 2,3:1 [8]. Odmiennie wyniki wskazujące na częstsze występowanie PNS wśród mężczyzn wykazali Graus i wsp. w badaniu obejmującym 200 pacjentów z rozpoznaniem paranowotworowym zapaleniem mózgu i rdzenia. Według badaczy odmiennosc uzyskanych wyników może być następstwem zróżnicowania częstości występowania raka drobnokomórkowego płuc pomiędzy populacją kobiet w Europie, a USA [35].

Diagnostyka neurologicznych zespołów paranowotworowych powinna być ukierunkowana na pacjentki z klinicznymi wykładnikami zaburzeń ze strony układu nerwowego w przebiegu nowotworu jajnika, jak i ze stwierdzoną obecnością w surowicy krwi przeciwciał onkoneuronalnych. Nie mniej jednak u części pacjentek wykrywane są przeciwciała onkoneuronalne częściowo określone, antyneuronalne, lub też niespecyficzne. Nieco odmienny scenariusz diagnostyczny obejmuje pacjentki z atypowym obrazem neurologicznym, lub też bez potwierdzonej obecności nowotworu złośliwego. Niektórzy autorzy zalecają w tym przypadku monitorowanie pacjentek w odstępach sześciomiesięcznych, przez okres minimum 4 lat poprzez wykonywanie kontrolnych badań ukierunkowanych na poszukiwanie zmian nowotworowych w obrębie narządów płciowych [106].

W celu rozwiązania problemu właściwej kwalifikacji pacjentów i prowadzenia ukierunkowanej diagnostyki w roku 2004 grupa ekspertów opracowała kryteria diagnostyczne rozpoznawania neurologicznych zespołów paranowotworowych. Pozwoliły one na ujednolicenie nomenklatury, oraz stworzenie standardów kwalifikacji chorych do grupy z pewnym, lub też możliwym PNS w oparciu o obecność zespołu neurologicznego, przeciwciał onkoneuronalnych i korelacji z czasem trwania choroby nowotworowej [33]. Ponadto umożliwiły prowadzenie dalszych badań klinicznych w oparciu o ujednolicone grupy pacjentów.

Poniżej przedstawiono kryteria diagnostyczne, oraz proponowany algorytm postępowania w przypadku stwierdzenia klinicznych wykładników zespołu neurologicznego w oparciu o opracowane w roku 2004 przez Graus'a i wsp. [33] rekomendacje (Ryc.4; Ryc.5). Umożliwiają one właściwą kwalifikację pacjentów i sprecyzowanie rozpoznania neurologicznego zespołu paranowotworowego w zależności od stwierdzonych objawów. W każdym przypadku potwierdzenia obecności przeciwciał onkoneuronalnych uzyskujemy pewne rozpoznanie neurologicznego zespołu paranowotworowego.

ROZPOZNANIE PEWNE

- 1 Typowy dla zespołów paranowotworowych zespół neurologiczny i nowotwór rozpoznany w ciągu 5 lat.
- 2. Nietypowy zespół neurologiczny, który wycofuje się, lub ulega poprawie w wyniku leczenia nowotworu, bez jednoczesnego zastosowania immunoterapii, z wykluczeniem samoistnej remisji guza.
- 3. Nietypowy zespół neurologiczny z obecnością lub bez przeciwciał onkoneuronalnych i nowotwór rozpoznany w ciągu 5 lat.
- 4. Zespół neurologiczny typowy, lub nietypowy z dokładnie określonymi przeciwciałami onkoneuronalnymi, ale bez obecności nowotworu.

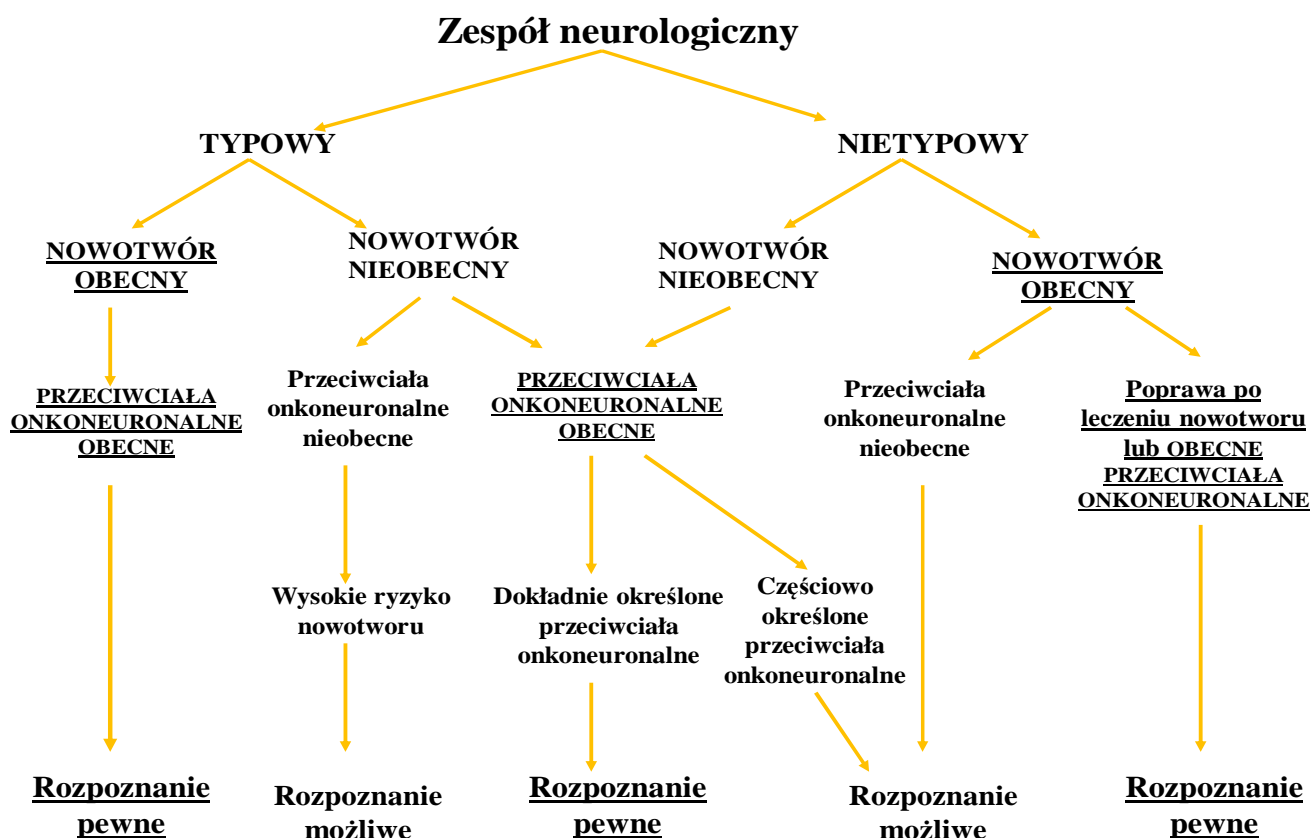
ROZPOZNANIE MOŻLIWE

- 1. Typowy zespół neurologiczny, bez obecności przeciwciał onkoneuronalnych i bez obecności nowotworu, ale z dużym ryzykiem jego wystąpienia.
- 2. Zespół neurologiczny typowy lub nietypowy z częściowo scharakteryzowanymi przeciwciałami onkoneuronalnymi, bez obecności nowotworu.
- 3. Nietypowy zespół neurologiczny bez obecności przeciwciał onkoneuronalnych i nowotwór rozpoznany w ciągu 2 lat.

Rycina 4: Kryteria diagnostyczne rozpoznania neurologicznego zespołu paranowotworowego w oparciu o klasyfikację Grausa i wsp. z 2004 roku [33,62].

Znajomość problematyki neurologicznych zespołów paranowotworowych jest istotna dla prowadzenia wstępnej diagnostyki nowotworowej, leczenia onkologicznego, oraz diagnostyki różnicowej pomiędzy nawrotem choroby, a powikłaniem po leczeniu. Ma również znaczenie pomocnicze w szacowaniu rokowania. Rozpoznanie zespołu objawów o charakterze paranowotworowym, lub też wykrycie specyficznych przeciwciał obliguje do ukierunkowania dalszej diagnostyki na poszukiwanie nowotworu najczęściej współwystępującego z danym zespołem, lub typem przeciwciał. Objawy paranowotworowego zespołu neurologicznego u około 70-80% chorych wyprzedzają kliniczne rozpoznanie nowotworu złośliwego, w tym również nowotworu złośliwego jajnika [14,63]. Dotyczy to również chorych z paranowotworowym zapaleniem układu limbicznego współistniejącym z potworniakiem jajnika. W badaniu Dalmau i wsp. w grupie 12 pacjentek objętych analizą

w 11 przypadkach objawy neurologiczne wyprzedziły średnio o 3-4 miesiące rozpoznanie guza jajnika, co stanowiło 91% badanej grupy [18]. Wśród nowotworów żeńskich narządów płciowych najczęstszą przyczyną rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych jest nowotwór złośliwy jajnika. Postawienie ostatecznej diagnozy i rozpoczęcie leczenia onkologicznego przy współistnieniu zespołu paranowotworowego powinno obejmować również adekwatne leczenie tego zespołu. Takie postępowanie ma na celu poprawę jakości życia i efektywności leczenia, co z punktu widzenia chorego jest istotnym kryterium skuteczności prowadzonej terapii.



Rycina 5: Poszczególne etapy diagnostyki neurologicznych zespołów paranowotworowych w oparciu o kryteria Grausa i wsp. [33].

Zespoły paranowotworowe mają znaczenie nie tylko w neurologii, ale w większości dziedzin klinicznych, co pokazuje jak istotne ze względu na swoją skalę jest omawiane zagadnienie. Często są to zmiany skórne o szerokim spektrum symptomów klinicznych, jak rumień nekrotyczny wędrujący, pęcherzyca paraneoplastyczna, piodermia zgorzelinowa, czy też zespół Bazex, lub Sweeta. Najczęstsze zespoły endokrynno-metaboliczne to zespół

nieprawidłowego wydzielania hormonu antydiuretycznego, zespół Cushinga, oraz hiperkalcemia towarzysząca w 10-20% nowotworom złośliwym. Ponadto tło paranowotworowe wykazują również różnego rodzaju zespoły hematologiczne. Przykładowo może być to niedokrwistość typu choroby przewlekłej, autoimmunologiczna małopłytkowość, nabyta choroba von Willebranda, lub zespół Budda-Chiariego. Nie ma również wątpliwości, co do współwystępowania nowotworów złośliwych i niektórych chorób tkanki łącznej o podłożu autoimmunologicznym. Dotyczy to między innymi reumatoidalnego zapalenia stawów, skleroderмии, osteoartropatii przerostowej, toczenia systemowego, czy też różnych postaci zapalenia naczyń. Sugeruje się również paranowotworową etiologię rozwoju nefropatii błoniastej, oraz nefropatii typu IgA. Do zespołów paranowotworowych zaliczane są ponadto objawy systemowe, których nasilenie koreluje ze stopniem zaawansowania choroby nowotworowej. Zespół wyniszczenia nowotworowego, gorączka nowotworowa, oraz zespół wyczerpania stanowią istotny problem w przebiegu terapii onkologicznej w znaczący sposób obniżając, jakość życia, oraz pogarszając odpowiedź na leczenie. Gdyby objawy te uwzględnić w statystykach analizujących ogólną częstość występowania zespołów paranowotworowych oceniana liczba byłaby zdecydowanie większa niż dotychczas szacowana [3,46].

1.3.2. Mechanizm rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych

Dotychczas pojawiło się kilka hipotez próbujących tłumaczyć przebieg procesów prowadzących do rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych. Pierwsza z nich zakładała niszczący wpływ na komórki układu nerwowego nieokreślonych „toksyn” wydzielanych przez nowotwór. Nie znalazła ona jednak potwierdzenia w badaniach klinicznych. Według kolejnej przyczyną rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych może być konkurencyjna zależność pomiędzy komórkami wzrastającego nowotworu złośliwego, a komórkami nerwowymi, co zważywszy na niewielkie rozmiary guzów, lub też jego brak w momencie rozpoznania zespołu paranowotworowego wydaje się być mało prawdopodobne [73,74].

Obecnie powszechnie akceptowana i najbardziej użyteczna klinicznie hipoteza uznaje immunologiczny charakter procesów prowadzących do rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych. Zakłada ona pobudzenie układu immunologicznego przez obecność białek, zwanych antygenami onkoneuronalnymi (ang.: onconeural antigens). Fizjologicznie

antygeny te występują tylko i wyłącznie w obrębie struktur układu nerwowego, jednak w przebiegu nowotworu złośliwego ich ektopową, obwodową ekspresję stwierdzić można również w obrębie komórek rozwijającego się raka. Aktywowane cytokiny uszkadzają barierę krew-mózg zwiększając tym samym jej przepuszczalność, co powoduje, iż odpowiedź immunologiczna skierowana pierwotnie przeciwko antygenom nowotworu oddziałuje również na komórki układu nerwowego [62]. Punktem docelowym odpowiedzi immunologicznej są neurony większości struktur układu nerwowego w tym mózdzku i pnia mózgu, układu limbicznego, rdzenia kręgowego, zwojów korzeni grzbietowych i siatkówki [16]. W niektórych przypadkach, pomimo iż wszystkie komórki wzrastającego nowotworu złośliwego wykazują ekspresję danego antygeny, u części chorych nie stwierdza się klinicznych wykładników neurologicznego zespołu paranowotworowego. Dlatego też powyższa hipoteza wydaje się nie w pełni wyjaśniać patomechanizm ich rozwoju. Pod uwagę bierze się również wpływ innych aktywnych czynników w inicjacji odpowiedzi immunologicznej, w tym antygenów zgodności tkankowej głównie klasy MHC I i MHC II [114]. Biorą one udział w prezentowaniu ektopowo usytuowanych antygenów limfocytom T odpowiednio cytotoksycznym i pomocniczym. Limfocyty CD4⁺ migrują poprzez barierę krew-mózg do przestrzeni okołonaczyniowej struktur układu nerwowego, pobudzając tym samym limfocyty B do produkcji limfokin i przeciwciał [114].

Jako przykład potwierdzający etiologię immunologiczną najczęściej przedstawia się miasteniczny zespół Lamberta-Eatona w przebiegu drobnokomórkowego raka płuc. W zespole tym występują przeciwciała skierowane przeciwko komponente alfa-1A potencjałozależnego kanału wapniowego typu P/Q. Ich obecność stwierdza się nie tylko w surowicy krwi pacjentów, ale również na poziomie presynaptycznym złącza nerwowo-mięśniowego [73]. Plazmafereza pozwala w tym przypadku usunąć krążące przeciwciała i w zdecydowanej większości zredukować symptomy uszkodzenia układu nerwowego. Ponadto eksperymentalne podanie zwierzętom surowicy ludzkiej zawierającej przeciwciała indukuje wystąpienie u nich objawów zespołu Lamberta-Eatona [74], co wydaje się potwierdzać hipotezę wskazującą na immunologiczne podłoże rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych [73,74].

Przeciwciała onkoneuronalne wykrywane są nie tylko w surowicy krwi chorych. Analizy przeprowadzone wśród pacjentów, u których stwierdzono występowanie w surowicy krwi przeciwciał anti-Hu i anti-Yo potwierdziły możliwość ich syntezy również lokalnie w obrębie płynu mózgowo-rdzeniowego [42].

Nadal niejasne jest czy przeciwciała onkoneuronalne w sposób bezpośredni przyczyniają się do rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych, czy też służą jedynie, jako marker pośredniczący w procesach humoralnej odpowiedzi immunologicznej [93]. Wśród pacjentów z potwierdzonym rozpoznaniem przeciwciał anti-Yo wykazano obecność nacieków limfocytów T jedynie w początkowym okresie rozwoju PNS. Może to sugerować udział mediatorów procesu zapalne we wstępnych etapach rozwoju zespołów paranowotworowych i indukcji odpowiedzi immunologicznej. Badania neuropatologiczne struktur układu nerwowego wykazują obecność okołonaczyniowych nacieków zapalnych złożonych głównie z limfocytów pomocniczych T ($CD4^+$), oraz limfocytów B ($CD19^+$). Śródmiaższowo występują natomiast przede wszystkim limfocyty cytotoksyczne T ($CD8^+$). W niektórych przypadkach dodatkowo stwierdza się obecność monocytów i makrofagów [42,71,81,111]. Wykazano, iż cytotoksyczne limfocyty T uczestniczą przede wszystkim w rozwoju odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciw antygenom z grupy Hu [111]. Potwierdzono występowanie limfocytów T pomocniczych, oraz cytotoksycznych reagujących z antygenem Hu we krwi obwodowej chorych z neurologicznymi zespołami paranowotworowymi [4,17].

Na podstawie dotychczas uzyskanych danych epidemiologicznych wynika, iż u 70-80% pacjentów objawy neurologiczne wyprzedzają kliniczne rozpoznanie nowotworu złośliwego [14,63]. Pozwala to zakładać, iż przeciwciała onkoneuronalne wpływają częściowo ograniczająco na proces proliferacji komórek nowotworu i tempo wzrostu guza. Jak do tej pory stwierdzenie to pozostaje jednak w sferze przypuszczeń i wymaga dalszej weryfikacji. Nie uzyskano bowiem jednoznacznych dowodów świadczących o protekcyjnym wpływie przeciwciał onkoneuronalnych [24]. Wiadomo natomiast, iż obecność niektórych przeciwciał, wiąże się z lepszym rokowaniem dla pacjenta [14,63,78,106].

Neurologiczne zespoły paranowotworowe charakteryzują się nieswoistymi zmianami morfologicznymi. Szacuje się, iż chorzy wykazujący objawy kliniczne stanowią około 20% wszystkich przypadków zmian strukturalnych w obrębie układu nerwowego występujących w przebiegu nowotworu złośliwego [70].

U części pacjentów pomimo zdiagnozowania PNS nie stwierdza się obecności żadnych przeciwciał, co wskazywać może na patomechanizm inny niż immunologiczny. Niektóre z badań sugerują udział procesów metabolicznych, oraz wpływ czynników toksycznych. Pojawiają się również doniesienia wykazujące powiązanie pomiędzy występowaniem neurologicznych zespołów paranowotworowych, a wpływem czynników

infekcyjnych. Jako jednoznaczny przykład podaje się stwierdzenie zmian w obrębie płatów skroniowych mózgu u pacjentów z klinicznymi wykładnikami zapalenia mózgu i rdzenia, oraz wykrytymi przeciwciałami anti-Hu w przebiegu infekcji HSV (ang.: herpes simplex virus) [63,88]. Nadal jednak sugestie te opierają się na opisach pojedynczych przypadków i wciąż pozostają w sferze dociekań i otwartej dyskusji.

1.3.3. Charakterystyka kliniczna klasycznych neurologicznych zespołów paranowotworowych

Termin „klasyczne neurologiczne zespoły paranowotworowe” (ang. „classical” paraneoplastic neurological syndromes) został uściślony w roku 2004 przez europejską grupę ekspertów do spraw neurologicznych zespołów paranowotworowych i odnosi się do tych zespołów, które najczęściej współistnieją z nowotworem złośliwym [62].

Grupa ta jest zróżnicowana klinicznie i obejmuje osiem zespołów neurologicznych: zapalenie mózgu i rdzenia, zapalenie układu limbicznego, paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku, zespół opsoklonie-mioklonie, podostrą neuropatię czuciową, zespół miasteniczny Lamberta-Eatona, zapalenie skórno-mięśniowe, oraz przewlekłą, rzekomą niedrożność żołądkowo-jelitową [62].

1.3.3.1. Paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku i podostra neuropatia czuciowa w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika

Najczęstszym neurologicznym zespołem paranowotworowym współistniejącym z nowotworem złośliwym jajnika jest paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku (ang.: paraneoplastic cerebellar degeneration–PCD) [6,62,106]. Dwie trzecie przypadków rozpoznanego podostrego zwyrodnienia mózdzku u kobiet powyżej 50 roku życia ma podłoże paranowotworowe [29]. W około 60% przypadków PCD objawy neurologiczne są pierwszą manifestacją rozwijającego się procesu złośliwego w obrębie jajnika [29]. Wśród tych chorych 70-80% uzyska pozytywne rozpoznanie po wdrożeniu diagnostyki ukierunkowanej na poszukiwanie nowotworu złośliwego jajnika [14]. Objawy, do pełnego obrazu klinicznego rozwijają się z reguły w ciągu kilku - kilkunastu tygodni. Obejmują ataksję tułowia i kończyn, nudności, zawroty głowy, dyzartrię ataktyczną, adiadochokinezę, oczopląs i podwójne widzenie [76,113].

W badaniach obrazowych nie stwierdza się cech atrofii mózdzku, choć badanie PET z użyciem fluorodeoksyglukozy może wykazać obniżenie metabolizmu glukozy w obrębie struktur mózdzku [14,63]. Analiza płynu mózgowo rdzeniowy jest mało specyficzna i w większości przypadków wykazuje różnego stopnia pleocytozę, oraz podwyższony poziom białka. Ponadto u około 60% pacjentów w płynie mózgowo-rdzeniowym występują prąжки oligoklonalne [14].

Najczęściej, bo w około 50% przypadków rozpoznania paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku stwierdza się obecność przeciwciał onkoneuralnych anti-Yo cechujących się w tym przypadku 100% swoistością [9,29,78]. Rzadziej występują przeciwciała anti-Hu, anti-CV2, oraz anti-Ri.

Istotą zmian neuropatologicznych w przypadku tego zespołu jest zanik kory mózdzku, który obejmować może zarówno warstwę zwojową (komórki Purkinjego), jak i ziarnistą z towarzyszącym rozplemem gleju Bergmanna, oraz naciekami zapalnymi okołonaczyniowymi [14,70].

Równie często pierwszym wykładnikiem rozwijającego się nowotworu złośliwego jajnika jest podostra neuropatia czuciowa (ang.: subacute sensory neuronopathy - SSN). Rozwój tego zespołu wiąże się z pierwotnym zniszczeniem czuciowej komórki nerwowej [98]. Manifestuje się drętwieniem i dolegliwościami bólowymi w obrębie kończyn górnych, dysestezją, hiperalgezją, asymetrią i wielogniskowością objawów, oraz utratą czucia proprioceptywnego. U części chorych występuje obniżenie napięcia mięśniowego, zaniki mięśniowe, nieprawidłowości chodu, oraz zaburzenia autonomiczne, głównie o charakterze rzekomej niedrożności jelit [33,62]. Podostra neuropatia czuciowa towarzyszyć może nie tylko nowotworom złośliwym jajnika, ale również nowotworom złośliwym piersi, niedrobnokomórkowemu rakowi płuc, oraz chłoniakom [23]. W zespole tym dominują przeciwciała anti-Hu i anti-amfifizyna, oraz anti-Ma2 [1,62,70]. W około 33% neuropatia czuciowa ma charakter objawów izolowanych. W pozostałych przypadkach współwystępuje z zapaleniem mózgu i rdzenia kręgowego [70].

Neuropatia czuciowa może również pojawiać się w trakcie leczenia onkologicznego nowotworu złośliwego jajnika i wynikać z niekorzystnego wpływu stosowanych cytostatyków. W tym przypadku niezwykle istotne wydaje się być oznaczenie występowania przeciwciał w surowicy krwi chorych. Ich obecność pozwala bowiem potwierdzić rozpoznanie neurologicznego zespołu paranowotworowego i rozpocząć adekwatne leczenie

neurologiczne przy jednoczesnym kontynuowaniu chemioterapii. Warunkuje tym samym poprawę jakości życia pacjentek i sprzyja lepszej odpowiedzi na prowadzone leczenie. W przypadku neuropatii czuciowej będącej konsekwencją zastosowanego leczenia przeciwnowotworowego należy rozważyć – w zależności od nasilenia objawów, odroczenie chemioterapii na czas uzyskania poprawy klinicznej. Wydaje się to być klasycznym przykładem wartościowego wykorzystania diagnostyki immunologicznej w kierunku obecności przeciwciał onkoneuronalnych we właściwie prowadzonej terapii onkologicznej pacjentek z rozpoznaniem nowotworem złośliwym jajnika.

1.3.3.2. Kliniczne ujęcie pozostałych klasycznych neurologicznych zespołów paranowotworowych

Umiejętność weryfikacji chorych wymagających konsultacji neurologicznej, a tym samym wiedza i doświadczenie kliniczne na odpowiednim poziomie stanowi duże wyzwanie dla lekarza ginekologa. Symptomatologia zespołów neurologicznych jest niezwykle zróżnicowana i niejednoznaczna, co stanowi najistotniejszy problem we wstępnej diagnostyce pacjentek. Nie mniej jednak świadomość współwystępowania pewnych zespołów neurologicznych i nowotworu złośliwego jajnika daje możliwość polepszenia jakości leczenia onkologicznego. Zdolność rozpoznania pacjentek kwalifikujących się na podstawie obrazu klinicznego do diagnostyki neurologicznej wydaje się być w tym przypadku kluczowa.

Poniżej przedstawiono w ogólnym zarysie najistotniejsze informacje dotyczące poszczególnych klasycznych paranowotworowych zespołów neurologicznych. Stwierdzenie występowania objawów neurologicznych u pacjentki z rozpoznaniem nowotworem jajnika obliguje do współpracy z lekarzem neurologiem i poszerzenia diagnostyki w kierunku zespołu paranowotworowego.

- Zapaleniem mózgu i rdzenia (ang.: paraneoplastic encephalomyelitis-PEM) określa się zespół klinicznych i patofizjologicznych zmian wynikających z wielopoziomowej dysfunkcji układu nerwowego. Kliniczne wykładniki dotyczyć mogą zarówno układu limbicznego, pnia mózgu, mózdzku, rdzenia kręgowego, jak i korzenia czuciowego nerwu rdzeniowego, oraz mięśniówki jelita [33].

- Zapalenie układu limbicznego (ang.: limbic encephalitis - LE) charakteryzuje się zaburzeniami pamięci krótkotrwałej, dezorientacją, omamami wzrokowymi i słuchowymi, oraz w 50% napadami padaczkowymi [1,14,33,62]. Najczęściej w zespole tym występują przeciwciała anti-Hu, anti-amfifizyna, anti-Ma2, oraz anti-CV2 [1,106]. Przeciwciała te wykrywane są w płynie mózgowo-rdzeniowym 60% pacjentów z rozpoznaniem LE [106]. W badaniu płynu mózgowo-rdzeniowego stwierdza się pleocytozę najczęściej z przewagą limfocytów [77]. Tomografia rezonansu magnetycznego u 70% chorych ujawnia obszary hiperintensywne w części przyśrodkowej płatów skroniowych w sekwencji T2 [14,77]. Poza nowotworem złośliwym jajnika zapalenie układu limbicznego najczęściej towarzyszy rakowi sutka, potworniakom, niedrobnokomórkowemu rakowi płuc, oraz ziarnicy złośliwej [62].
- Zespół opsoklonie i mioklonie (ang.: paraneoplastic opsoclonus-myoclonus – POM) obejmuje zaburzenia ruchów gałek ocznych polegające na skojarzonych, nierytmicznych drganiach we wszystkich kierunkach, nieustępujące w ciemności, ani po zamknięciu oczu. Towarzyszą im uogólnione, lub miejscowe mioklonie kończyn i tułowia, oraz ataksja chodu [62,113]. Wśród przeciwciał onkoneuronalnych wykrywa się głównie anti-Hu, anti-amfifizynę, anti-Ri, anti-Ma2 [62]. Nowotworem, który sprzyja zespołowi opsokloni-miokloni jest rak piersi, jajnika, jak również nerek, pęcherza moczowego i niedrobnokomórkowy rak płuca [62,70].
- W miastenicznym zespole Lamberta – Eatona (ang.: Lambert-Eaton myasthenic syndrom – LEMS) dochodzi do uszkodzenia złącza nerwowo - mięśniowego na poziomie części presynaptycznej. Następuje zablokowanie przez przeciwciała potencjałozależnych kanałów wapniowych znajdujących się w zakończeniach nerwów ruchowych i przywspółczulnych, w wyniku, czego dochodzi do niedostatecznego uwalniania acetylocholiny do szczeliny synaptycznej na złączy nerwowo-mięśniowym. Klinicznie charakteryzuje się nużliwością i osłabieniem mięśni kończyn dolnych, a wraz z upływem czasu również górnych, oraz mięśni przykręgosłupowych. Charakterystyczne jest przejściowe zmniejszenie dolegliwości po krótkotrwałym wysiłku, oraz gorsze samopoczucie w godzinach rannych. Dodatkowo pojawia się suchość w jamie ustnej, arefleksja, oraz objawy ze strony

układu autonomicznego. Najczęściej, bo aż w 85% występuje w przebiegu niedrobnokomórkowego raka płuc, ale rozpoznawany jest również u pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika i piersi [23]. Wystąpienia nowotworu złośliwego w przypadku zespołu Lamberta-Eatona jest wyższe niż w innych zespołach miastenicznych i sięga 50%. [14] Do często spotykanych przeciwciał należą anty-Hu oraz przeciwciała przeciwko kanałom wapniowym [70,96].

- Zapalenie skórno-mięśniowe (ang.: dermatomyositis – DM) w 40-50% rozpoznawane bywa u pacjentek z nowotworami złośliwymi jajnika, oraz piersi,. Ponadto towarzyszy nowotworom przetyku, jelita grubego, oraz chłoniakom i ziarnicy złośliwej [23,112]. Klinicznie stwierdza się symetryczne osłabienie siły mięśniowej, oraz tkliwość mięśni i stawów. Zmiany skórne występują w postaci heliotropowego rumienia w kształcie motyla na twarzy, oraz litery V na klatce piersiowej, jak również nad stawami paliczkowymi i wokół paznokci (objaw Gottrona) [70]. Najczęściej stwierdza się przeciwciała anty-Ri, oraz przeciwciała przeciwjądrowe Mi2, oraz Jo1 [70].

1.3.4. Możliwości diagnozowania i leczenia neurologicznych zespołów paranowotworowych

Stwierdzenie charakterystycznych objawów neurologicznych u pacjentki z nowotworem złośliwym jajnika jest istotne przy wysunięciu podejrzenia neurologicznego zespołu paranowotworowego. Jednak jest jedynie pierwszym krokiem mającym na celu wyłonienie pacjentek wymagających dalszej, uzupełniającej diagnostyki. W zależności od dysfunkcji neurologicznej mogą być to badania neuroobrazowe, elektroencefalomiografia, badania neurofizjologiczne, biopsja mięśniowa, badania laboratoryjne w tym analiza płynu mózgowo – rdzeniowego, oraz testy oceny funkcji poznawczych.

Najpowszechniej dostępna tomografia komputerowa ze względu na z reguły prawidłowy obraz u pacjentów z neurologicznymi zespołami paranowotworowymi wydaje się być mało przydatna. Wykorzystywana jest głównie w diagnostyce różnicowej celem wykluczenia patologii rozrostowej bezpośrednio w obrębie struktur mózgu. Tomografia rezonansu magnetycznego daje natomiast możliwość wykrycia zmian głównie w przypadku zapalenia układu limbicznego i paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku. Badaniem,

które w zdecydowany sposób poprawia wykrywalność jest pozytonowa tomografia emisyjna - PET z wykorzystaniem fluorodeoksyglukozy. Czułość tego badania w rozpoznawaniu zmian towarzyszących PNS określa się, jako 75%, a specyficzność, jako 83-87% [63,117]. Jego przydatność wydaje się być najistotniejsza w przypadku rozpoznania neurologicznego zespołu paranowotworowego z potwierdzoną obecnością dokładnie określonych przeciwciał onkoneuronalnych, gdy konwencjonalne metody obrazowania nie pozwalają stwierdzić patologicznego rozrostu nowotworowego.

Kliniczne objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego korelują zazwyczaj ze zmianami o charakterze zapalnym w płynie mózgowo-rdzeniowym. W większości przypadków stwierdza się pleocytozę o różnym stopniu nasilenia, najczęściej z przewagą limfocytów. Ponadto stwierdza się zwiększone stężenie białka, wysokie miano przeciwciał klasy IgG, głównie IgG1, oraz często stwierdzaną w metodzie ogniskowania izoelektrycznego (ang.: isoelectric focusing - IEF) obecność prążków oligoklonalnych (ang.: oligoclonal bands - OCB) [14]. Wykrycie prążków oligoklonalnych jest akceptowalnym i najbardziej czułym markerem wskazującym na indukowaną przez limfocyty B syntezę przeciwciał w obrębie płynu mózgowo-rdzeniowego [7]. Stwierdzenie obecności OCB w płynie mózgowo-rdzeniowym podtrzymuje ponadto założenia immunologicznej hipotezy rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych [7].

W powiązaniu z podejrzeniem neurologicznego zespołu paranowotworowego istotne jest stwierdzenie obecności w surowicy pacjenta przeciwciał onkoneuronalnych, jak również antyneuronalnych. Standardowo w tym celu przeprowadza się test immunofluorescencji (IF) pośredniej, będący badaniem przesiewowym, oraz test Western blotting, jako metodę potwierdzającą obecność i pozwalającą określić konkretny typ przeciwciał [65,67].

Podstawową strategią postępowania w przypadku rozpoznania PNS w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika jest prowadzenie właściwego dla danego rodzaju nowotworu leczenia onkologicznego. Badania kliniczne wykazały korzystny wpływ takiego postępowania na stabilizację paranowotworowego zespołu neurologicznego i zmniejszenie dolegliwości ze strony układu nerwowego [14]. Jak dotąd brakuje jednoznacznych wytycznych odnośnie efektywnego leczenia neurologicznych zespołów paranowotworowych. Wykorzystuje się między innymi leczenie immunomodulujące z zastosowaniem plazmaferezy, dożylnie podawania immunoglobulin, czy też stosowanie sterydów i cyklofosfamidu, lub azatiopryny. Dotychczasowe badania kliniczne wykazują jednak zróżnicowaną skuteczność kliniczną powyższego leczenia. Jedynie nieliczne doniesienia przedstawiają przypadki, w których

zastosowanie wymienionych metod leczniczych przyniosło wymierne korzyści. Opisano przypadek pacjentki z rozpoznaniem paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku, oraz obecnością przeciwciał onkoneuronalnych anti-Yo w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika. U chorej zastosowano leczenie immunosupresyjne z wykorzystaniem wysokich, malejących dawek kortykosteroidów (500-250mg/dzień) i pojedynczej dawki cyklofosfamidu (600mg/dzień), po których nastąpiła znacząca poprawa i stopniowe ustępowanie objawów neurologicznych [99]. Zastosowanie steroidów nie przyniosło natomiast korzyści w przypadku pacjentki, u której PCD wyprzedziło rozpoznanie nowotworu złośliwego jajnika w II stopniu zaawansowania klinicznego FIGO (adenocarcinoma serosum). Ze względu na nasilające się dolegliwości neurologiczne u chorej zastosowano cotygodniową plazmaferezę. Ustępowanie objawów zaobserwowano już w siódmym dniu od zakończenia pierwszego kursu. Znaczącą poprawę odnotowano natomiast po trzecim podaniu i utrzymywała się ona na podobnym poziomie przez kolejne 15 miesięcy [11]. Zaobserwowano, iż dożylnie zastosowanie immunoglobulin przynosi zróżnicowane efekty w zależności od typu zespołu paranowotworowego i momentu rozpoczęcia terapii. Najlepszą, pozytywną odpowiedź obserwuje się u pacjentów z rozpoznaniem miastenicznym zespołem Lamberta - Eatona i zapaleniem skórno-mięśniowym ze względu na brak uszkodzenia w tych przypadkach struktur ośrodkowego układu nerwowego. Wczesne rozpoczęcie leczenia odpowiednimi dawkami immunoglobulin wydaje się zwiększać szanse uzyskania poprawy klinicznej [112]. Zastosowanie dożylnie immunoglobulin w połączeniu z metyloprednizolonem u pacjentki z nowotworem złośliwym jajnika (cystadenocarcinoma serous), oraz PCD przedstawił w swoim artykule Widdess-Walsh i wsp. [115]. Pacjentka otrzymywała przez trzy dni po 1g/dzień metyloprednizolonu dożylnie. Od drugiego do szóstego dnia terapii dodatkowo podawano dożylnie immunoglobuliny w dawce 400mg/kg. W ciągu miesięcznej terapii odnotowano istotną poprawę, oraz ustąpienie większości dolegliwości [115]. Pojawiają się również pojedyncze doniesienia wskazujące na wyraźnie korzystny efekt leczniczy zastosowania Rituximabu u pacjentów z neurologicznym zespołem paranowotworowym. Przeciwciała to poprzez zablokowanie receptorów powierzchniowych CD20 limfocytów B zmniejsza ich aktywność, a tym samym nasilenie procesu zapalnego, który jest znaczącą komponentą zmian w przebiegu PNS [24]. Słaba odpowiedź na leczenie immunosupresyjne, lub też plazmaferezę w zespołach obejmujących centralny układ nerwowy wydaje się wynikać z faktu syntezy IgG lokalnie, bezpośrednio w obrębie układu nerwowego. Fakt lepszej odpowiedzi na leczenie w przypadku LEMS wydaje się wynikać z braku

bezpośredniego, patologicznego wpływu przeciwciał na komórki nerwowe, a jedynie na presynaptyczną część złącza nerwowo-mięśniowego [73].

Dotychczasowe wnioski wskazują na korzystniejszy wpływ stosowania złożonego leczenia, w porównaniu do monoterapii. Podkreśla się znaczenie leczenia operacyjnego jako najistotniejszego elementu właściwej terapii, choć fakt usunięcia nowotworu nie jest jednoznaczny z ustąpieniem klinicznych wykładników zespołu neurologicznego. Mimo to doświadczenia kliniczne wskazują, iż pacjenci, którzy otrzymali leczenie przeciwnowotworowe, bez względu na dalszą immunoterapię, żyli znacząco dłużej, niż ci, u których nie zastosowano terapii onkologicznej [14]. Jednak brak danych odnośnie efektywnych metod leczenia potwierdzonych na dużych grupach pacjentów pozostawia otwartą drogę do dalszych badań i poszukiwania skutecznych i bezpiecznych leków.

1.3.5. Rodzaje i znaczenie przeciwciał onkoneuronalnych w diagnostyce neurologicznych zespołów paranowotworowych

Po raz pierwszy obecność specyficznych przeciwciał skierowanych przeciwko komórkom nerwowym stwierdzili i opisali Croft i Wilkinson w 1965 roku w surowicy krwi chorego z czuciową neuropatią i rakiem owsianokomórkowym płuc [13,77]. Przeciwciała, których częstsze występowanie stwierdzono w przypadku określonych zespołów neurologicznych i nowotworów złośliwych zakwalifikowano do grupy dokładnie określonych przeciwciał onkoneuronalnych (ang.: „well characterised” onconeural antibodies). Te dla których zidentyfikowano konkretne antygeny, możliwe do wykrycia w testach laboratoryjnych to: anty-Yo, anty-Hu, anty-CV2, anty-Ma, anty-Ri, oraz przeciwciało przeciwko amfifizynie. Natomiast przeciwciała anty-Tr i inne obserwowane w badaniu immunofluorescencji pośredniej wyodrębnione zostały w osobną podgrupę przeciwciał onkoneuronalnych – częściowo określonych, ze względu na brak swoistych testów potwierdzających ich obecność

Nazewnictwo przeciwciał onkoneuronalnych ma dwojaki charakter. Utworzone jest w oparciu o dwie pierwsze litery nazwiska chorego, u którego wykryto je po raz pierwszy, jak w przypadku. anty-Yo, anty-Hu, czy anty-Ri [17]. Drugi rodzaj nomenklatury powstał w oparciu o uzyskany charakterystyczny wzorec świecenia w mikroskopie świetlnym po przeprowadzonych testach immunofluorescencji pośredniej, wskazujący na umiejscowienie

antygenów docelowych dla danego przeciwciała (np. ANNA-1 : anti neuronal nuclear antibody 1; PCA-1: anti-Purkinje cell antibody) [50].

Przeciwciała onkoneuronalne cechują się czułością rzędu 50-60% i wysoką specyficznością wynoszącą blisko 100% dla rozpoznawania zespołów paranowotworowych w przebiegu nowotworów złośliwych [114]. Jednak u jednej trzeciej pacjentów pomimo występowania objawów neurologicznych nie stwierdza się ich obecności [63]. Co ciekawe u 20% chorych pomimo potwierdzonej obecności przeciwciał onkoneuronalnych i rozpoznanego zespołu neurologicznego nie stwierdza się żadnych wykładników rozwijającego się nowotworu złośliwego [77].

Od 1995 roku w diagnostyce neurologicznych zespołów paranowotworowych obowiązują określone standardy w zakresie wykrywania i potwierdzania obecności przeciwciał onkoneuronalnych w surowicy krwi diagnozowanych pacjentów [65]. Jako badanie przesiewowe do wykrycia obecności przeciwciał wykorzystuje się test immunofluorescencji pośredniej, mający na celu ocenę ilościową poszukiwanych przeciwciał. W przypadku uzyskania pozytywnego wyniku należy wykonać test potwierdzający z wykorzystaniem techniki Western blotting pozwalający na weryfikację, a więc sprecyzowanie określonego rodzaju przeciwciała [63].

Stwierdzenie obecności przeciwciał onkoneuronalnych jest istotne nie tylko dla rozpoznania neurologicznego zespołu paranowotworowego, ale ma również znaczenie rokownicze dla pacjentów z potwierdzonym nowotworem złośliwym. Czas przeżycia od momentu rozpoznania nowotworu złośliwego jest zdecydowanie krótszy u pacjentów ze stwierdzonymi przeciwciałami anti-Yo (średnio 13 miesięcy), lub anti-Hu (średnio 7 miesięcy) w porównaniu z chorymi, u których potwierdzono obecność przeciwciał anti-Ri (średni czas 69 miesięcy), lub anti-Tr (średnio 113 miesięcy) [14,87]. W przypadku pacjentów z potwierdzoną obecnością przeciwciał anti-Yo rokowania są gorsze dla pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika, niż w przypadku stwierdzonego raka piersi [106]. W badaniu Graus i wsp. z 1997 roku wykazano, iż pacjenci z drobnokomórkowym rakiem płuca, bez objawów neurologicznych, ale z obecnością przeciwciał anti-Hu w surowicy mają lepsze rokowanie niż ci, u których nie wykryto przeciwciał [32]. Prognozy są również korzystniejsze w przypadku chorych z rozwiniętym paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku bez obecności przeciwciał onkoneuronalnych, w porównaniu do pacjentów z potwierdzoną obecnością przeciwciał anti-Hu [106].

1.3.5.1. Grupa przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych

Epokę diagnostyki neurologicznych zespołów paranowotworowych w oparciu o obecność przeciwciał zapoczątkowało wykrycie przez Wilkina i Żeromskiego w 1965 roku przeciwciała anty-Hu (ang.: anti-neuronal nuclear antibody 1 – ANNA-1). Zidentyfikowano je u czwórki pacjentów z rozpoznaną podostrą czuciową neuropatią i rakiem płuca [116]. Ponowne doniesienia pojawiły się w 1985 roku, kiedy to Graus i wsp. przedstawił kolejne przypadki potwierdzonej obecności przeciwciał skierowanych przeciwko jądrom komórek nerwowych w przebiegu SSN i raka płuc [31]. W teście IF pośredniej przeciwciała anty-Hu wykazują reakcję z jądrami neuronów zarówno w ośrodkowym, jak i obwodowym układzie nerwowym, natomiast w teście potwierdzenia Western blotting reagują z białkami neuronalnymi o masie 35-40kDa. Rodzina białek Hu obejmuje proteiny HuB/Hel-N1, HuC, oraz HuD, które zlokalizowane są w obrębie jąder neuronów, za wyjątkiem HuB/Hel-N1, które wykrywane są również w obrębie komórek jajników [102,103]. Najczęściej ich obecność stwierdza się łącznie z rozpoznaniem zapalenia układu limbicznego, paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku, oraz czuciową neuropatią [62]. Częstość występowania jest zróżnicowana i zależna od typu nowotworu. W ogólnym ujęciu wykrywa się je w 8-90% przypadków nowotworów złośliwych, głównie drobnokomórkowego raka płuc, nerwiaka zarodkowego, rzadziej niedrobnokomórkowego raka płuc, nowotworów złośliwych jajnika, gruczołu krokowego, lub nasieniaka [63].

Po raz pierwszy korelację pomiędzy występowaniem nowotworu złośliwego jajnika, a zespołem neurologicznym opisano w roku 1983. Dwaj badacze – Greenlee i Brasher przedstawili przypadek pacjentki z nowotworem złośliwym jajnika i towarzyszącym podostrym zwyrodnieniem mózdzku, u której wykryto specyficzny typ przeciwciał [30]. Do dzisiaj akceptowaną nazwę dla tych przeciwciał – anty-Yo, wprowadził kilka lat później Furneaux i wsp. w 1990 roku [30]. W teście immunofluorescencji pośredniej wywołują one gruboziarnistą reakcję z cytoplazmą komórek Purkiniego, oraz z aksonami i dendrytami neuronów. Natomiast w metodzie Western blotting odpowiadają za reakcję z białkami wyizolowanymi z komórek Purkiniego o masie 34kDa i 62kDa. Stąd też ich nazwa: przeciwciała przeciwko komórkom Purkiniego (ang.: anti-Purkinje cell antibody; PCA-1). Istnieją trzy podtypy białka Yo: cdr34, cdr62-1 i cdr62-2. Analiza pacjentów, u których rozpoznano PCD i przeciwciała anty-Yo wykazała, iż w obrębie komórek nowotworu złośliwego jajnika stwierdza się ektopową ekspresję białek cdr34 i cdr62-1, ale nie cdr62-2

[19,73]. Najczęściej obecność tych przeciwciał stwierdza się u pacjentek z paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku, oraz w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika i piersi [29,65]. Nasilające się wykładniki PNS są przyczyną zgonu wśród 30% pacjentek z potwierdzonymi przeciwciałami anti-Yo i nowotworem złośliwym jajnika [63]. Średni czas przeżycia pacjentów z przeciwciałami anti-Yo u pacjentek z rozpoznaniem raka jajnika wynosi 22 miesiące, a w przypadku raka piersi 100 miesięcy [63]. U pacjentów z paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku i obecnymi przeciwciałami anti-Yo objawy neurologiczne wyprzedzają aż u 60% rozpoznanie kliniczne nowotworu złośliwego jajnika [29].

Spośród pozostałych przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych docelowe antygeny w obrębie neuronów mózgu posiadają przeciwciała anti-Ri, anti-Ma, oraz anti-amfifizyna. Przeciwciała anti-Ri (ang.: anti – neuronal nuclear antibody-2; ANNA-2) scharakteryzowano po raz pierwszy w przebiegu zespołu opsoklonii-mioklonii [7]. Natomiast ich nazwę wprowadził jako pierwszy Luque i wsp. w 1991 roku [52]. W teście immunofluorescencji pośredniej wywołują ziarnistą reakcję z jądrami neuronów ośrodkowego układu nerwowego [63]. W metodzie potwierdzającej Western blotting odpowiadają za reakcję z proteinami o masie 55kDa i 80kDa należącymi do rodziny białek NOVA1 (ang.: neuronal onconeural central nervous system antygen) i NOVA2. Przeciwciała anti-Ri występują w paranowotworowym zwyrodnieniu mózdzku, oraz zespole opsoklonie-mioklonie [62] towarzysząc między innymi rakowi piersi, nowotworom złośliwym jajnika i drobnokomórkowemu rakowi płuc [63,65].

Przeciwciała anti-Ma/anti-Ta są odpowiedzialne za reakcję z jąderkami neuronów mózdzku i mózgu w immunofluorescencji pośredniej. Natomiast metodą Western blotting potwierdza się reakcję z występującymi wewnątrz jądra komórkowego białkiem Ma2 o masie 41,5kDa (PNMA2), lub białkiem Ma1 o masie 37kDa [63]. Znaczenie w obrębie układu nerwowego białek z grupy Ma jest wciąż nieznane. Ich obecność stwierdza się między innymi w przebiegu raka piersi i jajnika z towarzyszącym zapaleniem pnia mózgu, jak również zapaleniu jąder u mężczyzn [62,106].

Przeciwciała przeciwko amfifizynie wywołują świecenie zakończeń presynaptycznych neuronów mózdzku wykazując większe nasilenie w warstwie drobinowej niż ziarnistej [63]. Reagują z białkami o masie 128kDa zlokalizowanymi w pęcherzykach synaptycznych,

co potwierdza test Western blotting. Wykrywane są w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika również w powiązaniu z zespołem „sztywnego człowieka” (ang.: Stiff-man syndrome) [62].

W wyniku testu immunofluorescencji pośredniej przeciwciała anti-CV2 (ang.: collapsin response-mediated protein; anti-CRMP5) wywołują świeceniem cytoplazmy oligodendrocytów mózdzku widoczne w mikroskopie świetlnym. Natomiast w teście Western blotting reagują z białkami o masie 66kDa [39,63]. Po raz pierwszy zostały opisane, jako potencjalny marker zespołów paraneoplastycznych w roku 1996 przez Honnorat’a i współautorów [94]. Najczęściej wykrywane są u pacjentów z zapaleniem mózgu i rdzenia kręgowego, paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku, zapaleniem układu limbicznego, oraz zespołem Lamberta - Eatona [62]. Neuropatia o charakterze PCD obserwowana jest u 60% pacjentów z przeciwciałami anti-CV2, przy czym przeciwciała te wykrywane są u 70% wszystkich pacjentów z paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku [106].

1.3.5.2. Przeciwciała anti-Tr i anti-NMDA – częściowo określone przeciwciała onkoneuronalne

Coraz liczniejsze badania nad występowaniem neurologicznych zespołów paranowotworowych i towarzyszących im procesów immunologicznych dostarczają informacji na temat nowo wykrytych, specyficznych przeciwciał. Ze względu na często pojedyncze, kazuistyczne doniesienia, oraz fakt występowania nieznanymi antygenów i tym samym braku możliwości opracowania ich rekombinowanych białek zostały one zakwalifikowane, jako przeciwciała częściowo określone.

Przeciwciała anti – Tr odpowiedzialne jest za reakcję z antygenami zlokalizowanymi w cytoplazmie komórek Purkiniego, oraz rozgałęzieniach dendrytów. Nie określono jak do tej pory specyficznego antygeny dla przeciwciała anti-Tr. Podstawowymi immunoglobulinami reprezentującymi obecność anti-Tr są immunoglobuliny klasy IgG1 i IgG3. Wstępuje najczęściej u chorych z paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku, oraz chorobą Hodgkina, która jest trzecim najczęściej wykrywanym nowotworem złośliwym w przebiegu PCD po raku drobnokomórkowym płuc i jajnika [106].

Stosunkowo niedawno odkryte przeciwciała skierowane przeciwko N-metylo-D-asparaginianowi reaguje z heteromerami NR1, NR2B receptora NMDA komórek nerwowych [14,18,101]. Do pełnego, prawidłowego funkcjonowania receptora konieczne są jego dwie

składowe NR1 i NR2B [18,110]. Występują cztery podklasy heteroerów NR2 (A-D) charakteryzujące się homologiczną sekwencją aminokwasów w obrębie pozakomórkowej części domeny – NR2B jest w 70% identyczny z NR2A, oraz w 55-80% identyczny z NR2C i NR2D [18]. Antygeny NR2A zlokalizowane są w większości struktur mózgu, NR2B występuje w obrębie hipokampa i przodomózgowia, NR2C natomiast w mózdzku, a NR2D w ograniczonym zakresie w neuronach mózgu [18,53,110]. Dysfunkcja receptora NMDA wykazuje powiązanie z występowaniem schizofrenii, padaczki, oraz demencji [18,53,110].

Obecność przeciwciał anti-NMDA w około 65% przypadków powiązana jest z obecnością potworniaka jajnika [14]. Najczęstszym towarzyszącym zespołem neurologicznym jest zapalenie układu limbicznego, przebiegające jednak w nieco odmienny sposób niż postać klasyczna. W większości dotyczy młodych kobiet, u których w początkowym okresie występują mało specyficzne objawy, jak bóle głowy, dreszcze, objawy grypopodobne. Przy w pełni rozwiniętym obrazie klinicznym dominują objawy psychotyczne, dyskinezy, hipowentylacja i niestabilność układu autonomicznego przejawiająca się głównie wahaniami ciśnienia tętniczego, zaburzeniami rytmu serca i hipertermią [14]. Przeciwciała skierowane tylko przeciwko podtypowi NR2B (GluR ϵ 2) receptora NMDA spotykane są rzadziej, a ich obecność wiąże się z klasycznym obrazem klinicznym zapalenia układu limbicznego [14].

1.3.6. Przeciwciała przeciwko składowym osłonek włókien nerwowych

Struktury osłonek włókien nerwowych zawierają szereg potencjalnych autoantygenów w tym podstawowy element mielinę, oraz jej główną składową glikoproteinę związaną z mieliną (ang.: myelin-associated-glycoprotein; MAG). Najistotniejszą rolą tych białek jest uczestnictwo w procesie mielogenezy. Stąd też obecność skierowanych przeciwko nim przeciwciał stwierdza się między innymi w polineuropatiach, neuropatii demielinizacyjnej, czy zespole Guillain-Barré. Przeciwciała anti-MAG największą wartość diagnostyczną wykazują w przypadku neuropatii o podłożu autoimmunologicznym. Natomiast przeciwciała przeciwko mielinie mają znaczenie rokownicze głównie w przypadku neuropatii demielinizacyjnej [63].

1.3.7. Inne przeciwciała w zespołach paranowotworowych

Przeciwciała anti-GAD wykryte zostały w 1982 roku przez Baekkeskov i wsp. Reagują z dekarboksylazą kwasu glutaminowego przekształcającą glutaminian do kwasu gamma-aminomasłowego (GABA) [63]. W immunofluorescencji pośredniej powodują świecenie warstwy ziarnistej mózdzku. Jako składowa przeciwciał przeciwko komórkom wysp trzustkowych (ang.: islet cell antibodies; ICA) stanowi jedno z pierwszych przeciwciał wykrywanych w stanach przedcukrzycowych, potwierdzając etiologię immunologiczną rozwoju cukrzycy typu 1. Stwierdza się je ponadto u chorych z nowotworem złośliwym piersi, grasiczakiem, jak również w przebiegu nowotworów złośliwych jajnika, choć w tych przypadkach udział w etiopatogenezie jest mniej jednoznaczny niż w przypadku rozwoju cukrzycy [14,63].

Dotychczasowe badania przedstawione w literaturze obejmowały przekrojowe grupy pacjentów kwalifikowanych pod względem różnych zespołów neurologicznych, bądź też zróżnicowanych, przekrojowych grup nowotworów złośliwych. W przeciwieństwie do nich nowatorski charakter niniejszej pracy polega na objęciu badaniem dużej grupy pacjentek z rozpoznaniem tylko i wyłącznie guzem jajnika. Użyteczność kliniczna dotyczyć będzie przede wszystkim oceny zależności między występowaniem nowotworów złośliwych jajnika, a obecnością przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych będących istotnym kryterium rozpoznania neurologicznego zespołu paranowotworowego.

2. CEL PRACY.

Celem niniejszej pracy było:

1. Określenie związku pomiędzy rodzajem guza jajnika, a obecnością przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych, oraz
2. Poszukiwanie zależności pomiędzy obecnością przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych, a poziomem wybranych markerów nowotworowych:
CA 125, CEA, AFP

Cele te realizowano poprzez:

- analizę rozpoznań histopatologicznych guzów jajnika w badanej grupie pacjentek
- ocenę statusu immunologicznego poprzez analizę obecności:
 - dokładnie określonych przeciwciał onkoneuronalnych: anty-Hu, anty-Yo, anty-Ri, anty-Ma, anty-CV2, anty-amfifizyna
 - częściowo scharakteryzowanych przeciwciał onkoneuronalnych: anty-Tr, anty-NMDA
 - przeciwciał antyneuronalnych: anty-mielina, anty-neuroendothelium, anty-MAG, anty-GAD

3. MATERIAŁ I METODYKA.

3.1. Charakterystyka badanej grupy pacjentek

Badaniem objęto łącznie grupę 123 pacjentek diagnozowanych i leczonych w Klinice Ginekologii Operacyjnej, Katedry Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, z powodu guzów jajnika w okresie od 2007 do 2009 roku.

Grupa ta objęła 55 pacjentek z potwierdzonym histopatologicznie nowotworem złośliwym jajnika, oraz 68 pacjentek ze zmianami niezłośliwymi, w tym 21 pacjentek z rozpoznaniem potworniakiem dojrzałym. Pacjentki z rozpoznaniem histopatologicznym – teratoma adultum ovarii, zdecydowano się wyodrębnić w osobną podgrupę ze względu na pojawiające się w literaturze doniesienia wskazujące na odrębną immunogenność tego typu nowotworów i specyficzny typ towarzyszących im przeciwciał [15,20, 61,109].

U każdej z analizowanych pacjentek przeprowadzono wywiad lekarski ze szczególnym uwzględnieniem wieku, fazy cyklu miesięczkowego, statusu menopauzalnego, chorób dodatkowych, oraz aktualnie stosowanych leków. Kryterium wykluczenia z badania stanowiły choroby o podłożu autoimmunologicznym, jak również aktualnie trwające, bądź też przebyte leczenie immunodelujące.

Diagnostyka wstępna, kwalifikująca do leczenia operacyjnego obejmowała badanie ginekologiczne, ocenę ultrasonograficzną, oraz oznaczenie w surowicy krwi stężenia wybranych markerów nowotworowych: CA-125, CEA, AFP, którą przeprowadzono w Pracowni Immunodiagnostycznej Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w oparciu o testy Elecsys firmy Roche. Diagnostykę obrazową przeprowadzono z wykorzystaniem aparatu firmy Aloka modelu 5500 SSD z głowicą dopochwową o częstotliwości 7,5MHz w oparciu o klasyfikację IOTA (ang.: International Ovarian Tumor Analysis) [100]. W przypadku pacjentek miesiączkujących wszystkie badania przeprowadzono w okresie 1-5 dni przed wdrożeniem leczenia operacyjnego w pierwszych 10 dniach cyklu miesięczkowego.

Ostateczne rozpoznanie określano w oparciu o stadium zaawansowania klinicznego według kryteriów Międzynarodowej Federacji Ginekologów i Położników, oraz pooperacyjną weryfikację histopatologiczną przeprowadzoną w Pracowni Patomorfologicznej Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego - SPZOZ w Poznaniu.

Ponadto każdą pacjentkę poddano badaniu neurologicznemu, w którym oceniano kolejno nerwy czaszkowe, układ ruchowy z uwzględnieniem ruchów biernych, zborność

i zakres ruchów czynnych, jak również napięcie mięśniowe i siłę mięśniową, oraz objawy patologiczne. Oceniano także charakter chodu, zakres czucia, oraz występowanie objawów oponowych i prawidłowość mowy. Badania przeprowadzane były przez lekarza neurologa, przy czym uzyskany obraz kliniczny analizowano pod względem kryteriów Grausa z 2004 roku pozwalających rozpoznać neurologiczny zespół paranowotworowy [33].

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Ponadto od każdej z pacjentek uzyskano pisemną zgodę na udział w badaniu po szczegółowym poinformowaniu o jego przebiegu, zakresie i celu.

3.2. Testy weryfikujące obecności przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych

Surowicę krwi każdej pacjentki przebadano w kierunku obecności przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych poprzez wykonanie oceny immunofluorescencji pośredniej, jako testu przesiewowego, oraz następnie weryfikacji wyników dodatnich testem Western - blotting. Diagnostykę laboratoryjną wykonywano w Zakładzie Neurochemii i Neuropatologii Szpitala Klinicznego nr 2 w Poznaniu. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem materiałów i odczynników firmy Euroimmun, AG, Luebeck, Germany w oparciu o opatentowaną technologię BIOCHIP i technikę TITERPLANE.

Po uwzględnieniu kryteriów wykluczenia i zakwalifikowaniu do badania od każdej chorej pobrano w okresie przedoperacyjnym około 20ml krwi. Przed rozpoczęciem testu immunofluorescencji pośredniej próbki badanej surowicy krwi rozcieńczono przygotowanym uprzednio buforem fosforanowym (PBS-Tween) w stosunku 1:10. Na wyznaczone pola reakcyjne płytek dla reagentów nanoszono po 25µl rozcieńczonej badanej surowicy. Dołączone do zestawu płytki Biochip umieszczano następnie w wycięciu płytek reakcyjnych rozpoczynając trzydziestominutową inkubację. W przypadku występowania specyficznych przeciwciał klasy IgA, IgM, IgG w badanej surowicy wiązały się one z adekwatnymi antygenami substratów biologicznych. W kolejnym etapie na oczyszczone uprzednio pola reakcyjne wprowadzono po 20µl znakowanej fluoresceiną surowicy anty-ludzkiej (ang.: fluorescein-labelled secondary antibody; FITC). Następnie nanoszono opłukane buforem fosforanowym płytki Biochip i rozpoczynano kolejny proces inkubacji trwające kolejne 30 minut. Wykorzystanie surowicy anty-ludzkiej, jako reagenta wykrywającego przeciwciała

związane ze swoistym antygenem substratu biologicznego pozwoliło na ocenę obecności przeciwciał w badanej surowicy. Uzyskany wzorec świecenia oceniano następnie w mikroskopie fluorescencyjnym (EUROSTAR, Zeiss).

Celem potwierdzenia obecności wykrytych przeciwciał wykonywano test Western Blotting. Zasada testu opierała się na inkubacji badanej surowicy (rozcieńczonej uprzednio w roztworze buforu uniwersalnego) z paskami błony nitrocelulozowej z naniesionymi rekombinowanymi białkami stanowiącymi antygeny onkoneuronalne. W pozytywnych przypadkach poszukiwane przeciwciała klasy IgG ulegały związaniu ze swoistym antygenem. Podczas kolejnej inkubacji z wykorzystaniem koniugatu enzymatycznego (rozcieńczonego buforem) dochodziło do reakcji powstałych kompleksów z przeciwciałami skierowanymi przeciwko immunoglobulinom ludzkim klasy IgG sprzężonym z fosfatazą zasadową. W końcowym etapie wywołane paski membrany skanowano i oceniano ostatecznie komputerowo. O prawidłowości wykonanego testu świadczyło intensywne wybarwienie paska kontrolnego.

3.3. Analiza statystyczna.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy pomocy licencjonowanej wersji oprogramowania MedCalc. W pierwszym etapie oceniono testem Shapiro-Wilka, Kołmogorowa-Smirnowa normalność rozkładu zmiennych. W celu weryfikacji istotności założonych hipotez statystycznych użyto następujących testów: t-Studenta dla zmiennych niepowiązanych, test Welcha, test Manna-Whitney'a, oraz dokładny test Fishera. Do oceny charakteru rozkładu badanych parametrów wykorzystano test Kołmogorowa-Smirnowa. Ponadto w przypadku weryfikacji występowania analizowanych przeciwciał określono dodatkowo iloraz szans (Odds Ratio) wykrycia przeciwciał w poszczególnych grupach nowotworów.

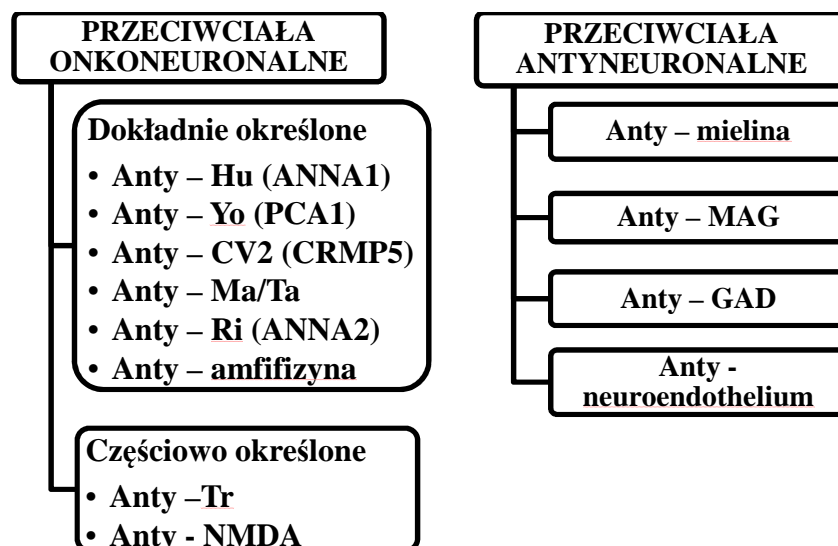
Testem t-Studenta dla zmiennych niepowiązanych posłużono się w celu oceny istotność różnic uzyskanych w ocenie ultrasonograficznej wymiarów zmian nowotworowych pomiędzy analizowanymi grupami pacjentek w zależności od wykrytych przeciwciał. Warunkami zastosowania testu t-Studenta było: 1) wartości zmiennych przedstawione w skali interwałowej, 2) równość wariancji w obu grupach (oceniana za pomocą testu Fishera-Snedecora), 3) rozkład zmiennych o charakterze normalnym w obu grupach (oceniany przy wykorzystaniu testu Kołmogorowa-Smirnowa), 4) brak powiązania zmiennych w analizowanych grupach.

Test Welcha został wykorzystany do oceny istotności różnic ocenionych wymiarów nowotworu w zależności od rozpoznanego typu przeciwciał w sytuacji, gdy stwierdzono występowanie istotnych różnic w wariancjach obu badanych grup, przy założeniu normalności rozkładu zmiennych niepowiązanych.

Test Manna-Whitneya zastosowano, jako test nieparametryczny dla wartości zmiennych niepowiązanych dla przypadków: 1) wartości zmiennych wyrażonych w skali porządkowej, lub 2) zmiennych przedstawionych w skali interwałowej przy założeniu braku normalności rozkładu analizowanych zmiennych w co najmniej jednej z ocenianych grup. Testem tym oceniono w niniejszej pracy istotność różnicy poziomu wybranych markerów nowotworowych w ujęciu badanych przeciwciał. Wykorzystany został również do analizy różnic średniego wieku pacjentek w zależności od rodzaju wykrytego nowotworu, typu przeciwciała, oraz określonego statusu menopauzalnego.

Dokładny test Fishera, jako nieparametryczny test statystyczny użyto do analizy tabeli kontyngencji. Dokładny test Fishera zastosowano w przypadku zmiennych niepowiązanych, oraz zmiennych wyrażonych w skali nominalnej. Został on wykorzystany do oceny istotności różnic w liczebności pacjentek w poszczególnych grupach pacjentek w zależności od typu nowotworu jajnika, jak i rodzaju występujących przeciwciał, oraz różnic ich występowania w poszczególnych grupach chorych.

Poniżej przedstawiono schematyczne zestawienie przeciwciał poddanych analizie w badanej grupie pacjentek w zależności od rozpoznanego nowotworu jajnika.

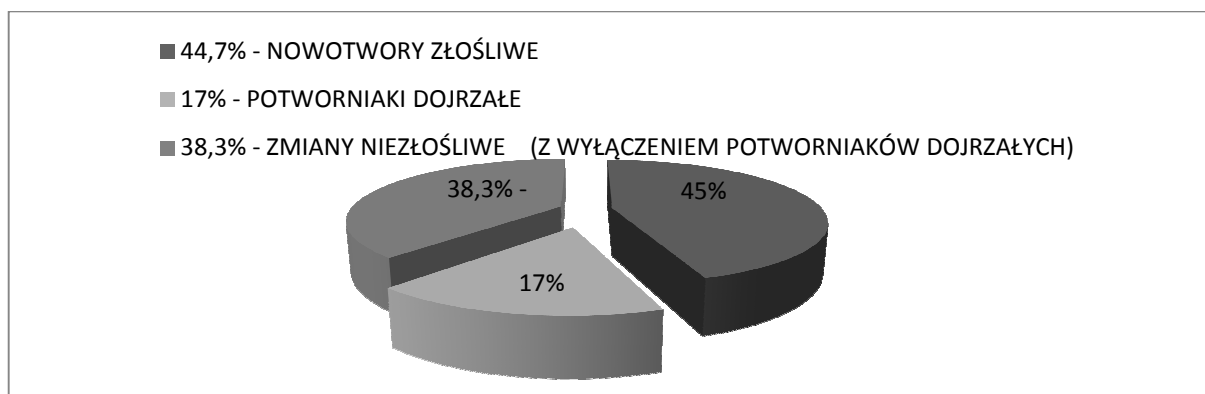


Rycina 6: Rodzaje przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych poddanych analizie w badanej grupie pacjentek.

4. WYNIKI

4.1. Kliniczna analiza badanej grupy pacjentek.

Materiał obejmował łącznie 123 pacjentki diagnozowane i leczone z powodu guzów jajnika w wieku od 15 do 76 lat (średnia wieku $45,9 \pm 13,8$ lat). W grupie badanej było 55 (44,7%) pacjentek z rozpoznaniem nowotworem złośliwym jajnika, oraz 68 (55,3%) pacjentek ze zmianami niezłośliwymi, w tym 21 (17%) pacjentek z potwornikiem dojrzałym (Ryc.7).



Rycina 7: Częstość występowania nowotworów złośliwych i zmian niezłośliwych, w tym potworników dojrzałych w badanej grupie pacjentek.

Wiek pacjentek / Rodzaj guza jajnika	Średni wiek	Zakres wiekowy
Nowotwór złośliwy jajnika	$54,3 \pm 10,1$ lat	34 - 76 lat
Wszystkie guzy niezłośliwe jajnika	$39,1 \pm 12,8$ lat	15 - 72 lat
Potworniak dojrzały	$35,8 \pm 13,3$ lat	15 - 61 lat
Guzy niezłośliwe inne niż potworniak dojrzały	$40,6 \pm 12,4$ lat	18 - 72 lat

Tabela 1: Wiek badanych pacjentek w zależności od rodzaju rozpoznanej zmiany w obrębie jajnika.

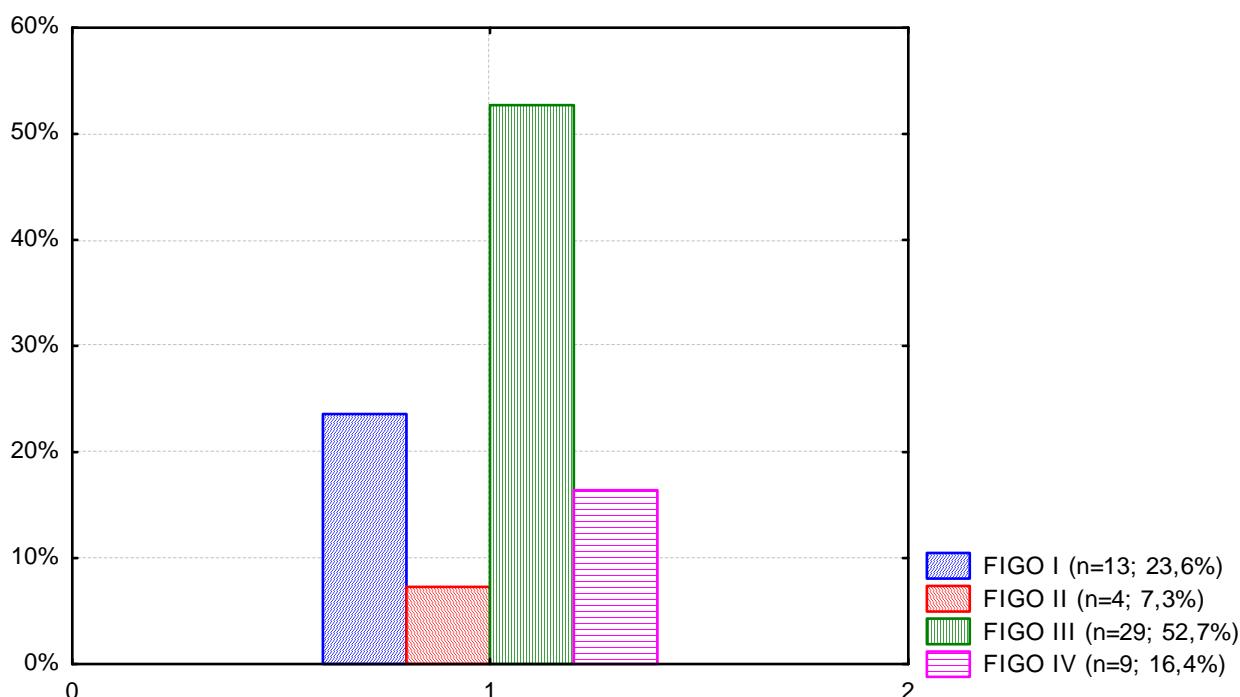
Kobiet z rozpoznaniem nowotworem złośliwym jajnika były starsze niż pacjentki ze zmianami niezłośliwymi i potwornikiem dojrzałym ($p < 0.0001$). W grupach pacjentek ze zmianami niezłośliwym i potwornikiem dojrzałym różnica wieku była nieistotna statystycznie ($p=0.1524$) (Tab.1).

Status menopauzalny	Średni wiek
Przed menopauzą (n=79; 64,2%)	37,75 ± 9,55 lat
Po menopauzie (n=44; 35,8%)	60,72 ± 6,1 lat

Tabela 2: Wiek pacjentek w zależności od statusu menopauzalnego w badanej grupie.

Wśród 55 kobiet z rozpoznaniem nowotworem złośliwym w okresie pomenopauzalnym były 33 (60%) chore, natomiast przed menopauzą 22 (40%) pacjentki. Dla porównania w grupie z guzami niezłośliwymi łącznie z potworniakami dojrzałymi proporcje te kształtowały się w następujący sposób: 57 (83,8%) pacjentek przed menopauzą, oraz 11 (16,2%) po menopauzie.

Wśród chorych z nowotworem złośliwym jajnika stopień zaawansowania klinicznego według kryteriów Międzynarodowej Federacji Ginekologów i Położników FIGO przedstawiał się następująco: w I stopniu zaawansowania klinicznego było 13 (23,6%) pacjentek, w II – 4 (7,3%) chore, a w III – 29 (52,7%) kobiet. Natomiast w 9 (16,4%) przypadkach stwierdzono nowotwór złośliwy w IV stopniu zaawansowania klinicznego. Kształtowanie się powyższych proporcji przedstawiono na rycinie nr 8.



Rycina 8: Zestawienie występowania nowotworów złośliwych jajnika w badanej grupie 55 pacjentek w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego wg FIGO.

Rozpoznanie histopatologiczne uzyskane wśród 123 kobiet ze zmianami w obrębie jajników zestawiono w poniżej przedstawionych tabelach uwzględniając podział na nowotwory złośliwe i zmiany niezłośliwe (Tab.3; Tab.5).

Wśród nowotworów złośliwych ponad połowę ostatecznych rozpoznań pooperacyjnych stanowiły gruczolakoraki surowicze (n=30; 54,6%). Głównymi nowotworami o charakterze niezłośliwym były natomiast torbiele endometrialne (n=22; 32,4%), oraz potworniaki dojrzałe (n=21; 30,9%).

TYP HISTOLOGICZNY	N (ODSETEK)
GRUCZOLAKORAK SUROWICZY	30 (54,6%)
GRUCZOLAKORAK ŚLUZOWY	6 (10,9%)
GRUCZOLAKORAK ENDOMETRIALNY	7 (12,7%)
GRUCZOLAKORAK JASNOKOMÓRKOWY	5 (9,1%)
RAK NIEZRÓŻNICOWANY	7 (12,7%)
RAZEM	55 (100%)

Tabela 3: Zestawienie rozpoznań histopatologicznych wśród 55 kobiet z nowotworem złośliwym jajnika.

Charakterystyka morfologii ultrasonograficznej analizowanych guzów przeprowadzona została w oparciu o klasyfikację IOTA (ang.: International Ovarian Tumor Analysis) [100]. Wśród nowotworów złośliwych wykazano znacznie częstsze występowanie zmian o charakterze guzów litych (n=19; 34,5%) i cystyczno-litych, wielokomorowych (n=22;40%). Przy czym pod względem histopatologicznym dominowały zmiany o charakterze gruczolakoraków surowiczych (n=30; 54,6%). Najczęściej nowotwory złośliwe jajnika występowały w postaci guzów obustronnych (n=34; 65,3%). Ponadto u trzech pacjentek (5,5%) z grupy nowotworów złośliwych przed leczeniem operacyjnym stwierdzono wodobrzusze pomimo braku uchwytnych zmian morfologicznych w obrębie jajników w ocenie ultrasonograficznej. W ostatecznej diagnozie pooperacyjnej u pacjentek tych rozpoznano w dwóch przypadkach gruczolakoraka surowiczego, w jednym raka niezróżnicowanego – wszystkie w III stopniu zaawansowania klinicznego według FIGO.

W grupie poddanych analizie kobiet z nowotworem złośliwym u 7 (12,7%) nie stwierdzono żadnych zmian w badaniu ginekologicznym. Wśród nich 2 chore były przed

menopauzą, a rozpoznany u nich nowotwór w II stopniu zaawansowania klinicznego. Pozostałe 5 pacjentek było w okresie pomenopauzalnym, z rozpoznaniem ostatecznym nowotworu w III stopniu zaawansowania według FIGO.

KLASYFIKACJA IOTA TYP HISTOPATOLOGICZNY	GUZ LITY	GUZ CYSTYCZNO-LITY WIELOKOMOROWY	GUZ CYSTYCZNO-LITY	GYZ CYSTYCZNY WIELOKOMOROWY	GUZ CYSTYCZNY
GRUCZOLAKORAK SUROWICZY	12 (21,8%)	11 (20%)	4 (7,3%)	1 (1,8%)	2 (3,6%)
GRUCZOLAKORAK ŚLUZOWY	1 (1,8%)	3 (5,5%)	-	2 (3,6%)	-
GRUCZOLAKORAK ENDOMETRIALNY	2 (3,6%)	4 (7,3%)	-	-	1 (1,8%)
GRUCZOLAKORAK JASNOKOMÓRKOWY	1 (1,8%)	2 (3,6%)	1 (1,8%)	1 (1,8%)	-
RAK NIEZRÓŻNICOWANY	3 (5,5%)	2 (3,6%)	1 (1,8%)	-	1 (1,8%)
RAZEM	19 (34,5%)	22 (40%)	6 (10,9%)	4 (7,3%)	4 (7,3%)

Tabela4: Związek ultrasonograficznej morfologii guza z rozpoznaniem histopatologicznym w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika w oparciu o klasyfikację IOTA [100].

W grupie pacjentek z nowotworami niezłośliwymi dominowały zmiany cystyczne (n=24;35,3%), oraz cystyczno-lite (n=19; 27,9%). Nowotwory zlokalizowane były najczęściej po jednej stronie (n=65; 95,5%) i miały głównie charakter torbieli endometrialnych (n=22; 32,4%), oraz potworniaków dojrzałych (n=21; 30,9%).

Guzy jajnika ultrasonograficznie oceniane jako struktury lite w badanej grupie nowotworów niezłośliwych we wszystkich przypadkach z wyjątkiem jednego w ostatecznym rozpoznaniu okazały się potworniakami dojrzałymi (n=8; 11,8%). Przy czym u żadnej z pacjentek nie stwierdzono obustronnego występowania potworniaka jajnika.

W całej badanej grupie pacjentek z rozpoznaniem nowotworem niezłośliwym w 6 (8,8%) przypadkach badanie ginekologiczne nie wykazało zmian w miednicy mniejszej w

okresie przedoperacyjnym. Wszystkie te pacjentki były przed menopauzą i w żadnym przypadku nie rozpoznano potworniaka dojrzałego.

TYP HISTOLOGICZNY	N (ODSETEK)
TORBIEL PROSTA	6 (8,8%)
TORBIEL ENDOMETRIALNA	22 (32,4%)
TORBIELAKOGRUCZOLAK SUROWICZY	6 (8,8%)
TORBIELAKOGRUCZOLAK SLUZOWY	4 (5,9%)
TORBIEL KRWOTOCZNA	5 (7,3%)
ROPIEŃ JAJNIKOWO-JAJOWODOWY	4 (5,9%)
POTWORNIAKI DOJRZAŁE	21 (30,9%)
RAZEM	68 (100%)

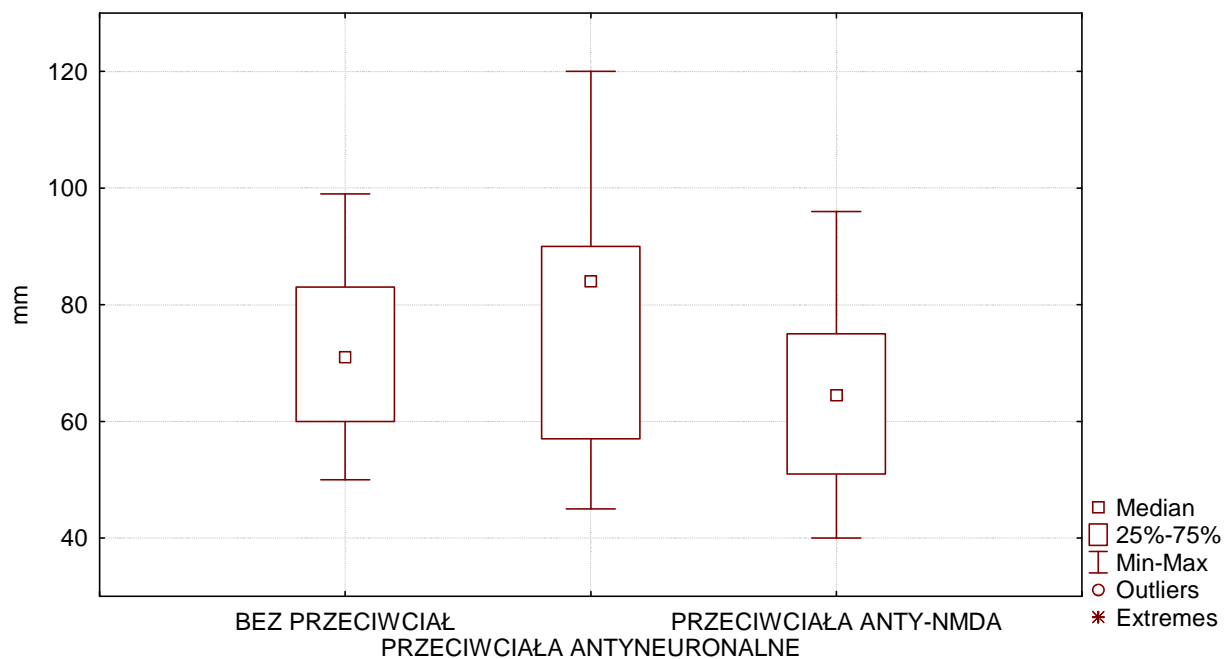
Tabela 5: Zestawienie rozpoznań histopatologicznych wśród 68 pacjentek ze zmianami niezłośliwymi w obrębie jajnika.

TYP HISTOPATOLOGICZNY / KLASYFIKACJA IOTA	GUZ LITY	GUZ CYSTYCZNO-LITY WIELOKOMOROWY	GUZ CYSTYCZNO-LITY	GYZ CYSTYCZNY WIELOKOMOROWY	GUZ CYSTYCZNY
TORBIEL PROSTA	-	-	1 (1,5%)	1 (1,5%)	4 (5,9%)
TORBIEL ENDOMETRIALNA	1 (1,5%)	-	3 (4,4%)	5 (7,4%)	13 (19,1%)
TORBIELAKOGRUCZOLAK SUROWICZY	-	-	2 (2,9%)	1 (1,5%)	3 (4,4%)
TORBIELAKOGRUCZOLAK ŚLUZOWY	-	-	1 (1,5%)	2 (2,9%)	1 (1,5%)
TORBIEL KRWOTOCZNA	-	-	1 (1,5%)	2 (2,9%)	2 (2,9%)
ROPIEŃ JAJNIKOWO – JAJOWODOWY	-	-	1 (1,5%)	2 (2,9%)	1 (1,5%)
POTWORNIAK DOJRZAŁY	8 (11,8%)	3 (4,4%)	10 (14,7%)	-	-
RAZEM	9 (13,3%)	3 (4,4%)	19 (27,9%)	13 (19,1%)	24 (35,3%)

Tabela 6: Związek ultrasonograficznej morfologii guza z rozpoznaniem histopatologicznym w grupie pacjentek ze zmianami niezłośliwymi jajnika w oparciu o klasyfikację IOTA [100].

Jednym z pytań niniejszego badania było poszukiwanie zależności pomiędzy wymiarem nowotworu określonym w ocenie ultrasonograficznej, a obecnością konkretnego typu przeciwciał w poszczególnych grupach nowotworów.

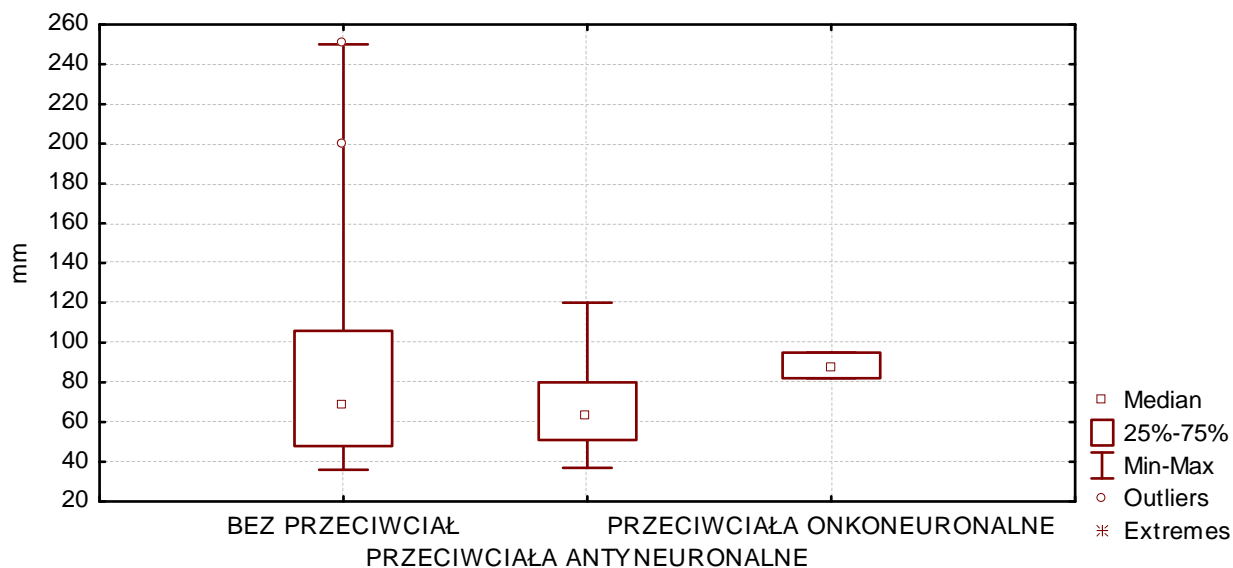
W przypadku potworniaków dojrzałych nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w wielkości guzów w zależności od typu ocenianego przeciwciała. Średni wymiar nowotworu u pacjentek bez wykrytych przeciwciał wyniósł 73,1mm (zakres 50-99 mm), z przeciwciałami antyneuronalnymi 79,2 mm (zakres 45-120 mm), oraz z przeciwciałami anti-NMDA 70,2mm (zakres 51-96 mm). Porównując wielkość zmiany w grupie chorych bez przeciwciał i wśród pacjentek ze stwierdzonymi przeciwciałami antyneuronalnymi i anti-NMDA nie stwierdzono istotnych różnic (odpowiednio: $p=0,6048$, $p=0,7503$). Podobnie w porównaniu powyższego parametru pomiędzy obiema grupami przeciwciał ($p=0,5713$).



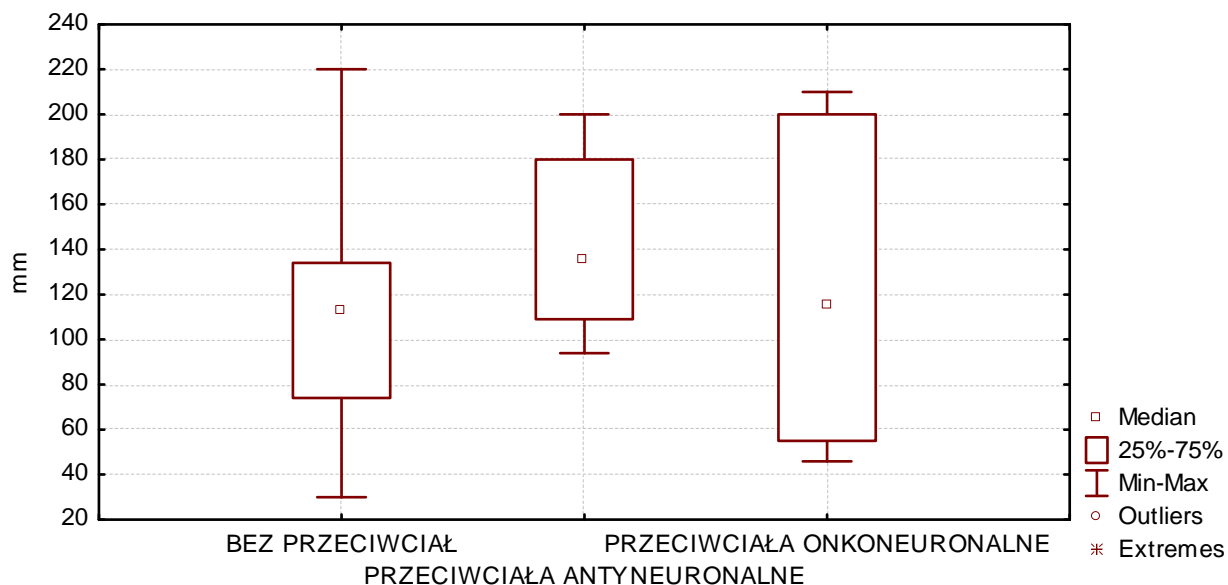
Rycina 9: Zestawienie wielkości nowotworów niezłośliwych-potworniaków dojrzałych, uzyskanych w ocenie ultrasonograficznej w zależności od wykrytego rodzaju przeciwciał.

Oceniono również istotność statystyczną dla parametru wielkości guza nowotworowego jajnika w grupie pacjentek z rozpoznanymi zmianami niezłośliwymi jajnika innymi niż potworniak dojrzały. Średni wymiar zmiany przy jednoczesnym braku przeciwciał wyniósł 86,8mm (zakres 36-250mm), z przeciwciałami antyneuronalnymi 67,7 mm (zakres 37-120 mm), oraz przeciwciałami onkoneuronalnymi 88,5 mm (zakres 82-95 mm). Wykazano brak istotności różnicy wielkości nowotworu między pacjentkami bez wykrytych przeciwciała i z przeciwciałami antyneuronalnymi ($p=0,9393$), oraz onkoneuronalnymi ($p=0,3636$).

Natomiast porównanie ocenianego parametru w grupach z przeciwciałami antyneuronalnymi i onkoneuronalnymi wykazało trend w kierunku istotności statystycznej ($p=0,0502$).



Rycina 10: Zestawienie wymiarów guzów jajnika-zmian niezłośliwych (bez potworników dojrzałych) uzyskanych w ocenie ultrasonograficznej w zależności od wykrytego rodzaju przeciwciał.

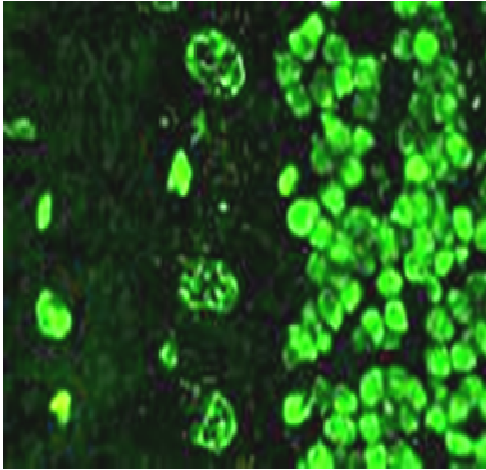


Rycina 11: Zestawienie wymiarów nowotworów złośliwych uzyskanych w ocenie ultrasonograficznej w zależności od wykrytego rodzaju przeciwciał

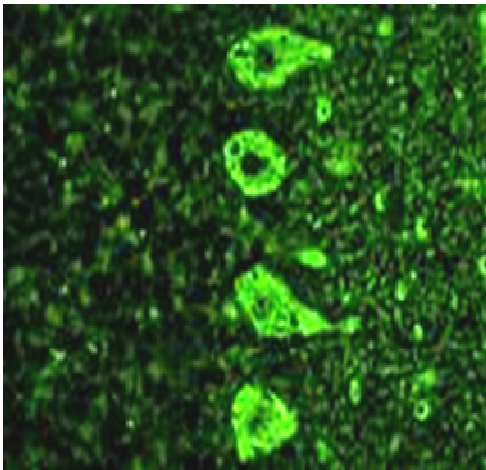
W grupie nowotworów złośliwych w ocenie ultrasonograficznej ocenione wielkości zmian przedstawiały się w następujący sposób: bez przeciwciał 119 mm (zakres 30-220 mm), z przeciwciałami onkoneuronalnymi 122 mm (zakres 46-210 mm), z przeciwciałami antyneuronalnymi 147 mm (zakres 94-200 mm). Wykazano istotną statystycznie różnicę

wielkości nowotworu pomiędzy pacjentkami bez wykrytych przeciwciał i z przeciwciałami onkoneuronalnymi ($p=0,0468$). W pozostałych przypadkach różnica ta była nieistotna statystycznie.

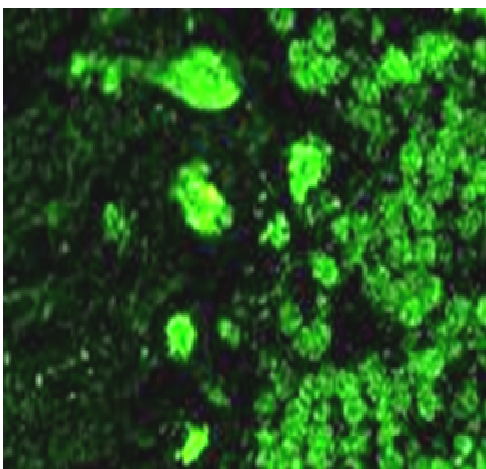
Diagnostykę laboratoryjną przeprowadzono w oparciu o obowiązujące od 1995 roku kryteria wykrywania i potwierdzania obecności przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych w surowicy krwi diagnozowanych pacjentek [65]. Na kolejnych rycinach przedstawiono przykładowe obrazy uzyskane w wyniku oceny ilościowej testu immunofluorescencji pośredniej. Każde z badanych przeciwciał wykazywało odmienny wzorzec świecenia widoczny w mikroskopie świetlnym, co uzależnione było od umiejscowienia antygenu docelowego. Kolejne ryciny przedstawiają przykładowe wyniki uzyskane w rezultacie techniki Western blotting przeprowadzonej weryfikacji typu wykrytych przeciwciał. Przedstawione przykładowe paski błony nitrocelulozowej poddane zostały analizie komputerowej z ostatecznym sprecyzowaniem konkretnego rodzaju przeciwciała.



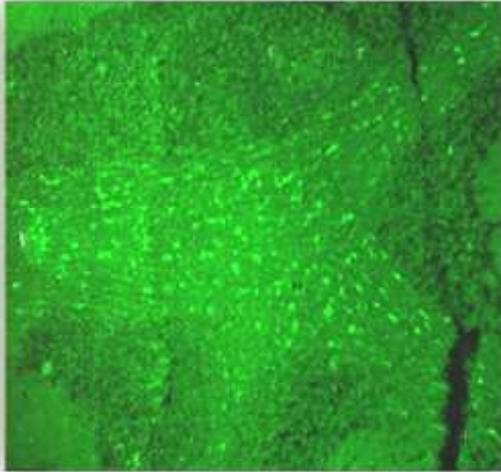
Rycina 12: Przeciwciało anti-Hu – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej. Charakterystyczne świecenie jąder neuronów mózgu.



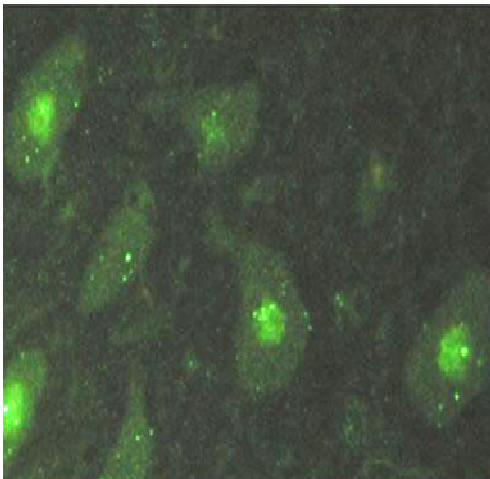
Rycina 13: Przeciwciało anti-Yo – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej. Gruboziarnista reakcja z cytoplazmą komórek Purkiniego, oraz aksonami i dendrytami neuronów.



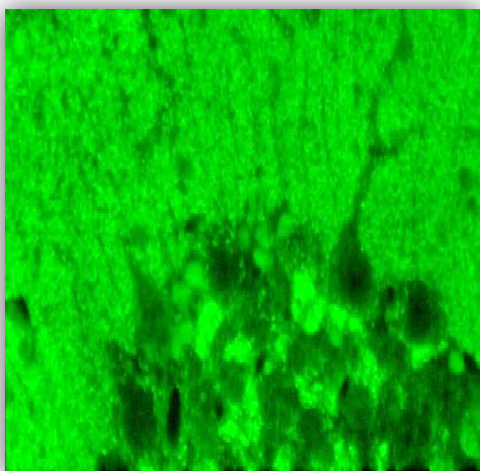
Rycina 14: Przeciwciało anti-Ri – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej. Reakcja typu ziarnistego z jądrami neuronów mózdzku.



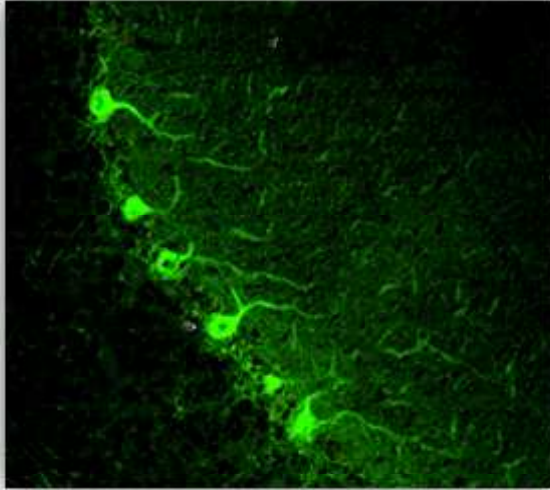
Rycina 15: Przeciwciało anti-CV2 – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej. Świecenie cytoplazmy oligodendrocytów mózgu.



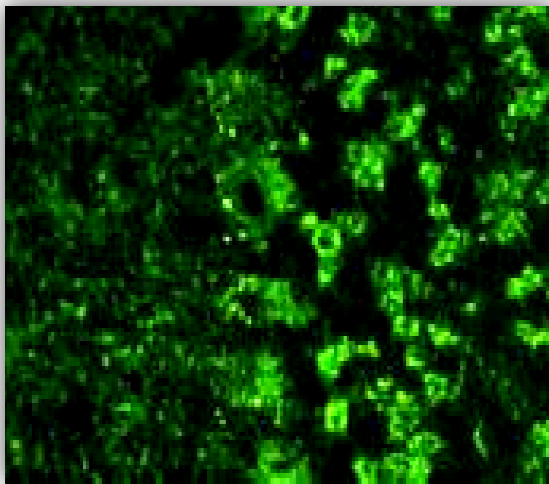
Rycina 16: Przeciwciało anti-Ma/Ta – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji. Świecenie jąderk neuronów mózdzku.



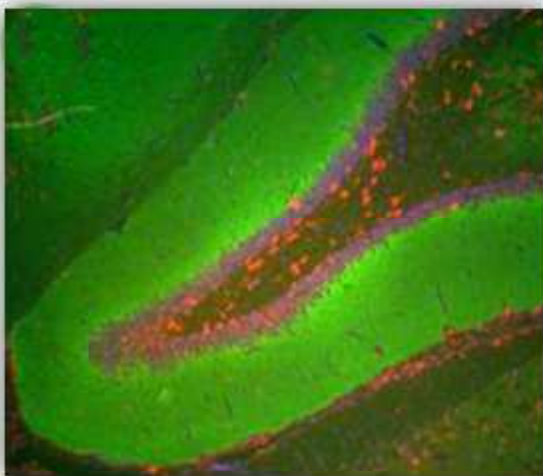
Rycina 17: Przeciwciało przeciwko amfizynie – obraz w mikroskopie świetlnym po wykonanym teście immunofluorescencji pośredniej. Widoczne świecenie zakończeń presynaptycznych neuronów mózgu.



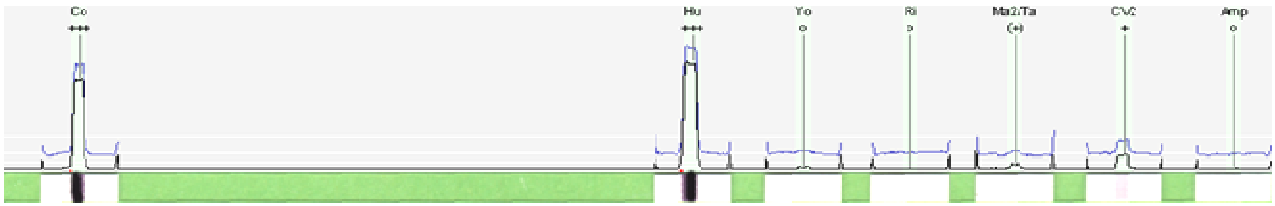
Rycina 18: Przeciwciało anti-Tr – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej. Świecenie jader komórek Purkiniego.



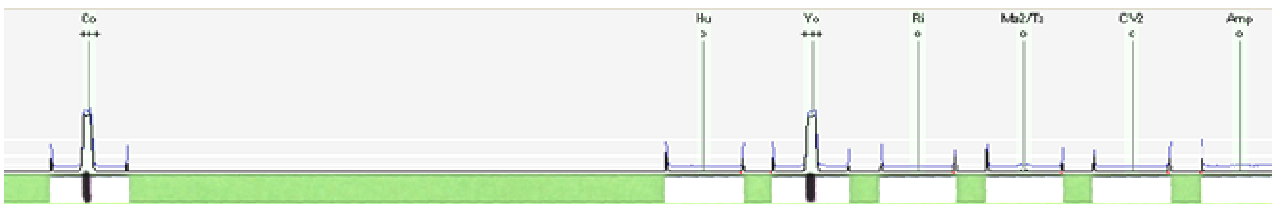
Rycina 19: Przeciwciało anti-GAD – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji. Świecenie warstwy ziarnistej mózdzku.



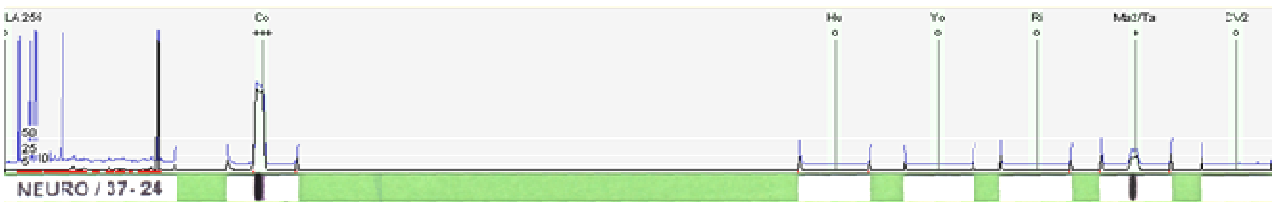
Rycina 20: Przeciwciała anti-NMDA – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej – reakcja z podjednostkami NR1, NR2B receptora NMDA.



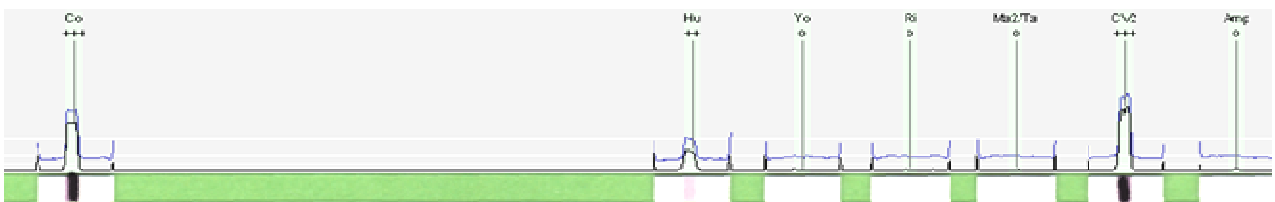
Rycina 21: Przeciwciało anti-Hu – pasek błony nitrocelulozowej, wynik testu Westen Blotting.



Rycina 22: Przeciwciało anti-Yo – pasek błony nitrocelulozowej, wynik testu Westen Blotting.



Rycina 23: Przeciwciało anti-Ma₂ – pasek błony nitrocelulozowej, wynik testu Westen Blotting.



Rycina 24: Przeciwciało anti-CV2 – pasek błony nitrocelulozowej, wynik testu Westen Blotting.

4.2. Obecność przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych w odniesieniu do badanych grup pacjentek

Wśród 123 kobiet zakwalifikowanych do badania, przy wykorzystaniu testu immunofluorescencji pośredniej stwierdzono w surowicy krwi obecność przeciwciał u 61 (49,6%) chorych. Testem weryfikującym – techniką Western blotting potwierdzono obecność przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych u 14 (11,4%) pacjentek, częściowo określonych u 8 chorych (6,5%), oraz w 39 przypadkach (31,7%) wykryto przeciwciała antyneuronalnych.

Zestawienie występowania typów przeciwciał w poszczególnych grupach nowotworów przedstawiono w Tabeli nr 7.

Rodzaj guza jajnika Rodzaj przeciwciał	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	ZMIANY NIEZŁOŚLIWY (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego)	POTWORNIAK DOJRZAŁY	RAZEM	RAZEM
BRAK PRZECIWCIAŁ	29 (23,5%)	23 (18,8%)	10 (8,1%)	62 (50,4%)	62 (50,4%)
PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE DOKŁADNIE OKREŚLONE	12 (9,7%)	2 (1,7%)	0	14 (11,4%)	61 (49,6%)
PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE CZĘŚCIOWO OKREŚLONE	1 (0,8%)	1 (0,8%)	6 (4,9%)	8 (6,5%)	
PRZECIWCIAŁA ANTYNEURONALNE	13 (10,7%)	21 (17%)	5 (4,0%)	39 (31,7%)	
RAZEM	55 (44,7%)	47 (38,3%)	21 (17%)	123 (100%)	

Tabela 7: Zestawienie obecności przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych w zależności od typu nowotworu jajnika.

Dane z tabeli wskazują iż w badanej grupie pacjentek przeciwciała onkoneuronalne dokładnie określone występowały najczęściej w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika. Przeciwciała antyneuronalne wykrywano głównie u pacjentek z rozpoznaną zmianą niezłośliwą w obrębie jajnika inną niż potworniak dojrzały. Natomiast w tej ostatniej grupie histopatologicznej dominowały przeciwciała onkoneuronalne częściowo określone. W całej poddanej analizie grupie pacjentek największą liczbę przeciwciał (n=26; 21%) wykryto u chorych z nowotworem złośliwym jajnika.

Grupa przeciwciał	Rodzaj przeciwciał	Występowanie	RAZEM
PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE DOKŁADNIE OKREŚLONE	Anty – Yo (ANNA1)	1 (3,8%)	12 (46,2%)
	Anty – Hu (PCA1)	1 (3,8%)	
	Anty – CV2 (CRMP5)	0	
	Anty – Ma/Ta	2 (7,8%)	
	Anty – Ri (ANNA2)	0	
	Anty – AMFIFIZYNA	8 (30,8%)	
PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE CZĘŚCIOWO OKREŚLONE	Anty – Tr	1 (3,8%)	1 (3,8%)
	Anty – NMDA	0	
PRZECIWCIAŁA ANTYNEURONALNE	Anty – MIELINA	8 (30,8%)	13 (50%)
	Anty – MAG	1 (3,8%)	
	Anty – GAD	0	
	Anty – neuroendothelium	4 (15,4%)	
	RAZEM	26 (100%)	26 (100%)

Tabela 8: Zestawienie wykrytych przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych wśród pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika.

Nowotworowi złośliwemu jajnika towarzyszyły przede wszystkim przeciwciała onkoneuronalne dokładnie określone, oraz antyneuronalne, przy czym u żadnej z pacjentek nie wykryto przeciwciał anty – CV2, anty-Ri, anty –GAD, ani też anty – NMDA. Wśród 26 chorych z wykrytymi przeciwciałami przed menopauzą było 10 (38,5%), natomiast po menopauzie 16 (61,5%) kobiet. W podgrupie pacjentek przed menopauzą największy odsetek stanowiły przeciwciała onkoneuronalne przeciwko amfifizynie (23,1%). Natomiast ta sama analiza wśród chorych po menopauzie wskazała dominację przeciwciał antyneuronalnych skierowanych przeciwko mielinie (19,3%) i neuroendothelium (15,4%).

Profil przeciwciał w zależności od statusu menopauzalnego wśród kobiet z rozpoznaniem nowotworem złośliwym jajnika przedstawia Tabela nr 9.

STATUS MENOPAUZALNY PACJENTEK Z NOWOTWOREM ZŁOSLIWYM JAJNIKA	LICZBA WYKRYTYCH PRZECIWCIAŁ OGÓLEM	LICZBA WYKRYTYCH PRZECIWCIAŁ W ZALEŻNOŚCI OD STATUSU MENOPAUZALNEGO	WYKRYTY RODZAJ PRZECIWCIAŁ
PRZED MENOPAUZĄ		10 (38,5%)	Anty - mielina – 3 (11,6%)
			Anty – amfizyna – 6 (23,1%)
			Anty – MAG – 1 (3,8%)
PO MENOPAUZIE	26 (100%)	16 (61,5%)	Anty – Hu – 1 (3,8%)
			Anty – Yo – 1 (3,8%)
			Anty – Ma – 2 (7,7%)
			Anty – amfizyna – 2 (7,7%)
			Anty – mielina – 5 (19,3%)
			Anty – neuroendothelium – 4 (15,4%)
			Anty – Tr – 1 (3,8%)

Tabela 9: Występowanie poszczególnych typów przeciwciał w grupie chorych z nowotworem złośliwym w zależności od statusu menopauzalnego.

Przeanalizowano występowanie poszczególnych typów przeciwciał w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu złośliwego jajnika. Uzyskane wyniki zestawiono w Tabeli nr 10. Największy odsetek przeciwciał odnotowano wśród pacjentek z III (12; 46,1%) stopniem zaawansowania klinicznego nowotworu złośliwego jajnika według FIGO.

Średni wiek pacjentek w wykrytych przeciwciałami i towarzyszącym nowotworem złośliwym jajnika wyniósł $55,3 \pm 9,6$ lat (zakres 34-69 lat). Natomiast wśród pozostałych grup średni wiek w przypadku wykrycia obecności przeciwciał wynosił odpowiednio: u chorych ze zmianami niezłośliwymi $41,2 \pm 14,2$ lat (zakres 18-72), z potworniakiem dojrzałym $41,6 \pm 14,3$ lat (zakres 23-61 lat), z wszystkimi zmianami niezłośliwymi łącznie $41,3 \pm 14,0$ lat (zakres 18-71 lat). Pacjentki z wykrytymi przeciwciałami i nowotworem

złośliwym jajnika były starsze w porównaniu do chorych ze zmian niezłośliwymi ($p=0,0011$) i potworniakami dojrzałymi ($p=0,0041$).

FIGO Rodzaj Przeciwciał	I N(odsetek)	II N(odsetek)	III N(odsetek)	IV N(odsetek)	RAZEM N(odsetek)
BEZ PRZECIWCIAŁ	7 (12,7%)	2 (3,6%)	17 (31%)	3 (5,5%)	29 (52,8%)
Anty –Yo			1 (1,8%)		1 (1,8%)
Anty – Hu		1 (1,8%)			1 (1,8%)
Anty – Ri					
Anty – CV2					
Anty – Ma			2 (3,6%)		2 (3,6%)
Anty – amfifizyna	3 (5,5%)		5 (9,1%)		8 (14,6%)
Anty – Tr				1 (1,8%)	1 (1,8%)
Anty – NMDA					
Anty – mielina	2 (3,6%)		3 (5,5%)	3 (5,5%)	8 (14,6%)
Anty – MAG			1 (1,8%)		1 (1,8%)
Anty – GAD					
Anty – neuroednothelium	1 (1,8%)	1 (1,8%)		2 (3,6%)	4 (7,2%)
RAZEM	13 (23,6%)	4 (7,2%)	29 (52,8%)	9 (16,4%)	55 (100%)

Tabela 10: Porównanie występowania poszczególnych typów przeciwciał w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu złośliwego jajnika wg. FIGO.

Poniżej przedstawiono zestawienie występowania przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych w grupach chorych z zmianami niezłośliwymi w obrębie jajnika i osobno potworniakiem dojrzałym (Tab. 11).

Grupa przeciwciał	Rodzaj przeciwciał	Występowanie	RAZEM
PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE DOKŁADNIE OKREŚLONE	ANTY – Yo (ANNA1)	0	2 (8,4%)
	ANTY – Hu (PCA1)	0	
	ANTY – CV2 (CRMP5)	0	
	ANTY – Ma/Ta	1 (4,2%)	
	ANTY – Ri (ANNA2)	0	
	ANTY – AMFIFIZYNA	1 (4,2%)	
PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE CZĘŚCIOWO OKREŚLONE	ANTY – Tr	0	1 (4,2%)
	ANTY – NMDA	1 (4,2%)	
PRZECIWCIAŁA ANTYNEURONALNE	ANTY – MIELINA	9 (37,4%)	21 (87,4%)
	ANTY – MAG	0	
	ANTY – GAD	0	
	ANTY – NEUROENDOTHELIUM	12 (50%)	
	RAZEM	24 (100%)	24 (100%)

Tabela 11: Zestawienie stwierdzonych przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych wśród pacjentek z guzami niezłośliwymi jajnika (z wyłączeniem potworniaków dojrzałych).

Analiza grupy chorych ze zmianami niezłośliwymi w obrębie jajnika w tym z rozpoznany potworniakiem dojrzałym pozwoliła stwierdzić, iż w grupach tych dominowały odpowiednio przeciwciała przeciwko neuroendothelium 50% (n=12) (Tab.11), oraz przeciwciała anty – NMDA 54,5% (n=6) (Tab.12). Jako interesujący należy uznać fakt, iż w

grupie chorych z potwierdzonym histopatologicznie potworniakiem dojrzałym jajnika w żadnym przypadku nie wykryto obecności przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych. Natomiast z grupy przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych wykryto wyłącznie przeciwciała przeciwko receptorom N-metylo-D-asparagianu (anty-NMDA).

Grupa przeciwciał	Rodzaj przeciwciał	Występowanie	RAZEM
PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE DOKŁADNIE OKREŚLONE	Anty – Yo (ANNA1)	0	0
	Anty – Hu (PCA1)	0	
	Anty – CV2 (CRMP5)	0	
	Anty – Ma/Ta	0	
	Anty – Ri (ANNA2)	0	
	Anty – AMFIFIZYNA	0	
PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE CZĘŚCIOWO OKREŚLONE	Anty – Tr	0	6 (54,5%)
	Anty – NMDA	6 (54,5%)	
PRZECIWCIAŁA ANTYNEURONALNE	Anty – mielina	2 (18%)	5 (45,5%)
	Anty – MAG	0	
	Anty – GAD	0	
	Anty – neuroendothelium	3 (27,5%)	
	RAZEM	11 (100%)	11 (100%)

Tabela 12: Zestawienie występowania stwierdzonych przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych w grupie kobiet z rozpoznaniem potworniakiem dojrzałym jajnika.

4.3. Ocena częstości występowania analizowanych przeciwciał w badanych grupach pacjentek.

Posługując się testem Fishera dokonano analizy statystycznej liczebności pacjentek w poszczególnych grupach nowotworów w zależności od obecności, bądź też braku badanych przeciwciał. Nie wykazano istotnie statystycznych różnic pomiędzy liczebnością w poszczególnych grupach guzów jajnika ($p > 0.05$) (Tab. 13-16).

PRZECIWCIAŁA	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	POTWORNIAK DOJRZAŁY
OBECNE 37 (48,7%)	26 (34,2%)	11 (14,5%)
BRAK 39 (51,3%)	29 (38,15%)	10 (13,15%)
RAZEM 76 (100%)	P = 0,79915	

Tabela 13: Porównanie liczebności pacjentek w grupie z nowotworem złośliwym i potwornikiem jajnika w zależności od obecności przeciwciał (test Fishera).

PRZECIWCIAŁA	NOWOTWORY ZŁOŚLIWE	ZMIANY NIEZŁOŚLIWE (z wyłączeniem potworników dojrzałych)
OBECNE 50 (49%)	26 (25,5%)	24 (23,5%)
BRAK 52 (51%)	29 (28,5%)	23 (22,5%)
RAZEM 102 (100%)	P = 0,84267	

Tabela 14: Porównanie liczebności pacjentek w zależności od obecności przeciwciał w grupie z nowotworem złośliwym i zmianami niezłośliwymi (z wyłączeniem potwornika dojrzałego jajnika) (test Fishera).

PRZECIWCIAŁA	NOWOTWORY ZŁOŚLIWE	ZMIANY NIEZŁOŚLIWE (łącznie z potwornikami dojrzałymi)
OBECNE 61 (49,6%)	26 (21,2%)	35 (28,4%)
BRAK 62 (50,4%)	29 (23,5%)	33 (26,9%)
RAZEM 123 (100%)	P = 0,71289	

Tabela 15: Porównanie liczebności pacjentek w zależności od obecności przeciwciał w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i zmianami niezłośliwymi (łącznie z potwornikiem dojrzałym) jajnika (test Fishera).

Grupy nowotworów bez stwierdzonych przeciwciał	Wartość istotności statystycznej dla różnicy wieku
Nowotwór złośliwy jajnika	p<0,0001
Potworniak dojrzały	
Nowotwór złośliwy jajnika	P=0,0001
Guz niezłośliwy jajnika inny niż potworniak dojrzały	
Potworniak dojrzały	P=0,0127
Guz niezłośliwy jajnika inny niż potworniak dojrzały	

Tabela 16: Zestawienie istotnych statystycznie różnic ($p<0.05$) wieku pacjentek bez stwierdzonych przeciwciał w poszczególnych grupach guzów jajnika (test Manna-Whitneya).

4.4. Szczegółowa analiza występowania przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych

Średni wiek kobiet z wykrytymi przeciwciałami onkoneuronalnymi dokładnie określonymi i nowotworem złośliwym jajnika wynosił $52,08 \pm 10,37$ lat. W grupie pacjentek ze zmianami niezłośliwymi i osobno potwornikiem dojrzałym wartości te przedstawiały się odpowiednio: $39,0 \pm 11,78$ lat i $38,16 \pm 11,82$ lat. Chore z przeciwciałami onkoneuronalnymi dokładnie określonymi i nowotworem złośliwym były starsze w porównaniu do kobiet z potwornikiem dojrzałym ($p=0.0208$). Nie stwierdzono natomiast różnic wieku pomiędzy grupami z nowotworem złośliwym i zmianami niezłośliwymi ($p=0,0784$), oraz guzami niezłośliwymi, a potwornikiem dojrzałym ($p=0,9233$).

Porównując wiek pacjentek z obecnymi przeciwciałami onkoneuronalnymi dokładnie określonymi, oraz bez przeciwciał nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic ($p>0.1$).

Uwzględniając wiek pacjentek z przeciwciałami onkoneuronalnymi dokładnie i częściowo określonymi nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w poszczególnych grupach nowotworów jajnika ($p>0,005$).

W Tabeli nr17 przedstawiono porównanie występowania przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w badanej grupie pacjentek w zależności od rodzaju nowotworu jajnika. Jak wynika z zestawienia największą liczbę przeciwciał wykryto w surowicy krwi chorych z nowotworem złośliwym jajnika, przy czym w zdecydowanej większości były to przeciwciała przeciwko amfifizynie ($n=8$; 57,1%). Nie stwierdzono obecności przeciwciał dokładnie określonych u żadnej spośród operowanych kobiet z rozpoznaniem potwornikiem dojrzałym jajnika.

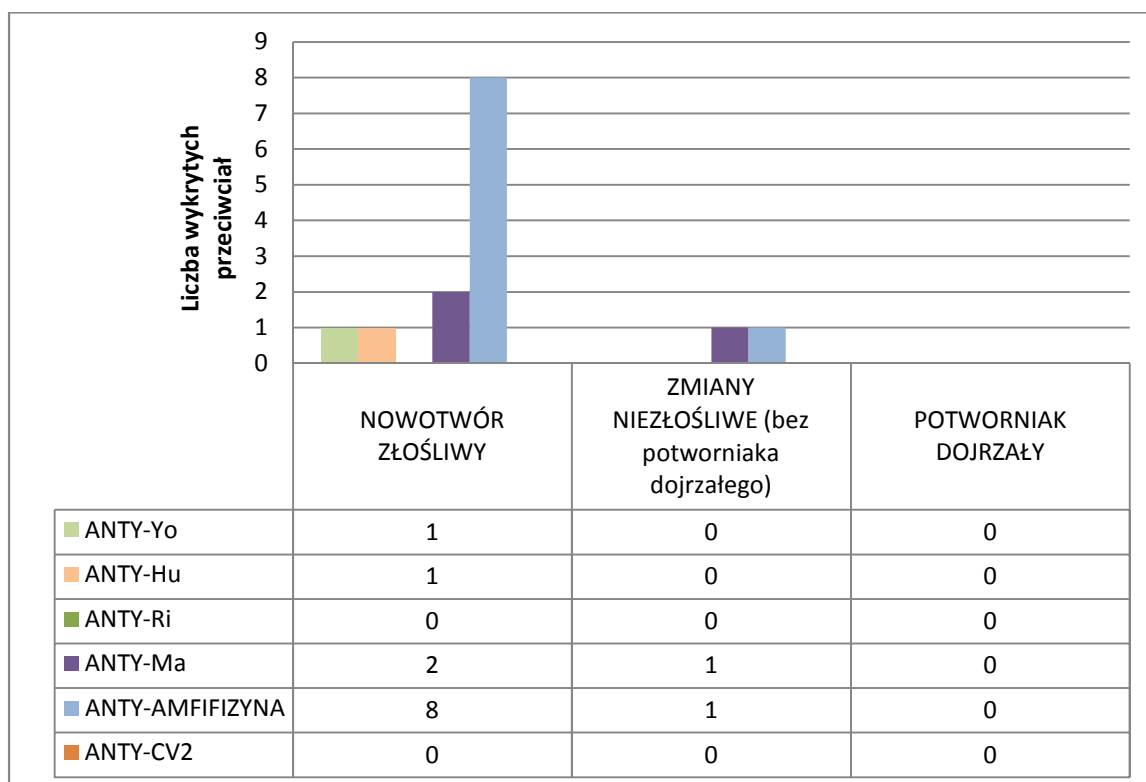


Tabela 17: Występowanie przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w zależności od typu guza jajnika.

Rozpatrując obecność przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych stwierdzono istotne statystycznie różnice częstości występowania przeciwciał w poszczególnych grupach zmian patologicznych w obrębie jajników. W każdym z przedstawionych poniżej zestawień wykazano istotnie statystycznie większą częstość występowania przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w surowicy krwi pacjentek z rozpoznaniem nowotworem złośliwym jajnika (Tab: 18-20). Zarówno dla porównań ze zmianami niezłośliwymi i osobno potworniakami dojrzałymi ($p < 0,05$), jaki i w porównaniu do wszystkich guzów niezłośliwych łącznie ($p = 0,00127$).

PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE DOKŁADNIE OKRESŁONE	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	POTWORNIAK DOJRZAŁY
OBECNE 12 (18,8%)	12 (15,8%)	0
BRAK 64 (84,2%)	43 (56,5%)	21 (27,7%)
RAZEM 76 (100%)	P = 0,02968	

Tabela 18: Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w grupie z nowotworem złośliwym i potworniakiem dojrzałym (test Fishera).

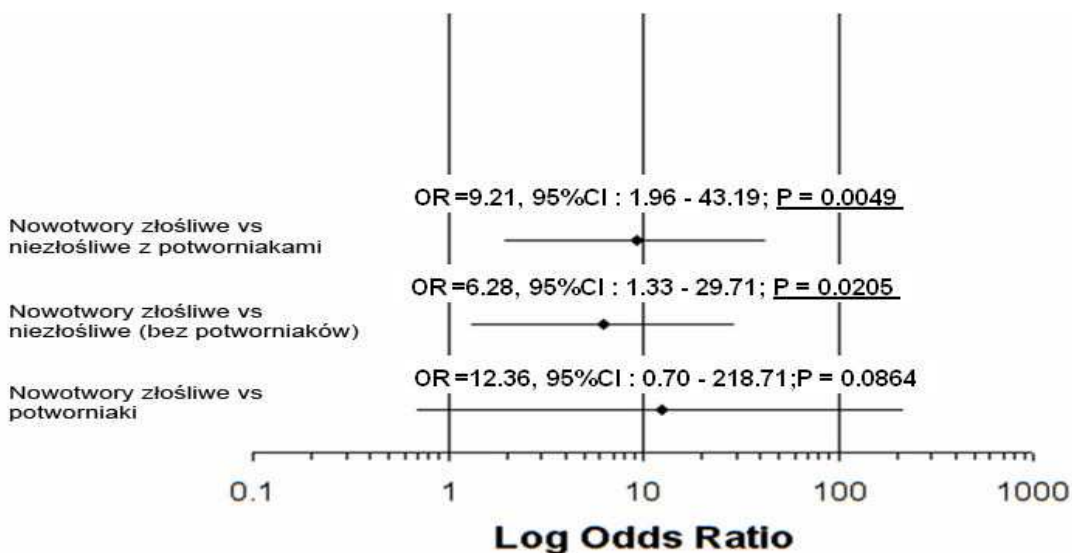
PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE DOKŁADNIE OKRESŁONE	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	ZMIANY NIEZŁOŚLIWE (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego)
OBECNE 14 (13,8%)	12 (11,8%)	2 (2%)
BRAK 88 (86,2)	43 (42,1%)	45 (44,1%)
RAZEM 102 (100%)	P = 0,01832	

Tabela 19: Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w grupie z nowotworem złośliwym i zmianami niezłośliwymi (z wykluczeniem potworniaka dojrzałego) (test Fishera).

PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE DOKŁADNIE OKRESŁONE	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	ZMIANY NIEZŁOŚLIWE (łącznie z potworniakiem dojrzałym)
OBECNE 14 (11,4%)	12 (9,8%)	2 (1,6%)
BRAK 109 (88,6%)	43 (35%)	66 (53,6%)
RAZEM 123 (100%)	P = 0,00127	

Tabela 20: Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w grupie z nowotworem złośliwym i zmianami niezłośliwymi (łącznie z potworniakiem dojrzałym) (test Fishera).

Określono również iloraz szans (Odds Ratio) stwierdzenia obecności przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w poszczególnych grupach nowotworów. Wykazano istotnie statystycznie większy iloraz szans wykrycia przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych wśród chorych z nowotworem złośliwym jajnika w porównaniu z grupą zmian niezłośliwych łącznie, oraz bez potworniaków dojrzałych (Rycina 25).



Rycina25: Iloraz szans wykrycia przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w poszczególnych grupach nowotworów (Odds Ratio).

4.5. Charakterystyka występowania przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych u kobiet z guzami jajnika.

W oparciu o analizę testem U Mann-Whitney'a wykazano istotną statystycznie różnicę wieku chorych z nowotworem złośliwym i guzami niezłośliwymi (z wyłączeniem potwornika dojrzałego) (p=0,0008).

Rodzaj guza jajnika	Średni wiek
Nowotwór złośliwy jajnika	58,0 ± 9,08 lat
Potworniak dojrzały	40,9 ± 14,14 lat
Zmiany niezłośliwe inne niż potworniak dojrzały	45,8 ± 17,29 lat

Tabela 21: Średni wiek chorych z potwierdzoną obecnością przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych w poszczególnych grupach nowotworów.

Istotną statystyczna różnicę odnotowano również dla tego parametru w odniesieniu do pacjentek z rozpoznanym potwornikiem dojrzałym w grupie z wykrytymi, oraz bez potwierdzonej obecności przeciwciał częściowo określonych (p=0,0286).

W Tabeli nr22 przedstawiono zestawienie występowania przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych w badanej grupie kobiet w zależności od rodzaju guza jajnika. Wśród 123 pacjentek zakwalifikowanych do badania przeciwciała onkoneuronalne częściowo określone wykryto w surowicy krwi 8 chorych , co stanowiło

6,5% całej badanej grupy. W 7 przypadkach (87,5%) były to przeciwciała anty-NMDA, z czego u 6 kobiet (75%) rozpoznano potworniaka dojrzałego.

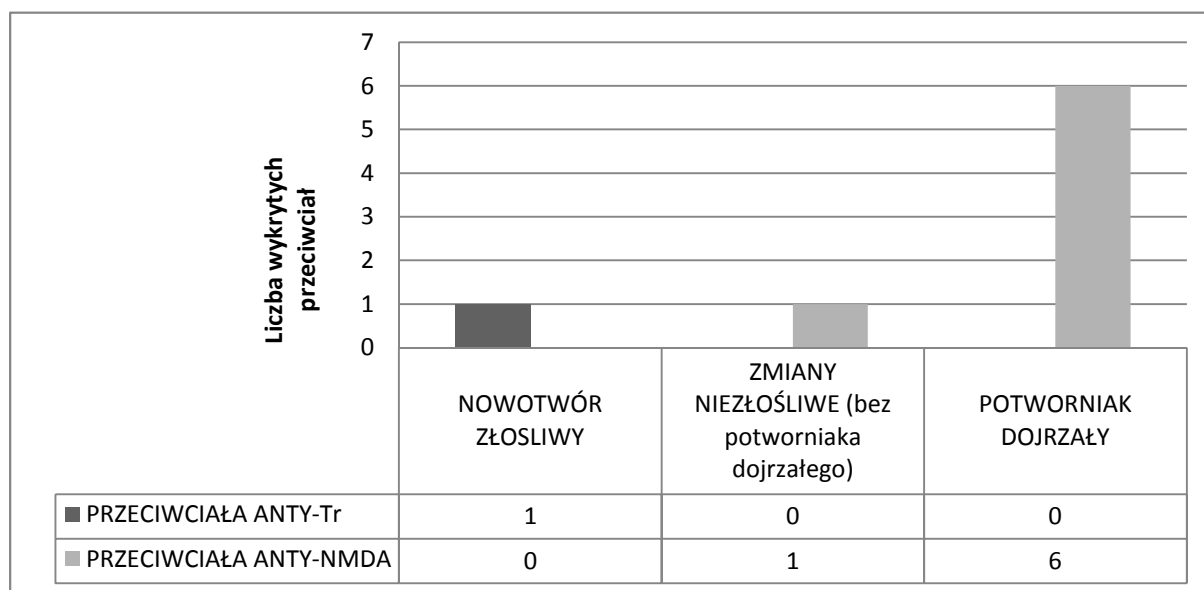


Tabela 22: Występowanie przeciwciała onkoneuronalnych częściowo określonych w poszczególnych grupach guzów jajnika.

Analizując występowanie przeciwciał częściowo określonych wykazano istotnie statystycznie większą częstość wykrywania tych przeciwciał u pacjentek z potworniakiem dojrzałym jajnika ($p=0,00142$). Różnicy tej nie stwierdzono natomiast w grupach z rozpoznaniem nowotworem złośliwym i zmianami o charakterze guzów niezłośliwych ($p>0,05$) (Tab. 23-25).

Natomiast iloraz szans stwierdzenia obecności przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych był istotnie ($p=0.0006$) niższy u chorych z nowotworem złośliwym jajnika niż potworniakiem dojrzałym (Ryc 26)

PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE CZĘŚCIOWO OKRESŁONE	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	POTWORNIAK DOJRZAŁY
OBECNE 7 (9,2%)	1 (1,3%)	6 (tylko NMDA) (7,9%)
BRAK 69 ((90,8%)	54 (71%)	15 (19,8%)
RAZEM 76 (100%)	P = 0,00142	

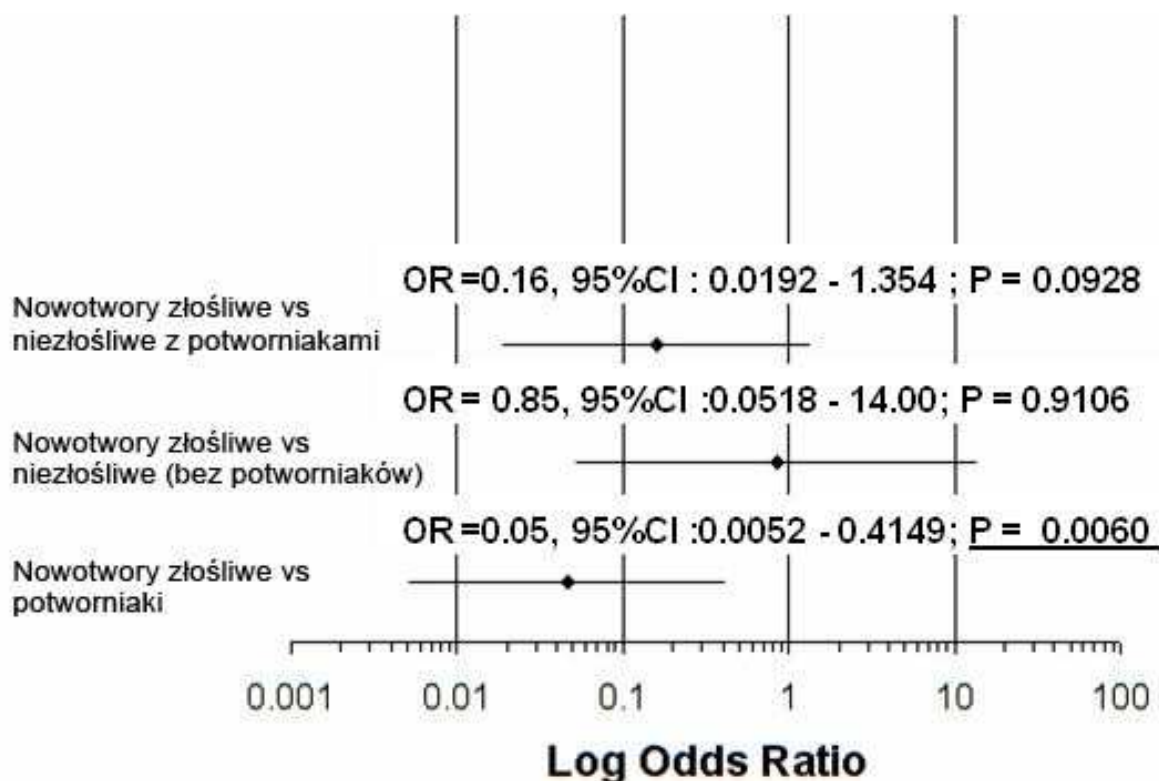
Tabela 23: Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i potworniakiem dojrzałym (test Fishera).

PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE CZĘŚCIOWO OKREŚLONE	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	ZMIANY NIEZŁOŚLIWE (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego)
OBECNE 2 (1,9%)	1 (1%)	1 (1%)
BRAK 100 (98%)	54 (52,9%)	46 (45,1%)
RAZEM 102 (100%)	P = 1,0	

Tabela 24: Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i zmianami niezłośliwymi (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego) (test Fishera).

PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE CZĘŚCIOWO OKREŚLONE	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	ZMIANY NIEZŁOŚLIWE (łącznie z potworniakiem dojrzałym)
OBECNE 8 (6,5%)	1 (0,8%)	7 (5,7%)
BRAK 115 (93,5%)	54 (43,9%)	61 (49,6%)
RAZEM 123 (100%)	P = 0,73531	

Tabela 25: Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i zmianami niezłośliwymi (łącznie z potworniakiem dojrzałym) (test Fishera).



Rycina 26: Iloraz szans stwierdzenia przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych w poszczególnych grupach analizowanych guzów jajnika (Odds Ratio).

4.6. Analiza obecności przeciwciał antyneuronalnych w przebiegu nowotworów jajnika

Porównanie obecności poszczególnych podtypów przeciwciał pozwoliło stwierdzić, iż przeciwciała antyneuronalne stanowiły 31,7% (n=39) całej badanej grupy. Poniżej przedstawiono zestawienie uwzględniające występowanie przeciwciał antyneuronalnych w zależności od typu guza jajnika (Tab. 26). U żadnej z pacjentek, bez względu na ostateczne rozpoznanie histopatologiczne nie stwierdzono obecności przeciwciała anti-GAD. W ujęciu całej badanej grupy spośród antyneuronalnych dominowały przeciwciała przeciwko neuroendothelium (n=19; 50%), oraz przeciwko mielinie (n=18; 47,3%). Nowotwory złośliwym jajnika najczęściej współwystępowały z przeciwciałami przeciwko mielinie (n=8; 20,5%), natomiast zmianom niezłośliwym innym niż potworniak dojrzały towarzyszyły przeciwciała przeciwko neuroendothelium (n=12; 30,7%).

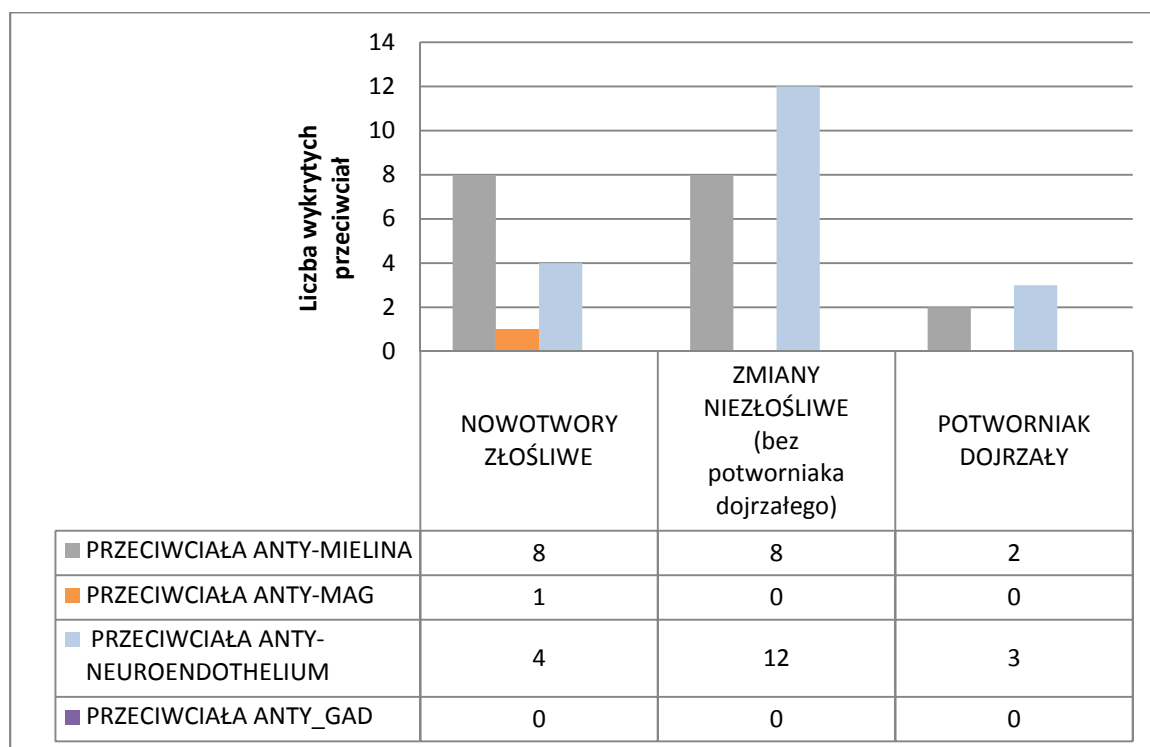


Tabela 26: Występowanie przeciwciał antyneuronalnych w całej badanej grupie pacjentek w zależności od nowotworu jajnika.

Przeciwciała antyneuronalne stwierdzono częściej u chorych ze zmianami niezłośliwymi z wyłączeniem potworniaka dojrzałego ($p=0,03483$) niż z nowotworem złośliwym. W pozostałych przypadkach liczebność nie była istotna statystycznie ($p>0,05$) (Tab 27-29).

PRZECIWCIAŁA ANTYNEURONALNE	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	ZMIANY NIEZŁOŚLIWE (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego)
OBECNE 34 (33,3%)	13 (12,7%)	21 (20,6%)
BRAK 68 (66,7%)	42 (41,2%)	26 (25,5%)
RAZEM 102 (100%)	P = 0,03483	

Tabela 27: Porównanie częstości występowania przeciwciał antyneuronalnych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i zmianami niezłośliwymi (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego) (test Fischera).

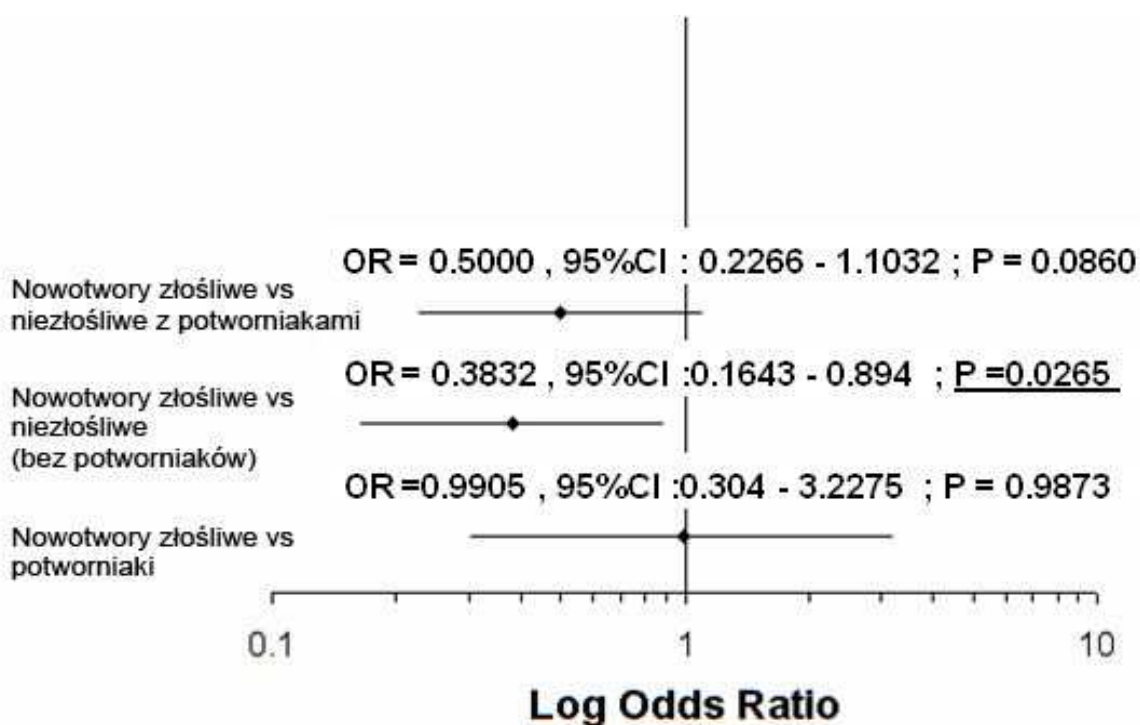
PRZECIWCIAŁA ANTYNEURONALNE	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	ZMIANY NIEZŁOŚLIWE (łącznie z potwornikiem dojrzałym)
OBECNE 39 (31,7%)	13 (10,5%)	26 (21,1%)
BRAK 84 (68,3%)	42 (34,2%)	42 (34,2%)
RAZEM 123 (100%)	P = 0,11856	

Tabela 28: Porównanie częstości występowania przeciwciał antyneuronalnych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i zmianami niezłośliwymi (łącznie z potwornikiem dojrzałym) (test Fishera).

PRZECIWCIAŁA ANTYNEURONALNE	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	POTWORNIAK DOJRZAŁY
OBECNE 18 (23,7%)	13 (17,1%)	5 (6,6%)
BRAK 58 (76,3%)	42 (55,3%)	16 (21%)
RAZEM 76 (100%)	P = 1.0	

Tabela 29: Porównanie częstości występowania przeciwciał antyneuronalnych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i potwornikiem dojrzałym (test Fishera).

Iloraz szans (OR=0,38) stwierdzenia obecności przeciwciał antyneuronalnych u chorych z nowotworem złośliwym różnił się istotnie statystycznie (p=0,0265) w porównaniu z grupą guzów niezłośliwych bez potworniaków dojrzałych.



Rycina 27: Iloraz szans stwierdzenia przeciwciał antyneuronalnych w poszczególnych grupach guzów jajnika (Odds Ratio).

4.7. Ocena stężeń wybranych markerów nowotworowych

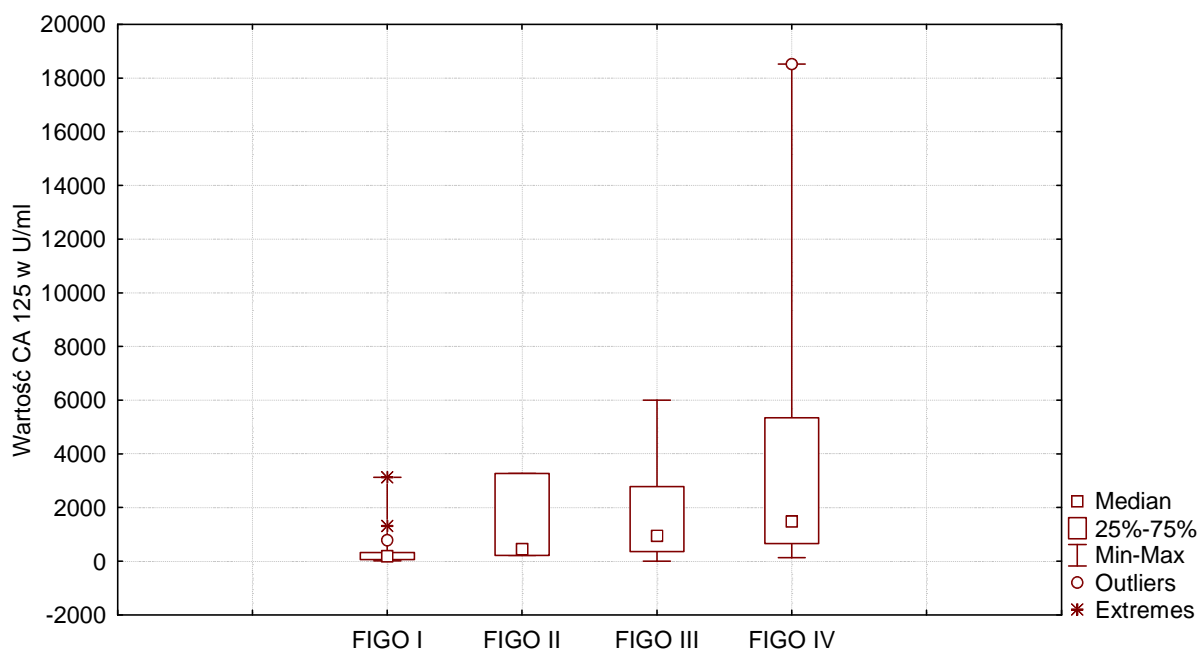
4.7.1. Analiza stężenia markera CA 125 w surowicy krwi pacjentek z guzami jajnika

Poziom CA 125 był istotnie statystycznie ($p < 0,0001$) wyższy u chorych z nowotworem złośliwym jajnika w porównaniu z grupą zmian niezłośliwych (Tab 30).

Rodzaj wykrytego guza jajnika	Wartość CA 125 U/ml				
	Minimum	25 percentyl	75 percentyl	Maksimum	Mediana
NOWOTWORY ZŁOŚLIWE	5,71	198,485	2288,98	18517	801,43
GUZY NIEZŁOŚLIWE (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego)	7,07	27,5	86,11	600	42,19
POTWORNIAK DOJRZAŁY	3,81	8,89	21,735	36,78	12,3
GUZY NIEZŁOŚLIWE (Łącznie)	3,81	17,69	67,3	600	28,89

Tabela 30: Uzyskane wartości stężenia markera CA 125 w zależności od grupy badanych nowotworów jajnika.

Zmiany poziomu markera CA 125 w surowicy krwi badanych pacjentek w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu jajnika wg FIGO przedstawiono na rycinie 25.

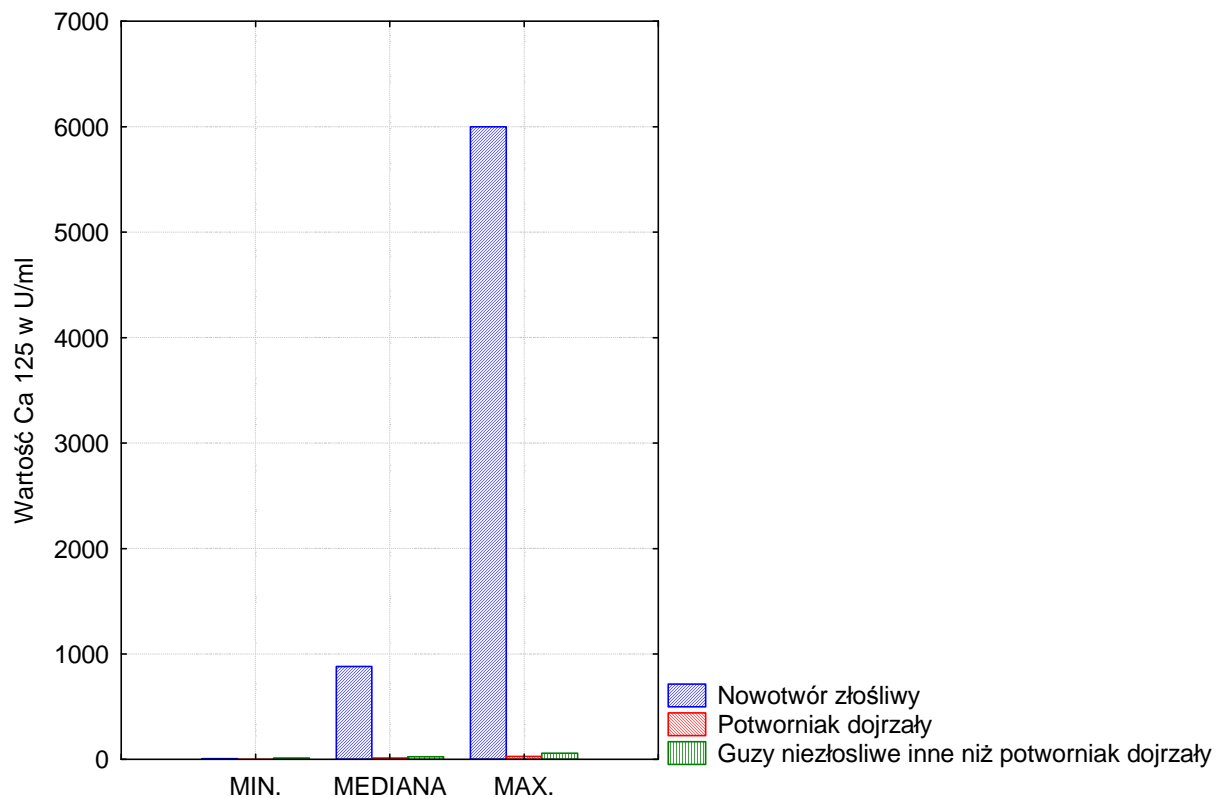


Rycina 28: Wykres zakresu wartości i mediany markera CA 125 w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu złośliwego jajnika wg. FIGO.

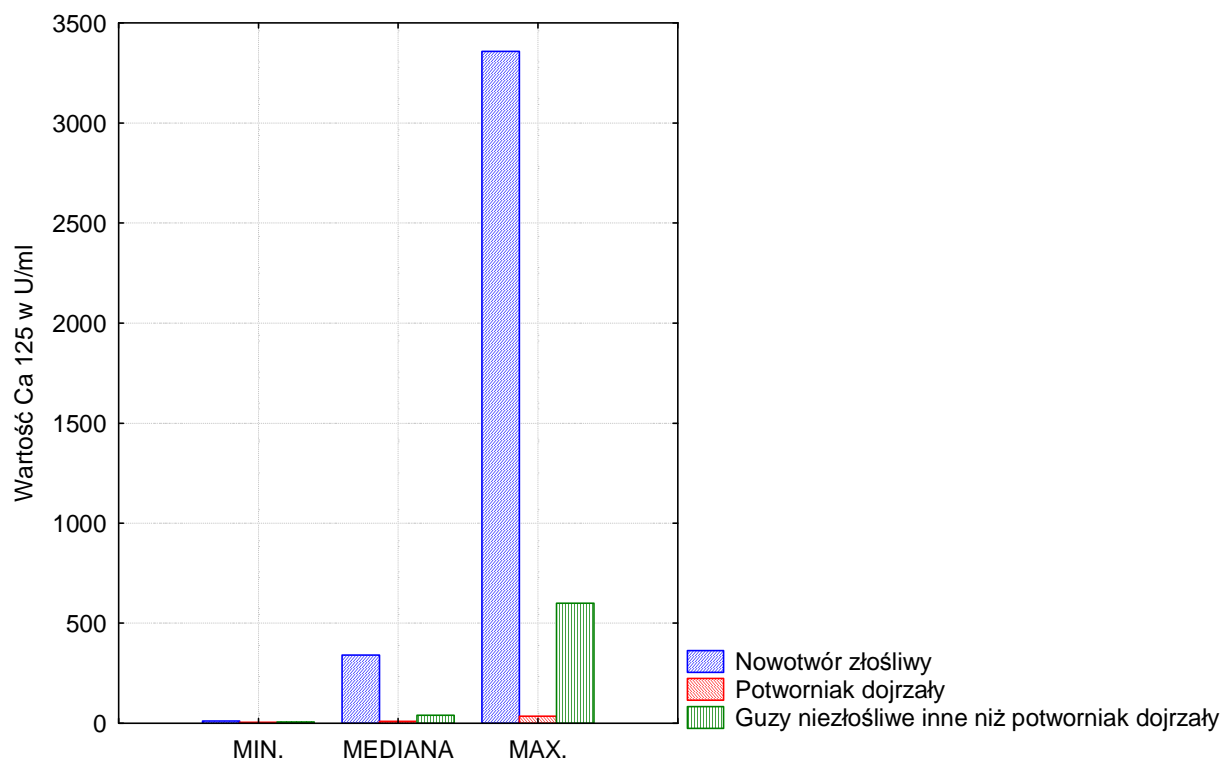
Wśród chorych z ostatecznym rozpoznaniem guza niezłośliwego jajnika wartość CA125 powyżej granicy normy (>35U/ml) stwierdzono w 25 przypadkach. Najczęściej, bo aż w 56% (n=14) wiązał się on z występowaniem torbieli endometrialnych i tylko w jednym przypadku z obecnością potworniaka dojrzałego. Podwyższony poziom markera w przypadku 12 chorych towarzyszył przeciwciałom antyneuronalnym i onkoneuronalnym w tym: przeciwko mielinie (n=5), przeciwko neuroendotelium (n=6), oraz anty-Ma (n=1).

Analizując wartości CA 125 wśród pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika podwyższony poziom markera stwierdzono w surowicy krwi 48 kobiet. Wśród nich u 11(22,9%) potwierdzono obecność przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych. Ponadto w 8 (16%) przypadkach wykryto przeciwciała antyneuronalne, oraz w jednym przeciwciało onkoneuronalne częściowo określone.

Wśród chorych z potwierdzonym histopatologicznie nowotworem złośliwym i prawidłowym poziomem markera CA 125 w 4 przypadkach wykryto obecność przeciwciał: 2 antyneuronalnych i 2 onkoneuronalnych dokładnie określonych.



Rycina 29: Porównanie zakresu wartości, oraz mediany stężenia markera CA 125 u pacjentek z wykrytymi przeciwciałami onkoneuronalnymi w analizowanych grupach guzów jajników.



Rycina 30: Porównanie zakresu wartości, oraz mediany stężenia markera CA 125 u pacjentek z wykrytymi przeciwciałami onkoneuronalnymi częściowo określonymi w analizowanych grupach guzów jajników.

Zarówno w przypadku przeciwciał onkoneuronalnych, jak i antyneuronalnych poziom maksymalny, oraz mediana stężenia markera CA 125 były najwyższe w przypadku nowotworów złośliwych, co obrazują Ryciny 29 i 30.

Wykazano powiązanie pomiędzy obecnością przeciwciał onkoneuronalnych, a występowaniem istotnie statystycznie wyższego poziomu analizowanego markera w grupie nowotworów złośliwych w porównaniu do potworniaków dojrzałych i guzów niezłośliwych jajnika (Tab 31-33). W pozostałych grupach guzów jajnika uzyskane różnice mierzonej wartości CA 125 były nieistotne statystycznie.

Wykryty rodzaj przeciwciał	Nowotwór złośliwy – mediana wartości CA 125	Potworniak dojrzały – mediana wartości CA 125
Przeciwciała onkoneuronalne	881,98	13,94
P=0,0050		

Tabela 31: Uzyskane wartość mediany, oraz istotna statystycznie różnica poziomu markera CA 125 pomiędzy grupą pacjentek z nowotworem złośliwym, a potwornikiem dojrzałym i wszystkimi przeciwciałami onkoneuronalnymi (test Manna-Whitneya).

Wykryty rodzaj przeciwciał	Nowotwór złośliwy – mediana wartości CA 125	Potworniak dojrzały – mediana wartości CA 125
Przeciwciała onkoneuronalne częściowo określone	340,6	9,91
P=0,0080		

Tabela 32: Uzyskane wartość mediany, oraz istotna statystycznie różnica poziomu markera CA 125 pomiędzy grupą pacjentek z nowotworem złośliwym, a potwornikiem dojrzałym i przeciwciałami onkoneuronalnymi częściowo określonymi (test Manna-Whitneya).

Wykryty rodzaj przeciwciał	Nowotwór złośliwy – mediana wartości CA 125	Nowotwory niezłośliwe – mediana wartości CA 125
Przeciwciała onkoneuronalne częściowo określone	340.60	39.9
P=0,0197		

Tabela 33: Uzyskane wartość mediany, oraz istotna statystycznie różnica poziomu markera CA 125 pomiędzy grupą pacjentek z nowotworem złośliwym, a niezłośliwym i przeciwciałami onkoneuronalnymi częściowo określonymi (test Manna-Whitneya).

Przeprowadzono również analizę porównawczą poziomu markera CA 125 pomiędzy pacjentkami z wykrytymi dokładnie określonymi przeciwciałami, oraz bez przeciwciał w obrębie tej samej grupy nowotworów. W żadnym z porównań poziom istotności p nie był istotny statystycznie.

4.7.2. Porównanie poziomu markera CEA w odniesieniu do badanych grup guzów jajnika

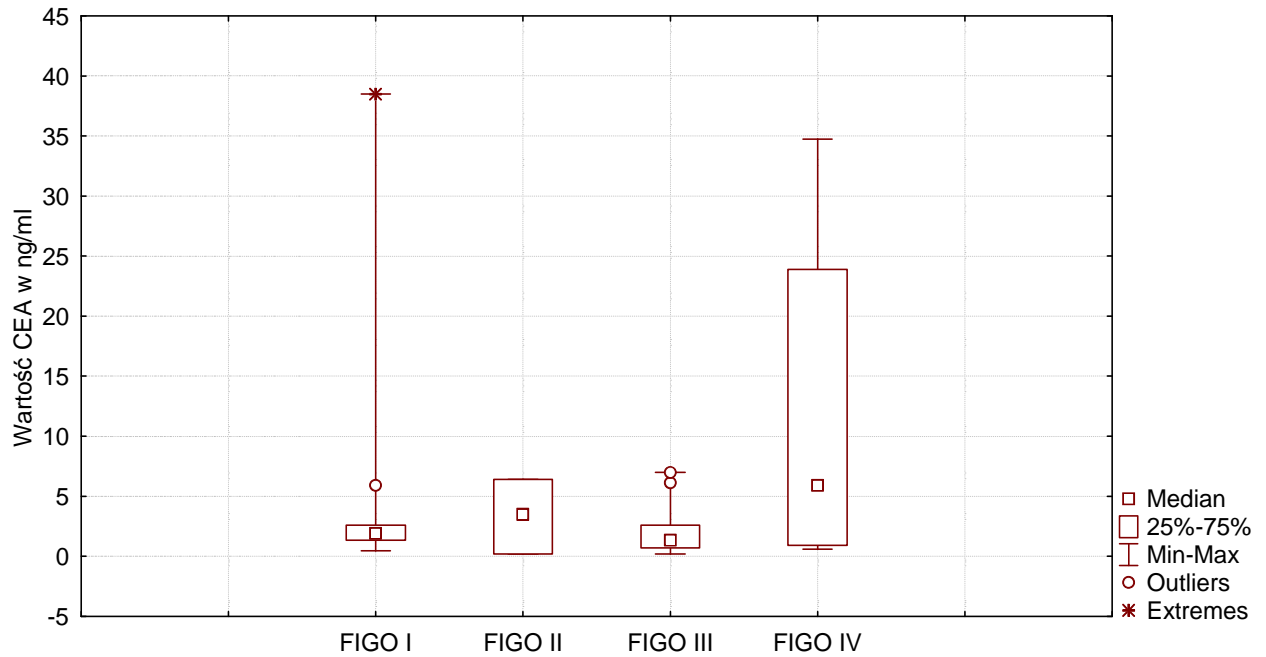
Wartości markera CEA w poszczególnych grupach guzów jajników nie różniły się istotnie statystycznie (Tab 34). Zaobserwowano jednak różnicę bliską istotności statystycznej pomiędzy nowotworami złośliwymi i wszystkimi zmianami o charakterze guzów niezłośliwych jajnika ($p=0,0590$).

Rodzaj wykrytego guza jajnika	Wartość CEA ng/ml				
	Minimum	25 percentyl	75 percentyl	Maksimum	Mediana
NOWOTWORY ZŁOŚLIWE	0,2	0,909	2,88	38,49	1,905
ZMIANY NIEZŁOŚLIWE (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego)	0,3	0,73	1,78	4,3	1,27
POTWORNIAK DOJRZAŁY	0,34	0,746	1,66	28,77	1,10
ZMIANY NIEZŁOŚLIWE (Łącznie)	0,3	0,7335	1,72	28,77	1,31

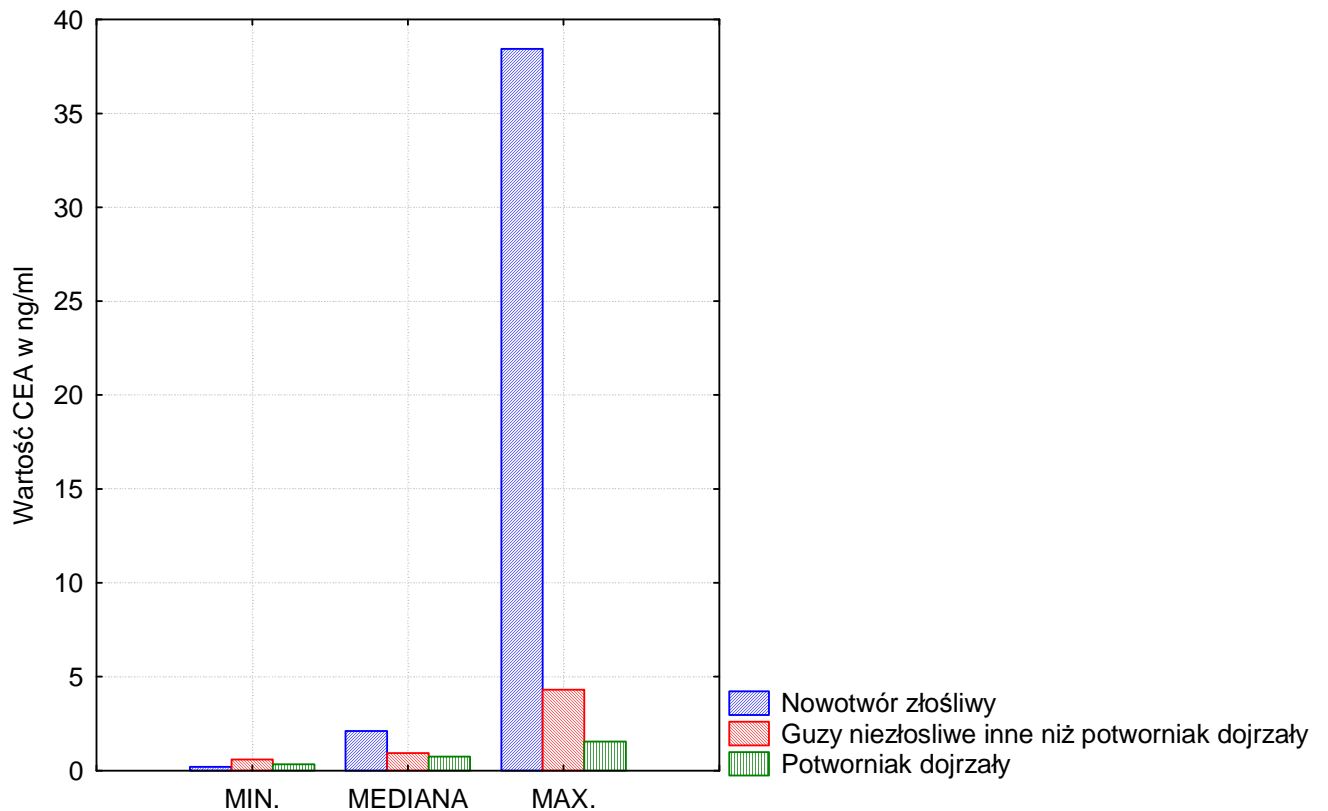
Tabela 34: Uzyskane wartości stężenia markera CEA w zależności od grupy badanych nowotworów jajnika.

Poniżej przedstawiono (Ryc.30) zależność uzyskanych poziomów CEA w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego według oceny FIGO.

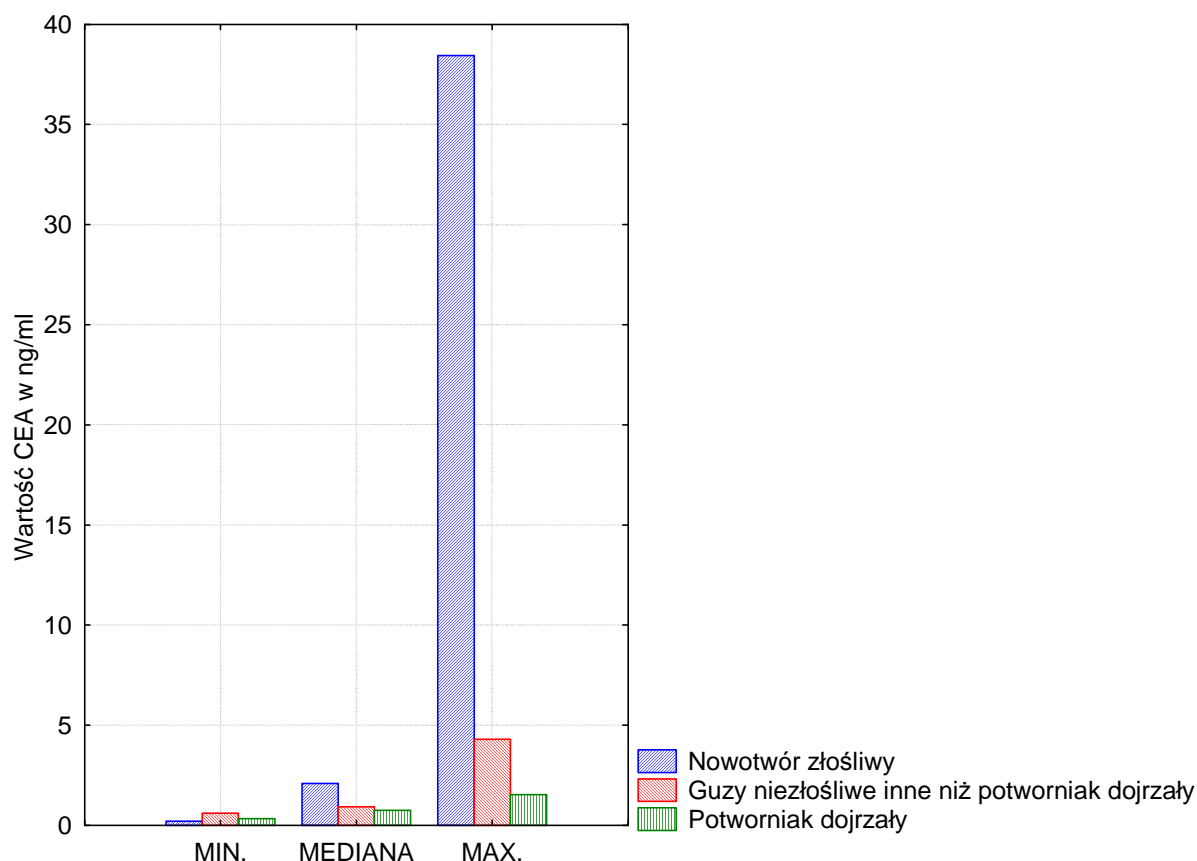
Wartości maksymalne i poziom mediany stężenia markera CEA były najwyższe wśród pacjentek z rozpoznaniem nowotworem złośliwym jajnika i obecnymi przeciwciałami onkoneuronalnymi.



Rycina 31: Wykres zakresu wartości i mediany stężenia markera CEA w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu złośliwego jajnika FIGO.



Rycina 32: Zakres wartości, oraz mediana stężenia markera CEA u pacjentek z wykrytymi przeciwciałami onkoneuronalnymi w poszczególnych grupach guzów jajników.



Rycina 33: Zakres wartości, oraz mediana stężenia markera CEA u pacjentek z wykrytymi przeciwciałami onkoneuronalnymi częściowo określonymi w poszczególnych grupach guzów jajników.

W grupie pacjentek z rozpoznaniem nowotworem złośliwym jajnika największą liczbę przeciwciał wykryto przy prawidłowym poziomie antygenu karcynoembrionalnego (n=15). W podgrupie tej dominowały przeciwciała onkoneuronalne zarówno dokładnie (n=8), jak i częściowo określone (n=1), oraz antyneuronalne (n=6). U żadnej z pacjentek nie potwierdzono obecności przeciwciała anti-CV2 i anti-Ri, ani też anti-MAG, anti-GAD.

Wśród chorych z nowotworem złośliwym jajnika i podwyższonym parametrem tylko u pięciu pacjentek wykryto przeciwciała – w 3 przypadkach onkoneuronalne dokładnie określone, a w 2 antyneuronalne

Dokonano porównania poziomu CEA w zależności od wykrytego typu przeciwciała w poszczególnych grupach nowotworów i nie stwierdzono istotnych różnic ($p > 0,05$).

Brak istotności odnotowano również dla analizowanego markera przy porównaniu jego poziomu w zależności od rodzaju wykrytego przeciwciała pomiędzy badanymi grupami guzów jajników

4.7.3. Analiza uzyskanych wartości markera AFP w badanych grupach pacjentek w zależności od wykrytych przeciwciał

Stężenie AFP w grupie nowotworów złośliwych było wyższe w porównaniu do pozostałych grup ($p < 0,01$) (Tab 35). Natomiast nie stwierdzono różnic między grupą potworniaków dojrzałych, a pozostałymi zmianami niezłośliwymi ($p = 0,6357$).

Rodzaj wykrytego guza jajnika	Wartość AFP ng/ml				
	Minimum	25 percentyl	75 percentyl	Maksimum	Mediana
NOWOTWORY ZŁOŚLIWE	0,8	2,1	5,99	30616	3,13
NOWOTWORY NIEZŁOŚLIWE (bez potworniaka dojrzałego)	0,605	1,46	3,35	5,13	2,17
POTWORNIAK DOJRZAŁY	1,03	1,39	2,81	6,43	1,93
NOWOTWORY NIEZŁOŚLIWE (Łącznie)	0,605	1,39	2,91	6,43	2,12

Tabela 35: Uzyskane wartości stężenia markera AFP w zależności od grupy poddanych analizie guzów jajników.

W oparciu o ocenę stężenia AFP w grupie nowotworów złośliwych stwierdzono występowanie większej liczby przeciwciał przy prawidłowym poziomie AFP. Dla wartości markera $< 10 \text{ ng/ml}$ potwierdzono obecność przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych u 8 chorych, przeciwciała częściowo określone w jednym przypadku, oraz antyneuronalnych u 8 kobiet. Przy wartości AFP powyżej zakresu normy tylko u 2 chorych wykryto przeciwciała – onkoneuronalne dokładnie określone

Stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenie AFP w grupie chorych z potworniakiem dojrzałym jajnika i wykrytymi przeciwciałami onkoneuronalnymi częściowo określonymi niż bez przeciwciał ($p = 0,0424$). W pozostałych przypadkach nie stwierdzono istotnych różnic.

5. DYSKUSJA.

5.1. Uwagi ogólne

Pomimo dynamicznego postępu medycyny jaki dokonał się w ostatnich latach wczesna diagnostyka i leczenie nowotworów złośliwych jajnika wciąż stanowi jeden z najtrudniejszych problemów onkologii klinicznej. Kluczem do sukcesu jakim byłoby poprawienie rokowania w nowotworze złośliwym jajnika powinna być wysoka wykrywalność na wczesnym etapie rozwoju klinicznego, oraz precyzyjne, przedoperacyjne prognozowanie złośliwości guzów. Niestety nadal zaledwie 25% nowotworów złośliwych rozpoznawana jest w I i II stopniu zaawansowania klinicznego, kiedy pięcioletni czas przeżycia sięga 70 – 90%. Wynika to z faktu, iż na tym etapie proces karcynogenezy przebiega skrycie i bezobjawowo, a występujące symptomy są mało specyficzne i często lekceważone. Podstawą właściwej diagnostyki powinno być wprowadzenie realnych do przeprowadzenia i wysoce użytecznych badań przesiewowych. Prawidłowo opracowany wstępny etap diagnostyki oparty na badaniach cechujących się wysoką czułością, specyficznością i dodatnią wartością predykcyjną niejednokrotnie pozwoliłby na wykrycie zmian o przebiegu subklinicznym. Niestety w kwestii nowotworów złośliwych jajnika problem ten pozostaje nadal otwarty. Dlatego tak istotne jest poszukiwanie nowych danych, które przybliżą klinicystów do sukcesu jakim byłoby zwiększenie wykrywalności i zmniejszenie współczynnika śmiertelności na nowotwory złośliwe jajnika. Pozwoliłoby to również na zwiększenie odsetka operacji oszczędzających wykonywanych endoskopowo.

Z tego punktu widzenia istotne jest uwzględnienie znaczenia występowania neurologicznych zespołów paranowotworowych w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika. Jak wykazały dotychczasowe obserwacje pojawienie się przeciwciał, jak również wystąpienie neurologicznych objawów zespołu paranowotworowego wyprzedza w 70-80% przypadków o kilka miesięcy kliniczne rozpoznanie nowotworu złośliwego [14,63,87]. Potwierdza to między innymi badanie Bernal i wsp., w którym wystąpienie klinicznych wykładników paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku u 83% pacjentów wyprzedzało rozpoznanie choroby Hodgkina [5]. Nieco niższy odsetek odnotowali Shams'ili i wsp., bowiem objawy deficytu neurologicznego wyprzedzały rozpoznanie nowotworu złośliwego u 62% pacjentów [87]. W analizie Smitt i wsp. wśród 73 pacjentów z wykrytymi przeciwciałami anti-Hu w 54 przypadkach rozpoznanie nowotworu złośliwego następowało średnio po 3,5 miesiącach od rozpoznania zapalenia układu limbicznego (zakres czasowy: 17 dni-31 miesięcy) [89]. Dotyczy to również szczególnego typu nowotworu niezłośliwego pochodzenia germinalnego,

jakim jest potworniak jajnika. W badaniu Dalmau i wsp. wystąpienie objawów zespołu paranowotworowego i wykrycie specyficznych przeciwciał anty-NMDA następowało w okresie od 3 tygodni do 4 miesięcy przed postawieniem rozpoznania potworniaka jajnika [18]. Fakt istnienia korelacji pomiędzy występowaniem przeciwciał, a konkretnym typem guza jajnika wydaje się być obiecującym elementem do wykorzystania we wczesnej diagnostyce zwłaszcza zmian występujących bez uchwytnych objawów klinicznych wzrastającego nowotworu. Rozszerzenie diagnostyki o powyższe elementy kliniczne i laboratoryjne pozwoliłoby w znaczący sposób skrócić czas niezbędny do postawienia i zweryfikowania rozpoznania.

Diagnostyka przedoperacyjna guzów przydatków opiera się na kilku podstawowych elementach. Badanie ginekologiczne stanowi pierwszoplanową opcję diagnostyczną u pacjentek ze zmianami w obrębie miednicy mniejszej. Wnosi szereg istotnych informacji niedostępnych ocenie ultrasonograficznej, jak ruchomość, spoistość, czy umiejscowienie względem narządów sąsiednich. Jest to metoda powszechnie dostępna i tania, obarczona jednak stosunkowo niską czułością rzędu 50% [80], która wzrasta wraz z wielkością guza. Istotne ograniczenie badania ginekologicznego stanowi doświadczenie osoby badającej, oraz otyłość pacjentki i wynikający stąd fakt, iż zmiany poniżej 5 centymetrów często są nierozpoznawane [68].

W ocenianym materiale klinicznym u 13 (10,5%) pacjentek przedoperacyjne badanie ginekologiczne nie wykazało żadnych zmian w miednicy mniejszej. Przy czym u 7 z nich rozpoznano ostatecznie nowotwór złośliwy w II i III stopniu zaawansowania klinicznego według klasyfikacji FIGO, co stanowiło 12,7% wszystkich guzów złośliwych w analizowanej grupie. Warto wspomnieć, iż u 4 spośród tych pacjentek wartość indeksu masy ciała BMI przekroczyła 25, w tym w dwóch przypadkach jego wartość wyniosła powyżej 35. Dla porównania w grupie guzów niezłośliwych badanie ginekologiczne nie pozwoliło rozpoznać zmian w obrębie jajników u 6 (8,8%) pacjentek.

Od wielu lat wysoka pozycja ultrasonografii w diagnostyce różnicowej guzów miednicy mniejszej pozostaje niezachwiana. Pozwala w przybliżonym stopniu określić prawdopodobieństwo złośliwego charakteru badanej zmiany, poprzez ocenę jej struktury morfologicznej, oraz zmniejszyć niedokładność ginekologicznego badania palpacyjnego. Umożliwia potwierdzenie jajnikowego pochodzenia guza, ocenę jego echostruktury, oraz określenie indeksu morfologicznego i dopplerowskiego pozwalających prognozować złośliwy charakter badanej zmiany. W badanym materiale własnym w ocenie ultrasonograficznej

przeprowadzonej według klasyfikacji IOTA guzy obustronne stwierdzono u większości pacjentek z potwierdzonym nowotworem złośliwym jajnika (n=34; 65,3%). Przy czym w większości były to zmiany lite (n=19; 34,5%) i cystyczno-lite, wielokomorowe (n=22; 40%). Guzy niezłośliwe natomiast w ultrasonograficznej diagnostyce przedoperacyjnej występowały przede wszystkim pod postacią zmian cystycznych (n=24; 35,3%) zlokalizowanych jednostronnie (n=65; 95,5%). W połączeniu z dodatkowymi danymi klinicznymi jak wiek chorej, korelacja z fazą cyklu miesięczkowego, statusem menopauzalnym, oraz tempem rozwoju zmiany czy też poziomem określonych markerów nowotworowych ultrasonografia jest cennym źródłem prognozowania. W odniesieniu do statusu menopauzalnego analizowanej grupy kobiet 64,2% (n=79) stanowiły chore po menopauzie, z czego u 33 rozpoznano guzy jajnika o charakterze złośliwym, co stanowiło 60% wszystkich nowotworów złośliwych.

W korelacji z ultrasonografią w niniejszym badaniu dokonano analizy zależności ocenianych przedoperacyjnie wymiarów nowotworu z obecnością przeciwciał. Średnia wielkość zmiany nowotworowej jajnika w grupie pacjentek bez przeciwciał była większa niż u chorych z przeciwciałami onkoneuronalnymi, przy ostatecznym rozpoznaniu nowotworu złośliwego jajnika (p=0,0468). Wyniki te pozostają w zgodzie z aktualnie obowiązującą wiedzą. Rozpoznanie neurologicznego zespołu paranowotworowego w oparciu o obecność przeciwciał w 70-80% następuje bowiem w przypadku zmian o niewielkich rozmiarach, nie będących jawnymi klinicznie [14,63]. W świetle tych wyników uzasadnione wydaje się być podejmowanie prób zastosowania przeciwciał w charakteryzowaniu złośliwego procesu nowotworowego. Wykrywalność przeciwciał u chorych przed wystąpieniem klinicznych wykładników nowotworu, przy nawet niewielkich zmianach wydaje się potwierdzać możliwość wykorzystania przeciwciał onkoneuronalnych we wczesnej diagnostyce nowotworów złośliwych jajnika.

Dotychczasowe badania nad występowaniem przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych w przebiegu nowotworów złośliwych jajnika opierają się na niesystematyzowanych, ograniczonych liczbowo analizach, dlatego też trudno na tym etapie jednoznacznie wykazać ich wartość kliniczną. Pomimo stale wzrastającego zasobu wiedzy dotyczącej potencjalnego wykorzystania przeciwciał we wstępnej diagnostyce guzów przydatków uzyskane fakty wymagają dalszej weryfikacji w oparciu o analizy dużych grup założonej populacji docelowej. Nie mniej jednak już na tym etapie wydają się być bardzo

wartościowym elementem uzupełniającym w rozpoznawaniu i różnicowaniu guzów złośliwych jajnika.

5.2. Analiza ogólna występowania badanych przeciwciał w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika

Pomimo zwiększającej się liczby doniesień na temat występowania w przebiegu nowotworów złośliwych przeciwciał onkoneuronalnych, oraz rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych, nadal zbyt mało wiadomo na temat charakteru powiązań powyższych procesów. Większość raportów obejmuje grupy pacjentów kwalifikowanych ze względu na określony rodzaj zespołu paranowotworowego, typ przeciwciał, lub też opisuje pojedyncze przypadki, co nie uściśla informacji na temat szczegółowej natury opisywanych zjawisk [8,9,29,35,36,37,51,54,60,93]

Do tej pory najlepiej poznana i udowodniona korelacja obejmuje współwystępowanie raka drobnokomórkowego płuc (SCLC; ang. small cell lung cancer) i przeciwciała onkoneuronalnego anty-Hu. Wiadomo dziś jednoznacznie, iż komórki raka drobnokomórkowego płuc we wszystkich przypadkach wykazują ekspresję białek Hu, co aktywuje odpowiedź immunologiczną i implikuje powstawanie przeciwciał anty-Hu. Nie zawsze wiąże się to jednak z rozwojem neurologicznego zespołu paranowotworowego, bowiem 16% pacjentów z przeciwciałami anty-Hu nie wykazuje żadnych symptomów neurologicznych [32,33,103,114].

Jak dotąd nie przeprowadzono randomizowanych, usystematyzowanych badań nad występowaniem przeciwciał w przebiegu nowotworów jajnika, ze szczególnym uwzględnieniem nowotworów złośliwych. Nie mniej jednak opracowane i przedstawione do tej pory w piśmiennictwie analizy mają charakter nie tylko poznawczy. Wskazują również na potencjalne znaczenie i użyteczność kliniczną oznaczania przeciwciał u pacjentek z rozpoznaniem nowotworem złośliwym jajnika [9,22,36,51,60,101,105,114].

Nowotwory narządów płciowych należą do najczęstszych przyczyn rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych wśród kobiet [9,33,51,67]. Badania epidemiologiczne przynoszą zróżnicowane wyniki dotyczące częstości ich występowania. Szacowany zakres obejmuje od 1% [77] do 15% [82] w zależności od badanej populacji. Brak natomiast w literaturze jednoznacznych informacji dotyczących częstości występowania zarówno przeciwciał onkoneuronalnych, jak i antyneuronalnych w przebiegu nowotworów

jajnika. W większości sytuacji wynika to z ograniczeń liczbowych analizowanych grup chorych, oraz uzyskiwanych często rozbieżnych wyników utrudniających analizę porównawczą. W przedstawionych wynikach badań własnych stwierdzono obecność przeciwciał w 26 przypadkach, co stanowiło 47,2% grupy pacjentek z rozpoznanym nowotworem złośliwym jajnika, oraz 21,1% całej badanej grupy. Wśród nich 50% (n=13) stanowiły przeciwciała antyneuronalne, 46,2% (n=12) przeciwciała onkoneuronalne dokładnie określone, oraz 3,7% (n=1) częściowo określone. Przy czym w grupie nowotworów złośliwych dominowały przeciwciała przeciwko amfifizynie (30,8%) i anty-mielina (30,8%). Dla porównania w analizie klinicznej przedstawionej przez Drliczek i wsp., obejmującej 181 pacjentek przeciwciała onkoneuronalne wykryto w surowicy krwi 6,1% kobiet objętych badaniem [22]. Zdecydowanie wyższy odsetek wykrytych przeciwciał onkoneuronalnych stwierdzili Michalak i wsp. [64] Wśród 132 pacjentów objętych badaniem przeciwciała stwierdzono u 38% chorych. Natomiast w grupie nowotworów niezłośliwych i osobno potworniaków dojrzałych w materiale własnym stwierdzono najczęściej odpowiednio: przeciwciała przeciwko neuroendothelium (50%), oraz anty-NMDA (54,5%). Jak dotąd nie przeprowadzono badań, które swoją analizą obejmowałyby tak szerokie spektrum przeciwciał w przebiegu nowotworów jajnika. Porównania dokonywać można w oparciu o opisy pojedynczych przypadków, bądź grup pacjentek ocenianych pod względem obecności przeciwciał w przebiegu poszczególnych typów zespołów neurologicznych, lub zróżnicowanych grup nowotworów [9,18,22,36,38,47,51,60,101].

Rozwój neurologicznych zespołów paranowotworowych, oraz występowanie przeciwciał dotyczy najczęściej chorych w średnim wieku. W analizowanym materiale własnym chore z obecnymi przeciwciałami i nowotworem złośliwym jajnika były starsze niż grupa kobiet z nowotworem niezłośliwym i osobno potworniakiem dojrzałym. Przy czym wśród pacjentek z nowotworem złośliwym i potwierdzoną obecnością przeciwciał 8 (30,7%) pacjentek było poniżej 50 roku życia. Uwzględniając natomiast w powyższej grupie status menopauzalny 61,5% chorych było w okresie pomenopauzalnym. Wśród pacjentek po menopauzie dominowały przeciwciała przeciwko mielinie, natomiast przed menopauzą przeciwko amfifizynie.

W badaniu przedstawionym przez Candlera i wsp. wśród 63 objętych badaniem pacjentów średni wiek kobiet wyniósł 66 lat (zakres wiekowy 30-77 lat) i był zbliżony do średniego wieku w grupie mężczyzn [8]. Analiza przeprowadzona przez Shamsh'ili i wsp. wykazała podobną tendencję co do predyspozycji wiekowej. Średni wiek pacjentów z

wykrytymi przeciwciałami anti-Hu, anti-Yo i anti-Ri wyniósł 64-67 lat. Natomiast w przypadku przeciwciał anti-Tr średni wiek pacjentów wynosił 54 lata, przy czym różnica ta nie miała znaczenia istotnego statystycznie [87].

W cytowanym już badaniu Candler i wsp. [8] wykazano większą predyspozycję kobiet do rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych w przebiegu nowotworu złośliwego w porównaniu do mężczyzn. W analizowanej przez badaczy grupie stosunek kobiet do mężczyzn z neurologicznym zespołem paranowotworowym i obecnymi przeciwciałami wynosił 3,2 : 1. Nawet po wyeliminowaniu nowotworów żeńskich narządów płciowych i raka piersi wskazywał on na zwiększoną zachorowalność wśród kobiet (2,3 : 1) [8].

Powyższy rezultat potwierdza badanie przeprowadzone w populacji polskich pacjentów, w którym rozpoznano zdecydowanie większą predyspozycję do rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych wśród kobiet niż mężczyzn [64]. Wykryte przeciwciała onkoneuronalne obejmowały anti-Yo (55%), anti-Ri (37%), oraz anti-Hu (8%). Przy czym dwa pierwsze typy przeciwciał dominowały w grupie kobiet, podczas gdy przeciwciała anti-Hu wykryto jedynie u mężczyzn.

Odmienne wyniki wskazujące na częstsze występowanie paranowotworowych zespołów neurologicznych wśród mężczyzn wykazali Graus i wsp. w badaniu obejmującym 200 pacjentów z obecnymi przeciwciałami anti-Hu, oraz rozpoznaniem zapalenia mózgu i rdzenia (średni wiek 63 lata). Według autorów odmiennosc uzyskanych wyników może być następstwem zróżnicowania częstości występowania raka drobnokomórkowego płuc pomiędzy populacją kobiet Europejską a w Stanach Zjednoczonych [35].

Wraz z potwierdzeniem istnienia zależności pomiędzy występowaniem nowotworów złośliwych, a obecnością przeciwciał onkoneuronalnych pojawiło się pytanie, czy ich znaczenie ogranicza się tylko do diagnostyki, czy też ma znaczenie rokownicze dla pacjenta. Stale wzrasta ilość badań próbujących zmierzyć się z tym pytaniem. Brak analiz tego zagrożenia w dużych populacjach nadal jednak nie sprzyja postawieniu jednoznacznej odpowiedzi. Z dotychczasowych raportów wynika, iż czas przeżycia od momentu rozpoznania nowotworu złośliwego jest zdecydowanie krótszy u chorych ze stwierdzonymi przeciwciałami anti-Yo (średnio 13 miesięcy), lub anti-Hu (średnio 7 miesięcy) w porównaniu z osobami, u których potwierdzono obecność przeciwciał anti-Ri (średni czas 69 miesięcy) lub anti-Tr (średnio 113 miesięcy) [14,87]. W przypadku pacjentów z potwierdzoną obecnością przeciwciał anti-Yo rokowania są gorsze dla kobiet z nowotworem

złośliwym jajnika, niż w przypadku stwierdzonego raka piersi [106]. Potwierdzają to również badania Rojs i wsp. w których średni czas przeżycia pacjentek z obecnymi przeciwciałami anti-Yo i paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku wyniósł 100 miesięcy dla raka piersi i 22 miesiące w przypadku nowotworu złośliwego jajnika [63,78]. Stwierdzono ponadto iż pacjenci z wykrytymi przeciwciałami anti-Hu żyją krócej w porównaniu do chorych z przeciwciałami anti-CV2 [40]. Ponadto wykazano iż wzrost miana przeciwciała anti-Ri pozwala wykryć nawrót choroby nowotworowej przed jej klinicznym rozpoznaniem [95].

W badaniu Graus i wsp z 1997 roku wykazano, iż chorzy z drobnokomórkowym rakiem płuca, bez objawów neurologicznych, ale z obecnością przeciwciał anti-Hu w surowicy mają lepsze rokowanie niż ci, u których nie wykryto przeciwciał [32]. Prognozy są również korzystniejsze w przypadku pacjentów z rozwiniętym paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku bez obecności przeciwciał onkoneuronalnych, niż w przypadku wykrycia towarzyszących przeciwciał anti-Hu [106].

Graus i wsp. określili cztery, niezależne czynniki predykcyjne wiążące się z gorszym rokowaniem dla pacjenta: wiek powyżej 60 roku życia, punktacja w skali Rankina >3 uzyskana według oceny klinicznej stanu ogólnego pacjenta, dysfunkcja więcej niż jednego obszaru neurologicznego, oraz brak następowego leczenia onkologicznego [35]. Odmienne obserwacje odnotowali Smitt i wsp. [85] W analizie grupy pacjentów z wykrytymi przeciwciałami anti-Hu za jedyne czynniki wykazujące korelację z czasem przeżycia autorzy uznali obecność nowotworu złośliwego w chwili postawienia rozpoznania neurologicznego zespołu paranowotworowego, oraz uzyskaną punktację według skali Rankina. Miano przeciwciał anti-Hu, oraz odstęp czasowy pomiędzy pierwszymi objawami neurologicznymi, a postawieniem diagnozy pozostawały bez wpływu na czas przeżycia [89].

Jak można przewidzieć rosnące zainteresowanie problematyką zespołów paranowotworowych sprzyja rozszerzaniu prowadzonych badań na coraz liczniejszą populację docelową. Gdyby dalsze analizy potwierdziły uzyskane dotychczas wyniki, rezultatem mogłoby być poszerzenie zakresu diagnostyki immunologicznej o ocenę obecności przeciwciał i ich znaczenie rokownicze w przypadku rozpoznania nowotworu złośliwego jajnika. Pozwoliłoby to na wyodrębnienie grup zwiększonego ryzyka wymagających zintensyfikowanych badań, jak również skróciłoby proces diagnostyczny i przyspieszył moment rozpoczęcia ukierunkowanej terapii onkologicznej.

5.3. Przeciwciała anti-Yo, anti-amfifizyna i paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku, jako najczęstsze wykładniki zespołu paranowotworowego w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika

Wśród nowotworów żeńskich narządów płciowych obecność przeciwciał stwierdza się najczęściej w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika, jak również u pacjentek z rozpoznaniem rakiem piersi [9,33,51,60,67,85]. W większości tych przypadków wykrywane są przeciwciała anti-Yo, oraz anti-amfifizyna, które fizjologicznie nie występują w surowicy krwi zdrowych kobiet [65,78]. Dlatego też wynikiem potwierdzonej obecności przeciwciał powinno być wykonanie diagnostyki obrazowej miednicy mniejszej, skrining serologiczny – oznaczenie poziomu markera CA 125, oraz dodatkowo wykonanie mammografii [9]. Niektórzy autorzy sugerują konieczność prowadzenia monitoringu w odstępach 6-cio miesięcznych przez okres 4 lat, celem poszukiwania nowotworu w przypadku, gdy wstępne badania obrazowe nie pozwoliły wykryć zmian morfologicznych w obrębie żeńskich narządów płciowych pomimo potwierdzonej obecności przeciwciał [106]. Znaczenie szeroko pojętej diagnostyki w przypadku potwierdzonej obecności przeciwciał podkreślają doświadczenia kliniczne, oraz opisy konkretnych przykładów. W badanym materiale klinicznym w surowicy krwi pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika w 8 przypadkach (30,8%) stwierdzono obecność przeciwciał przeciwko amfifizynie, oraz w jednym przypadku (3,8%) przeciwciała anti-Yo. Monstad i wsp. [67] opublikował w roku 2005 wyniki analizy występowania przeciwciał przeciwko komórkom Purkiniego w łącznej grupie 810 pacjentek, w tym 557 z nowotworem złośliwym jajnika i 253 z rakiem piersi. Obecność przeciwciał anti-Yo wykazano w surowicy krwi 13 (2,3%) pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika i 4 (1,6%) z rakiem piersi, co odpowiada rezultatom uzyskanym w niniejszej pracy [67]. W cytowanym badaniu częstość występowania przeciwciał anti-Yo była trzykrotnie większa w II stopniu zaawansowania klinicznego nowotworu (5/99; 5%) niż w stopniu I (8/458; 1,7%). Miano przeciwciał anti-Yo było znacznie wyższe w grupie pacjentek z rozsiałym procesem nowotworowym (IV FIGO), niż w stopniach I-III zaawansowania klinicznego [67]. Podobne rezultaty wspomniani badacze uzyskali w ocenie przeciwciał anti-Yo w przypadku rozpoznania nowotworu złośliwego piersi. Analiza kolejnych przypadków pozwoliła stwierdzić trzykrotnie częstsze występowanie anti-Yo w III niż w II stopniu zaawansowania klinicznego [67]. Wyniki te wykazują zgodność z uzyskanymi w niniejszej pracy. Odsetek wykrytych przeciwciał był dwukrotnie większy w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym

jajnika w III niż w I stopniu zaawansowania klinicznego. Jak można zauważyć uzyskane rezultaty wskazywać mogą na bezpośrednią zależność pomiędzy obecnością przeciwciał, a stopniem klinicznego zaawansowania nowotworu złośliwego jajnika [67]. Jednak z klinicznego punktu widzenia najistotniejszym w aspekcie wczesnej diagnostyki wydaje się być fakt występowania przeciwciał już w na etapie wczesnego nowotworzenia. Potwierdzają to wyniki niniejszej pracy, bowiem 23% wykrytych przeciwciał dotyczyło pacjentek z rozpoznanym nowotworem złośliwym jajnika w I stopniu zaawansowania klinicznego.

Powszechnie obecna w diagnostyce nowotworów złośliwych jajnika ocena markera CA 125 skłania do zadania sobie pytania czy istnieje jednoznaczne powiązanie pomiędzy jego wartością, a obecnością omawianych przeciwciał. W badanym materiale klinicznym stwierdzono częstsze występowanie przeciwciał onkoneuronalnych u pacjentek z podwyższonym poziomem markera Ca 125 i zdiagnozowanym nowotworem złośliwym jajnika. Wyniki badań cytowanej już pracy autorstwa Monstad i wsp. [67] nie potwierdziły natomiast występowania korelacji pomiędzy zwiększonym poziomem markera CA 125, ani też określonym typem histologicznym nowotworu, a występowaniem przeciwciał anti-Yo [67]. Szczególnie interesujący wydaje się fakt normalizacji wartości markera CA125 u pacjentek z paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku i obecnymi przeciwciałami anti-Yo po operacyjnym usunięciu przydatków, pomimo braku wykrytych zmian nowotworowych [58]. Przedstawione powyżej wyniki badań i przykłady sugerują możliwość optymalnego połączenia we wczesnej diagnostyce oceny CA 125 i przeciwciał w surowicy krwi. Proponowany sposób oceny wydaje się być wartościowym uzupełnieniem obecnej diagnostyki, jednak wymaga on dalszej weryfikacji klinicznej na większej liczbie chorych.

W cytowanym już wcześniej badaniu Candler i wsp. jedynymi przeciwciałami wykrytymi u pacjentek z rakiem jajnika były przeciwciała anti-Yo [8]. Podobne wyniki uzyskali Drlicek i wsp. [18]. Na podstawie przeprowadzonych analiz laboratoryjnych wśród 181 pacjentek z potwierdzonym nowotworem złośliwym jajnika przeciwciała anti-Yo wykryto w 4 przypadkach (2%). Ponadto pomimo wykrytych przeciwciał autorzy powyższej pracy u żadnej z pacjentek nie stwierdzili klinicznych wykładników neurologicznego zespołu paranowotworowego. Sugeruje to większą częstość współwystępowania przeciwciał anti-Yo u pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika niż towarzyszącego paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku. W oparciu o wyniki własne autorzy cytowanej pracy wysunęli wnioski wskazujące na większe znaczenie przeciwciał onkoneuronalnych w towarzyszącej nowotworom patologii, niż bezpośrednio w etiopatogenezie neurologicznych zespołów

paranowotworowych [18]. Badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych wydają się potwierdzać te przypuszczenia. Przeprowadzenie bowiem biernego transferu przeciwciał anti-Yo wiązało się z brakiem wystąpienia objawów uszkodzenia układu nerwowego, pomimo wykrywalnych przeciwciał anti-Yo w komórkach Purkinjego zwierząt [34]. Jednocześnie obserwowano cechy zwyrodnienia mózdzku w doświadczalnych modelach choroby nowotworowej przy nieobecności przeciwciał onkoneuronalnych [83,84]. Ponadto brak poprawy klinicznej i utrzymywanie się symptomów neurologicznych pomimo eliminacji przeciwciał anti-Yo po dożylnym zastosowaniu plazmaferezy wydaje się wskazywać na udział również innych, nieokreślonych czynników w rozwoju zespołu paranowotworowego [9].

Wśród chorych z rozpoznaniem paranowotworowy zwyrodnieniem mózdzku stwierdzono występowanie ektopowej ekspresji białka cdr2 w komórkach nowotworu złośliwego jajnika i piersi, będących antygenem docelowym dla przeciwciał anti-Yo. W związku z tym pojawiło się pytanie, czy ekspresja białek cdr2 jest ściśle powiązana z odpowiedzią immunologiczną, powstawaniem przeciwciał i rozwojem zespołu paranowotworowego. W roku 2000 Darnell i wsp. podjęli próbę odpowiedzi na to pytanie [19]. Do badania zakwalifikowane zostały pacjentki z nowotworem złośliwym jajnika i piersi bez jednoczesnych klinicznych wykładników neurologicznego zespołu paranowotworowego. U znaczącej większości wykazano ekspresję w komórkach nowotworu białka cdr2, co wskazuje iż obecność antygenów jest konieczna, ale nie wystarczająca do aktywacji odpowiedzi immunologicznej [19]. Potwierdzają to obserwacje dotyczące raka drobnokomórkowego płuc, bowiem u około 15% pacjentów stwierdza się niskie miana przeciwciał anti-Hu, pomimo braku objawów ze strony układu nerwowego, co koreluje w tym przypadku z lepszym rokowaniem [19]. W opinii autorów ma to istotne znaczenie, ponieważ określa cdr2 jako potencjalny punkt docelowy dla leczenia immunologicznego pacjentów bez stwierdzonej dysfunkcji neurologicznej [19].

Wiele opracowań wskazuje na bezpośrednią zależność pomiędzy obecnością przeciwciał onkoneuronalnych anti-Yo (PCA-1), a rozwojem nowotworu złośliwego jajnika [29,74,78,107]. Ze względu na specyfikę reakcję z białkami o masie 34kDa i 62kDa znajdującymi się w cytoplazmie komórek Purkinjego, oraz dendrytach i aksonach neuronów najczęstszym towarzyszącym im zespołem neurologicznym jak wspomniano powyżej jest paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku. Przeciwciała anti-Yo wykrywane są w surowicy krwi tylko 2% pacjentek z rozpoznaniem nowotworów złośliwych jajnika bez jednoczesnego

występowania paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku [54]. Wynika z tego, iż w każdym przypadku występowania objawów PCD w badaniu przedmiotowym, zwłaszcza u kobiet powyżej 50 roku życia należy rozważyć diagnostykę w kierunku raka jajnika.

Verschuuren i współautorzy przedstawili wyniki badań autopsyjnych pacjentek z wykrytymi przeciwciałami anti-Yo i paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika [107]. Głównym wykładnikiem zmian w układzie nerwowym było stwierdzenie znacznego stopnia, bądź też całkowitego zaniku komórek Purkinjego z rozplemem astrogleju Bergmanna, oraz rzadziej towarzyszącymi naciekami limfocytarnymi [107]. Fakt obecności w każdym przypadku przeciwciał skierowanych zarówno przeciwko antygenom nowotworu jajnika, jak i komórkom warstwy zwojowej mózdzku umacnia podejrzenie paranowotworowego charakteru zmian poprzez partycypację anti-Yo w procesie destrukcji komórek Purkinjego [70,107]. Liczba pozostałych komórek wykazujących ekspresję białek Yo zależy od intensywności odpowiedzi immunologicznej i czasu trwania choroby. Wymagana do prawidłowego funkcjonowania minimalna ilość komórek Purkinjego przy aktualnych możliwościach diagnostycznych nie jest jednoznacznie możliwa do oceny. Nie mniej jednak badania morfometryczne sugerują, iż zniszczenie ponad 40% komórek Purkinjego wiąże się z wystąpieniem pierwszych symptomów klinicznych ze strony układu nerwowego [107].

W badaniu Vianello i wsp. z roku 2004 wszystkie pozytywne przypadki rozpoznania paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku dotyczyły kobiet z obecnymi przeciwciałami anti-Yo (PCA-1) i wykrytym nowotworem złośliwym jajnika, lub piersi [108]. Kliniczne symptomy ze strony układu nerwowego występowały w okresie 12 miesięcy przed rozpoznaniem nowotworu złośliwego [108]. Opiswane są również pojedyncze przypadki występowania nietypowych zespołów paranowotworowych w przebiegu nowotworów złośliwych jajnika, takich jak zespół nerczycowy [28], retinopatia paranowotworowa [37], jak również klinicznie zróżnicowana grupa zmian skórnych [91].

W roku 1999 Yangming i współautorzy przedstawili opis przypadku pacjentki z szybko postępującym paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku. Potwierdzona obecność przeciwciał anti-Yo pozwoliła ukierunkować diagnostykę na poszukiwanie nowotworu w obrębie narządów płciowych. Tomografia komputerowa wykazała obecność litych zmian w obrębie jajników, które w ostatecznym rozpoznaniu histopatologicznym okazały się nowotworem o granicznej złośliwości [9].

Wysoką użyteczność w oparciu o obecność przeciwciał anti-Yo wykazał Hetzel i wsp. w opublikowanym w 1990 roku badaniu [85]. Stwierdzono występowanie wysoko zróżnicowanego gruczolakoraka jajnika u wszystkich chorych poddanych laparotomii zwiadowczej, po wykryciu przeciwciał onkoneuronlanych anti-Yo pomimo negatywnego wyniku badań obrazowych miednicy mniejszej [38]. Autorzy udowodnili tym samym korzyści płynące ze znajomości korelacji pomiędzy występowaniem określonych przeciwciał, a potencjalną możliwością rozwoju konkretnego rodzaju nowotworu. W zdecydowany sposób skraca to proces diagnostyczny i sprzyja wykryciu nowotworów na wczesnym etapie zaawansowania klinicznego.

Podobny przypadek przedstawił Liu i współautorzy w roku 2000 [51]. Dotyczył on pacjentki z klinicznymi wykładnikami paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku, bez uchwytnych patologii w obrębie narządów płciowych. Diagnostyka immunologiczna potwierdziła obecność przeciwciał anti-Yo, natomiast wykonane badania obrazowe nie wykazały żadnych zmian morfologicznych. Jednak podwyższony poziom markera CA 125 i obecność swoistego przeciwciała skłoniła klinicystów do podjęcia decyzji o leczeniu operacyjnym. Ostatecznie w ocenie histopatologicznej rozpoznano gruczolakoraka jajnika [51].

Kilka lat później, w roku 2007 kolejny przypadek opisał Marchand i współautorzy [54]. U pacjentki z rozwiniętym w pełni obrazem paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku potwierdzono obecność w surowicy krwi przeciwciała onkoneuronalnego anti-Yo. Wykonane badania obrazowe: ultrasonografia, oraz tomografia komputerowa miednicy mniejszej nie wykazały uchwytnych zmian patologicznych. Zastosowanie FDG-PET umożliwiło wykrycie w obrębie jajników i węzłów chłonnych ognisk zwiększonego wychwytu fluorodeoksyglukozy. Postępowanie operacyjne pozwoliło rozpoznać nowotworu złośliwego jajnika – adenocarcinoma papillare serosum, a w kolejnym etapie wdrożyć adekwatne leczenie onkologiczne [54].

Zdiagnozowanie paranowotworowego charakteru zwyrodnienia mózdzku przy współistniejącym i już zdiagnozowanym nowotworze złośliwym jest stosunkowo proste. Odmienne przedstawia się sytuacja w przypadku brak uchwytnych zmian w badaniach obrazowych wskazujących na toczący się proces nowotworowy, które mogłyby właściwie ukierunkować rozpoznanie. Mason i wsp. przedstawił przypadek pacjentki, u której zaobserwowano typowe objawy zwyrodnienia mózdzku. Pomimo braku wykrywalnych zmian w obrębie jajników, podwyższony poziom markera CA-125 (131 U/ml) skłonił autorów do

usunięcia przydatków. W ocenie histopatologicznej nie wykryto patologii nowotworowej. Jednak normalizacja poziomu markera w ciągu miesiąca od leczenia operacyjnego pozwoliła rozpoznać paranowotworowy charakter zmian neurologicznych i wskazywała na jajnik jako najbardziej prawdopodobne źródło rozwijającego się nowotworu [58].

Liczba prac o podobnym charakterze ulega zwiększeniu z roku na rok, co wskazuje na rosnące zainteresowanie możliwością wykorzystania obecności przeciwciał we wczesnej diagnostyce nowotworów złośliwych jajnika. Opisy konkretnych przypadków wykorzystania diagnostyki immunologicznej wydają się potwierdzać ich przydatność, zwłaszcza w przypadku rozwijającego się nowotworu złośliwego jajnika bez uchwytnych symptomów klinicznych. Dodatkowo wskazują na istotność połączenia diagnostyki immunologicznej z oceną poziomu markerów nowotworowych i diagnostyką obrazową, jako metodę zwiększającą szanse wykrycia wczesnego procesu karcynogenezy [9,28,38,51,54, 60,74].

Shams'ili i wsp. opracował badanie mające na celu oszacowanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych w przebiegu paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku [87]. W okresie dwunastoletnich badań rozpoznano 137 przypadków zespołu paranowotworowego, przy czym u 36% pacjentów wykryto towarzyszące im przeciwciała, odpowiednio 19 anti-Yo, 16 anti-Hu, 7 anti-Tr i anti-Ri. Podczas gdy 100% wykrytych przeciwciał anti-Yo i anti-Tr wiązało się z obecnością klinicznych wykładników paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku, w przeciwieństwie do nich symptomy neurologiczne towarzyszyły 86% anti-Ri, oraz 18% anti-Hu. W 42 (84%) przypadkach wykryto nowotwór złośliwy, w tym najczęściej był to nowotwór żeńskich narządów płciowych z towarzyszącymi przeciwciałami anti-Yo i anti-Tr [87]. Wystąpienie pierwszych objawów paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku wyprzedzało rozpoznanie nowotworu w 26 (62%) przypadkach (przedział czasowy 3,5-6 miesięcy). W omawianym badaniu 67% pacjentów z wykrytymi przeciwciałami anti-PCA1 zmarło w wyniku powikłań neurologicznych [87].

Odmienne przebieg zespołu paranowotworowego zaobserwowali Rojas i wsp. [78]. Zaawansowanie i postęp deficytu neurologicznego był przyczyną śmierci pacjentów tylko w 29%, podczas gdy w pozostałych przypadkach zgon nastąpił w wyniku powikłań onkologicznych [78]. Smitt i wsp. poddali analizie klinicznej 73 pacjentów z nowotworem złośliwym płuc, przeciwciałami anti-Hu, oraz zdiagnozowanym paranowotworowym zapaleniem układu limbicznego i czuciową neuropatią. Wśród nich 21 (29%) zmarło w wyniku zaawansowania procesu nowotworowego, a 17 (23%) na skutek powikłań

neurologicznych. Oceniony czas przeżycia po okresie 3 miesięcy, jednego roku, oraz trzech lat wynosiło odpowiednio 90%, 56% i 23% [89]. Znaczący odsetek zgonów wynikających z powikłań neurologicznych podkreśla istotę umiejętności rozpoznawania i leczenia neurologicznych zespołów paranowotworowych. Właściwe zakwalifikowanie pacjentek w oparciu o obecność przeciwciał onkoneuronalnych i rodzaj dysfunkcji neurologicznej pozwala rozważyć terapię celowaną. Sprzyja to zmniejszeniu współczynnika umieralności, poprawie jakości życia leczonych kobiet i tolerancję stosowanego leczenia, co w znacznym stopniu ułatwia współpracę z pacjentką.

Interesującą możliwość wykorzystania obecności przeciwciała anti-Yo przedstawił w 2007 roku Finsterer i wsp. [27] Pokazały kolejny, istotny atut wykorzystania analizy obecności przeciwciał jakim wydaje się być możliwość rozpoznania wznowy procesu nowotworowego. W opisywanym przez autora przypadku stwierdzenie obecności przeciwciał w przebiegu towarzyszącej polineuropatii po pięciu latach od zakończenia leczenia z powodu nowotworu złośliwego jajnika pozwoliło rozpoznać wznowę i zakwalifikować pacjentkę do dalszego, ukierunkowanego leczenia onkologicznego [27]. Monitorowanie pacjentek po zakończonej chemioterapii w oparciu o powtarzalną diagnostykę przeciwciał stwarza możliwość wczesnego rozpoznania wznowy o przebiegu subklinicznym.

5.4. Przegląd występowania pozostałych przeciwciał onkoneuronalnych w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika

Pomimo wyraźnej korelacji pomiędzy występowaniem przeciwciał anti-Yo, a rozwojem nowotworu złośliwego jajnika, przeciwciała te nie stanowią jednoznacznie o rozpoczynającym się procesie karcynogenezy w obrębie tkanki jajnika. Nowotworom jajnika towarzyszyć bowiem mogą również inne typy przeciwciał, co wykazano w oparciu o diagnostykę immunologiczną analizowanej własnej grupy pacjentek. Uzyskane wyniki w kontekście analizy obecności przeciwciał przeciwko amfifizynie w porównaniu do obecności przeciwciał anti-Yo są odmienne od dotychczas przytaczanych. W materiale własnym w największej ilości spośród przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych stwierdzono bowiem przeciwciała przeciwko amfifizynie (n=8; 30,8%).

Oprócz wspomnianych już przeciwciał anti-Yo i anti-amfifizyna, w grupie nowotworów złośliwych wykryto również przeciwciała onkoneuronalne dokładnie określone anti-Hu (n=1; 3,8%) i anti-Ma (n=2; 7,8%). Z dotychczasowych badań wynika, iż

przeciwciała te najczęściej wykrywa się w przebiegu raka drobnokomórkowego płuc i piersi co nie wyklucza jednak ich współwystępowania z nowotworem złośliwym jajnika [33,62,63,77,108,114].

Przeciwciała anti-Ri najczęściej związane są z rozwojem raka drobnokomórkowego płuc i piersi. Mimo to należy zwrócić uwagę na możliwość wystąpienia tego typu przeciwciał w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika [22,47,85]. Częstość występowania w przypadku nowotworów złośliwych jajnika jest wciąż nieznana, ze względu na niewielką jak do tej pory liczbę doniesień klinicznych. W roku 2006 grupa naukowców opracowała badanie mające na celu określenie obecności przeciwciał onkoneuronalnych anti-Ri w wybranych rodzajach nowotworach [47]. Uwzględniono w nim 557 pacjentek z rozpoznanym nowotworem złośliwym jajnika, których surowicę krwi poddano immunodiagnostyce w kierunku obecności przeciwciał onkoneuronalnych. Tylko w jednym przypadku (0,2%) wykryto przeciwciało anti-Ri [47]. W tym samym badaniu anti-Ri stwierdzono w 4,5% raka drobnokomórkowego płuc i w 0,8% przypadków raka piersi [47].

Większą częstość występowania przeciwciał anti-Ri wykazał cytowany już wcześniej Drlicek i wsp. Wśród 181 pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika u 7 (3,9%) potwierdzono obecność przeciwciał anti-Ri [22]. Dla porównania w badaniu Rojas-Marcos i wsp. wśród 92 kobiet z wykrytym nowotworem złośliwym piersi i jajnika u 3 (5,4%) wykryto przeciwciała anti-Ri [79].

W ocenianym materiale własnym w przeciwieństwie do powyższych analiz u żadnej z analizowanych pacjentek nie stwierdzono obecności przeciwciała onkoneuronalnych anti-Ri. Występowaniu przeciwciał anti-Ri towarzyszyć mogą inne przeciwciała onkoneuronalne, w tym głównie anti-Hu, oraz anti-CV2 i anti-Ma2 [47,72] Smith i wsp. wykazał współwystępowanie przeciwciał wśród 8% analizowanych pacjentów. Przeciwciałom anti-Hu towarzyszyły w tym przypadku inne przeciwciała onkoneuronalne dokładnie określone: anti-amfifizyna, anti-CV2, oraz anti-Ri [89]. W badaniu Pittock i wsp. wśród 553 chorych objętych analizą u 31% stwierdzono w surowicy krwi więcej niż jeden typ przeciwciał [72]. Na tej podstawie autorzy sugerują iż profil przeciwciał obserwowany u pacjentów z zespołami paranowotworowymi ma wartość predykcyjną co do nowotworu złośliwego, nie pozwala jednak przewidzieć wystąpienia konkretnych objawów paranowotworowych. W konkluzji wskazują na istotność oceniania optymalnie szerokiego spektrum badanych przeciwciał. W niektórych przypadkach bowiem zastosowanie pojedynczych testów może skutkować pominięciem oceny obecności diagnostycznie istotnego przeciwciała [72].

Przeciwciała anti-Ri najczęściej towarzyszą zespołowi osoklonii – mioklonii, oraz rzadziej zapaleniu układu nerwowego i paranowotworowemu zwyrodnieniu mózdzku [47,106]. Analizy kliniczne sugerują jednak na większą korelację obecności anti-Ri z samym nowotworem niż rozwojem zespołu paranowotworowego. Poparciem dla tej hipotezy są między innymi badania przedstawione przez Drliczek i wsp [22]. W okresie dwuletniej obserwacji pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika i pozytywnymi przeciwciałami anti-Ri w żadnym przypadku nie odnotowano klinicznych wykładników uszkodzenia układu nerwowego [22]. Podobnie w cytowanym już wcześniej badaniu Kundsena i wsp. [47]. U trzech pacjentek pomimo wykrytych przeciwciał anti-Ri nie zaobserwowano objawów zespołu paranowotworowego nawet po okresie 5-letniej obserwacji [47].

Kolejnym przeciwciałem, którego obecność potwierdza się w przebiegu neurologicznych zespołów paranowotworowych jest przeciwciało anti-CV2 (anti-CRMP5). W materiale własnym nie wykryto ich w surowicy krwi żadnej z analizowanych chorych, co potwierdza część dotychczas opublikowanych wyników wskazujących na brak powiązania obecności anti-CV2 z nowotworem złośliwym jajnika. Najczęściej przeciwciało to wykrywane jest u pacjentów z rakiem płuc, oraz grasiczakiem [66]. W badaniu Yu i wsp. [118] odnotowano zbliżoną częstość występowania przeciwciał anti-CV2 w porównaniu do wykrywalności przeciwciał anti-Yo w przebiegu nowotworów złośliwych jajnika. Jakkolwiek według innej analizy przeciwciała anti-CV2 towarzyszą dwukrotnie częściej nowotworom złośliwym niż przeciwciała anti-PCA1 [72]. W badaniu obejmującym 60000 pacjentów w 208 przypadkach potwierdzono obecność przeciwciał anti-CV2, co stanowiło 0.35% badanej grupy. Podczas gdy przeciwciała anti-Hu wykryto u 0.36% chorych, a przeciwciała anti-Yo u 0.17% analizowanej populacji [72] Ponadto w oparciu o dotychczasowe analizy nie stwierdza się korelacji między obecnością przeciwciał anti-CV2, a nasileniem objawów neurologicznych i zaawansowaniem złośliwego procesu nowotworowego [66].

5.5. Nowotwory niezłośliwe jajnika w odniesieniu do badanych przeciwciał.

Prawidłowa, właściwa kwalifikacja różnicowa ma niezwykle istotne znaczenie dla dalszego postępowania terapeutycznego. Określenie prawdopodobieństwa charakteru złośliwego badanej zmiany w obrębie jajnika ma bezpośrednie przełożenie na wybór metody operacyjnej. Brak jednoznacznych wykładników złośliwości pozwala przyjąć postawę wyczekującą, lub zastosować mniej inwazyjne techniki operacyjne. W wielu sytuacjach

właściwe prognozowanie staje się jednak prawdziwym wyzwaniem dla klinicysty wobec niejednoznacznego charakteru badanej zmiany. Dotychczas nie podejmowano badań klinicznych, które skupiałyby się nad występowaniem przeciwciał wśród pacjentek z rozpoznanym histopatologicznie nowotworem niezłośliwym jajnika. Uzyskanie oczywistej odpowiedzi w tej kwestii pozwoliłoby poprawić jakość przedoperacyjnej diagnostyki różnicowej. Wśród chorych z nowotworami niezłośliwymi innymi niż potworniak dojrzały w niniejszej analizie stwierdzano najczęściej przeciwciała antyneuronalne: anty-mielina u 9 pacjentek (37,4%), oraz anty-neuroendothelium w 12 przypadkach (50%). Odrębnym tematem wydaje się być guz pochodzenia germinalnego - potworniak dojrzały. Zarówno wyniki analizy własnej, jak i liczne doniesienia naukowe zwracają uwagę na bezpośrednia zależność pomiędzy występowaniem tego nowotworu niezłośliwego, a obecnością przeciwciał anty-NMDA [15,18,110].

Wykrycie jednoznacznej korelacji pomiędzy określonym typem nowotworu niezłośliwego, a konkretnym rodzajem przeciwciał byłoby niezwykle przydatnym elementem uzupełniającym w diagnostyce różnicowej guzów przydatków. Pozwoliłoby to w oparciu o niskie ryzyko procesu złośliwego zwiększyć odsetek operacji przeprowadzonych drogą laparoskopową.

5.5.1. Ocena współwystępowania potworniaka dojrzałego i przeciwciał anty-NMDA.

Ciekawe wnioski uzyskali autorzy badań skupiając się na ocenie immunologicznej pacjentek z rozpoznanym potworniakiem jajnika. Stwierdzono zwiększoną częstość występowania wśród tych pacjentek zapaleń układu limbicznego, w różnym stopniu nasilenia, których objawy ustępowały, lub ulegały spektakularnej poprawie po operacyjnym usunięciu guza przydatków. Co znamienne najczęściej w powiązaniu z potworniakiem jajnika występowały przeciwciała skierowane przeciwko heteromerom NR1 i NR2B receptora N-metylo-D-asparagianu [15,18,20,61,109].

Zapalenie układu limbicznego, jako neurologiczny zespół paranowotworowy jeszcze do niedawna kojarzone było z występowaniem nowotworu złośliwego jajnika, i złym prognozowaniem co do odpowiedzi na leczenie immunologiczne i onkologiczne. W przypadku współwystępowania z potworniakiem jajnika cechuje się zdecydowanie lepszym rokowaniem, dobrą odpowiedzią na terapię i często łagodniejszym przebiegiem [18,109,110].

Częstość występowania wymienionego zespołu paranowotworowego nadal pozostaje nieokreślona, choć liczba publikacji analizujących kolejne przypadki stale wzrasta. Kilka cech czyni ten typ zapalenia układu limbicznego nietypowym wśród pozostałych neurologicznych zespołów paranowotworowych. Najczęściej dotyczy bowiem młodych kobiet między drugą, a piątą dekadą życia, często występując również u nastolatek. Rozwijają się w przebiegu potworniaków dojrzałych – niezłośliwych nowotworów germinalnych jajnika. Ponadto nietypowy obraz kliniczny, oraz w 75% przejściowe, łagodne zmiany obserwowane w sekwencji T2 tomografii rezonansu magnetycznego poza obszarem przyśrodkowym płatów skroniowych utrudniają dodatkowo rozpoznanie [18,110].

Wśród analizowanych pacjentek w 21 (30,9% całej badanej grupy) przypadkach stwierdzono postać niezłośliwą guza jajnika – uzyskując w ostatecznej ocenie histopatologicznej rozpoznanie teratoma adultum. W grupie tej u 6 (54,4%) chorych potwierdzono obecność przeciwciał anti-NMDA. Nie stwierdzono występowania innych rodzajów przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych. Średni wiek pacjentek z rozpoznaniem potworniakiem dojrzałym jajnika wyniósł 35,8 lat, przy zakresie wiekowym 15-61 lat. Dla porównania w grupie pacjentek z wykrytymi przeciwciałami anti-NMDA średni wiek nie różnił się istotnie wynosząc 38,1 lat.

W badaniu Dalmau i wsp. [18] z roku 2007 średni wiek objętych badaniem kobiet z rozpoznaniem potworniakiem jajnika wyniósł 27 lat, przy zakresie wiekowym 14-44 lat. Badania obrazowe miednicy mniejszej pacjentek cytowanej analizy w 10 przypadkach wykazały patologiczne masy guza w rzucie jajników. Średni wymiar nowotworu wynosił 6,5cm, przy zakresie mierzonej wielkości 1,5-22cm [18]. Histopatologicznie w ostatecznej ocenie rozpoznano potworniaka dojrzałego i niedojrzałego. Ponadto, co istotne u wszystkich chorych występowały tylko i wyłącznie przeciwciała anti-NMDA [18].

W materiale własnym w ocenie ultrasonograficznej uśredniony maksymalny wymiar potworniaka jajnika wyniósł $6,5 \pm 1,9$ cm (zakres 4,0-9,6cm). W żadnym przypadku nie stwierdzono obustronnego występowania potworniaka dojrzałego jajnika. Analizie statystyczna nie wykazała istotnych różnic pod względem wielkości zmiany w porównaniu grup pacjentek bez stwierdzonej obecności przeciwciał i z przeciwciałami antyneuronalnymi, oraz anti-NMDA. Nie wykazano również istotności mierzonego parametru w porównaniu grup z przeciwciałami antyneuronalnymi i anti-NMDA ($p=0,5713$).

Nie potwierdzono korelacji pomiędzy wzrostem poziomu markerów jajnikowych, a obecnością analizowanych przeciwciał w przypadku rozpoznania potworniaka dojrzałego.

W badaniu Dalmau i wsp. [18] podwyższone wartości markerów CA 125, CEA, AFP stwierdzono tylko w jednym spośród analizowanych przypadków. Badanie własnej grupy pod kątem powyższej zależności wykazało podobne wyniki, bowiem w grupie potworniaków dojrzałych tylko u jednej pacjentki odnotowano podwyższony poziom markera nowotworowego - antygenu karcynoembrionalnego CEA (28,77ng/ml).

Analiza Dalmau i wsp. [18] podkreśliła istotne znaczenie odpowiednio wcześniej podjętego leczenia operacyjnego. W grupie pacjentek objętych badaniem dziewięć wykazało znaczącą poprawę, natomiast w 7 przypadkach odnotowano całkowity powrót do zdrowia w krótkim okresie po operacyjnym usunięciu guza jajnika. Na tej podstawie autorzy podkreślają istotę faktu występowania często gwałtownej i spektakularnej poprawy po zastosowaniu leczenia operacyjnego. Zaobserwowano ponadto powiązany z tym znaczące obniżenie poziomu przeciwciał w surowicy krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym w okresie pooperacyjnym [15,18]. Seki i współautorzy w badaniu oceniającym poziom przeciwciał anti-NMDA w 18, 39 i 120 dniu po operacyjnym usunięciu nowotworu jajnika. Stwierdzili stopniowe jego obniżenie wraz z upływem czasu od momentu wdrożenia leczenia, występujący wcześniej w surowicy krwi niż w płynie mózgowo-rdzeniowym [86].

Podobne wyniki do przedstawionych powyżej uzyskał Dalmau i współautorzy w badaniu obejmującym 100 chorych z zapaleniem układu limbicznego [15]. Z wyjątkiem jednej sytuacji, we wszystkich pozostałych przypadkach wystąpienie objawów neurologicznych wyprzedziło średnio o 8 tygodni (zakres 1-138 tygodni) kliniczne rozpoznanie nowotworu jajnika. Oceniany w badaniach obrazowych średni wymiar guza w analizowanym badaniu wyniósł 6cm (zakres mierzony 1-22cm). Obecność zmian nowotworowych stwierdzono u 58 pacjentek, w tym u 35 rozpoznano potworniaka dojrzałego, u 14 wykryto postać niedojrzałą, w pozostałych przypadkach podejrzenie wysunięto w oparciu o badania obrazowe, bez następnego leczenia operacyjnego. U chorych z potwierdzonym histopatologicznie potworniakiem wykazano obecność przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych anti-NMDA. W oparciu o długoterminową obserwację stwierdzono, iż chore, u których rozpoznano i usunięto guz jajnika w ciągu 4 miesięcy od wystąpienia pierwszych objawów neurologicznych wykazywały zdecydowanie lepsze rokowanie, co do odpowiedzi na leczenie i poprawę kliniczną [15]. Średni czas ustąpienia towarzyszących objawów neurologicznych wynosił 8 tygodni w przypadku wczesnego rozpoczęcia leczenia, oraz 11 tygodni, gdy było ono odsunięte w czasie.

W omawianym badaniu przeciwciała skierowane przeciwko N-metylo-D-asparaginianowi stwierdzono u każdej chorej z rozpoznaniem potworniakiem jajnika. Jednak nie w każdym przypadku wykrycie przeciwciał anty-NMDA warunkowało rozpoznanie zmiany w obrębie jajnika, gdyż w 41% przypadków ich obecność nie była związana z klinicznym rozpoznaniem nowotworu. W opinii autorów pomimo, iż obecność komórek nowotworowych jest głównym czynnikiem sprawczym wywołania odpowiedzi immunologicznej i powstania przeciwciał, zaangażowane mogą być w ten proces również inne, niepoznane jeszcze mechanizmy [15]. Jednoznaczny jest natomiast fakt istnienia korelacji pomiędzy ustępowaniem objawów neurologicznych po zastosowanym leczeniu, a spadkiem poziomu przeciwciał anty-NMDA, co potwierdza istotną rolę jaką odgrywają w patogenezie neurologicznych zespołów paranowotworowych [15].

Odmienne stosunek w kwestii wpływu leczenia operacyjnego na perspektywę powrotu do zdrowia w przypadku rozpoznania neurologicznego zespołu paranowotworowego i potworniaka jajnika przedstawił Iizuka i wsp.[41]. W opinii autorów usunięcie rozwijającego się nowotworu nie jest wymaganym elementem do uzyskania klinicznej poprawy. Przyznają jednak, iż czas koniecznej hospitalizacji w przypadku leczenia zachowawczego był zdecydowanie dłuższy (maksymalnie 9 miesięcy), niż w przypadku dotychczas opublikowanych opisów pacjentek, u których usunięto nowotwór jajnika (średni 12 tygodni; najdłuższy okres 4 miesiące). Do analizy zakwalifikowano cztery chore ze stwierdzonymi przeciwciałami anty-NMDA i nasilonymi objawami zapalenia układu limbicznego. Zastosowane leczenie farmakologiczne pozwoliło na wyeliminowanie objawów i powrót do zdrowia trzem pacjentkom. Rozwinięcie się pełnego obrazu klinicznego paranowotworowego zapalenia układu limbicznego wyprzedzało o 4-7 lat rozpoznanie nowotworu jajnika. W kolejnych seryjnych badaniach kontrolnych przeciwciała anty-NMDA były niewykrywalne, co potwierdza udział przeciwciał w etiopatogenezie paranowotworowej [41].

Pojawiają się również pojedyncze doniesienia świadczące o możliwości występowaniu przeciwciał anty-NMDA i zapalenia układu limbicznego w przypadku rozpoznania postaci niedojrzałej potworniaka jajnika u nastoletnich dziewcząt [20,61,83,86,105].

Stein Wexler i wsp. przedstawił w 2007 roku opis przypadku nastoletniej pacjentki z nasilonymi klinicznymi wykładnikami zapalenia układu limbicznego, obecnymi przeciwciałami anty-NMDA, oraz potwierdzonym histopatologicznie potworniakiem niedojrzałym jajnika. Pacjentka pomimo leczenia operacyjnego i intensywnej immunoterapii zmarła w krótkim czasie od postawienia rozpoznania [92].

W tym samym roku Koide i wsp. opublikował opis sytuacji klinicznej dotyczącej młodej pacjentki z zapaleniem układu limbicznego i potwierdzonym histopatologicznie potwornikiem niedojrzałym. W surowicy krwi pacjentki stwierdzono przeciwciała anty-NMDA, oraz podwyższone poziomy markerów nowotworowych CA 125, CEA, AFP. Pomimo leczenia operacyjnego, oraz następowej chemioterapii i dożylnego podawania immunoglobulin odnotowano jedynie nieznaczną poprawę w zakresie zaburzeń ze strony układu nerwowego [45].

W konkluzji autorzy omawianych prac w oparciu o przedstawione przypadki i ich przebieg kliniczny sugerują trudniejszy przebieg i gorszą odpowiedź na leczenie w przypadku zespołu paranowotworowego pojawiającego się w przebiegu potwornika niedojrzałego jajnika i towarzyszących mu przeciwciał anty-NMDA [45,83,92].

5.6. Znaczenie obecności przeciwciał antyneuronalnych w przebiegu nowotworu jajnika

Obserwacje kliniczne, oraz wyniki prowadzonych badań wykazują, iż spektrum przeciwciał wykrywanych w przebiegu nowotworów złośliwych w ogólnym ujęciu jest szersze niż pierwotnie zakładano. Aktualny stan wiedzy na temat obecności przeciwciał antyneuronalnych u pacjentek z wykrytym nowotworem złośliwym jajnika jest jednak niewystarczający do postawienia jednoznacznych wniosków i oceny możliwości ich przyszłościowej użyteczności klinicznej. Ponieważ jak dotąd nie prowadzono badań nad poszukiwaniem tej zależności w niniejszej pracy podjęto próbę oceny występowania przeciwciał antyneuronalnych u pacjentek z nowotworem jajnika..

W materiale własnym przeciwciała antyneuronalne stwierdzono w surowicy krwi 39 pacjentek, co stanowiło 31,7% całej badanej grupy. Wśród nich 10,3% przypadków dotyczyło nowotworów złośliwych 17% nowotworów niezłośliwych 4% potworników dojrzałych. Co ciekawe w grupie nowotworów złośliwych spośród przeciwciał antyneuronalnych dominowały przeciwciała przeciwko mielinie 30,8% w liczbie równej wykrytym przeciwciałom onkoneuronálnym dokładnie określonym przeciwko amfifizynie 30,8%. Dla porównania w grupie nowotworów niezłośliwych wykazano przede wszystkim przeciwciała anty-neuroendothelium 50% i anty-mielina 37,4%. Analiza statystyczna wykazała istotnie statystycznie większą częstość, oraz większy iloraz szans stwierdzenia przeciwciał antyneuronalnych w przypadku nowotworów niezłośliwych jajnika innych niż potwornik dojrzały.

W cytowanym już badaniu Vianello i wsp. zaobserwowano, że u 6 pacjentów z rozpoznaniem zespołem „sztywności uogólnionej” (ang.: Stiff-Person syndrome) i 3 z paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku występowały przeciwciała przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego (anty-GAD) [108]. Ponadto w jednym przypadku wykryto dodatkowo przeciwciała przeciwko amfifizynie w przebiegu nowotworu złośliwego piersi. W żadnym przypadku potwierdzonej obecności przeciwciał anty-GAD nie wykryto nowotworu jajnika [108]. Dotychczas powyższe zespoły neurologiczne kojarzone były przede wszystkim z obecnością przeciwciał onkoneuronalnych: anty-Yo i anty-amfifizyna, oraz nowotworem złośliwym jajnika. Dlatego też poszukiwanie ich obecności uwzględniono w analizowanym materiale klinicznym. Podobnie jednak jak w cytowanym badaniu autorstwa Vianello i wsp. [108] u żadnej z pacjentek bez względu na typ histopatologiczny nowotworu jajnika nie potwierdzono obecności przeciwciał antyneuronalnych anty-GAD. Pojawiają się również pojedyncze doniesienia wskazujące na obecność anty-GAD w przebiegu neurologicznego zespołu paranowotworowego o charakterze opsoklonii-mioklonii [55].

Przeciwciała antyneuronalne są zagadnieniem stosunkowo nowym, z wieloma niewiadomymi, a podejmowane próby analizy występowania w korelacji z nowotworami jajnika wciąż mają charakter nowatorski. Szczególnie interesujący wydaje się fakt występowania przeciwciał antyneuronalnych zdecydowanie częściej w grupie zmian niezłośliwych, co wykazano w niniejszej pracy. Widoczny potencjał jaki wiąże się z tym tematem wymaga dalszej weryfikacji. Warto jednak zwrócić szczególną uwagę na potencjalną użyteczność kliniczną w diagnostyce różnicowej guzów jajnika i w tym kierunku opracowywać dalsze analizy.

5.7. Podsumowanie

Objawy neurologiczne towarzyszące nowotworom złośliwym jajnika mogą być cytotoksycznym efektem prowadzonej chemioterapii, jak i wynikać z obecności przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego, lub też rozwoju neurologicznego zespołu paranowotworowego. Chociaż częstość występowania zespołów paranowotworowych wydaje się być nadal niedoszacowana, rola jaką odgrywają w rozpoznawaniu nowotworu, oraz przebiegu leczenia onkologicznego wydaje się być coraz większa. Trudności jakie wciąż wiążą się z wczesnym wykrywaniem nowotworu złośliwego jajnika skłaniają badaczy do poszukiwania nowych, alternatywnych metod diagnostycznych. W kwestii powiązania neurologicznych zespołów paranowotworowych wciąż pozostaje wiele niewiadomych,

sprzyja to jednak poszerzaniu dotychczas prowadzonych badań na bardziej liczne kohorty pacjentów. W niniejszym badaniu skupiono się przede wszystkim na wstępnej ocenie występowania określonych typów przeciwciał w przebiegu nowotworów jajnika. Nowatorski charakter pracy polega na ujęciu w analizie szerokiego spektrum przeciwciał nie tylko onkoneuronalnych dokładnie określonych, ale również przeciwciał częściowo określonych i antyneuronalnych. Badanie stanowi podstawowy krok w kierunku prowadzenia dalszych obserwacji również w rozszerzonym ujęciu analizy neurologicznej. Być może w przyszłości w oparciu o uzyskane wyniki staną się podstawą do wykorzystania we wczesnej diagnostyce i różnicowaniu guzów jajnika, oraz wspomagająco we właściwym prowadzeniu terapii onkologicznej.

6. WNIOSKI.

W wyniku analizy obecności przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych w przebiegu nowotworu jajnika, w oparciu o uzyskane wyniki sformułowano następujące wnioski:

1. Dokładnie określone przeciwciała onkoneuronalne najczęściej występują u chorych z nowotworami złośliwymi nabłonkowymi jajnika.
2. Obecność przeciwciał onkoneuronalnych związana jest z wysokim poziomem markera CA 125 u pacjentek z rozpoznanym nowotworem złośliwym jajnika.
3. Spośród przeciwciał onkoneuronalnych u pacjentek z potwierdzonym histopatologicznie potworniakiem dojrzałym jajnika stwierdzono tylko i wyłącznie przeciwciała anty – NMDA.
4. Występowanie przeciwciał antyneuronalnych wykazano najczęściej w grupie chorych z nowotworami niezłośliwymi jajnika.

STRESZCZENIE

Właściwa diagnostyka przedoperacyjna nowotworów złośliwych jajnika stanowi wciąż wyzwanie dla klinicystów. Pomimo postępu medycyny jaki dokonał się w ostatnich latach brakuje jednoznacznych wytycznych co do efektywnego skringu nowotworów złośliwych jajnika. Wynika to z braku wysoce czułych i swoistych badań pozwalających na wykrycie wzrastającego nowotworu na wczesnym etapie rozwoju. Opracowanie badań przesiewowych pozwoliłoby na prowadzenie skuteczniejszego leczenia onkologicznego, a tym samym zmniejszenie współczynnika umieralności. Ponadto umożliwiłoby przy niskim ryzyku nowotworu złośliwego zwiększenie częstości wykonywanych procedur operacyjnych drogą laparoskopii.

Dlatego też wciąż trwają prace nad poszukiwaniem metod diagnostycznych, które pozwoliłyby na skuteczną, wczesną diagnostykę zmian w obrębie przydatków. Coraz większą uwagę zwraca fakt współwystępowania w przebiegu nowotworów złośliwych jajnika przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych, oraz towarzyszącego im rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych.

Od 2004 roku obowiązują opracowane przez grupę ekspertów kryteria rozpoznawania „pewnego” i „możliwego” neurologicznego zespołu paranowotworowego. W oparciu o obecność zespołu neurologicznego, przeciwciał i korelacji z czasem trwania choroby nowotworowej pozwalają na standaryzację kwalifikacji chorych i ujednoczenie nomenklatury. Rozpoznanie zespołu neurologicznych objawów o charakterze paranowotworowym, lub też wykrycie przeciwciał onkoneuronalnych obliguje klinicystę do ukierunkowania dalszej diagnostyki na poszukiwanie nowotworu najczęściej współwystępującego z danym zespołem, lub typem przeciwciał. W każdym przypadku potwierdzenia obecności przeciwciał onkoneuronalnych uzyskujemy pewne rozpoznanie neurologicznego zespołu paranowotworowego.

Neurologiczne zespoły paranowotworowe, jak i pojawienie się przeciwciał w surowicy krwi w 70-80% wyprzedza kliniczne rozpoznanie nowotworu złośliwego. Najczęstszym nowotworem żeńskich narządów płciowych prowadzącym do rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych jest nowotwór złośliwy jajnika. Dotychczasowe badania wskazują na potencjalną możliwość wykorzystania obecności przeciwciał we wczesnej diagnostyce, oraz prowadzeniu właściwego leczenia onkologicznego. Nadal jednak wiedza na ten temat korelacji pomiędzy nowotworami złośliwymi, a neurologicznymi zespołami paranowotworowymi pozostaje niepełna. Stwarza

to możliwość do dalszych, uzupełniających badań pozwalających zbliżyć się do odpowiedzi na pytanie o możliwość przyszłościowego wykorzystania przeciwciał jako elementu badań przesiewowych.

W oparciu o powyższą wiedzę za cel niniejszej pracy postawiono określenie związku pomiędzy obecnością przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych, a rodzajem guza jajnika. Ponadto poszukiwano zależności pomiędzy stężeniem wybranych markerów nowotworowych, a konkretnymi typami przeciwciał.

Realizację założonych celów oparto na analizie 123 pacjentek diagnozowanych i leczonych w Klinice Ginekologii Operacyjnej Katedry Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, z powodu guzów jajnika w okresie od 2007 do 2009 roku.

Diagnostyka przedoperacyjna chorych obejmowała szczegółowy wywiad lekarski, badanie ginekologiczne z oceną ultrasonograficzną, ocenę stężenia CA-125, CEA, AFP, oraz badanie neurologiczne. Ponadto surowicę krwi każdej pacjentki przebadano pod kątem obecności analizowanych przeciwciał w oparciu o test immunofluorescencji pośredniej i technikę Western blotting. W przypadku pacjentek miesiączkujących wszystkie badania przeprowadzono w okresie 1-5 dni przed leczeniem operacyjnym w pierwszych 10 dniach cyklu miesięczkowego.

	NOWOTWÓR ZŁOŚLIWY	ZMIANY NIEZŁOŚLIWY (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego)	POTWORNIAK DOJRZAŁY	RAZEM	RAZEM
BRAK PRZECIWCIAŁ	29 (23,5%)	23 (18,8%)	10 (8,1%)	62 (50,4%)	62 (50,4%)
PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE DOKŁADNIE OKREŚLONE	12 (9,7%)	2 (1,7%)	0	14 (11,4%)	61 (49,6%)
PRZECIWCIAŁA ONKONEURONALNE CZĘŚCIOWO OKREŚLONE	1 (0,8%)	1 (0,8%)	6 (4,9%)	8 (6,5%)	
PRZECIWCIAŁA ANTYNEURONALNE	13 (10,7%)	21 (17%)	5 (4,0%)	39 (31,7%)	
RAZEM	55 (44,7%)	47 (38,3%)	21 (17%)	123 (100%)	

Wśród 123 pacjentek objętych badaniem nowotwór złośliwy rozpoznano w 55 (44,7%) przypadkach, natomiast zmiany o charakterze niezłośliwym u 68 (55,3%) chorych, w tym w 21 (17%) przypadkach potworniaka dojrzałego.

W oparciu o dokonana analizę stwierdzono, iż przeciwciała onkoneuronalne dokładnie określone najczęściej towarzyszyły nowotworowi złośliwemu jajnika. Przeciwciała antyneuronalne wykryto głównie u chorych z rozpoznaniem potworniakiem dojrzałym, przy czym w tej grupie histopatologicznej stwierdzono występowanie tylko przeciwciała anti-NMDA. Natomiast przeciwciała onkoneuronalne częściowo określone dominowały w grupie zmian niezłośliwych innych niż potworniak dojrzały.

Analiza statystyczna występowania przeciwciał w poszczególnych grupach guzów wykazała większą częstość występowania przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w surowicy krwi pacjentek z rozpoznaniem nowotworem złośliwym jajnika.

Ponadto wykazano istotnie statystycznie większy iloraz szans wykrycia przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych wśród chorych z nowotworem złośliwym jajnika w porównaniu z grupą zmian niezłośliwych łącznie, oraz bez potworniaków dojrzałych.

Analizując występowanie przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych wykazano istotnie statystycznie większą częstość wykrywania tych przeciwciał u pacjentek z potworniakiem dojrzałym jajnika ($p=0,00142$). Przy czym w tej grupie guzów jajnika były to wyłącznie przeciwciała przeciwko N-metylo-D-asparaginazie.

Przeciwciała antyneuronalne stwierdzono istotnie statystycznie częściej w grupie zmian niezłośliwych innych niż potworniak dojrzały ($p=0,03483$; OR- $p=0,0265$).

Oceniając stężenie wybranych markerów nowotworowych w zależności od typu przeciwciała i zmiany nowotworowej stwierdzono, iż podwyższony poziom markera CA 125 wiązał się najczęściej z obecnością przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych.

Dotychczasowa wiedza na temat przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych, oraz ich powiązania z nowotworem złośliwym jajnika pozostaje niepełna i wymaga dalszej weryfikacji. W świetle uzyskanych wyników wydają się stwarzać obiecującą możliwość wykorzystania we wczesnej diagnostyce i różnicowaniu, oraz wspomagająco w prowadzeniu właściwej terapii onkologicznej. Powyższe badanie jest kolejnym krokiem w kierunku poszukiwania „nowych markerów” onkologicznych sprzyjających stworzeniu efektywnego skriningu nowotworów złośliwych jajnika.

ABSTRACT

Appropriate preoperative diagnosis of ovarian tumors is still challenge for researches. In spite of dynamic changes in oncological knowledge, there is no diagnostic method, which would allow for adequate recognition of ovarian malignancy. It is known, that screening procedure must detect the disease in its early stage, or in a precancerous stage without invasive features. Unfortunately, the available techniques are not sufficiently sensitivity and specificity for general screening. Preparation new efficiently methods supporting in early, differential diagnosis would allow for patients classification to group with low-risk of malignancy transformation, and increasing percentage of laparoscopic treatment.

That is why researchers are ongoing to discover reliable screening tools appropriate to detect early stage of ovarian cancer. Onconeural and antineuronal antibodies, as a part of paraneoplastic neurological syndromes, accompanying ovarian tumors is one of the most interesting issues of contemporary oncology.

An international panel of neurologists in 2004 year prepared recommended diagnostic criteria of definite and possible paraneoplastic neurological syndrome. Based on neurological syndrome, presence of antibodies, and correlation with malignant disease duration those definition may help to report patients more uniformly. Identification of paraneoplastic neurological abnormalities, or presence of antibodies should be connected with widely diagnostic spectrum directed at cancer most frequently occurring with paraneoplastic syndrome. In each case when we obtain confirmation of onconeural antibodies we define recognition of paraneoplastic neurological syndrome.

Neurological manifestation, or emergence of antibodies precede in 70-80% clinical symptoms of growing and underlying cancer. The most frequent cancer of female genital system causing paraneoplastic syndrome is ovarian cancer. Previous investigations signalize the potential usefulness of onconeural and antineuronal antibodies in early identification and localization of the primary malignancy, and preparing effective treatment. Antibodies are of great importance in melioration of treatment response due to improving quality of live, and acceptance of chemotherapy.

The whole knowledge about correlation between cancers and paraneoplastic neurological syndrome is still incompletely understanding. Difficulties in preoperative differentiation of ovarian tumors suggest the necessity of searching more advanced diagnostic tests. The advances and additional, expanded researchers may be helpful in understanding the fundamental pathology and meaning of paraneoplastic neurological syndrome in cancer

development. Perhaps this is the first step to establish new standard of screening based on immunological processes.

For that reason the main aim of this study was to evaluate the frequency of onconeural and antineuronal in blood serum patients with ovarian tumors to predict their usefulness in clinical diagnostic. The other aim was to assess correlation between biochemical markers: CA 125, CEA, AFP and analyzed antibodies.

Realisation of the assumed aims was based on the analysis of 123 patients diagnosed and treated due to ovarian tumors in Gynecological and Maternity Teaching Hospital of Karol Marcinkiewicz University of Medical Science in Poznań between 2007 and 2009.

Preoperative diagnostic included detail anamnesis, gynecological examination with ultrasonographic tumor's assessments based on IOTA classification, and determining serum levels of biochemical markers: CA 125, CEA, AFP. Besides patients serum samples were analyzed to detect onconeural and antineuronal antibodies by indirect immunofluorescence and with immunoblotting to confirm their specificities.. All examination were carried out within 1 to 5 days before surgical treatment during the first ten days of menstrual cycle. Histological types of verified tumors were confirmed by postoperative examination.

	OVARIAN CANCRE	NONMALIGNANT TUMORS (without teratoma adultum)	TERATOMA ADULTUM	TOGETHER	TOGETHER
WITHOUT ANTIBODIES	29 (23,5%)	23 (18,8%)	10 (8,1%)	62 (50,4%)	62 (50,4%)
WELL CHARACTERISED ONCONEURAL ANTIBODIES	12 (9,7%)	2 (1,7%)	0	14 (11,4%)	61 (49,6%)
PARTLY CHARACTERISED ONCONEURAL ANTIBODIES	1 (0,8%)	1 (0,8%)	6 (4,9%)	8 (6,5%)	
ANTINEURONAL ANTIBODIES	13 (10,7%)	21 (17%)	5 (4,0%)	39 (31,7%)	
TOGETHER	55 (44,7%)	47 (38,3%)	21 (17%)	123 (100%)	

Within the examined group of 123 women there were 55 (44,7%) malignant tumors, and 68 (55,3%) non-malignant tumors, including 21 (17%) cases of recognized teratoma adultum.

Analysis of patients sera by serological test revealed that well characterized onconeural antibodies most frequently occurring malignant changes in ovarian tissues. Antineuronal antibodies were mainly recognized in patients with histopathologically confirmed teratoma adultum. What is the most interesting within this group we isolated only anti-NMDA antibodies. In addition partly characterized onconeural antibodies were detected in most cases of non-malignant tumors.

Assesment of onconeural antibodies in each subgroups underwent examinations revealed that frequency of those antibodies was significantly larger in sera patients with malignant tumors than with other tumors.

Besides estimated odds ratio detection of onconeural antibodies was significantly higher in cases of malignant ovarian tumors comparing with non-malignant tumors including teratoma adultum.

Partly characterized antibodies occurred significantly more frequently within group patients with histopathologically recognized teratoma adultum ($p=0,00142$). Interestingly it were only antibodies against N-methyl-D-aspartate.

Comparison of antineuronal antibodies between types of ovarian tumors shown significantly higher frequency in group of non-malignant tumors different than teratoma adultum ($p=0,03483$; OR $p=0,0265$).

The measurement of CA-125 were available in all cases. The serum level of CA 125 was directly connected with presence of well characterized onconeural antibodies within group patients with ovarian cancer.

Our current knowledge of paraneoplastic neurological syndromes, antibodies and their correlation with ovarian cancer is still not enough. Recent studies and our experience suggest that the combination of standard gynecological diagnostic with immunological tests could be very usefulness in early detection of ovarian cancer, differentiation and continuing appropriate oncological treatment.

BIBLIOGRAFIA

1. Antoine JC. Mosnier JF. Absi L. Convers P. Honnorat J. Michel D. Carcinoma associated paraneoplastic peripheral neuropathies in patients with and without anti-onconeural antibodies *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 67(1): 7-14 - 96
2. Auersperg N. Maines-Bandiera SL. Dyck HG. Ovarian carcinogenesis and the biology of ovarian surface epithelium. *J Cell Physiol.* 1997; 173(2): 261-5
3. Benyahia B. Amoura Z. Rousseau A. Le Clanche C. Carpentier A. Piette JC. Delattre JY. Paraneoplastic antineuronal antibodies in patients with systemic autoimmune diseases *Journal of NeuroOncol.* 2003; 62(3): 349-351
4. Benyahia B. Liblau R. Merle-Beral H. Tourani JM. Dalmau J. Delattre JY. Cell-mediated autoimmunity in paraneoplastic neurological syndromes with anti-Hu antibodies *Ann Neurol.* 1999; 45(2): 162–167.
5. Bernal F. Shams'ili S. Rojas I. Sanchez-Valle R. Saiz A. Dalmau J. Honnorat J. Sillevs Smitt P. Graus F. Anti-Tr antibodies as markers of paraneoplastic cerebellar degeneration and Hodgkin's disease *Neurology* 2003; 60(2): 230-234
6. Bonakis A. Paoageorgiou SG. Mandellos D. Galani E. Kalfakis N. Acute paraneoplastic cerebellar degeneration. *J Neurooncol.* 2007; 84(3): 329-330
7. Budde-Steffen C. Anderson NE. Rosenblum MK. Graus F. Ford D. Synek BJ. Wray SH. Posner JB. An antineuronal autoantibody in paraneoplastic opsoclonus. *Ann Neurol* 1988; 23(5): 528-531.
8. Candler PM. Hart PE. Barnett M. Weil R. Rees JH. A follow-up study of patients with paraneoplastic neurological disease in the United Kingdom *J Neurol Neurosurg. Psychiatry* 2004; 75(10): 1411-1415
9. Cao Y. Abbas J. Wu X. Dooley J. Van Amburg AL. Anti-Yo positive paraneoplastic cerebellar degeneration associated with ovarian carcinoma: case report and review of the literature *Gynecol Oncol.* 1999; 75(1): 178-183
10. Cetin I. Cozzi V. Antonazzo P. Infertility as a cancer risk factor – a review *Placenta* 2008; 29(suppl. B): 169-177
11. Cocconi G. Ceci G. Juarra J. Minopoli MR. Cocchi T. Fiaccadori F. Lechi A. Boni P. Successful treatment of subacute cerebellar degeneration in ovarian carcinoma with plasmapheresis. A case report. *Cancer* 1985; 56(1): 2318-2320
12. Colombo N. van Gorp T. Parma G. Amant F. Gatta G. Sessa C. Vergote I. Ovarian

- cancer Crit Rev Oncol Hematol 2006; 60(2):159-179
13. Croft PB. Wilkinson M. The incidence of carcinomatous neuromyopathy in patients with various types of carcinoma Brain 1965; 88(3): 427 – 434.
 14. Dalamu J. Rosenfeld MR. Paraneoplastic syndromes of the CNS. Lancet neurol. 2008; 7(4): 327-340
 15. Dalmau J. Gleichman AJ. Hughes EG. Rossi JE. Peng X. Lai M. Dessain S. Rosenfeld MR. Balice-Gordon R. Lynch DR. Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies Lancet Neurol. 2008; 7(12): 1091-1098
 16. Dalmau J. Gultekin HS. Posner JB. Paraneoplastic neurologic syndromes: pathogenesis and physiopathology Brain Pathol. 1999; 9 (2): 275 – 284.
 17. Dalmau J. Posner JB. Neurologic paraneoplastic antibodies (anti-Yo, anti-Hu, anti-Ri): The case for a nomenclature based on antibody and antigen specificity Neurology 1994; 44(12): 2241 – 2246.
 18. Dalmau J. Tuzun E. Wu HY. Masjuan J. Rossi JE. Voloschin A. Baehring JM. Shimazaki H. Koide R. King D. Mason W. Sasing LH. Dichter MA. Rosenfeld MR. Lynch DR. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma Ann Neurol. 2007; 61(1): 25-36
 19. Darnell JC. Albert ML. Darnell RB. Cdr2, a target antigen of natural occurring human tumor immunity, is widely expressing in gynecological tumors Cancer Res. 2000; 60(8): 2136-2139
 20. De Nayar AR. Myant N. Sindic CJ. A subacute behavioral disorder in a female adolescent. Autoimmune anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma Biol Psychiatry 2009; 66(6): 13-14
 21. Didkowska J. Wojciechowska. Tarkowski W. Zatoński W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2005 roku. Centrum Onkologii – Instytut: Krajowy Rejestr Nowotworów; Warszawa 2007
 22. Drlicek M. Bianchi G. Bogliun G. Casati B. Grisold W. Kolig C. Liszka-Setinek U. Marzorati L. Wondrusch E. Cavaletti G. Antibodies of the anti-Yo and anti-Ri type in the absence of paraneoplastic neurological syndromes: a long term survey of ovarian cancer patients J Neurol 1997; 244(2): 85-59
 23. Emeryk-Szajewska B. Elektrofizjologiczna diagnostyka obwodowego układu nerwowego w zespołach paranowotworowych. Pol Prz Neurol 2008; 4(4): 190-198

24. Esposito M. Penza P. Orefice G. Pagano A. Parente E. Abbadessa A. Bonavita V. Successful treatment of paraneoplastic cerebellar degeneration with Rituximab
25. Fathalla MF. Incessant ovulation – a factor in ovarian neoplasia? *Lancet* 1971; 2: 163
26. Ferlay J. Bray F. Pisani P. Parkin DM .GLOBOCAN 2002 Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide IARC CancerBase No 5, version 2.0, Lyon: IARC press 2004
27. Finsterer J. Unterberger U. Grisold W. Asymptomatic persistence of anti-Yo antibodies for 5 years without relapse of malignancy *Neuropathol.* 2007; 27(3): 300-304
28. Forgy AP. Ewing TL. Flaningam J. Two paraneoplastic syndromes in a patient with ovarian cancer: nephritic syndrome and paraneoplastic cerebellar degeneration *Gynecol Oncol.* 2001; 80(1): 96-98
29. Frings M. Antoch G. Knorn P. Freudenberg L. Bier U. Timmann D. Maschke M. Strategies in detection of the primary tumor in anti-Yo associated paraneoplastic cerebellar degeneration. *J Neurol.* 2005; 252(2): 197-201
30. Furneaux HM. Rosenblum MK. Dalmau J. Wong E. Woodruff P. Graus T. Posner JB. Selective expression of Purkinje-cell antigens in tumor tissue from patients with paraneoplastic cerebellar degeneration. *N Engl J Med.* 1990; 322(26): 1844-1851
31. Graus F. Cordon-Cardo C. Posner JB. Neuronal antinuclear antibody in sensory neuronopathy from lung cancer *Neurology* 1985; 35(4): 538-543
32. Graus F. Dalmau J. Rene R. Tora M. Malatas N. Verschuuren JJ. Cardenal F. Vinolas N. Garcia del Muro J. Vadeli C. Mason WP. Rosell R. Posner JB. Real FX. Anti-Hu antibodies in patients with small-cell lung cancer: Association with complete response to therapy and improved survival. *J Clin Oncol.* 1997; 15(8): 2866-2872
33. Graus F. Delattre JY. Antoine JC. Dalmau J. Giometto B. Grisold W. Honnorat J. Smitt PS. Vedeler C. Verschuuren JJ. Vicenta A. Voltz R. Paraneoplastic Neurological Syndrome Euronetwork. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psych.* 2004; 75(8): 1135-1140
34. Graus F. Illa I. Agusti M. Ribalta T. Cruz-Sanchez F. Juarez C. Effect of intraventricular injection of an anti-Purkinje cell antibody (anti-Yo) in a guinea pig

- model *J Neurol Sci* 1991; 106(1): 82-87
35. Graus F. Keime-Guibert F. Rene R. Benyahia B. Ribalta T. Ascaso C. Escaramis G. Delattre JY. Anti-Hu associated paraneoplastic encephalomyelitis: analysis of 200 patients *Brain* 2001; 124(6): 1138-48
 36. Greenlee JE. Brashear HR. Antibodies to cerebellar Purkinje cells in patients with paraneoplastic cerebellar degeneration and ovarian carcinoma *Ann Neurol*. 1983; 14(6): 609-613
 37. Harmon JP. Purvin VA. Guy J. Aptsiauri N. Sutton GP. Cancer-associated retinopathy in a patient with advanced epithelial ovarian carcinoma *Gynecol Oncol*. 1999; 73(3): 430-432
 38. Hetzel DJ. Stanhope CR. O'Neill BP. Lennon VA. Gynecologic cancer in patients with subacute cerebellar degeneration predicted by anti-Purkinje cell antibodies and limited in metastatic volume *Mayo Clin Proc*. 1990; 65(12): 1558-1563
 39. Honnorat J. Antoine JC. Derrington E. Aguera M. Belin HF. Antibodies to a subpopulation of glial cells and a 66 kDa developmental protein in patients with paraneoplastic neurological syndromes *J Neurol Neurosurg Psych*. 1996; 61(3): 270-278
 40. Honnorat J. Cartalat-Carel S. Ricard D. Camdessanche JP. Carpentier AE. Rogemond V. Chapuis F. Aguera M. Decullier E. Duchemin AM. Graus F. Antoine JC Onco-neural antibodies and tumor type determine survival and neurological symptoms in paraneoplastic neurological syndromes with Hu or CV2/CRMP5 antibodies *J Neurol Neurosurg Psych* 2009; 80: 412-416
 41. Izuka T. Sakai F. Ide T. Monzen T. Yoshii S. Iigaya M. Suzuki K. Lynch DR. Suzuki N. Hata T. Dalmau J. Anti-NMDA receptor encephalitis in Japan long-term outcome without tumor removal *Neurology* 2008; 70(7): 504-511
 42. Jaekle KA. Autoimmune mechanisms in the pathogenesis of paraneoplastic nervous system disease *Clin Neurol Neurosurg*. 1995; 97(1): 82-88
 43. Jordan SJ. Whiteman DC. Purdie DM. Green AC. Webb PM. Does smoking increase risk of ovarian cancer? A systemic review *Gynecol Oncol*. 2006; 103(3): 1122-1129
 44. Kobayashi H Ovarian cancer in endometriosis: epidemiology, natural history, and clinical diagnosis *Int J Clin Oncol*. 2009; 14(5): 378-382
 45. Koide R. Shimizu T. Koike K. Dalmau J. EFA6A-like antibodies an paraneoplastic

- encephalitis associated with immature ovarian teratoma: a case report. *J Neurooncol.* 2007; 81(1): 71-74
46. Krzakowski M. Zespoły paranowotworowe *Polska Medycyna Paliatywna* 2002; 1(2): 57-66
 47. Kundsén A. Monstad SE. Dorum A. Lonning PE. Salvesen HB. Drivsholm L. Aarseth JH. Vedeler CA. Ri antibodies in patients with breast, ovarian or small cell lung cancer determined by a sensitive immunoprecipitation technique *Cancer Immunol Immunother.* 2006; 55(10): 1280-1284
 48. Leitzmann MF. Koebnick C. Danforth KN. Brinton LA. Moore SC. Hollenbeck AR. Schatzkin A. Lacey JV. Body Mass Index and Risk of Ovarian Cancer *Cancer* 2009; 115(4): 812-822
 49. Leitzmann MF. Koebnick C. Moore SC. Danforth KN. Brinton LA. Hollenbeck AR. Schatzkin A. Lacey JV. Prospective study of physical activity and the risk of ovarian cancer *Cancer Causes Control* 2009; 20(5): 765-773
 50. Lennon VA. Anti-Purkinje cell cytoplasmic and neuronal nuclear antibodies aid diagnosis of paraneoplastic autoimmune neurological disorders. *J Neurol Neurosurg. Psychiatry* 1989; 52(12): 1438-1439.
 51. Liu S. Tunkel R. Lachmann E. Nagler W. Paraneoplastic cerebellar degeneration as the first evidence of cancer: a case report. *Arch Phys Med Rehabil.* 2000; 81(6): 834-836
 52. Luque FA. Furneaux HM. Ferziger R. Rosenblum MK. Wray SH. Schold SC. Glantz MJ. Jaekle KA. Biran H. Lesser M. et al Antibody-Ri: an antibody associated with paraneoplastic opsoclonus and breast cancer. *Ann Neurol* 1991; 29(3): 241-251
 53. Lynch DR. Lawrence JJ. Lenz S. Anegawa NJ. Dichter M. Pritchett DB. Pharmacological characterization of heterodimeric NMDA receptors composed of NR1a and 2B subunits: differences with receptors formed from NR 1a and 2A *J Neurochem.* 1995; 64(4): 1462-1468
 54. Marchand V. Graveleau J. Lanctin-Garcia C. Bourbouloux E. Bridji B. Resche I. Kraeber-Bodere F. Rousseau C. A rare gynecological case of paraneoplastic cerebellar degeneration discovered by FDG-PET *Gynecol Oncol.* 2007; 105(2): 545-547
 55. Markakis I. Alexiou E. Xifaras M. Gekas G. Rombos A. Opsoclonus-myoclonus-

- ataxia syndrome with autoantibodies to glutamic acid decarboxylase Clin Neurol Neurosurg. 2008; 110: 619-621
56. Markowska J Epidemiologia raka jajnika w: Rak jajnika Markowska J (red) Wyd. Springer PWN Warszawa 1997; 9-16
 57. Markowska J. Markowska A. Epidemiologia i etiopatogeneza raka jajnika w: Onkologia Ginekologiczna Markowska J (red) Wyd. Med. Urban & Partner Wrocław 2006; 805 – 812
 58. Mason WP. Dalmau J. Curtin JP. Posner JB. Normalization of the tumor marker CA-125 after oophorectomy in a patient with paraneoplastic cerebellar degeneration without detectable cancer Gynecol Oncol. 1997; 65(1): 173-176
 59. Mathew RM. Cohen AB. Galetta SL. Alavi A. Dalmau J. Paraneoplastic cerebellar degeneration: Yo-expressing tumor revealed after a 5-year follow-up with FDG-PET J Neurol Sci 2006; (1-2): 153-5
 60. Menon S. Mudkanna A. Unni N. Singhal BS. Anti-Yo mediated paraneoplastic cerebellar degeneration in a women with ovarian adenocarcinoma J Neurol Sci. 2009; 285(1-2): 234-235
 61. Merritt DF. Paraneoplastic limbic encephalitis associated with anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies and an ovarian teratoma: a case for concern Journal of Pediatric and adolescent Gynecology 2009; 22: 27
 62. Michalak S, Kozubski W. Neurologiczne zespoły paranowotworowe Pol Prz Neurol. 2008; 4(1): 26-31
 63. Michalak S. Klasyfikacja I rozpoznawanie neurologicznych zespołów paranowotworowych Pol Prz Neurol. 2008; 4(4): 163-167
 64. Michalak S. Osztynowicz K. Kozubski W. The Prevalence of Onconeural Antibodies in Patients with Suspicion of Neurological Paraneoplastic Syndrome in Poland Neurology; 2006; 66(5): s 340
 65. Moll JWB. Antoine JC. Brashear HR. Delattre J. Drlicek M. Dropcho EJ. Giometto B. Graus F. Greenlee J. Honnorat J. Jaeckle KA. Tanaka K. Vecht CJ. Guidelines on the detection of paraneoplastic anti-neuronal-specific antibodies: Report from the Workshop to the Fourth Meeting of the International Society of Neuroimmunology on paraneoplastic neurological disease, held October 22-23, 1994, in Rotterdam, Neurology 1995; 45(10): 1937-1941.
 66. Monstad SE. Drivsholm L. Skeie GO. Aarseth JH. Vedeler ChA. CRMP5 antibodies

- in patients with small-cell lung cancer or thymoma *Cancer Immunol Immunother.* 2008; 57(2): 227-232
67. Monstad SE. Storstein A. Dorum A. Kundsén A. Lonning PE. Salvesen HB. Aarseth JH. Vedeler CA. Yo antibodies on ovaria and Breast cancer patients detected by a sensitive immunoprecipitation technique *Clin Exp Immunol.* 2006; 144(1): 53-58
 68. Murta Eddie FC. Nomelini Rosekeila S. Early diagnosis and predictors of malignancy of adnexal masses *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2006; 18(1): 14-19
 69. Ness RB. Cottreau C. Possible role of ovarian epithelial inflammation in ovarian cancer *J Natl Cancer Inst.* 1999; 91(17): 1459-67
 70. Nowacki P. Neuropatologiczne podłoże zespołów paranowotworowych *Pol Prz Neurol* 2008; 4(4): 168-174
 71. Panegyres PK. Reading MC. Esiri MM. The inflammatory reaction of paraneoplastic ganglionitis and encephalitis: an immunohistochemical study *J Neurol.* 1993; 240(2): 93 – 97
 72. Pittock SJ. Kryzer TJ. Lennon VA. Paraneoplastic antibodies coexist and predict cancer, not neurological syndrome *Ann Neurol.* 2004; 56(5): 715-719
 73. Posner JB. Dalmau J. Paraneoplastic syndromes *Curr Opin Immunol.* 1997; 9(5): 723- 729
 74. Posner JB. Neurological paraneoplastic syndromes: a review of diagnosis and prospects for therapy *J Clin Neuroscience.* 1996; 3(1): 8-15
 75. Posner JB. Paraneoplastic syndromes w: Posner JB Neurological complications of cancer. *Contemporary Neurological Series, FA Davis* 1995; 353-385
 76. Prusiński A. Zaburzenia czynności ruchowych w: *Neurologia praktyczna.* Prusiński A (red) *Wyd Lekarskie PZWL Warszawa* 200; 89-113
 77. Rees JH. Paraneoplastic syndromes: when to suspect, how to confirm, and how to manage *J Neurol Neurosurg Psych.* 2004; 75(suppl 2):43-50
 78. Rojas I. Graus F. Keime-Guibert F. Rene R. Delattre JY. Ramon JM. Dalmau J. Posner JB. Long-term clinical outcome of paraneoplastic cerebellar degeneration and anti-Yo antibodies *Neurology* 2000; 55(5): 713-715
 79. Rojas-Marcos I. Rousseau A. Keime-Guibert F. Rene R. Cartalat-Carel S. Delattre JY. Graus F. Spectrum of paraneoplastic neurological disorders in women with breast and gynecologic cancer *Medicine* 2003; 82(3): 216-223
 80. Roman LD. Muderspach LI. Stein SM. Laifer-Narin S. Groshen S. Morrow CP.

- Pelvic examination, tumor marker level, and gray-scale and Doppler sonography in the prediction of pelvic cancer *Obstet Gynecol.* 1997; 89(4): 493-500
81. Rosenblum MK. Paraneoplasia and autoimmunologic injury of the nervous system: the anti-Hu syndrome *Brain Pathol.* 1993;3(3):199-212.
 82. Rosenfeld MR. Dalmau J. Current therapies for paraneoplastic neurologic syndromes. *Curr Treat Options Neurol.* 2003; 5(1): 69-77
 83. Sansing LH. Tuzun E. Ko MW. Baccon J. Lynch DR. Dalmau J. A patient with encephalitis associated with NMDA receptor antibodies *Nat Clin Pract Neurol.* 2007; 3(5): 291-296
 84. Schildkraut JM. Schwingl PJ. Bastos E. Evanoff A. Hughes C. Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome *Obstet Gynecol.* 1996; 88(4): 554-559
 85. Scholz J. Vieregge P. Ruff C. Paraneoplastic opsoclonus-myoclonus syndrome in metastatic ovarian carcinoma *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994; 57(6): 763-764
 86. Seki M. Suzuki S. Lizuka T. Shimizu T. Nihei Y. Suzuki N. Dalmau J. Neurological response to early removal of ovarian teratoma in anti-NMDAR encephalitis *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; 79(3): 324-326
 87. Shams'ili S. Grefkens J. de Leeuw B. van den Bent M. Hooijkaas H. van der Holt B. Vecht Ch. Sillevs Smitt PS. Paraneoplastic cerebellar degeneration associated with antineuronal antibodies: analysis of 50 patients *Brain* 2003; 126(6): 1409-1418
 88. Sharshar T. Auriant I. Dorandeu A. et al Association of herpes simplex virus encephalitis and paraneoplastic encephalitis: a clinic-pathological study *Ann Pathol.* 2000; 20(3): 249-252
 89. Sillevs Smitt PS. Grefkens J. de Leeuw B. van den Bent M. van Putten W. Hooijkaas H. Vecht C. Survival and outcome in 73 anti-Hu positive patients with paraneoplastic encephalomyelitis/sensory neuronopathy *J Neurol.* 2002; 249(6): 745-753
 90. Smith ER, Xu XX. Ovarian ageing, follicle depletion, and cancer: a hypothesis for the etiology of epithelial ovarian cancer involving follicle depletion *Lancet Oncol.* 2008; 9(11):1108 – 11
 91. Stashower ME. Rennie TA. Turiansky GW. Gilliland WR. Ovarian cancer presenting as leucocytoclastic vasculitis *J Am Acad Dermatol* 1999; 40(2): 287-289
 92. Stein-Wexler R. Wootton-Gorges SL. Greco CM. Brunberg JA. Paraneoplastic

- limbic encephalitis in a teenage girl with an immature ovarian teratoma *Pediatr Radiol.* 2005; 35(7): 694-697
93. Stich O. Jarius S. Kleer B. Rasiah C. Voltz R. Rauer S. Specific antibody index in cerebrospinal fluid from patients with central and peripheral paraneoplastic neurological syndromes *J Neuroimmunol.* 2007; 183(1-2): 220-224
 94. Stich O. Rauer S. Antigens-specific oligoclonal bands in cerebrospinal fluid and serum from patients with anti-amphiphysin- and anti-CV2/CRMP5 associated paraneoplastic neurological syndromes *Eur J Neurol* 2007; 14(6): 650-653
 95. Stich O. Rasiah C. Rauer S Paraneoplastic antibody during follow-up of a patient with anti-Ri-associated paraneoplastic neurological syndrome *Acta Neurol Scand* 2009; 119(5): 338-340
 96. Strugalska-Cynowska M. Obraz kliniczny i diagnostyka immunologiczna miastennii i zespołu Lamberta-Eatona (przydatność przeciwciał: przeciw AChR, titinie, MuSK i białkom kanału wapniowego uwalniania Ach). *Pol Prz Neurol* 2008; 4(suppl A): 75-76
 97. Tanaka K. Tanaka M. Onodera O. Igarashi S. Miyatake T. Tsuji S. Passive transfer and active immunisation with the recombinant leucin-zipper (Yo) protein as an attempt to establish an Animals model of paraneoplastic cerebellar degeneration *J Neurol Sci* 2006; (1-2): 153-5
 98. Tanaka K., Tanaka M., Inuzuka T. Nakano R. Tsuji S. Cytotoxic T lymphocyte-mediated cell death in paraneoplastic sensory neuronopathy with anti-Hu antibody *J Neurol Sci* 1994; 127(2): 153-158
 99. Thöne J. Hohaus A. Lamprecht S. Bickel A. Erbguth F. Effective immunosupresant therapy with cyclophosphamide and corticosteroids in paraneoplastic cerebellar degeneration *J Neurol Sci.* 2008; 272(1-2): 171-73
 100. Timmerman D. Valentin L. Bournet TH. Collins WP. Verrelst H. Vergote I. Terms, definitions and measurements to describe the sonographic feauters of adnexal tumors: a consensus opinion from the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) group *Ultrasound Obstst Gynecol.* 2000; 16: 500-505
 101. Tonomura Y. Kataoka H. Hara Y. Takamure M. Naba I. Kitauti T. Saito K. Ueno S Clinical analysis of paraneoplastic encephalitis associated with ovarian teratoma *J Neurooncol.* 2007; 84(3): 287-292
 102. Totland C. Aarseth J. Vedeler C. Hu and Yo antibodies have heterogenous avidity *J*

- Neuroimmunol. 2007; 185(1-2): 162-167
103. Tsou JA. Kazarian M. Patel A. Galler JS. Lsird-Offringa IA. Carpenter CL. London SJ. Low level anti-Hu reactivity: A risk marker for small cell lung cancer? *Cancer Detect Prev.* 2009; 32(4): 292-299
 104. Tworoger SS. Gertig DM. Gates MA. Hecht JL. Hankinson SE. Caffeine, alcohol, smoking, and the risk of incident epithelial ovarian cancer *Cancer* 2008; 112(5): 1169- 1177
 105. van Altena AM. Wijnberg GJ. Kolwijck E. de Hullu JA. Massuger LFAG. A patient with bilateral immature ovarian teratoma presenting with paraneoplastic encephalitis *Gynecol Oncol.* 2008; 108(2): 445-448 - 94
 106. Vedeler CA. Antoine JC. Giometto B. Graus F. Grisold W. Hart IK. Honnorat J. Sillevs Smitt PA. Verschuuren JJ. Voltz R. for the Paraneoplastic Neurological Syndrome Euronetwork Management of paraneoplastic neurological syndromes: report of an EFNS Task Force *Eur J Neurol.* 2006; 13(7): 682-690
 107. Verschuuren J. Chuang L. Rosenblum MK. Lieberman F. Pryor A. Posner JB. Dalmau J. Inflammatory infiltrates and complete absence of Purkinje cells in anti-Yo-associated paraneoplastic cerebellar degeneration *Acta Neuropathol.* 1996; 91(5): 519-525
 108. Vianello M. Vitaliani R. Pezzani R. Nicolao C. Betterle C. Keir G. Thompson EJ. Tavolato B. Scaravilli F. Giometto B. The spectrum of antineuronal autoantibodies in a series of neurological patients *J Neurol Sci.* 2004; 220(1-2): 29-36
 109. Vincent A. Bien CG. Anti-NMDA-receptor encephalitis: a cause of psychiatric, seizure, and movement disorders in young adults *Lancet Neurol.* 2008; 7(12): 1074-1075
 110. Vitaliani R. Mason W. Ances B. Zwerdling T. Jiang Z. Dalmau J. Paraneoplastic encephalitis, psychiatric symptoms, and hypoventilation in ovarian teratoma *Ann Neurol.* 2005; 58(4): 594-604
 111. Voltz R. Dalmau J. Posner JB. Rosenfeld MR. T-cell receptor analysis in anti-Hu associated paraneoplastic encephalomyelitis *Neurology* 1998; 51(4): 1146 – 1150.
 112. Voltz R. Intravenous immunoglobulin therapy in paraneoplastic neurological syndromes *J Neurol.* 2006; 253(5): 33-38
 113. Voltz R. Neuropsychological symptoms in paraneoplastic disorders *J Neurol.* 2007; 254(suppl 2): 84-86 - 95

114. Voltz R. Paraneoplastic neurological syndromes: an update on diagnosis, pathogenesis, and therapy *Lancet Neurol.* 2002; 1(5): 294-304
115. Widdess-Walsh P, Tavee JO, Schuele S, Stevens GH. Response to intravenous immunoglobulin in Anti-Yo associated paraneoplastic cerebellar degeneration: case report and review of the literature *J Neurooncol.* 2003; 63(2): 187-190
116. Wilkinson PC, Żeromski J. Immunofluorescent detection of antibodies against neurons in sensory carcinomatous neuropathy *Brain* 1965; 88(3): 529-538
117. Younes-Mhenni S, Janier MF, Cinotti L, Antoine JC, Tronc F, Cottin V, Ternamien PJ, Trouillas P, Honnorat J. FDG-PET improves tumor detection in patients with paraneoplastic neurological syndromes *Brain* 2004; 127(10): 2331-2338
118. Yu Z, Kryzer TJ, Griesmann GE, Kim K, Benarroch EE, Lennon VA. CRMP-5 neuronal autoantibody: marker of lung cancer and thymoma-related autoimmunity *Ann Neurol.* 2001; 49(2): 146-154
119. Zatoński W, Tyczyński J. Nowotwory złośliwe w Polsce w 1996 roku. Centrum Onkologii – Instytut: Krajowy Rejestr Nowotworów; Warszawa 1999

SPIS RYCIN I TABEL

Rycina 1:	Zapadalność na raka jajnika na świecie w zależności od regionu Geograficznego [26].....	9
Rycina 2:	Odsetek zachorowań na nowotwory złośliwe kobiet w Polsce w roku 2005 [21].....	9
Rycina 3:	Odsetek zgonów na nowotwory złośliwe kobiet w Polsce w roku 2005 [21]....	10
Rycina 4:	Kryteria diagnostyczne rozpoznania neurologicznego zespołu paranowotworowego w oparciu o klasyfikację Grausa i wsp. z 2004 roku [33,62].....	15
Rycina 5:	Poszczególne etapy diagnostyki neurologicznych zespołów paranowotworowych w oparciu o kryteria Grausa i wsp [33].....	16
Rycina 6:	Rodzaje przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych poddanych analizie w badanej grupie pacjentek.....	38
Rycina 7:	Częstość występowania nowotworów złośliwych i niezłośliwych, w tym potworniaków dojrzałych w badanej grupie pacjentek.....	39
Rycina 8:	Zestawienie występowania nowotworów złośliwych jajnika w badanej grupie 55 pacjentek w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego wg FIGO.....	40
Rycina 9:	Zestawienie wielkości nowotworów niezłośliwych-potworniaków dojrzałych, uzyskanych w ocenie ultrasonograficznej w zależności od wykrytego rodzaju przeciwciał.....	44
Rycina 10:	Zestawienie wymiarów guzów jajnika-nowotworów niezłośliwych (bez potworniaków dojrzałych) uzyskanych w ocenie ultrasonograficznej w zależności od wykrytego rodzaju przeciwciał.....	45
Rycina 11:	Zestawienie wymiarów nowotworów złośliwych uzyskanych w ocenie ultrasonograficznej w zależności od wykrytego rodzaju przeciwciała.....	45
Rycina 12:	Przeciwciało anti-Hu – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej. Charakterystyczne świecenie jąder neuronów mózgu.....	47
Rycina 13:	Przeciwciało anti-Yo – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej. Gruboziarnista reakcja z cytoplazmą komórek Purkiniego, oraz aksonami i dendrytami.....	47

Rycina 14: Przeciwciało anti-Ri – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej. Reakcja typu ziarnistego z jądrami neuronów mózdzku.....	47
Rycina 15: Przeciwciało anti-CV2 – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej. Świecenie cytoplazmy oligodendrocytów mózgu.....	48
Rycina 16: Przeciwciało anti-Ma/Ta – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji. Świecenie jąder neuronów mózdzku.....	48
Rycina 17: Przeciwciało przeciwko amfizynie – obraz w mikroskopie świetlnym po wykonanym teście immunofluorescencji pośredniej. Widoczne świecenie zakończeń presynaptycznych neuronów mózgu.....	48
Rycina 18: Przeciwciało anti-Tr – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej. Świecenie jader komórek Purkiniego.....	49
Rycina 19: Przeciwciało anti-GAD – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji. Świecenie warstwy ziarnistej mózdzku.....	49
Rycina 20: Przeciwciała anti-NMDA – obraz w mikroskopie świetlnym po teście immunofluorescencji pośredniej – reakcja z podjednostkami NR1, NR2B recepta NMDA.....	49
Rycina 21: Przeciwciało <u>anti-Hu</u> – pasek błony nitrocelulozowej, wynik testu Western Blotting.....	50
Rycina 22: Przeciwciało <u>anti-Yo</u> – pasek błony nitrocelulozowej, wynik testu Western Blotting	50
Rycina 23: Przeciwciało <u>anti-Ma</u> – pasek błony nitrocelulozowej, wynik testu Western Blotting.....	50
Rycina 24: Przeciwciało <u>anti-CV2</u> – pasek błony nitrocelulozowej, wynik testu Western Blotting.....	50
Rycina 25: Iloraz szans wykrycia przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w poszczególnych grupach nowotworów.....	61
Rycina 26: Iloraz szans stwierdzenia przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych w poszczególnych grupach nowotworów.....	63
Rycina 27: Iloraz szans stwierdzenia przeciwciał antyneuronalnych w poszczególnych	

	grupach nowotworów jajnika.....	66
Rycina 28:	Wykres zakresu wartości i mediany stężenia markera CA 125 w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu złośliwego jajnika FIGO...67	67
Rycina 29:	Porównanie zakresu wartości, oraz mediany stężenia markera CA 125 u pacjentek z wykrytymi przeciwciałami onkoneuronalnymi w poszczególnych grupach nowotworów.....	68
Rycina 30:	Porównanie zakresu wartości, oraz mediany stężenia markera CA 125 u pacjentek z wykrytymi przeciwciałami onkoneuronalnymi częściowo określonymi w poszczególnych grupach nowotworów.....	68
Rycina 31:	Wykres zakresu wartości i mediany stężenia markera CEA w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu złośliwego jajnika FIGO.....	71
Rycina 32:	Zakres wartości, oraz mediana stężenia CEA u pacjentek z wykrytymi przeciwciałami onkoneuronalnymi w poszczególnych grupach nowotworów...72	72
Rycina 33:	Zakres wartości, oraz mediana stężenia CEA u pacjentek z wykrytymi przeciwciałami onkoneuronalnymi częściowo określonymi w poszczególnych grupach nowotworów.....	72
Tabela 1:	Wiek badanych pacjentek w zależności od rodzaju rozpoznanej zmiany w obrębie jajnika.....	39
Tabela 2:	Wiek pacjentek w zależności od statusu menopauzalnego.....	40
Tabela 3:	Zestawienie rozpoznań histopatologicznych wśród 55 pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika.....	41
Tabela 4:	Związek ultrasonograficznej morfologii guza z rozpoznaniem histopatologicznym w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika w oparciu o klasyfikację IOTA.....	42
Tabela 5:	Zestawienie rozpoznań histopatologicznych wśród 68 pacjentek z nowotworem niezłośliwym jajnika.....	43
Tabela 6:	Związek ultrasonograficznej morfologii guza z rozpoznaniem histopatologicznym w grupie pacjentek z nowotworem niezłośliwym jajnika.....	43

Tabela 7:	Zestawienie obecności przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych w zależności od typu nowotworu jajnika.....	51
Tabela 8:	Zestawienie wykrytych przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych wśród pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika.....	52
Tabela 9:	Występowanie poszczególnych typów przeciwciał w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym w zależności od statusu menopauzalnego.....	53
Tabela 10:	Porównanie występowania poszczególnych typów przeciwciał w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu złośliwego jajnika.....	54
Tabela 11:	Zestawienie stwierdzonych przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych wśród pacjentek z nowotworem niezłośliwym jajnika (z wyłączeniem potworniaków dojrzałych).....	55
Tabela 12:	Zestawienie stwierdzonych przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych wśród pacjentek z rozpoznany potworniakiem dojrzałym jajnika.....	56
Tabela 13:	Porównanie liczebności pacjentek w grupie z nowotworem złośliwym i potworniakiem jajnika w zależności od obecności przeciwciał.....	57
Tabela 14:	Porównanie liczebności pacjentek w zależności od obecności przeciwciał w grupie z nowotworem złośliwym i niezłośliwym (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego jajnika).....	57
Tabela 15:	Porównanie liczebności pacjentek w zależności od obecności przeciwciał w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i niezłośliwym (łącznie z potworniakiem dojrzałym) jajnika.....	57
Tabela 16:	Zestawienie istotnych różnic wieku pacjentek bez stwierdzonych przeciwciał w poszczególnych grupach guzów jajnika.....	58
Tabela 17:	Występowanie przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w zależności od typu nowotworu jajnika.....	59
Tabela 18:	Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w grupie z nowotworem złośliwym i potworniakiem dojrzałym.....	59
Tabela 19:	Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w grupie z nowotworem złośliwym	

	i niezłośliwym (z wykluczeniem potworniaka dojrzałego)	60
Tabela 20:	Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych w grupie z nowotworem złośliwym i niezłośliwym (łącznie z potworniakiem dojrzałym).....	60
Tabela 21:	Występowanie przeciwciała onkoneuronalnych częściowo określonych w poszczególnych grupach nowotworów jajnika.....	61
Tabela 22:	Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i potworniakiem dojrzałym.....	62
Tabela 23:	Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i niezłośliwym (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego).....	62
Tabela 24:	Porównanie częstości występowania przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i niezłośliwym (łącznie z potworniakiem dojrzałym).....	63
Tabela 25:	Występowanie przeciwciał antyneuronalnych w całej badanej grupie pacjentek w zależności od nowotworu jajnika.....	63
Tabela 26:	Porównanie częstości występowania przeciwciał antyneuronalnych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i niezłośliwym (z wyłączeniem potworniaka dojrzałego).....	64
Tabela 27:	Porównanie częstości występowania przeciwciał antyneuronalnych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i niezłośliwym (łącznie z potworniakiem dojrzałym).....	65
Tabela 28:	Średni wiek chorych z potwierdzoną obecnością przeciwciał onkoneuronalnych częściowo określonych w poszczególnych grupach nowotworów.....	65
Tabela 29:	Porównanie częstości występowania przeciwciał antyneuronalnych w grupie pacjentek z nowotworem złośliwym i potworniakiem dojrzałym.....	65
Tabela 30:	Uzyskane wartości stężenia markera CA 125 w zależności od grupy badanych nowotworów jajnika.....	66
Tabela 31:	Uzyskane wartość mediany, oraz istotna statystycznie różnica poziomu markera CA 125 pomiędzy grupą pacjentek z nowotworem złośliwym, a potworniakiem dojrzałym i wszystkimi przeciwciałami onkoneuronalnymi.....	69
Tabela 32:	Uzyskane wartość mediany, oraz istotna statystycznie różnica poziomu	

	markera CA 125 pomiędzy grupą pacjentek z nowotworem złośliwym, a potworniakiem dojrzałym i przeciwciałami onkoneuronalnymi częściowo określonymi.....	69
Tabela 33:	Uzyskane wartość mediany, oraz istotna statystycznie różnica poziomu markera CA 125 pomiędzy grupą pacjentek z nowotworem złośliwym, a niezłośliwym i przeciwciałami onkoneuronalnymi częściowo określonymi.....	69
Tabela 34:	Uzyskane wartości stężenia markera CEA w zależności od grupy badanych nowotworów jajnika.....	70
Tabela 35:	Uzyskane wartości stężenia markera AFP w zależności od grupy badanych nowotworów jajnika.....	73