

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego

w Poznaniu

Wydział Lekarski I

lek. med. Katarzyna Wójcicka

WARTOŚĆ OCENY ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ

W ASPEKTCIE ROKOWNICZYM U PACJENTEK

W NOWOTWORACH NARZĄDÓW PŁCIOWYCH

ROZPRAWA DOKTORSKA

Promotor: prof. dr hab. Stefan Sajdak

Klinika Ginekologii Operacyjnej

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2018 r.

SPIS TREŚCI

SPIS TABEL.....	4
SPIS RYCIN.....	8
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW.....	9
1. WSTĘP.....	11
1.1. Wprowadzenie.....	11
1.2. Rak trzonu macicy.....	13
1.2.1. Etiologia raka endometrium.....	13
1.2.2. Diagnostyka i leczenie raka trzonu macicy.....	21
1.2.3. Rokowanie u chorych na raka błony śluzowej trzonu macicy.....	22
1.3 Rak jajnika.....	23
1.3.1. Etiologia raka jajnika.....	23
1.3.2. Diagnostyka i leczenie raka jajnika.....	28
1.3.3. Rokowanie u chorych na raka jajnika.....	29
1.4. Zespoły nowotworowe i paranowotworowe – charakterystyka ogólna.....	29
1.4.1. Zespoły paranowotworowe.....	29
1.4.2. Neurologiczne zespoły paranowotworowe.....	33
1.4.2.1 Patogeneza neurologicznych zespołów paranowotworowych.....	34
1.4.2.2. Rozpoznawanie i klasyfikacja neurologicznych zespołów paranowotworowych.....	37
1.4.2.3. Diagnostyka neurologicznych zespołów paranowotworowych.....	40
1.4.2.4. Charakterystyka przeciwciał onkoneuronalnych.....	41
1.4.2.5. Charakterystyka paranowotworowych zespołów neurologicznych.....	46
1.5. Immunologia w nowotworach.....	49
1.5.1. Antygeny w nowotworach.....	49

1.5.2. Odpowiedzi immunologiczne przeciwko komórkom nowotworowym.....	50
1.5.3. Patofizjologia ucieczki nowotworu spod nadzoru immunologicznego.....	50
2. CEL PRACY.....	53
3. MATERIAŁ I METODOLOGIA BADAŃ.....	54
4. WYNIKI.....	58
4.1. Charakterystyka opisowa pacjentek z rakiem endometrium.....	58
4.2. Charakterystyka opisowa pacjentek z rakiem jajnika.....	61
4.3. Charakterystyka autoprzeciwciał przed leczeniem onkologicznym.....	64
4.4. Charakterystyka ilościowa pacjentek z rakiem błony śluzowej macicy.....	79
4.5. Charakterystyka ilościowa pacjentek z rakiem jajnika.....	85
4.6. Charakterystyka porównawcza pacjentek z rakiem jajnika i rakiem endometrium.....	91
4.7. Charakterystyka pacjentek ze zmianami endometrium i jajnika.....	96
5. DYSKUSJA.....	98
6. WNIOSKI.....	113
7. STRESZCZENIE.....	114
8. SUMMARY	117
9. BIBLIOGRAFIA.....	119
ZGODA KOMISJI BIOETYCZNEJ NA PRZEPOWADZENIE BADAŃ.....	132

SPIS TABEL

- Tabela 1. Współczynnik zachorowalności na raka endometrium w latach 1999-2015
- Tabela 2. Współczynnik zgonów na raka endometrium w latach 1999-2015
- Tabela 3. Czynniki predysponujące i protekcyjne w rozwoju raka endometrium
- Tabela 4. Typy raka endometrium
- Tabela 5. Współczynnik zachorowalności na raka jajnika w latach 1999 – 2015
- Tabela 6. Współczynnik umieralności na raka jajnika w latach 1999 – 2015
- Tabela 7. Kryteria diagnostyczne neurologicznych zespołów paranowotworowych
- Tabela 8. Podział zespołów paranowotworowych na klasyczne i nieklasyczne
- Tabela 9. Charakterystyka opisowa pacjentek z rakiem endometrium po leczeniu onkologicznym oraz zmarłych pacjentek z rakiem endometrium
- Tabela 10. Odsetek pacjentek z rakiem endometrium w zależności od stopnia zaawansowania nowotworu – stopnie zaawansowania wg FIGO
- Tabela 11. Charakterystyka opisowa pacjentek z rakiem jajnika po leczeniu onkologicznym oraz zmarłych pacjentek z rakiem jajnika
- Tabela 12. Odsetek pacjentek z rakiem jajnika w zależności od stopnia zaawansowania nowotworu – stopnie zaawansowania wg FIGO
- Tabela 13. Charakterystyka profilu autoprzeciwciał wykrywanych przy rozpoznaniu nowotworu narządów płciowych żeńskich
- Tabela 14. Częstość występowania autoprzeciwciał u pacjentek z nowotworami złośliwymi narządów płciowych żeńskich przed leczeniem onkologicznym
- Tabela 15. Zależności pomiędzy częstością występowania autoprzeciwciał wykrywanych przed leczeniem nowotworów złośliwych narządów płciowych żeńskich a ryzykiem zgonu

Tabela 16. Rozkład występowania przeciwciał u pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika i endometrium, które ponownie zgłosiły się na badanie przed zastosowaniem leczenia onkologicznego oraz zmarłych pacjentek

Tabela 17. Rozkład występowania przeciwciał w poszczególnych nowotworach złośliwych u pacjentek, które zgłosiły się na badanie kontrolne po zastosowaniu leczenia onkologicznego

Tabela. 18. Rozkład występowania przeciwciał w grupie pacjentek bez zmian złośliwych w endometrium lub jajniku

Tabela 19. Rozkład występowania przeciwciał w grupie zmarłych pacjentek z rakiem endometrium w zależności od stopnia zaawansowania wg FIGO

Tabela 20. Zaawansowanie raka błony śluzowej macicy wg FIGO u zmarłych seropozytywnych pacjentek w którejkolwiek grupie przeciwciał

Tabela 21. Zaawansowanie raka błony śluzowej macicy wg FIGO u zmarłych Seronegatywnych pacjentek

Tabela 22. Rozkład występowania przeciwciał u zmarłych pacjentek w raku jajnika, które w zależności od stopnia FIGO

Tabela 23 Zaawansowanie raka jajnika wg FIGO u zmarłych seropozytywnych pacjentek w którejkolwiek grupie przeciwciał

Tabela 24. Zaawansowanie raka jajnika wg FIGO u zmarłych seronegatywnych pacjentek

Tabela 25. Zestawienie pacjentek z rakiem błony śluzowej macicy, seropozytywnych i seronegatywnych, przed zastosowaniem kompleksowego leczenia przeciwnowotworowego

Tabela 26. Występowanie przeciwciał obwodowego układu nerwowego u pacjentek z rakiem błony śluzowej macicy w zależności od STAGINGU wg FIGO

- Tabela. 27. Obecności autoprzeciwciał po leczeniu onkologicznym w zależności od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy
- Tabela 28. Zależność obecności przeciwciał onkoneuronalnych po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy
- Tabela 29. Zależność obecności przeciwciał antyneuronalnych po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy
- Tabela 30. Zależność obecności przeciwciał przeciwko ośrodkowemu układowi nerwowemu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy
- Tabela 31. Zależność obecności przeciwciał przeciwko obwodowemu układowi nerwowemu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy
- Tabela 32. Zależność obecności przeciwciał przeciwko antygenom nukleosomu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy
- Tabela 33. Zestawienie seropozytywnych i seronegatywnych pacjentek z rakiem jajnika, przed zastosowaniem kompleksowego leczenia onkologicznego
- Tabela 34. Występowanie przeciwciał obwodowego układu nerwowego u pacjentek z rakiem jajnika w zależności od STAGINGU wg FIGO
- Tabela 35. Zależność obecności autoprzeciwciał po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika
- Tabela 36. Zależność obecności przeciwciał onkoneuronalnych po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika
- Tabela 37. Zależność obecności przeciwciał antyneuronalnych po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika
- Tabela 38. Zależność obecności przeciwciał przeciwko ośrodkowemu układowi nerwowemu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika

Tabela 39. Zależność obecności przeciwciał przeciwko obwodowemu układowi nerwowemu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika

Tabela 40. Zależność obecności przeciwciał przeciwko antygenom nukleosomu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika

Tabela 41. Zestawienie obecności serokonwersji przeciwciał przed i po leczeniu u pacjentek z rakiem endometrium i rakiem jajnika

Tabela 42. Ryzyko zgonu u seropozytywnych pacjentek z rakiem jajnika i rakiem błony śluzowej macicy

Tabela 43. Ocena ryzyka zgonu u seropozytywnych pacjentek w klasie przeciwciał przeciw antygenom układu nerwowego z rakiem jajnika i rakiem błony śluzowej macicy

Tabela. 44 Zestawienie występowania objawów neurologicznych w zależności od występowania autoprzeciwciał przed i po leczeniu onkologicznym

Tabela 45. Status immunologiczny pacjentek z grupy kontrolnej przed i po leczeniu operacyjnym (zmiany niezłośliwe)

Tabela 46. Zmodyfikowana skala Rankina

SPIS RYCIN

Rycina 1. Współczynnik zachorowalności na raka endometrium w latach 1999-2015 wg wieku pacjentek

Rycina 2. Współczynnik zgonów na raka endometrium w latach 1999-2015 wg wieku pacjentek

Rycina 3. Współczynnik zachorowalności na raka jajnika w latach 1999-2015 wg wieku pacjentek

Rycina 4. Współczynnik zgonów na raka jajnika w latach 1999-2015 wg wieku pacjentek

Rycina 5. Kryteria diagnostyczne rozpoznania PSN wg Grausa i wsp. z 2004 r.

Rycina 6. Metoda immunofluorescencji pośredniej i obrazy świecenia przeciwciał w teście Lineblot

Rycina 7. Zależność deficytu neurologicznego u pacjentek z rakiem jajnika i błony śluzowej macicy

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ADH - adiuretyna, hormon antydiuretyczny

AFP - alfa-fetoproteina

Beta - hCG (*ang. chorionic gonadotropin*) - gonadotropina kosmówkowa

CD (*ang. cluster of differentiation*) - antygen różnicowania komórkowego, kompleks różnicowania

MMR (*ang. DNA mismatch repair gene*) - geny naprawcze DNA

ELISA (*ang. enzyme-linked immunosorbent assay test*) - test immunoenzymosorbcyjny lub immunoenzymatyczny

FIGO (*fr. Fédération internationale de gynécologie et d'obstétrique*) - Międzynarodowa Federacja Ginekologii i Położnictwa, Międzynarodowa Federacja Ginekologów i Położników

GAD (*ang. glutamic acid decarboxylase*) - dekarboksylaza kwasu glutaminowego

HTZ - hormonalna terapia zastępcza

IL - interleukina

Komórki NK (*ang. Natural Killer*) - naturalni zabójcy

Limfocyty T (*lac. thymus*) - limfocyty grasicozależne

LDH (*ang. lactate dehydrogenase*) - dehydrogenaza mleczanowa

MAG (*ang. myelin associated glycoprotein*) - glikoproteina związana z mieliną

MHC (*ang. major histocompatibility complex*) - główny układ zgodności tkankowej

NMDA - N-metylo-D-asparaginian

p - istotność statystyczna

PET-FDG (*ang. Positron emission tomography, fluorodeoxyglucose*) - pozytronowa emisyjna tomografia komputerowa z wykorzystaniem fluorodeoksyglukozy jako znacznika

PSN (*ang. paraneoplastic neurological syndromes*) - neurologiczne zespoły

paranowotworowe

PTEN (*ang. phosphatase and tensin homolog*) - gen supresorowy kodujący białko

RIA (*ang. radioimmunoassay*) - badanie radioimmunologiczne

SIADH (*ang. syndrome of inappropriate antidiuretic hormone hypersecretion*) - zespół

Schwartz - Barttera, zespół nieadekwatnego wydzielania hormonu antydiuretycznego

SD (*ang. Standard deviation*) - odchylenie standardowe

TAA (*ang. tumor associated antigens*) - antygeny związane z guzem

TNF (*ang. tumor necrosis factor*) - czynnik martwicy guza

wsp. – współautorzy

1 WSTĘP

1.1 Wprowadzenie

Mutacja komórek prawidłowych, czyli transformacja nowotworowa, jest złożonym i wieloetapowym procesem zmian występujących w genach. Jej produkty są istotne dla nieprawidłowych procesów proliferacji, różnicowania i apoptozy komórki. Trwają intensywne poszukiwania markerów, które pozwolą na wcześniejsze wykrycie różnicujących się komórek, a w późniejszym etapie dadzą możliwość monitorowania terapii nowotworowej w celu oceny remisji lub wznowy choroby [Honnorat J. 2006]. Nowotwory złośliwe narządów płciowych kobiet stanowią istotny problem socjologiczny, ekonomiczny oraz psychologiczny w Polsce. W ostatnich latach, mimo wprowadzenia coraz nowocześniejszych metod diagnostyki i leczenia raka trzonu macicy oraz raka jajnika, obserwujemy stały wzrost zapadalności i umieralności na te nowotwory [<http://onkologia.org.pl>]. Aktualny schemat diagnostyki i leczenia nowotworów narządu płciowego kobiety obejmuje badanie ginekologiczne, badanie obrazowe: ultrasonografię, rezonans magnetyczny, tomografię komputerową z pozytonową tomografią emisyjną, badania histopatologiczne zarówno śródoperacyjne, jak i ostateczne, a także zabiegi operacyjne oraz chemioterapię i radioterapię. Dużą nadzieję pokładano w badaniach laboratoryjnych, a w szczególności w określeniu miana charakterystycznych markerów nowotworowych. Zarówno w raku endometrium, jak i w raku jajnika, istotny jest marker CA - 125, choć zdecydowanie jest bardziej swoisty w stosunku do raka jajnika. Mimo tak wielu badań diagnostycznych, wciąż nie ma metody, która w znaczący sposób korelowałaby ze stopniem zaawansowania, objawami klinicznymi, a przede wszystkim z wczesnym początkiem rozwoju raka endometrium czy raka jajnika. Obecnie najważniejsze byłoby znalezienie istotnego wskaźnika, który

wcześniej sugerowałyby rozwój procesu karcynogenezy w organizmie. Ostatnio coraz częściej obserwowane są powiązania pomiędzy stężeniem przeciwciał występujących w neurologicznych zespołach paranowotworowych czyli przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych a rozwojem nowotworu złośliwego endometrium czy jajnika. Do tej pory udało się zidentyfikować kilka konkretnych antygenów, skierowanych przeciwko tym przeciwciałom, między innymi: anti-Yo, anti-Hu, anti-CV2, anti-Ma, anti-Ri i przeciwciało anti-amfizyna, które można oznaczyć w testach laboratoryjnych, takich jak immunofluorescencja pośrednia i Line blot oraz osobną grupę przeciwciał widocznych w badaniu, dla których nie ma swoistych testów laboratoryjnych jak anti-Tr. Przeciwciała onkoneuronalne cechują się czułością rzędu 50-60% i wysoką specyficznością, wynoszącą blisko 100% dla rozpoznawania zespołów paranowotworowych w przebiegu nowotworów złośliwych [Honnorat J. 2006]. Wydaje się, że stężenie tych przeciwciał koreluje z odpowiedzią immunologiczną organizmu, a tym samym, z reakcją pacjentki na podjęte działania lecznicze. Warto zauważyć, że prawie u 80% populacji objawy neurologiczne znacząco wyprzedzają pierwsze objawy, typowe dla danego typu nowotworu złośliwego. Dzięki określeniu charakterystycznych przeciwciał w neurologicznych zespołach paranowotworowych i ich korelacji z konkretnymi nowotworami żeńskich narządów płciowych, można by wypracować standardy diagnostyczne, które umożliwiłyby wczesne wykrycie procesu nowotworowego.

1.2 Rak błony śluzowej trzonu macicy

1.2.1 Etiologia raka endometrium

Mimo coraz doskonalszych metod diagnostycznych, wykrywalność nowotworów złośliwych błony śluzowej trzonu macicy wciąż jest zbyt późna i wiele pacjentek, z powodu zaawansowanego procesu nowotworowego, nie może być poddanych pełnemu, skutecznemu leczeniu chirurgicznemu oraz chemioterapii i radioterapii.

Rak endometrium jest najczęstszym nowotworem, występującym w obrębie miednicy mniejszej u kobiet, ale najlepiej rokującym, gdyż jego pięcioletnie przeżycie wynosi ogółem ok. 80%. W ostatnich latach obserwuje się zwiększenie ilości zachorowań. W 2011 roku w Polsce rak endometrium był czwartym nowotworem, występującym u kobiet. Częstość rozpoznawania, jak również przeżywalność, jest większa u kobiet zamieszkujących kraje wysoko rozwinięte, większa u kobiet rasy białej niż u kobiet rasy czarnej. Przyczyny tego są nieznane. Ponadto stosowane leczenie raka piersi tamoksyfenem znacząco zwiększa ilość zachorowań na raka trzonu macicy, co może być przyczyną zmniejszonej odpowiedzi immunologicznej u kobiet poddanych chemioterapii. Szczyt zachorowalności na raka endometrium przypada na okres około menopauzalny - między 55 a 59 r.ż. Od 65 r.ż. ryzyko zachorowania na raka trzonu macicy systematycznie spada [tabela 1, rycina 1]. Jednak wraz z upływem lat rośnie liczba zgonów w wyniku zachorowania na raka endometrium [tabela 2, rycina 2]. Z ostatnich rankingów wynika, że rak błony śluzowej macicy stanowi dwunastą przyczynę zgonów, z powodu nowotworów złośliwych u kobiet, o czym świadczy stabilna liczba zgonów, przy stale rosnącej liczbie nowych zachorowań.

Tabela 1. Współczynnik zachorowalności na raka endometrium w latach 1999-2015

[<http://onkologia.org.pl>]

Rok	Zachorowani a	Współczynnik surowy	Współczynnik standaryzowany (W)	Ryzyko skumulowane
1999	3260	16.41	11.35	1.43
2000	3496	17.60	12.02	1.54
2001	3675	18.49	12.44	1.57
2002	3796	19.25	12.59	1.58
2003	3953	20.06	12.99	1.65
2004	4193	21.28	13.37	1.70
2005	4196	21.30	13.29	1.68
2006	4376	22.22	13.69	1.75
2007	4640	23.55	14.27	1.81
2008	4820	24.46	14.43	1.84
2009	5061	25.65	15.04	1.89
2010	5125	25.79	14.83	1.88
2011	5251	26.42	14.88	1.89
2012	5426	27.29	15.13	1.93
2013	5706	28.72	15.62	1.99
2014	5944	29.93	16.02	2.03
2015	6243	31.46	16.61	2.12

Rycina 1. Współczynnik zachorowalności na raka endometrium w latach 1999-2015
wg wieku pacjentek [<http://onkologia.org.pl>]

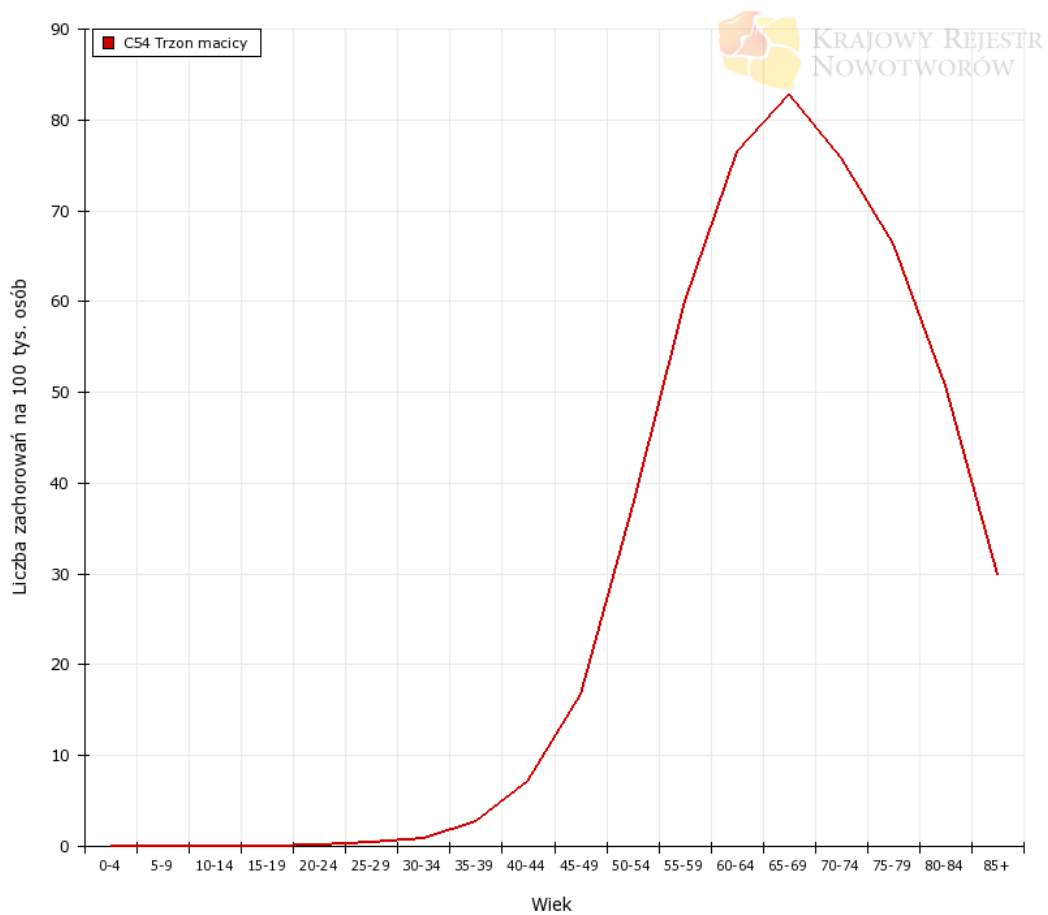
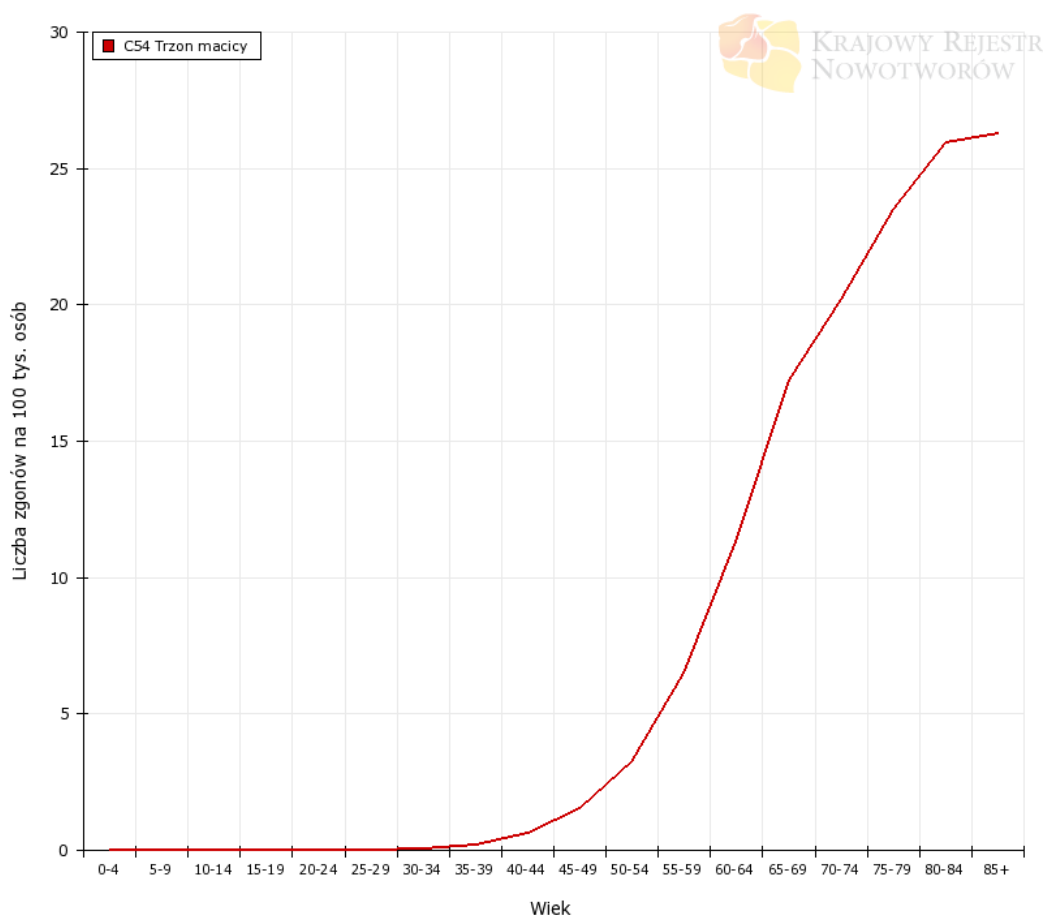


Tabela 2. Współczynnik zgonów na raka endometrium w latach 1999-2015

[<http://onkologia.org.pl>]

Rok	Zgony	Współczynnik surowy	Współczynnik standaryzowany (W)	Ryzyko skumulowane
1999	761	3.83	2.30	0.29
2000	808	4.07	2.35	0.30
2001	776	3.90	2.23	0.28
2002	757	3.84	2.18	0.28
2003	783	3.97	2.20	0.27
2004	794	4.03	2.17	0.27
2005	770	3.91	2.03	0.25
2006	814	4.13	2.17	0.28
2007	848	4.30	2.18	0.28
2008	952	4.83	2.42	0.31
2009	969	4.91	2.39	0.29
2010	1042	5.24	2.50	0.32
2011	1085	5.46	2.53	0.32
2012	1162	5.84	2.73	0.36
2013	1243	6.26	2.75	0.36
2014	1280	6.44	2.73	0.35
2015	1690	8.52	3.31	0.38

Rycina 2. Współczynnik zgonów na raka endometrium w latach 1999-2015 wg wieku pacjentek [<http://onkologia.org.pl>]



W etiologii rozwoju nowotworu złośliwego błony śluzowej trzonu macicy znaczenie ma nadmierna ekspozycja endometrium na działanie estrogenów, bez działania antagonistycznego progesteronu. Ważnym aspektem w rozwoju raka endometrium jest to, iż znacznie częściej rozwija się on w krajach wysoko rozwiniętych, częściej u kobiet z chorobami współistniejącymi, takimi jak cukrzyca, otyłość, prowadzącymi siedzący tryb życia oraz nie posiadających potomstwa. Istnieje wiele czynników predysponujących do rozwoju raka endometrium, jednak są też takie, które - jak się uważa- mają działanie protekcyjne [tabela 3].

Tabela 3. Czynniki predysponujące i protekcyjne w rozwoju raka endometrium
 [Nasierowska-Guttmejer A. 2009]

Czynniki predysponujące	Czynniki protekcyjne
Kraje wysoko rozwinięte Wczesna pierwsza miesiączka Rasa biała Stan po leczeniu niepłodności Późna menopauza Bezdzielnosc HTZ estrogenowa PCOS Zburzenia miesiączkowania – nieregularne miesiączki, występowanie cykli bezowulacyjnych Przebyte napromienianie okolicy miednicy mniejszej Otyłość Cukrzyca Nadciśnienie tętnicze Choroby prowadzące do upośledzenia wydolności wątroby Dieta mięsna Tamoksyfen Guzy produkujące estrogeny Predyspozycje genetyczne (zesp. Lyncha II, zesp. Cowdena) 30-60% ryzyko rozwoju nowotworu Występowanie rodzinne	Wczesna menopauza Późna menarche Wielodzietność HTZ estrogenowo-gestagenowa Wkładka wewnątrzmaciczna Antykoncepcja hormonalna 2-składnikowa Palenie tytoniu Dieta bogata w warzywa i owoce Aktywność fizyczna

W latach 80-tych XX wieku Bokhman podzielił raka endometrium na dwa typy, różniące się epidemiologią, histopatologią i przebiegiem klinicznym. W zależności od typu nowotworu, rozróżniamy typ I- endometrialny, typ II- surowiczy i jasnokomórkowy [tabela 4]. Typ I ,występujący w ok. 80%, jest charakterystyczny dla kobiet otyłych, z cukrzycą i będących w okresie okołomenopauzalnym. Typ II częściej występuje u kobiet z niską masą ciała, będących po menopauzie, a więc starszych. Istotne jest to, iż typ I raka endometrium jest wcześniej rozpoznawany a dzięki powolnemu rozwojowi i charakteryzuje się dobrym rokowaniem. Typ II raka trzonu macicy charakteryzuje się dużym odsetkiem wznów oraz zaawansowaniem procesu nowotworowego w chwili wykrycia zmiany [Nasierowska-Guttmejer A. 2009].

Tabela 4. Typy raka endometrium [Markowska J.2015, Nasierowska-Guttmejer 2009]

Różnice między I a II typem raka endometrium		
	Rak endometrium typ I	Rak endometrium typ II
Częstość występowania	80% wszystkich raków endometrialnych	20% wszystkich raków Endometrialnych
Cechy	Rak endometrialny, śluzowaty, sekrecyjny, płaskonabłonkowy	Rak nie-endometrialny, surowiczny, jasnokomórkowy, nisko zróżnicowany, brodawkowaty, „carcinosarcoma”
Czynnik indukujący rozwój nowotworu	Działanie estrogenów niezrównoważone progesteronem, cykle bezowulacyjne u młodych kobiet	Brak zależności hormonalnej
Stany przednowotworowe	Atypowy rozrost endometrium wewnątrz nabłonkowa neoplazja endometrium	Śródnabłonkowy rak endometrium na podłożu rozrostu atroficznego
Szczyt zachorowań	Wiek okołomenopauzalny	Wiek pomenopauzalny
Najczęstsze mutacje	Niestabilność mikrosatelitarna mutacji PTEN 55%, K-ras, MSI, beta-kateniny, PIK3CA	Mutacja TP53 80-90%, HER2/neu, utrata heterozygotyczności chromosomów
Rokowanie	Dobre rokowanie ze względu na powolny i mniej agresywny rozwój Wrażliwość na leczenie HTZ	Złe rokowanie ze względu na zaawansowanie choroby w momencie rozpoznania i bardziej agresywny rozwój
Stopień dojrzałości	G1-G2	Nie określa się

Niestety, jedynie 35-50% rozpoznanych przypadków nowotworów złośliwych endometrium jest wykrywalnych w I lub II stopniu klasyfikacji według FIGO [Markowska J. 2015].

Jednym z częstych objawów raka endometrium są nieprawidłowe krwawienia maciczne, występujące po okresie menopauzalnym, dzięki którym rak ten jest wykrywalny aż w 70% w I stopniu zaawansowania [Poręba R. 2012]. Należy jednak pamiętać, że w 5% ten nowotwór złośliwy występuje bezobjawowo. W zaawansowanej chorobie nowotworowej mogą pojawić się takie objawy, jak powiększenie obwodu brzucha, bóle podbrzusza i w miednicy, problemy z wypróżnianiem się i mikcją, a także spadek masy ciała i stałe uczucie zmęczenia.

1.2.2 Diagnostyka i leczenie raka trzonu macicy

U większości pacjentek rak trzonu macicy rozpoznawany jest we wczesnym stadium choroby, ze względu na pojawienie się krwawienia z dróg rodnych po menopauzie.

Do podstawowych metod rozpoznawania raka endometrium zaliczane jest badanie histopatologiczne materiału uzyskanego podczas: skrobania jamy macicy, wykonania biopsji endometrium podczas histeroskopii diagnostycznej, z powodu nieprawidłowych krwawień macicznych czy też biopsji za pomocą Pipelli, EndoSampler lub przy użyciu EndoBrush.

Dodatkowo, metody diagnostyki obrazowej, takie jak: ultrasonografia, tomografia komputerowa czy PET informują o stopniu zaawansowania choroby, a tym samym stanowią podstawę do decyzji o sposobie leczenia.

Niestety, wciąż nie posiadamy specyficznego markera dla raka endometrium, który istotnie korelowałby z rozwojem choroby, a dotychczas oznaczany marker

CA - 125 może odzwierciedlać tylko stopień zaawansowania choroby [Poręba R. 2012].

Ważnym elementem diagnostyki raka endometrium jest oznaczenie receptorów progesteronowych i estrogenowych we fragmencie endometrium nowotworowo zmienionego. Obecność w/w receptorów wiąże się z lepszym rokowaniem i znacznie dłuższym przeżyciem.

Podstawową metodą leczenia nowotworu złośliwego błony śluzowej macicy jest leczenie operacyjne, mające na celu usunięcie macicy z przydatkami. Wciąż trwają dyskusje na temat słuszności usuwania węzłów chłonnych ze względu na to, że u ponad $\frac{3}{4}$ pacjentek, poddających się leczeniu operacyjnemu, nie ma potrzeby wykonywania limfadenektomii [Kornafel J. 2013]. Żeby zmniejszyć ryzyko nawrotu choroby, pacjentka powinna zostać poddana leczeniu uzupełniającemu: radio- lub chemioterapii, w zależności od stopnia zaawansowania procesu nowotworowego oraz oceny histopatologicznej materiału pooperacyjnego.

1.2.3 Rokowanie u chorych na raka błony śluzowej trzonu macicy

Rokowanie u chorych na raka endometrium jest przede wszystkim zależne od stopnia zaawansowania choroby, typu histopatologicznego i stopnia zróżnicowania guza. Mimo zaawansowanych metod diagnostycznych i różnorodnych sposobów leczenia, wciąż nie obserwuje się znacznego wzrostu przeżyć pięcioletnich u kobiet poddanych leczeniu z powodu raka trzonu macicy. Odsetek pięcioletnich przeżyć w poszczególnych stopniach (FIGO) zaawansowania raka endometrium wynosi: zaawansowanie I stopnia - 83%, zaawansowanie II stopnia – 73%, zaawansowanie III stopnia – 52%, zaawansowanie IV stopnia – 27%. Odsetek pięcioletnich przeżyć w poszczególnych stopniach histologicznych złośliwości raka trzonu macicy to:

G1 – 80 - 85%, G2 – 74 -78%, G3 – 50 – 64% [Poręba R.2012].

1.3 Rak jajnika

1.3.1 Etiologia raka jajnika

W 2011 roku nowotwory złośliwe jajnika znajdowały się na szóstym miejscu w rankingu częstości występowania nowotworów złośliwych i stanowiły piątą przyczynę zgonów w Polsce. Raki jajnika są różnorodną grupą nowotworów złośliwych, rozwijającą się głównie u kobiet w okresie około i pomenopauzalnym z komórek nabłonka, pokrywającego jajnik lub nabłonek cyst inkluzyjnych. Przez jego podstępny, bezobjawowy początkowy rozwój i przez wykrywanie w późnych stadiach zaawansowania, nazywany jest „cichym zabójcą kobiet”. Ponad 95% nowotworów złośliwych jajnika ma pochodzenie nabłonkowe. W ostatnich latach obserwuje się nieznaczny spadek współczynnika zachorowalności, i utrzymujący się wzrost liczby zgonów na ten nowotwór. To świadczy o stałym, utrzymującym się ryzyku zachorowań. W Polsce klasyfikuje się go na piątym miejscu wśród raków występujących u kobiet. Według Krajowego Rejestru Nowotworowego w 2010 roku 5% kobiet zachorowało na raka jajnika [<http://onkologia.org.pl>]. Aż 80% raków jajnika jest wykrywanych u kobiet powyżej 50 r.ż., przy czym 50% stanowią kobiety w wieku 50-69 lat [<http://onkologia.org.pl>, rycina 3]. Warto zauważyć, że zachorowalność dotyczy również młodzieży do 18 r.ż. ,gdzie rak jajnika stanowi aż 4% wszystkich nowotworów złośliwych i ok 6% kobiet między 19 a 44 r.ż. [<http://onkologia.org.pl>]. Niestety, dopiero u pacjentek powyżej 75 lat możemy zauważyć, iż zachorowalność zaczyna maleć [rycina 3]. Współczynnik zachorowalności od 1999 roku na raka endometrium corocznie wzrasta. Mimo coraz

szybszego rozpoznania choroby nowotworowej, współczynnik standaryzowany umieralności z powodu raka endometrium, od wielu lat utrzymuje się między 6, 4 a 7 [tabele 5,6].

Tabela 5. Współczynnik zachorowalności na raka jajnika w latach 1999-2015
[<http://onkologia.org.pl>]

Rok	Zachorowania	Współczynnik surowy	Współczynnik standaryzowany (W)	Ryzyko skumulowane
1999	3151	15.86	11.41	1.27
2000	3157	15.89	11.19	1.27
2001	3193	16.07	11.19	1.26
2002	3267	16.57	11.30	1.27
2003	3371	17.11	11.47	1.28
2004	3264	16.57	10.93	1.23
2005	3355	17.03	11.10	1.26
2006	3291	16.71	10.78	1.22
2007	3214	16.32	10.42	1.19
2008	3280	16.64	10.55	1.20
2009	3474	17.61	11.05	1.26
2010	3587	18.05	11.31	1.30
2011	3527	17.75	10.85	1.25
2012	3544	17.82	10.83	1.23
2013	3639	18.32	10.99	1.26
2014	3722	18.74	11.09	1.27
2015	3735	18.82	11.22	1.28

Rycina 3. Współczynnik zachorowalności na raka jajnika w latach 1999-2015 wg wieku pacjentek. [<http://onkologia.org.pl>]

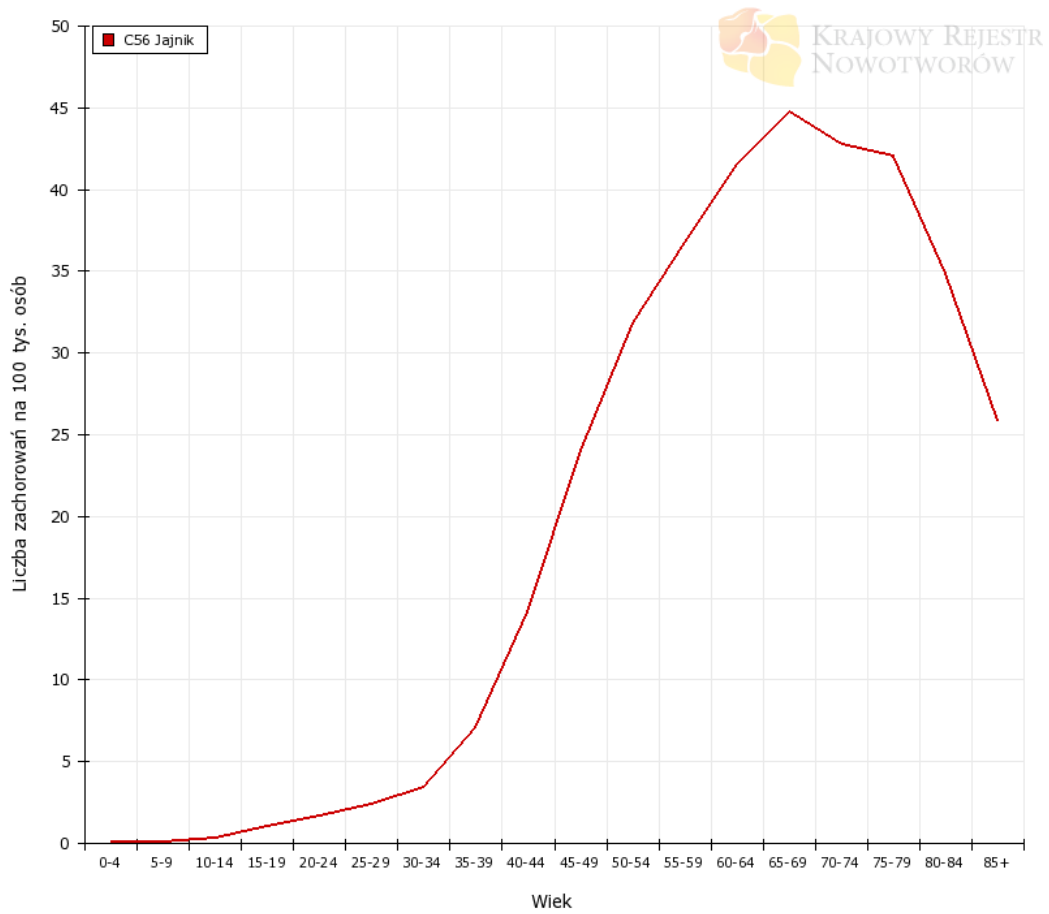


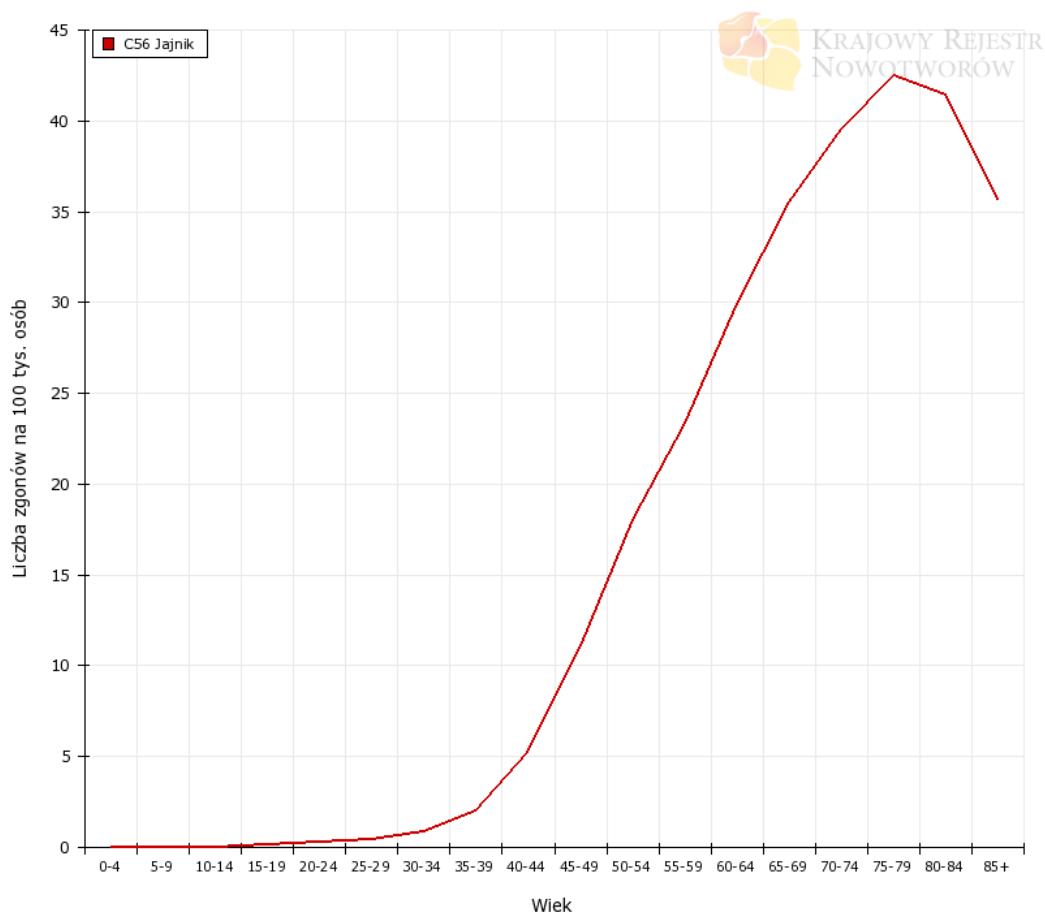
Tabela 6. Współczynnik umieralności na raka jajnika w latach 1999-2015

[<http://onkologia.org.pl>]

Rok	Zgony	Współczynnik surowy	Współczynnik standaryzowany (W)	Ryzyko skumulowane
1999	1959	9.86	6.66	0.80
2000	2032	10.23	6.71	0.80
2001	2152	10.83	6.92	0.83
2002	2171	11.01	6.87	0.83
2003	2271	11.53	7.05	0.83
2004	2273	11.54	6.98	0.83
2005	2357	11.96	7.00	0.84
2006	2390	12.13	7.02	0.85
2007	2485	12.61	7.20	0.86
2008	2507	12.72	7.05	0.84
2009	2510	12.72	6.99	0.85
2010	2547	12.82	6.99	0.84
2011	2558	12.87	6.88	0.83
2012	2432	12.23	6.40	0.78
2013	2603	13.10	6.77	0.82
2014	2678	13.48	6.88	0.83
2015	2768	13.95	6.94	0.84

Aż 75% kobiet z rakiem jajnika umiera między 50 a 79 r.ż. Mimo wzrostu wieku kobiety, przeżycie 5-letnie utrzymuje się na stałym poziomie ok. 11-13% i dotyczy ok. 9% młodych kobiet [rycina.5] [<http://onkologia.org.pl>].

Rycina 5. Współczynnik zgonów na raka jajnika w latach 1999-2015 wg wieku pacjentek. [<http://onkologia.org.pl>]



Uważa się, iż istnieją czynniki predysponujące do rozwoju raka jajnika, z czego mutacje w genach *BRCA1/2* czy *MMR* stanowią aż 5-10% przyczyn rozwoju nowotworu. Pozostałe czynniki, predysponujące do rozwoju choroby to: zespoły dziedzicznego raka jajnika i piersi, zespół Lyncha, bezdieta, nieskuteczne

stymulacje owulacji, niepłodność, wczesna menarche i późna menopauza, endometrioza, dieta uboga w warzywa i owoce, wysoki wzrost kobiety- powyżej 170 cm. Do czynników protekcyjnych możemy zaliczyć stosowanie antykoncepcji hormonalnej, laktację, przeprowadzenie operacji wycięcia macicy z przydatkami czy podwiązania jajowodów [<http://onkologia.org.pl>].

Ze względu na brak charakterystycznych objawów, u większości kobiet rak jajnika rozpoznawany jest w późnym stadium. Rozwój choroby sugerować mogą niespecyficzne objawy, m. in. zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego, występujące ponad rok przed postawieniem diagnozy, widoczny guz jajnika w badaniu ultrasonograficznym czy obecność płynu w jamie brzusznej bądź w opłucnej, utrudniająca oddychanie. Ważne jest regularne przeprowadzanie badania ginekologicznego oraz obserwacja własnego ciała, gdyż jednym z pierwszych objawów, które zauważają kobiety chorujące na raka jajnika, jest znaczące wodobrzusze. Objawami choroby w wysokim stopniu zaawansowania są: uczucie ucisku w brzuchu czy krwawienie z pochwy.

1.3.2 Diagnostyka i leczenie raka jajnika

Rak jajnika jest najczęściej rozpoznawanym nowotworem narządów płciowych kobiecych. Wciąż nie ma skutecznej metody wczesnego rozpoznania rozwijającej się choroby, ze względu na brak objawów patognomicznych. Jednak u większości pacjentek, na około rok przed rozpoznaniem choroby, pojawiają się objawy dyspeptyczne. Mimo połączenia metod laboratoryjnych oznaczenia markera CA - 125, HE4, CA - 19.9, β - hCG, AFP, LDH czy inhibiny oraz metod obrazowych ultrasonografii czy ultrasonografii z Dopplerem, wciąż swoistość i czułość tych metod nie są zadowalające. Podstawową metodą leczenia raka jajnika jest leczenie

skojarzone, polegające na operacji, obejmującej nie tylko usunięcie zmienionego jajnika, ale również usunięcie macicy wraz z drugim niezmiennym jajnikiem, sieci większej czy nawet węzłów chłonnych miednicznych, a następnie leczenie cytostatykami. Czasem ze względu na zaawansowanie procesu nowotworowego, jedynym postępowaniem chirurgicznym, jakie można wykonać, jest cytoredukcja masy guza oraz jego ewentualnych przerzutów. Skuteczność leczenia zależy od zakresu doszczętności przeprowadzonej operacji, a najlepsze efekty uzyskuje się stosując połączenie preparatów platyny z paklitakselem [<http://onkologia.org.pl>].

1.3.3 Rokowanie u chorych na raka jajnika

Przeżywalność jednoroczna kobiet ze zdiagnozowanym rakiem jajnika w latach 2000-2002 wynosiła 71,9%, a w latach 2003-2005 70,8%. Jednak wciąż 5-letnie przeżycie kobiet z rakiem jajnika ulega obniżeniu, w latach 2000-2002 wynosiło 50,5%, a w latach 2003-2005 już tylko 42,6% [<http://onkologia.org.pl>].

1.4 Zespoły nowotworowe i paranowotworowe – charakterystyka ogólna.

1.4.1 Zespoły paranowotworowe

Zespoły paranowotworowe zostały opisane w latach czterdziestych ubiegłego wieku i stanowią szereg objawów współistniejących z nowotworem złośliwym, nie będących bezpośrednio przyczyną guza. Pierwszy zespół paranowotworowy został opisany w 1865 roku przez Trousseau i była to zakrzepica żylna, poprzedzająca wystąpienie raka żołądka. Zespoły paranowotworowe występują w przebiegu około 15% wszystkich nowotworów, a w 8 % w nowotworach złośliwych w ginekologii.

Najczęściej występują w raku płuca, piersi oraz jajnika i endometrium [Diaz E.S., 2013].

Zespoły paranowotworowe można podzielić na dwa sposoby: pierwszy z nich oparty jest na rodzaju uszkodzonego narządu czy tkanki, z których wynikają określone objawy, oraz drugi podział ze względu na patomechanizm zespołu: endokryny i autoimmunologiczny.

Do zespołów paranowotworowych, zajmujących układ krwionośny należą: anemia, nadpłytkowość powyżej 400 tys. oraz zaburzenia zakrzepowo-zatorowe. Anemia jest skutkiem supresyjnego działania na proces erythropoezy uwalnianych przez nowotwór złośliwy cytokin IL-1 i TNF, które obniżają reaktywność komórek szeregu erytropoetycznego i zaburzają wchłanianie żelaza przez erytrocyty. Zaburzenia zakrzepowo-zatorowe są spowodowane nadmierną stymulacją układów krzepnięcia przez cytokiny pro-angiogenne, pro-zakrzepowego działania substancji uwalnianych przez guz TNF oraz pro-zakrzepowego leczenia onkologicznego radio- i chemioterapią [Krzakowski M. 2002].

Endokrynologiczne zespoły paranowotworowe to między innymi: hiperkalcemia, zespół Cushinga, hipoglikemia, hiperandrogenizm, zespół SIADH (nieadekwatne wydzielanie hormonu antydiuretycznego). Najczęściej wynikają one z ektopowego wytwarzania hormonów lub ich prekursorów w komórkach nowotworów złośliwych, rzadziej związane są z produkcją cytokin lub przemianą prekursorów steroidów do ich postaci aktywnych biologicznie. Zespół SIADH związany jest zaburzeniami wydzielania hormonu antydiuretycznego przez podwzgórze, w celu utrzymania osmolarności osocza. Zmiany osmolarności pobudzają receptory w naczyniach, co zwiększa wydzielanie ADH. Wskaźnikiem nieprawidłowego wydzielania ADH jest wzrost stężenia hormonu w surowicy, który

prowadzi do przewodnienia wraz ze współistniejącym spadkiem stężenia sodu, co powoduje spadek osmolarności osocza, podwyższenie osmolarności moczu i brak zwiększonego wydzielania sodu wraz z moczem. Zespół Cushinga jest związany z nadmierną produkcją ACTH i charakteryzuje się występowaniem hiperpigmentacji skóry, nadciśnienia tętniczego, obrzęków, zaburzeń wchłaniania glukozy, zaburzeń psychicznych, nieprawidłowego rozkładu tkanki tłuszczowej, powstawaniem rozstępów na skórze, osłabienia siły mięśni oraz alkalozы hipokaliemicznej. Rozróżniamy dwa typy zespołu Cushinga: przysadkowo-zależny czyli taki, który produkuje ACTH lub przysadkowo-niezależny, gdzie ACTH jest wydzielane ektopowo lub pierwotne z nadnerczy. Zdecydowanie częściej, bo praktycznie w każdym rodzaju nowotworu złośliwego, mamy do czynienia z ektopowym zespołem Cushinga, którego ważną cechą jest brak wrażliwości na zmiany stężenia kortyzolu w krążeniu, wskutek stałej produkcji ACTH [Krzakowski M. 2002].

Hiperkalcemia jest najczęściej obserwowanym powikłaniem metabolicznym u chorych na nowotwór złośliwy i występuje u 10–20% pacjentów z paranowotworowymi zespołami nowotworowymi. Rozpoznanie hipokalcemii opiera się na stwierdzeniu stężenia wapnia w surowicy powyżej 12,0 mg/dl. Do wzrostu stężenia wapnia w surowicy dochodzi na skutek nadmiernego wydzielania proteiny parathormonopodobnej i innych czynników humoralnych, które wpływają na reabsorpcję wapnia w kościach oraz kanalikach nerkowych. Hiperkalcemia w przebiegu zespołów paranowotworowych charakteryzuje się bogatym obrazem klinicznym. Objawy mogą dotyczyć ośrodkowego układu nerwowego, układu krążenia, jak również przewodu pokarmowego [Krzakowski M. 2002].

Następną grupą zespołów paranowotworowych są dermatologiczne zespoły paranowotworowe, których podłożem są zaburzenia autoimmunologiczne. Często

występują wysypki, nadżerki, owrzodzenia, pęcherze. Zespół pęcherzykowo-podobny to: nadżerki śluzówek, owrzodzenia skóry w obrębie pęcherzy, które imitują erythema multiforme. Może również występować rogowacenie czarne, czyli rogowacenie i nadmierna pigmentacja skóry w okolicy szyi, pach oraz pachwin. Rzadziej obserwowany jest zespół Lesera - Trelata, związany z nagłym wysypem brodawek łojotokowych, spowodowany nadmierną stymulacją keranocytów przez naskórkowy czynnik wzrostu. Innymi skórnymi zespołami paranowotworowymi są: hiperkeratozy, różnorodne zaburzenia pigmentacji skóry oraz akeratoza w zepole Bazexa (w przebiegu raka płaskonabłonkowego płuca oraz regionu głowy i szyi) [Krzakowski M. 2002].

Kolejnymi zespołami paranowotworowymi, związanymi z zaburzeniem odżywiania i nieprawidłowym metabolizmem, jest paranowotworowa enteropatia wysiękowa, która spowodowana jest zmniejszonym wchłanianiem białek z przewodu pokarmowego, powodując owrzodzenia jamy ustnej, żołądka oraz jelit. Skutkiem powstałych zaburzeń jest utrata albumin, spadek masy ciała, zaniki mięśniowe, powstawanie obrzęków oraz nasilenie się procesów katabolicznych. Te z kolei mogą doprowadzić do wyniszczenia organizmu – kacheksji, która sama w sobie stanowi odrębny zespół paranowotworowy. Kacheksja czyli wyniszczenie nowotworowe jest spowodowana zaburzeniami stanu odżywiania na skutek nieprawidłowości metabolicznych, hormonalnych oraz przez działanie cytokin: TNF- α , interleukiny-1, hormonów — insuliny, ACTH, epinefryny i hormonu wzrostu, a także peptydów obecnych w samym guzie. Kacheksja rzadko pojawia się we wczesnym stadium nowotworu złośliwego, najczęściej towarzyszy stadium zaawansowanemu. Spadek masy ciała jest jednym z najważniejszych negatywnych czynników predykcyjnych i czynników wpływających na rokowanie w chorobie nowotworowej

[Krzakowski M.2002].

Ostatnią grupą zespołów paranowotworowych są tak zwane różne zespoły paranowotworowe, do których należy gorączka paranowotworowa, powstająca w wyniku działania cytokin pirogennych: IL-1, IL-6, TNF, interferonu INF- α , β lub γ . Cytokiny mogą być wydzielane w wyniku pobudzenia przez komórki odczynu zapalnego lub wytwarzane samoistnie przez niektóre złośliwe nowotwory, bez udziału dodatkowego bodźca. Gorączka paranowotworowa najczęściej ustępuje po wyleczeniu choroby nowotworowej [Krzakowski M.2002].

1.4.2 Neurologiczne zespoły paranowotworowe

Neurologiczne zespoły paranowotworowe (ang. *PSN – paraneoplastic neurological syndromes*), zwane też klasycznymi zespołami paranowotworowymi, stanowią zróżnicowaną grupę zaburzeń funkcji ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego oraz złączy nerwowo-mięśniowych. Występują przed rozpoznaniem lub w trakcie leczenia choroby nowotworowej i nie związane są z naciekiem nowotworowym, uciskiem okolic w bezpośrednim otoczeniu nowotworu czyli niedokrwieniem tkanek otaczających guz czy też skutkami niepożądanymi leczenia onkologicznego. Występowanie objawów zespołów paranowotworowych w 70-80% może znacząco wyprzedzić rozpoznanie choroby nowotworowej nawet o wiele lat, co sugeruje ograniczający wpływ przeciwciał onkoneuronalnych na rozwój nowotworu. Pierwotny nowotwór u osób z PSN wykrywalny jest często w przeciągu 4 – 6 miesięcy od wystąpienia pierwszych objawów ze strony układu nerwowego, a po upływie 2 lat ryzyko nowotworu zmniejsza się tak, by po 4 latach było bardzo małe [Michalak S. 2008, Michalak S. 2008, Michalak S. 2006].

Częstość występowania neurologicznych zespołów paranowotworowych,

w zależności od przeprowadzonych badań, szacuje się od 1% do 10%, a nawet 15% u wszystkich osób ze złośliwym nowotworem. Zaledwie u 3% chorych onkologicznych występują klasyczne objawy neurologiczne zespołu paranowotworowego. Częściej obserwowane objawy są spowodowane przerzutami do ośrodkowego układu nerwowego lub są skutkiem ubocznym stosowanych cytostatyków. Poszczególne objawy, występujące w zespołach paranowotworowych, w przebiegu choroby nowotworowej różnią się częstością, w zależności od rodzaju nowotworu. Zespoły paranowotworowe, zajmujące układ nerwowy, dotyczą częściej osób w wieku średnim i podeszłym; zwykle mają podostry i postępujący przebieg. Dlatego często prowadzą do kalectwa, a w połowie przypadków są przyczyną przedwczesnej śmierci [Michalak S. 2008, Michalak S. 2008, Michalak S. 2006].

U kobiet z rakiem narządów płciowych nowotwory jajnika i piersi stanowią najczęstsze przyczyny neurologicznych zespołów paranowotworowych [Michalak S. 2008, Michalak S. 2008, Michalak S. 2006].

1.4.2.1 Patogeneza neurologicznych zespołów paranowotworowych

Poprzez lata badań nad przeciwciałami onkoneuronalnymi pojawiało się wiele hipotez, próbujących wyjaśnić rozwój neurologicznych zespołów paranowotworowych, takich jak: niszczący wpływ „toksyn”, wydzielanych przez nowotwór, na układ nerwowy czy też konkurencja pomiędzy komórkami nowotworowymi a komórkami układu nerwowego. Współcześnie, najbardziej prawdopodobną hipotezą rozwoju PSN jest komórkowa i humoralna reakcja immunologiczna, związana z odpowiedzią, spowodowaną przez antygeny zgodności tkankowej klasy MHC I i II, uczestniczące w prezentowaniu antygenów limfocytom T, które następnie migrują przez barierę krew-mózg do przestrzeni okołonaczyniowej, pobudzając produkcję limfokin

i przeciwciał przez limfocyty B. Wiele zespołów paranowotworowych jest związanych z wytwarzaniem przeciwciał, skierowanych przeciwko antygenom, występujących na powierzchni komórek nowotworów, jak i w tkankach ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego, złączach nerwowo - mięśniowych lub mięśniach szkieletowych, powodując odpowiedź immunologiczną organizmu przeciwko temu antygenowi. Antygeny, występujące na powierzchni komórek układu nerwowego i komórek nowotworu złośliwego, nazywane są antygenami onkoneuronalnymi. Ich obecność jednak nie zawsze jest związana z występującym zespołem paranowotworowym i nie musi prowadzić do uszkodzenia układu nerwowego. Występowanie przeciwciał onkoneuronalnych nie zawsze związane jest z chorobą nowotworową, a może być skutkiem zaburzeń metabolicznych, działania toksyn czy też chorób wirusowych, powodując rozwój tych zespołów.

Odpowiedź immunologiczna, wynikająca z przeprowadzonych badań neuropatologicznych, polega na okołonaczyniowych naciekach limfocytarnych [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012]

Przyjęta hipoteza mówi, iż układ immunologiczny zostaje pobudzony poprzez antygeny komórek nowotworowych, powodując zwiększenie przepuszczalności bariery krew- mózg, a tym samym, nie tylko ogranicza rozwój nowotworu, ale także powoduje uszkodzenie układu nerwowego. Komórki immunokompetentne przechodzą do układu nerwowego i poprzez działanie cytokin, zlokalizowanych w komórkach nerwowych, budujących barierę krew-mózg, powodują nacieki z cytotoksycznych limfocytów T i prowadzą do niszczenia neuronów [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 ,

Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012]. U osób chorujących na neurologiczne zespoły paranowotworowe, zarówno limfocyty Tc jak i przeciwciała onkoneuronalne wykrywa się w surowicy krwi oraz w płynie mózgowo-rdzeniowym, gdzie może dochodzić do ich miejscowej syntezy. Uważa się nawet, że limfocyty T cytotoksyczne mają większy wpływ na neurodestrukcję niż same przeciwciała onkoneuronalne, które są tylko produktem, wytwarzanym przez komórki nowotworowe, a nie bezpośrednią przyczyną neurologicznych zespołów paranowotworowych [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Obecność przeciwciał onkoneuronalnych wiąże się z dużym prawdopodobieństwem występowania choroby nowotworowej, przez co stały się one ważnym markerem wczesnego rozpoznania konkretnego nowotworu złośliwego. Mogą również ułatwić klasyfikację konkretnych objawów neurologicznych do określonych zespołów paranowotworowych. Trzeba jednak pamiętać, że ich wykrycie nie jest jednoznaczne z rozpoznaniem choroby nowotworowej, bowiem w części przypadków PSN nie występują przeciwciała onkoneuronalne [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Wyróżnia się dwie grupy przeciwciał: częściowo scharakteryzowanych anty-Tr, anty-NMDA oraz grupę przeciwciał dokładnie określonych czyli anty-Hu, anty-Yo, anty-Ri, anty-Ma, anty-CV2, anty-amfifizyna. W neurologicznych zespołach paranowotworowych oprócz wyżej wymienionych przeciwciał występują też przeciwciała antyneuronalne: anty-mielina, anty-neuroendothelium, anty-MAG, anty-GAD. Istotne jest to, iż obecność niektórych przeciwciał onkoneuronalnych wiąże się

z lepszym rokowaniem dla chorego. U części chorych, mimo objawów zespołów paranowotworowych zarówno we krwi, jak i w płynie mózgowo-rdzeniowym, nie występują wyżej omawiane przeciwciała, co może zaprzeczać teorii immunologicznej [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

1.4.2.2 Rozpoznawanie i klasyfikacja neurologicznych zespołów paranowotworowych.

Rozpoznanie zespołów paranowotworowych opiera się głównie na podstawie klinicznych objawów i lokalizacji zajętych przez proces paranowotworowy struktur. Najczęściej dochodzi do uszkodzenia mózdzku, układu limbicznego, pnia mózgu, neuronów grzbietowych czy synaps nerwowo-mięśniowych. Można je podzielić na rozpoznanie pewne i możliwe oraz na zespół paranowotworowy klasyczny, nieklasyczny, nowy czy też zespół neurologiczny klasyczny lub nieklasyczny [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

W 2004 r. zostały opublikowane kryteria diagnostyczne neurologicznych zespołów paranowotworowych [tabela 7]. Algorytm postępowania w określonych przypadkach zaproponowany został przez Grausa i wsp. w 2004 roku, jak również ustalono podział zespołów paranowotworowych na klasyczne i nieklasyczne [tabela 7, 8, rycina 5].

Tabela 7. Kryteria diagnostyczne neurologicznych zespołów paranowotworowych
[Graus F.]

Rozpoznanie pewne	Rozpoznanie możliwe
<p>Typowy dla zespołów paranowotworowych (klasyczny) zespół neurologiczny i nowotwór rozpoznany w ciągu 5 lat</p> <p>Nietypowy zespół neurologiczny, który się wycofuje lub następuje poprawa po leczeniu nowotworu bez jednoczesnego zastosowania immunoterapii, z wykluczeniem podejrzenia samoistnej remisji guza</p> <p>Nietypowy zespół neurologiczny z określeniem (lub bez) obecności przeciwciał onkoneuronalnych i rozpoznaniem nowotworu w ciągu 5 lat</p> <p>Zespół neurologiczny (typowy lub nietypowy) z dokładnie określonymi przeciwciałami onkoneuronalnymi (anty-Hu, -Yo, -CV2, -Ri, -Ma i -amfifizyna), ale bez obecności nowotworu</p>	<p>Typowy zespół neurologiczny bez wykrytego nowotworu i przeciwciał onkoneuronalnych, ale zagrożony wysokim ryzykiem wystąpienia nowotworu</p> <p>Zespół neurologiczny (typowy lub nietypowy) z jedynie częściowo scharakteryzowanymi przeciwciałami onkoneuronalnymi i bez nowotworu</p> <p>Nietypowy zespół neurologiczny bez obecności przeciwciał i nowotwór rozpoznany w ciągu 2 lat</p>

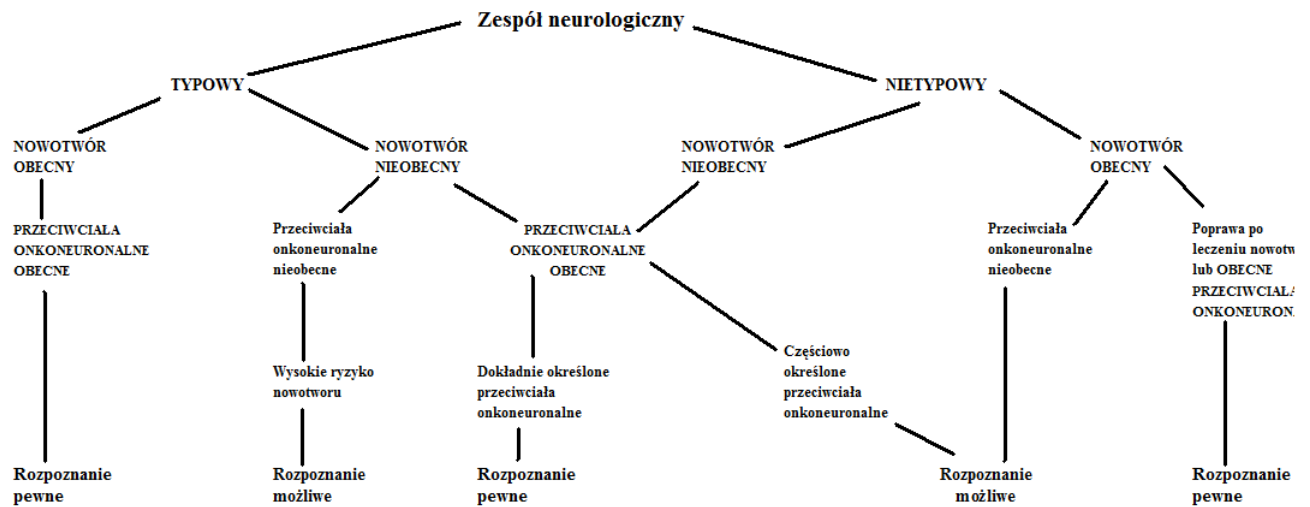
Tabela 8. Podział zespołów paranowotworowych na klasyczne i nieklasyczne

[Graus F. 2004]

Klasyczne neurologiczne zespoły paranowotworowe	Nieklasyczne neurologiczne zespoły paranowotworowe
zapalenie układu limbicznego	retinopatia paranowotworowa związana z rakiem bądź z czerniakiem
paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku	podostra martwicza mielopatia
zapalenie pnia mózgu – RAZ KLAS/ NIEKLAS	choroba neuronu ruchowego
zapalenie mózgu i rdzenia	neuropatie demielinizacyjne
opsoklonie/mioklonie	neuropatie z utratą aksonów
przewlekła rzekoma niedrożność żołądkowo-jelitowa	neuromiotonia nabyta
podostrą neuropatię czuciową	zapalenie wielomięśniowe
zespół Lamberta-Eatona	zespół uogólnionej sztywności
zapalenie skórno-mięśniowe	zapalenie nerwu wzrokowego
	ostra neuropatia ruchowo-czuciowa
	podostra/przewlekła neuropatia ruchowo-czuciowa
	neuropatia z paraproteinemią
	neuropatia z objawami zapalenia naczyń
	miastenia
	ostra martwicza miopatia

Rycina 5. Kryteria diagnostyczne rozpoznania PSN wg Grausa i wsp. z 2004 r.

[Grauss i wsp. z 2004]



1.4.2.3 Diagnostyka neurologicznych zespołów paranowotworowych

Diagnostyka PSN powinna opierać się na rozpoznaniu neurologicznych objawów klinicznych oraz obecności przeciwciał onkoneuronalnych u pacjentki. Może to być jednak utrudnione ze względu na występowanie różnych typów przeciwciał onkoneuronalnych: określonych, antyneuronalnych czy niespecyficznych. Podstawową metodą w oznaczaniu przeciwciał onkoneuronalnych jest immunofluorescencja pośrednia bądź immunohistochemia. Konieczne jest potwierdzenie ich obecności za pomocą techniki *Western blotting*, testu immunoenzymosorbcyjny (ELISA - *enzyme-linked immunosorbent assay test*) bądź badania radioimmunologicznego (RIA - *radioimmunoassay*). Najbardziej istotne jest

zidentyfikowanie dokładnie określonych przeciwciał onkoneuronalnych, skierowanych przeciwko znanym antygenom. Przeciwciała onkoneuronalne są wysoko specyficzne, bo aż w 90% są związane z konkretnymi zaburzeniami neurologicznymi. Niestety prawie 30% chorych na PSN nie posiada w surowicy krwi przeciwciał onkoneuronalnych, a u 5-10% występują jedynie niescharakteryzowane przeciwciała onkoneuronalne. [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012]

1.4.2.4 Charakterystyka przeciwciał onkoneuronalnych

Croft i Wilkinson w 1956 roku po raz pierwszy opisali obecność przeciwciał onkoneuronalnych u chorego z rakiem owsianokomórkowym z czuciową neuropatią. Przeciwciała, których częstość występowania powiązana jest z określonymi zespołami paranowotworowymi, nazwano grupą przeciwciał onkoneuronalnych dokładnie określonych. Do grupy tej należą przeciwciała: anty-Yo, anty-Hu, anty-CV2, anty-Ma, anty-Ri oraz przeciwciało przeciwko amfifizynie. Drugą grupę stanowią przeciwciała częściowo określone, dla których nie ma swoistych testów, mogących potwierdzić ich obecność. Są to m.in. przeciwciała: anty-Tr, anty-NMDA i inne, wyodrębnione w immunofluorescencji pośredniej [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Nomenklatura przeciwciał onkoneuronalnych ma dwojaki charakter. Pierwszy z nich opiera się na dwóch pierwszych literach nazwiska chorego, u którego po raz pierwszy je rozpoznano. Drugi rodzaj powstał na podstawie wzorca świecenia w mikroskopie świetlnym podczas testów immunofluorescencji pośredniej, wskazując

na lokalizację antygenów dla danego przeciwciała.

Ważną cechą przeciwciał onkoneuronalnych jest ich bardzo wysoka specyficzność. Prawie w 100% są związane z określonymi zaburzeniami neurologicznymi oraz ich czułość jest między 50 - 60% dla rozpoznania zespołów paranowotworowych w przebiegu choroby nowotworowej. U prawie 20% pacjentów, pomimo obecności przeciwciał onkoneuronalnych i objawów zespołów paranowotworowych, nie stwierdza się obecności choroby nowotworowej. U 1/3 pacjentów, pomimo objawów zespołu paranowotworowego, nie stwierdza się obecności przeciwciał onkoneuronalnych [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Od 1995 roku diagnostyka zespołów paranowotworowych opiera się na dwóch etapach: badaniu przesiewowym i badaniu potwierdzającym. Podstawowym badaniem jest identyfikacja obecności przeciwciał oraz ocena ilościowa w surowicy pacjenta, za pomocą testu immunoflorescencji pośredniej. Pozytywny wynik badania potwierdza się testem Western Blotting, mającym na celu identyfikację przeciwciał, a więc ocenę jakościową.

Wiadomo już, że obecność przeciwciał onkoneuronalnych jest istotna dla rozpoznania zespołu paranowotworowego, ale trwają badania nad ich funkcją w rokowaniu przebiegu choroby nowotworowej. Zauważono, że obecność określonego przeciwciała wiąże się z czasem przeżycia pacjenta ze złośliwą chorobą nowotworową. Pacjenci z przeciwciałem anti-Yo żyją ok. 13 miesięcy, anti-Hu 7-12 miesięcy, anti-Ri -69 miesięcy czy z przeciwciałem anti-Tr -113 miesięcy. Podczas przeprowadzonych badań prospektywnych zauważono, iż wzrost stężenia przeciwciała anti-Ri wyprzedzał nawrót choroby nowotworowej, który był potwierdzony badaniem

PET [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Przeciwciała anti-Hu – ANNA-1 reagują z jądrami neutronów, a w badaniu Western Blotting wiążą białka o masie 35-40kDa, które to wiążą RNA i występują w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym. U ludzi występuje kilka rodzajów tego białka – HuD, HuC, Hel-N1. Przeciwciała anti-Hu są identyczne jak przeciwciała Elav, występujące u muszki owocowej, gdzie związane są z rozwojem układu nerwowego. Często ich obecność możemy stwierdzić u chorych z neuropatią czuciową, paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku czy zapaleniem układu limbicznego. Przeciwciała te występują w 8-90% u chorych z nowotworem złośliwym, najczęściej w drobno-komórkowym raku płuc, nerwiakiem zarodkowym, oraz sporadycznie w raku prostaty, nasieniaku czy w raku niedrobno-komórkowym płuc. U 2 % pacjentów z objawami neurologicznymi zespołu paranowotworowego nie rozwinęła się choroba nowotworowa, pomimo obecności przeciwciała anti-Hu.

Przeciwciała anti-Cv2 – anti-CRMP5 reagują z białkiem o masie 66kDa i są związane z reakcją immunofluorescencji pośredniej w oligodendrocytach w mózdzku. Przeciwciała te związane są z rozwojem układu nerwowego. Można je wykryć u osób z paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku, zapaleniem mózgu i rdzenia kręgowego, zapaleniem układu limbicznego czy w zespole Lamberta-Eatona. Najczęściej wykrywalne są w raku drobno-komórkowym płuc, grasiczaku i w mięsaku macicy [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Przeciwciała anti-Yo – PCA-1 reagują z białkami o masie 34 kDa oraz 62 kDa,

wyzolowanymi z komórek Purkinjego. Przeciwciała te są odpowiedzialne za gruboziarnistą reakcję z cytoplazmą komórek Purkinjego, z aksonami i dendrytami. Ich obecność jest związana z występowaniem paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku. W raku jajnika i piersi, gdzie występuje przeciwciało anti-Yo, w 50% objawy mózdzkowe wyprzedzają rozpoznanie choroby nowotworowej. Pacjenci, u których stwierdzono obecność tego przeciwciała w 50%, umierają z powodu choroby nowotworowej a w 30% z powodu narastających objawów neurologicznych zespołów paranowotworowych. Według najnowszych badań, u kobiet z rakiem jajnika i współistnieniem przeciwciał anti-Yo, średni czas przeżycia wynosi 22 m-c [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Przeciwciała anti- Ri – ANNA-2 są odpowiedzialne za ziarnistą reakcję z jądrami neuronów ośrodkowego układu nerwowego, a konkretnie, za reakcje zachodzące w mózdzku. W badaniu *Western blotting* reagują z białkami o masie 55kDa i 80kDa (białka NOVA1, NOVA2 wiążące RNA) i są związane z występowaniem zespołu opsoklonii / mioklonii, paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku, rakiem piersi i drobno-komórkowym płuc [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Przeciwciała anti-Ma i anti-Ta wchodzi w reakcję z białkami jądra komórkowego neuronów (MA2/Ta o masie 41,5 kDa - PNMA2, a Ma1 o masie 40 kDa - PNMA1) w mózgu i mózdzku. Są obecne u chorych z zapaleniem mózgu i pnia mózgu oraz w raku jąder [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Przeciwciała przeciw anty-amfifizynie, w badaniu *Western blotting*, reaguje z białkami o masie 128 kDa w pęcherzykach synaptycznych zakończeń presynaptycznych mózdzku. Występuje u pacjentów z zespołem sztywnego człowieka w raku drobnokomórkowym płuc i w raku jajnika [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Przeciwciała anty-Tr są odpowiedzialne za reakcję z cytoplazmą komórek Purkinjego oraz częściowo dendrytów i aksonów. Ich obecność nie jest, niestety, potwierdzana w badaniu *Western blotting*. Przeciwciała to związane jest z występowaniem paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku, chorobą Hodgkina.

Przeciwciała anty-NMDA reaguje z podjednostkami NR1, Nr2A, NR2B receptora NMDA powodując reakcję immunohistochemiczną. Test potwierdzający ich obecność, opiera się na badaniu RIA. Występowanie tych przeciwciał związane jest w 65% z występowaniem potworniaka jajnika oraz z zapaleniem układu limbicznego, który dotyczy młodych kobiet z nietypowymi objawami, takimi jak: bóle głowy, dreszcze i objawy grypowe. W zaawansowanej postaci dominują objawy psychotyczne, dyskinezy, hipowentylacja, wahania ciśnienia tętniczego, arytmie, hipertermia.

W dotychczas prowadzonych badaniach nie zwracano uwagi na określenie miana przeciwciał onkoneuronalnych po zakończonym leczeniu onkologicznym u pacjentek z rakiem endometrium bądź rakiem jajnika, na co chciałabym zwrócić uwagę w mojej pracy.

1.4.2.5 Charakterystyka paranowotworowych zespołów neurologicznych

Paranowotworowe zespoły neurologiczne występują przed lub w przebiegu nowotworu i nie są związane z rozrostem nowotworu, przerzutami czy jego toksycznością. Zespoły te można zauważyć u 1 % chorych nowotworowych, ale znacznie częściej występują w przebiegu niektórych nowotworów jak np. w raku drobno-komórkowym płuc czy grasiczaku. Do najczęściej występujących neurologicznych zespołów paranowotworowych zalicza się: zapalenie układu limbicznego, paranowotworowe zapalenie mózdzku, podostrą neuropatię czuciową, zespół opsoklonie/mioklonie czy też paranowotworową neuromitonię.

W zapaleniu układu limbicznego zauważono, iż jego pierwsze objawy narastają wolno i wyprzedzają rozpoznanie choroby nowotworowej nawet o 3-5 m-cy. Do objawów zapalenia układu limbicznego zalicza się: zaburzenia pamięci krótkotrwałej, amnezję, dezorientację, psychozy, dystymię lub depresję oraz napady padaczkowe. W tym zespole najczęściej możemy wykryć obecność przeciwciał anti-Hu, anti-Ma2 i anti-CV2. Najczęściej, bo aż w 40%, współistniejącym nowotworem z zapaleniem układu limbicznego jest rak drobnokomórkowy płuc, w 20% raki jąder, w 8% raki sutka, a pozostały procent stanowią: ziarnica złośliwa, grasiczak i potworniaki.

Paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku występujące po 45 r.ż, niezwiązane z ataksją rdzeniowo-mózdkową, od razu powinno nasuwać podejrzenie zespołu neurologicznego paranowotworowego, współistniejącego z obecnością przeciwciał anti-Yo -w raku jajnika (najczęstszy zespół paranowotworowy w tym nowotworze) i piersi, anti-Hu -w raku płuc, anti-CV2/CRMP5 -w drobnokomórkowym raku płuc, anti-Tr -w ziarnicy złośliwej, anti-Ri u pacjentek z rakiem sutka, dróg rodnych, płuc

i pęcherza moczowego. Podłożem tego zespołu jest ekspresja białka CDR2 na powierzchni komórek nowotworowych, które w warunkach fizjologicznych występują we wnętrzu włókien Purkiniego mózdzku. Przeciwciała onkoneuronalne stymulują odpowiedź przeciwko antygenom mózdzku, powodują przewlekły stan zapalny, doprowadzając do degeneracji półkul i robaka mózdzku. Do najczęstszych objawów zaliczyć można ataksje tułowia, chodu, kończyn, oczopląs, nudności i zawroty głowy, zaburzenia równowagi, niezdolność ruchową które widoczne są ok. 6 miesięcy przed wystąpieniem objawów choroby.

Podostra neuropatia czuciowa wyprzedza o ponad 4 miesiące pierwsze objawy pierwotnego nowotworu. U pacjentów zauważyć można zaburzenia czucia, zmiany w wyglądzie, zaburzenia chodu, niedrożność jelit, niedociśnienie ortostatyczne. Najczęściej wykrywalnym przeciwciałem z podostrej neuropatii czuciowej jest przeciwciało anti-Hu i anti-amfifizyna. Zespół ten w 70-90% występuje w drobnokomórkowym raku płuc oraz w rakach piersi i jajnika [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Zespół opsoklonie / mioklonie, jako jeden z niewielu, występuje zarówno w przebiegu choroby nowotworowej u dzieci i dorosłych. Główne objawy to: zaburzenia gałkoruchowe, mioklonie i ataksja chodu. Najczęściej w przebiegu tego zespołu w surowicy chorych można wykryć przeciwciała anti - Ma2, anti-Hu występujące prawie u 50% chorych dzieci z rdzeniakiem zarodkowym, przeciwciała anti - amfifizynie i anti - Ri w raku piersi, pęcherza moczowego i drobnokomórkowym płuc [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Neuromiotonia paranowotworowa, jako jedyny zespół neurologiczny paranowotworowy, może wyprzedzić rozpoznanie choroby nowotworowej nawet o 4 lata. Głównymi objawami sugerującymi rozwój zespołu paranowotworowego są bolesne skurcze mięśni, zaburzenia czucia, nadpotliwość, sztywność i osłabienie siły mięśniowej. Spośród wszystkich przeciwciał onkoneuronalnych, w zespole tym najczęściej wykrywa się przeciwciała anti-Hu w raku drobnokomórkowym płuc.

Zespół Lamberta - Eatona najczęściej spośród zespołów miastenicznych, bo 50% związany jest z występowaniem choroby nowotworowej. Charakteryzuje się on nużliwością osłabieniem mięśni kończyn dolnych, układu oddechowego i przepony, z objawami ze strony układu autonomicznego oraz arefleksji. Najczęściej współistnieje on z rakiem niedrobnokomórkowym płuc, rakiem jajnika i piersi. Najczęściej wykrywalnymi przeciwciałami onkoneuronalnymi są przeciwciała anti - Hu i przeciwko kanałom wapniowym, blokując uwalnianie acetylocholiny [Kathryn 2009, Michalak S., 2008, Michalak S. 2015, Kozubski W. 2008, Krzakowski M.2002 , Rybacka - Mossakowska J.2015, Nowacki P.2008, Ejma M.2012].

Obecność określonych objawów neurologicznych u pacjentek z rakiem endometrium lub rakiem jajnika może pomóc w rozpoznaniu paranowotworowego zespołu neurologicznego. Ważne jest, by prawidłowo była prowadzona terapia nowotworu w przypadku rozpoznania zespołu paranowotworowego, dzięki czemu znacznie zmniejszą się objawy ze strony układu nerwowego. Bardzo ważnym elementem leczenia jest operacja usunięcia zmiany nowotworowej, choć nie jest to równoznaczne z ustąpieniem objawów klinicznych zespołu paranowotworowego. Dlatego warto zwrócić uwagę na rodzaj zastosowanego leczenia i jego wpływ na nasilenie objawów neurologicznych.

1.5 Immunologia nowotworów

Od XX wieku immunologia nowotworów stanowi zainteresowanie wielu badaczy. Początkowo uważano, że aktywacja układu immunologicznego, a w szczególności swoiste reakcje będą stanowiły istotną barierę przeciw komórkom nowotworowym. Zauważono, że istnieje zależność między funkcjonowaniem układu odpornościowego człowieka a jego wrażliwością na chorobę nowotworową. Hipotezę tę potwierdzał fakt, że znacznie częściej nowotwór rozwijał się u osób w immunosupresji. W drugiej połowie XX wieku Brunet i Thomas stworzyli teorię nadzoru immunologicznego nowotworu, która dziś odgrywa znaczącą rolę w zrozumieniu funkcjonowania układu odpornościowego w przebiegu choroby nowotworowej. Odpowiedź immunologiczna może mieć postać odpowiedzi limfocytów przeciw komórkom nowotworowym bądź też produkcją przeciwciał. Duże nadzieje pokłada się też w immunoterapii nowotworów, na podstawie odpowiedzi odpornościowej chorego przeciw komórkom nowotworowym.

1.5.1 Antygeny w nowotworach

Większość antygenów związanych z nowotworami (*ang. TAA tumor associated antigens*) powstaje spontanicznie, jednak niektóre z nich mogą występować fizjologicznie na prawidłowych komórkach organizmu ludzkiego. Antygeny nowotworowe rozpoznawane są poprzez przeciwciała, limfocyty T, oraz w rzadkich przypadkach przez oba mechanizmy jednocześnie. Najbardziej rozpowszechnionym mechanizmem jest prezentacja antygenów nowotworowych poprzez kompleks MHC I limfocytom T CD8+, jednakże niektóre nowotwory prezentują antygeny poprzez MHC klasy II limfocytom T CD4+. Wydawało się, iż istnieje zależność między brakiem lub zmniejszoną ilością kompleksów MHC kl I a złośliwością nowotworu,

która w ostatnich latach nie została ostatecznie potwierdzona. Owszem, ekspresja MHC na komórkach nowotworowych jest potrzebna do rozpoznania przez limfocyty T, jednakże jej brak powoduje aktywność komórek NK, dzięki czemu oba te procesy uzupełniają się w obronie przeciwnowotworowej [Thomas J.2006].

1.5.2 Odpowiedzi immunologiczne przeciwko komórkom nowotworowym

Odpowiedź przeciwnowotworowa jest zależna od dwóch mechanizmów: procesów komórkowych i produkcji przeciwciał. Obrona przeciwnowotworowa zależna jest od aktywności komórek NK, cytokin (IL, chemokin, TNF) oraz cytotoksyczności przeciwciał w odpowiedzi komórkowej i zależnej od układu dopełniacza, limfocytów Tc, makrofagów i neutrofilii. Oprócz odpowiedzi immunologicznej na komórki nowotworowe, organizm ludzki próbuje walczyć z rozprzestrzenianiem nowotworu poprzez gromadzenie fibroblastów wokół zmian, które mają stanowić swoistą barierę od otaczających go zdrowych tkanek [Thomas J.2006].

1.5.3 Patofizjologia ucieczki nowotworu spod nadzoru immunologicznego

Najważniejszym aspektem badań nad immunologią nowotworów jest mechanizm „kamufażu” komórek nowotworowych przed układem odpornościowym, którego podstawowym zjawiskiem jest selekcja klonów. Mechanizm ten polega na różnego rodzaju reakcjach zachodzących w organizmie. Jednym z nich jest niecałkowite zniszczenie komórek nowotworowych przez układ odpornościowy

i selektywne przeżycie komórek nowotworowych niewrażliwych na mechanizmy cytotoksyczne, np. poprzez zmniejszenie antygenowości. Komórki, które pozostaną, ulegają szybkiemu, niekontrolowanemu namnożeniu i rozprzestrzenieniu się na otaczające tkanki. Następną reakcją jest utrata zdolności cytotoksycznej przez limfocyty T czy też stopniowy wzrost stężenia antygenów komórek nowotworowych. Sytuacja taka ma miejsce, kiedy w środowisku okołonowotworowym występują wolne antygeny bądź fragmenty błon komórek nowotworowych [Thomas J.2006].

Immunomodulacja jest kolejnym sposobem ucieczki nowotworu przed odpowiedzią układu odpornościowego. Zjawisko to zachodzi, kiedy stopniowo zmniejsza się antygenowość komórek nowotworowych poprzez wytwarzane przez nie kompleksy antygen-przeciwciała na błonie komórkowej. Dzięki temu kompleksy przesuwają się na błonę komórki nowotworowej, koncentrując się w jednej okolicy, eliminują antygeny nowotworowe z jej powierzchni [Thomas J.2006].

W ostatnich latach zauważono, że produkcja niektórych przeciwciał paradoksalnie sprzyjała rozwojowi nowotworu. Przeciwciała te, wiążąc się z antygenami komórek nowotworowych, maskowały je poprzez niemożność działania innych reakcji, mając na celu eliminację nowotworu, np. cytotoksyczność odpowiedzi zależnej od limfocytów T czy też uwalnianie cytokin, które, zamiast eliminować komórki nowotworowe, powodowały ich namnażanie poprzez właściwości wzrostowe.

Istotną rolę w samej ucieczce nowotworu przed układem odpornościowym pełni produkcja czynników supresyjnych, np. TGF-beta, PGE 2 czy IL-10. Wytwarzanie VEGF przez komórki nowotworowe powoduje zwiększoną angiogenezę, ale także zahamowanie przekształcania się komórek dendrytycznych z prekursorami. Ekspresja CD95L, produkcja 2,3-dioksygenazy indolaminy indukuje apoptozę

limfocytów bądź też zahamowuje ich aktywację. U pacjentów onkologicznych osłabiona jest odpowiedź typu komórkowego, w szczególności poprzez limfocyty T CD8⁺ i cząsteczkę CTLA-3, która hamuje odpowiedź na autoantygeny i antygeny obcego pochodzenia. W otoczeniu guza CTLA-3, poprzez podniesienie progu stymulacji i hamowanie proliferacji, zmniejsza aktywność limfocytów T, a tym samym ułatwia rozprzestrzenienie się nowotworu [Thomas J.2006].

2. CEL PRACY

Celem pracy było:

1. Określenie związku pomiędzy rakiem narządów płciowych kobiecych i metodą ich leczenia a obecnością przeciwciał przeciwko układowi nerwowemu
2. Zbadanie zależności między czasem przeżycia chorych z nowotworem złośliwym a rodzajem autoprzeciwciał

Cele pracy były realizowane poprzez:

- analizę retrospektywną obecności przeciwciał onkoneuronalnych określonych i częściowo scharakteryzowanych* u pacjentek poddanych kompletnemu leczeniu i wyłącznie leczeniu chemioterapeutycznemu z rakami endometrium i rakami jajnika,
- określenie korelacji między występowaniem przeciwciał antyneuronalnych i onkoneuronalnych a czasem przeżycia chorych,
- wykazanie istnienia lub braku zależności pomiędzy obecnością przeciwciał przeciwko układowi nerwowemu u chorych z rakiem jajnika i endometrium,
- wykazanie istnienia lub braku zależności pomiędzy obecnością przeciwciał przeciwko układowi nerwowemu a złośliwością nowotworu u chorych z rakiem jajnika i endometrium,

Opracowanie powyższych założeń ma określić, czy układ immunologiczny jest elementem sygnalizującym wystąpienie nowotworu narządów płciowych kobiety i czy może stanowić element obrony przeciwnowotworowej

* przeciwciała onkoneuronalne określone: anti-Hu, anti-Yo, anti-Ri, anti-Ma, anti-CV2, anti-amfifizyna i przeciwciała onkoneuronalne częściowo scharakteryzowane: anti-Tr, anti-NMD

3. MATERIAŁ I METODOLOGIA BADAŃ

Badaniem objęto łącznie 138 pacjentek z nowotworami złośliwymi: 77 pacjentek z rakiem endometrium, 53 z rakiem jajnika oraz 8 pacjentek z innymi nowotworami złośliwymi: rakiem żołądka oraz jelita grubego, które rozpoznano w ostatecznym wyniku histopatologicznym, hospitalizowanych od 2004 roku w Klinice Ginekologii Operacyjnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. 38 pacjentek z rozpoznaną chorobą nowotworową zmarło od czasu rozpoznania choroby do 2014 roku, kiedy ponownie przebadano pacjentki. Na badanie zgłosiło się 39 pacjentek z rozpoznaną chorobą nowotworową oraz 22 pacjentki z grupy kontrolnej, które wyraziły zgodę na udział w badaniu podczas pierwszego oznaczania przeciwciał i które ponownie wyraziły zgodę na badanie po zakończonym leczeniu onkologicznym. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Każda pacjentka, która zgłosiła się na kontrolę, została poddana badaniu ginekologicznemu, neurologicznemu i pobrano od niej krew w celu ponownego oznaczenia autoprzeciwciał. U każdej pacjentki przeprowadzono szczegółowy wywiad lekarski ze zwróceniem uwagi na problemy ginekologiczne i neurologiczne (dokładne informacje na temat cyklu miesięczkowego, okresu okołomenopauzalnego, chorób współistniejących i stale przyjmowanych leków).

Badania histopatologiczne wykonane zostały w Zakładzie Patomorfologii GPSK w Poznaniu, gdzie określono stopnie zaawansowania klinicznego choroby nowotworowej według kryteriów Międzynarodowej Federacji Ginekologów i Położników, a oznaczenie przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych zostało

wykonane w Zakładzie Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

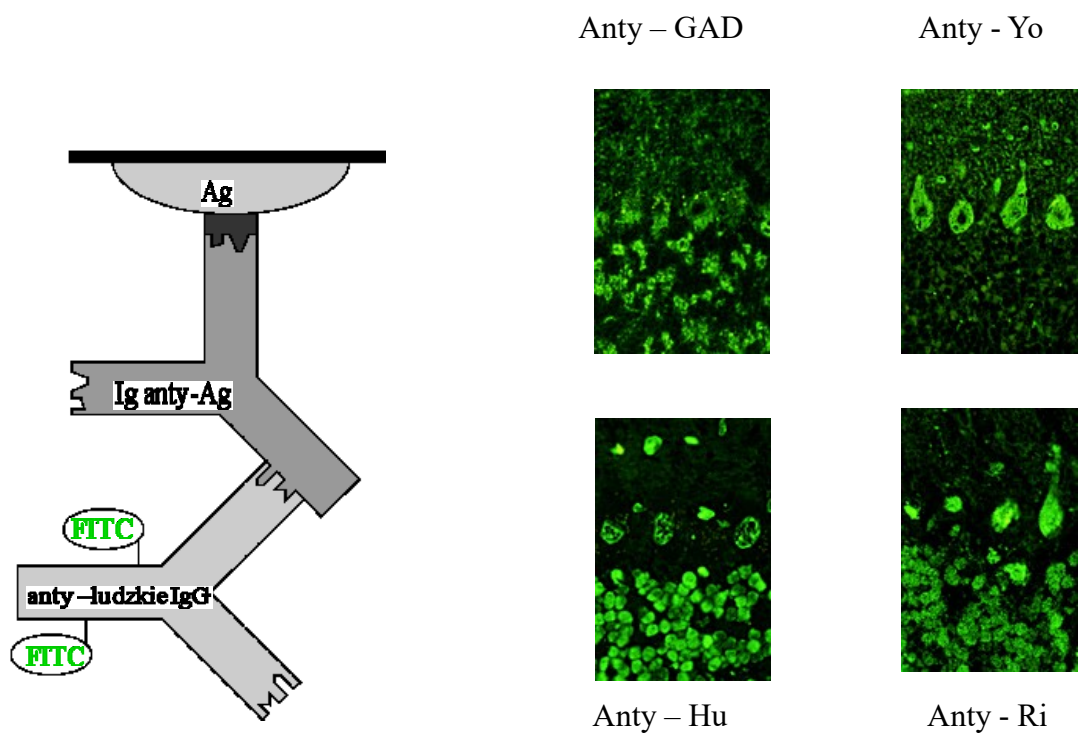
Początkowo dokonano analizy wyników badań histopatologicznych wraz z oceną stopnia zaawansowania raka oraz odpowiedzi immunologicznej organizmu poprzez analizę jakościową przeciwciał onkoneuronalnych częściowo scharakteryzowanych anty-Tr, anty-NMDA, przeciwciał dokładnie określonych czyli anty-Hu, anty-Yo, anty-Ri, anty-Ma, anty-CV2, anty-amfifizyna, oraz przeciwciał antyneuronalnych: anty-mielina, anty-neuroendothelium, anty-MAG, anty-GAD.

Diagnostyka opierała się na badaniu podstawowych parametrów krwi, badaniu ginekologicznym i ultrasonograficznym (dopochwowym) oraz oznaczeniu sposobem immunofluorescencji pośredniej autoprzeciwciał takich jak: anty-Yo, anty-Hu, anty-CV2, anty-Ma, antyRi , anty-amfifizyna i anty –Tr i innych, które mogą występować w raku endometrium i raku jajnika, a pozytywne wyniki zweryfikowano za pomocą testu *Line blot*, przy użyciu odczynników firmy EUROIMMUN. Każda kobieta była poddana kontrolnemu badaniu neurologicznemu w celu określenia zaburzeń neurologicznych (czucia, mowy, chodu, występowania objawów oponowych i innych).

Od każdej pacjentki pobrano próbkę krwi, która po skrzepnięciu została odwirowana w celu uzyskania surowicy, potrzebnej do wykonania badania w kierunku występowania przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych. Zanim próbki krwi poddano badaniu immunofluorescencji pośredniej, surowica została rozcieńczona buforem fosforanowym, a następnie oznakowana przez fluoresceinę w celu uzyskania odpowiedniego wzorca świecenia w mikroskopie fluorescencyjnym. Surowice, w których obecność przeciwciał została potwierdzona w teście immunofluorescencji pośredniej, zostały poddane kolejnej weryfikacji za pomocą testu *Line blot*, polegającym na badaniu próbki pod kątem konkretnych antygenów onkoneuronalnych

i antyneuronalnych, które umieszczone są na paskach błony nitrocelulozowej. W wyniku reakcji przeciwciała onkoneuronalnego ze specyficznym antygenem dochodziło do reakcji wiązania, a po zeskanowaniu pasków i ich komputerowej ocenie było widoczne jako intensywne wybarwienie w miejscu ich występowania [rycina 6].

Rycina 6. Metoda immunofluorescencji pośredniej i obrazy świecenia przeciwciał w teście Lineblot



IMMUNOFLUORESCENCJA

POŚREDNIA

LINE BLOT

Otrzymane wyniki badań zostały poddane ocenie statystycznej przy pomocy licencjonowanej wersji programu MedCalc 12.7.5.0. W celu weryfikacji hipotezy statystycznej, dokonano dokładnej analizy rozkładu badanych przeciwciał oraz ich częstości występowania w raku endometrium i raku jajnika w zależności od stopnia

nasilenia procesu nowotworowego, przeprowadzonego leczenia choroby oraz upływu lat od zakończenia leczenia onkologicznego. Normalność rozkładu zmiennych zbadano testem Kołmogorowa-Smirnoffa. Liczebność pacjentów w badanych podgrupach porównano przy pomocy testu t-studenta. Dane wyrażone w odsetkach badano testem chi-kwadrat.

W celu sprawdzenia istotności statystycznej użyto testu t-student dla zmiennych niepowiązanych, gdzie za poziom istotności statystycznej uznano $p \leq 0,05$. Ponadto obliczono ryzyko zgonu (*RR - Relative Risk*) dla chorych, u których występują przeciwciała i u których nie stwierdza się ich obecności.

4. WYNIKI

4.1. Charakterystyka opisowa pacjentek z rakiem endometrium

W tabeli 9 scharakteryzowano pacjentki z rakiem błony śluzowej macicy. Średnia wieku pacjentek w momencie rozpoznania choroby nowotworowej wynosiła 61 lat. U badanych kobiet pierwsza miesiączka wystąpiła między 9,5 a 16,5 rokiem życia, długość cyklu miesięczkowego wynosiła między 22 a 33 dni, a ostatnia miesiączka wystąpiła średnio w wieku 51 lat. Podczas włączania pacjentek do badania aż 31 z nich (ponad 81%) była po menopauzie, a ponad połowa urodziła przynajmniej jedno dziecko. Zaledwie 4 pacjentki przyjmowały hormonalną terapię zastępczą i tylko 3 pacjentki w przeszłości stosowały doustną antykoncepcję hormonalną.

Tabela 9. Charakterystyka opisowa pacjentek z rakiem endometrium po leczeniu onkologicznym oraz zmarłych pacjentek z rakiem endometrium

Parametr	Wartość
Wiek rozpoznania nowotworu (lata)*	61 ± 10
Data pierwszej miesiączki (lata)*	13 ± 3,5
Długość cyklu miesięczkowego (dni)*	28 ± 5
Odsetek pacjentek po menopauzie (N, %)	31/38, 81.5
Wiek wystąpienia menopauzy (lata)*	51 ± 4
Odsetek pacjentek po porodzie (N, %)	20/38, 52.6
Ilość porodów*	2 ± 1
Odsetek pacjentek przyjmujących HTZ (N, %)	4/38, 10.5
Odsetek pacjentek przyjmujących OC (N, %)	3/38, 7.9

*- wartość średnia oraz odchylenie standardowe (SD)

U prawie trzech czwartych pacjentek nowotwór złośliwy błony śluzowej macicy został wykryty w stopniu zaawansowania I – 24 (72,7 %), w stopniu II u 5 (15,2%) pacjentek, w stopniu III u 3 (9%) pacjentek i u jednej pacjentki w IV stopniu zaawansowania (3%) [tabela 10]. Statystyce poddano 33 pacjentki, u których określono stopień zaawansowania, u pozostałych 5 pacjentek stopień zaawansowania nie został podany w ostatecznym wyniku.

Tabela 10. Odsetek pacjentek z rakiem endometrium w zależności od stopnia zaawansowania nowotworu – stopnie zaawansowania wg FIGO

Parametr – FIGO (stopień)	Wartość N, %
I	24/33, 72,7
II	5/33, 15,2
III	3/33, 9,1
IV	1/33, 3,0

4.2. Charakterystyka opisowa pacjentek z rakiem jajnika

W tabeli 11 przedstawiono charakterystykę opisową pacjentek, u których rozpoznano nowotwór złośliwy jajnika. Średnia wieku pacjentek, u których rozpoznano raka jajnika, wynosiła 54 lata. U badanych pacjentek pierwsza miesiączka wystąpiła między 12,5 a 15,5 rokiem życia, długość cyklu miesięczkowego trwała od 26 do 30 dni, a ostatnia miesiączka wystąpiła średnio w wieku 53 lat. Spośród 38 pacjentek, poddanych badaniu w chwili rozpoznania nowotworu złośliwego jajnika, 22 pacjentki były po menopauzie. W wywiadzie położniczym prawie 80% pacjentek urodziło przynajmniej jedno dziecko. Średnia wartość Ca-125, oznaczona u pacjentek, wynosiła ponad 1600 U/ml.

Tabela 11 . Charakterystyka opisowa pacjentek z rakiem jajnika po leczeniu onkologicznym oraz oraz zmarłych pacjentek z rakiem jajnika

Parametr	Wartość
Wiek rozpoznania nowotworu (lata)*	54 ± 10
Data pierwszej miesiączki (lata)*	14 ± 1,5
Długość cyklu miesięczkowego (dni)*	28 ± 2
Odsetek pacjentek po menopauzie (N, %)	22, 58
Wiek wystąpienia menopauzy (lata)*	53 ± 4
Odsetek pacjentek po porodzie (N, %)	30/38, 79
Ilość porodów	2 ± 1
Odsetek pacjentek przyjmujących HTZ (N, %)	1/38
Odsetek pacjentek przyjmujących OC (N, %)	1/38
Wartość CA_125 (U/ml)*	1602 ± 304

*- wartość średnia oraz odchylenie standardowe (SD)

Wśród badanych pacjentek według kryteriów Międzynarodowej Federacji Ginekologów i według kryteriów Międzynarodowej Federacji Ginekologów i Położników, Ic stopień zaawansowania nowotworu złośliwego jajnika rozpoznano u 7 (18%) pacjentek, stopień II u 3 (7,8%) pacjentek, stopień III u 21 (55%) pacjentek, natomiast IV stopień u 7 (18%) pacjentek [tabela 12].

Tabela 12. Odsetek pacjentek z rakiem jajnika w zależności od stopnia zaawansowania nowotworu – stopnie zaawansowania wg FIGO

Parametr – FIGO (stopień)	Wartość N, %
I	7, 18,4
II	3, 7,9
III	21, 55,3
IV	7, 18,4

4.3. Charakterystyka autoprzeciwciał przed leczeniem onkologicznym

W tabeli 13 przedstawiono zestawienie przeciwciał występujących u pacjentek podczas rozpoznania złośliwej choroby nowotworowej. Uwagę zwraca fakt, że autoprzeciwciała w większości są przeciwciałami skierowanymi przeciwko układowi nerwowemu, co może tłumaczyć występowanie zespołów paranowotworowych u pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika i endometrium.

Tabela 13. Charakterystyka profilu autoprzeciwciał wykrywanych przy rozpoznaniu nowotworu narządów płciowych żeńskich

	Rak endometrium N=77	Rak jajnika N=53	Inne guzy N=8
Wszystkie badane Autoprzeciwciała	anty-Ma/Ta anty-CV2 anty-Tr anty-neuroendothelium anty-GFAP anty-gangliozydy anty-mielina anty-MAG anty-nukleosom	anty-amfifizyna anty-Ma/Ta anty-Hu anty-Yo anty-Tr anty-neuroendothelium anty-mielina anty-MAG anty-nukleosom	anty-amfifizyna anty-NMDA anty-mielina anty-nukleosom
Przeciwciała onkoneuronalne	anty-Ma/Ta anty-CV2 anty-Tr	anty-amfifizyna anty-Ma/Ta anty-Hu anty-Yo anty-Tr	anty-amfifizyna
Wszystkie przeciwciała przeciw antygenom układu nerwowego	anty-Ma/Ta anty-CV2 anty-Tr anty-neuroendothelium anty-GFAP anty-gangliozydy anty-mielina anty-MAG	anty-amfifizyna anty-Ma/Ta anty-Hu anty-Yo anty-Tr anty-neuroendothelium anty-mielina anty-MAG	anty-amfifizyna anty-NMDA anty-mielina
Przeciwciała przeciw antygenom ośrodkowego układu nerwowego	anty-CV2 anty-Tr anty-neuroendothelium anty-GFAP anty-gangliozydy	anty-amfifizyna anty-Ma/Ta anty-Hu anty-Yo anty-Tr anty-neuroendothelium	anty-amfifizyna anty-NMDA
Przeciwciała przeciw antygenom obwodowego układu nerwowego	anty-mielina anty-MAG	anty-mielina anty-MAG	anty-mielina
Przeciwciała przeciw antygenom nukleosomu	anty-nukleosom	anty-nukleosom	anty-nukleosom

U pacjentek z nowotworami złośliwymi, które miały oznaczone przeciwciała przed leczeniem, zauważono znaczącą różnicę w występowaniu autoprzeciwciał. Istotnie statystycznie przeciwciała onkoneuronalne, przeciwciała przeciwko antygenom układu nerwowego i przeciwciała przeciwko ośrodkowemu układowi nerwowemu występują znacznie częściej u chorych na raka jajnika niż na raka endometrium [tabela 14].

Tabela 14. Częstość występowania autoprzeciwciał u pacjentek z nowotworami złośliwymi narządów płciowych żeńskich przed leczeniem onkologicznym

	Rak endometrium (E) N=77	Rak jajnika (J) N=53	Inne guzy (I) N=8	P
Wszystkie badane Autoprzeciwciała	23/77	24/53	4/8	E vs J - p = 0,094603 E vs I - p = 0,257598 J vs I - p = 1,000000
Przeciwciała onkoneuronalne	3/77	11/53	1/8	E vs J - p = 0,003322 E vs I - p = 0,331645 J vs I - p = 1,000000
Wszystkie przeciwciała przeciw antygenom układu nerwowego	15/77	22/53	4/8	E vs J - p = 0,009669 E vs I - p = 0,070384 J vs I - p = 0,713381
Przeciwciała przeciw antygenom układu ośrodkowego nerwowego	6/77	14/53	2/8	E vs J - p = 0,005795 E vs I - p = 0,162993 J vs I - p = 1,000000
Przeciwciała przeciw antygenom układu obwodowego nerwowego	10/77	11/53	2/8	E vs J - p = 0,332134 E vs I - p = 0,314397 J vs I - p = 0,674963
Przeciwciała przeciw antygenom nukleosomu	7/77	2/53	2/8	E vs J - p = 0,308558 E vs I - p = 0,199335 J vs I - p = 0,079758

* Fisher's exact test ; $p \leq 0,005$

Porównano zależność między częstością występowania autoprzeciwciał przy rozpoznaniu nowotworu złośliwego a ryzykiem zgonu. Przeciwciała przeciw antygenom ośrodkowego układu nerwowego występują częściej u chorych na inne guzy żeńskich narządów płciowych, które przeżyły czas obserwacji w porównaniu do chorych na raka endometrium [tabela 15].

Tabela 15. Zależności pomiędzy częstością występowania autoprzeciwciał wykrywanych przed leczeniem nowotworów złośliwych narządów płciowych żeńskich a ryzykiem zgonu

	Rak endometrium (E)		Rak jajnika (J)		Inne guzy (I)		P
	zgony (A) n=10	żywi (B) n = 67	zgony (A) n=28	żywi (B) n = 25	zgony (A) n = 1	żywi (B) n = 7	
Wszystkie badane Autoprzeciwciała	2/10	19/67	12/28	12/25	1/1	4/7	E (A) vs J(A) - p = 0,268498 E (A) vs I (A) - p = 0,272727 J (A) vs I (A) - p = 0,448276
	P = 0,718822		P = 1,000000		P = 1,000000		E (B) vs J (B) - p = 0,087870 E (B) vs I (B) - p = 0,193643 J (B) vs I (B) - p = 1,000000
Przeciwciała onkoneuronalne	0/10	3/67	7/28	4/25	1/1	0/7	E (A) vs J(A) - p = 0,156356 E (A) vs I (A) - p = 0,090909 J (A) vs I (A) - p = 0,275862
	P = 1,000000		P = 0,509056		P = 0,125000		E (B) vs J (B) - p = 0,083992 E (B) vs I (B) - p = 1,000000 J (B) vs I (B) - p = 0,552280
Wszystkie przeciwciała przeciw antygenom układu nerwowego	2/10	13/67	12/28	10/25	1/1	3/7	E (A) vs J(A) - p = 0,268498 E (A) vs I (A) - p = 0,272727 J (A) vs I (A) - p = 0,448276
	P = 1,000000		P = 1,000000		P = 1,000000		E (B) vs J (B) - p = 0,058357 E (B) vs I (B) - p = 0,167509 J (B) vs I (B) - p = 1,000000
Przeciwciała przeciw antygenom układu ośrodkowego nerwowego	0/10	6/67	8/28	6/25	1/1	3/7	E (A) vs J(A) - p = 0,082130 E (A) vs I (A) - p = 0,090909 J (A) vs I (A) - p = 0,310345
	P = 1,000000		P = 0,763239		P = 1,000000		E (B) vs J (B) - p = 0,080610 E (B) vs I (B) - p = 0,034810 J (B) vs I (B) - p = 0,370179
Przeciwciała przeciw antygenom układu obwodowego nerwowego	2/10	7/67	5/28	6/25	0/1	2/7	E (A) vs J(A) - p = 1,000000 E (A) vs I (A) - p = 1,000000 J (A) vs I (A) - p = 1,000000
	P = 0,330650		P = 0,737402		P = 1,000000		E (B) vs J (B) - p = 0,174428 E (B) vs I (B) - p = 0,200046 J (B) vs I (B) - p = 1,000000
Przeciwciała przeciw antygenom nukleosomu	0/10	6/67	0/28	2/25	0/2	2/7	E (A) vs J(A) - p = 1,000000 E (A) vs I (A) - p = 1,000000 J (A) vs I (A) - p = 1,000000
	P = 1,000000		P = 0,217707		P = 1,000000		E (B) vs J (B) - p = 1,000000 E (B) vs I (B) - p = 0,163327 J (B) vs I (B) - p = 0,200501

* Fisher's exact test ; $p \leq 0,005$

W tabeli 16 przedstawiono rozkład autoprzeciwciał przed zastosowanym leczeniem onkologicznym u pacjentek z rakiem jajnika i rakiem endometrium. W raku endometrium występują przeciwciała: anty-MAG, anty-neuroendotelium, anty-mielina, anty- Ma-Ta/CV2, anty-Tr i ANA, natomiast w raku jajnika, oprócz tych samych co w raku endometrium, występują dodatkowo przeciwciała anty-Yo i anty-amfifizyna, natomiast nie stwierdza się obecności przeciwciał przeciwko antygenom nukleosomu. W badanej grupie dodatkowo, po ostatecznym wyniku badania histopatologicznego, rozpoznano raka jelita grubego lub zmiany niezłośliwe. Ponadto u tych pacjentek stwierdzono występowanie przeciwciał przeciwko mielinie i neuroendotelium [tabela 16].

Tabela 16. Rozkład występowania przeciwciał u pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika i endometrium, które ponownie zgłosiły się na badanie przed zastosowaniem leczenia onkologicznego oraz zmarłych pacjentek

Przeciwciało	Grupa badawcza	Rak endometrium	Rak jajnika	Inne
		/N-38/	/N-38/	/N-3/
MAG		5,3%	2,6%	0%
Neuroendotelium		2,6%	2,6%	2,6%
Mielina		5,3 %	15,8%	2,6%
Yo		0%	2,6%	0%
Ma-Ta/CV2		2,6%	2,6%	0%
Amfifizyna		0%	18,4%	0%
NMDA		0%	0%	0%
Tr		2,6%	2,6%	0%
ANA		10,5%	0%	0%

Zwraca uwagę fakt serokonwersji przeciwciał po zakończonym leczeniu onkologicznym u pacjentek z rakiem jajnika i pacjentek z rakiem błony śluzowej macicy. U pacjentek z rakiem endometrium, po zakończonym leczeniu, nie wykryto przeciwciał anty - MAG, anty - Ma - Ta / CV2 i anty - Tr, natomiast pojawiły się przeciwciała, skierowane przeciwko przeciwciałom z klasy: GFAP, Gad, komórek Purkinjego, mózdzku i mitochondriom. Przed i po leczeniu onkologicznym u pacjentek z rakiem endometrium utrzymały się przeciwciała anty - neuroendotelium, anty – mielina i przeciwko antygenom nukleosomu.

Ze względu na duży odsetek zgonów pacjentek z rakiem jajnika, na badanie kontrolne zgłosiło się zaledwie 9 pacjentek, u których również wystąpiła serokonwersja przeciwciał: zanikły przeciwciała anty-MAG, anty-Tr, anty-Yo, anty-amfifizyna. Utrzymała się obecność przeciwciał przeciwko neuroendotelium i mielinie oraz pojawiły się nowe przeciwciała przeciwko antygenom nukleosomu i przeciwko komórkom mózdzku [tabela 17].

Tabela 17. Rozkład występowania przeciwciał w poszczególnych nowotworach złośliwych u pacjentek, które zgłosiły się na badanie kontrolne po zastosowaniu leczenia onkologicznego

Grupa badawcza	Rak endometrium	Rak jajnika	Inne
Przeciwciało	/N-28/	/N-9/	/N-2/
ANA (N,%)	42,8%	55,5%	0%
Mielina (N,%)	14,3%	22,2%	0%
Anty-GFAP (N,%)	7,14%	0%	0%
Anty-Gad (N,%)	3,6%	0%	0%
MAG (N,%)	0%	0%	0%
Neuroendotelium (N,%)	28,6%	22,2%	0%
Komórki Purkinjego	7,14%	0%	0%
Mitochondria	7,14%	0%	0%
Mózzek	7,14%	7,14%	0%

U pacjentek w grupie kontrolnej ze zmianami łagodnymi jajnika lub przerostem endometrium bez atypii stwierdzono występowanie przeciwciał przeciwko neuroendotelium, NMDA, mielinie i antygenom nukleosomu. [tabela 18].

Tabela. 18. Rozkład występowania przeciwciał w grupie pacjentek bez zmian złośliwych w endometrium lub jajniku

Przeciwciało	Grupa kontrolna (22 pacjentki) [N, %]
MAG	0 , 0
Neuroendotelium	2 , 9
Yo	0 , 0
Ma-Ta/CV2	0 , 0
Amfizyna	0 , 0
NMDA	2 , 9
Tr	0 , 0
ANA	4 , 18
Mielina	4 , 18
Anty-GFAP	0 , 0
Anty-Gad	0 , 0

U pacjentek, które zmarły z powodu nowotworu złośliwego endometrium, w stopniu w stopniu II, IIIa i IV wykryto występowanie przeciwciał z grupy MAG, mielina i ANA, w pozostałych grupach pacjentek nie stwierdzono występowania przeciwciał. U dwóch pacjentek seropozytywnych nie został określony stopień zaawansowania choroby, dlatego nie zostały one uwzględnione w poniższej tabeli [tabela 19].

Tabela 19. Rozkład występowania przeciwciał w grupie oraz zmarłych pacjentek

Przeciwciało	N	MAG	Endotelium	Mielina	Yo	Ma/Ta - CV2	Amfizyna	NMDA	Tr	ANA
Ia	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IIb	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1
III	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IIIa	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0
IV	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

z rakiem endometrium, w zależności od stopnia wg FIGO

W grupie dziesięciu pacjentek, które zmarły na raka endometrium, tylko u trzech we krwi stwierdzono obecność autoprzeciwciał i należały do nich: anti-mielina oraz przeciwciała przeciwko antygenom nukleosomu. Warto zauważyć, że przeciwciała te występowały tylko w stopniu zaawansowania IIb i IIIa. W stopniu IIb wykryto obecność przeciwciał przeciw mielinie, a w zaawansowaniu IIIa przeciwciała ANA. U pozostałych pacjentek nie wykryto przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych [tabela 20].

Tabela 20. Zaawansowanie raka błony śluzowej macicy wg FIGO u oraz zmarłych seropozytywnych pacjentekw którejkolwiek grupie przeciwciał

Przeciwciało	N	%	MAG	Endotelium	Mielina	Yo	Ma/Ta- CV2	Amfizyna	NMDA	Tr	ANA
STAGING	/3/										
IIb	1/3	33.3	0	0	0	0	0	0	0	0	1
IIIa	2/3	66.6	1	0	1	0	0	0	0	0	0

W grupie dziesięciu pacjentek z rakiem endometrium aż u siedmiu pacjentek nie stwierdzono obecności żadnego typu autooprzeciwciał, bez względu na stopień zaawansowania choroby nowotworu złośliwego endometrium. Pozostałe dwie pacjentki nie zostały uwzględnione w statystyce ze względu na brak informacji o stopniu zaawansowania choroby nowotworowej [tabela 21].

Tabela 21. Zaawansowanie raka błony śluzowej macicy wg FIGO u oraz zmarłych seronegatywnych pacjentek

Przeciwciało	N	%	Endotelium	Mielina	Yo	Ma/Ta -	Amfizyna	NMDA	Tr	ANA
STAGING	/16/					CV2				
Ia	1	14.3	Pacjentki seronegatywne we wszystkich klasach przeciwciał							
IIb	2	28.6								
III	1	14.3								
IV	1	14.3								

U 29 - ciu zmarłych pacjentek z rakiem jajnika, występowały przeciwciała w stopniu zaawansowania II przeciwko endotelium i mielinie, w stopniu III przeciwko amfizynie, MAG, mielinie, Yo; a w IV stopniu zaawansowania choroby nowotworowej przeciwciała przeciwko endotelium, mielinie, Ma - Ta / CV2 i Tr [tabela 22].

Tabela 22. Rozkład występowania przeciwciał u pacjentek w raku jajnika, które zmarły w zależności od stopnia FIGO

Przeciwciało STAGING	N /29/	MAG	Endotelium	Mielina	Yo	Ma/Ta - CV2	Amfizyna	NMDA	Tr	ANA
II	1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
IIb	1	0/1	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
IIc	1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
III	5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5
IIIa	1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
IIIb	4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	0/4	0/4	0/4
IIIc	9	1/9	0/9	2/9	1/9	0/3	2/9	0/9	0/9	0/9
IV	7	0/7	1/7	1/7	0/7	1/7	0/7	0/7	1/7	0/7

W nowotworze złośliwym jajnika aż u 13 zmarłych pacjentek, z 29 chorych, w surowicy krwi wykryto obecność autoprzeciwciał. W stopniu zaawansowania II przeciwciała przeciwko mielinie, w stopniu III przeciwciała anty-MAG, anty-mielina, anty-Yo i anty-amfizyna, a w stopniu IV przeciwciała przeciwko endotelium, mielinie, Ma/Ta-CV2 i Tr. Warto zauważyć, że im bardziej złośliwy nowotwór jajnika, tym więcej przeciwciał wykrywanych jest w surowicy krwi [tabela 23].

Tabela 23. Zaawansowanie raka jajnika wg FIGO u zmarłych seropozytywnych pacjentek w którejkolwiek grupie przeciwciał

Przeciwciało STAGING	N /13/	%	MAG	Endotelium	Mielina	Yo	Ma/Ta- CV2	Amfizyna	NMDA	Tr	ANA
IIb	1/13	7.7	0/13	0/13	1/13	0/13	0/13	0/13	0/13	0/13	0/13
III	1/13	7.7	0/13	0/13	0/13	0/13	0/13	1/13	0/13	0/13	0/13
IIIb	2/13	15.4	0/13	0/13	0/13	0/13	0/13	2/13	0/13	0/13	0/13
IIIc	5/13	38.4	1/13	0/13	2/13	1/13	0/13	2/13	0/13	0/13	0/13
IV	4/13	30.8	0/1	1/13	1/13	0/1	1/13	0/13	0/13	1/13	0/13

W nowotworze złośliwym jajnika aż u 16 zmarłych pacjentek, spośród 29 chorych, nie wykryto obecności autoprzeciwciał, bez względu na stopień zaawansowania choroby nowotworowej [tabela 24].

Tabela 24. Zaawansowanie raka jajnika wg FIGO u zmarłych seronegatywnych pacjentek

Przeciwciało	N	%	Endotelium	Mielina	Yo	Ma/Ta	Amfizyna	NMDA	Tr	ANA
STAGING	/16/					- CV2				
II	1/16	6.25	Pacjentki seronegatywne we wszystkich klasach przeciwciał							
II	1/16	6.25								
III	4/16	25								
IIIa	1/16	6.25								
IIIb	2/16	12.5								
IIIc	4/16	25								
IV	3/16	18.75								

4.4. Charakterystyka ilościowa pacjentek z rakiem błony śluzowej macicy

U pacjentek seropozytywnych i seronegatywnych z rakiem endometrium przed leczeniem onkologicznym występowała istotna statystycznie różnica w wieku zachorowania: pacjentki z autoprzeciwciałami chorują w wieku 57 lat, a pacjentki bez autoprzeciwciał w wieku 62 lat. Dodatkowo istotny statystycznie jest Ia stopień zaawansowania nowotworu złośliwego endometrium, znacznie częściej wykrywalny

jest u pacjentek seropozytywnych niż seronegatywnych. Czynniki takie, jak wiek menopauzy, stosowanie HTZ czy OC, jak również pozostałe stopnie zaawansowania raka endometrium, nie są istotnie statystycznie dla pacjentek z lub bez autoprzeciwciał.

Taki rozkład autoprzeciwciał w stopniach zaawansowana nowotworu złośliwego błony śluzowej macicy może sugerować ochronny wpływ przeciwciał na rozwój nowotworu złośliwego [tabela 25].

Tabela 25. Zestawienie pacjentek z rakiem błony śluzowej macicy, seropozytywnych i seronegatywnych, przed zastosowaniem kompleksowego leczenia

Pacjentki z rakiem błony śluzowej macicy			
Parametr	Seropozytywne	Seronegatywne	p-value
N	13	25	NS**
Wiek (lata)	57 ± 8	62 ± 11	p<0.05**
Menopauza (lata)	50 ± 4	52 ± 3	NS**
Liczba pacjentek stosujących HTZ (N)	2/13	2/25	NS*
Liczba pacjentek stosujących OC (N)	1/13	2/25	NS*
Stopnie zaawansowania raka błony śluzowej macicy wg FIGO			
FIGO Ia	5/13	11/25	p<0.05**
FIGO Ib	5/13	4/25	NS*
FIGO II	1/13	3/25	NS*
FIGO IIb	1/13	1/25	NS*
FIGO IIc	1/13	1/25	NS*
FIGO III	brak pacjentek	1/25	-
FIGO IV	brak pacjentek	1/25	-

przeciwnowotworowego

* - test T-student ** - test Chi-kwadrat

U pacjentek chorych na raka endometrium o niskim stopniu zaawansowania (STAGING/FIGO) najczęściej występują przeciwciała przeciw antygenom obwodowego układu nerwowego. W obrębie pozostałych badanych grup przeciwciał nie zaobserwowano istotności statystycznej [tabela 26].

Tabela 26. Występowanie przeciwciał obwodowego układu nerwowego u pacjentek z rakiem błony śluzowej macicy w zależności od STAGINGU wg FIGO

Przeciwciała obwodowego układu nerwowego	STAGING w raku błony śluzowej macicy**										razem
	Ia	Ib	Ib2	Ic	II	IIc	III	IIIa	IIIb	IV	
Obecne	13	6	1	0	3	1	2	0	1	1	28 (87,5%)
Nieobecne	0	1	0	1	0	0	0	2	0	0	4 (12,5%)
Razem	13 (40,6%)	7 (21,9%)	1 (3,1%)	1 (3,1%)	3 (9,4%)	1 (3,1%)	2 (6,2%)	2 (6,2%)	1 (3,1%)	1 (3,1%)	32

** - test Chi-kwadrat – p=0.0041

Analizie poddano zależność między występowaniem przeciwciał po leczeniu onkologicznym a stopniem złośliwości raka endometrium (GRADING). Z przeprowadzonych badań wynika, że nie wykryto zależności pomiędzy występowaniem przeciwciał a stopniem złośliwości (GRADING) [tabele 27 - 32].

Tabela 27. Obecności autoprzeciwciał po leczeniu onkologicznym w zależności od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy

autoprzeciwciała	GRADING rak błony śluzowej macicy**			razem
	G1	G2	G3	
Nieobecne	11	7	1	19 (67,9%)
Obecne	6	1	2	9 (32,1%)
Razem	17 (60,7%)	8 (28,6%)	3 (10,7%)	28

** - test Chi-kwadrat – $p=0.2089$ – brak istotności statystycznej

Tabela 28. Zależność obecności przeciwciał onkoneuronalnych po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy

Przeciwciała onconeuralne	GRADING rak błony śluzowej macicy**			razem
	G1	G2	G3	
Nieobecne	16	7	3	26 (92,9%)
Obecne	1	1	0	2 (7,1%)
Razem	17 (60,7%)	8 (28,6%)	3 (10,7%)	28

** - test Chi-kwadrat – $p=0.7343$ – brak istotności statystycznej

Tabela 29. Zależność obecności przeciwciał antyneuronalnych po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy

Przeciwciała antyneuronalne	GRADING rak błony śluzowej macicy**			razem
	G1	G2	G3	
Nieobecne	13	6	2	21 (77,8%)
Obecne	4	1	1	6 (22,2%)
Razem	17 (63,0%)	7 (25,9%)	3 (11,1%)	27

** - test Chi-kwadrat – p=0.7842– brak istotności statystycznej

Tabela 30. Zależność obecności przeciwciał przeciwko ośrodkowemu układowi nerwowemu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy

Przeciwciała przeciwko ośrodkowemu układowi nerwowemu	GRADING rak błony śluzowej macicy**			razem
	G1	G2	G3	
Nieobecne	14	7	3	24 (85,7%)
Obecne	3	1	0	4 (14,3%)
Razem	17 (60,7%)	8 (28,6%)	3 (10,7%)	28

*** - test Chi-kwadrat – p=0.7126– brak istotności statystycznej

Tabela 31. Zależność obecności przeciwciał przeciwko obwodowemu układowi nerwowemu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy

Przeciwciała przeciwko obwodowemu układowi nerwowemu	GRADING rak błony śluzowej macicy**			razem`
	G1	G2	G3	
Nieobecne	16	8	2	26 (92,9%)
Obecne	1	0	1	2 (7,1%)
Razem	17 (60,7%)	8 (28,6%)	3 (10,7%)	28

** - test Chi-kwadrat – p=0.1527– brak istotności statystycznej

Tabela 32. Zależność obecności przeciwciał przeciwko antygenom nukleosomu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku błony śluzowej macicy

Przeciwciała ANA	GRADING rak błony śluzowej macicy**			razem
	G1	G2	G3	
Nieobecne	15	8	2	25 (89,3%)
Obecne	2	0	1	3 (10,7%)
Razem	17 (60,7%)	8 (28,6%)	3 (10,7%)	28

** - test Chi-kwadrat – p=0.2747– brak istotności statystycznej

4.5. Charakterystyka ilościowa pacjentek z rakiem jajnika

W tabeli 33 zestawiono pacjentki seropoztywne i seronegatywne z rakiem jajnika przed zastosowaniem kompleksowego leczenia przeciwnowotworowego. Istotnie statystyczna jest różnica wieku pacjentek w chwili rozpoznania choroby nowotworowej. U pacjentek, u których we krwi wykryto autoprzeciwciała średnia wieku wynosiła 56 lat, a u pacjentek bez autoprzeciwciał 51 lat. Ponadto istotnie statystyczna jest różnica stężenia markera CA - 125. Wyższy był on u pacjentek seropozytywnych niż seronegatywnych i wynosił średnio 1838 U/ml vs. 1352 U/ml. W wysokich stopniach zaawansowania choroby nowotworowej znacznie więcej jest pacjentek seropozytywnych niż pacjentek bez autoprzeciwciał, jednak tylko istotnie statystyczna jest różnica liczby pacjentek w stopniu FIGO IV .

Tabela 33. Zestawienie seropozytywnych i seronegatywnych pacjentek z rakiem jajnika, przed zastosowaniem kompleksowego leczenia onkologicznego

Pacjentki z rakiem jajnika			
Parametr	Seropozytyw	Seronegatywne	p-value
	ne		
N	19	19	NS**
Wiek (lata)	56 ± 11	51 ± 9	p<0.05**
Menopauza (lata)	55 ± 4	51 ± 3	NS**
Liczba pacjentek stosujących HTZ (N)	1/19	0/19	NS*
Liczba pacjentek stosujących OC (N)	0/19	0/19	NS*
CA_125 (U/ml)	1838 ± 432	1352 ± 334	p<0.05**
Stopnie zaawansowania raka jajnika wg FIGO			
FIGO Ic	5/19	3/19	NS*
FIGO II	brak pacjentek	1/19	
FIGO IIb	1/19	brak pacjentek	-
FIGO IIc	2/19	1/19	NS*
FIGO III	brak pacjentek	2/19	-
FIGO IIIa	brak pacjentek	1/19	-
FIGO IIIb	2/19	3/19	NS*
FIGO IIIc	4/19	6/19	NS*
FIGO IV	5/19	2/19	p<0.05*

* - test T-student ** - test Chi-kwadrat

W przeciwieństwie do pacjentek z nowotworem złośliwym endometrium, w raku jajnika nie ma istotnej statystycznie różnicy w występowaniu przeciwciał przeciwko obwodowemu układowi nerwowemu [tabela 34].

Tabela 34. Występowanie przeciwciał obwodowego układu nerwowego u pacjentek z rakiem jajnika w zależności od STAGINGU wg FIGO

Przeciwciała obwodowego układu nerwowego	STAGING w raku błony śluzowej macicy**											razem
	Ia	Ic	II	IIa	IIb	III	IIIa	IIIb	IIIc	IIIc	IV	
Obecne	1	8	1	2	1	4	2	6	7	1	6	39 (78,0%)
nieobecne	0	3	0	0	1	0	0	1	4	0	2	11 (22,0%)
Razem	1 (2,0%)	11 (22,0%)	1 (2,0%)	2 (4,0%)	2 (4,0%)	4 (8,0%)	2 (4,0%)	7 (14,0%)	11 (22,0%)	1 (2,0%)	8 (16,0%)	50

** - test Chi-kwadrat – p=0.8863 – brak istotności statystycznej

W poniższych tabelach, podobnie jak w raku endometrium, porównano zależność między występowaniem autoprzeciwciał po leczeniu onkologicznym w zależności od stopnia złośliwości nowotworu jajnika (GRADING). Również w nowotworze złośliwym jajnika nie wykryto zależności pomiędzy występowaniem przeciwciał po leczeniu onkologicznym a stopniem złośliwości (GRADING) [tabele 35-40].

Tabela 35. Zależność obecności autoprzeciwciał po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika

Autoprzeciwciała	GRADING rak jajnika**			Razem
	G1	G2	G3	
Nieobecne	1	5	4	10 (52,6%)
Obecne	1	1	7	9 (47,4%)
Razem	2 (10,5%)	6 (31,6%)	11 (57,9%)	19

** - test Chi-kwadrat – p=0.1789 – brak istotności statystycznej

Tabela 36. Zależność obecności przeciwciał onkoneuronalnych po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika

Przeciwciała onkoneuronalne	GRADING rak jajnika**			Razem
	G1	G2	G3	
Nieobecne	2	6	8	16 (84,2%)
Obecne	0	0	3	3 (15,8%)
Razem	2 (10,5%)	6 (31,6%)	11 (57,9%)	19

** - test Chi-kwadrat – p=0.2738 – brak istotności statystycznej

Tabela 37. Zależność obecności przeciwciał antyneuronalnych po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika

Przeciwciała antyneuroalne	GRADING rak jajnika**			razem
	G1	G2	G3	
Nieobecne	2	5	5	12 (63,2%)
Obecne	0	1	6	7 (36,8%)
Razem	2 (10,5%)	6 (31,6%)	11 (57,9%)	19

** - test Chi-kwadrat – $p=0.1574$ – brak istotności statystycznej

Tabela 38. Zależność obecności przeciwciał przeciwko ośrodkowemu układowi nerwowemu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika

Przeciwciała przeciwko ośrodkowemu układowi nerwowemu	GRADING rak jajnika**			razem
	G1	G2	G3	
Nieobecne	2	6	7	15 (78,9%)
Obecne	0	0	4	4 (21,1%)
Razem	2 (10,5%)	6 (31,6%)	11 (57,9%)	19

** - test Chi-kwadrat – $p=0.1584$ – brak istotności statystycznej

Tabela 39. Zależność obecności przeciwciał przeciwko obwodowemu układowi nerwowemu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika

Przeciwciała przeciwko obwodowemu układowi nerwowemu	GRADING rak jajnika**			Razem
	G1	G2	G3	
nieobecne	2	5	7	14 (73,7%)
Obecne	0	1	4	5 (26,3%)
Razem	2 (10,5%)	6 (31,6%)	11 (57,9%)	19

** - test Chi-kwadrat – p=0.4550 – brak istotności statystycznej

Tabela 40. Zależność obecności przeciwciał przeciwko antygenom nukleosomu po leczeniu onkologicznym od stopnia złośliwości w raku jajnika

Przeciwciała ANA	GRADING rak jajnika**			razem
	G1	G2	G3	
nieobecne	1	6	10	17 (89,5%)
obecne	1	0	1	2 (10,5%)
razem	2 (10,5%)	6 (31,6%)	11 (57,9%)	19

** - test Chi-kwadrat – p=0.1327 – brak istotności statystycznej

4.6. Charakterystyka porównawcza pacjentek z rakiem jajnika i rakiem endometrium

Po przeanalizowaniu zależności obecności przeciwciał w raku endometrium i w raku jajnika zauważono, że przed leczeniem przeciwciała onkoneuronalne, przeciwciała przeciwko antygenom układu nerwowego i przeciwciała przeciwko ośrodkowemu układowi nerwowemu istotnie częściej występują u chorych na raka jajnika niż u pacjentek z nowotworem złośliwym endometrium. Natomiast po zastosowanym leczeniu onkologicznym, część przeciwciał zaniknęła, część uległa serokonwersji, a u pacjentek, u których przed leczeniem nie stwierdzono we krwi przeciwciał, zauważono występowanie przeciwciał po leczeniu. Jednak ich występowanie nie jest istotne statystycznie [tabela 41].

Tabela 41. Zestawienie obecności serokonwersji przeciwciał przed i po leczeniu u pacjentek z rakiem endometrium i rakiem jajnika

Nowotwór złośliwy	Przeciwciała przed leczeniem	Przeciwciała po leczeniu
rak endometrium	MAG	ANA, mielina
	ANA	ANA
	ANA	ANA
	MA/MA-CV2	mielina
	Tr	ANA
	Mielina	ANA, neuroendotelium
	ANA	ANA
	Neuroendotelium	ANA, neuroendotelium
rak jajnika	Mielina	ANA, mielina
	mielina, amfifizyna	mielina
	Mielina	ANA
	Amfifizyna	brak przeciwciał

Wyliczono ryzyko zgonu chorych na raka jajnika z przeciwciałami. U pacjentek seropozytywnych ryzyko zgonu wzrasta 5,2 – krotnie w porównaniu do ryzyka zgonu u chorych na raka endometrium z przeciwciałami [tabela 42].

Tabela 42. Ryzyko zgonu u seropozytywnych pacjentek z rakiem jajnika i rakiem błony śluzowej macicy

Nowotwór/parametr	Pacjentki seropozytywne	
	Rak jajnika	Rak błony śluzowej macicy
Ryzyko względne	5.25	-
95% przedział ufności	1,3239 to 20,8194	
P	0,0183	

Porównano również ryzyko zgonu pacjentek z nowotworami złośliwymi jajnika i błony śluzowej macicy. U pacjentek chorych na raka jajnika z przeciwciałami przeciw antygenom układu nerwowego ryzyko zgonu wzrasta 4,09 – krotnie w porównaniu do ryzyka zgonu u chorych na raka endometrium z przeciwciałami przeciw antygenom układu nerwowego [tabela 43].

Tabela 43. Ocena ryzyka zgonu u seropozytywnych pacjentek w klasie przeciwciał przeciw antygenom układu nerwowego z rakiem jajnika i rakiem błony śluzowej macicy

Nowotwór/parametr	Pacjentki seropozytywne	
	Rak jajnika	Rak błony śluzowej macicy
Ryzyko względne	4.09	-
95% przedział ufności	1,0654 to 15,7086	
p	0,0401	

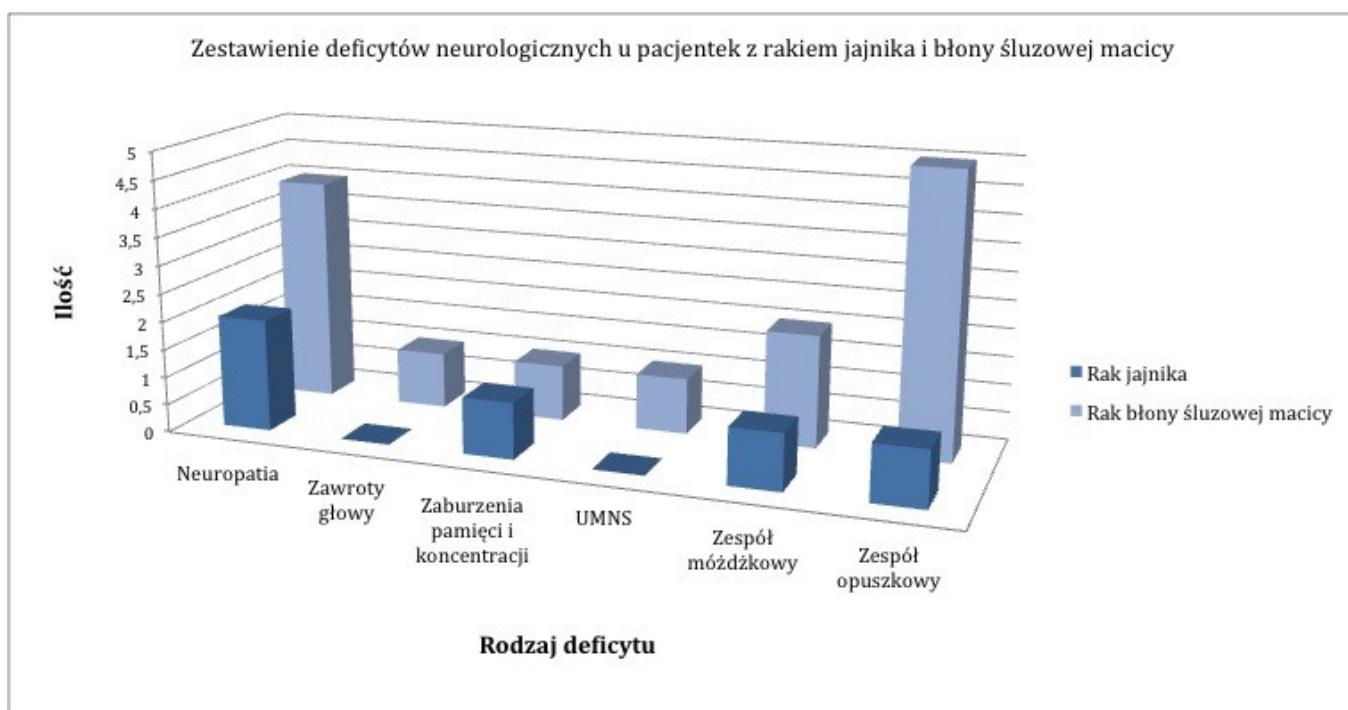
W tabeli 44 zestawiono zależność między występowaniem zespołu paranowotworowego a rodzajem przeciwciał wykrywanych w surowicy krwi pacjentek. Zauważyć można, że u większości chorych przed leczeniem pomimo występowania objawów neurologicznych w surowicy krwi nie stwierdzono występowania autoprzeciwciał. Natomiast po leczeniu onkologicznym w surowicy krwi pojawiły się przeciwciała skierowane przeciwko antygenom nukleosomu, neuroendotelium i wykrywalne było świecenie w warstwie drobinowej i ziarnistej mózdzku [tabela 44].

Tabela. 44 Zestawienie występowania objawów neurologicznych w zależności od występowania autoprzeciwciał przed i po leczeniu onkologicznym

Nowotwór złośliwy	Neurologiczny zespół paranowotworowy	Wykrywane przeciwciała	
		przed leczeniem	po leczeniu
Rak endometrium	neuropatia nerwu II	Brak	ANA, świecenie w warstwie drobinowej i zrarnistej
	zespół opuszkowy	Tr	ANA
	zawroty głowy	Mielina	ANA, neuroendotelium
	Neuropatia	Brak	Zgon
	zespół mózdkowy	Brak	Zgon
	Neuropatia	Brak	Zgon
	UMNS	MAG	Zgon
rak endometrium i jajnika	drętwienie rąk, zaburzenia pamięci i koncentracji	Brak	ANA, neuroendotelium
Rak jajnika	Neuropatia	Brak	świecenie w warstwie drobinowej i zrarnistej

W grupie pacjentek z rakiem błony śluzowej macicy istotnie częściej występował zespół opuszkowy w porównaniu do grupy pacjentek z rakiem jajnika ($p < 0.05$, test Chi-kwadrat). Ponadto pacjentki z rakiem błony śluzowej macicy charakteryzowały się częstszym występowaniem neuropatii w porównaniu do pacjentek z rakiem jajnika ($p < 0.05$, test Chi-kwadrat). Pozostałe deficyty neurologiczne w obu grupach pacjentek występowały z częstością nie różniącą się istotnie statystycznie [rycina 7].

Rycina 7. Zależność deficytu neurologicznego u pacjentek z rakiem jajnika i błony śluzowej macicy



4.6.1. Charakterystyka pacjentek ze zmianami endometrium i jajnika

W tabeli 45 zestawiono charakterystykę autoprzeciwciał u pacjentek ze zmianami łagodnymi jajnika: potworniakami, torbielami endometrialnymi, torbielami surowiczymi lub śluzowtmi oraz pacjentki z przerostem prostym endometrium bez atypii. U 12 pacjentek przed leczeniem operacyjnym w surowicy krwi nie wykryto obecności autoprzeciwciał, a 10 pacjentek stwierdzono obecność autoprzeciwciał. U dwóch pacjentek po leczeniu nastąpiła serokonwersja przeciwciał anti-NMDA na przeciwciała przeciwko antygenom nukleosomu. U siedmiu pacjentek seronegatywnych przed leczeniem operacyjnym, po operacji w surowicy krwi wykrywalne były przeciwciała: ANA, anty-mielina, niespecyficzne świecenie cytoplazmy komórek Purkinjego oraz niespecyficzne rozlane świecenie w warstwie drobinowej mózdzku [tabela 45].

Tabela 45. Status immunologiczny pacjentek z grupy kontrolnej przed i po leczeniu operacyjnym (zmiany niezłośliwe)

Pacjentka/status immunologiczny	Status immunologiczny przed leczeniem	Status immunologiczny po leczeniu
1	Seronegatywna	status nieznany
2	ANA	status nieznany
3	anty-mielina	status nieznany
4	Seronegatywna	status nieznany
5	ANA	status nieznany
6	anty-mielina	status nieznany
7	Seronegatywna	status nieznany
8	Seronegatywna	status nieznany
9	Seronegatywna	status nieznany
10	anty-neuroendothelium	status nieznany
11	anty-mielina	status nieznany
12	anty-neuroendothelium	status nieznany
13	anty-mielina	status nieznany
14	NMDA	ANA
15	NMDA	ANA
16	Seronegatywna	ANA, anty-mielina
17	Seronegatywna	niespecyficzne świecenie cytoplazmy komórek Purkinjego
18	Seronegatywna	niespecyficzne rozlane świecenie w warstwie drobinowej mózdzku
19	Seronegatywna	ANA, anty-mielina
20	Seronegatywna	niespecyficzne świecenie cytoplazmy komórek Purkinjego
21	Seronegatywna	niespecyficzne rozlane świecenie w warstwie drobinowej mózdzku
22	Seronegatywna	MAG

5. DYSKUSJA

Pomimo ciągłego rozwoju nauk medycznych, wykrywanie nowotworów złośliwych w niskim stopniu zaawansowania i ich wczesna diagnostyka wciąż stanowi duży problem kliniczny. Niestety, tylko ¼ nowotworów złośliwych rozpoznawana jest w stopniu I lub II zaawansowania choroby, co prawdopodobnie jest konsekwencją jej bezobjawowego rozwoju w początkowej fazie. Jednym ze sposobów na rozwiązanie tego problemu są próby poszukiwania markerów choroby, których koszt pozwoliłby na zastosowanie ich w badaniach przesiewowych, a wysoka czułość, swoistość i wartość predykcyjna umożliwiłaby wykrycie nowotworu złośliwego jeszcze w stadium bezobjawowym. W praktyce, wczesne wykrycie zmian złośliwych umożliwiają odpowiednio rozpoznawane neurologiczne zespoły paranowotworowe.

Przedstawiony powyżej sposób podejścia do problemu rozwoju nowotworów złośliwych sugeruje uwzględnienie występowania zespołów paranowotworowych, charakterystycznych dla raka jajnika i raka endometrium. Z przeprowadzonych do tej pory badań wynika, że zespoły paranowotworowe oraz objawy neurologiczne mogą aż w 70 - 80% wyprzedzić o kilka miesięcy pojawienie się pierwszych objawów, dzięki czemu stanowią cenny element diagnostyki nowotworowej, a tym samym ich wcześniejsze rozpoznanie jeszcze w fazie skąpoobjawowej [Dalmau J. 2008 , Michalak S. 2008, Shams'ili S. 2003]. Shams'ili i wsp. stwierdzili, iż deficyt neurologiczny, wyprzedzający pierwsze objawy nowotworu złośliwego, dotyczy jedynie 62% pacjentek [Shams'ili S. 2003]. U kobiet neurologiczne zespoły paranowotworowe współistnieją z nowotworem złośliwym jajnika, płuc, piersi i chorobami mieloproliferacyjnymi. W nowotworach niezłośliwych jajnika pochodzenia germinalnego, czyli w potworniakach dojrzałych, Dalmau i wsp. stwierdzili, iż pojawienie się przeciwciał, powodujących ubytki neurologiczne, wyprzedza

o około 3-4 miesiące rozpoznanie guza jajnika [Dalmau J. 2007].

Korelacja pomiędzy obecnością specyficznego deficytu neurologicznego a występowaniem konkretnego rodzaju przeciwciał wydaje się być obiecującą metodą przesiewową w diagnostyce chorób nowotworowych w fazie subklinicznej. Dzięki temu, czas od postawienia prawidłowej diagnozy do decyzji o dalszym leczeniu w oparciu o wynik histopatologiczny, powinien zostać skrócony.

Diagnostyka i rozpoznawanie guzów jajnika czy przerostu endometrium opiera się na badaniu ginekologicznym i ultrasonografii przezpochwowej. Oba te badania dostarczają niezbędnych informacji o ruchomości, konsystencji, umiejscowieniu zmian względem sąsiednich narządów, grubości endometrium. Badanie ginekologiczne i ultrasonografia przezpochwowa są badaniami ogólnodostępnymi i tanimi, jednak o dość niskiej czułości, bo zaledwie ok. 50%. Tak niska czułość spowodowana jest jakością badania, która jest uzależniona od doświadczenia lekarza, czynników konstytucjonalnych, takich jak otyłość pacjentki czy brak możliwości wykrycia zmiany w jajnikach poniżej 5 cm [Roman LD. 1997]. Badanie ultrasonograficzne od kilkadziesiątu lat stanowi bardzo ważny element diagnostyki obrazowej. Ocena morfologii zmiany dostarcza informacji o charakterze guza, cechach jego ewentualnej złośliwości, a także zwiększa czułość i swoistość badania dwuręcznego. Badanie to pozwala na określenie miejsca pochodzenia guza, echostrukturę zmiany oraz przepływy naczyniowe wewnątrz i wokół zmiany, pomagające przewidywać jej charakter i ewentualną złośliwość.

Wykrywanie obecności przeciwciał we krwi w paranowotworowych zespołach neurologicznych w 70 – 80 % możliwe jest przy niewielkich zmianach, nie dających objawów klinicznych [Dalmau J. 2008 ; Michalak S. 2008]. Ten sposób wykrywania choroby nowotworowej, na podstawie obecności przeciwciał w surowicy krwi, daje

możliwość poszerzenia diagnostyki klinicznej. Wykrywanie ich obecności u pacjentek ze złośliwym nowotworem, przed pierwszymi objawami klinicznymi procesu złośliwego, może być przydatne w celu wczesnej diagnostyki i potwierdzenia użyteczności tych przeciwciał w onkologii.

Przeprowadzone dotychczas badania nad występowaniem autoprzeciwciał okoneuronalnych i anty - neuronalnych w nowotworach złośliwych jajnika i błony śluzowej macicy oparte są na ograniczonych ilościowo analizach klinicznych i niepełnych badaniach, dlatego nadal trudno jest określić ich znaczenie kliniczne. Badania, poszerzające wiedzę na temat wykorzystywania przeciwciał we wczesnej diagnostyce nowotworów złośliwych endometrium i jajnika, stwarzają pewne nadzieje na ich wykorzystanie w praktyce klinicznej, jednak muszą zostać przeprowadzone badania weryfikacyjne, w oparciu o dużą populację chorych. Obecnie przeciwciała anty-neuronalne i onkoneuronalne są cennym elementem, mogącym przyspieszyć rozpoznanie oraz uzupełnić dodatkowe informacje na temat występujących zmian.

W materiale własnym, autoprzeciwciała przed włączeniem leczenia onkologicznego, stwierdzono u 23 pacjentek z rakiem endometrium i 53 pacjentek z rakiem jajnika. Po zakończonym leczeniu onkologicznym, autoprzeciwciała u pacjentek, które ponownie zgłosiły się na badanie oraz u pacjentek, które zmarły, wykryte były u 13 chorych z nowotworem złośliwym błony śluzowej macicy i 19 chorych z nowotworem złośliwym jajnika. Spośród oznaczonych przeciwciał, przeciwciała onkoneuronalne zostały wykryte w raku endometrium tylko u dwóch pacjentek oraz u trzech pacjentek z rakiem jajnika.

Pomimo coraz większej liczby doniesień na temat występujących przeciwciał u chorych z nowotworami złośliwymi jajnika i błony śluzowej endometrium, jak i rozwoju paranowotworowych zespołów neurologicznych, nadal nie do końca

poznany jest charakter współwystępowania tych jednostek. Większość autoprzeciwciał klasyfikowanych jest wciąż ze względu na rodzaj występującego zespołu paranowotworowego, rodzaju przeciwciał lub też opisywane są pojedyncze przypadki, które nie są wystarczającym źródłem informacji na temat zależności przeciwciał i PSN a określonym nowotworem złośliwym [Cao Y. 1999, Liu S. 2000, Menon S.2009].

Pomimo znaczącego poszerzenia wiedzy na temat występujących przeciwciał w nowotworach złośliwych, jak dotąd nie przeprowadzono badań nad występowaniem przeciwciał w zmianach łagodnych jak i złośliwych jajnika i endometrium. Dotychczasowe wyniki badań mają nie tylko charakter poznawczy, ale również kliniczny, poprzez ich potencjalną użyteczność w celu wcześniejszego wykrycia zmian nowotworowych, a także do monitorowania leczenia i prognozowania czasu przeżycia [Cao Y. 1999, Liu S. 2000, Menon S.2009].

Nowotwory złośliwe narządów płciowych u kobiet stanowią najczęstszą przyczynę rozwoju zespołów paranowotworowych [Cao Y. 1999, Graus F. 2001, Liu S.2000, Monstad SE.2006]. Do tej pory, przeprowadzone badania pokazują rozbieżność ich występowania, pomiędzy 1-15%, w zależności od populacji, która została poddana badaniu [Rees JH. 2004, Rosenfeld MR. 2003]. Nie są jednak znane precyzyjne statystyki na temat częstości występowania przeciwciał zarówno onkoneuronalnych, jak i anty-neuronalnych w nowotworze złośliwym jajnika i błony śluzowej macicy. Prawdopodobnie wynika to z dość małych grup badawczych, które zostały poddane analizie oraz uzyskania rozbieżnych wyników, uniemożliwiających przeprowadzenie analizy porównawczej.

W badaniach przeprowadzonych przez Shams'ili średni wiek pacjentek z przeciwciałami anti-Tr wynosił 54 lata, a z przeciwciałami anti-Hu, anti-Yo i anti-Ri - pomiędzy 64 a 67 rokiem życia. Różnice te nie były jednak istotne

statystycznie. Istotnie różnił się jednak czas przeżycia tych chorych w zależności od rodzaju występujących przeciwciał. Złym rokowaniem charakteryzowały się pacjentki z przeciwciałami anty-Yo, żyjące średnio 13 miesięcy, anty-Hu 7 miesięcy, w porównaniu do pacjentek z obecnością przeciwciał anty-Ri, których średni czas przeżycia wynosi 69 miesięcy lub anty-Tr, gdzie średni czas przeżycia wynosił 113 miesięcy [Shams'ili S. 2003]. Fakt ten, potwierdzają także wyniki badań, które przeprowadził Rojas, gdzie średni czas przeżycia chorych seropozytywnych z przeciwciałem anty-Yo i paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku w nowotworze złośliwym jajnika wynosił około 22 miesiące [Rojas 2000, Moll JWB.]. Prognozy te były lepsze dla pacjentów seronegatywnych z paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku niż dla pacjentów z wykrywalnymi przeciwciałami anty-Hu. Dotychczas przeprowadzone badania u pacjentek seropozytywnych z przeciwciałami anty-Hu wykazują, że tak krótki czas przeżycia koreluje wyłącznie z obecnością przeciwciał w złośliwej chorobie nowotworowej, w chwili rozpoznania paranowotworowego zespołu neurologicznego, oraz z punktacją uzyskaną w skali Rankina [tabela. 46], [Sillevis Smitt PS 2002., van Swieten 1998, Vedeler CA.2006].

Tabela 46. Zmodyfikowana skala Rankina [van Swieten 1998]

0	Brak objawów
1	Brak znaczącej niepełnosprawności mimo objawów. Pacjent jest w stanie wykonywać wszystkie, typowe dla siebie, aktywności i obowiązki
2	Niewielka niepełnosprawność. Pacjent nie jest w stanie wykonywać wszystkich typowych dla siebie aktywności, ale jest w stanie zająć się swoimi sprawami bez pomocy
3	Umiarkowana niepełnosprawność. Pacjent wymaga pomocy, ale jest w stanie chodzić samodzielnie.
4	Umiarkowana ciężka niepełnosprawność. Pacjent nie jest w stanie chodzić samodzielnie i nie jest w stanie doglądać własnego ciała bez pomocy
5	Ciężka niepełnosprawność. Pacjent leżący, nietrzymający moczu i kału, wymagający ciągłej opieki i nadzoru pielęgniarskiego.

Obecność autoprzeciwciał u chorych z nowotworami żeńskich narządów płciowych najczęściej stwierdza się w przebiegu nowotworu złośliwego jajnika, piersi i endometrium [Cao Y. 1998, Graus F.2004, Liu S. 2000, Menon S. 2009, Monstad SE. 2006, Scholz J. 1994]. U większości pacjentek wykrywalne są przeciwciała, które w warunkach fizjologicznych nie występują u zdrowych kobiet i są to przeciwciała anty-Yo oraz anty-amfifizyna. W chwili, gdy u potencjalnie zdrowej kobiety wykrywa się obecność tych przeciwciał, należy poszerzyć diagnostykę o badania obrazowe, np. ultrasonografię miednicy mniejszej, jak również mammografię oraz oznaczyć poziom markera CA - 125. Vadel i wsp. zaproponowali konieczność prowadzenia diagnostyki u kobiet, u których wykrywamy obecność przeciwciał anty-Hu. Pacjentka z takim profilem przeciwciał powinna zostać poddana kontroli ginekologicznej wraz

badaniami obrazowymi co 6 miesięcy przez okres 4 lat, w celu wykrycia zmian w miednicy mniejszej [Cao Y. 1998 Vedeler CA. 2006].

W przeprowadzonych przez mnie badaniach, mimo znacznie częstszego występowania przeciwciał w wysokich stopniach zaawansowania choroby nowotworowej, nie stwierdzono zależności pomiędzy stopniem zaawansowania choroby nowotworowej a obecnością przeciwciał we krwi, pomimo znacząco podwyższonego stężenia markera CA - 125. W badanym materiale znacząco większe stężenie CA - 125 wykrywano u pacjentek seropozytywnych niż u pacjentek bez obecności przeciwciał w surowicy krwi. W podobnych badaniach, które przeprowadził Monstad i wsp. nie stwierdzono korelacji pomiędzy podwyższonym stężeniem poziomu CA - 125 czy typem histologicznym nowotworu złośliwego jajnika a występowaniem przeciwciał anti-Yo [Monstad SE., 2006] .

W badaniach przeprowadzonych przez Dalmau J. stwierdzono, że obecność przeciwciał onkoneuronalnych ma większe znaczenie w prognozowaniu wystąpienia nowotworu złośliwego niż obecność objawów neurologicznych, będącej skutkiem neurologicznego zespołu paranowotworowego. Ponadto brak poprawy stanu klinicznego pacjentki, przy utrzymujących się objawach neurologicznych, pomimo eliminacji przeciwciał anti-Yo po podaniu plazmaferezy, wskazuje na udział dodatkowych czynników w patogenezie zespołów paranowotworowych [Cao Y.1998 , Dalmau J. 2004]. W badaniach, opublikowanych przez Hetzela, stwierdzono występowanie przeciwciał anti-Yo u pacjentek bez zmian w miednicy mniejszej w badaniu obrazowym, a poddanych laparotomii zwiadowczej. U wszystkich chorych stwierdzono obecność wysoko zróżnicowanego gruczolakoraka jajnika [Hetzl DJ. 1990, Scholz J. 1994]. Podobne badanie przeprowadził Yangming u pacjentki z szybko postępującym paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku, u

której w surowicy krwi wykryto obecność przeciwciał anti-Yo. Wykrycie przeciwciał anti-Yo ukierunkowało dalszą diagnostykę w kierunku występowania zmian w obrębie miednicy mniejszej, co potwierdziło się w przeprowadzonej tomografii komputerowej, która wykazała obecność litych zmian w obrębie przydatków. Poszerzenie diagnostyki o laparotomię i uzyskany wynik histopatologiczny potwierdziło występowanie nowotworu złośliwego jajnika o granicznej złośliwości [Cao Y.]. Ponadto w badaniach Liu, u pacjentki z paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku, obecnością przeciwciał anti-Yo i podwyższonym stężeniem CA - 125, bez zmian w badaniu obrazowym miednicy mniejszej, podjęto decyzję o wykonaniu laparotomii zwiadowczej, gdzie ostatecznie rozpoznano gruczolakoraka jajników [Liu S., 2000].

Podobny przypadek opisał Marchand u pacjentki z paranowotworowym zwyrodnieniem mózdzku i obecnością przeciwciał anti-Yo w surowicy krwi, gdzie badania obrazowe (ultrasonografia i tomografia komputerowa) nie wykazały patologii w obrębie miednicy mniejszej. Dopiero przeprowadzenie badania PET wykazało zwiększony wychwyty fluorodeoksyglukozy w obrębie przydatków i węzłów chłonnych. Pozwoliło to na przeprowadzenie leczenia operacyjnego i rozpoznanie nowotworu złośliwego jajnika – "adenocarcinoma papillare serosum" oraz wdrożenie dalszego leczenia onkologicznego [Marchand V. 2007].

W 2010 roku Drums i wsp. opisali przypadek pacjentki z objawami podostrej neuropatii czuciowej, która o 11 miesięcy wyprzedziła rozpoznanie nowotworu złośliwego błony śluzowej macicy [Drumus i wsp. 2010]. W 2011 Vasku opublikował doniesienie o pacjentce z polineuropatią czuciowo-ruchową, poprzedzającą rozpoznanie raka endometrium. W surowicy krwi tej pacjentki nie wykryto przeciwciał onkoneuronalnych, jednak zauważono znaczną poprawę stanu klinicznego

po leczeniu operacyjnym z powodu nowotworu złośliwego [Vasku 2011]. Podobny przypadek kliniczny opisano u pacjentki z nowotworem złośliwym endometrium, zdiagnozowanym dwa tygodnie po rozpoznaniu zespołu opsoklonie-mioklonie. Objawy neurologiczne, podobnie jak w pracy Vasku, ustąpiły po leczeniu onkologicznym, polegającym na wycięciu macicy z przydatkami i włączeniu chemioterapii adiuwantowej. Pomimo występujących objawów zespołu neurologicznego, w surowicy krwi nie stwierdzono przeciwciał onkoneuronalnych [Lewis i wsp. 2010].

W badanym materiale własnym, w surowicy krwi pacjentek u których wystąpiły objawy neuropatii zarówno w nowotworze złośliwym jajnika, jak i endometrium, przed leczeniem onkologicznym nie stwierdzono obecności autoprzeciwciał. Po leczeniu onkologicznym w obu grupach pacjentek, w immunofluorescencji pośredniej, zauważono świecenie w warstwie drobinowej i ziarnistej mózdzku. U pacjentki z nowotworem złośliwym endometrium stwierdzono obecność przeciwciał ANA, których, niestety, nie potwierdzono w kontrolnym badaniu *Line blot*. Pacjentka z nowotworem złośliwym błony śluzowej macicy została poddana leczeniu operacyjnemu i radioterapii, a pacjentka z rakiem jajnika operacji, i chemioterapii. U pacjentki z rakiem endometrium w 2011 r. wystąpił epizod TIA. U pacjentki z zespołem opuszkowym w przebiegu raka endometrium, przed leczeniem onkologicznym w surowicy krwi wykrywalne były przeciwciała anty-Tr, natomiast po leczeniu operacyjnym wystąpiła serokonwersja i w surowicy krwi wykrywalne były tylko przeciwciała przeciwko antygenom nukleosomu. U kolejnej pacjentki z nowotworem złośliwym błony śluzowej endometrium, która zgłosiła objawy neurologiczne w postaci zawrotów głowy, przed leczeniem w surowicy krwi wykrywalne były przeciwciała anty-mielina, natomiast po leczeniu

operacyjnym również wystąpiła serokonwersja i w surowicy krwi wykryte zostały przeciwciała anti-neuroendothelium i ANA. U ostatniej pacjentki z rozpoznanym zarówno nowotworem złośliwym jajnika i endometrium, która zgłaszała drętwienie rąk i stóp, jak również zaburzenia pamięci i koncentracji, przed leczeniem onkologicznym w surowicy krwi nie stwierdzono obecności przeciwciał, natomiast po leczeniu operacyjnym i radiochemioterapii w surowicy krwi wykrywalne były przeciwciała anti-neuroendothelium i ANA. U żadnej z kontrolowanych pacjentek, poza pacjentką z rakiem endometrium, u której wystąpił epizod TIA, nie stwierdzono pogorszenia stanu neurologicznego ani nawrotu choroby nowotworowej. Taka zależność przeciwciał onkoneuronalnych może wskazywać na ich pozytywną wartość prognostyczną, co w 2010 roku potwierdził Giometto, stwierdzając, że identyfikacja przeciwciał onkoneuronalnych ma znaczenie rokownicze dla pacjentek z potwierdzonym nowotworem złośliwym [Giometto i wsp., 2010].

U 30% pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika i objawami paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku, u których stwierdza się przeciwciała anti-Yo, to właśnie nasilające się objawy neurologiczne stanowią przyczynę zgonu, a nie sama choroba nowotworowa. Średni czas przeżycia pacjentek wynosi zaledwie 22 miesiące. Objawy neurologiczne u 60% pacjentek, u których w surowicy krwi wykrywalne są przeciwciała anti-Yo, wyprzedzają rozpoznanie nowotworu złośliwego [Rojas i wsp.,2000].

Zauważono również współistnienie paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku w nowotworze złośliwym endometrium z obecnością przeciwciał anti-Yo w surowicy krwi [Erez i wsp.,2007, Brock i wsp.,2001]. U opisanych pacjentek postępujące zwyrodnienie mózdzku doprowadziło do upośledzenia ruchowego znacznego stopnia. U jednej z pacjentek stan ogólny uniemożliwił leczenie

operacyjne, przez co nasilające się objawy neurologiczne doprowadziły do śmierci. Druga z pacjentek została poddana leczeniu chirurgicznemu oraz plazmaferezie, gdzie uzyskano poprawę stanu klinicznego i ustąpienie objawów zwyrodnienia mózdzku.

W 2001 roku podczas prowadzonych badań Graus zauważył, że gorsze rokowanie pacjentek może być związane z takimi czynnikami jak: wiek powyżej 60-ciu lat, objawy neurologiczne z większej ilości narządów anatomicznych, brak leczenia onkologicznego oraz uzyskanie więcej niż trzech punktów w skali Rankina [Graus i wsp., 2001].

Występowanie przeciwciał w niskim stopniu zaawansowania choroby nowotworowej wydaje się być ważnym elementem we wczesnej diagnostyce onkologicznej. Wniosek ten potwierdzają przeprowadzone przeze mnie badania, bowiem u 22 (68,7%) pacjentek z nowotworem złośliwym endometrium, autoprzeciwciała były wykryte w stopniu I FIGO, u 12 (24%) pacjentek z rakiem jajnika w II stopniu zaawansowania choroby nowotworowej - FIGO II. Podobny wniosek z przeprowadzonych badań uzyskał Monstad i wsp., który stwierdził, że największy odsetek wszystkich badanych autoprzeciwciał w nowotworze błony śluzowej macicy wykryto u pacjentek z niskim stopniem zaawansowania choroby FIGO I [Monstad i wsp., 2009].

Rozpoznanie paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku przy wcześniej wykrytym nowotworze złośliwym wydaje się być proste, znacznie trudniej jest rozpoznać neurologiczny zespół paranowotworowy przy braku zmian obrazowych w miednicy mniejszej. Taki przypadek opisał Mason, gdzie u pacjentki z objawami neurologicznymi zwyrodnienia mózdzku, brakiem zmian obrazowych w miednicy mniejszej, a jedynie podwyższoną wartością CA - 125 do 131 U/ ml. Podjęto decyzję o laparotomii i usunięto obustronnie przydatki. W ostatecznym badaniu

histopatologicznym nie wykryto komórek nowotworowych, jednak nastąpiła normalizacja stężenia CA - 125 w ciągu miesiąca od leczenia operacyjnego. To wszystko pozwoliło na rozpoznanie paranowotworowego charakteru zmian neurologicznych spowodowanych rozwojem nowotworu złośliwego w jajnikach [Mason WP i wsp., 1997].

W latach 90 ubiegłego wieku Hetzel i wsp. opisali badanie przeprowadzone na grupie 19-tu pacjentek z wykrywalnymi w surowicy krwi przeciwciałami anti-Yo i z objawami paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku. U 12 pacjentek podczas badań diagnostycznych rozpoznano zmiany w obrębie miednicy mniejszej, natomiast u pozostałych 7 nie stwierdzono zmian. Pacjentki poddane były laparotomii zwiadowczej, a następnie uzyskany materiał operacyjny został przekazany do badania histopatologicznego, gdzie u wszystkich chorych rozpoznano gruczolakoraka jajnika wysoko zróżnicowanego. Wyniki tej próby pozwoliły określić współistnienie poszczególnych autoprzeciwciał z procesem karcynogenezy. Ten rodzaj postępowania pozwolił na znaczne skrócenie czasu diagnostyki i rozpoznanie procesu nowotworowego we wczesnym stopniu zaawansowania [Hetzel i wsp., 1990].

Sheikhbaehi i wsp. poddali badaniu PET (18Fb - FDG - PET) lub PET - CT (18Fb - FDG - PET/ CT) 1293 pacjentki z podejrzeniem paranowotworowego zwyrodnienia mózdzku. Wyniki dowiodły, iż oba badania mają dość dobrą czułość i wysoką swoistość w diagnozowaniu pierwotnego nowotworu złośliwego u pacjentek z zespołami paraneurologicznymi [Sheikhbaehi i wsp., 2015].

Wzrasta liczba publikacji o zależności przeciwciał oraz zespołów paranowotworowych a rodzajem nowotworu złośliwego, co potwierdza konieczność prowadzenia dalszych badań w kierunku przydatności oznaczania autoprzeciwciał, zwłaszcza w przypadkach, gdzie badania obrazowe nie wychwytyją istniejącej

patologii narządowej. Ponadto wczesne oznaczanie przeciwciał, badania obrazowe i badanie stężenia markerów nowotworu złośliwego oraz określenie ich znaczenia, umożliwiłyby szybką diagnostykę różnicową zmian złośliwych od niezłośliwych. Pozwoliłoby to również na wykrywanie złośliwych zmian nowotworowych na wczesnym etapie zaawansowania choroby, a być może także na wdrożenie mało inwazyjnych metod operacyjnych np. laparoskopii.

W przeprowadzonych przeze mnie badaniach, podczas leczenia onkologicznego, wystąpiła serokonwersja autoprzeciwciał. Po zakończonym leczeniu, w surowicy krwi pacjentek, u których przy włączeniu do badania nie wykrywano przeciwciał, wykryto różne typy autoprzeciwciał. Do grupy nowo wykrywanych przeciwciał w surowicy krwi należały: przeciwciała przeciwko antygenom nukleosomu, przeciwciała anty-neuronalne, przeciwciała przeciwko komórkom Purkinjego, przeciwciała anty-mitochondrialne, przeciwciała TiJ, jak również można było zaobserwować świecenie w warstwie drobinowej i ziarnistej mózdzku. Przy rozpoznaniu choroby nowotworowej znacznie częściej obserwowano występowanie autoprzeciwciał u chorych z rakiem jajnika niż z rakiem endometrium, co się jednak zmieniło po zakończonym leczeniu onkologicznym. W nowotworze złośliwym błony śluzowej macicy, po zakończonym leczeniu, autoprzeciwciała były wykrywane u 34,2% (13) pacjentek, a w nowotworze złośliwym jajnika u 50% (19) pacjentek. Niestety, pojawianie się przeciwciał, wykrytych po zakończonym leczeniu i ich związek z przebiegiem choroby nowotworowej, nie zostało jeszcze dokładnie wyjaśnione. Jedyne, co pozwala przypuszczać, to fakt, iż pojawienie się przeciwciał ANA i anty-neuronalnych może wiązać się z szybszą progresją choroby, gorszym rokowaniem ze względu na większą immunizację.

W badanym materiale własnym zauważono istotne różnice w ryzyku zgonu

między pacjentkami seropozytywnymi z przeciwciałami przeciwko antygenom układu nerwowego w raku jajnika i raku endometrium. W obu przypadkach znacznie większe jest ryzyko zgonu pacjentki z nowotworem złośliwym jajnika niż endometrium. Może to być spowodowane rozpoznawaniem nowotworu złośliwego jajnika w wyższych stopniach zaawansowania niż nowotwór złośliwy endometrium ze względu na jego bezobjawowy rozwój. Przez to może dochodzić do pobudzenia układu immunologicznego i produkcji przeciwciał znacznie częściej w raku jajnika niż w raku endometrium.

W niniejszym opracowaniu podkreślono, że częstość występowania przeciwciał anti-neuronalnych zarówno u chorych na raka jajnika, jak i raka endometrium, nie różniła się statystycznie, a raczej ich obecność we krwi jest wynikiem stymulacji odpowiedzi immunologicznej pacjentki w przebiegu choroby nowotworowej.

Reasumując, objawy neurologiczne, występujące u pacjentek z nowotworami złośliwymi narządów rodnych, mogą być skutkiem nie tylko przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego czy niepożądanego działania chemioterapii, ale również neurologicznego zespołu paranowotworowego. Mimo że częstość występowania neurologicznych zespołów nowotworowych nie do końca została określona, to ich znaczenie w rozpoznawaniu i monitorowaniu leczenia jest obiecujące. Problemy z wczesnym rozpoznawaniem złośliwych zmian nowotworowych stwarzają konieczność poszukiwania coraz to nowszych i lepszych metod diagnostycznych, a usystematyzowanie korelacji między zespołami paranowotworowymi a typem nowotworu złośliwego pozwoli na znacząco szybsze wdrożenie diagnostyki i leczenia. Wykrycie w surowicy krwi pacjentki określonych autoprzeciwciał i objawów ze strony układu nerwowego, powinno sugerować

możliwość występowania choroby nowotworowej narządów płciowych. Tym samym pacjentka powinna zostać poddana szczegółowej diagnostyce w kierunku występowania nowotworu złośliwego.

6. WNIOSKI

- 6.1. Przeciwciała onkoneuronalne zarówno przeciw antygenom obwodowego układu nerwowego, jak i ośrodkowego układu nerwowego występują częściej u pacjentek z rakiem jajnika przed leczeniem onkologicznym niż u pacjentek z rakiem endometrium.
- 6.2. U chorych na raka jajnika nie stwierdza się zależności występowania przeciwciał od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej (FIGO), natomiast u chorych z rakiem endometrium najczęściej występują przeciwciała przeciwko antygenom obwodowego układu nerwowego, głównie w niskim stopniu zaawansowania choroby nowotworowej.
- 6.3. U chorych na raka jajnika i endometrium brak jest zależności pomiędzy występowaniem przeciwciał a złośliwością (GRADING).
- 6.4. U chorych na raka jajnika, u których występują przeciwciała przeciwko antygenom układu nerwowego ryzyko zgonu jest 4-5 razy większe niż u chorych na raka endometrium z obecnością tych przeciwciał.
- 6.5. Układ immunologiczny jest elementem sygnalizującym występowanie nowotworu, jak również elementem obrony przeciwnowotworowej w mechanizmie rozpoznawania i eliminowania nowotworu, czego wykładnikiem jest obecność przeciwciał onkoneuronalnych.

7. STRESZCZENIE

Wstęp. Nowotwory złośliwe jajnika i endometrium wciąż stanowią trudny problem kliniczny zarówno w diagnostyce, jak i leczeniu chorych. Wczesna diagnostyka i odpowiednio szybko włączone leczenie jest najtrudniejszym zadaniem w ginekologii onkologicznej. Dlatego tak ważne jest znalezienie nowych metod diagnostycznych i markerów choroby nowotworowej o wysokiej czułości i swoistości, które umożliwią wykrycie choroby w fazie bezobjawowej. Karcynogeneza indukuje reakcje układu immunologicznego, hormonalnego i metabolicznego poprzez wydzielanie odpowiednich metabolitów, przeciwciał i uwalniania specyficznych hormonów. Autoprzeciwciała produkowane poprzez aktywację układu immunologicznego biorą udział w rozpoznawaniu i eliminacji komórek nowotworowych. Produkcja autoprzeciwciał, w tym przeciwciał onkoneuronalnych oraz ich wykrywanie w surowicy krwi daje możliwość przyspieszenia rozpoznania o kilka tygodni a nawet miesięcy. Przeprowadzone dotąd badania dowodzą, iż rozpoznanie nowotworu złośliwego może być w 70-80% szybsze dzięki wykryciu w surowicy krwi swoistych przeciwciał i scharakteryzowaniu objawów neurologicznych zespołu paranowotworowego. Zespoły paranowotworowe u kobiet najczęściej współistnieją z nowotworami złośliwymi jajnika, piersi oraz płuc.

Cel pracy. Ze względu na przedstawiony problem głównym celem pracy była ocena przydatności wykrywanych autoprzeciwciał i objawów zespołów paranowotworowych w rozpoznaniu choroby nowotworowej jajnika i błony śluzowej trzonu macicy.

Metodyka. Założenia pracy realizowano poprzez zakwalifikowanie do badania pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika i endometrium, hospitalizowanych od 2004 roku w Klinice Ginekologii Operacyjnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Diagnostyka przedoperacyjna obejmowała: wywiad lekarski, badanie ginekologiczne, badanie ultrasonograficzne, podstawowe badanie neurologiczne oraz badanie surowicy krwi w celu wykrycia autoprzeciwciał, a następnie leczenie operacyjne. Od 2014 roku pacjentki po leczeniu onkologicznym zostały ponownie przebadane ginekologicznie i neurologicznie oraz pobrano od nich próbki krwi w celu ponownego oznaczenia w surowicy autoprzeciwciał za pomocą testu immunofluorescencji a następnie potwierdzenie ich obecności testem *Line blot*.

Wyniki. Wykazano, że przeciwciała onkoneuronalne przeciwko układowi nerwowemu, a w szczególności przeciwciała przeciwko ośrodkowemu układowi nerwowemu częściej występują u pacjentek z rakiem jajnika przed leczeniem onkologicznym niż u pacjentek z rakiem endometrium. Ponadto zauważono, że u chorych na raka jajnika nie stwierdza się zależności występowania przeciwciał od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej (FIGO STAGING), natomiast u chorych z rakiem endometrium najczęściej występują przeciwciała przeciwko antygenom obwodowego układu nerwowego, głównie w niskim stopniu zaawansowania choroby nowotworowej. Bez względu na rodzaj nowotworu, w przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono zależności pomiędzy występowaniem przeciwciał a jego złośliwością (FIGO GRADING). Istotną różnicę zauważono w ryzyku zgonu pacjentek. U pacjentek z rakiem jajnika, u których występują przeciwciała przeciwko antygenom układu nerwowego, ryzyko zgonu

jest 4-5 razy większe niż u pacjentek z rakiem endometrium z obecnością tych przeciwciał.

Wnioski. Wykrywanie autoprzeciwciał w surowicy może w istotny sposób przyspieszyć rozpoznanie nowotworu złośliwego jajnika i endometrium. Wykrycie przeciwciał ANA i antyneuralnych u kobiet z objawami neurologicznymi może sugerować proces karcynogenezy i być jednym ze wskazań do poszerzenia diagnostyki onkologicznej.

8. SUMMARY

Introduction. Ovarian and endometrial cancer still constitutes a serious challenge in diagnosis and treatment in gynaecological oncology. The early diagnosis and treatment is the most important aspect in this group of patients. Therefore, it is essential to find the markers with high specificity and sensitivity that enables to diagnose the cancer in the sub-clinical phase. Carcinogenesis stimulates the immunological system to secrete antibodies and hormones which take part in detection and elimination of cancer cells. The identification of onco-neuronal antibodies in blood serum can precede the cancer diagnosis in week or months. Moreover, the identification of paraneoplastic syndromes can in c.a. 70-80% of cases precede the diagnosis of malignancies. In women, the paraneoplastic syndromes co-exist with ovarian, breast and lung cancers.

Aim of the study. The aim of the study was the diagnosis usefulness assessment of antibodies presence and paraneoplastic syndromes in women with ovarian and endometrial cancer

Methods. The study was carried in women with ovarian and endometrial cancer, hospitalised in the Operative Gynecology Clinic of Karol Marcinkowski University of Medical Sciences in 2004. Pre-operative management consisted of gynecological and general history analysis, ultrasound scan, basic neurological examination and surgical procedures. Blood samples were collected for antibodies analysis. Since 2014 the women were re-examined – gynecological and neurological examination, blood samples were re-collected for antibodies detection. RIA and Line Blot test were used.

Results. We found, that onconeural antibodies against central nervous system are more frequent in women with ovarian cancer as compared to women with endometrial cancer, before oncological treatment. It was also found that there is no relationship between antibodies presence and ovarian cancer staging acc. FIGO. The antibodies against peripheral nervous system are the most frequent in women with endometrial cancer and low stage acc. FIGO. There was no relation between grading acc. FIGO and antibodies presence in any group of women. There was the significant difference in relative risk for death in the examined groups: women with ovarian cancer and positive for antibodies against nervous system were characterised by 4-5-fold higher relative risk of death as compared to women with endometrial cancer and presence of these antibodies.

Conclusion. Detection of serum antibodies against nervous system may be useful in early diagnosis of ovarian and endometrial cancer. ANA and anty-neural antibodies in women with neurological symptoms may suggest carcinogenesis and can be the indication for oncological diagnosis.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Afzal S, Recio M, Shamim S. Paraneoplastic cerebellar ataxia and the paraneoplastic syndromes. *Proc. Bayl Univ Med Cent.* 2015 Apr;28(2):217-220.
2. Albert ML, Austin LM, Darnell RB. Detection and treatment of activated T cells in the cerebrospinal fluid of patients with paraneoplastic cerebellar degeneration. *Ann Neurol.* 2000 Jan;47(1):9-17.
3. Antoine JC, Absi L, Honnorat J, Boulesteix JM, de Brouker T, Vial C, Butler M, De Camilli P, Michel D. Anti-amphiphysin antibodies are associated with various paraneoplastic neurological syndromes and tumors. *Arch Neurol.* 1999 Feb;56(2):172-177.
4. Bataller L, Graus F, Saiz A, Vilchez JJ; Spanish Opsoclonus-Myoclonus Study Group. Clinical outcome in adult onset idiopathic or paraneoplastic opsoclonus-myoclonus. *Brain.* 2001 Feb;124(Pt 2):437-443.
5. Berger T, Rubner P, Schautzer F, Egg R, Ulmer H, Mayringer I, Dilitz E, Deisenhammer F, Reindl M. Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. *N Engl J Med.* 2003 Jul 10;349(2):139-45.

6. Boronat A, Sabater L, Saiz A, Dalmau J, Graus F. GABA(B) receptor antibodies in limbic encephalitis and anti-GAD-associated neurologic disorders. *Neurology*. 2011 Mar 1;76(9):795-800.
7. Brock S, Ellison D, Frankel J, Davis C, Illidge T. Anti-Yo antibody-positive cerebellar degeneration associated with endometrial carcinoma: case report and review of the literature. *Clin Oncol*. 2001;13(6):476-479.
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 Oct;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. Creasman WT, Odicino F, Maisonneuve P, Quinn MA, Beller U, Benedet JL, Heintz AP, Ngan HY, Pecorelli S. Carcinoma of the corpus uteri. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet*. 2006 Nov;(95) Suppl 1:S105-143.

11. Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, Evdemon-Hogan M, Conejo-Garcia JR, Zhang L, Burow M, Zhu Y, Wei S, Kryczek I, Daniel B, Gordon A, Myers L, Lackner A, Disis ML, Knutson KL, Chen L, Zou W. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med.* 2004 Sep;10(9):942-949.

12. Diaz E.S., *Gynecol Oncol* 2013 Diaz ES, Karlan BY, Li AJ. Obesity-associated adipokines correlate with survival in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2013 May;129(2):353-357.

13. Dalmau J, Graus F, Villarejo A, Posner JB, Blumenthal D, Thiessen B, Saiz A, Meneses P, Rosenfeld MR. Clinical analysis of anti-Ma2-associated encephalitis. *Brain.* 2004 Aug;127(8):1831-1844.

14. 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 ovaria teratoma. *Ann Neurol.* 2007; 61(1):25-36.

15. Dalmau J., Rosenfeld MR Paraneoplastic syndromes of the CNS *Lancet Neurol.* 2008 7(4):327-340.

16. 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 Feb;244(2):85-89.
17. Durmuş H, Tüzün E, İçöz S, Akman-Demir G, Parman Y., Sensorimotor neuropathy associated with endometrioid endometrial carcinoma. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2010 Jun;150(2):216-217.
18. Ejma M., Neurologiczne zespoły paranowotworowe, *Family Medicine & Primary Care Review* 2012 (3): 447-452.
19. Erez Y, Rojansky N, Shveiky D, Ben-Meir A, Benshushan A. Endometrial carcinoma first presenting as paraneoplastic cerebellar degeneration. *Gynecol Oncol.* 2007 Jun;105(3):826-827.
20. Giometto B, Grisold W, Vitaliani R, Graus F, Honnorat J, Bertolini G; PNS Euronetwork. Paraneoplastic neurologic syndrome in the PNS Euronetwork database: a European study from 20 centers. *Arch Neurol.* 2010 Mar;67(3):330-335.
21. Graus F, Keime-Guibert F, Reñe R, Benyahia B, Ribalta T, Ascaso C, Escaramis G, Delattre JY. Anti-Hu-associated paraneoplastic encephalomyelitis: analysis of 200 patients. *Brain.* 2001 Jun;124(6):1138-1148.

22. Graus F, Lang B, Pozo-Rosich P, Saiz A, Casamitjana R, Vincent A. P/Q type calcium-channel antibodies in paraneoplastic cerebellar degeneration with lung cancer. *Neurology*. 2002 Sep 10;59(5):764-766.
23. 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.
24. Greenlee JE, Clawson SA, Hill KE, Wood BL, Tsunoda I, Carlson NG. Purkinje cell death after uptake of anti-Yo antibodies in cerebellar slice cultures. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2010 Oct;69(10):997-1007.
25. Haddad L, Amsterdam A, Chi DS. Celiac disease presenting as a paraneoplastic syndrome in a patient with synchronous endometrial and ovarian cancers. *Gynecol Oncol*. 2005 May;97(2):704-706.
26. 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.
27. Honnorat J. Onconeural antibodies are essential to diagnose paraneoplastic neurological syndromes. *Acta Neurol Scand*. 2006; 113 (supl. 183): 64–68

28. Imran A, Neelam F, Tariq M. Incidence of circulating antinuclear antibodies in cancer patients. *Indian J Med Sci.* 2003 Mar;57(3):113-116.
29. Kathryn J. Ruddy, Fred H. Hochberg, Paranowotworowe zespoły neurologiczne str.421-425 1. Daniluk I. http://www.czelej.com.pl/images/file/Onkologia/421-423%20od7563-008_book-4.pdf
30. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. *Arch Pathol Lab Med.* 2000 Jan;124(1):71-81.
31. Kornafel J., Mądry R. , Rak trzonu macicy. Nowotwory złośliwe jajnika „Nowotwory kobiecego układu płciowego” - Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych 2013: 286-294, 299-308.
32. Kozubski W., Michalak S., Neurologiczne zespoły paranowotworowe, *Polski przegląd Neurologiczny* 2008 (4)
33. Krzakowski M. „Zespoły paranowotworowe artykuł poglądowy” - *Polska Medycyna Paliatywna* 2002, tom 1, nr 2.
34. Krajowy Rejestr Nowotworów - <http://onkologia.org.pl>

35. Lewis MA., Hartmann LC., LaChance DH, Jimenez RE., Opsoclonus as a suspected paraneoplastic syndrome of endometrial cancer *Rare Tumors*. 2010 Sep 30; 2(3): 42.
36. 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.
37. 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.
38. Markowska J., Pawałowska M., *Epidemiologia i etiopatogeneza raka endometrium. Zarys Ginekologii Onkologicznej po redakcją Janiny Markowskiej i Radosława Mądrego*. Poznań 2015, wyd.2:11-26.
39. 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.
40. 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.

41. Michalak S, Kozubski W. Neurologiczne zespoły paranowotworowe. Pol Prz. Neurol. 2008; 4(1): 26-31.
42. Michalak S. Klasyfikacja I rozpoznawanie neurologicznych zespołów paranowotworowych. Pol Prz Neurol. 2008; 4(4): 163-167.
43. 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.
44. Michalak S., Neurologiczne zespoły paranowotworowe, Neuroimmunologia kliniczna Wydanie II 2015: 143-158.
45. Moll WB., Antoine JC., Brashear HR., Delattre J., Drlicek M., Dropcho EJ., Giometto B., Graus F., Greenlee J., Honnorat J., Jaeckle KA., Tanaka K., Vecht ChJ., Guidelines on the detection of paraneoplastic anti-neuronal-specific antibodies
46. Monstad SE. Storstein A. Dorum A. Kundsén A. Lonning PE. Salvesen HB. Aarseth JH. Vedeler CA. Yo antibodies on ovaria and Brest cancer patients detected by a sensitive immunoprecipitation technique Clin Exp Immunol. 2006; 144(1): 53-58.
47. Morice P. , Leary A., Creutzberg C., Abu-Rustum N. , Emile Darai E., Endometrial cancer. Lancet Volume 387, No. 10023, 1094–1108.

48. Nasierowska-Guttmejer A. , Grajkowska W., Bardadin K., Diagnostyka histopatologiczna rozrostów błony śluzowej trzonu macicy. Część II Curr. Gynecol. Oncol. 2009, 7 (4), p. 226-236.
49. Nowacki P., Neuropatologiczne podłoże zespołów paranowotworowych, Polski Przegląd Neurologiczny 2008 (4): 168-174.
50. Pang KK, de Sousa C, Lang B, Pike MG. A prospective study of the presentation and management of dancing eye syndrome/opsoclonus-myoclonus syndrome in the United Kingdom. Eur J Paediatr Neurol. 2010 Mar;14(2):156-61.
51. Pittock SJ, Lucchinetti CF, Parisi JE, Benarroch EE, Mokri B, Stephan CL, Kim KK, Kilimann MW, Lennon VA. Amphiphysin autoimmunity: paraneoplastic accompaniments. Ann Neurol. 2005 Jul;58(1):96-107.
52. Plonquet A, Gherardi RK, Créange A, Antoine JC, Benyahia B, Grisold W, Drlicek M, Dreyfus P, Honnorat J, Khouatra C, Rouard H, Authier FJ, Farcet JP, Delattre JY, Delfau-Larue MH. Oligoclonal T-cells in blood and target tissues of patients with anti-Hu syndrome. J Neuroimmunol. 2002 Jan;122(1-2):100-105.
53. Poręba R., Rak endometrium – objawy, diagnostyka. Zarys Ginekologii Onkologicznej po redakcją Janiny Markowskiej i Radosława Mądrego Poznań 2012 wyd.1: 29-39.

54. Pranzatelli MR, Travelstead AL, Tate ED, Allison TJ, Moticka EJ, Franz DN, Nigro MA, Parke JT, Stumpf DA, Verhulst SJ. B- and T-cell markers in opsoclonus-myoclonus syndrome: immunophenotyping of CSF lymphocytes. *Neurology*. 2004 May 11;62(9):1526-1532.
55. Rees JH. Paraneoplastic syndromes: when to suspect, how to confirm, and how to manage *J Neurol Neurosurg Psych*. 2004; 75(suppl 2):43-50.
56. 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.
57. Roman LD., Muderspach LI., Stein SM., Laifer-Narin S., Groshen S., Morrow CP. Pelvic examination, tumor marker, and Gray-scale and Doppler sonography In the prediction of pelvic cancer. *Obstet Gynecol*. 1997; 89(4): 493-500.
58. Rosenfeld MR, Dalmau J. Current Therapies for Paraneoplastic Neurologic Syndromes. *Curr Treat Options Neurol*. 2003 Jan;5(1):69-77.
59. Rosenblum MK. Paraneoplasia and autoimmunologic injury of the nervous system: the anti-Hu syndrome *Brain Pathol*. 1993;3(3):199-212.
60. Rybacka-Mossakowska J., Michalak S., Znaczenie badań laboratoryjnych w diagnostyce chorób autoimmunologicznych układu nerwowego u dzieci. *Diagnosta laboratoryjny* 2015 (38): 24-27.

61. Scholz J, Vieregge P, Ruff C. Paraneoplastic opsoclonus-myoclonus syndrome in metastatic ovarian carcinoma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994; 57(6): 763-764.
62. Shams'ili S, Grefkens J, de Leeuw B, van den Bent M, Hooijkaas H, van der Holt B, Vecht C, Sillevs Smitt P. Paraneoplastic cerebellar degeneration associated with antineuronal antibodies: analysis of 50 patients. *Brain*. 2003 Jun;126(Pt 6):1409-1418.
63. Sheikhabaei S, Marcus CV, Fragomeni RS, Rowe SP, Javadi MS, Solnes LB. Whole-Body 18F-FDG PET and 18F-FDG PET/CT in Patients with Suspected Paraneoplastic Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy. *J Nucl Med*. 2017 Jul;58(7):1031-1036.
64. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin*. 2013 Jan;63(1):11-30.
65. 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 neuropathy *J Neurol*. 2002; 249(6): 745-775.
66. Storstein A, Krossnes B, Vedeler CA. Autopsy findings in the nervous system and ovarian tumour of two patients with paraneoplastic cerebellar degeneration. *Acta Neurol Scand Suppl*. 2006;183:69-70.

67. Swieten, J. C., Koudstaal, P. J., Visser, M. C., Schouten, H. J., van Gijn, J. (1988). Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients., *Stroke*. 1988 May;19(5):604-607.
68. Tanaka M, Maruyama Y, Sugie M, Motizuki H, Kamakura K, Tanaka K. Cytotoxic T cell activity against peptides of Hu protein in anti-Hu syndrome. *J Neurol Sci*. 2002 Sep 15;201(1-2).
69. Tanaka Y., Suzuki N. Takao M., Ichikawa A., Susumu N., Aoki D., Paraneoplastic cerebellar degeneration with fallopian tube adenocarcinoma. *Gynecologic Oncology* Volume 99, Issue 2, November 2005, 500-503.
70. Thomas J., Kindt TJ., Osborne BA., Goldsby R. *Kuby Immunology Paperback – Import*, 9 Oct 2006.
71. Totland C. , Aarskog NK., Eichler TW., Haugen M., Nøstbakken JK., Monstad SE., Salvesen HB., Mørk S., Haukanes BI., Vedeler ChA. CDR2 antigen and Yo antibodies *Cancer Immunol Immunother*. 2011 Feb; 60(2): 283–289.
72. Vasku M., Papathelemis T., Maass N., Meinhold-Heerlein I., Bauerschlag D., Endometrial Carcinoma Presenting as Vasculitic Sensorimotor Polyneuropathy *Case Rep. Obstet Gynecol*. 2011

73. Vedeler CA, Antoine JC, Giometto B, Graus F, Grisold W, Hart IK, Honnorat J, Sillevs Smitt PA, Verschuuren JJ, Voltz R; Paraneoplastic Neurological Syndrome Euronetwork. Management of paraneoplastic neurological syndromes: report of an EFNS Task Force. *Eur J Neurol*. 2006 Jul;13(7):682-90.
74. Vernino S, O'Neill BP, Marks RS, O'Fallon JR, Kimmel DW. Immunomodulatory treatment trial for paraneoplastic neurological disorders. *Neuro Oncol*. 2004 Jan;6(1):55-62.
75. Voltz R. Paraneoplastic neurological syndromes: an update on diagnosis, pathogenesis, and therapy. *Lancet Neurol*. 2002 Sep;1(5):294-305.
76. Wada Ch., Hua ChNC., Carney ME., Paraneoplastic Syndrome in Hawai'i: A Case of Dermatomyositis Associated with Endometrial Cancer *Hawaii J Med Public Health*. 2014 Apr; 73(4): 112–114.
77. Wong-Kisiel LC, Ji T, Renaud DL, Kotagal S, Patterson MC, Dalmau J, Mack KJ. Response to immunotherapy in a 20-month-old boy with anti-NMDA receptor encephalitis. *Neurology*. 2010 May 11;74(19):1550-1551.