

MUDr. Jiří Presl, Ph.D.

# Sérové nádorové markery užívané v diagnosticko - léčebném algoritmu v onkogynekologii

Serum tumor markers used in the diagnostic and therapeutic algorithm  
in oncogynecology

(Komentovaný soubor prací)

Habilitační práce

Plzeň 2019

Pracoviště: Gynekologicko – porodnická klinika FN Plzeň  
přednosta doc. MUDr. Zdeněk Novotný, CSc.  
Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni

MUDr. Jiří Presl, Ph.D.

# Sérové nádorové markery užívané v diagnosticko - léčebném algoritmu v onkogynekologii

Serum tumor markers used in the diagnostic and therapeutic algorithm  
in oncogynecology

(Komentovaný soubor prací)

Habilitační práce

Plzeň 2019

Pracoviště: Gynekologicko – porodnická klinika FN Plzeň  
přednosta doc. MUDr. Zdeněk Novotný, CSc.  
Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni

# Obsah

<b>ZKRATKY</b> .....	<b>4</b>
<b>CÍL PRÁCE</b> .....	<b>6</b>
<b>ÚVOD</b> .....	<b>7</b>
<b>PREVENCE A SCREENING</b> .....	<b>9</b>
<b>NÁDOROVÉ MARKERY – OBECNÝ ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>OVARIÁLNÍ KARCINOM</b> .....	<b>12</b>
EPIDEMIOLOGIE .....	12
ETIOPATOGENEZE .....	14
KLINICKÁ MANIFESTACE A DIAGNOSTIKA .....	15
LÉČBA A JEJÍ MONITORACE .....	16
FOLLOW-UP .....	16
PROGNOSTICKÉ FAKTORY OVARIÁLNÍHO KARCINOMU .....	17
RIZIKOVÉ A PROTEKTIVNÍ FAKTORY .....	19
„SCREENING OVARIÁLNÍHO KARCINOMU“ .....	20
<i>Nádorové markery a ovariální karcinom</i> .....	21
<b>ENDOMETRIÁLNÍ KARCINOM</b> .....	<b>36</b>
EPIDEMIOLOGIE .....	36
ETIOPATOGENEZE .....	38
KLINICKÁ MANIFESTACE A DIAGNOSTIKA .....	40
LÉČBA A JEJÍ MONITORACE .....	40
FOLLOW-UP .....	42
PROGNOSTICKÉ FAKTORY ENDOMETRIÁLNÍHO KARCINOMU .....	42
RIZIKOVÉ A PROTEKTIVNÍ FAKTORY .....	43
„SCREENING ENDOMETRIÁLNÍHO KARCINOMU“ .....	44
<i>Nádorové markery a endometriální karcinom</i> .....	45
<b>CENA:</b> .....	<b>47</b>
<b>SOUHRN:</b> .....	<b>48</b>
<b>SUMMARY:</b> .....	<b>50</b>
<b>PŘÍLOHY – JAK UVEDENÉ V TEXTU:</b> .....	<b>52</b>
<b>V PRÁCI UVÁDĚNÉ A KOMENTOVANÉ PUBLIKACE:</b> .....	<b>208</b>
<b>DALŠÍ PUBLIKACE:</b> .....	<b>210</b>
<b>LITERATURA:</b> .....	<b>212</b>

## Zkratky

ČR	- Česká republika
ÚZIS	- Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR
NOR	- Národní onkologický registr
NACB	- National Academy of Clinical Biochemistry
CA125	- Cancer antigen 125
HE4	- Human epididymis protein 4
CA19-9	- Cancer antigen 19-9
CEA	- Karcinoembryonální antigen
CA15-3	- Cancer antigen 15-3
AFP	- Alfa-1-fetoprotein
SCC	- Squamous cell carcinoma antigen
CYFRA 21-1	- Cytokeratin fragment 21-1
LD	- Laktát dehydrogenáza
hCG	- Human chorionic gonadotropin
BYFSTIC	- Brush cytology of Fallopian tube in detection of STIC
STIC	- Serous tubal in situ carcinoma
CEEGOG	- Central and Eastern European Gynecologic Oncology Group
CT	- Computed Tomography
ROMA	- Risk of Ovarian Malignancy Algorithm
BRCA1/2	- Breast Cancer
ER/PR	- Estrogen receptors/Progesterin receptors
L1CAM	- L1 Cell Adhesion Molecule
Ki67 (MIB1)	- proliferací marker – mindbomb E3 ubiquitin protein ligase 1
DFI	- Disease free interval
OS	- Overall survival
HRT	- Hormone replacement therapy
HNPCC	- Lynchův syndrom – Hereditary nonpolyposis colorectal cancer
IUD	- Intrauterine device
MUC16	- Mucin 16, cell surface associated
PLCO studie	- Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer screening trial
BMI	- Body mass index
RR	- Relative Risk

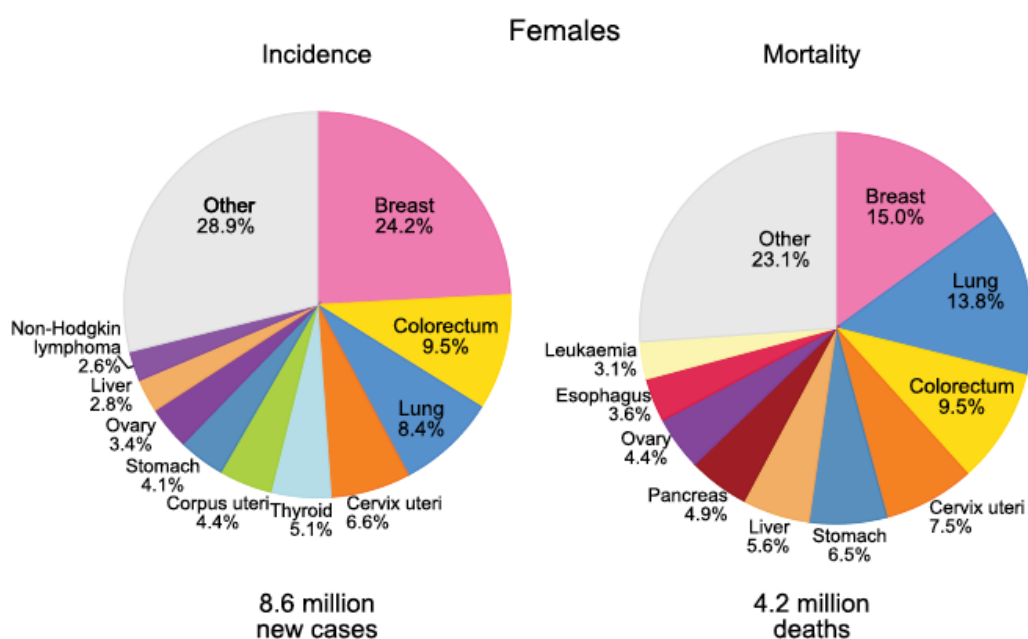
IOTA	- International Ovarian Trial Analysis
AGO	- Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie
PFS	- Progression free survival
FDA	- Food and Drug Administration
EGTM	- The European Group on Tumor Markers
NIH	- National Institutes of Health
WFDC2	- Whey acidic four-disulfide core 2
FSH	- Folikulostimulační hormon
AUC	- Area Under the Curve
PPH	- Pozitivní prediktivní hodnota
NPH	- Negativní prediktivní hodnota
ESGO	- European Society of Gynaecological Oncology
EORTC	- European Organisation for Research and Treatment of Cancer
UKCTOCS	- UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening
UKFOCSS	- UK Familial Ovarian Cancer Screen Study
MMS	- Multi-modal screening
ROCA	- Risk of Ovarian Cancer Algorithm
MSI	- Microsatellite Instability
POLE	- Polymerase epsilon
STUMP	- Smooth muscle Tumors of Uncertain Malignant Potential
ALK	- Anaplastic Lymphoma kinase
IMT	- Inflammatory Myofibroblastic Tumor
OSNA	- One Step Nucleic Acid Amplification
LBC	- Liquid Based Cytology

## **Cíl práce**

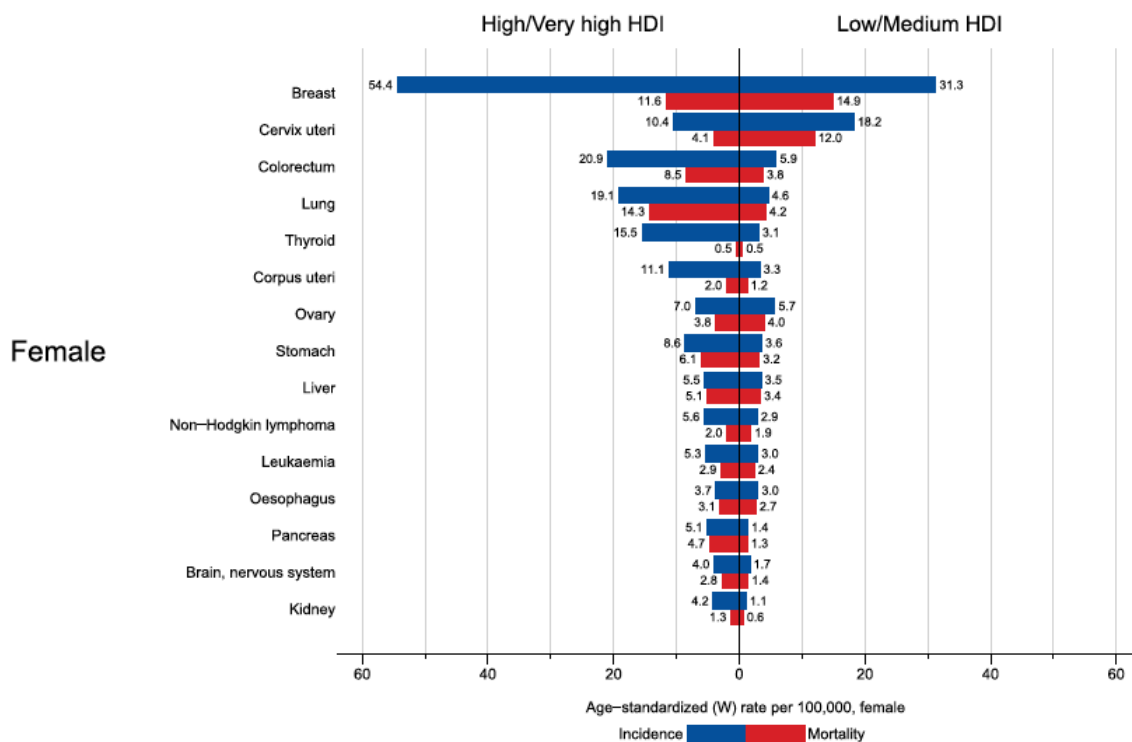
Habilitační práce, jak předkládána, představuje komentovaný soubor vybraných publikací autora. Její struktura je zvolena jako summary výukového textu, který v tomto přehledném formátu dává možnost poukázat a komentovat vybrané práce, jež jdou napříč onkogynekologií ovariálního a endometriálního karcinomu. Hlavní náplň tvoří problematika nádorových markerů. Text tvoří celek, dokládající dlouhodobou vědecko-výzkumnou a edukační činnost autora.

## Úvod

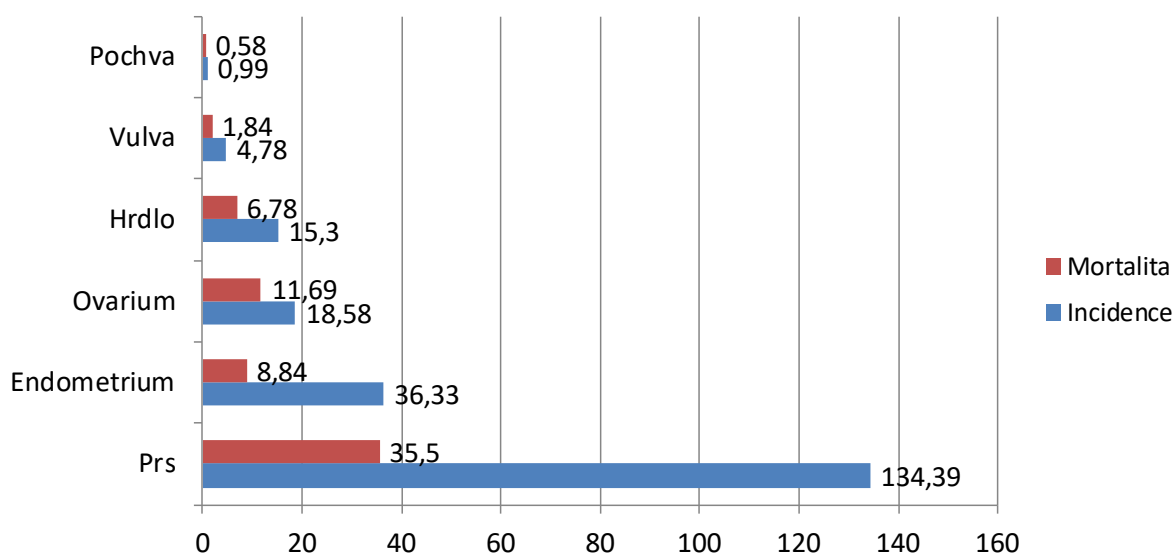
Onkogynekologie je rychle se rozvíjející gynekologická subspecializace. S novými molekulárně-genetickými poznatky postupně nahlížíme na samý počátek kancerogeneze a moderními diagnostickými postupy postupně směřujeme k přísně individualizované léčbě. Prakticky všechny gynekologické malignity najdeme společně s karcinomem prsu, kolorekta a plic na pomyslném žebříčku incidence umístěné do 7. místa (Graf 1., 2., 3.). Z toho plyne, s jak velkým celosvětovým problémem se potýkáme a nutnost časného záchytu je tak zásadním prognostickým faktorem.



Graf 1. – koláčový graf zobrazující distribuci incidence a mortality pro 10 nejčastějších ženských malignit v roce 2018 ve světě – GLOBOCAN 2018.



Graf 2. – sloupkový graf věkově standardizované incidence a mortality pro 15 nejčastějších ženských malignit v roce 2018 ve světě dle indexu – high/very high human development index regions versus low/medium human development index regions – GLOBOCAN 2018.



Graf 3. – sloupkový graf incidence a mortality na 100000 žen u gynekologických zhoubných nádorů v ČR za rok 2016 – ÚZIS – NOR 2019



## Prevence a screening

Ideálním postupem je předcházet vzniku nádorového onemocnění. Primární prevencí jsme schopni sami do určité míry ovlivnit vznik sporadických malignit (boj proti kouření a alkoholizmu, vakcinace proti papilomavirům, podpora zdravého životního stylu – boj proti obezitě, výchova ke zdravé výživě) a profylaktickými výkony zasáhnout s předstihem u hereditárních onemocnění. Ukazatelem našeho úspěchu je pak pokles incidence daného onemocnění. Postupy sekundární prevence můžeme v některých případech zachytit časná stádia nádorových onemocnění či přednádorové stavy, s cílem zlepšit dlouhodobé výsledky jejich léčby. Ukazatelem úspěšnosti těchto postupů je snížení mortality resp. nárůst podílu časných stádií v celkovém počtu nemocných. K dispozici máme 3 screeningové programy – karcinomu děložního hrdla (založený na onkologické cytologii), karcinomu prsu (založený na mamografii) a kolorektálního karcinomu (založený na testu na okultní krvácení do stolice).

V České republice byl v lednu 2014 zahájen program adresného zvaní občanů do screeningových programů zhoubných nádorů. Jeho cílem je posílit stávající programy prevence a zvýšit dosud nedostatečnou účast. Program zastřešuje Ministerstvo zdravotnictví České republiky. Vlastní zvaní pak provádějí zdravotní pojišťovny.

V rámci sekundární prevence také vyhledáváme a dispenzarizujeme jedince s hereditárním rizikem vzniku karcinomu prsu, vaječníku a endometria. Terciární a kvartérní prevence jsou pak zaměřené na délku přežití již nemocných pacientů a jejich kvalitu života. Centralizace péče, dispenzarizace a podpůrné programy jsou vlastními nástroji terciární a kvartérní prevence(1). Onkogynekologie se může pyšnit fungujícími nástroji primární i sekundární prevence zlepšujícími výsledky incidence a mortality cervikálního karcinomu. Úspěch jde na vrub rostoucí proočkování cílové populace, i rostoucí coverage screeningového programu založeného na onkologické cytologii z hrdla děložního. Již zmíněný rozvoj onkogynekologie jako komplexního oboru se dále odráží ve zlepšujících se programech terciární i kvartérní prevence u téhož onemocnění. Při pokračující aplikaci těchto postupů v rozvinutém světě a snahách aplikovat některé postupy do rozvojových zemí, bychom mohli tuto závažnou malignitu v následujících desetiletích téměř vymýt. Vzhledem k tomu, že se jedná ve své podstatě o infekční onemocnění, způsobené lidským papilomavirem, máme k tomu ideální „podmínky“.

Pro dvě nejčastější gynekologické malignity – karcinom endometria a karcinom ovaria neexistuje žádný funkční screeningový program, žádný využitelný test, kterým bychom mohli

dosáhnout podobných výsledků jako u karcinomu děložního hrdla. U těchto malignit se musíme spolehnout na správné vyhodnocení symptomů pacientky a dostupných nescreeningových vyšetření. I proto zůstává incidence relativně vysoká.

## Nádorové markery – obecný úvod

Žádný ze tří fungujících screeningových programů není založen na stanovení sérových hodnot nádorových markerů. Tyto látky a jejich stanovení jsou využitelné s vědomím jejich limitů na několika úrovních péče o pacienta/ku. V klinické praxi mohou být využité v rámci diferenciální diagnostiky nebo v rámci terciární prevence (např. při monitorování účinnosti zvoleného léčebného režimu, diagnostika perzistence a recidivy onemocnění). V rámci screeningu selhávají z důvodu nízké senzitivity i specificity. Aby byl marker vhodný pro screening, musel by mít 95% specificitu a alespoň 90% senzitivitu. Tyto podmínky však žádný dostupný marker v onkogynekologii nespĺňuje.

NACB – The National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine – definuje nádorové markery jako ... „zástupné indikátory, které zvyšují či snižují obavu/podezření klinika, že v budoucnu nastane či nenastane událost, jako vznik malignity, rekurence, progresse malignity nebo smrt pacienta a/nebo že specifická léčba sníží riziko takové události“.

Nádorové markery jsou látky měřitelné kvantitativně stejně jako hormony, enzymy apod. a jejich přítomnost může indikovat přítomnost nádorového onemocnění. Jsou produkovány buď vlastním tumorem (markery s nádorem asociované) nebo organismem jako reakce na přítomnost tumoru (markery nádorem indukované). Markery je možné detekovat ve tkáních histopatologicky (celulární) nebo mohou být detekovány v séru či jiných tekutinách (humorální). Snadná detekce je velice důležitou podmínkou pro rutinní využití.

Hlavní rozvoj týkající se nádorových markerů byl v onkogynekologii zaznamenán s objevením CA125 v roce 1981 týmem prof. Basta (2). Ačkoli v následujících letech proběhla celá řada studií zabývajících se dalšími markery, žádný z nich nenašel v onkogynekologii takové široké použití právě jako marker CA125. V roce 1999 byl popsán další marker HE4 (human epididymis protein 4), který byl v následujících 10 letech uveden do klinické praxe. Další markery - CA19-9, CEA, CA15-3, AFP, SCC, CYFRA 21-1, inhibin, LD, hCG – jsou

využitelné pouze omezeně, např: v rámci doplnění diferenciální diagnostiky mezi gynekologickým a gastrointestinálním origem tumoru nebo u neepiteliálních nádorů ovaria.

V dalším textu budu komentovat zejména námi zkoumané markery CA125 a HE4 u dvou nejčastějších gynekologických malignit – karcinomu ovaria a endometria, a dále vztah těchto markerů k některým benigním gynekologickým jednotkám.

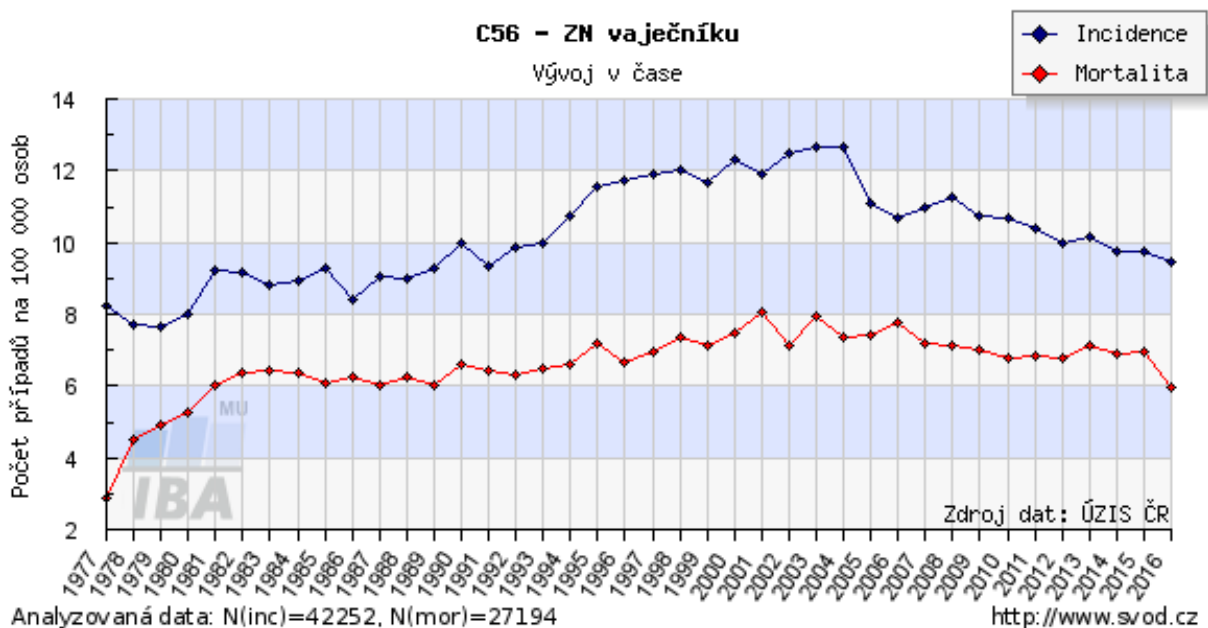
Naše hlavní výzkumná pozornost byla a je věnována ovariálnímu karcinomu, proto i v této práci bude většina prostoru věnována této závažné malignitě. Karcinom endometria pak byl druhou námi nejčastěji studovanou malignitou.

# Ovariální karcinom

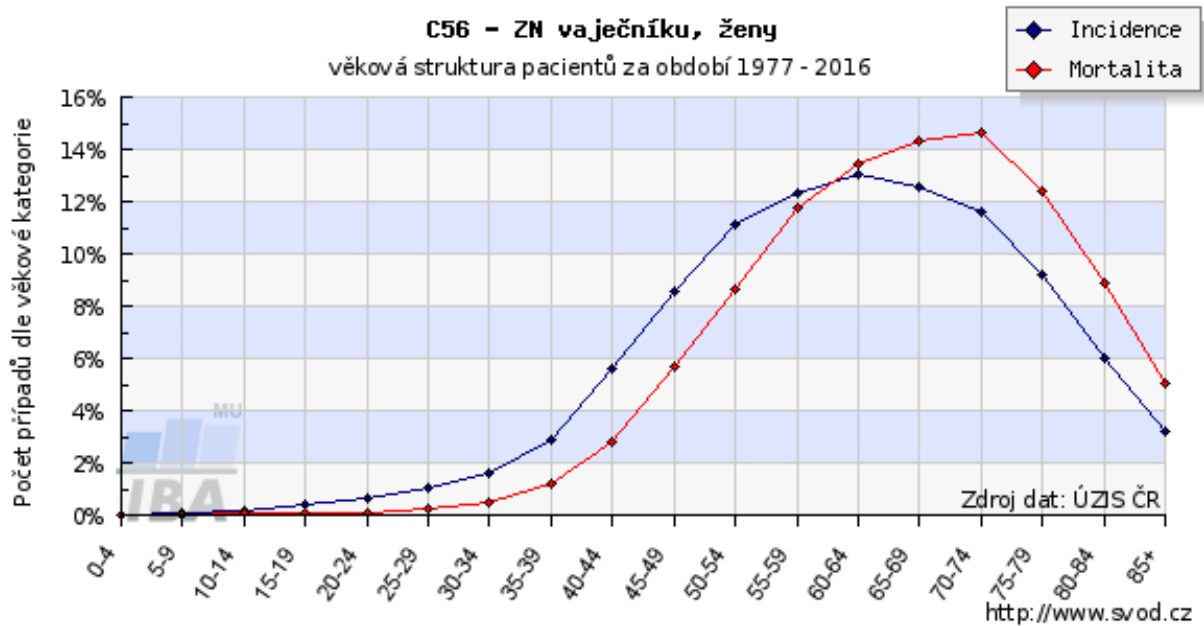
## Epidemiologie

Ovariální karcinom je v České republice 2. nejčastější gynekologická malignita (3) a 7.-8. nejčastější nádorové onemocnění u žen. Ve světě stojí na 8. příčce (4). Podle nejaktuálnějších dat ÚZIS ČR bylo v roce 2016 zachyceno 18,5 nových případů na 100000 žen, což v absolutních číslech znamená 998 nových případů karcinomu vaječníku a téměř 12 na 100000 jich na toto onemocnění zemřelo, což opět převedeno do absolutních čísel znamená 628 zemřelých z důvodu ovariálního karcinomu (3) (Graf 4., 5.). Za těmito čísly stojí zejména fakt, že téměř 75-80% případů je diagnostikováno v pokročilém stádiu, tedy s velmi malou šancí na úplné vyléčení (Graf 6.). Mortalita za posledních 30 let klesla jen mírně. Pětileté přežití bez ohledu na stadium onemocnění se pohybuje mezi 40-50% i při maximálně vynaloženém léčebném úsilí. Pětileté přežití v časných stádiích přesahuje 90% ve stadiu I, tedy u lokálního onemocnění. V případě regionálního postižení dochází k poklesu na 75-80% a v případě vzdálených metastáz klesá dramaticky na 25% (5, 6). Časná diagnostika je prakticky nemožná. Toto onemocnění zatím stále vzdoruje všem pokusům o vytvoření efektivního screeningového programu. Snahy o jeho vývoj je možné datovat právě do doby, kdy se široce začal využívat marker CA125 a následně i s širokým rozvojem ultrasonografie a zejména v rukou sonografisty experta.

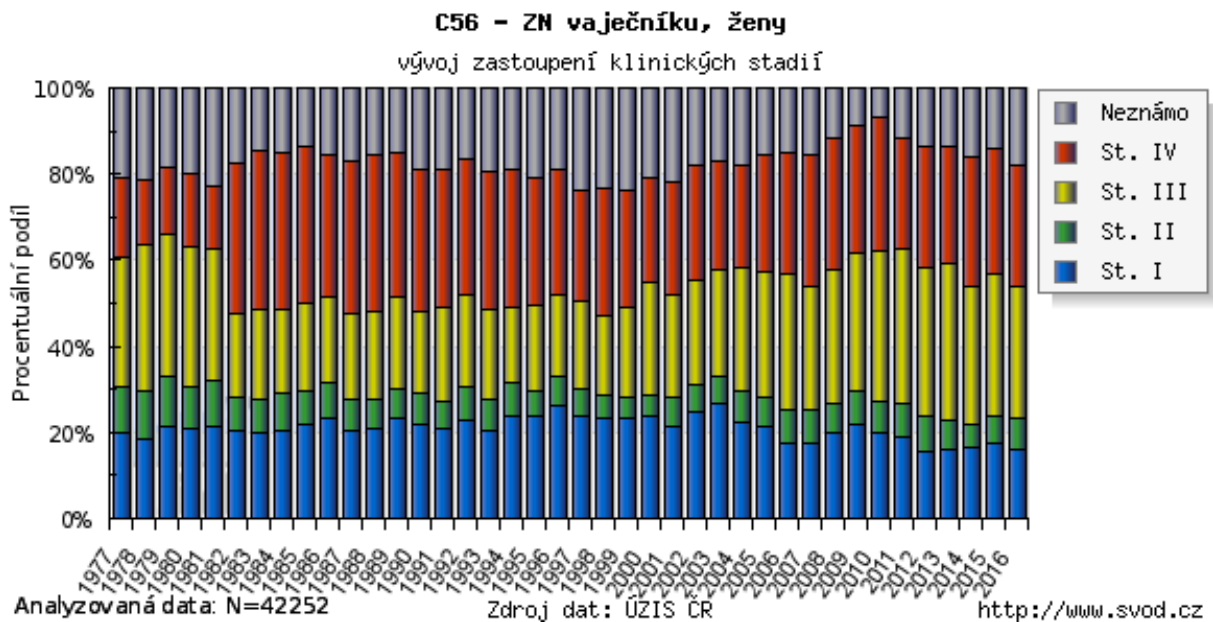
**Graf 4. - Časový vývoj hrubé incidence a mortality**



**Graf 5. - Věková struktura pacientů**



**Graf 6. - Zastoupení klinických stadií v čase**



## Etiopatogeneze

Ovariální karcinom je onemocnění, které bylo po dlouhou dobu vnímané jako jedna jednotka. Opak je pravdou. Dnes víme, a naše znalosti se s molekulárně-genetickými poznatky dále prohlubují, že ovariální karcinom je heterogenní skupinou nádorových onemocnění několika histologických typů, různého chování, místa vzniku, klinických charakteristik, molekulárního pozadí a prognózy (7). Rozlišujeme typ I a II. A právě i tato heterogenita dále ovlivňuje pokusy o vytvoření screeningových programů.

V 70-75% případech diagnostikujeme high-grade serózní ovariální karcinom, tedy jednotku, která vzniká z prekursorů lokalizovaných ve většině případů v distálním konci vejcovodu (STIC – serózní tubární intraepiteliální karcinom), jejichž detekce je prakticky nemožná a k progresi onemocnění dochází velmi rychle (7).

**V recenzovaném on-line časopise Aktuální Gynekologie a Porodnictví jsme publikovali v dubnu 2018 přehledový článek zabývající se novým pohledem na etiopatogenezi ovariálního karcinomu. Článek krom vlastního dělení ovariálního karcinomu na 2 typy, jak zmíněno výše, reflektuje i praktické dopady tohoto nového přístupu. Jedním z nich je snaha zaměřit „screeningové“ nástroje na detekci STIC buněk v genitálním traktu.**

*/Strana 52 habilitační práce/*

**BOUDA, J., PRESL, J., VLASAK, P., et al. New opinion on the pathogenesis of ovarian carcinoma. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2018, 10 p. 19-22.**

**Z našeho týmu ve spolupráci s Gynekologicko-porodnickou klinikou FN Brno a Patologickým ústavem FN Brno vychází pilotní projekt, který právě čeká na publikování formou manuskriptu v zahraničním impaktovaném časopise. Na počátku stál projekt BYFSTIC - Brush cytology of Fallopian tube in detection of STIC – hysteroskopicky asistovaný odběr buněk z lumen vejcovodu kartáčkem. Pro technické překážky při odběru jsme se zaměřili na popis cytologických charakteristik buněk získaných *ex vivo* kartáčkem z vejcovodů u pacientek, které podstoupily adnexektomii z různých indikací. Protože je známo, že prekanceróza pánevního high-grade serózního karcinomu STIC má jasné histologické charakteristiky, pak se cytologický a imunohistochemický korelát v buněčných vzorcích získaných brush cytologií z vejcovodů nabízel jako nejvhodnější pro srovnávací studii. Cytologické vyšetření vejcovodů v našem souboru dosáhlo excelentní buněčnosti a senzitivity a specificity v detekci high-grade serózního karcinomu (senzitivita 80,0%, specificita 90,5%).**

Mezi další nejčastější histologické typy patří endometroidní karcinom a světlóuněčný karcinom, oba zastoupené cca 10%, low-grade serózní karcinom tvořící cca 5% nálezů a další. **V časopisu Česká gynekologie jsme publikovali vzácný případ agresivního malobuněčného karcinomu ovaria hyperkalcemického typu u mladé ženy, který patří mezi malignity s velice špatnou prognózou.**

*/Strana 57 habilitační práce/*

**KAPOUN, M., BOUDA, J., PRESL, J., et al. Aggressive small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type, surgery and oncological treatment: case report. *Ceska Gynekol.* 2015, 80 (3), p. 218-221.**

**Další raritní kazuistikou publikovanou v impaktovaném časopisu *Journal of Obstetrics and Gynaecology* v říjnu 2015 je případ oligodendrogliomu vyrůstajícího ve zralém cystickém teratomu. Nejedná se sice o epitelový tumor, ale o vzácný případ germinálního tumoru.**

*/Strana 62 habilitační práce/*

**BARTAKOVA, A., ONDIC, O., PRESL, J., et al. Oligodendroglioma originating in mature cystic teratoma. *J Obstet Gynaecol.* 2016, 36 (2), p. 269-270.**

## **Klinická manifestace a diagnostika**

Ovariální karcinom nemá žádný specifický příznak, a tak jsou ženy často vyšetřeny nejprve u praktického lékaře či na interním oddělení pro zažívací potíže. Gynekologické vyšetření v iniciálních stádiích často selhává a když přijde na řadu později, je již nádor většinou generalizovaný. Mezi současná obligatorní vyšetření v diagnostickém schématu ovariálního karcinomu patří klinický obraz / klinické vyšetření, ultrazvukové vyšetření ideálně v rukou expertního sonografisty a biopsie (tru-cut, cestou laparoskopie či laparotomie).

**V recenzovaném on-line časopise *Aktuální Gynekologie a Porodnictví* jsme publikovali v dubnu 2017 přehledový článek a naše zkušenosti s ultrazvukem navigovanou biopsií (tru-cut) v managementu pánevních tumorů.**

*/Strana 66 habilitační práce/*

**VLASAK, P., KOSTUN, J., BEREZOVSIIY, D., et al. Role of ultrasound-guided biopsy in the management of pelvic tumors. *Aktualni Gynekologie a Porodnictvi.* 2017, 9 p. 1-4.**

Na většině pracovišť patří do primárního kontaktu i odběr sérových nádorových markerů. Těm se věnuje podrobně jedna z následujících kapitol práce.

## Léčba a její monitorace

Vlastní léčba ovariálního karcinomu ve všech stádiích sestává z kombinace radikální chirurgie a systémové léčby chemoterapií. Řadou studií ověřené schéma primární či intervalové radikální operace, při které je dosaženo nulového pooperačního nádorového rezidua, a chemoterapie založené na platinovém derivátu a taxanu, je zlatým standardem léčby posledních desetiletí (1). Úspěšnost léčby je stanovena zhodnocením klinického stavu, zobrazovacích vyšetření a hodnot nádorových markerů.

**V recenzovaném on-line časopise Aktuální Gynekologie a Porodnictví jsme publikovali v dubnu 2018 dva přehledové články zabývající se novými trendy v systémové léčbě ovariálního karcinomu a významem chirurgie ovariálního karcinomu. Články akcentují obě léčebné modalitty, resp. jejich kombinaci, jako základ úspěšné léčby s cílem o dosažení maximálně možného PFS a OS.**

*/Strana 71 a 76 habilitační práce/*

**KOSTUN, J., VLASAK, P., BOUDA, J., et al. The principles of the surgical treatment in ovarian cancer patients. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2018, 10 p. 10-13.**

**VLASAK, P., BOUDA, J., KOSTUN, J., et al. New trends in systemic treatment of ovarian cancer. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2018, 10 p. 4-9.**

## Follow-up

Po léčbě jsou všechny pacientky sledované na pracovišti provádějícím léčbu. Většinou se tak děje v rámci onkogynekologických center. Intervaly vyšetření a strategie (obsah vyšetření) sledování jsou individuální. Náplní follow-up je zejména sledování symptomů možné recidivy, případně provedení zobrazovacího vyšetření. U těch pacientek, kde byly vstupně zvýšené nádorové markery, jsou vhodným doplněním uvedených přístupů. Většina center využívá převážně marker CA125, spíše ojediněle je užíván marker HE4. Data k jeho rutinnímu využití zatím chybí.



V rámci skupiny CEEGOG jsem společně s doc. MUDr. V. Weinbergerem, Ph.D., primářem Gynekologicko-porodnické kliniky FN Brno, iniciátorem a hlavním autorem prospektivní multicentrické mezinárodní studie s názvem: **The Role of HE4 in the Follow-up of Advanced Ovarian, Fallopian Tube and Primary Peritoneal Cancer – HE4-FU-OVCA, CEEGOG OX-01, ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02687321**, jejímž primárním cílem je: **zhodnotit a porovnat efektivitu markerů CA125 a HE4 ve follow-up ovariálního karcinomu z pohledu času detekce elevace po ukončení první linie léčby, zhodnotit dobu, o jakou předchází detekce elevace markerů detekci onemocnění na CT a zjistit optimální cut-off markeru HE4 ve follow-up těchto malignit.**

**Hypotézy jsou následující: HE4 může být časnější prediktor relapsu ovariálního karcinomu předcházející cca o 5-8 měsíců marker CA125 a klinické příznaky relapsu. Senzitivita a specificita markeru HE4 může být vyšší než u dosud používaného markeru CA125. Marker HE4 může být časnější indikátor relapsu než změny detekovatelné na CT. Výše uvedené předpokládané pozitivní dopady však zatím narážejí na dosud platný pohled na časnou detekci relapsu ovariálního karcinomu z pohledu nedostatku efektivních léčebných nástrojů. Výsledky naší studie by poté mohli sloužit jako podklad pro studie zabývající se právě léčebnými modalitami relapsu a jejich sestavením.**

**Studie byla oficiálně zahájena v dubnu 2016 a stále probíhá. Cílem je zahrnout 150 pacientek a sledování 2 roky po zařazení poslední.**

*/Strana 195 habilitační práce/*

## Prognostické faktory ovariálního karcinomu

Prognostické faktory je možné definovat jako znaky korelující s celkovým přežitím pacienta/ky. Obecně lze říci, že prognostické faktory reflektují vnitřní biologii tumoru (např: histologický typ, grade), rozsah onemocnění (stadium) a schopnost pacientky nést morbiditu spojenou s přítomností tumoru a jeho léčbou (věk, performance status). Stejně jako tyto již před léčbou známé faktory sem lze zařadit další, které mají vliv na léčebný výstup. Jedná se např. o komplex léčby (dosažení nulového pooperačního rezidua tumoru, biologická odpověď na chemoterapii založenou na platinovém derivátu), efekt léčby na tumor (kompletní odpověď na léčbu) a efekt léčby na pacientku (myelosuprese).

Jako klinické nástroje mohou prognostické faktory napomoci ke stratifikaci a individualizaci léčby. Časná versus pozdní stádia onemocnění → histologický typ onemocnění a jeho grade

-> zařazení adjuvantní chemoterapie do léčebného algoritmu s definovaným počtem léčebných cyklů.

Jako výzkumné nástroje mohou prognostické faktory identifikovat podskupinu pacientek se špatnou prognózou a nabídnout jim alternativní, výzkumné léčebné strategie.

Některé již dnes užívané prognostické faktory např. u karcinomu prsu nám pomáhají nahlédnout do biologie tumoru a předpovědět dobrý či špatný léčebný, prognostický výstup – přítomnost estrogenových receptorů, Her2 status apod.

**Této problematice jsme se věnovali v přehledovém článku publikovaném v recenzovaném on-line časopise Aktuální Gynekologie a Porodnictví v červenci 2014 - Možnosti předoperační predikce biologického chování gynekologických pánevních tumorů, kde jsou kromě nádorových markerů zmiňovány i další prediktivně-prognostické nástroje (CA125, HE4, ROMA index, přítomnost BRCA 1/2 mutace, předoperační trombocytózu, neutrophil-to-lymphocyte ratio, a dále tkáňové markery, jako je mutace p53, Her2/Neu pozitivitu, přítomnost ER/PR, pozitivitu L1CAM, dále panel 9 proteinových markerů PROVAR, intraepitelální tumor-infiltrující lymfocyty, stanovení proliferační aktivity pomocí proteinu Ki67 (MIB1), genové expresní profily, proteiny rezistence atd.)**

*/Strana 83 habilitační práce/*

**PRESL, Jiri, ŠEFRHANSOVÁ, Lucie, SEDLÁKOVÁ, Iva, et al. Možnosti předoperační predikce biologického chování gynekologických pánevních tumorů. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2014, 6 p. 53-59.**

Další publikaci zabývající se potencionálním prognostickým faktorem CD44 u ovariálního karcinomu jsme publikovali v srpnu 2017 v impaktovaném časopise Journal of Obstetrics and Gynaecology. Výsledkem retrospektivní studie na 87 pacientkách s verifikovaným ovariálním karcinomem bylo zjištění korelace nízké CD44 exprese na hladině <2% a high grade serozního papilárního karcinomu, rekurence tumoru a chemorezistence. CD44 však není prognostickým faktorem jak pro DFI, tak pro OS.

*/Strana 91 habilitační práce/*

**BARTAKOVA, A., MICHALOVA, K., PRESL, J., et al. CD44 as a cancer stem cell marker and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma. J Obstet Gynaecol. 2018, 38 (1), p. 110-114.**

## Rizikové a protektivní faktory

Identifikace žen s vysokým rizikem vzniku ovariálního karcinomu může pomoci identifikovat skupinu, která bude profitovat z cílené systematické péče. Mezi známé a uznávané rizikové faktory vzniku karcinomu ovaria patří věk (celoživotní riziko vzniku ovariálního karcinomu v nezatížené populaci se udává 1,3% (8)), endokrinní a reprodukční faktory (anamnéza infertility/sterility, endometrióza, užívání HRT, časná menarche, pozdní menopauza, nulliparita, hyperandrogenní syndrom – syndrom polycystických ovarií), environmentální faktory (nezdravý životní styl, obezita, kouření) a faktory genetické. Nejsilnější známý rizikový faktor je rodinná anamnéza resp. právě genetická zátěž pacientky. Riziko u takových žen je ve srovnání s ženami se sporadickým nádorem mnohonásobně větší. Nejznámější germinální mutací je mutace v BRCA1 a BRCA2 genech. **Této problematice je široce věnována část mé publikační aktivity, která je přiložena v závěru habilitační práce.**

*/Strana 98, 104, 109 a 118 habilitační práce/*

**PRESL, J., BOUDA, J., VLASAK, P., et al. Hereditary risk of ovarian cancer and its prophylactic measures. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2018, 10 p. 14-18.**

**PRESL, J. Prevence ovariálního karcinomu v ordinaci gynekologa v souvislosti s detekcí mutace genu BRCA. Gyn Por. 2017, 1(4), p. 249-252.**

**PRESL, J., BOUDA, J., VLASAK, P. et al. Ovariální karcinom – dědičná dispozice. Moderní gynekologie a porodnictví. 2018, 25(2), p. 163-170.**

**ŠUBRT, I., PRESL, J., SVOBODA, T. Možnosti a následné souvislosti vyplývající z genetického testování pacientek s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu a ovaria vlivem mutace BRCA1 a BRCA2. Onkologie (Czech Republic). 2015, 9 (2), p. 58-64.**

Stejně jako u jiných malignit jsou vedle rizikových faktorů známé některé protektivní faktory. Patří mezi ně dokončené těhotenství a jejich počet, kojení, užívání hormonální antikoncepce, sterilizace – ligací vejcovodů nebo salpingektomií, hysterektomie a salpingooforektomie. Souhrn rizikových a protektivních faktorů je uveden v tabulce (Tab. 1).

Tab. 1- Rizikové a protektivní faktory ovariálního karcinomu

Rizikové faktory	Relativní riziko	Celoživotní riziko (%) (8)
Nezatížená populace	1,0	1,3 (8)
BRCA1 mutace		40-60 (9, 10)
BRCA2 mutace		10-30 (9, 10)
Lynchův syndrom (HNPCC)		3-12 (11, 12)
Další genové mutace		
<i>BRIP1</i>		5,8 (13)
<i>RAD51C</i>		5,2 (14)
<i>RAD51D</i>		12 (14)
RA s negativním výsledkem genetického testování	Nejisté (15)	
Infertilita/Sterilita	2,7 (16)	
Endometrioza (riziko clear cell karcinomu, endometroidního karcinomu a low grade serozního karcinomu)	2,0 – 3,0 (17)	
Kouření (zejména riziko mucinozního karcinomu)	2,1 (18)	
IUD	1,7 (19)	
<b>Protektivní faktory</b>		
Užívání hormonální antikoncepce	0,7 (20)	
Kojení delší jak 12 měsíců	0,7 (21)	
Ligace vejcovodů	0,7 (22, 23)	
Dokončené těhotenství	0,7 (24)	

### „Screening ovariálního karcinomu“

Potenciální benefit screeningu ovariálního karcinomu je záchyt onemocnění ve stadiu lokalizovaném v orgánu svého původu, v kurabilním stádiu a vedoucí ke snížení mortality na toto závažné onemocnění. Je třeba ovšem vzít v úvahu i potenciální rizika. Pozitivní výsledek screeningu vedoucí k podezření na ovariální karcinom povede k indikaci chirurgického výkonu

(laparoskopicky či laparotomicky). Jakákoli invaze je spojena nejen s vlastní fyzickou újmou, tak i s psychologickou újmou, rizikem závažných komplikací a samozřejmě s finančními náklady. Ačkoli je ovariální karcinom nejčastější příčinou úmrtí na gynekologickou malignitu, jeho incidence a prevalence v obecné populaci je relativně nízká. Problém falešné pozitivity testu je ovšem v takovémto případě kritický. Dokud tedy nebude k dispozici velmi přesný test, tak aktuálními nástroji povede naše snaha k velkému počtu nadbytečných výkonů.

V současnosti zkoušené screeningové nástroje zahrnují marker CA125 a další sérové markery, ultrasonografii a jejich kombinaci, např. v rámci tzv. multimodálního screeningu.

## Nádorové markery a ovariální karcinom

Nádorové markery jsou stále nejvíce testovaným nástrojem jakožto potenciální screeningový test. Výsledek je snadno reprodukovatelný, odběr minimálně invazivní a jsou relativně levné ve srovnání se zobrazovacími metodami.

### CA125

Objev markeru CA125 (cancer antigen, carbohydrate antigen 125) se datuje do roku 1981 týmem prof. Basta (2). Použití tohoto markeru u ovariálního karcinomu je prvně popsáno v roce 1983 (2) a stalo se zlatým standardem. Gen pro CA125 byl prvně klonován v roce 2001 a nazývá se *MUC16* (25). Antigen CA125 je velký transmembránový glykoprotein patřící mezi onkofetální antigeny – je odvozený od coelomového (perikard, pleura, peritoneum) a mülleriánského (vejcovod, endometrium, endocervix) epitelu (26, 27). Celý antigenní komplex obsahuje 2 hlavní domény, A a B. Část extracelulární domény obsahuje opakující se sekvence, které váží monoklonální protilátky OC125 a M11. Originální rutinně používaný vyšetřovací test reaguje s OC125. Zatímco novější CA125 II test reaguje jak s OC125, tak s M11 (28, 29). Ačkoli se zdá, že CA125 II může být více specifický, nejsou k dispozici žádná data podporující nadřazenost jednoho testu nad druhým. Normální hranice pro CA125  $\leq 35$  U/ml, pro CA125 II  $<20$  U/ml.

Sérové hodnoty CA125 jsou zvýšené přibližně u 50% žen s časným ovariálním karcinomem či borderline nádorem a u více než 80% žen s pokročilým ovariálním karcinomem (30). Bohužel, marker CA125 vykazuje nízkou specificitu. Udává se, že u 1% zdravých žen jsou hodnoty CA125 zvýšené. K fluktuaci hodnot nad normální meze dochází například v průběhu

menstruačního cyklu, zejména v průběhu vlastního krvácení (31). Mezi stavy, které zvyšují hodnoty CA125 patří:

- Endometrióza (32)
- Gravidita
- Děložní leiomyomy
- Jaterní cirhóza s ascitem či bez (33, 34)
- Renální onemocnění
- PID – pelvic inflammatory disease
- Pleurální či peritoneální výpotek ať už je příčina jakákoli (kardiální, renální, jaterní) (35)
- Malignity – ovaria, vejcovodu, primární peritoneální karcinom, karcinom endometria, endocervixu, prsu, plic, pankreatu, lymfomy (36)

Závěr PLCO studie (Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer screening trial) ukazuje, že střední hodnoty CA125 dále závisí na etniku, kouření, BMI, provedené hysterektomii (jsou nižší u jiné než bílé rasy, kuřáků, obézních žen a po provedené hysterektomii), rostou s věkem (37).

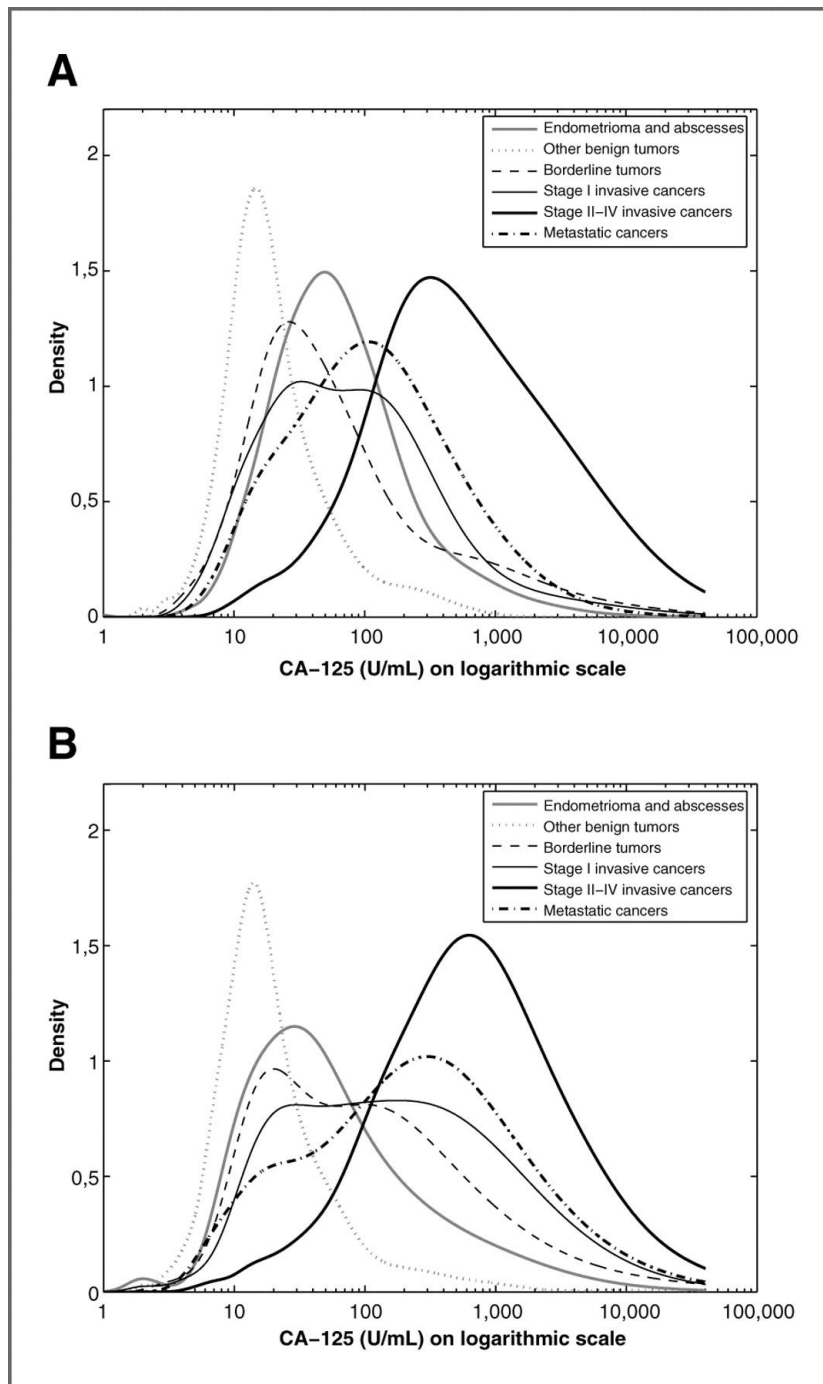
Z uvedeného plyne výrazný vliv menopauzálního statutu na specificitu markeru CA125. Výše uvedené stavy jsou většinou, ne všechny, spojené s premenopauzálním obdobím.

Tento fakt potvrzuje např. velká práce španělského týmu kolem prof. Rafaela Moliny (Laboratory of Clin. Biochemistry – Unit for Cancer Research), která zjistila signifikantně vyšší koncentrace CA125 u premenopauzálních zdravých žen oproti postmenopauzálním ženám (38).

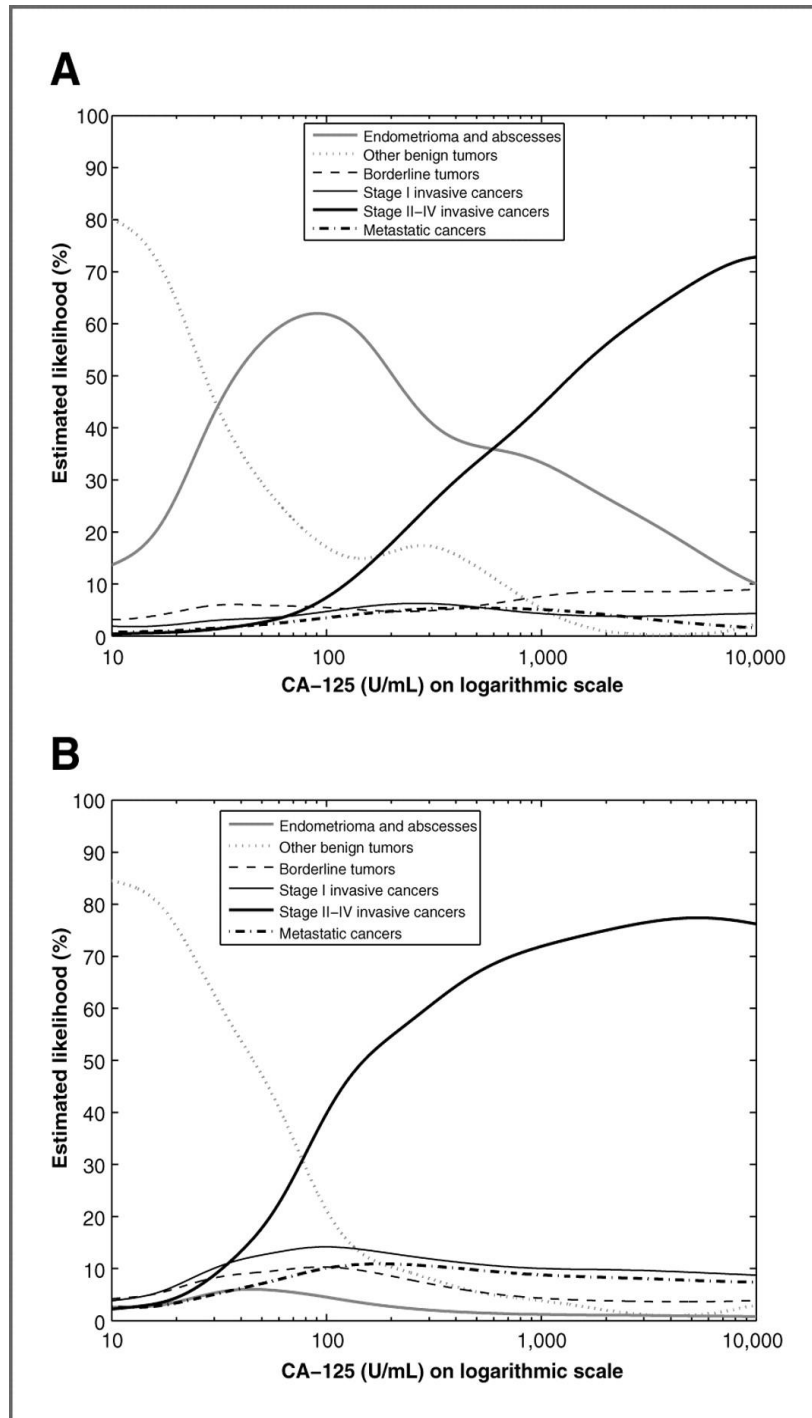
Elevace CA125 nad normu u postmenopauzálních žen byla silným prediktorem rozvoje ovariálního karcinomu – RR 35,9 v průběhu prvního roku, a 14,3 během pěti let (39).

Z výše uvedených údajů vyplývá, že zjištěné hodnoty nádorového markeru CA125 v rámci diferenciálně diagnostické rozvahy nemohou spolehlivě rozlišit mezi benigním a maligním onemocněním (vysoké procento falešně pozitivních nálezů u premenopauzálních žen s endometriomy, fibromy, zánětem, vs. až 50% falešně negativních nálezů u časných stádií ovariálního karcinomu a borderline nádorů). Zajímavý pohled na problematiku nabídla např. pracovní ultrazvuková skupina IOTA (International Ovarian Tumor Analysis), kdy stanovila pravděpodobnost přítomnosti určité ovariální patologie na základě sérových hodnot markeru CA125 nikoli pouze na hodnocení negativního/pozitivního výsledku – Graf 7. a 8. (40).

Graf 7. – Distribuce CA125 dle povahy tumoru a menopauzálního statutu – A premenopauzální, B postmenopauzální



Graf 8. - Pravděpodobnost přítomnosti určité ovariální patologie na základě sérových hodnot markeru CA125 dle menopauzálního statutu - A premenopauzální, B postmenopauzální



Graf přináší pro expertního sonografistu doplňující informaci. Například v případě naměřené hodnoty CA 125 20 U/ml půjde pravděpodobně (ze 70 %) o benigní nádor z jiné skupiny, než



jsou endometroidní cysty nebo absces. V případě CA 125 100 U/ml půjde v 50 % o endometroidní cystu nebo absces a méně pravděpodobně o metastatický nádor nebo pokročilý ovariální karcinom.

Monitorace CA125 je široce studována v managementu již přítomného ovariálního karcinomu. Sledování hladin CA125 je využitelné k hodnocení odpovědi na léčbu ovariálního karcinomu. FDA schválila využití CA125 v této indikaci. Zároveň je možno využít marker CA125 a jeho dynamiku k predikci prognózy po léčbě. Lze říci, že perzistující vysoké hladiny CA125 v průběhu léčby a po ní jsou spojené se špatnou prognózou pacientky. **Této problematice jsme se věnovali v přehledovém článku Možnosti předoperační predikce biologického chování gynekologických pánevních tumorů, kde jsou kromě nádorových markerů zmiňovány i další prediktivně-prognostické nástroje (CA125, HE4, ROMA index, přítomnost BRCA 1/2 mutace, předoperační trombocytózu, neutrophil-to-lymphocyte ratio, a dále tkáňové markery, jako je mutace p53, Her2/Neu pozitivitu, přítomnost ER/PR, pozitivitu L1CAM, dále panel 9 proteinových markerů PROVAR, intraepitelální tumor-infiltrující lymfocyty, stanovení proliferační aktivity pomocí proteinu Ki67 (MIB1), genové expresní profily, proteiny rezistence atd.)**

*/Strana 83 habilitační práce/*

**PRESL, Jiri, ŠEFRHANSOVÁ, Lucie, SEDLÁKOVÁ, Iva, et al. Možnosti předoperační predikce biologického chování gynekologických pánevních tumorů. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2014, 6 p. 53-59.**

Klinická remise ovariálního karcinomu je definována jako vymizení symptomů, nálezu na zobrazovacích vyšetřeních a normalizace nádorových markerů – CA125, příp. dalších. Elevace CA125 v době remise silně koreluje s rekurencí onemocnění. Elevace markeru předchází symptomy a nález na zobrazovacích vyšetřeních cca o 2-5 měsíců až u 70% pacientek s 80-90% senzitivitou (41). Stále sporným tématem zůstává management asymptomatických pacientek s elevací markeru CA125. Časně zahájení léčby zhoršuje QoL (kvalitu života) pacientky bez jasného profitu z časně zahájené léčby (42, 43). Tato nejčastěji citovaná studie však má své limity a je často kritizovaná.

Chybění normalizace po léčbě indikuje persistenci onemocnění či vysoké riziko rekurence do 6 měsíců. Specifita je však z výše uvedených důvodů limitovaná.

Marker CA125 se ukazuje rovněž jako slibný prediktor optimální cytoredukce v rámci radikální operace pro karcinom ovaria. Nulové pooperační reziduum je nezbytným předpokladem pro

úspěšnou léčbu. Hladiny CA125 nepřímě korelují se stupněm/rozsahem nádorové diseminace v dutině břišní. Hodnoty nad 500 U/ml signalizují nižší pravděpodobnost dosažení nulového pooperačního nádorového rezidua (44). Protože ovariální karcinom patří mezi relativně chemosenzitivní nádory s iniciálně dobrou odpovědí na léčbu, je stále vedena debata, zda u pokročilého ovariálního karcinomu je metodou volby primární radikální operace či intervalová operace po neoadjuvantní chemoterapii. V rámci zobrazovacích vyšetření jsou definovaná kritéria operability, která jsou akceptovatelná pro většinu onkogynekologických center event. po lokální úpravě. Nejčastěji uváděná jsou tzv. Leuvenská kritéria či Essenská kritéria (45). Mezi tato kritéria patří vícečetné metastatické intraparenchymatozní postižení jater, postižení v oblasti truncus coeliacus, difuzní velkouzlové postižení radixu mesenteria, difuzní postižení kliček střevních a žaludku, které by vyžadovalo totální gastrektomii či resekci velké části střeva vedoucí k syndromu krátkého střeva, extraabdominální metastatické postižení kromě resekovatelných tříselných uzlinových metastáz, cytologicky pozitivní pleurální výpotek bez prokázaného tumoru v pleurálních dutinách. Dále se zkoušejí skórovací systémy predikující úspěšné dokončení radikální operace do nulového rezidua. Chesnais et al. publikovali předoperační skórovací systém založený na hodnocení BMI, CA125, zhodnocení rozsahu metastatického postižení dle zobrazovacích metod (46). Používaným perioperačním skórovacím systémem je Fagotti skóre či modifikované Fagotti skóre – obě aplikovatelná v průběhu laparoskopie (47). Pro zhodnocení možné úspěšné sekundární cytoredukce se využívá AGO skóre (48). V tomto ohledu se zkouší i marker CA125 jakožto prediktivní faktor. Jedna recentní studie ukazuje, že pacientky s elevací CA125 nad 2000 U/ml vykazují lepší PFS (progression-free survival) po neoadjuvantní chemoterapii (49).

Ačkoli je marker CA125 jediným rutinně užívaným markerem v klinické praxi u pacientek s ovariálním karcinomem, naráží na výše uvedená omezení - nízkou senzitivitu a specificitu. Jeho použití tedy není doporučeno ani ve screeningu ani v diagnostice ovariálního karcinomu v běžné populaci. Tři společnosti – NACB, EGTM a NIH formovaly doporučení k použití markerů ve screeningu, prevenci, diagnostice a léčbě ovariálního karcinomu (50). Doporučení vidí roli markeru CA125 v kombinaci s transvaginálním ultrazvukovým vyšetřením v časně detekci ovariálního karcinomu u high risk populace (pacientky s genetickou zátěží), dále jej lze s vědomím limitů využít v diferenciální diagnostice suspektních pánevních útvarů u postmenopauzálních žen a monitoraci úspěšnosti léčby, detekci rekurence a určení prognózy pacientek s ovariálním karcinomem.

Je zřejmé, že pokud by měl screeningově-diagnostický algoritmus mít základ v nádorových markerech, je potřeba najít jiný, senzitivnější, specifitější. Přestože proběhla celá řada studií, nebyl dlouhých 25 let schválen pro klinické použití žádný nový marker. Až v roce 2008/2009 schválila FDA human epididymal protein 4 (HE4) k monitoraci rekurence a progresu ovariálního karcinomu.

## HE4

Human epididymal protein 4 (HE4) byl prvně identifikován v epitelu distální oblasti nadvarlete. Je produktem genu WFDC2 /Whey acidic four-disulfide core 2/. Má vlastnosti podobné inhibitoru trypsinu. Prvně byl klonován v roce 1991 (51) a protilátky proti němu byly prvně připravené v roce 2003 (52). Původní role, která mu byla přisuzována, spočívala v inhibici proteázy účastnící se procesu zrání spermií. Následně bylo zjištěno, že HE4 je v malých množstvích produkován také dalšími tkáněmi včetně plic a gonád. HE4 má vyšší specifitu než CA125 (38). U pacientek s benigním gynekologickým onemocněním jsou zvýšené koncentrace nad normu pouze u 1,3% žen ve srovnání s CA125, kde je zvýšení až ve 33,2% (38). Ve vysokých hladinách byl marker HE4 detekován u pacientek se serózním a endometroidním karcinomem ovarií. U pacientek se světlobuněčným karcinomem je zvýšen asi v 50% případů. Naopak u mucinózního ovariálního karcinomu k produkci HE4 vůbec nedochází (53). K elevaci dochází ale také v některých případech plicních karcinomů, endocervikálního a endometriálního adenokarcinomu a karcinomu prsu, dále u mesotheliomů, a méně často v případě nádorů gastrointestinálního traktu a ledvin (53-55). Téměř ve 100% případů je zvýšen u pacientů s renální insuficiencí či při hodnotách kreatininu nad 1,3 mg/dl (>115umol/l) (38).

Normální hodnoty markeru HE4 se liší dle kitu výrobce, závislostí na menopauzálním statutu a jistě i přihlédnutím k funkci ledvin. Naše imunoanalytická laboratoř při FN Plzeň má referenční hodnoty stanoveny z vlastních výsledků. Horní hranicí normy je 89 pmol/l bez ohledu na menopauzální statut. Používáme přístroj Abbott Architect.

Na jiných pracovištích (používajících např. přístroje ROCHE) jsou jinak rutinně používané meze normy zpravidla následující: premenopauzálně do 70 pmol/l, postmenopauzálně do 140 pmol/l. Výrobce uvádí, že cut off 70 pmol/l pro premenopauzální období odpovídá hodnotě 84. percentilu v souboru 90 zdravých žen před menopauzou. Hodnota 95. percentilu byla 92,1

pmol/l. Cut off 140 pmol/l pro postmenopauzální období odpovídá hodnotě 97. percentilu v souboru 106 zdravých žen po menopauze. Hodnota 95. percentilu byla 121 pmol/l.

Každá laboratoř by si však měla prověřit převoditelnost očekávaných hodnot na svou populaci pacientek, a je-li to nutné, stanovit si právě vlastní referenční rozmezí.

V roce 2008/2009 byl marker HE4 schválen FDA k monitoraci rekurence a progresu ovariálního karcinomu. Toto stanovisko však dále říká, že sériové vyšetření HE4 by mělo být prováděno s dalšími metodami, které se používají k monitoraci ovariálního karcinomu, zejména ultrasonografie. Nelze tedy využívat marker HE4 samostatně.

Spolu s markerem CA125 a zohledněním menopauzálního statutu je HE4 součástí ROMA indexu (Risk Of Malignancy Algorithm).

Z dosavadních klinických zkušeností je zřejmé, že marker HE4 samotný či v kombinaci s markerem CA125 zvyšuje senzitivitu a specificitu diferenciální diagnostiky pánevních patologií a rovněž monitorace již zjištěného ovariálního karcinomu. Marker HE4 oproti markeru CA125 není ovlivněn menopauzálním stavem a je tedy využitelnější v diferenciální diagnostice benigních a maligních ovariálních lézí u premenopauzálních žen (38, 56). Podobné výsledky prokázalo několik prací (57).

Velmi dobrá využitelnost kombinace markerů CA125 a HE4 byla potvrzena studií na 65 markerech. Autoři zjistili, že právě tyto dva markery v kombinaci byly schopny rozlišit mezi benigní a maligní adnexální patologií se senzitivitou pro časná stádia 74,2% a 91,7% pro pozdní stádia při 85% specificitě (58).

Další multicentrická studie na 531 pacientkách publikovaná v roce 2009 validovala prediktivní model využívající kombinaci markerů CA125 a HE4 k predikci rizika ovariálního karcinomu při přítomné adnexální patologii. Tento prediktivní model ROMA (Risk of malignancy algorithm) ukázal senzitivitu 92% u postmenopauzálních žen, 76% u premenopauzálních žen a 89% v kombinaci, při specificitě 75% (59). Stejný autor v roce 2011 uvedl výsledky dalšího souboru 472 pacientek. V této kohortě dosahoval ROMA2 senzitivity 90,2 % při specificitě 76 % a negativní prediktivní hodnotě 95,8 % (60).

**V rámci Gynekologicko-porodnické kliniky FN Plzeň jsme v období 6/2010 až 12/2011 vyšetřili 552 pacientek s abnormálním nálezem v pánvi. V souboru bylo 30 žen s ovariální malignitou a 522 žen s benigním adnexálním nálezem. Podle hodnot FSH jsme kohortu rozdělili do dvou skupin – premenopauzální a postmenopauzální. K rozdělení jsme využili dvou dostupných metodik, tedy s cut-off pro FSH 40 IU/l a 22 IU/l (61, 62). Plocha pod**

křivkou - AUC, senzitivita a negativní prediktivní hodnota pro sledované markery CA125 a HE4, jejich kombinace vztažené k věku a FSH, byla vždy největší pro ROMA2, následně CA125, ROMA1 a HE4. Tyto naše výsledky jsou ve shodě i dalšími pracemi např. Partheen et al., Švédsko, jejichž studie hodnotila soubor 394 pacientek (63).

*/Strana 126 habilitační práce/*

PRESL, J., KUČERA, R., TOPOLČAN, O., et al. HE4 a biomarker of ovarian cancer. Ceska Gynekologie. 2012, 77 (5), p. 445-449.

V impaktované publikaci publikované v témže roce jsme se zaměřili pouze na skupinu postmenopauzálních žen, kde odpadá vliv většiny faktorů snižujících specificitu vyšetření nádorových markerů a zároveň se jedná o věkovou skupinu žen, kde je incidence ovariálního karcinomu nejvyšší. Cílem práce bylo zaměřit se na využití markerů CA125, HE4 a ROMA indexu v primární diagnostice ovariálního karcinomu a jejich použití v diferenciální diagnostice benigních a maligních nálezů v pánvi. Naše výsledky byly v souladu s výše uvedenými publikacemi, které se stali základními zdroji faktů pro formování následných doporučení pro použití zkoumaných markerů. Všechny tři zkoumané parametry vykazaly statisticky významný rozdíl v mediánech i středních hodnotách při rozlišení benigních a maligních pánevních nálezů. ROMA 2 index, následovaný CA125 a HE4, dosáhl nejvyšší plochy pod křivkou (AUC), senzitivity a specificity při diagnostice ovariálního karcinomu.

*/Strana 132 habilitační práce/*

NOVOTNY, Z., PRESL, J., KUCERA, R., et al. HE4 and ROMA index in Czech postmenopausal women. Anticancer Res. 2012, 32 (9), p. 4137-4140.

V další práci jsme se věnovali sledování změn sérových hladin markerů HE4, CA125, CEA a CA19-9 u karcinomu ovaria a dalších diagnóz, které přicházejí v úvahu v diferenciální diagnostice adnexálních patologií. Markery HE4 a CA125 byly signifikantně zvýšené u pacientek s ovariálním karcinomem, naproti tomu markery CA19-9 a CEA byly zvýšené jen v ojedinělých případech. Příčinou jejich zvýšení bývá zejména primární onemocnění zažívacího traktu či některé vzácnější histologické typy ovariálního karcinomu. HE4 a CA125 byly velmi nízké u pacientek s ovariálním karcinomem v remisi, a tudíž výborně korelovaly s klinickým stavem pacientek. Borderline tumory ovarií nevykázaly statisticky významné zvýšení žádného ze sledovaných markerů. V případě endometriozy jsme prokázaly signifikantně vyšší hodnoty CA125 při

**normálních hodnotách HE4. Naše zjištění je tak ve shodě s publikovanými pracemi a platnými doporučeními.**

*/Strana 137 habilitační práce/*

**KUČERA, R., PRESL, J., TOPOLČAN, O., et al. Changes of serum levels of tumor markers in ovarian cancer and benign diseases. Klinicka Biochemie a Metabolismus. 2012, 20 (3), p. 168-171.**

HE4 může být využitelný v diferenciální diagnostice ovariálního karcinomu vs. ovariální endometriozy (64-66).

Svoji roli hraje marker HE4 i u endometriálního karcinomu (67). Této části je věnována samostatná kapitola vč. výsledků výzkumu.

## ROMA

Risk of malignancy algorithm (ROMA) je index zahrnující výsledek markeru CA125, HE4 a zohledňující menopauzální statut pacientky. Byl vyvinut k odhadu rizika přítomnosti ovariálního karcinomu. Výsledkem je v procentech vyjádřená pravděpodobnost nálezu karcinomu ovaria při chirurgickém výkonu. Vypočítaná hodnota se vztáhne ke cut-off hodnotě a tím stratifikuje pacientky do 2 skupin: low risk a high risk, neboli takové, u kterých je pravděpodobnost nálezu malignity nízká či vysoká. Při 75% specificitě jsou hodnoty ROMA pro premenopauzální ženy - 7,4%, pro postmenopauzální ženy - 25,3%. PPH 58%, NPH 97% (59). Jeho výpočet ukazuje obrázek níže – Obr. 1.

Obr 1.

**ROMA index**

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

*PI (po menop)*  
=  $-8,09 + 1,04 \times \ln HE4 + 0,732 \times \ln CA125$

*PI (před menop)*  
=  $-12,0 + 2,38 \times \ln HE4 + 0,0626 \times \ln CA125$

Využití ROMA indexu je však rozporuplné. Stal se populární zejména ve Spojených státech. Jeho použití je schváleno FDA. Uvedené studie (59, 60) ukázaly, že kombinace markerů může představovat efektivní nástroj ke stratifikaci žen z pohledu rizika ovariálního karcinomu. Další práce ovšem ukazují, že ROMA může „doplácet“ na nízkou specificitu CA125. Montagnana et al. prokázali na více než 100 případech žen, že ROMA nemá lepší výsledek než marker HE4 samotný. AUC pro HE4 byla lehce větší u postmenopauzálních žen a prakticky identická pro premenopauzální ženy ve srovnání s ROMA. Tedy doplnění CA125 pro výpočet ROMA indexu není nezbytné, protože HE4 samotný vykazuje nejlepší výsledky (68). Přínos kombinace CA125 a HE4 v rámci ROMA indexu byl doložen zejména jeho autory (59). Naše výsledky nejsou s těmito výsledky zásadně v rozporu. Některé další studie však již výhody kombinovaného odběru obou markerů či samotného markeru HE4 neprokázaly (69, 70).

### *Proběhlé studie - „screening“?!*

Žádný z uvedených markerů nebyl schválen pro použití ve screeningu ovariálního karcinomu ani pro rutinní diferenciální diagnostiku benigních a maligních ovariálních nádorů.

Jak je zmíněno výše, FDA schválila využití markeru CA125 k hodnocení odpovědi na léčbu ovariálního karcinomu (2). Sledování markeru CA125 u pacientek v kompletní remisi po skončené léčbě je dle doporučení ESGO vhodné zejména tam, kde časný záchyt recidivy umožní provedení cytoredukčního výkonu nebo zařazení pacientky do studie nového léku (71, 72). Na druhou stranu rutinní sledování markeru CA125 ve follow-up všech pacientek po léčbě ovariálního karcinomu, tedy neselektované populaci, nemá vliv na přežití, což bylo doloženo často citovanou studií OV05/EORTC 55955 (43).

Marker HE4 byl schválen FDA k monitoraci recurence a progresu ovariálního karcinomu. Toto stanovisko však dále říká, že sériové vyšetření HE4 by mělo být prováděno s dalšími metodami, které se používají k monitoraci ovariálního karcinomu, zejména ultrasonografie. Nelze tedy využívat marker HE4 samostatně.

Screeningové využití limitují již zmíněné faktory. Sérové hodnoty CA125 jsou zvýšené pouze přibližně u 50% žen s časným ovariálním karcinomem či borderline nádorem a u více než 80% žen s pokročilým ovariálním karcinomem (30). Z toho vyplývá, že až 20% ovariálních karcinomů neexprimuje antigen CA125. CA125 má nízkou specificitu zejména u pre a perimenopauzálních žen. HE4 je falešně pozitivní zejména u žen s renální insuficiencí.

Kombinace obou markerů – CA125 a HE4 – zvyšuje senzitivitu získanou použitím jen jednoho z nich. Již citovaná práce španělského týmu kolem prof. Rafaela Moliny (Laboratory of Clin.

Biochemistry – Unit for Cancer Research) prokázala zvýšení HE4 u 58,3% pacientek s ovariálním karcinomem stadia I-II, zvýšení CA125 u 54,2% pacientek, ovšem v případě kombinace obou markerů až v 70,8%. U pokročilých stádií III-IV tomu bylo v 95% případů (38).

Marker CA125 je rovněž součástí FDA schváleného panelu markerů – OVA-1. Spolu s Apolipoproteinem A1 (snížen u ovariálního karcinomu), Beta-2-mikroglobulinem (zvýšen u ovariálního karcinomu), Transferinem (snížen u ovariálního karcinomu), Prealbuminem (snížen u ovariálního karcinomu) a gynekologickým vyšetřením by měly přispět k rozhodnutí o odeslání pacientky do onkogynekologického centra. Zde jsou pacientky dále expertně vyšetřeny. Vzhledem k vysoké falešné pozitivitě testu je nutná korelace se zobrazovacími metodami. Není tedy vhodný ani pro screening ani pro diferenciální diagnostiku.

Ale nejen samotné markery, ale i protokoly využívající kombinaci markeru a ultrazvukového vyšetření nejsou schválené jako screeningové nástroje. Studií zabývajících se sestavením screeningového algoritmu proběhlo několik. Zmíním 2 resp. 3 asi nejzásadnější.

Jedná se o studie PLCO a UKCTOCS resp. UKFOCSS.

PLCO studie – Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial – v rámci této studie bylo randomizováno přes 78 tisíc zdravých žen ve věku 55 až 74 let do ramene s ročním odběrem CA125 + ultrazvukovým vyšetřením nebo do ramene s běžnou péčí (73). Randomizace probíhala v období listopad 1993 až červenec 2001 v 10 centrech napříč Spojenými státy. Pozitivní prediktivní hodnota kombinovaného přístupu byla 1,0-1,3%. 72% pacientek bylo zachyceno v pokročilých stádiích, tedy bez posunu k většímu podílu záhytu onemocnění v časných stádiích. Dle vyhodnocení získaných dat bylo publikováno, že kombinovaný „screening“ nevede k redukci specifické mortality oproti rameni s běžnou péčí. Vede však k vyššímu procentu indikovaných operačních zákroků a s tím spojených nežádoucích efektů (74).

UKCTOCS – UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening – randomizovaná kontrolovaná studie, jedna z největších, které kdy byly v medicíně provedeny. V letech 2001 až 2005 bylo ve 13 centrech v Anglii, Walesu a Severním Irsku randomizováno přes 202 000 postmenopauzálních žen (50-74 let) do 3 ramen – s multimodálním screeningem (MMS) kombinujícím CA125 v rámci ROCA algoritmu, při jehož pozitivitě bylo provedeno ultrazvukové vyšetření, rameno s každoročním ultrazvukovým vyšetřením bez stanovování nádorových markerů a rameno bez „screeningu“. Randomizace probíhala v poměru 1:1:2 (75).



Screeningový interval byl ukončen v prosinci 2011 a zahrnoval celkem přes 345 tisíc screeningových událostí v multimodálním rameni a přes 327 tisíc screeningových událostí v ultrazvukovém rameni. Primárním cílem bylo zjistit dopad screeningového modelu na mortalitu ovariálního karcinomu. Na definitivní výsledky je potřeba ještě počkat. Zatím máme k dispozici následující data.

Medián follow-up byl 11,1 roku a ovariální karcinom byl zachycen u 1282 (0,6%) žen bez rozdílu z pohledu všech tří ramen a poměru randomizace. Primární analýza se zaměřením na snížení mortality neukázala signifikantní rozdíl mezi rameny, avšak po vyloučení prevalentních případů z analýzy byly již výsledky statisticky signifikantní ve prospěch multimodálního screeningu. Zajímavým zjištěním, které vyžaduje další ověření, je fakt, že redukce je vyšší s délkou screeningového intervalu ve prospěch 7-14 let od zahájení vs. 0-7 let od zahájení screeningu, 28% vs. 8%.

Multimodální rameno studie ukázalo senzitivitu 86,2%, specificitu 99,8%, ale pozitivní prediktivní hodnotu pouze 24,6%. Bylo potřeba 4,1 chirurgických intervencí k potvrzení 1 ovariálního karcinomu. Rameno založené na ultrazvukovém vyšetření ukázalo senzitivitu 63,3%, specificitu 99,5%, ale pozitivní prediktivní hodnotu pouze 5,8%. Na zachycení 1 karcinomu bylo potřeba 17,4 chirurgických intervencí.

V rámci MMS byl zaznamenán posun zachycených ovariálních karcinomů jako low-volume disease (stage I, II a IIIA) ve srovnání s ramenem bez screeningu.

ROCA test kalkuluje věk ženy, menopauzální stav a sériové měření markeru CA125. Výsledné skóre indikuje riziko ženy k onemocnění ovariálním karcinomem. Test má lepší výsledky než jednorázové stanovení markeru CA125 samotného. Je využitelný u postmenopauzálních žen v nezátížené populaci a již od 35 let u nositelek BRCA mutace, Lynchova syndromu, žen se zatíženou rodinnou anamnézou karcinomem ovaria či prsu a příbuzných Ashkenazi židů (76, 77).

UKFOCSS – UK Familial Ovarian Cancer Screen Study – proběhla ve 2 fázích.

První fáze měla za cíl posoudit rutinně dostupné nástroje – transvaginální ultrazvukové vyšetření a marker CA125 – a jejich chování u zatížené populace žen s celoživotním rizikem vývoje ovariálního karcinomu a karcinomu vejcovodu větším než 10%. Typicky se jedná o nositelky BRCA mutací. Od května 2002 do ledna 2008 bylo zařazeno přes 3500 žen a screenováno ve 37 centrech ve Spojeném království. Obě vyšetřovací metody byly prováděny společně á 1 rok. Střední doba sledování byla 3,2 roku. Senzitivita pro detekci přítomného

ovariálního karcinomu či karcinomu vejcovodu byla 81,0 resp. 87,5%, dle toho, zda jsou započteny i okultní nálezy. Pozitivní prediktivní hodnota byla 25,5%, tedy 4 ženy podstoupily chirurgický výkon pro záchyt jednoho karcinomu.

Mezi zachycenými případy bylo 30,8% detekováno v časných stádiích I a II, zbylé detekované karcinomy byly v pokročilých stádiích III a IV. Tato distribuce je obdobná distribuci v běžné populaci. Velice však záleželo na faktu, zda byla žena vyšetřena do roka před záchytem onemocnění či nikoli. Z toho vyplynulo doporučení pro druhou fázi studie, zkrátit screeningový interval na 4 měsíce a inkorporovat ROCA do sledovacího schématu jako v případě UKCTOCS studie. Důležitým faktorem je striktní kooperace pacientky na screeningových kontrolách a dodržování screeningových intervalů. Předpokladem bylo, že frekventní screening s okamžitou chirurgickou intervencí při abnormálním nálezu zajistí větší šanci pro časný záchyt onemocnění (78-80).

Druhá fáze studie probíhala od června 2007 do května 2012. Bylo zařazeno přes 4300 žen ve 42 centrech ve Spojeném království, s celoživotním rizikem vývoje ovariálního karcinomu a karcinomu vejcovodu větším než 10%. Screening byl založen na pravidelném vyhodnocení ROCA skóre každé 4 měsíce. Pokud byl výsledek ROCA normální, pak bylo transvaginální ultrazvukové vyšetření provedeno 1x ročně, v případě abnormálního ROCA byl ultrazvuk doplněn do 2 měsíců. Výsledky studie ukázaly signifikantní redukci počtu žen diagnostikovaných s makroskopickým metastatickým postižením mimo pánve (z 95% na 37%). Signifikantně klesla proporce žen vyžadujících neoadjuvantní chemoterapii, vzrostl tak počet žen, u kterých bylo dosaženo pooperačně nulového nádorového rezidua.

Vzhledem k faktu, že žádné potencionálně screeningové schéma nevedlo k redukci mortality, je profylaktická bilaterální salpingoooforektomie považována za standardní přístup k high risk pacientkám. Pokud chirurgickou intervencí odmítnou, je na místě je po řádném informování sledovat kombinací výše uvedených metod – CA125 a ultrazvukového vyšetření, ideálně v rukou experta (78, 80).

### *Postavení ultrazvukového vyšetření*

Ultrazvukové vyšetření ženských pohlavních orgánů patří mezi nejdůležitější vyšetřující metody v gynekologii i porodnictví. Ultrazvukové vyšetření nepřináší žádná rizika pro pacientku, nevyžaduje přípravu či lačnění, nemá riziko radiační zátěže a je dostupnější než jiná zobrazovací metoda (například CT nebo magnetická rezonance aj.).

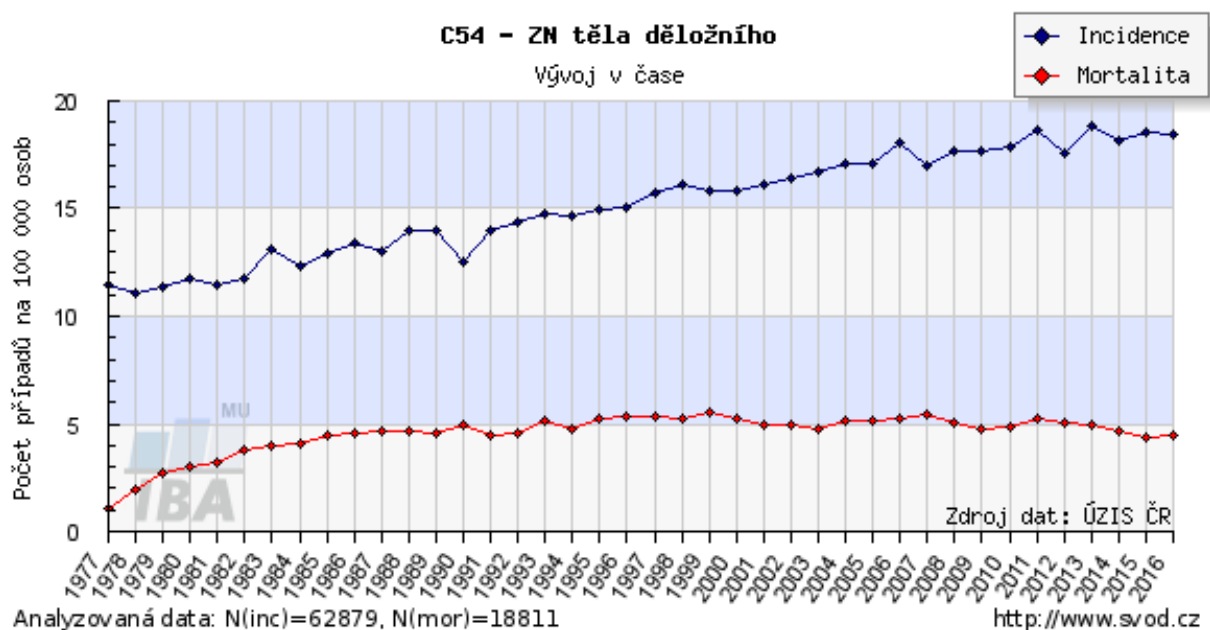
Přesnost vyšetření však závisí na zkušenosti vyšetřujícího a kvalitě ultrazvukového vyšetření, proto při podezření na nádorové onemocnění je vždy doplněno expertní (superkonziliární) ultrazvukové vyšetření. Expertní sonografista během ultrazvukového vyšetření pánve a břišní dutiny potvrdí přítomnost zhoubného nádoru, rozsah onemocnění, může doplnit bioptické ověření nádoru, pokud je indikováno, a upřesní, zda je nutné provést další zobrazovací vyšetření. Expertní ultrazvukové vyšetření je nezbytné nejen v plánování vhodné onkologické léčby, ale také ve sledování efektu léčby a kontrole pacientek po ukončené onkologické léčbě. Studie porovnávající přínos citovaných markerů případně jejich kombinace s ultrazvukovým vyšetřením prokázaly omezenou roli na straně markerů. Marker HE4 zachytí více časných stádií ve srovnání s CA125 (46,2% vs. 23,1%) (56), ale tyto výsledky jsou v porovnání s ultrazvukovým vyšetřením v detekci časného ovariálního karcinomu horší (subjektivní hodnocení, matematický model LR1 a LR2 mají senzitivitu 92%, 97% a 95%) (81). Přínos předoperačního stanovení CA125 nebyl potvrzen ani v případě diagnostické nejistoty o typu léze (benigní vs. maligní) při vyšetření ultrazvukovým expertem (82). Kombinace markerů v rámci ROMA indexu měla horší výsledky v porovnání s ultrazvukovým vyšetřením v diferenciální diagnostice benigních a maligních adnexálních lézí (83). Kombinace ultrazvukového vyšetření s následným odběrem CA125 (second stage test) nezlepšuje predikci adnexální léze. Předoperační stanovení hladiny CA125 negativně ovlivnilo přesnost subjektivního hodnocení ovariální léze expertem, pokud byla hodnota markeru známa nebo byl marker doplněn v druhém kroku (second stage test) (82).

## Endometriální karcinom

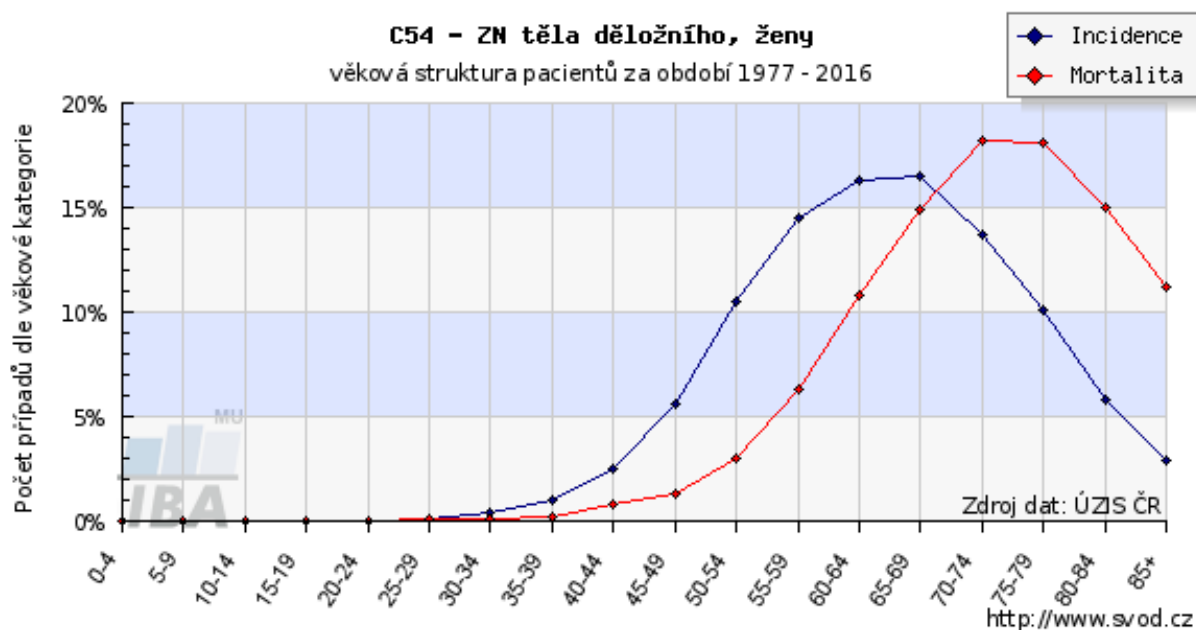
### Epidemiologie

Karcinom endometria je v České republice dlouhodobě nejčastější gynekologickou malignitou. V roce 2016 měl incidenci 36,3 nových případů na 100000 žen a mortalitu 8,8 na 100000 (3). Celosvětově se řadí svojí incidencí na 6. místo s jednoznačnou převahou v rozvinutém světě (4) (Graf 9., 10.). Oproti ovariálnímu karcinomu je většina pacientek diagnostikována v časných stádiích, zejména ve stádiu I (Graf 11.)

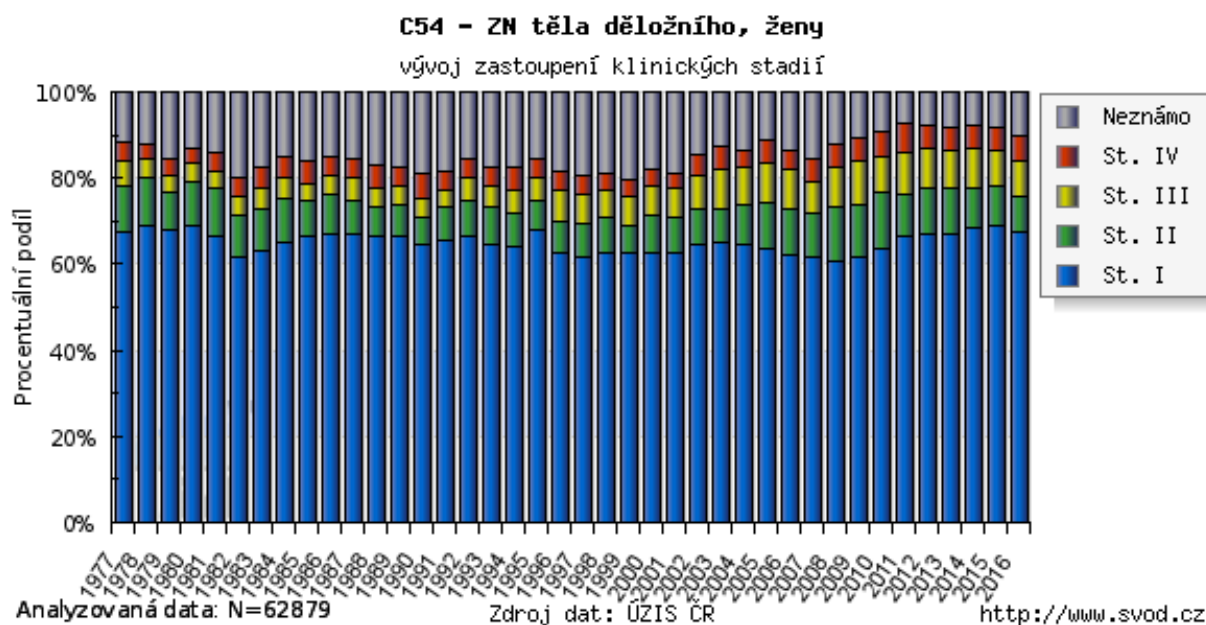
Graf 9. - Časový vývoj hrubé incidence a mortality



**Graf 10. - Věková struktura pacientů**



**Graf 11. - Zastoupení klinických stadií v čase**



## Etiopatogeneze

Karcinom endometria je tradičně dělen na 2 typy na základě Bokhmanovy hypotézy, postavené na klinickém a epidemiologickém pozorování (84).

Typ 1 představuje 4x častější estrogen dependentní formu, méně agresivní, o jeho rizikových faktorech a patogenezi máme relativně dostatek informací. Vzniká na podkladě relativního či absolutního hyperestrinismu, který vede k hyperplazii děložní sliznice, vzniku buněčných atypií a postupně k přechodu do vlastního karcinomu zejména endometroidního typu. Zpravidla se jedná o dobře diferencované nádory exprimující hormonální receptory. Mezi rizikové faktory patří věk  $\geq 55$  let, obezita, již uváděná zvýšená hladina estrogenů, časná menarche, nuliparita, pozdní menopauza, Lynchův syndrom, užívání Tamoxifenu, tumory s produkcí estrogenů (např: ovariální gonadostromální tumory - z buněk granulozy).

Typ 2 tvoří kolem 20% nádorů, je estrogen nondependentní a agresivnější formou, která se ale podílí neproporcionálně větší měrou na mortalitě na endometriální karcinom a o jeho rizikových faktorech máme méně informací. Podle některých metaanalýz se však většina rizikových faktorů shoduje s častější typ 1 variantou (85). Nejčastější histologické varianty jsou nonendometroidní karcinomy - serózní a světlobuněčný, dále karcinosarkom či nediferencovaný karcinom.

**Vzácný případ karcinosarkomu endometria s melanomovou diferenciací popisujeme v kazuistice publikované v České gynekologii v roce 2017.**

*/Strana 142 habilitační práce/*

**BEREZOVSKIY, D., VLASAK, P., KOSTUN, J., et al. Carcinosarcoma of the endometrium with melanocytic differentiation, case report. Ceska Gynekol. 82 (5), p. 390-395.**

Dosud využívané histopatologické a klinické dělení karcinomu endometria spolu sice částečně koreluje, existuje však určitá biologická a molekulární heterogenita v rámci obou systémů. O nový a přesnější způsob rozlišování jednotlivých podtypů karcinomu endometria se v současnosti snaží i genomická klasifikace. Cílem je jednoznačně individualizace léčby. Typ 1 karcinomu endometria je nejčastěji spojován s mutacemi PTEN, KRAS, CTNNB1 a PIK 3CA a mikrosatelitní instabilitou. Naproti tomu serózní karcinomy se prezentují často s HER2 amplifikací či TP53 mutacemi (86).

Nová genomická klasifikace endometriálního karcinomu vychází z dat The Cancer Genome Atlas Research Network (TCGA) (87).

Karcinom endometria je tak členěn do 4 tříd:

- 1) POLE (ultramutované) tumory, mají typicky vysoký podíl mutací na polymerase  $\epsilon$  podílející se na replikaci DNA, lze najít i zvýšená frekvence mutací PTEN, PIK3R1, PIK3CA, FBW7 a KRAS. Tato skupina je asociována s dobrou prognózou.
- 2) MSI - skupina mikrosatelitní instability, charakterizována vysokým podílem mutací a mikrosatelitní instability díky metylaci MLH1, vyskytují se i KRAS a PTEN mutace. Patří sem spíše endometroidní tumory.
- 3) Copy - number low - endometroidní tumory, s nízkým počtem mutací, endometroidní tumory grade 1-2, CTNNB1 mutace.
- 4) Copy - number high - serosní apod. tumory, vysoký počet aberací, mutace TP53, FBXW7, PPP2R1A, PTEN a KRAS. Do této skupiny patří agresivní tumory se špatnou prognózou.

Zohledněním genomických charakteristik vedle již zavedených prognostických faktorů a celkového pojetí karcinomu endometria by mělo umožnit lépe identifikovat ty pacientky, které by profitovaly pouze z chirurgické léčby a u kterých je recidiva onemocnění méně pravděpodobná. Doplnění adjuvantní léčby by znamenalo overtreatment. Naopak u pacientek přesněji identifikovaných všemi dostupnými prognostickými faktory jako vysoce rizikové, by bylo vhodné začít s včasnou a dostatečně intenzivní adjuvantní léčbou (86)

Mezi děložní malignity patří rovněž sarkomy vycházející z hladké děložní svaloviny. **Retrospektivní analýzu výskytu těchto malignit v našem onkogynekologickém centru jsme publikovali v České gynekologii v roce 2017.**

*/Strana 149 habilitační práce/*

**KOSTUN, J., BOUDA, J., VLASAK, P., et al. Incidence of uterine sarcomas in West Bohemia, at the Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital in Pilsen, Czech Republic. Ceska Gynekologie-Czech Gynaecology. 2017, 82 (6), p. 436-442.**

**Děložním sarkomům byla věnována i další impaktovaná publikace z roku 2018 ve Virchows Archiv, jejímž cílem bylo retrospektivně analyzovat vzorky leiomyosakromů a**

**STUMP tumorů (smooth muscle tumors of uncertain malignant potential) na přítomnost ALK (anaplastic lymphoma kinase) genové přestavby k identifikaci velice raritního IMT (inflammatory myofibroblastic tumor). Pacientky s tímto nálezem by mohli profitovat z cílené terapie ALK inhibitory.**

*/Strana 157 habilitační práce/*

**PTAKOVA, N., MIESBAUEROVA, M., KOSTUN, J., et al. Immunohistochemical and selected genetic reflex testing of all uterine leiomyosarcomas and STUMPs for ALK gene rearrangement may provide an effective screening tool in identifying uterine ALK-rearranged mesenchymal tumors. Virchows Arch. 2018, 473 (5), p. 583-590.**

## Klinická manifestace a diagnostika

Hlavním příznakem endometriálního karcinomu je abnormální děložní krvácení či špinění. Tento symptom můžeme najít u 75-90% pacientek (88). Díky tomuto časnému příznaku je většina pacientek diagnostikována ve stádiu, kdy onemocnění postihuje pouze dělohu resp. pouze děložní sliznici. Pokud žena referuje nepravidelné gynekologické krvácení, je nutné vždy myslet v rámci diferenciální diagnostiky na malignitu endometria. Další příznaky jako bolesti, nechutenství, únava atd. bývají vyjádřené spíše až u pokročilého onemocnění. V některých případech jsou atypické změny endometria zachyceny při provedení cervikálního stěru či při provedení ultrazvukového vyšetření, v ideálním případě provedené expertním ultrasonografistou. Ženy v postmenopauze, bez klinických příznaků, s výší endometria do 4-5mm mají minimální riziko přítomnosti nádorového onemocnění (89). V případě, že výše endometria dosahuje 20mm, je riziko endometriální malignity vysoké (90). Mezi obligatorní vyšetření patří komplexní gynekologické vyšetření, laboratorní vyšetření, RTG vyšetření hrudníku a již zmíněné sonografické vyšetření. Další zobrazovací metody jsou fakultativní. Definitivní diagnóza je stanovena histologickým vyšetřením tkáně získané v rámci primární operace či z minimálně invazivních postupů – hysteroskopie, kyretáž.

## Léčba a její monitorace

Základní léčebnou modalitou v případě karcinomu endometria je chirurgická léčba. Vzhledem k faktu, že většina pacientek je diagnostikována v časných stádiích, je hlavním úkolem odstranit dělohu in toto (bez morcellace). Dnes již rutinně odstraňujeme v rámci hysterektomie z jakékoli



indikace vejcovody. Odstranění vaječníků bývá rovněž téměř pravidelnou součástí výkonu, ovšem u premenopauzálních žen je možné v časných stádiích onemocnění zvážit jejich ponechání. Je možné operovat jak laparotomicky, tak laparoskopicky. Laparoskopický přístup je preferován. U pacientek, které v rámci klinického stagingu naplní kritéria onemocnění středního a vysokého rizika, je minimálně ke zvážení resp. je indikována systematická pánevní a paraaortální lymfadenektomie – opět laparoskopicky či laparotomicky. Pokročilá stadia karcinomu endometria jsou řešena obdobně jako ovariální karcinom, tedy cytoredukčním výkonem s cílem dosáhnout nulového pooperačního rezidua. V rámci adjuvantní terapie je v indikovaných případech využívána radioterapie ve formě brachyterapie či teloradioterapie. U pokročilého onemocnění lze využít chemoterapii či hormonální terapii.

Úspěšnost léčby je stanovena zhodnocením klinického stavu a zobrazovacích vyšetření. Nádorové markery nepatří mezi rutinně sledované parametry.

V rámci výzkumu jsme se na naší klinice rozsáhle věnovali problematice zpracování sentinelových uzlin u pacientek s karcinomem endometria. Cílem této práce, která byla tématem disertační práce **mého doktoranda MUDr. Jana Kostuna (úspěšně obhájil titul Ph.D. dne 11.12.2018)**, bylo využití molekulárně biologické metody OSNA – One step nucleic acid amplification při vyšetření sentinelových lymfatických uzlin u pacientek s karcinomem endometria. Koncept sentinelové uzliny je akceptován jako samostatná varianta vyšetření či doplněk systematické pánevní a paraaortální lymfadenektomie v indikovaných případech. Tento fakt se odráží i v nové podobě stagingu TNM/FIGO. **Náš zájem se v rámci výzkumu soustředil na metodu OSNA, která by mohla představovat efektivní perioperační nástroj detekce metastatického postižení lymfatických uzlin u pacientek s karcinomem endometria na úrovni ultrastagingu. Při srovnání výsledků metody OSNA se závěry patologického ultrastagingu jako referenční metody, bylo dosaženo sensitivity 90,9 %, specificity 85,5 % a konkordance 85,9 %. Celkem bylo díky metodě OSNA zařazeno do pokročilého stadia FIGO III o 20,69 % pacientek více. Využití takto senzitivního nástroje by pak měnilo proporce adjuvantní léčby.**

*/Strana 166 a 176 habilitační práce/*

**KOSTUN, J., PESTA, M., SLAMA, J., et al. One-step nucleic acid amplification vs ultrastaging in the detection of sentinel lymph node metastasis in endometrial cancer patients. J Surg Oncol. 2019, 119 (3), p. 361-369.**

**KOSTUN, J., PESTA, M., SLUNECKO, R., et al. One-Step Nucleic Acid Amplification method - what is the future of sentinel lymph node management? Ceska Gynekologie-Czech Gynaecology. 2018, 83 (1), p. 57-61.**

**Tyto naše práce se staly jedním ze základů pro nyní začínající multicentrickou mezinárodní evaluační studii, která si klade za cíl prokázat klinickou využitelnost, bezpečnost a efektivitu metody OSNA k detekci uzlinových metastáz u pacientek s časným endometriálním karcinomem. Společně s MUDr. Janem Kostunem, PhD. jsme se podíleli na přípravě a finalizaci protokolu studie.**

## Follow-up

Po léčbě jsou zpravidla všechny pacientky sledované na pracovišti provádějícím léčbu. Většinou se tak děje v rámci onkogynekologických center. Je však možno pacientku sledovat ve spolupráci s ošetřujícím gynekologem. Cílem je časná detekce rekurence onemocnění. Hlavní náplní kontrol je gynekologické vyšetření (vyšetření v zrcadlech a bimanuální vyšetření) a anamnéza cílená na příznaky recidivy. Zobrazovací vyšetření je indikované dle potíží pacientky či při abnormálním nálezu při gynekologickém vyšetření. Frekvence kontrol je 3-6 měsíců v prvních 2 letech, dále do 5 let a 6-12 měsíců. Nádorové markery nemají ve follow-up endometriálního karcinomu své rutinní místo. Lze je užít v případech, že byly iniciálně elevované.

## Prognostické faktory endometriálního karcinomu

Prognostické faktory endometriálního karcinomu zahrnují staging, grading a typing tumoru. Tím je možné pacientky základně zařadit do skupiny s nízkým, středním a vysokým rizikem. Šířeji lze tyto faktory dále rozebrat na stav lymfatických uzlin, hloubku myometriální invaze, velikost tumoru, lymfovaskulární propagaci tumoru, postižení dolního děložního segmentu či děložního hrdla atd. Věk a performance status patří mezi další základní prognostické faktory. Jako další můžeme jmenovat pozitivitu estrogenových a progesteronových receptorů, L1CAM pozitivitu, p53 status, flow-cytometrická analýza ploidity tumoru, Her2/neu pozitivitu.

## Rizikové a protektivní faktory

V předchozích odstavcích zmíněnou problematiku rizikových a protektivních faktorů endometriálního karcinomu přehledně vystihuje následující tabulka (Tab. 2).

Tab. 2 - Rizikové a protektivní faktory endometriálního karcinomu

Rizikové faktory (85)	Relativní riziko (RR)
Zvyšující se věk	
Neoponované estrogeny	2-10
Užívání Tamoxifenu	2
Časná menarche	NA
Pozdní menopauza /po 55 roce věku/	2
Nuliparita	2
Syndrom polycystických ovarií	3
Obezita	Pro endometriální karcinom typu I je OR 1,5 pro BMI 25-30 2,5 pro BMI 30-35 4,5 pro BMI 35-40 7,1 pro BMI nad 40  Pro endometriální karcinom typu II je OR 1,2 pro BMI 25-30 1,7 pro BMI 30-35 2,2 pro BMI 35-40 3,1 pro BMI nad 40
Diabetes mellitus	2
Tumory produkující estrogeny	NA
Lynch syndrom	22-50% celoživotní riziko
Cowdenův syndrom	13-19% celoživotní riziko
Rodinná anamnéza karcinomu endometria, ovarií, prsu nebo kolorektálního karcinomu	NA

Protektivní faktory	Relativní riziko (RR)
Užívání kombinované hormonální antikoncepce (91)	Pro endometriální karcinom typu I – 0,68 Pro endometriální karcinom typu II – 0,75
Věk v době posledního porodu (92)	OR 0,87
Kojení (93)	OR 0,89
Kouření (94)	RR 0,71
Fyzická aktivita, káva, čaj	0,8 resp. 0,87 resp. 0,8

### „Screening endometriálního karcinomu“

Neexistuje dostatečně senzitivní, specifický a akceptovatelný screeningový test k časně detekci endometriálního karcinomu. Navíc endometriální karcinom má řadu charakteristik, které defakto stojí proti zavedení event. rutinního screeningového vyšetření. 75-90% žen s endometriálním karcinomem se prezentuje abnormálním děložním krvácením. Tím pádem většina pacientek je diagnostikována s onemocněním omezeným na dělohu s více jak 90% pětiletým přežitím. Z toho vyplývá, že tyto časně symptomy defakto zajišťují fungující sekundární prevenci – pokud jsou příznaky správně vyhodnoceny.

Některé ženy mají jako první nález abnormální onkologické cytologické vyšetření z hrdla děložního. Rovněž tento přístup ale nelze využít jak screeningový test. Udávaná senzitivita konvenční onkologické cytologie na sklo k detekci endometriálního karcinomu je 40-55%, senzitivita LBC /liquid based cytology/ je vyšší, ale též pouze 60-65% (95-97).

Biopsie endometria představuje dostatečně senzitivní a specifický test, ovšem svojí invazivitou nevyužitelný jako screeningový test. Transvaginální či transrektální sonografie hodnotící výšku a charakter endometria je rovněž relativně senzitivní vyšetření zejména u postmenopauzálních žen, ovšem senzitivita klesá u žen asymptomatických a specificita je nízká.

Obečným doporučením pro většinu žen s výše uvedenými rizikovými faktory je dobrá informovanost o zvýšeném riziku rozvoje tohoto onemocnění a seznámení s příznaky – špinění, abnormální děložní krvácení, pro které by měla žena vyhledat gynekologa k vyhodnocení nálezu a zajištění dalších nezbytných kroků.

Výjimku tvoří skupina žen s Lynchovým syndromem případně s Cowdenovým syndromem. Pro tyto pacientky je doporučeno provádět endometriální biopsii každoročně od 30 až 35 let věku. Expertní ultrazvukové vyšetření je možnou součástí vyšetření ovšem nezlepšuje výsledky

screeningu. Zde hraje hlavní roli ve vyšetření ovarií. V perimenopauzálním věku doporučujeme profylaktickou hysterektomií společně s bilaterální adnexektomií.

### Nádorové markery a endometriální karcinom

V současné době není k dispozici žádný sérový biomarker pro eventuální screening endometriálního karcinomu, k monitoraci odpovědi na léčbu, follow-up či sloužící jako prediktor intra či extrauterinního šíření nádoru k lepšímu plánování operační léčby a jejího rozsahu. Vyšetření nádorových markerů tak nepatří u pacientek s karcinomem endometria mezi rutinní vyšetření. Není tomu tak ani v časných stádiích před chirurgickým výkonem, ani u pokročilých stádií před onkologickou léčbou. V rámci studií jsou vyšetřovány markery CA125 i HE4. Dosavadní data však ukazují jejich limitovaný přínos.

#### *CA125*

Pro obecné charakteristiky markeru CA125 odkazují na kapitolu ovariálního karcinomu.

Udává se, že pouze 10 až 20% pacientek s karcinomem endometria typu I v časném stadiu a 25% asymptomatických pacientek s rekurentním onemocněním má zvýšenou hodnotu markeru CA125 (98).

Marker CA125 byl testován v rámci retrospektivní studie u 141 žen s karcinomem endometria. Při hodnotách vyšších než 40 IU/ml byla senzitivita pro detekci postižení lymfatických uzlin 78% a specificita 81% (99). Tyto výsledky byly potvrzeny ještě několika dalšími studiemi, ovšem není shoda na optimální hranici „pozitivity“ markeru (100-103).

U nádorů typu II, high grade karcinomů, je chování markeru CA125 podobné jako u ovariálního karcinomu. Zvýšené hodnoty lze využít v predikci pokročilého onemocnění. Ani v těchto případech však rutinní vyšetřování nádorových markerů není běžnou praxí (104, 105).

#### *HE4*

Pro obecné charakteristiky markeru HE4 odkazují na kapitolu ovariálního karcinomu.

Marker HE4 byl popsán jako potencionální marker k hodnocení hloubky myometriální invaze a pokročilého onemocnění. Senzitivita a specificita tohoto vyšetření je však nízká (98).

Hlavní náplní našeho 4letého sběru dat (5/2012 – 9/2016) u pacientek s karcinomem endometria byla analýza využitelnosti markerů HE4 a CA125 v předoperačním managementu časných stádií této malignity z pohledu stratifikace na low risk a intermediate/high risk pacientky. Každá tato skupina je následně řešena operačním výkonem rozdílné radikality, rovněž adjuvantní onkologická léčba je odvislá od této stratifikace. Správné zařazení je tedy zásadní.

Jako další výstup byla korelace hodnot markeru HE4 s klinickým a patologickým stagingem, gradingem a typingem /histologickým typem tumoru/. Pro klinickou praxi jsme chtěli zodpovědět otázku, zda předoperační znalost hodnot markeru HE4 bude sloužit jako přidaná hodnota k závěru expertního ultrazvukového vyšetření ke zlepšení výše uvedené stratifikace.

Jako první jsme publikovali pilotní práci na 34 pacientkách s karcinomem endometria v porovnání s 32 zdravými kontrolami. Slibné výsledky vedly k pokračování práce.

Celkem jsme zařadili 124 pacientek. Marker HE4 měl při cut-off  $\geq 113$  pmol/l senzitivitu 40,3% a specificitu 83,9% pro detekci high-risk pacientky. Potvrdili jsme korelaci hodnot s věkem, patologickou hloubkou myometriální invaze, klinickým stagingem dle expertního USG při rozlišení T1a vs T1b stadia. Nebyla nalezena korelace mezi hodnotami HE4 a postižením lymfatických uzlin a grade tumoru.

Marker HE4 koresponduje se stadiem onemocnění. Jeho senzitivita a specificita však nedosahuje výsledků předoperačně provedeného expertního USG a kombinace těchto vyšetření tak nezlepšuje stratifikaci pacientek. Vyšetření tak může mít svůj smysl ve chvíli, kdy není k dispozici kvalifikovaně vyhodnocené zobrazovací vyšetření.

Naše výsledky jsou prakticky ve shodě s výsledky předešlých prací (67, 98, 106-113).

*/Strana 182 a 188 habilitační práce/*

**PRESL, J., NOVOTNY, Z., TOPOLCAN, O., et al. CA125 and HE4 levels in a Czech female population diagnosed with endometrial cancer in preoperative management. Anticancer Res. 2014, 34 (1), p. 327-331.**

**PRESL, Jiri, OVESNA, Petra, NOVOTNY, Zdenek, et al. Importance of Preoperative Knowledge of the Biomarker HE4 in Early-stage Endometrial Cancer Regarding Surgical Management. Anticancer Research. 2017, 37 (5), p. 2697-2702.**

**Cena:**

Cena stanovení nádorových markerů je orientačně následující: CA125 - 603,- Kč bez DPH, HE4 - 483,- Kč bez DPH. Stanovení dalších výše uvedených markerů se pohybuje ve stejných cenových hladinách: CEA – 403,- Kč bez DPH, CA19-9 – 603,- Kč bez DPH.

## Souhrn:

Náplní výzkumné a publikační aktivity autora jsou aktuální témata onkogynekologie ovariálního a endometriálního karcinomu.

Autor se věnuje zejména nádorovým markerům CA125 a HE4, na které je zaměřena většina publikací. Spolu s brněnskými kolegy připravil velkou mezinárodní studii s cílem zhodnotit efektivitu těchto markerů ve follow-up ovariálního karcinomu.

S týmem svých kolegů se publikačně věnuje zajímavým case reportům, diagnostickým metodám /ultrazvukem navigovaná biopsie/ a některým prognostickým faktorům gynekologických malignit /např. CD44/.

Autor je hlavním zakladatelem Ambulance dědičných onemocnění v onkologii (ADO) při KOC FN Plzeň. Zajistil tak komplexní péči o nositelky hereditárních dispozic k nádorovým onemocněním v Plzeňském kraji. Ambulance pečuje zejména o jedince s BRCA mutacemi, Lynch syndromem a další. Tématu se věnuje v několika souhrnných výukových textech publikovaných v recenzovaných časopisech.

Další zajímavou kapitolou výzkumu je metoda OSNA. Ta se stala tématem disertační práce doktoranda MUDr. Jana Kostůna pod vedením autora. Práce vzbudila zájem v zahraničí a umožnila nám spolupodílet se na přípravě protokolu mezinárodní evaluační studie metody OSNA u cervikálního a endometriálního karcinomu.

Ovariální karcinom a karcinom endometria jsou 2 nejčastější gynekologické malignity a zároveň zaujímají 8. resp. 6. místo mezi malignitami u žen vůbec.

S novými molekulárně-genetickými poznatky postupně nahlížíme na samý počátek kancerogeneze a moderními diagnostickými postupy postupně směřujeme k přísně individualizované léčbě.

Ideálním postupem je však předcházet vzniku nádorového onemocnění, případně funkčním screeningem zachytit onemocnění v počátečních stádiích.

Žádný ze tří fungujících screeningových programů, který ale není využitelný u zmiňovaných malignit, není založen na stanovení sérových hodnot nádorových markerů. Tyto látky a jejich stanovení jsou ale využitelné s vědomím jejich limitů na jiných úrovních péče o pacientku.

Ve screeningu nádorové markery selhávají z důvodu nízké senzitivity i specifity.

V onkogynekologii používáme nejčastěji stanovení markerů CA125 a HE4. FDA schválila využití markeru CA125 k hodnocení odpovědi na léčbu ovariálního karcinomu. Marker HE4 byl schválen FDA k monitoraci rekurence a progresu ovariálního karcinomu, spolu s doplněním



ultrasonografie. Markery nelze využít pro rutinní diferenciální diagnostiku benigních a maligních ovariálních nádorů. Místo mohou najít jako doplňující vyšetření, kdy spolu s ultrazvukovým vyšetřením a gynekologickým vyšetřením by měly přispět k rozhodnutí o odeslání pacientky do onkogynekologického centra. Zde jsou pacientky dále expertně vyšetřeny.

U pacientek s karcinomem endometria nepatří vyšetření nádorových markerů mezi rutinní vyšetření ani v rámci diagnostiky, monitoraci odpovědi na léčbu, follow-up či jako prediktor intra či extrauterinního šíření nádoru k lepšímu plánování operační léčby a jejího rozsahu.

Přes výše uvedené lze říci, že nádorové markery jsou velmi potřebné, jen je nutné najít pro ně správné umístění a využití.

„Nezvýšená koncentrace nádorového markeru neznamená nepřítomnost maligního onemocnění, pozitivní výsledek nemusí znamenat přítomnost nádoru“. Tato věta je nízké senzitivní i specifická, stejně jako v současnosti dostupné nádorové markery.

## Summary:

The content of the research and publication activities of the author are current topics of oncogynecology of ovarian and endometrial cancer.

The author focuses in most publications mainly on the tumor markers CA125 and HE4. Together with his colleagues from Faculty hospital in Brno he prepared a large international study to evaluate the effectiveness of these markers in the follow-up of ovarian cancer.

He and his team are publishing interesting case reports, papers on diagnostic methods /ultrasound navigated biopsy/ and paper regarding some prognostic factors of gynecological malignancies / eg. CD44 /.

The author is the main founder of Ambulance of Hereditary Diseases in Oncology at Complex oncological centre in Faculty hospital in Pilsen. Thus, he provided comprehensive care for carriers of hereditary dispositions to cancer in the Pilsen Region. The outpatient department cares especially for individuals with BRCA mutations, Lynch syndrome and others. The topic is dealt with in several summary texts published in peer-reviewed journals.

Another interesting chapter of the research is the OSNA method (One step nucleic acid amplification). This was the topic of the doctoral thesis of PhD student MUDr. Jan Kostun under the direction of the author. The work attracted interest abroad and enabled us to participate in the preparation of the protocol of the international evaluation study of the OSNA method in cervical and endometrial cancer.

Ovarian carcinoma and endometrial carcinoma are the two most common gynecological malignancies and also occupy the 8th and the 6th place among malignancies in women at all.

With the new molecular-genetic knowledge we gradually look at the very beginning of cancerogenesis and we are gradually moving towards modernized individual treatment with modern diagnostic procedures.

However, the ideal approach is to prevent the onset of cancer or to detect disease in the early stages by functional screening.

None of the three functioning screening programs, but which are not usable in the aforementioned malignancies, are based on the determination of serum levels of tumor markers. However, these substances and their determination are useful with the knowledge of their limits at other levels of patient care.

In screening, tumor markers fail due to both low sensitivity and specificity.

In oncogynecology, we use most frequently the determination of markers CA125 and HE4. The FDA has approved the use of the CA125 marker to evaluate the response to treatment of ovarian cancer. The HE4 marker was approved by the FDA for monitoring the recurrence and progression of ovarian cancer, along with supplementation of ultrasonography.

The markers cannot be used for routine differential diagnosis of benign and malignant ovarian tumors. They can find the place as a supplementary examination, when together with ultrasound examination and gynecological examination they should contribute to the decision to send the patient to the oncogynecological center. Here the patients are further examined by an expert.

In patients with endometrial cancer, the examination of tumor markers does not belong to routine practice, neither in diagnosis or monitoring of response to treatment nor in follow-up or as a predictor of intra or extrauterine tumor spread.

It can be said that tumor markers are highly needed, but it is necessary to find the right use for them.

"An unelevated tumor marker concentration does not mean the absence of a malignant disease, a positive result does not mean the presence of a tumor". This sentence has both low sensitivity and specificity as well as currently available tumor markers.

## **Přílohy – jak uvedené v textu:**

- 1. BOUDA, J., PRESL, J., VLASAK, P., et al. New opinion on the pathogenesis of ovarian carcinoma. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2018, 10 p. 19-22.**

## Nový pohled na etiopatogenezi ovariálního karcinomu

Jiří Bouda<sup>1</sup>, Jiří Presl<sup>1</sup>, Pavel Vlasák<sup>1</sup>, Jan Kostun<sup>1</sup>, Robert Slunéčko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň  
<sup>2</sup>Šiklův patologický ústav Plzeň

Korespondenční adresa: doc. MUDr. Jiří Bouda, Ph.D., Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň, alej Svobody 80, 304 60 Plzeň, tel.: +420 377 105 213, e-mail: boudaj@medima.cz

Publikováno: 25. 4. 2018    Přijato: 12. 12. 2017    Akceptováno: 9. 4. 2018  
Actual Gyn 2018, 10, 19-22    ISSN 1803-9588    © 2018 Aprofema s.r.o.  
Článek lze stáhnout z [www.actualgyn.com](http://www.actualgyn.com)



Citujte tento článek jako: Bouda J, Presl J, Vlasák P, Kostun J, Slunéčko R. Nový pohled na etiopatogenezi ovariálního karcinomu. Actual Gyn. 2018;10:19-22

### NEW OPINION ON THE PATHOGENESIS OF OVARIAN CARCINOMA

#### Review article

#### Abstract

With regard to etiopathogenesis, we can divide ovarian, tubal, and peritoneal epithelial tumors into two groups which differ both in origin and biological behavior. STIC - serous tubal intraepithelial carcinoma is a plausible precursor of the second group – extrauterine pelvic serous carcinomas. Recent data on the etiopathogenesis of this group of tumors put new demands on diagnostics, but also opens up new possibilities for selective screening of high-risk patients and also for targeted surgical and oncological treatment.

**Key words:** STIC – serous tubal intraepithelial carcinoma, extrauterine pelvic serous carcinomas, etiopathogenesis

#### Přehledový článek

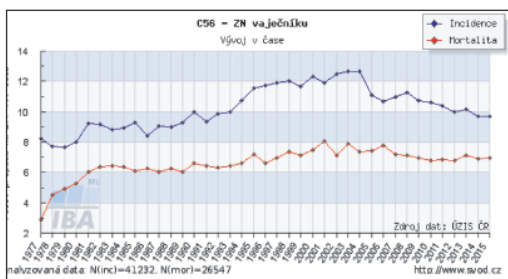
#### Abstrakt

V současnosti dělíme epiteliální nádory ovaria, tuby a peritonea z hlediska etiopatogeneze do dvou skupin, které se liší jak původem, tak biologickým chováním. Za prekurzor druhé skupiny, extrauterinních pánevních serózních karcinomů, je považován STIC – serous tubal intraepithelial carcinoma. Poznatky o etiopatogenezi této skupiny nádorů kladou nejen nové požadavky na diagnostiku, ale otevírají rovněž nové možnosti pro selektivní screening rizikových pacientek a také členou chirurgickou i onkologickou léčbu.

**Klíčová slova:** STIC – serous tubal intraepithelial carcinoma, extrauterinní pánevní serózní karcinomy, etiopatogeneze

## Úvod

Nádory jsou tradičně primárně klasifikovány podle anatomické lokalizace a většina léčebných schémat rovněž respektuje toto anatomické členění. Pojem karcinom ovaria (nebo zhoubné nádory ovaria) představuje značně heterogenní skupinu nádorů jak co do histologických typů, tak i biologického chování. Přesto, že se často hovoří o nádorech ovaria, nezřídka tyto nádory pocházejí z tuby či (převážně pánevního) peritonea, což při pokročilém onemocnění mnohdy nelze přesně určit a pro pacientky toto určení původu nemá zásadnější význam. Karcinom ovaria je nejčastější příčinou úmrtí na gynekologické malignity v rozvinutých zemích včetně České republiky (ČR). V roce 2015 bylo v ČR zaznamenáno 1 023 nových případů a 734 zemřelých s diagnózou karcinom ovaria, což v hrubých číslech znamená incidenci 19,1 a mortalitu 13,7 (**Graf 1**) (1).



**Graf 1** Ca ovarii - Incidence a mortalita v ČR

## Etiopatogeneze

Ovariální tumory jsou velmi heterogenní skupinou onemocnění, která zahrnuje čtyři hlavní skupiny: epiteliální tumory, germinální tumory, gonadostromální tumory a sekundární tumory. Z primárních tumorů jsou epiteliální nejčastější a klinicky nejvýznamnější. Dle v současnosti převládajících názorů můžeme epiteliální nádory ovaria, tuby a peritonea z hlediska patogeneze rozdělit do dvou skupin (2,3):

- 1) **Tumory typu I** - zahrnují početnou skupinu low-grade tumorů, které mají podklad v benigních, převážně extraovariálních lézích. Takovými prekuzory mohou být např. endometrióza (endometrioidní, clear-cell a seromucinózní karcinomy, smíšené Mülleriánské tumory), papilární tubální metaplazie (low-grade serózní karcinomy) a přechodní epitel tuboperitoneální junkce (mucinózní a Brennerovy tumory). Buňky těchto prekuzorových lézí mohou implantovat na povrch ovaríí, vytvářet inkluze a postupně přecházet v benigní, atypické proliferující (borderline) a maligní tumory. Pro tumory typu I jsou typické mutace KRAS, BRAF, ARID1A, PTEN, PIK3CA, CTNNB1, PPP2R1A (4-6).
- 2) **Tumory typu II** - zahrnují nejčastější high-grade serózní karcinom (HGSC), dále maligní smíšený Mülleriánský tumor, primární peritoneální karcinom (HGSC s minimálním či žádným postižením ovaríí) a nediferencovaný karcinom (postrádá rysy HGSC či high-grade endometrioidního karcinomu). HGSC a primární peritoneální karcinom bývají také označovány jako „extrauterinní pánevní serózní karcinomy“. Jedná se o high-grade serózní karcinomy s pravděpodobným původem v ovariu,

tubě nebo Mülleriánském peritoneu kdekoli v dutině břišní. Pro tyto nádory je charakteristický rychlý růst a pozdní stádium onemocnění v době diagnózy (typické mutace tp53, BRCA1, BRCA2). Přibývá důkazů o tom, že značná část těchto tumorů vzniká ve vejcovodu, v jeho distální části, na podkladě jasně definovaných prekanceróz (viz níže). HGSC se dělí na dva podtypy: 1) „usual type“ HGSC (významná solidní složka, nekrozy, papilární formace, často asociace se STIC, starší ženy, špatný outcome) a 2) „SET type/variant“ (může být STIC, častěji BRCA1 mutace, mladší ženy, lepší outcome) (4-6).

Karcinogenní sekvence HGSC nezahrnuje pouze samotný karcinom, ale také jeho prekuzory - p53 signature lesion a serózní tubální intraepiteliální neoplazie (STIN), které se dále dělí na serózní tubální intraepiteliální karcinom (STICs, jde o karcinom in-situ) a méně výrazné, ale imunofenotypicky shodné serózní tubální intraepiteliální léze (STILs/TILTs/atypická hyperplazie) (7-8).

Prakticky všechny přímé prekuzory HGSC jsou postiženy mutací tp53 a vznikají především v oblasti distální tuby/fimbrií. Nádorové klony vždy obsahují mutaci specifických kodonů tp53. To je jedna ze základních podmínek pro diagnostiku lézí, kde jde o kombinaci imunohistochemických barvení (p53, bcl-2, MIB-1) a klasických nádorových cytologických změn (zvyšování nukleocytoplazmatického poměru, hyperchromní nepravidelná jádra, často s jádry a nepravidelnou distribucí chromatinu, ztráta polaritativních buněk, vymizení dvou populací buněk – tj. řasinkových a sekretorních...). V případech časných lézí jsou ale cytologické známky minimální, popřípadě mohou zcela chybět (7,10). Dále byly zjištěny další benigní léze, tzv. SCOUTs (secretory cell outgrowths), které nemají mutaci tp53, ale shodně s prekuzory a HGSC mají ztrátu exprese PAX2, která je spojena s buněčným dělením. Nejedná se tudíž o jednoznačné přímé prekuzory, ale léze vyskytující se častěji u starších postmenopauzálních žen spolu s HGSC. Jde spíše o prekancerózu v širším slova smyslu. Samotné SCOUTs se mohou dále dělit na typ 1 (z tubálních řasinkových a bezřasinkových buněk, imunofenotypicky s minimálními rozdíly od tubálních epitelů, jako je ztráta exprese ALDH1) a typ 2 (endometrioidní s výraznějšími rozdíly, které mají i STINs, například EZH2, LEF1, RCN1, RUNX2, stathmin, beta-catenin barvící více jádro a cytoplazmu) (9-10).

## Praktické dopady nové etiopatogenetické teorie

Nové poznatky o etiopatogenezi ovariálních nádorů mají i výstupy do diagnosticko-léčebného procesu:

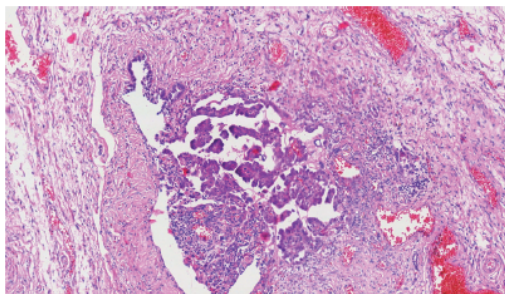
### 1) Určení místa původu nádoru

U již vzniklého extragenitálního high-grade serózního karcinomu nezáleží, zda prvotně pochází z ovaria, tuby nebo odkudkoli z pánevního peritonea. Přesné určení často ani možné není, protože nádor v době diagnózy postihuje všechny zmíněné struktury. Léčebná strategie i zásady jednotlivých modalit (chirurgického výkonu, chemoterapie) jsou stejné, ať zařadíme tumor kamkoli (11).

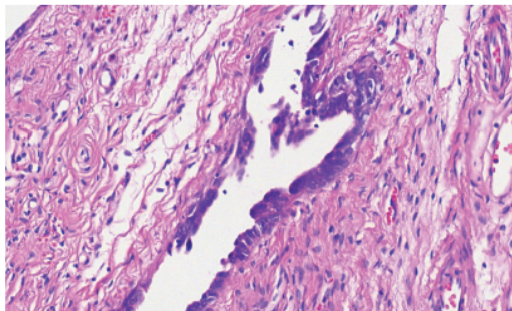
### 2) Vyšetření patologem – SEE-FIM protokol

Nález STIC při adnexektomiích (salpingektomiích) prováděných pro benigní diagnózu není častý. Naproti tomu u risk-reducing (profylaktických) chirurgických výkonů není tento nález vzácností (10). Tato skutečnost si vyžádala změnu vyšetřovacího protokolu při vyšetření biopci-

kého materiálu. Nejčastějším protokolem je SEE-FIM (sectioning and extensively examining the fimbrial end) (12), kde jsou transverzální řezy vejcovodem vedeny v 2-3mm intervalech. Vhodné je použití imunohistochemie s častým nálezem p53 mutací, někdy difuzní pozitivitu WT1 a p16INK4. (**Obr. 1, 2**)



**Obr. 1** Malé ložisko STIC fimbrií tuby s počínající invazí do stromatu, zvětšení 20x, barvení HE



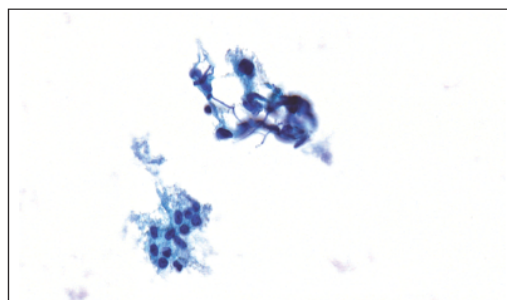
**Obr. 2** Malé ložisko STIC fimbrií tuby s atypickými hyperchromními jádry a pseudostratifikací, zvětšení 20x, barvení HE

### 3) Role ve screeningu

Systémový celoplošný screening ovariálního karcinomu dosud neexistuje. U vybraných skupin (nositelky hereditárního rizika – BRCA mutace, Lynchův syndrom atd.) jsou vypracovány protokoly pro selektivní screening (13), založené dosud hlavně na klasických vyšetřovacích metodách (fyzikální vyšetření, ultrazvuk, nádorové markery). V současné době se rozvíjejí studie, které jsou zaměřeny na cílenou identifikaci vysokorizikových pacientek pomocí detekce STIC buněk v genitálním traktu (BYFSTIC – hysteroskopicky asistovaný odběr kartáčkem přímo z vejcovodu; LUSTIC – výplachová cytologie děložní dutiny; LBC děložního hrdla) (**Obr. 3**), či v periferní krvi.

### 4) Nález STIC u rrBSO (+ hysterektomie)

STIC je považován za přímý prekursor pánevního serózního karcinomu. V případě provedení rrBSO (+ hysterektomie) je jeho výskyt udáván mezi 4 - 17 % (10). Vystává otázka, zda by pacientky s tímto nálezem profitovaly z adjuvantní chemoterapie. Na tuto otázku není v literatuře jednotný názor, v současnosti se většina autorů k podání chemoterapie nepřiklání (14).



**Obr. 3** Shluk atypických buněk s hyperchromními nepravidelnými atypickými jádry (nahore) a shluk benigních epitelálních buněk výstelky tuby (dole), zvětšení 40x, barvení Papa-Nicolau

### 5) Chemoterapie a biologická léčba

Rozlišení mezi low-grade a high-grade serózním karcinomem je primárně založené na stanovení mitotické aktivity a hodnocení buněčných atypií, užitečné je vyšetření p53. Toto rozlišení je podstatné jak pro určení prognózy, tak pro stanovení léčebné strategie u primárního onemocnění, ale i u recidiv. U extrauterinních pánevních serózních karcinomů je udávána léčebná odpověď na platinové deriváty (response rate – RR) ve 26 % u primárního onemocnění a mezi 27 – 66 % u recidiv (15). Na druhé straně, u low-grade serózních karcinomů jsou to 4 % pro primární onemocnění a 4,9 % u recidiv (16-17). U nositelů BRCA mutací se jako slibné jeví léčebné využití PARP inhibitorů.

### Závěr

Nové poznatky o etiopatogenezi epitelálních nádorů ovaria, vejcovodu a peritonea ukazují na společný původ, molekulárně-genetické charakteristiky, biologické chování 0i prognózu řady z nich. Pro léčbu většinou není důležité, kde nádor vznikl, ale kromě rozsahu onemocnění rozhoduje především jeho přesný typ. Znalosti patogeneze otevírají nové možnosti pro selektivní screening rizikových pacientek a větší individualizaci léčby.

### Literatura

1. www.svod.cz
2. Tone AA, Salvador S, Finlayson SJ, et al. The role of the fallopian tube in ovarian cancer. Clin Adv Hematol Oncol 2012;10(5):296-306
3. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract, 6th ed, Kurman RJ, Ellenson LH, Ronnett RM. (Eds), Springer, New York 2011
4. Kurman RJ, le-Ming S. The dualistic model of ovarian carcinogenesis. Am J Pathol. 2016 Apr;186(4):733-747
5. Mittal N, Srinivasan R, Gupta N, et al. Secretory cell outgrowths, p53 signatures, and serous tubal intraepithelial carcinoma in the fallopian tubes of patients with sporadic pelvic serous carcinoma. Indian J Pathol Microbiol. 2016;59(4):481-8
6. Visvanathan K, Vang R, Shaw P, et al. Diagnosis of serous tubal intraepithelial carcinoma based on morphologic and immunohistochemical features: A reproducibility study. Am J Surg Pathol. 2011;35(12):1766-75

7. Niskakoski A, Pasanen A, Lassus H, et al. Molecular changes preceding endometrial and ovarian cancer: a study of consecutive endometrial specimens from Lynch syndrome surveillance. *Mod Pathol*. 2018 Mar 27, doi: 10.1038/s41379-018-0044-4
8. Moss EL, Evans T, Pearmain P, et al. Should All Cases of High-Grade Serous Ovarian, Tubal, and Primary Peritoneal Carcinomas Be Reclassified as Tubo-Ovarian Serous Carcinoma? *Int J Gynecol Cancer*. 2015 Sep;25(7):1201-7
9. The Cancer Genome Atlas Research Network, Berchuck A, Birrer M, Chien J, et al. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 2011;474(7353):609–15
10. Zeppernick F, Meinhold-Heerlein I, le-Ming S. Precursors of ovarian cancer in the fallopian tube: Serous tubal intraepithelial carcinoma – an update. *J Obstet Gynaecol Res*. 2015 January;41(1):6–11
11. Seidman JD, Zhao P, Yemelyanova A. „Primary peritoneal” high-grade serous carcinoma is very likely metastatic from serous tubal intraepithelial carcinoma: assessing the new paradigm of ovarian and pelvic serous carcinogenesis and its implications for screening for ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2011;120(3):470-3
12. Mehrad M, Ning G, Chen EY, et al. A pathologist’s road map to benign, precancerous, and malignant intraepithelial proliferations in the fallopian tube. *Adv Anat Pathol*. 2010;17(5):293-302
13. Zikán M. Gynekologická prevence a gynekologické aspekty péče u nositelek mutací genů BRCA 1 a BRCA 2. *Klin Onkol*. 2016;29 (Suppl 1):522-530
14. Wethington SL, Park KJ, Soslow RA, et al. Clinical Outcome of Isolated Serous Tubal Intraepithelial Carcinomas (STIC). *Int J Gynecol Cancer*. 2013 Nov;23(9):1603-1611
15. International Collaborative Ovarian Neoplasm Group. Paclitaxel plus carboplatin versus standard chemotherapy with either single-agent carboplatin or cyclophosphamide, doxorubicin, and cisplatin in women with ovarian cancer: the ICON3 randomised trial. *Lancet*. 2002;360(9332):505-15
16. Schmeler KM, Sun CC, Bodurka DC, et al. Neoadjuvant chemotherapy for low-grade serous carcinoma of the ovary or peritoneum. *Gynecol Oncol*. 2008;108(3):510-4
17. Gershenson DM, Sun CC, Bodurka D, et al. Recurrent low-grade serous ovarian carcinoma is relatively chemoresistant. *Gynecol Oncol*. 2009;114(1):48-52



2. **KAPOUN, M., BOUDA, J., PRESL, J., et al. Agressive small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type, surgery and oncological treatment: case report. Ceska Gynekol. 2015, 80 (3), p. 218-221.**

# Agresivní malobuněčný karcinom ovaria hyperkalcemického typu, chirurgická a onkologická léčba: kazuistika

## Aggressive small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type, surgery and oncological treatment: case report

Kapoun M.<sup>1</sup>, Bouda J.<sup>1</sup>, Presl J.<sup>1</sup>, Vlasák P.<sup>1</sup>, Slunečko R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN, Plzeň, přednosta doc. MUDr. Z. Novotný, CSc.

<sup>2</sup>Šiklův ústav patologie LF UK a FN, Plzeň, přednosta prof. MUDr. M. Michal, Ph.D.

### ABSTRACT

Small cell carcinoma of the ovary (SCCOHT) is a rare tumor typically affecting young women. It is a highly malignant tumor accompanied with poor prognosis, early relapse and low survival rates. The most significant prognostic factor is stage of the disease. Due to above mentioned factors there are no guidelines for therapy of this rare tumor.

We present a case of 22-years-old patient initially treated with antibiotics under diagnosis of pelvic inflammatory

disease. Due to persistent mass at left adnexa, she was indicated for diagnostic laparoscopy, converted to laparotomy and left adnexectomy with frozen section revealing unspecified malignant tumor of left ovary. A conservative operation was performed and, after diagnosis of SCCOHT was established, the patient was indicated for adjuvant chemotherapy.

### KEYWORDS

SCCOHT – conservative surgery – chemotherapy

### SOUHRN

Malobuněčný karcinom ovaria hyperkalcemického typu (SCCOHT) je raritní tumor typicky postihující mladé ženy. Patří mezi vysoce maligní nádory se špatnou prognózou, s časným relapsem a krátkým celkovým přežitím. Nejdůležitějším prognostickým faktorem je stadium onemocnění. Z výše uvedených důvodů zatím nebyly stanoveny standardy léčby tohoto onemocnění. V kazuistice prezentujeme případ 22leté pacientky léčené zprvu antibiotiky pod diagnózou hlubokého

pánevního zánětu. Pro přetrvávající nález v krajně levých adnex byla indikována diagnostická laparoskopie, posléze konvertovaná v laparotomii a levostrannou adnexektomii s peroperačním nálezem maligního, blíže nespecifikovaného tumoru levého ovaria. Byla dokončena konzervativní operace a po definitivní diagnóze byla pacientka indikována k adjuvantní chemoterapii.

### KLÍČOVÁ SLOVA

SCCOHT – konzervativní operace – chemoterapie

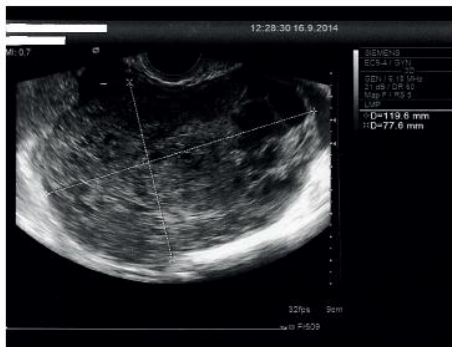
Čes. Gynek., 2015, 80, č. 3, s. 218–221

### VLASTNÍ POZOROVÁNÍ

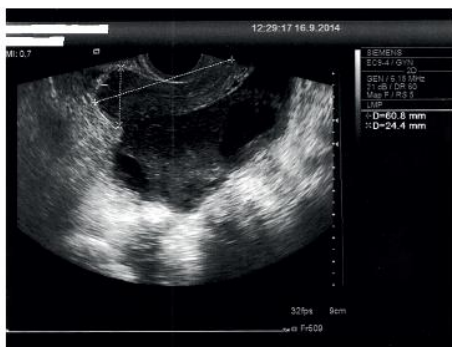
Dvaadvacetiletá žena byla přijata na Gynekologicko-porodnickou kliniku (GPK) FN Plzeň překladem z chirurgického oddělení, kde byla vyšetřena pro čtyři dny trvající bolesti v levém podbřišku a febrilie. Při USG břicha byla zjištěna vaskularizovaná rezistence v oblasti pánve 13 × 9 ×

8 cm a menší množství volné tekutiny. Pacientka, nulligravida s pravidelným menstruačním cyklem, měla negativní osobní i gynekologickou anamnézu. V roce 2011 byla přeléčena na chlamydiovou a ureoplazmatickou infekci. Poslední preventivní prohlídka s normálním nálezem byla v březnu 2014.

Podle vstupního USG na gynekologicko-porodnické klinice byla zjištěna vlevo a za dělohou kulovitá, převážně solidní rezistence 120 × 78 mm s cystickou složkou, v Douglasově prostoru se nacházelo malé množství volné tekutiny (obr. 1, 2).



**Obr. 1** V oblasti levých adnex a za dělohou je patrna nehomogenní kulovitá z větší části solidní rezistence



**Obr. 2** Kontrast velikosti rezistence a dělohy (viz rozměry)

Byla odebrána kultivace z pochvy a z děložního hrdla – pozitivní na *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus koaguláza* negativní a *Enterococcus species*. Podle vstupního laboratorního vyšetření byla stanovena elevace zánětlivých parametrů – CRP 103 mg/l, Leu 14, 3, biochemické vyšetření v normě. Zjištěna byla elevace CA 125-170 IU/ml.

Po zhodnocení výsledků a klinického nálezu byla stanovena klinická diagnóza inflammatorního adnexiálního tumoru vlevo.

Léčba byla započata konzervativně, parenterálně trojkombinací antibiotik – PNC, Gentamicin, Metronidazol, pro febrilie a bolesti břicha byla podána NSAIDs. S odstupem sedmi dnů byl proveden kontrolní USG se závěrem: stacionární nálezy. Laboratorní vyšetření s mírným poklesem zánětlivých parametrů. S ohledem na tyto skutečnosti bylo indikováno operační řešení z laparoskopického přístupu.

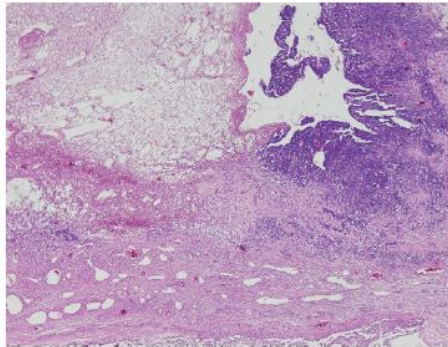
Perioperačně byl nalezen hladkostěnný tumor pravého ovaria o velikosti asi 14 cm, drobná pětimilimetrová suspektní ložiska v Douglasově prostoru a nazelenalý ascites v dutině břišní o objemu asi 700 ml (obr. 3).



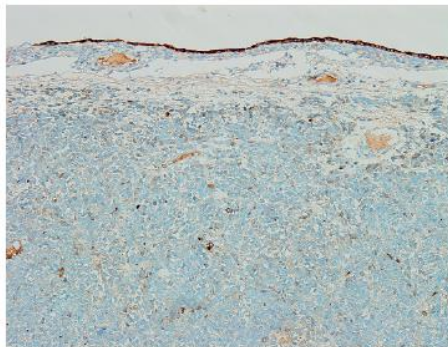
**Obr. 3** V oblasti pravých adnex perioperačně zjištěna hladkostěnná kulovitá rezistence velikosti asi 14 cm, laterálně patrná tuba

Vzhledem k nálezu bylo rozhodnuto o konverzi v laparotomii. Byla provedena pravostranná adnektomie bez porušení pouzdra tumoru. Adnexa byla odeslána na perioperační histologické zhodnocení. Podle sdělení patologa se jednalo o vysoce maligní tumor ovaria, nebylo možné vyloučit germinální etiologii, s odkazem na definitivní histologii. Následně byla provedena peritonektomie v oblasti cavi Douglasi, omentektomie, apendektomie. Ascites byl odeslán na cytologické vyšetření. Bylo dosaženo nulového pooperačního rezidua při konzervativní operaci.

Definitivní histologické vyšetření s imunohistochemickým zpracováním bylo k dispozici týden po operačním zákroku. Byla stanovena diagnóza maligního malobuněčného karcinomu ovaria hyperkalcemického typu (SCCOHT) s metastatickým rozsevem na peritoneu Douglasova prostoru a v omentu, pozitivní cytologie ascitu. Appendix byl bez nádorového postižení. Dostupné výsledky umožnily nálezy hodnotit jako stadium FIGO IIIA. (obr. 4, 5).



**Obr. 4** Solidně utvářený rozsáhlý nekrotický tumor tvořený menšími a středními oválnými buňkami, z části s minimem cytoplazmy, v tumoru jsou velmi četné mitózy včetně atypických, na periférii tumoru je infiltrativní růst. Místy je tumor i v lumenech cév.



**Obr. 5** Imunohistochemické zpracování: Tumor reaguje ojedinele pozitivně pouze s OSCAR a častěji s p53, CK 7, CK 20, ER, PR, ALK1, Inhibin alfa, SALL4, melanA, CD99, CD20, calretinin a EMA negativně.

Pooperačně byla laboratorně zjištěna výrazná trombocytóza (až  $1033 \times 10^9$ ), postupný pokles CRP, kalcémie byla v normě. Laparotomie se vzhledem k infekci hojila per secundam. S odstupem 10 dnů od operace (dne 3. 10. 2014) byla provedena vaginální evakuace a drenáž zabscedovaného hematomu v Douglasově prostoru, další průběh hospitalizace byl bez komplikací. Pacientka byla poté byla předána na onkologickou a radioterapeutickou kliniku (ORAK) FN Plzeň.

Byla indikována pooperační chemoterapie – v protokolu Etopozid / Cisplatina v třítydenních intervalech, 1. sérii podstoupila pacientka 20 dnů od operačního výkonu a 13 dnů od výsledku definitivní histologie, tzn. určení konečné diagnózy.

Dne 19. 1. 2015 po absolvování čtyř sérií pooperační chemoterapie Etopozid / Platidiam na ORAK FN

Plzeň bylo provedeno kontrolní CT vyšetření hrudníku, břicha, retroperitonea a pánve, kde bylo stanoveno důvodné podezření z generalizace onemocnění do pleurální dutiny. Byla změněna chemoterapie na protokol Doxorubicin / Endoxan, Pacientka je v současnosti (13. 2. 2015) po druhé sérii této léčby.

#### DISKUSE

Malobuněčné karcinomy ovaria (SCCO) tvoří méně než 1 % všech ovariálních tumorů.

Patogeneze tohoto histologického typu karcinomu ovaria je dosud víceméně nejasná. Young et al. [13] se přiklání k teorii vzniku z epitelu ovaria, Ulbright et al. [11] naopak podporují teorii vzniku z germinálních buněk.

SCCO můžeme rozdělit do 3 typů:

1. malobuněčný karcinom ovaria plicního typu (SCCOPT),
2. malobuněčný karcinom ovaria hyperkalcemického typu (SCCOHT),
3. nemalobuněčný karcinom neuroendokrinního typu, velmi obtížně rozlišitelný od předchozích dvou typů.

Poprvé byla diagnóza malobuněčného karcinomu ovaria publikována roku 1979 [10], diagnóza SCCOHT byla ale poprvé vyslovena až o tři roky později [2]. Do dnešní doby bylo celosvětově publikováno pouze 300 případů výskytu tohoto onemocnění s věkovým mediánem 24–28 let [11, 13].

#### DIAGNOSTIKA

Diagnostika SCCOHT je velice obtížná, často bývá složité odlišit tento typ tumoru od běžných epiteliálních malignit ovaria. Nejprůnosnějším nástrojem je imunohistochemie. V diferenciální diagnóze lze často tento typ tumoru také zaměnit s germinálními či sex-cord tumory, zvláště pokud jsou špatně diferencované. Pro SCCOHT bývá typický nízký věk pacientek, zatímco SCCOPT se vyskytuje po 50. roku života a častěji jej najdeme bilaterálně. SCCOPT bývá také spojován s výskytem dalších malignit, nejčastěji endometroidního adenokarcinomu [3]. Hodnoty tumor markerů ( $\alpha$ -fetoprotein,  $\beta$ -hCG, CA 125, LDH) jsou většinou nespecifické a nepřínosné. Young et al. [13] publikovali v roce 1994 práci čítající 150 případů SCCOHT, a zjistili, že pouze 2 ze 3 případů jsou asociovány s hyperkalcémií. Může být také zvýšena hladina parathormonu.

#### PROGNÓZA

Nejdůležitějším prognostickým faktorem je stadium onemocnění [2, 4, 6, 13]. I přes záchyt

onemocnění ve stadiu IA se pětileté přežití pohybuje kolem 40 %, pacientky vyšších stadií zemřou většinou do dvou let od zjištění diagnózy. A ve stadiu I je bohužel zachyceno pouze 20–25 % případů. Lepší prognózu ve stadiu I mají pacientky ve vyšším věku než 30 let, s nálezem jednostranného tumoru menšího než 10 cm a s normální hladinou vápníku. Místa šíření tumoru se většinou neliší od serózního karcinomu ovaria.

Pokud máme podezření na SCCOHT, mezi základní zobrazovací metody k určení stadia by mělo patřit celotělové CT, event. PET-CT.

### LÉČBA

Dosud není jednoznačný konsenzus léčby tohoto onemocnění. Přístupem se neliší od jiných karcinomů ovaria. V počátečních stadiích je indikována chirurgická léčba (její optimální rozsah zatím není upřesněn) s následnou chemoterapií (Etoposid + Cisplatina) event. radioterapií [4], v pokročilých stadiích (III a více) je preferována neoadjuvantní chemoterapie s následnou stagingovou operací. Powel et al. [7] se ve své práci přiklání k indikovaným případech k fertilitě zachovávacímu výkonu, onkologické léčbě s následnou stagingovou operací. Naproti tomu Pautier et al. [6] se přiklání k co nejradikálnějšímu chirurgickému řešení včetně systematické pánevní a paraaortální lymfadenektomie s následnou chemoterapií.

Harrison et al. [4] ve své práci prokázali přínos pooperační radioterapie ve stadiu I. Pět ze šesti pacientek, které podstoupily adjuvantní radioterapii, mělo dlouhodobé přežití delší než 50 měsíců.

Nejčastějšími lokalitami relapsu onemocnění jsou pánev a dutina břišní.

### ZÁVĚR

Prognóza pacientek s malobuněčným karcinomem ovaria hyperkalcemického typu zůstává nadále velmi nepříznivá. Sedmdesát pět procent pacientek bývá diagnostikováno ve stadiu vyšším než I, kdy přežití po léčbě (chirurgie, chemoterapie, ev. radioterapie) ve stadiu I dosahuje v průměru 13 měsíců.

SCCOHT patří mezi extrémně vzácná nádorová onemocnění, a zbývá tudíž velmi mnoho nezodpovězených otázek týkající se optimální léčby. Např. rozsah chirurgického výkonu – konzervativní vs. radikální výkon, pánevní a paraaortální lymfadenektomie, volba a typ primárně nechirurgické léčby (neoadjuvantní chemoterapie s následným intervalovým chirurgickým výkonem nebo samostatná onkologická léčba), typ preparátů podávaných v rámci chemoterapie, počet cyklů chemoterapie. Zbývá rovněž spousta otázek týkajících

se přínosu radioterapie. Z těchto důvodů se jeví potřebné ustanovení mezinárodních registrů a sběru potřebných dat. Jen takto můžeme dosáhnout určitého konsenzu v léčbě tohoto vzácného a závažného onemocnění.

### LITERATURA

1. **Cohen, JG., Chan, JK., Kapp, DS.** The management of small-cell carcinomas of the gynecologic tract. *Curr Opin Oncology*, 2012, 24 (5), p. 572–579.
2. **Dickersin, GR., Kline, IW., Scully, RE.** Small cell carcinoma of the ovary with hypercalcemia: a report of 11 cases. *Cancer*, 1982, 49, p. 188–197.
3. **Eichhorn, JH., Young, RH., Scully, RE.** Primary ovarian small cell carcinoma of pulmonary type. A clinicopathologic, immunohistologic, and flow cytometric analysis of 11 cases. *Am J Surg Pathol*, 1992, 16, p. 926–938.
4. **Harrison, ML., Hoskins, P., du Bois, A., et al.** Small cell of the ovary, hypercalcemic type – analysis of combined experience and recommendation for management. A GCIIG study. *Gynecol Oncol*, 2006, 100, p. 233–238.
5. **McDonald, JM., Karabakhtsian, RG., Pierce, H., et al.** Small cell carcinoma of the ovary of hypercalcemic type: a case report. *J Pediatr Surg*, 2012, 47, p. 588–592.
6. **Pautier, P., Ribrag, V., Duvillard, P., et al.** Results of a prospective dose – intense regimen in 27 patients with small cell carcinoma of the ovary of the hypercalcemic type. *Ann Oncol*, 2007, 18, p. 1985–1989.
7. **Powell, JL., McAfee, RD., McCoy, RC., Shiro, BS.** Uterine and ovary conservation in advanced small cell carcinoma of the ovary. *Obstet Gynecol*, 1998, 91, p. 846–848.
8. **Reed, NS., Pautier, P., Lundqvist, EA., et al.** Gynecologic Cancer Intergroup (GCIIG) consensus review for ovarian small cell cancers. *Int J Gynecol Cancer*, 2014, 24, p. 30–33.
9. **Reed, WC.** Small cell carcinoma of the ovary with hypercalcemia: Report of a case of survival without recurrence 5 years after surgery and chemotherapy. *Gyn Oncol*, 1995, 56, p. 452–455.
10. **Scully, RE.** Small cell carcinoma of the hypercalcemic type. *Int J Gynecol Pathol*, 1993, 12, p. 148–152.
11. **Ulbricht, TM., Roth, LM., Stehman, FB., et al.** Poorly differentiated (small cell) carcinoma of the ovary in young women: evidence supporting a germ cell origin. *Hum Pathol*, 1987, 18, p. 175–184.
12. **Wynn, D., Everett, GD., Boothby, RA.** Small cell carcinoma of the ovary with hypercalcemia causes severe pancreatitis and altered mental status. *Gyn Oncol*, 2004, p. 716–718.
13. **Young, RH., Oliva, E., Scully, RE.** Small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type. A clinicopathological analysis of 150 cases. *Am J Surg Pathol*, 1994, 18, p. 1102–1116.

**MUDr. Michal Kapoun**  
Gynekologicko-porodnická klinika FN  
Alej Svobody 80  
304 60 Plzeň – Lochotín  
e-mail: kapounm@fnplzen.cz

3. **BARTAKOVA, A., ONDIC, O., PRESL, J., et al. Oligodendroglioma originating in mature cystic teratoma. J Obstet Gynaecol. 2016, 36 (2), p. 269-270.**

**IF 0,545**





## Oligodendroglioma originating in mature cystic teratoma


A. Bartakova, O. Ondic, J. Presl, P. Vlasak & J. Bouda

**To cite this article:** A. Bartakova, O. Ondic, J. Presl, P. Vlasak & J. Bouda (2016) Oligodendroglioma originating in mature cystic teratoma, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 36:2, 269-270, DOI: [10.3109/01443615.2015.1049990](https://doi.org/10.3109/01443615.2015.1049990)

**To link to this article:** <https://doi.org/10.3109/01443615.2015.1049990>

 Published online: 14 Oct 2015.

 [Submit your article to this journal](#) 

 Article views: 55

 [View Crossmark data](#) 

Full Terms & Conditions of access and use can be found at  
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ijog20>

## CASE REPORT

### Oligodendroglioma originating in mature cystic teratoma

A. Bartakova<sup>1</sup>, O. Ondic<sup>2</sup>, J. Presl<sup>1</sup>, P. Vlasak<sup>1</sup> & J. Bouda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital Pilsen, Charles University, Czech Republic and <sup>2</sup>Sikl's Department of Pathology, University Hospital Pilsen, Charles University, Czech Republic

DOI: 10.3109/01443615.2015.1049990

Correspondence: A. Bartakova, MD, Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital Pilsen, Charles University, Alej Svobody 80, 304 60, Czech Republic. Tel: + 420777992970. Fax: + 420377105290. E-mail: bartakova@fnplzen.cz

#### Introduction

Ovarian teratomas are tumours originating from three different germ layers – endodermal, mesodermal and ectodermal. The majority of these tumours are benign including mature teratomas and dermoidal cysts. The presence or absence of immature neuroepithelial tissue has been the only criterion dividing teratomas into mature and immature groups since the seminal paper by Norris et al, 1976. Malignant transformation of teratomas is rare. It only occurs in about 2% of cases, most of these in postmenopausal women, and is usually a squamous cell carcinoma (exceptionally also adenocarcinoma, adenosquamous carcinoma, sarcoma, melanoma and lymphoma). It is associated with an unfavourable prognosis.

Oligodendrogliomas arising in teratomas are very rare. To our knowledge only eleven cases have been described (Zannoni et al. 2002; Caltabiano and Lanzafame, 2008; Opris et al. 2009; Bay et al. 2010; Din et al. 2012; Ünal et al. 2014). Biological characteristics and guidelines for clinical management are practically unknown due to its rarity.

#### Case report

Here we describe the case of a 21-year-old woman who presented with a 2-week history of progressive enlargement of the abdomen while not suffering any abdominal pain or having any neurological symptoms. The patient had had regular gynaecologic check-ups on annual basis. On physical examination a mass was found to be filling the whole pelvis and extending to the umbilicus. The ultrasound examination identified a cystic mass of the left ovary measuring 16 × 14 × 11 cm. It contained septal structures and a solid vascularised component with dimensions of 9 × 6 × 5 cm. The ultrasound scan was considered a sufficient preoperative imaging and no other method was used.

Due to ultrasound finding suspected of malignancy a panel of tumour markers was taken (CA 125, HE 4). All values of tumour markers were within normal limits. A lower midline laparotomy was performed. A peritoneal lavage and a left adnexectomy were performed and the material was examined perioperatively.

The operative specimen consisted of an unremarkable left tube and enlarged cystic ovary measuring 19 × 14 × 11 cm. The unilocular, partly septated cyst was filled with thin yellowish fluid. The inner cyst wall was smooth with a solid multinodular area of 10 × 5 × 5 cm comprising mostly of yellow fatty and white firm fibrous tissue. Moreover there were areas of whitish grey friable tissue of a neural type. Its neural origin was confirmed perioperatively. Histologically, the permanent sections presented

an ovarian cystic teratoma with mature structures of ectodermal and endodermal origin. Moreover there was a mature neural tissue comprising areas reminiscent of cerebellum with white matter infiltrated by low-grade oligodendroglioma (Figure 1). The wall of the cyst was not infiltrated by oligodendroglioma cells. The outer surface of the tumour was not involved either (tumour stage 1). Immunohistochemistry revealed a negative expression of p53 antigen. The MIB-1 index was up to 3% in 'hot spot' areas. Genetic testing did not confirm codeletion of chromosome 1 and chromosome 19. The FISH method was used. The scoring of the loss of chromosomal arms 1p and 19q was performed by counting the ratio of the number of 1p36 to 1q25 (resp. 19q13 to 19p13) fluorescent signals in 100 randomly selected non-overlapping tumour cell nuclei. A cut-off value of 0.7 was used according to Mohapatra classification (Mohapatra et al. 2006).

The final diagnosis was a low-grade oligodendroglioma arising in the glial component of mature teratoma. A long-term follow-up was recommended. Since then the patient has been in good health with no signs of recurrence (10 months at time of writing). Neurological symptoms of autoimmune encephalitis associated with the ovarian teratoma could be considered when examining the patient though they are exceptional and rare. The personal history and clinical examinations of our patient did not reveal any such symptoms.

#### Discussion

The development of malignancy in mature (or rarely immature) neural tissue of the ovarian teratoma is an exceptional event. The majority of patients develop glioblastoma followed by fibrillary astrocytoma (Kleinman et al. 1993).

Until now, only 11 cases of oligodendroglioma arising in a glial component of ovarian teratoma have been published (Zannoni et al. 2002; Caltabiano and Lanzafame, 2008; Opris et al. 2009; Bay et al. 2010; Din et al. 2012; Ünal et al. 2014). Din et al. 2012 reviewed the largest series of oligodendrogliomas—six cases. With the very limited experience we have so far we could suggest that the oligodendroglioma originating in ovarian teratoma occurs in young women up to the age of 30 years (12–29 years in all cases). The absence of immature neural tissue confers a better prognosis for the patient. Due to the short follow-up period (1–48 months, median: 10 months) in available cases we cannot properly discuss prognosis. Only two recurrences have occurred so far; 1 and

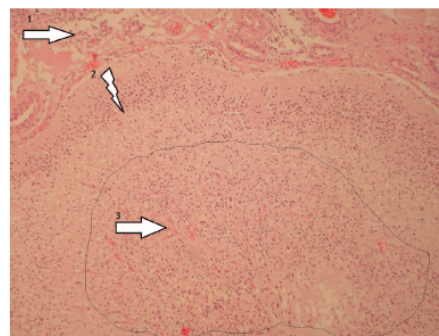


Figure 1. Soft vascularized tissue of the pia mater type (1) is covering glial tissue resembling the structure of cerebellar cortex (2) with white matter infiltrated by low grade oligodendroglioma with typical nearly uniform cells presenting perinuclear halo and 'chicken wire' capillaries (3).



36 months after operation. Genetic studies were only performed in 2 cases (including our patient). Partial simultaneous loss of chromosomal arms 1p and 19q was identified in only 1 case. Currently, surgical resection and long-term follow-up are the mainstay of patient management. There is no tumour marker for oligodendroglioma. Follow-up is based on clinical check-up and ultrasound scan or CT scan.

Chemotherapy is reserved for recurrences and higher stage disease.

**Declaration of interest:** The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

#### References

- Bay SB, Corapcioglu F, Kavurt S, Müezzinoğlu B, Anik Y, Tugay M. 2010. Oligodendroglioma arising in a mature cystic ovarian teratoma in a child. *Pediatric Hematology and Oncology* 27: 636–640.
- Caltabiano R, Lanzafame S. 2008. Oligodendroglioma arising in an immature ovarian teratoma: case report. *Pathologica* 100:420–423.
- Din NU, Memon A, Aftab K, Ahmad Z, Ahmed R, Hassan S. 2012. Oligodendroglioma arising in the glial component of ovarian teratomas: a series of six cases and review of literature. *Journal of Clinical Pathology* 65:631–634.
- Kleinman GM, Young RH, Scully RE. 1993. Primary neuroectodermal tumors of the ovary. A report of 25 cases. *The American Journal of Surgical Pathology* 17: 764–778.
- Mohapatra G, Betensky RA, Miller ER, Carey B, Gaumont LD, Engler DA, Louis DN. 2006. Glioma test array for use with formalin-fixed, paraffin-embedded tissue: array comparative genomic hybridization correlates with loss of heterozygosity and fluorescence in situ hybridization. *The Journal of Molecular Diagnostics* 8:268–276.
- Norris HJ, Zirkin HJ, Benson WL. 1976. Immature (malignant) teratoma of the ovary: a clinical and pathologic study of 58 cases. *Cancer* 37: 2359–2372.
- Opris I, Ducrotoy V, Bossut J, Lamy A, Sabourin JC. 2009. Oligodendroglioma arising in an ovarian mature cystic teratoma. *International Journal of Gynecological Pathology* 28:367–371.
- Ünal B, Güleç F, Şedele M. 2014. Oligodendroglioma Arising in Mature Cystic Teratoma. *Case Reports in Oncological Medicine*, Article ID 745462, 3 pages
- Zannoni GF, Fadda G, Scambia G, Capelli A, Carbone A. 2002. Oligodendroglioma arising within a mature cystic ovarian teratoma: case report and review of the literature. *Acta Obstetrica and Gynecologica Scandinavica* 81:896–897.

4. VLASAK, P., KOSTUN, J., BEREZOVSKIY, D., et al. Role of ultrasound-guided biopsy in the management of pelvic tumors. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2017, 9 p. 1-4.

## Role ultrazvukem navigované biopsie v managementu pánevních tumorů

Pavel Vlasák, Jan Kostun, Denis Berezovskiy, Jiří Presl, Jiří Bouda  
Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň

Korespondenční adresa: MUDr. Pavel Vlasák, Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň, alej Svobody 80, 304 60 Plzeň, tel.: +420 377 105 240, e-mail: vlasakp@fnplzen.cz

Publikováno: 7. 4. 2017      Přijato: 26. 1. 2017      Akceptováno: 15. 3. 2017  
Actual Gyn 2017, 9, 1-4      ISSN 1803-9588      © 2017 Aprofema s.r.o.  
Článek lze stáhnout z [www.actualgyn.com](http://www.actualgyn.com)



Citujte tento článek jako: Vlasák P, Kostun J, Berezovskiy D, Presl J, Bouda J. Role ultrazvukem navigované biopsie v managementu pánevních tumorů. Actual Gyn. 2017;9:1-4

### ROLE OF ULTRASOUND-GUIDED BIOPSY IN THE MANAGEMENT OF PELVIC TUMORS

#### Review article

#### Abstract

Ultrasound plays an important role in diagnostics of pelvic tumors and significantly contributes to their subsequent management. Ultrasound of pelvic tumors can be divided into basic and expert. The most important task of basic ultrasound is a distinction between normal and suspicious finding. A finding, which is suspicious of a severe adnexal pathology, is referred to an expert sonography. Using the IOTA criteria, this examination differentiates between benign or malignant findings. In case of a suspicion of an ovarian carcinoma, stage of the disease is determined. A detailed description of the extent of tumor affection in individual compartments of the pelvis and abdominal cavity further identifies patients with signs of suboptimal operability.

Signs of suboptimal operability (impossibility to achieve no residual disease after surgery) include suprarenal lymphadenopathy, multiple intraparenchymatous metastases, numerous metastatic nodules in the mesentery and diffuse visceral carcinomatosis.

Ultrasound in hands of experienced examiner reaches similar overall accuracy as CT or MRI in staging of advanced cancer, while it has the highest specificity compared to CT or MRI in assessment of the tumor spread in the abdominal cavity and in the prediction of metastases in the liver parenchyma or retroperitoneal lymph node involvement. Approximately 30% of patients with ovarian carcinoma have any of the signs of inoperability at the time of diagnosis. Neoadjuvant chemotherapy is then initiated and followed by interval debulking surgery in case of a good effect of the treatment. However, histological verification of the tumor is necessary before initiation of this kind of therapy. Ultrasound-guided needle biopsy (tru-cut biopsy) is a reliable, minimally invasive and safe method to obtain a valid histological specimen. The basic indications for transvaginally or transabdominally conducted biopsies include primarily inoperable finding, identification of the tumor origin and differentiation between benign and malignant tumor. Biopsy is most often performed transvaginally from pelvic tumor or pelvic carcinomatosis, transabdominally from infiltrated omentum.

**Key words:** biopsy, sonography, pelvic tumor

## Přehledový článek

### Abstrakt

Ultrazvuk hraje důležitou roli v diagnostice pánevních tumorů a významně se podílí na jejich následném managementu. Ultrazvukové vyšetření pánevního tumoru lze rozdělit na základní a expertní. Nejdůležitějším úkolem základního ultrazvukového vyšetření je rozlišení mezi normálním a suspektním nálezem. Nález podezřelý ze závažné adnexální patologie je referován k expertnímu ultrazvukovému vyšetření, které s využitím IOTA terminologie rozliší, zda se jedná o nález benigní či maligní. V případě suspektního ovariálního karcinomu pak určí stádium onemocnění. Popis rozsahu nádorového postižení v jednotlivých kompartmentech pánve a dutiny břišní dále selektuje pacientky se známkami suboptimální operability.

Mezi známky pokročilého primárně suboptimálně operabilního tumoru (tzn. postižení dutiny břišní, které nám neumožní dosáhnout nulového pooperačního rezidua) patří suprapanální lymfadenopatie, mnohočetné intraparenchymatózní metastázy, velkoustředné postižení mezenteria a difúzní viscerální karcinomatóza.

Ve srovnání s CT či MR dosahuje expertní ultrazvukové vyšetření obdobné diagnostické přesnosti, přitom má ale nejvyšší specifitu jak ve stanovení šíření pánevního tumoru v dutině břišní, tak v predikci metastáz v jaterním parenchymu či postižení retroperitoneálních lymfatických uzlin.

Asi 30 % pacientek s karcinomem vaječníku má v době diagnózy některou ze známek inoperability. U této skupiny pacientek zahajujeme neoadjuvantní chemoterapii a v případě dobré odpovědi následně indikujeme k intervalové operaci. Podmínkou této alternativy léčby je histologická verifikace tumoru. Spolehlivou, minimálně invazivní a bezpečnou metodou k získání validního histologického vzorku je ultrazvukem naváděná biopsie silnou jehlou (tru-cut biopsie). Mezi základní indikace transvaginálně či transabdominálně prováděné biopsie patří primárně inoperabilní nález, určení origina tumoru, rozlišení mezi benigním a maligním tumorem. Nejčastěji provádíme transvaginálně biopsii z pánevního tumoru či pánevní karcinomatózy, transabdominálně z infiltrovaného omenta.

**Klíčová slova:** biopsie, sonografie, pánevní tumor

### Úvod

Ultrazvukové vyšetření je dominantní zobrazovací metodou v diferenciální diagnostice pánevních tumorů a významně se podílí na jejich následném managementu. Do této doby bylo provedeno několik studií, porovnávajících přesnost jednotlivých zobrazovacích metod při stanovení rozsahu postižení u pokročilého ovariálního karcinomu. Dle prospektivní studie skupiny RDOG – Radiological Diagnostic Oncology Group, srovnávající přesnost ultrazvuku (UZ), magnetické rezonance (MR) a počítačové tomografie (CT) v předoperačním stagingu, bylo dosaženo u všech metod podobné přesnosti v predikci šíření nádoru v dutině břišní a v pánvi (87 % – 95 %), ultrazvukové vyšetření dosáhlo nejvyšší specifity (96 %) ve stagingu ve srovnání s CT (89 %) a MR (88 %), ale nižší senzitivity (75 %) ve srovnání s CT (92 %) a MR (98 %) (1). Další prospektivní studie skupiny RDOG potvrdila vyšší specifitu ultrazvuku ve srovnání s CT a MR při detekci peritoneálních metastáz (93 %), retroperitoneální lymfadenopatie (93 %) a jaterních intraparenchymatózních metastáz (98 %) (2). Hlavním úkolem základního ultrazvukového vyšetření je rozlišení mezi benigním a maligním tumorem. K tomuto účelu byla vytvořena řada skórovacích systémů (např. index stanovení rizika malignity - risk of malignancy index (RMI), jednoduchá ultrazvuková pravidla (tzv. „simple rules“) vytvořená skupinou IOTA - International Ovarian Tumor Analysis) a matematických modelů (např. logistické regresní modely IOTA - LR1 a LR2, ADNEX - zahrnující různé konstanty, jejichž doplněním získáme numerické riziko malignity) (3,4,5). Následně potvrzující studie prokázaly významně vyšší diagnostickou přesnost metod vytvořených skupinou IOTA založených na standardizované ultrazvukové terminologii oproti všem starším modelům

(např. RMI). Především jednoduchá ultrazvuková pravidla jsou v praxi snadno aplikovatelná i méně zkušenými sonografisty a jejich diagnostická přesnost se blíží subjektivnímu expertnímu hodnocení. Stále však zůstává až 25 % adnexálních tumorů, které jsou těmito objektivními metodami neklasifikovatelné. Nejpřesnější metodou diferenciální diagnostiky benigních a maligních ovariálních nádorů je tzv. subjektivní zhodnocení expertním sonografistou (subjective assessment, tzv. „pattern recognition“) s přesností až 96 % (6).

V rámci expertního ultrazvukového vyšetření (kombinace transvaginálního a transabdominálního či transrektálního vyšetření - např. ke zhodnocení stěny rekta při podezření na jeho infiltraci) určíme původ tumoru (ovariální versus extraovariální), dále stanovujeme rozsah onemocnění v pánvi a dutině břišní (staging tumoru) a pátráme po známkách suboptimální operability (7).

I přes vysokou přesnost ultrazvukového vyšetření v diagnostice a stagingu pokročilých ovariálních tumorů je nutné následně biopsické ověření, které lze provést operačními technikami (laparotomie, laparoskopie) nebo minimálně invazivně (biopsie).

### Ultrazvukem navigovaná biopsie

Více než 30 % pacientek se zhoubným pokročilým ovariálním nádorem má v době diagnózy některou ze známek inoperability (suboptimální operability). Takový nález ve většině případů znamená nemožnost dosažení nulového makroskopického pooperačního rezidua (R0). Za známky inoperabilního nálezu jsou považovány difúzní viscerální karcinomatóza (difúzní postižení stěvních kliček), suprapanální lymfadenopatie, přítomnost intraparenchymatózních metastáz a velkoustředné (> 2 cm) difúzní

postižení mezenteria (8). Podmínkou pro zahájení specifické onkologické léčby zhoubných pánevních tumorů je histologická verifikace. Dle uložení nádoru volíme různou metodu získání vzorku tkáně. U pacientek s příznivým předoperačním ultrazvukovým stagingem (bez přítomnosti známek inoperability) volíme primární radikální operaci se snahou o maximální debulking s ponecháním žádného nebo jen malého pooperačního rezidua (R0, R0+R1). V případě podezření na primárně suboptimálně operabilní nádor zahájíme operaci endoskopicky a zhodnotíme nález v dutině břišní, při příznivém nálezu konvertujeme v laparotomii a provádíme radikální výkon, při potvrzeném nepříznivém nálezu (nález neumožňující dosažení R0) odebíráme reprezentativní biopsii. Při laparotomickém i laparoskopickém výkonu je nutná hospitalizace pacientky a předoperační vyšetření, celková anestezie, pooperační aplikace léků (analgetika, infuze) a s ohledem na invazivitu výkonu existuje i riziko pooperační a časné pooperační morbidit. Alternativou získání reprezentativního vzorku tkáně, který umožní validní histopatologické vyšetření, včetně imunohistochemického, je ultrazvukem naváděná biopsie silnou jehlou (tru-cut biopsie). Biopsii silnou jehlou pod ultrazvukovou kontrolou indikujeme jako primární metodu získání adekvátního histologického vzorku u pacientek s ultrazvukovými známkami inoperability či u pacientek ve špatném celkovém stavu, který nám neumožňuje provést jiný typ biotické verifikace (9). Tru-cut biopsie je minimálně invazivní metoda, prováděná ambulantně bez nutnosti předoperačního vyšetření a hospitalizace pacientky, bez potřeby celkové anestezie a možných rizik s ní spojených. Zároveň se jedná o metodu minimálně bolestivou s dobrou snášenlivostí ze strany pacientky, která pacientku zbytečně nezatěžuje, přináší rychlý výsledek (do 1 týdne) a nevede k oddálení další onkologické léčby.

Mezi indikace tru-cut biopsie patří primárně suboptimálně operabilní zhoubný tumor pánve a břicha, histologické potvrzení recidivy nádoru, odlišení mezi gynekologickými a negynekologickým origem tumoru a nejméně často také rozlišení mezi benigním a maligním tumorem (9). V případech diferenciální diagnostiky mezi benigním nádorem a maligním nádorem bez ultrazvukových známek diseminace je preferovaným postupem, s ohledem na riziko rozsevu maligních buněk v dutině břišní při biopsii, exstirpace tumoru bez intraperitoneální morcelace a event. pooperační histopatologické vyšetření (frozen section) s navazujícím adekvátním výkonem.

Při tru-cut biopsii používáme dvojřadnou samořeznou jehlu, jejíž vnitřní část má na konci zářez, ve kterém po seřznutí vnějším pouzdrzem zůstává odebraná tkáň. Po natažení biotického děla a stisknutí spouště probíhá vše zcela automaticky. Biopsii silnou jehlou získáme váleček kompaktní tkáň o délce 10–20 mm a šíře 1–2 mm, který je dostatečně reprezentativní pro histopatologické vyšetření. Biopsii provádíme z transvaginálního, transabdominálního či transrektálního přístupu, který volíme s ohledem na uložení nádorové tkáně. Při dodržení bezpečnosti odběru vzhledem k okolním anatomickým strukturám je vhodné volit k biopsii solidní porci tumoru, která nevykazuje jasné sonomorfologické a dopplerovské známky nekrózy. Transvaginálně se biopsie provádí bez nutnosti lokální anestezie v gynekologické poloze pomocí

speciálního zavaděče, který se připevňuje k vaginální sondě. Používáme jehlu 20–30 cm dlouhou s průsvitem 18 G. Transabdominálně provádíme biopsii v lokální anestezii (např. 1 % Mesocain), používáme jehlu kratší s větším průsvitem (10 cm dlouhou s průsvitem 14 nebo 16 G). Standardně v rámci jedné biopsie provádíme 3 odběry (vpichy) a získané válečky tkáně odesíláme k histologickému vyšetření (10).

Biopsie nemá žádné absolutní kontraindikace. Opatrnosti je třeba u závažných vrozených či získaných poruch srážlivosti. Chronickou antiagregační či antikoagulační medikaci je vhodné několik dní před biopsií vysadit a eventuálně pacientku převést na nízkomolekulární heparin, je-li k tomu indikace. Nebezpečné uložení nádoru (v blízkosti velkých cév či parenchymatózních orgánů, v konvolutu klíček tenkého střeva) je limitací biopsie. Subjektivní potíže po biopsii jsou mírné, nejčastěji se jedná o slabé krátce trvající vaginální špinění či dočasnou mírnou bolest v místě biopsie (9). Výskyt komplikací biopsie je udáván kolem 1 %, v literatuře je zmiňováno hemoperitoneum s následnou reziví dutiny břišní či zánětlivé komplikace.

#### Ultrazvukem navigovaná biopsie - naše zkušenosti

Od prosince 2013 do listopadu 2016 jsme v onkogynekologickém centru FN Plzeň provedli celkem 67 tru-cut biopsií. U 5 vzorků získaných biopsií nebyla histopatologem popsána vitální nádorová tkáň a nebyl určen původ a biologické chování tumoru. U těchto pacientek jsme buď úspěšně opakovali tru-cut biopsii nebo indikovali k získání adekvátního vzorku tkáně laparoskopii. Dosáhli jsme celkové diagnostické přesnosti 92,5 %. Nejčastější indikací k biopsii byl primárně inoperabilní generalizovaný pánevní tumor - 45 (67 %), v 15 případech (22 %) byla biopsie indikována vzhledem k podezření na extragenitální origo tumoru a v 7 případech (11 %) k odlišení mezi benigním a maligním tumorem. Ve skupině pacientek s podezřením na extragenitální původ tumoru byla suspekce potvrzena u více než poloviny případů, diagnostikovali jsme takto generalizaci karcinomu prsu, žlučníku či tlustého střeva, ale mj. i maligní melanom či lymfom.

Transvaginálně byla biopsie provedena u 50 (74 %) a transabdominálně u 17 (26 %) pacientek. Biotický vzorek byl nejčastěji získán z vlastního adnexálního tumoru (48 %), z parietální karcinomatózy (22 %) či z infiltrovaného omenta (15 %).

Shoda s histologickým vyšetřením z definitivního preparátu byla 90% a v našem souboru jsme nezaznamenali žádnou komplikaci.

#### Závěr

Tru-cut biopsie je bezpečná, spolehlivá a minimálně invazivní metoda, která umožňuje získání validního vzorku tkáně k histopatologickému vyšetření u primárně inoperabilních pokročilých abdomino-pelvických nádorů. Je vhodná i k verifikaci recidiv, k diagnostice negynekologických malignit infiltrujících pánevní orgány či k rozlišení maligního a benigního tumoru. Tuto metodu lze provádět ambulantně bez předoperačního vyšetření či celkové anestezie. Je pacientkami velmi dobře snášena. Vzhledem k vysoké spolehlivosti lze tru-cut biopsii nahradit výrazně invazivnější metody získání adekvátního histologického vzorku, např. diagnostickou laparoskopii či probatorní laparotomii.

**Literatura**

1. Kurtz AB, et al. Diagnosis and Staging of Ovarian Cancer: Comparative Values of Doppler and Conventional US, CT, and MR Imaging Correlated with Surgery and Histopathologic Analysis - Report of the Radiology Diagnostic Oncology Group 1. *Radiology*. 1999;212(1):19-27
2. Tempany CMC, et al. Staging of Advanced Ovarian Cancer: Comparison of Imaging Modalities - Report from the Radiological Diagnostic Oncology Group 1. *Radiology*. 2000;215(3):761-767
3. Jacobs I, et al. A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound and menopausal status for the accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer. *Br J Obstet Gynecol*. 1990;97(10):922-929
4. Timmerman D, et al. Simple ultrasound rules to distinguish between benign and malignant adnexal masses before surgery: prospective validation by IOTA group. *BMJ*. 2010;341:c6839
5. Timmerman D, et al. Ovarian cancer prediction in adnexal masses using ultrasound-based logistic regression models: a temporal and external validation study by the IOTA group. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010;36(2):226-234
6. Fischerová D, et al. Předoperační diagnostika ovariálních nádorů. *Onkologie*. 2012;6(2):59-64
7. Votrubova J, et al. Local staging of rectal carcinoma - comparison of endorectal ultrasonography and CT. *Rozhledy v chirurgii*. 2001;80(10):531-537.
8. Fischerová D, et al. Ultrasound-guided intervention in the treatment of abdomino-pelvic advanced tumors. *Ceska gynekologie*. 2009;74(5):329-334
9. Zikán M, et al. Ultrasound guided tru cut biopsy of abdominal and pelvic tumors in gynecology. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2010;36(6):767-772
10. Zikán M, et al. Transabdominální ultrazvukové vyšetření v gynekologii. *Česká gynekologie*. 2011;76(4):252-257

5. **KOSTUN, J., VLASAK, P., BOUDA, J., et al. The principles of the surgical treatment in ovarian cancer patients. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2018, 10 p. 10-13.**

## Význam chirurgie ovariálního karcinomu

Jan Kostun, Pavel Vlasák, Jiří Bouda, Denis Berezovskiy, Jiří Presl  
Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň

Korespondenční adresa: MUDr. Jan Kostun, Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň,  
alej Svobody 80, 304 60 Plzeň, tel.: +420 377 105 430, e-mail: kostunj@fnplzen.cz

Publikováno: 10. 4. 2018    Přijato: 12. 12. 2017    Akceptováno: 26. 3. 2018  
Actual Gyn 2018, 10, 10-13    ISSN 1803-9588    © 2018 Aprofema s.r.o.  
Článek lze stáhnout z [www.actualgyn.com](http://www.actualgyn.com)



Citujte tento článek jako: Kostun J, Vlasák P, Bouda J, Berezovskiy D, Presl J. Význam chirurgie ovariálního karcinomu. Actual Gyn. 2018;10:10-13

### THE PRINCIPLES OF THE SURGICAL TREATMENT IN OVARIAN CANCER PATIENTS

#### Review article

#### Abstract

Ovarian cancer is a very aggressive malignant disease with a high mortality rate affecting women typically in their sixth or seventh decade. Frequently, unspecific symptoms such as abdominal discomfort are the first clinical signs of the disease. Often, there is a spread of the malignancy to the whole abdominal cavity at that time. The backbone of the ovarian cancer therapy is the surgical treatment with an effort for maximal cytoreduction of all the macroscopically visible disease. Only such a surgery offers an optimal entry to the following systemic therapy. This review article is dealing with current surgical principles and guidelines in the ovarian cancer therapy.

**Key words:** ovarian cancer, surgical therapy, lymphadenectomy

#### Přehledový článek

#### Abstrakt

Karcinom ovaria představuje velmi agresivní maligní onemocnění s vysokou mortalitou postihující ženy zejména šestého a sedmého decennia. Typicky je toto onemocnění odhaleno na základě nespecifických příznaků (abdominální diskomfort apod.) v pozdních stadiích s postižením i horních částí dutiny břišní. Základním pilířem terapie je radikální chirurgická léčba se snahou o maximální cytoredukci a resekci všech makroskopicky patrných ložisek. Takto proběhlá operace pacientkám zajišťuje optimální vstup do následující systémové léčby. Tento přehledový článek se zabývá aktuálními zásadami a doporučeními operační léčby karcinomu ovaria.

**Klíčová slova:** karcinom ovaria, operační léčba, lymfadenektomie



## Úvod

Karcinom ovaria je malignita postihující ženy nejčastěji v šestém a sedmém decenniu. Dosud se nepodařilo, navzdory veškerým snahám, vyvinout efektivní screeningový program k zachycení časných či přednádorových stadií. Vzhledem k tomu a agresivní povaze těchto nádorů je většina pacientek diagnostikována v pokročilých klinických stadiích. Výsledkem je tak pětileté přežití, které se pohybuje napříč klinickými stadii okolo 40 % (1).

V České republice bylo v roce 2015 diagnostikováno 1 023 nových případů a 734 žen v důsledku tohoto onemocnění zemřelo. Údaje odpovídají incidenci 19,08 na 100 000 žen a mortalitě 13,69 na 100 000 žen za rok 2015. V rámci naší republiky drží prvenství výskytu ovariálních malignit západoevropský kraj s incidencí 23 a mortalitou 15/100 000 žen (2).

Celosvětově se jedná o sedmou nejčastější malignitu napříč ženskou populací a čtvrtou nejčastější gynekologickou malignitu vůbec, počítáme-li i karcinomy prsu (3). Z uvedených dat je zřejmé, že ovariální karcinom je závažné onemocnění s významným zdravotním i sociálním dopadem na společnost.

Jaké jsou současné možnosti léčby karcinomu ovaria? Jako hlavní pilíř všech aktuálních terapeutických schémat je vnímána radikální operační léčba s cílem zcela eliminovat veškerou makroskopicky patrnou nádorovou tkáň. Rozsah a radikalita těchto operačních výkonů předurčuje tyto pacientky k operacím ve specializovaných centrech s adekvátním vybavením, zkušeným anesteziologickým týmem, přímou návazností na ostatní chirurgické obory a špičkovou pooperační péčí. Navzdory systémové léčbě a radikálním chirurgickým výkonům, které svým rozsahem často vyžadují mezioborovou spolupráci (viscerální chirurgii, cévní chirurgii, urologii...), se však většinu pacientek vyléčit nepodaří.

Cílem tohoto článku je sumarizace aktuálních principů a doporučení týkajících se právě operační léčby epiteliálních ovariálních malignit. Metodikou použitou v této práci je rešerše aktuálních doporučení společností NCCN, ESGO a ESMO.

## Epitelové maligní tumory ovaria

Nejčastějšími maligními nádory ovaria jsou nádory epitelové a dají se histologicky rozdělit na serosní, mucinosní, clear cell a endometroidní. Serosní histotyp má více jak 70 % těchto nádorů, jedná se o typické high-grade karcinomy (4). Podle molekulárních charakteristik lze tyto malignity rozdělit na typ 1 a typ 2. Do první skupiny spadají low-grade serosní, low-grade endometroidní, mucinózní a clear cell tumory, skupinu druhou pak tvoří high-grade serosní, high-grade endometroidní, smíšené mesodermální a nediferencované histotypy (5). Toto dělení má významný dopad pro klinickou praxi a odráží se ve strategii léčby a prognóze pacientek (6).

## Předoperační vyšetření a diagnostika

Před plánovaným výkonem je kromě vlastního gynekologického vyšetření doporučeno provedení zobrazovacích vyšetření k přesnějšímu určení rozsahu onemocnění. Tyto zobrazovací metody jsou důležité nejen jako stagingová vyšetření, ale hrají i zásadní roli v plánování rozsahu operačního výkonu. Prvním krokem je zpravidla sonografické vyšetření, transvaginální část se zhodnocením situace

v malé pánevi a transabdominální vyšetření celé dutiny břišní. Je s výhodou, je-li vyšetření prováděno zkušeným expertním sonografistou se zaměřením na problematiku onkogynekologie. U pacientek s ultrazukovými známkami inoperability můžeme již během USG vyšetření provést odběr histologického vzorku metodou tru-cut (ultrazukem řízená transvaginálně či transabdominálně prováděná biopsie), je-li to technicky možné. Tru-cut biopsie pod USG kontrolou je vhodná zejména u pokročilých onemocnění s generalizací v dutině břišní. U nálezů, kde předpokládáme incipientní stadium onemocnění, by mohla tato metoda vést k ruptuře nádorového pouzdra a následné diseminaci maligních buněk do břišní dutiny (7). K vyloučení rozsahu postižení mimo dutinu břišní je vhodné doplnění CT vyšetření. V případě potřeby lze posoudit postižení GIT (či vyloučit GIT origo tumoru) doplněním endoskopického vyšetření trávicího traktu (gastro/koloskopie). Dle možností a zkušeností pracoviště je možné do vyšetřovacího algoritmu zařadit i moderní vyšetřovací metody PET CT či PET MRI (8). Jako nádorový marker v rámci předoperačních vyšetření se rutině využívá CA-125. Lze jej kombinovat s dalšími specifickými nádorovými markery. Např. HE4, jejich vzájemná kombinace tzv. ROMA index (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) pak určuje míru rizika ovariální malignity (9).

## Centralizace pacientek

Pacientky s diagnózou ovariálního karcinomu či podezření na něj by měly být centralizovány do specializovaných pracovišť (v České Republice do komplexních onkologických center) a vlastní chirurgický výkon by měl být prováděn zkušeným operátorem - onkogynekologem. V roce 2006 byla publikována retrospektivní analýza dat 3 067 pacientek s invazivním epiteliálním karcinomem, která se zabývá vlivem specializace operátora na výsledek operace a celkový výstup léčby pacientky. V případě, že operátorem byl specializovaný onkogynekolog, měla pacientka větší šanci úspěšného debulkingu (58 %), než v případě gynekologa (51 %) či všeobecného chirurga (40 %). Stejná skupina pacientek měla i větší šanci na úspěšné absolvování pooperační chemoterapie a celkovou delší dobou přežití (10).

## Úvod do operační léčby ovariálního karcinomu

Primárně je k provedení stagingu dutiny břišní doporučováno provedení dolní event. i horní střední laparotomie. Tento přístup umožňuje operátorovi kompletní exploraci od malé pánve až po obě brániční kopule včetně palpací retroperitoneálně uložených struktur. Nutná je dostupnost peroperační biopsie, která umožňuje provedení výkonu v jedné době, bez nutnosti vyčkat definitivního histologického vyšetření.

K exploraci dutiny břišní je možné, dle zkušenosti pracoviště, využít i laparoskopii. Nelze-li však rozsah postižení a zhodnocení operability provést miniinvazivně, je vhodné konvertovat k laparotomickému přístupu. Cílem operátora je tedy zhodnocení rozsahu postižení a posouzení, zda je nález vhodný k primární operační léčbě, či zda bude pacientka profitovat z provedení neoadjuvantní chemoterapie s následnou intervalovou operací. Operační protokol by měl vždy obsahovat detailní popis celé peritoneální dutiny, rozsah tumorózního postižení před začátkem výkonu a následně popis situace po ukončení operačního výkonu

– rozsah residuálního postižení nebo v optimálním případě záznam o nulovém pooperačním residuu.

Rozsah operačního výkonu je třeba přizpůsobit i skutečnosti, zda se jedná o výkon primární při nově diagnostikovaném karcinomu či zda se jedná o intervalovou operaci či dokonce tzv. "salvage surgery" v případě recidivy onemocnění.

#### Operační léčba nově diagnostikovaného ovariálního karcinomu

U nově diagnostikovaných karcinomů s postižením v oblasti páneve i mimo ni by maximum úsilí operačního týmu mělo být soustředěno na dosažení maximální cytoredukce s nulovým pooperačním residuem. Jako optimálně provedenou cytoredukcí lze u pokročilých stádií označit operaci do celkové velikosti 1 cm (11). Při vstupu do dutiny břišní provádíme odběr ascitu či peritoneální laváž k cytologickému vyšetření. Celá peritoneální dutina by měla být pečlivě explorována, suspektní adheze excidovány a biopsicky vyšetřeny a v případě absence metastatických ložisek provedeny náhodné peritoneální biopsie z předilekčních oblastí (malá pánev, parakolické prostory, brániční kópule). Vlastní rozsah operačního výkonu se skládá z extrafasciální hysterektomie a oboustranné adnexektomie (přičemž je kladen důraz zejména v iniciálních stádiích na zachování integrity zapouzdřených tumorózních hmot, tak aby nedošlo k jejich diseminaci do dutiny břišní a tím k zhoršení prognózy pacientky). Součástí výkonu je i provedení suprakolické a infrakolické omentektomie. Systematická paraaortální lymfadenektomie je doporučována až po úroveň odstupu renálních žil z vena cava inferior, minimálně však k úrovni odstupu inferiorní mesenterické arterie. Systematická pánevní lymfadenektomie by pak měla obsahovat lymfatické uzliny z oblastí společných, zevních a vnitřních ilických cév a obturatorní fossy. U mucinózních subtypů je indikována apendektomie. Za účelem dosažení optimální cytoredukce je často nutné rozšířit rozsah výkonu například o stripping bránice a peritonektomii, splenektomii, resekční výkon na GIT jako parciální resekce jater, žaludku, pankreatu, střev, odstranění žlučníku apod. Fertilitu zachovávající výkon lze provést po pečlivé konzultaci u premenopauzálních pacientek s přáním zachování fertility u stadia FIGO IA až IC1, v kombinaci s grade 1 až grade 2 serosní, endometrioidní či mucinózní histologií. Definitivnímu rozhodnutí musí vždy předcházet provedení chirurgického stagingu (12-14).

Intervalová operace je zpravidla zařazena do léčebného schématu po absolvování tří cyklů neoadjuvantní chemoterapie s dobrou odpovědí či alespoň se stabilním nálezem onemocnění. Cílem operačního týmu je opět dosažení maximální či optimální cytoredukce. Principy a rozsah operačního výkonu zůstávají. Zvětšené či suspektní lymfatické uzliny by měly být exstirpovány, systematická lymfadenektomie se nedoporučuje (12-14).

#### Operační léčba recidiv ovariálního karcinomu

Vzhledem k tomu, že operační léčba je pilířem terapie ovariálního karcinomu s přímým vlivem na celkové přežití a interval do progresu onemocnění, nabývá na významu operační léčba i u recidiv tohoto onemocnění (15). Sekundární cytoredukční výkon, či "salvage surgery" lze provádět u selektivní skupiny pacientek s návratem onemocnění

nejméně 6–12 měsíců od ukončení primární chemoterapie, bez ascitu (či do 500 ml ascitu) a ideálně s izolovaným fokusem či nálezem umožňujícím kompletní resekci do nulového pooperačního residua (viz tzv. AGO score) (13,16). Je známo, že zatímco primární onemocnění soustřeďuje maximum postižení zpravidla do oblasti páneve a dolní poloviny dutiny břišní, v případě recidiv tomu bývá často naopak (postižení s maximem v oblasti horní části dutiny břišní) (17). Jedná se o výkon, který vyžaduje precizní plánování operace v součinnosti celého komplexu onkogynekologického centra a je tudíž zcela nevhodný k provádění mimo takto specializovanou pracoviště. Základním předpokladem je souhlas pacientky a podrobný rozbor dostupných variant léčby (18). Z uvedeného vyplývá důležitost kvalitního předoperačního vyšetření, předoperační přípravy pacientky a efektivní mezioborové spolupráce napříč chirurgickými obory. Jako možnost se jeví i terciární operace při druhé recidivě, jedná se však o celkově vysoce individualizovanou variantu léčby pro úzkou skupinu pacientek s čtenou frekvencí závažných pooperačních komplikací (19).

Své místo v operativě pacientek s karcinomy ovaria zaujímají i paliativní chirurgické výkony. Jedná se o výkony, které si kladou za úkol zejména zlepšení kvality života pacientek. Do této skupiny můžeme zařadit nejčastěji zavedení ureterálních stentů, nefrostomie, gastrostomie, chirurgické řešení střevních obstrukcí, pleurodésu apod.

#### Závěr

Objevují se nové trendy v operační léčbě karcinomu ovaria? Součástí operačního výkonu, jak již bylo komentováno v předešlém textu, je dle aktuálních doporučení i provedení systematické pánevní a paraaortální lymfadenektomie. Dle aktuálních závěrů plynoucích ze studie LION (Lymphadenectomy in ovarian neoplasms, prospektivní randomizovaná studie německé AGO) však vyplývá, že provádění systematické pánevní a paraaortální lymfadenektomie u pacientek s dosaženou optimální cytoredukcí a klinicky nesuspektními uzlinami neposkytuje benefit prodloužení celkového přežití ani času do progresu onemocnění. Tento rozsáhlý výkon s sebou však přináší výrazně vyšší výskyt peri a pooperačních komplikací a významně prodlužuje dobu operace (20). Do budoucna bude tedy zajímavé sledovat další vývoj zatím postupně rostoucí radikality operativy u pacientek s pokročilými karcinomy ovaria.

#### Literatura

1. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin.* Jul 2016;66(4):271-289
2. ÚZIS. Analýza, incidence a mortalita, C 56. 2017; <http://www.svod.cz/analyse.php?modul=incmor#>. Accessed 06.09.2017, 2017
3. GLOBOCAN. Ovarian Cancer Incidence. 2017; <http://globocan.iarc.fr/Pages/online.aspx>. Accessed 06.09.2017, 2017
4. Prat J. New insights into ovarian cancer pathology. *Ann Oncol.* Sep 2012;23(Suppl 10):x111-x117
5. Cancer Genome Atlas Research N. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature.* Jun 29 2011;474(7353):609-615
6. Lim A, Mesher D, Gentry-Maharaj A, et al. Time to

- diagnosis of Type I or II invasive epithelial ovarian cancers: a multicentre observational study using patient questionnaire and primary care records. *BJOG*. May 2016;123(6):1012-1020
7. Vlasák P, Kostun J, Berezovskiy D, Presl J, Bouda J. Role ultrazvukem navigované biopsie v managementu pánevních tumorů. *Actual Gyn*. 2017;9:1-4
  8. Iyer VR, Lee SI. MRI, CT, and PET/CT for ovarian cancer detection and adnexal lesion characterization. *AJR Am J Roentgenol*. Feb 2010;194(2):311-321
  9. Romagnolo C, Leon AE, Fabricio ASC, et al. HE4, CA125 and risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) as diagnostic tools for ovarian cancer in patients with a pelvic mass: An Italian multicenter study. *Gynecologic oncology*. May 2016;141(2):303-311
  10. Earle CC, Schrag D, Neville BA, et al. Effect of surgeon specialty on processes of care and outcomes for ovarian cancer patients. *J Natl Cancer Inst*. Feb 01 2006;98(3):172-180
  11. Chi DS, Eisenhauer EL, Zivanovic O, et al. Improved progression-free and overall survival in advanced ovarian cancer as a result of a change in surgical paradigm. *Gynecologic oncology*. Jul 2009;114(1):26-31
  12. Querleu D, Planchamp F, Chiva L, Fotopoulou C, Barton D, Cibula D, Aletti G, Carinelli S, Creutzberg C, Davidson B, Harter P, Lundvall L, Marth C, Morice P, Raffii A, Ray-Coquard I, Rockall A, Sessa C, van der Zee A, Vergote I, duBois A. European Society of Gynaecological Oncology (ESGO) Guidelines for Ovarian Cancer Surgery. *International Journal of Gynecological Cancer*. 2017;27(7):1534-1542
  13. NCCN. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Ovarian Cancer Including Fallopian Tube Cancer and Primary Peritoneal Cancer. 2017; [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp#ovarian](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#ovarian), 2017
  14. ESMO. ESMO Clinical Practice Guidelines: Gynaecological Cancers. 2017; <http://www.esmo.org/Guidelines/Gynaecological-Cancers>, 2017
  15. Harter P, Sehouli J, Reuss A, et al. Prospective validation study of a predictive score for operability of recurrent ovarian cancer: the Multicenter Intergroup Study DESKTOP II. A project of the AGO Kommission OVAR, AGO Study Group, NOGGO, AGO-Austria, and MITO. *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society*. Feb 2011;21(2):289-295
  16. Muallem MZ, Gasimli K, Richter R, et al. AGO Score As a Predictor of Surgical Outcome at Secondary Cytoreduction in Patients with Ovarian Cancer. *Anticancer Res*. Jun 2015;35(6):3423-3429
  17. Sehouli J, Konsgen D, Mustea A, et al. [„IMO“—intraoperative mapping of ovarian cancer]. *Zentralbl Gynaekol*. Mar-Apr 2003;125(3-4):129-135
  18. Sehouli J, Grabowski JP. Surgery for recurrent ovarian cancer: Options and limits. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. May 2017;41:88-95
  19. Fotopoulou C, Zang R, Gultekin M, et al. Value of tertiary cytoreductive surgery in epithelial ovarian cancer: an international multicenter evaluation. *Ann Surg Oncol*. Apr 2013;20(4):1348-1354
  20. Harter P. LION: Lymphadenectomy in ovarian neoplasms - A prospective randomized AGO study group led gynecologic cancer intergroup trial. 2017 ASCO Annual Meeting; 2017

6. VLASAK, P., BOUDA, J., KOSTUN, J., et al. New trends in systemic treatment of ovarian cancer. *Aktualni Gynekologie a Porodnictvi*. 2018, 10 p. 4-9.

## Nové trendy v systémové léčbě ovariálního karcinomu

Pavel Vlasák, Jiří Bouda, Jan Kostun, Denis Berezovskiy, Jiří Presl  
Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň

Korespondenční adresa: MUDr. Pavel Vlasák, Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň,  
alej Svobody 80, 304 60 Plzeň, tel.: +420 377 105 240, e-mail: vlasakp@fnplzen.cz

Publikováno: 10. 4. 2018    Přijato: 12. 12. 2017    Akceptováno: 14. 3. 2018  
Actual Gyn 2018, 10, 4-9    ISSN 1803-9588    © 2018 Aprofema s.r.o.  
Článek lze stáhnout z [www.actualgyn.com](http://www.actualgyn.com)



Citujte tento článek jako: Vlasák P, Bouda J, Kostun J, Berezovskiy D, Presl J. Nové trendy v systémové léčbě ovariálního karcinomu. Actual Gyn. 2018;10:4-9

### NEW TRENDS IN SYSTEMIC TREATMENT OF OVARIAN CANCER

#### Review article

#### Abstract

The surgical treatment with an effort for maximal cytoreduction is the most important therapeutic method in early and majority of advanced ovarian cancer. Most patients undergo an adjuvant chemotherapy based on a combination of platinum and taxane after primary cytoreductive surgery. Approximately 30% of patients with ovarian carcinoma have any of the signs of inoperability at the time of diagnosis. Neoadjuvant chemotherapy is then initiated and followed by interval debulking surgery in case of a good effect of the treatment.

The combination of surgical treatment and chemotherapy as an initial therapy of ovarian cancer achieves high curative responses. However, the recurrence, shortened disease-free interval (due to decreasing response to chemotherapy in subsequent treatment) and decreased 5-year survival are observed in more than 50% of patients in spite of a complete response to initial treatment.

New methods in the systemic treatment of ovarian cancer are investigated for improving prognosis, prolonging progression free interval and overall survival of the patients with ovarian cancer.

Recently, the targeted molecular biological therapy has achieved the most progress. Increasing knowledge of the internal molecular processes, the recognition of cellular receptors and the understanding of the transmission of information within the cell are the principles of use and success of biological treatment. The basic parts of targeted treatment are monoclonal antibodies and low-molecular-weight receptor tyrosine kinase inhibitors.

Hormonal therapy is used with relatively low response rate only in later stages of the systemic treatment of ovarian cancer.

**Key words:** ovarian cancer, systemic treatment, chemotherapy

#### Přehledový článek

#### Abstrakt

Nejdůležitější léčebnou modalitou časných a převážně částí pokročilých stadií karcinomu vaječníku je radikální operační výkon se snahou o maximální debulking s ponecháním žádného nebo jen malého pooperačního rezidua (R0, R1). Většina pacientek podstupuje po primární cytoredukční operaci adjuvantní chemoterapii založenou na kombinaci taxanu s platinovým preparátem. Asi 30 % pacientek s karcinomem vaječníku má v době diagnózy některou ze známek inoperability. U této skupiny pacientek zahajujeme neoadjuvantní chemoterapii založenou na platinovém preparátu a v případě dobré odpovědi následně pacientky indikujeme k intervalové operaci.

Úvodní terapie karcinomu ovaria spočívající v kombinaci operační léčby a chemoterapie dosahuje vysoké léčebné odpovědi. Nicméně u více než 50 % pacientek s kompletní odpovědí na léčbu dochází k recidivě onemocnění, zkrácení doby do dalšího relapsu (vzhledem ke snižující se odpovědi na chemoterapii v dalších sériích) a úmrtí do 5 let.

Tyto údaje vedly k hledání nových metod v systémové léčbě karcinomu ovaria, které by přispěly ke zlepšení prognózy, prodloužení doby do progresu onemocnění a celkového přežití pacientek s ovariálním karcinomem. Největší rozvoj v poslední době zaznamenala cílená molekulárně biologická léčba. Podstatou využití a úspěchu biologické léčby je stále narůstající znalost o vnitřních pochodech v organizmu na molekulární úrovni, rozpoznání určitých buněčných receptorů a pochopení šíření informací uvnitř buňky. Základními nástroji cílené léčby jsou monoklonální protilátky a nízkomolekulové tyrozinkinázové inhibitory. Hormonální léčba se s poměrně nízkou úspěšností využívá v systémové léčbě ovariálního karcinomu až ve vyšších liniích léčby.

**Klíčová slova:** ovariální karcinom, systémová léčba, chemoterapie

### Chemoterapie

Chemoterapie je standardní léčbou většiny pacientek s karcinomem ovaria, buď jako léčba adjuvantní (následující po radikální chirurgické léčbě), nebo léčba neoadjuvantní (předcházející chirurgickou léčbu). Cytostatickou léčbu nepodstupují pouze pacientky ve stádiu IA (event. IB) G1 bez přítomnosti rizikových faktorů po adekvátně provedené stagingové operaci, u kterých je riziko relapsu bez adjuvantní chemoterapie pod 10 %. Dále chemoterapii nepodáváme u kachekticky nemocných, u nemocných v terminálním stadiu, polymorbidním pacientkám či pacientkám odmítajícím cytostatickou léčbu.

Po chirurgické léčbě s ponecháním jen malého, nejlépe žádného pooperačního rezidua je nutno adjuvantní chemoterapii považovat za kurativní. Podmínkou potenciálně kurativní chemoterapie je dobrý performance status a možnost dodržet kurativní dávku. Asi 30 % pacientek s karcinomem vaječniku vykazuje v době diagnózy některou ze známek inoperability. U této skupiny pacientek, pokud to jejich stav umožňuje, zahajujeme neoadjuvantní chemoterapii a v případě dobré odpovědi následně indikujeme k intervalové operaci s následným pokračováním v chemoterapii. Podmínkou této alternativy léčby je histologická verifikace tumoru. Spolehlivou, minimálně invazivní a bezpečnou metodou k získání validního histologického vzorku je ultrazvukem naváděná biopsie silnou jehlou – trucut biopsie (1).

Cytostatická léčba karcinomu ovaria prošla za posledních 60 let vývojem od monoterapie alkylačními látkami typu melfafanu či cyklofosfamidu (resp. 4-hydr. oxycyklofosamid - metabolit vznikající v játrech, protože cyklofosamid samotný je neúčinný) s léčebnou odpovědí 30–40 %, přes přidání platinového derivátu v 70. letech či antracyklinu (doxorubicin) v 80. letech s odpovědí okolo 75–80 % až do současnosti, kdy je pro první linii chemoterapie standardem léčba založená na platinovém derivátu v kombinaci s taxanem, a to jak pro léčbu po radikální operaci či maximálním debulkingu, tak i jako neoadjuvantní chemoterapie u pokročilého, primárně inoperabilního karcinomu vaječniku.

Vyšší účinnost platinového preparátu v kombinaci s paclitaxelem oproti kombinaci s cyklofosfamidem potvrdily dvě nezávisle probíhající studie GOG 111 a OV 10. Studie GOG 111 zaznamenala v rameni paclitaxel/cisplatina vyšší léčebnou odpověď 73 vs. 60 % s vyšším počtem CR – 51 vs. 31 %, delší PFI – 18 vs. 13 měsíců a delším OS 38 vs. 24 měsíců (2). Evropsko-kanadská studie OV 10 publikovala podobné výsledky, jen s vyšším výskytem zá-

važné neurotoxicity 19 vs. 4 % ve skupině pacientek léčených kombinací s paclitaxelem (3).

Karboplatina (biologicky aktivní derivát cisplatiny) byla jako léčivo schválena v roce 1985 ve Velké Británii a Kanadě. Původně byla dávka karboplatiny, obdobně jako u cisplatiny, udávána v mg/m<sup>2</sup> a až později (Calvertova rovnice - 1989) byla aplikace karboplatiny založená na rychlosti glomerulární filtrace. Studie AGO a GOG 158 potvrdily, že karboplatina, jejíž aplikace na rozdíl od cisplatiny nevyžaduje hydrataci, je při stejné účinnosti (PFI, OS, response rate) podstatně méně nefrotická, emetogenní a má i menší ototoxicitu než cisplatina (4). Limitujícím nežádoucím účinkem karboplatiny je myelosuprese, hlavně trombocytopenie (5).

Od 90. let do současnosti je kombinace paclitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> v 3hodinové infuzi + karboplatina 5 AUC, event. paclitaxel 135 mg/m<sup>2</sup> v 24hodinové infuzi + cisplatina 75 mg/m<sup>2</sup> základní cytostatickou léčbou, kdy dosahujeme 85% léčebné odpovědi a pětileté přežití se u pozdních stadií za posledních 20 let zvýšilo o 10 % na současných 25–30 %. V posledních 15 letech byla provedena řada studií, které byly zaměřeny na zvýšení dávky či prodloužení trvání infuze paclitaxelu, zavádění tripletů cytostatik, změnu paclitaxelu či karboplatiny v základním dubletu, změny způsobu aplikace cytostatik či aplikace konsolidační nebo udržovací chemoterapie. Cílem studií byla snaha o prodloužení intervalu bez progresu (PFI) a celkového přežití (OS).

Randomizovaná studie neprokázala vyšší počet objektivních odpovědí při zvýšení dávky paclitaxelu (225 mg/m<sup>2</sup>) (6). Další studie byly zaměřeny na alternativní možnosti v první linii chemoterapie. Ve studii SCOTROC byl v experimentálním rameni paclitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> nahrazen docetaxelem v dávce 75 mg/m<sup>2</sup>. Byly zjištěny minimální rozdíly ve sledovaných parametrech (PFI, response rate, OS), v rameni s docetaxelem bylo zaznamenáno více hematologických nežádoucích účinků, v rameni s paclitaxelem více periferní neurotoxicity (7). Kombinace docetaxel/karboplatina se jeví vhodná u pacientek s vyšším rizikem periferní neuropatie, např. pacientky s diabetem. Ve studii MITO-2 byl ve zkušební rameni paclitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> nahrazen lipozomálním pegylovaným doxorubicinem v dávce 30 mg/m<sup>2</sup>. Opět nebyly zjištěny rozdíly ve sledovaných parametrech (PFS, OS, response rate, QoL), v rameni s doxorubicinem bylo zaznamenáno méně neurotoxicity a alopecie, ale více hematologických nežádoucích účinků (8).

Celá řada dalších studií se zaměřovala na porovnání standardního dupletu s polychemoterapií, tzn. rozšíření dupletu o další cytostatickou látku. Du Bois et al. publikoval výsledky studie, kde ke kombinaci karboplatina/paclitaxel byl přidán epirubicin. V rameni s tripletem byla zaznamenána vyšší toxicita a nižší kvalita života, výsledky PFS a OS byly shodné (9). Obdobné výsledky byly publikovány ze studií, kde byla kombinace karboplatina/paclitaxel rozšířena o topotecan (10) či gencitabin (11). Ze závěrů studií vyplývá, že polychemoterapie nezlepšuje objektivní výsledky, ale pouze zvyšuje riziko nežádoucích účinků.

Epiteliální zhoubné nádory vaječníků se i v pokročilých stadiích šíří primárně v peritoneální dutině s tvorbou implantačních přestáz, hematogenní rozsev do vzdálených orgánů je méně častý. Proto se jako alternativní způsob podání chemoterapie jeví intraperitoneální aplikace (i.p.). V rámci i.p. lze podat několikanásobně více vyšších dávek cytostatik při předpokládaném menším počtu nežádoucích účinků. Při i.p. aplikaci je průnik cytostatika do nádoru limitován pouze do hloubky několika milimetrů a příznivých výsledků je dosahováno pouze u nádorů s limitovaným peritoneálním rozsevem.

Intraperitoneální aplikací chemoterapie se zabývala řada studií. Jednou z prvních a zároveň jednou z nejčastěji citovaných studií, jejíž výsledky byly publikovány již před 20 lety, je studie vedená jihozápadní onkologickou skupinou SWOG (8501) s GOG (104). K terapii byl využit i.v. cyklofosamid v kombinaci buď s i.p., nebo i.v. aplikací cisplatinu. Lepších výsledků bylo dosaženo v rameni s i.p. aplikací cisplatinu, ale vzhledem ke zveřejnění výsledků studií s paclitaxelem u pacientek se suboptimálně operovaným onemocněním v následujících letech, nebyly výsledky široce aplikovány v praxi (2). Další studie těchto dvou skupin (SWOG 9227, GOG 114) porovnávala i.v. aplikaci paclitaxelu s cisplatinou s kombinací karboplatina/paclitaxel i.v. následovanou i.p. podávanou cisplatinou. Výsledky opět prokázaly delší období přežití bez progresu a období celkového přežití ve prospěch i.p. skupiny. Zároveň ale byl zjištěn vyšší výskyt toxicity, a to převážně neutropenie, trombocytopenie a gastrointestinální potíže (12). Novější studie GOG 172 z roku 2006 porovnávala režim paclitaxel/cisplatinu s dávkově intenzifikovaným režimem paclitaxel i.v. (den 1), cisplatinu i.p. (den 2), paclitaxel i.p. (den 8). V rameni s i.p. byly zaznamenány lepší výsledky (OS 65 vs. 50 m., PFS 23 vs. 18 m.), snížení rizika recidivy o 28 %, ale při zvýšení toxicity (13). I přes pozitivní výsledky studií a metaanalýz ve smyslu prodloužení doby přežití u pacientek s pooperačním reziduem menším než 5 mm není intraperitoneální aplikace všeobecně přijata jako léčba 1. linie. Je spojená s vyšším výskytem kate-trem indukovaných nežádoucích účinků, není vhodná pro pacientky po resekčních výkonech na střevech, ani pro pacientky s větším pooperačním reziduem.

Více než 70 % pacientek s pokročilým karcinomem ovaria recidivuje v určitém časovém odstupu po skončení adjuvantní chemoterapie 1. linie. Podle časnosti recidivy dělíme karcinomy na platina rezistentní, platina parciálně senzitivní a při recidivě onemocnění po více než 12 měsících nazýváme karcinomy platina senzitivní. Vzhledem k vysokému počtu recidiv má koncept konsolidační léčby (spočívající v krátkodobě limitované aplikaci cytostatik) či udržovací léčby (aplikovaná až do prokázání progresu nemoci) svoje opodstatnění, ale přes očekávání, studie,

kteří se zabývaly udržovacím či konsolidačním podáváním chemoterapie, neprokázaly výrazné zlepšení léčebných výsledků. Studie SWOG 9701, zařazující konsolidační monoterapii paclitaxelem, prokázala mírně vyšší PFS, ale stejný OS (14). Studie italských autorů také neprokázala prodloužení PFS či OS v konsolidační terapii, spočívající v 6 cyklech paclitaxelu á 3 týdny (15).

Chemoterapie zůstává spolu s radikální chirurgickou léčbou základní modalitou léčby zhoubných nádorů vaječniku. I přes celou řadu studií, zaměřených na zvýšení dávky cytostatik, polychemoterapii, konsolidační nebo udržovací chemoterapii, změnu kombinace v základním dubletu či změny způsobu aplikace cytostatik, zůstává kombinace paclitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> v 3hodinové infuzi + karboplatina 5 AUC základní cytostatickou léčbou 1. linie.

Pro úplnost uvádíme některé alternativní režimy:

- docetaxel 60-75 mg/m<sup>2</sup> i.v. + karboplatina AUC 5 i.v. á 21 dnů (v případě neurotoxicity, adekvátní účinek jako CBDCA/PTX),
- paclitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> i.v. + cisplatinu 75 mg/m<sup>2</sup> i.v. á 21 dnů (v případě hematotoxicity),
- paclitaxel 60 mg/m<sup>2</sup> i.v. + karboplatina AUC 2 i.v./týden po dobu 18 týdnů kontinuálně (starší pacientky, horší PS),
- karboplatina 4 – 5 AUC i.v. á 21 – 28 dnů (pokud pacientka neunesla kombinaci),
- cisplatinu 75-100 mg/m<sup>2</sup> i.v. á 21 dnů (pokud pacientka neunesla kombinaci a lze předpokládat hematotoxicitu – např. pacientky předléčené pro jinou malignitu),
- atd.

#### **Cílená molekulárně biologická terapie (targeted therapy)**

Rozvoj této nové metody léčby zhoubných nádorů je umožněn díky rozvoji molekulární patologie, která využívá znalosti molekulární genetiky a patologie buňky. Předpokladem zavedení cílené molekulární léčby bylo podrobné zmapování kaskády nitrobuňčného přenosu signálu, identifikace cílových struktur, identifikace všech možností terapeutické intervence. Smyslem této terapie je cíleně vyhledat a zneškodnit nádorové buňky a ostatní zdravé buňky neovlivnit. Pochopitelně se ani u biologické léčby nejedná o zázrak, má své vedlejší účinky a omezení. Základními nástroji cílené biologické léčby jsou monoklonální protilátky a nízkomolekulové jednozásahové nebo vícezásahové tyrozinkinázové inhibitory. Novým trendem je kombinace monoklonální protilátky s cytotoxickým chemoterapeutikem (Antibody-drug conjugate). Cílem postupně se rozvíjející imunoterapie je obnovit porušenou funkci specifické i nespecifické imunity.

Monoklonální protilátky jsou monospecifické (mají afinitu k jednomu stejnému antigenu) a všechny jsou identické, protože jsou produktem identické buňky imunitního systému – lymfocyty. Váží se na antigeny specificky exprimované na povrch nádorových buněk a indukují imunologickou odpověď jen proti buňkám nádoru. Nádorové buňky exprimují množství různých růstových faktorů, které jsou pro monoklonální protilátky antigenem, jen pro skupinu receptorů růstových faktorů exprimují nádorové buňky více než 20 antigenů. Po navázání protilátky na určitý antigen dochází k přenosu informace do intracelulárního prostředí až do jádra buňky, kde dochází k indukci exprese určitých genů, zodpovědných za proliferaci či mitotickou aktivitu.

Bevacizumab (Avastin) je inhibitor VEGF (vascular endothelial growth factor) receptoru, brání vazbě VEGF na receptory na endotelích, což vede k normalizaci nádorového krevního řečiště, regresi nádorových cév, brání neoangiogenezi a tím inhibuje růst nádoru. Zároveň stabilizace cévního řečiště přispívá k lepšímu průniku cytostatik a dalších léků k nádorovým buňkám. Vysoké hladiny VEGF jsou spojeny s progresí nemoci a špatnou prognózou.

Na základě výsledků 2 největších prospektivních studií GOG 0218 a ICON7 byl bevacizumab schválen a je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění v 1. linii léčby pacientek s pokročilým karcinomem vaječnicků, vejcovodů nebo primárním nádorem pobřišnice (stadia IV dle FIGO nebo stadia III u neoperovaných pacientů nebo stadia III s větším než 1 centimetrovým residuem po operaci) v dávce 7,5 mg/kg každé 3 týdny v kombinaci s karboplatinou a paclitaxelem až po 6 léčebných cyklů a následně se pokračuje v samostatné léčbě bevacizumabem. Nově lze bevacizumab v dávce 10 mg/kg využít i při léčbě recidivujícího platinu rezistentního karcinomu ovaria v kombinaci s monoterapií paclitaxelem u pacientek dosud neléčených bevacizumabem.

Z poslední analýzy dat studie ICON7 však vyplývá, že nedochází ke statisticky významnému prodloužení OS. Až z podrobnější analýzy dat, která se zaměřila na skupinu pacientek s vysokým rizikem (sub-optimálně debulkovaný stupeň III, stupeň IV a neoperabilní pacientky), se ukazuje pozitivní vliv aplikace bevacizumabu, protože u této skupiny pacientek došlo ke statisticky významnému prodloužení PFS i OS (16).

Podání bevacizumabu se doporučuje nejdříve 4 týdny po operaci a léčba se ukončuje při zjištění progresu či při netoleranci léčby, ale nejdéle po 12 měsících (18 cyklech) léčby, dle toho, co nastane dříve. Výsledky výše uvedených, ale i dalších studií, definovaly spektrum nežádoucích účinků léčby bevacizumabem. Mezi nejčastější nežádoucí účinky patří hypertenze, tromboembolismus a proteinurie, mezi vzácnější, ale zároveň nebezpečnější komplikace patří gastrointestinální perforace, gastrointestinální-vaginální píštěle či komplikace při hojení ran (např. anastomotická komplikace). Ve studii GOG 0213 byla diagnostikována hypertenze u 12 % a proteinurie u 8 % pacientek (17).

Mezi další schválené indikace bevacizumabu patří:

- 1) metastatický karcinom tlustého střeva nebo rektu,
- 2) metastatický karcinom prsu v kombinaci s paclitaxelem, který je HER-2 negativní,
- 3) neresekabilní pokročilý, metastatický nebo rekurentní nemalobuněčný karcinom plic,
- 4) v kombinaci s interferonem alfa-2a v 1. linii léčby pacientů s pokročilým a/nebo metastatickým karcinomem ledvin.

Nově je schválená indikace perzistujícího, metastatického a recidivujícího nádoru hrdla děložního s chemoterapeutickým režimem karboplatina/paclitaxel či topotecan/paclitaxel.

Existuje celá řada dalších monoklonálních protilátek využívaných v onkologické léčbě, nejčastěji v léčbě kolorektálního karcinomu (např. cetuximab, panitumumab) a karcinomu prsu (trastuzumab, pertuzumab). U pacientek s maligním ascitem po selhání standardní léčby lze i.p. aplikovat trifunkční protilátku catumaxomab. Dalšími nástroji cílené léčby jsou nízkomolekulové ty-

rozinkinázové inhibitory. Tyrozinkináza je jedním z klíčových enzymů nutných pro buněčný růst, diferenciaci, dělení buňky a její adhezivitu. Blokáda přenosu signálu vede k zástavě buněčného cyklu, potenciaci apoptózy, inhibici nádorového růstu a metastazování. Mezi inhibitory tyrozinkinázy zaváděných do léčby karcinomu prsu patří lapatinib, everolimus, neratinib či sorafenib.

Další možností využití cílené léčby jsou monoklonální protilátky navázané na cytotoxické léky, tzn. antibody-drug conjugate. Principem a výhodou tohoto spojení je, že cytotoxická substance je transportována cíleně monoklonální protilátkou na místo určení. Od této terapie si slibujeme menší nežádoucí účinky a rozšíření terapeutických možností. Jako příklady tohoto typu léčby mohou sloužit glembatumab vedotin (monoklonální protilátka s navázanou antimitotickou látkou monomethyl auristatinem E) či trastuzumab-DM1 (na trastuzumab navázaná cytotoxická látka maytansin).

V posledních 5 letech se jednou z hlavních oblastí výzkumu léčby karcinomu ovaria staly PARP inhibitory a možnost opravy deoxyribonukleové kyseliny (DNA). Ke spontánně vzniklým chybám při replikaci DNA dochází neustále.

Pro zachování genomové integrity jsou buňky vybaveny celou řadou mechanismů k opravě poškozené DNA. Jednou z nich je homologní rekombinace a právě její porucha hraje významnou roli v procesu vzniku a progresu ovariálních karcinomů. Inhibitory poly(ADP-ribóza)polymerázy (PARP) blokují v buňce enzymy, které jsou součástí mechanismu opravy poškozené DNA. Neopravené jednovláknové zlomy vedou k poruše replikační vidlice a následnému vzniku dvouvláknových zlomů a jejich reparace je prováděná právě homologní rekombinací, kterou zajišťují geny BRCA1 a BRCA2. Jejich zárodečnou či somatickou mutací je homologní rekombinace vyřazena a otevírá se cesta ke karcinogenezi. 13 – 18 % karcinomů vaječnicku vzniká na základě dědičné zárodečné mutace (BRCA1/2), celoživotní riziko u BRCA1 je 40 – 60 % a u BRCA2 10 – 30 %. Principem protinádorového účinku je tzn. koncept syntetické letality, tzn. kombinace defektu homologní rekombinace vlivem mutace BRCA a defektu opravy jednovláknových zlomů DNA inhibicí PARP1.

Olaparib je perorální inhibitor PARP1 a PARP2, který prošel nejrozsáhlejšími klinickými zkouškami. Studie 19 byla multicentrická, randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie využití olaparibu v konsolidační léčbě recidivujícího ovariálního karcinomu. Do studie byly zařazeny pacientky s recidivujícím high grade serózním epitelálním karcinomem vaječnicku citlivým na léčbu platinou, které po posledním cyklu chemoterapie zahájily užívání olaparibu 400 mg dvakrát denně do progresu (dle kritérií RECIST) či placeba. Analýza dat prokázala statisticky významné prodloužení PFS (8,4 měsíce vs. 4,8 měsíce) ve skupině pacientek užívajících olaparib, rozdíl v OS (29,7 měsíce vs. 29,9 měsíce) však nebyl signifikantní. Vzhledem k domněnce vyšší účinnosti olaparibu u pacientek s mutací genů BRCA1 a BRCA2 byla provedena subanalýza, která prokázala významně delší PFS oproti skupině s placebem (11,2 měsíce vs. 4,3 měsíce), avšak nebyl zjištěn rozdíl v OS (18). Na základě výsledků studie fáze II (Study 19) bylo schváleno použití olaparibu (Lynparza) v monoterapii k udržovací léčbě (nejpozději 8 týdnů od ukončení chemoterapie, 400 mg dvakrát denně do



progrese onemocnění nebo toxicity) dospělých pacientek s relabujícími high grade serózními epiteliálními nádory vaječniku, vejcovodu nebo primárně peritoneálními s mutací BRCA (zárodečnou a/nebo somatickou), citlivým na léčbu platinou, u nichž došlo k relapsu a které odpovídají (úplně nebo částečně) na chemoterapii založenou na platině. Mezi nejčastější nežádoucí účinky užívání olaparibu patřily nevolnost a zvracení, únava a anemie.

Úspěch výše uvedené studie vedl k celé řadě dalších prací s olaparibem a objevují se i studie s dalšími zástupci PARP inhibitorů jako veliparib, rucaparib či iniparib.

#### Hormonální léčba

Hormonální léčba se využívá ve vyšších liniích léčby relabujícího karcinomu ovaria po vyčerpání možností cytostatické léčby a její aplikace má spíše charakter paliativní. Lze podávat inhibitory aromatáz letrozol a anastrozol, antiestrogen tamoxifen, analoga gonadoliberinů či gestageny. Úspěšnost léčby je poměrně nízká, pohybuje se do 15 % s mediánem trvání odpovědi 4-8 měsíců.

#### Závěr

Epiteliální ovariální karcinom, který má z gynekologických zhoubných nádorů nejvyšší mortalitu, je závažné onemocnění se špatnou prognózou. Více než 70 % pacientek je vzhledem k nespecifickým symptomům diagnostikovány až v pokročilém stadiu nemoci. Základními pilíři terapie karcinomu ovaria je kombinace primární cytoredukční operace a chemoterapie na bázi platiny a taxanu, která dosahuje vysoké léčebné odpovědi. Přesto u více než poloviny pacientek s kompletní odpovědí na léčbu dochází k recidivě onemocnění. Tyto informace vedly k hledání nových postupů v systémové léčbě recidivujícího karcinomu ovaria, které by přispěly k prodloužení doby do progresu či celkového přežití. Největšího rozvoje v poslední době zaznamenala cílená molekulárně biologická léčba, která významně zlepšuje prognózu pacientek s relabujícími ovariálními karcinomy.

#### Literatura

1. Zikan M, et al. Ultrasound guided tru cut biopsy of abdominal and pelvic tumors in gynecology. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2010;36(6):767-772
2. McGuire WP, et al. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*. 1996;334(1):1-6
3. Piccart MJ, et al. Randomized intergroup trial of cisplatin-paclitaxel versus cisplatin-cyclophosphamide in women with advanced epithelial ovarian cancer: three-year results. *Journal of the National Cancer Institute*. 2000;92(9):699-708
4. Bookman MA, Greer BE, Ozols RF. Optimal therapy of advanced ovarian cancer: carboplatin and paclitaxel vs. cisplatin and paclitaxel (GOG 158) and an update on GOG0 182 ICON5. *International journal of gynecological cancer*. 2003;13(6):735-740
5. Ozols RF, et al. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *Journal of Clinical Oncology*. 2003;21(17):3194-3200
6. Bolis G, et al. Paclitaxel 175 or 225 mg per meters squared with carboplatin in advanced ovarian cancer: a randomized trial. *Journal of clinical oncology*. 2004;22(4):686-690
7. Vasey PA, Jayson GC, Gordon A, et al. Phase III randomized trial of docetaxel-carboplatin versus paclitaxel-carboplatin as first-line chemotherapy for ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96:1682-1691
8. Pignata S, Scambia G, Savarese A, et al. Carboplatin and pegylated liposomal doxorubicin for advanced ovarian cancer: preliminary activity results of the MITO-2 phase III trial. *Oncology*. 2009;76:49-54
9. du Bois A, et al. Addition of epirubicin as a third drug to carboplatin-paclitaxel in first-line treatment of advanced ovarian cancer: a prospectively randomized gynecologic cancer intergroup trial by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group and the Groupe d'Investigateurs Nationaux pour l'Etude des Cancers Ovariens. *Journal of clinical oncology*. 2006;24(7):1127-1135
10. Hoskins P, et al. Advanced ovarian cancer: phase III randomized study of sequential cisplatin-topotecan and carboplatin-paclitaxel vs carboplatin-paclitaxel. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 2010;102(20):1547-1556
11. du Bois A, et al. Phase III trial of carboplatin plus paclitaxel with or without gemcitabine in first-line treatment of epithelial ovarian cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(27):4162-4169
12. Markman M, Bundy BN, Alberts DS, et al. Phase III trial of standard-dose intravenous cisplatin plus paclitaxel versus moderately high-dose carboplatin followed by intravenous paclitaxel and intraperitoneal cisplatin in small-volume stage III ovarian carcinoma: an intergroup study of the Gynecologic Oncology Group, Southwestern Oncology Group, and Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2001;19:1001-1007
13. Armstrong DK, et al. Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*. 2006;354(1):34-43
14. Markman M, Liu PY, Moon J, et al. Impact on survival of 12 versus 3 monthly cycles of paclitaxel (175 mg/m<sup>2</sup>) administered to patients with advanced ovarian cancer who attained a complete response to primary platinum-paclitaxel: follow-up of a Southwest Oncology Group and Gynecologic Oncology Group phase 3 trial. *Gynecol Oncol*. 2009;114:195-198
15. Conte PF, Favalli G, Gadducci A, et al. Final results of After-6 protocol 1: A phase III trial of observation versus 6 courses of paclitaxel in advanced ovarian cancer patients in complete response after platinum-paclita-

- xel chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2007;25: abstract 5505
16. Oza AM, et al. Standard chemotherapy with or without bevacizumab for women with newly diagnosed ovarian cancer (ICON7): overall survival results of a phase 3 randomised trial. *The Lancet Oncology.* 2015;16(8):928-936
  17. Coleman RL, et al. Bevacizumab and paclitaxel–carboplatin chemotherapy and secondary cytoreduction in recurrent, platinum-sensitive ovarian cancer (NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study GOG-0213): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *The Lancet Oncology.* 2017;18(6):779-791
  18. Ledermann J, Harter P, Gourley C, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15:852-861, doi: 10.1016/S1470-2045(14)70228-1

7. **PRESL, Jiri, ŠEFRHANSOVÁ, Lucie, SEDLÁKOVÁ, Iva, et al. Možnosti předoperační predikce biologického chování gynekologických pánevních tumorů. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2014, 6 p. 53-59.**

## Možnosti předoperační predikce biologického chování gynekologických pánevních tumorů

Jiří Presl<sup>1</sup>, Lucie Šefrhansová<sup>2</sup>, Iva Sedláková<sup>3</sup>, Pavel Vlasák<sup>1</sup>, Jiří Bouda<sup>1</sup>, Alena Bartáková<sup>1</sup>, Zdeněk Novotný<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň, <sup>2</sup>Onkologická a radioterapeutická klinika LF UK a FN Plzeň, <sup>3</sup>Porodnická a gynekologická klinika FN Hradec Králové

Korespondenční adresa: MUDr. Jiří Presl, PhD., Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň, Alej Svobody 80, 304 60 Plzeň, tel.: +420 377 105 240, e-mail: preslj@fnplzen.cz

Publikováno: 2. 7. 2014    Přijato: 13. 4. 2014    Akceptováno: 20. 6. 2014  
Actual Gyn 2014, 6, 53-59    ISSN 1803-9588    © 2014, Aprofema s.r.o.  
Článek lze stáhnout z [www.actualgyn.com](http://www.actualgyn.com)



Citujte tento článek jako: Presl J, Šefrhansová L, Sedláková I, Vlasák P, Bouda J, Bartáková A, Novotný Z. Možnosti předoperační predikce biologického chování gynekologických pánevních tumorů. Actual Gyn. 2014;6:53-59

### POSSIBILITIES OF PREOPERATIVE PREDICTION OF THE BIOLOGICAL BEHAVIOR OF GYNECOLOGICAL PELVIC TUMORS

#### Review article

#### Abstract

When we detect a tumor in the pelvis we find ourselves faced with the problem of determining both the origin, and biological behavior. The possibility to predict biological behavior of pelvic tumors already before treatment is the key to individual patient management with least patient burden proportional to potentially attainable goal. In the article below we deal only with the gynecological tumors.

The main postoperative prognostic and predictive factors such as staging, grading, histological type of tumor, lymph node involvement (as included in staging) and postoperative tumor residue are well known and routinely used. However, if we focus on the possibility of preoperative prediction of tumor biological behavior, it can be based on several factors. These include clinical indicators such as patient age at time of diagnosis, patient performance status, blood "markers" assessment, imaging studies results (particularly ultrasound) and processing of biopsy samples obtained by excision from the tumor during laparoscopy or tru-cut biopsy, etc. Other predictive biomarkers that can generally predict success of our therapy include, e.g. CA125, HE4, ROMA index, presence of the BRCA 1/2 or p53 mutation, Her2/neu, ER/PR or L1CAM positivity, PROVAR (a panel of 9 protein markers), intraepithelial tumor-infiltrating lymphocytes, preoperative thrombocytosis, neutrophil-to-lymphocyte ratio, Ki67 positivity rate (MIB1), gene expression profiles, protein of resistance, etc. These biomarkers will be discussed below.

Since the patient, her tumor and the therapeutic approach always form a unique combination, the resulting QoL (Quality of life), DFI (Disease free interval) and OS (Overall survival) are difficult to predict. Therefore, none of the tests used so far and no currently known marker can provide an accurate answer to these basic existential questions that a patient as well as her closest ask the most frequently.

**Key words:** prediction, biological behavior, sonography, biomarkers

## Přehledový článek

### Abstrakt

Při zjištění tumoru v pánvi se nalézáme před problémem stanovení jak jeho origa, tak i biologického chování. Možnost predikovat biologické chování pánevních tumorů již před léčbou je klíčem ke zvolení individuálního přístupu, který zatíží pacientku úměrně k maximálnímu možnému léčebnému efektu. V článku se dále zabýváme pouze gynekologickými nádory.

Hlavní prognostické a prediktivní pooperační faktory dobře známé a rutinně používané jsou histologický typ nádoru, stádium onemocnění, stupeň diferenciacce, přítomnost lymfangioinvasze, postižení lymfatických uzlin a pooperační nádorové reziduum.

Při předoperační predikci biologického chování gynekologických pánevních tumorů vycházíme z anamnézy, klinických ukazatelů - věku a přidružených chorob nemocné (performance status), dále ze stanovení markerů z krve, grafických vyšetření (zejména sonografie) a charakteristik nádoru stanovených na základě histologického, imunohistochemického či molekulárně-genetického vyšetření tkáně získané z excize, laparoskopie či tru-cut biopsie.

Mezi prediktivně-prognostické biomarkery, které mohou pomoci předpovídat úspěšnost naší léčby a je možné je využít v triage pacientek před léčbou, je možné zařadit například markery z periferní krve CA125, HE4, ROMA index, přítomnost BRCA 1/2 mutace, předoperační trombocytózu, neutrophil-to-lymphocyte ratio, a dále tkáňové markery, jako je mutace p53, Her2/Neu pozitivitu, přítomnost ER/PR, pozitivitu L1CAM, dále panel 9 proteinových markerů PROVAR, intraepitelální tumor-infiltrující lymfocyty, stanovení proliferativní aktivity pomocí proteinu Ki67 (MIB1), genové expresní profily, proteiny rezistence atd. Tyto biomarkery budou v následujícím textu probrány.

Pacientka, daný tumor a zvolený léčebný přístup tvoří vždy individualitu, jakési jedinečné spojení, jehož chování a z toho plynoucí QoL (Quality of life - kvalita života), DFI (Disease free interval - období bez nemoci) a OS (Overall survival - celkové přežití) je obtížné predikovat. Proto žádné z dosud používaných vyšetření ani žádný v současnosti známý marker nedokáže lékaři ani pacientce přesně odpovědět na tyto základní existenciální otázky, které si pacientka a její nejbližší pokládají nejčastěji.

**Klíčová slova:** predikce, biologické chování, sonografie, biomarkery

### Úvod

Při zjištění tumoru v pánvi se nalézáme před problémem stanovení jak jeho origa, tak i biologického chování. Možnost predikovat biologické chování pánevních tumorů již před léčbou je klíčem ke zvolení individuálního přístupu, který zatíží pacientku úměrně k maximálnímu možnému léčebnému efektu. V současnosti se zatím jedná o ne zcela naplněný sen, který však dostává konkrétní podobu v určitých segmentech naší práce.

Tento přístup, tzv. ušitý pacientce na míru, se nazývá personalizovaná medicína. Cílem personalizované medicíny je např.: neplýtvat finančními prostředky na neefektivní léčbu, nezpůsobit zbytečnou zátěž pacientce neúčinnou léčbou apod.

Personalizovaná medicína se však netýká jen léčby. Jedná se o širší termín, který je možné aplikovat na komplexní léčebně-preventivní přístup. Např.: systém preventivní a dispenzární péče, časnou detekci nádorového onemocnění, hledání konkrétních prognostických a prediktivních charakteristik tumorů, volbu rozsahu onkologické a onkochirurgické intervence dle povahy tumoru atd.

V článku se dále zabýváme pouze gynekologickými nádory.

Hlavní prognostické a prediktivní pooperační faktory dobře známé a rutinně používané jsou histologický typ nádoru, stádium onemocnění, stupeň diferenciacce, přítomnost lymfangioinvasze, postižení lymfatických uzlin a pooperační nádorové reziduum.

Při předoperační predikci biologického chování gynekologických pánevních tumorů vycházíme z anamnézy, klinických ukazatelů - věku a přidružených chorob nemocné

(performance status), dále ze stanovení markerů z krve, grafických vyšetření (zejména sonografie) a charakteristik nádoru stanovených na základě histologického, imunohistochemického či molekulárně-genetického vyšetření tkáně získané z excize, laparoskopie či tru-cut biopsie.

**Sonografie** se stala v onkogynekologii nezastupitelnou vyšetřovací metodou. Základní role ultrazvuku je v odlišení benigních a maligních nálezů, kde kombinací sonomorfologických a dopplerovských kritérií dosahuje ultrazvuk v diferenciální diagnostice benigních či maligních nálezů v oblasti adnex senzitivitu 96% a specificty 90% (1). Ultrazvuk je dále v rukou zkušeného sonografisty nástrojem, který dokáže predikovat histotyp benigní, borderline či maligní pánevní/adnexální/ovariální léze, a tím predikovat biologické chování tohoto abnormálního nálezu. Senzitivita této části vyšetření se udává kolem 88 % a specificta 93 % (1). Ultrazvukové vyšetření, jakožto obligatorní stagingová metoda, dokáže kombinací transvaginálního, transrektálního a transabdominálního vyšetření zhodnotit rozsah nádorového postižení, což společně s precizní anamnézou může poskytnout informace o rychlosti progresu nálezu a tím opět relativně zhodnotit biologické chování tumoru.

Mezi prediktivně-prognostické biomarkery, které mohou pomoci předpovídat úspěšnost naší léčby a je možné je využít v triage pacientek před léčbou, je možné zařadit například markery z periferní krve CA125 (cancer antigen 125), HE4 (Human Epididymal Protein-4), ROMA (Risk of ovarian malignancy algorithm) index, přítomnost BRCA 1/2 mutace, předoperační trombocytózu, NLR neutrophil-to-lymphocyte ratio), a dále tkáňové markery, jako je

mutace p53 (protein 53), Her2/Neu (human epidermal growth factor receptor 2) pozitivitu, přítomnost ER/PR (estrogenový receptor/progesteronový receptor), pozitivitu L1CAM, dále panel 9 proteinových markerů PROVAR (P-rotein-driven index of OVARian cancer), TILs (intraepitelální tumor-infiltrující lymfocyty), stanovení proliferanční aktivity pomocí proteinu Ki67 (MIB1), genové expresní profily, proteiny rezistence (P-glykoprotein (Pgp), Multi-drug resistance-associated protein (MRP1), Lung resistance protein (LRP)) atd. Tyto biomarkery budou v následujícím textu probrány. Pro jejich podrobnější rozbor odkazujeme vždy na danou publikaci.

Marker **CA125** je již 30 let v popředí klinických studií a jeho použití v personalizované medicíně nemůže chybět. Tento glykoprotein má stále své místo v managementu pacientek s ovariálním karcinomem, i když jeho role se ukazuje jako kontroverzní, a to zejména u premenopauzálních žen (1). To je dáno jeho nízkou specificitou v tomto životním období. Senzitivita a specificita CA125 je nejvyšší u postmenopauzálních žen (2-4).

Cancer antigen 125 se používá jako pomocný marker v diagnostice adnexálních malignit, k monitoraci odpovědi na léčbu, k detekci relapsu a progresi nádoru. Jeho negativní hodnota však nevylučuje nádorové onemocnění (5). Studie IOTA zjistila, že lepších výsledků v rozlišení mezi benigní a maligní adnexální patologií dosahuje subjektivní hodnocení ultrazvukového nálezu expertním sonografistou, než hodnocení nálezu dle hodnot markeru CA125 (1). Marker CA125 však hraje velkou roli v celkovém follow-up malignity, kdy je možné sledovat jeho chování v závislosti na léčbě. Vycházíme vždy z předoperačních hodnot. Vysoké hladiny CA125 předoperačně a jejich normalizace po léčbě koreluje s vhodně zvoleným léčebným přístupem a lepším PFS (Progression free survival) (6). Nové studie se zabývají prediktivními modely, které jsou založeny na dynamice CA125 v průběhu léčby. Tyto modely jsou schopné predikovat dynamiku změn velikosti nádoru u pokročilých stádií, odpověď na chemoterapeutickou léčbu a její úspěšnost, stejně tak i prognózu nemocné. Specificitu CA125 zlepšilo zavedení biomarkeru HE4 a výpočet indexu ROMA (7). HE4 vykazuje nejvyšší senzitivitu jako single biomarker pro ovariální karcinom (73%), pokud je však využit v kombinaci právě s CA 125 je senzitivita 76% (8).

**HE4** je markerem, který je možné použít ve stanovení prognózy ovariálního karcinomu. Jeho předoperační sérové hodnoty korelují jak s OS, tak s PFS. Hladiny HE4 jsou velmi silně asociované prakticky se všemi standardními prognostickými faktory ovariálního karcinomu jako je věk, stage, grade tumoru, histologický typ tumoru, předoperační hodnoty CA125 a pooperační nádorové reziduum. Souhrnně lze říci, že vysoké předoperační hodnoty HE4 jsou markerem agresivity tumoru a špatné prognózy (9).

**BRCA 1 a BRCA 2 mutace** - mutace těchto vysoce penetrantních tumor supresorových genů jsou zodpovědné za většinu hereditárních karcinomů prsu a vaječníku. 85-90 % ovariálních malignit jsou nádory se sporadickým výskytem. Ostatní jsou nádory hereditární, kdy 90 % pacientek nese BRCA defekt. Hereditární nádory jsou dále charakterizovány časnějším výskytem (zpravidla o 10–15 let dříve ve

srovnání se sporadickými nádory). Z pohledu karcinomu vaječníku je u žen s BRCA mutací popisována dobrá citlivost k platinovým derivátům, což může rezultovat v delší DFI (5, 10, 11).

60-80 % ovariálních malignit jsou serózní karcinomy. 90 % z nich jsou high-grade tumory, které vykazují agresivnější chování. BRCA mutace jsou přítomné cca u 23 % high-grade serózních tumorů. Tyto genetické formy high-grade serózních tumorů vykazují lepší prognózu v porovnání se sporadickými high-grade serózními tumory, což může být sekundární efekt způsobený lepší citlivostí na léčbu, která je dána narušenou schopností opravy buněčné DNA.

Novou cílenou biologickou léčbou pro pacientky s BRCA mutacemi je v případě jak karcinomu prsu, tak i karcinomu vaječníku, použití inhibitorů enzymu Poly-ADP-ribose polymerázy (PARP). PARP1 je protein zodpovědný v buňce za opravu poškozeného řetězce DNA. PARP inhibitory tedy blokují v buňce enzymy, které jsou součástí mechanismu opravy poškozené DNA, čímž se potencuje cytotoxický efekt chemoterapie (12).

**Předoperační trombocytóza** - narůstající množství dat podporuje teze, že předoperační trombocytóza je negativním prognostickým faktorem. Tento fakt je možné pozorovat u řady solidních tumorů, jako je kolorektální karcinom, karcinom prsu, pankreatu, plic apod. Stejně je tomu i v případě ovariálního karcinomu. Krevní destičky hrají roli v procesu metastazování, angiogeneze i proliferaci nádorové populace. U pokročilých stádií karcinomu vaječníku je trombocytóza v době primární operace spojena s horší prognózou zahrnující kratší DFI, kratší OS a větší pravděpodobnost suboptimální cytoredukce. Trombocytóza u časných stádií ovariálního karcinomu je pak spojena s 8x vyšším rizikem rekurence. Trombocytóza v době plánování sekundární cytoredukce se ukazuje být také negativním prognostickým faktorem a je asociována se suboptimální cytoredukcí a kratším OS (medián 33 vs. 46 měsíců) (13).

**NLR** (neutrophil-to-lymphocyte ratio) - obecně lze říci, že NLR koreluje se závažností a prognózou řady malignit, ale i nenádorových onemocnění. Řada obecných rizikových faktorů jako je obezita, metabolický syndrom a kouření je asociována se zvýšeným NL poměrem. NLR lze v našem oboru využít jako prediktivní faktor např. u karcinomu vaječníku. Jeho měření v období diagnózy se dokonce udává, dle některých pramenů, jako senzitivnější než CA125 v predikci OS. Tento fakt však není překvapující, když vezmeme v úvahu, že počet neutrofilů a počet lymfocytů individuálně korelují s přežitím, ale v opačném směru. Vysoké počty neutrofilů a nízké počty lymfocytů predikují horší celkové přežití. Zvýšení NL (neutrophil-to-lymphocyte) poměru je asociováno s vyšším stádiem a gradem tumoru, přítomností ascitu, oboustranným ovariálním postižením a dále koreluje s dalšími rizikovými faktory, jako je židovský původ, počet ovulačních cyklů, rodinná anamnéza maligního onemocnění v premenopauzálním období života ženy atd. Počet neutrofilních leukocytů, monocytů, lymfocytů a NLR pozitivně koreluje s hodnotami CA125. Vyšší NLR tak predikuje horší OS (14).

**p53** - protein 53 má významnou úlohu ve vývoji buňky a její odpovědi na stres. Jedná se o jaderný transkripční

faktor kontrolující přechod G1/S a G2/M fázi buněčného cyklu. Podílí se na opravě DNA, indukci senescence, apoptóze, autofagocytóze a hraje roli v angiogenezi. Buňky s mutovaným p53 vykazují změny fenotypu, jako je zvýšený nádorový potenciál, růst, aktivace proangiogenních faktorů, větší odolnost vůči radioterapii a chemoterapii. Mutace TP53 byly popsány téměř u všech typů nádorů. Vyskytují se v 80 – 96 % u serózních a dediferencovaných ovariálních nádorů a karcinosarkomů. Jejich výskyt koreluje s agresivním biologickým chováním nádoru, zhoršující se prognózou, kratším OS a PFS. Přítomnost mutací p53 v nádoru je také spojena s rezistencí k fluorouracilu, docetaxelu, mitomycinu C, epirubicinu a cyklofosfamid (15).

**HER-2** - je tyrosinkinázový receptor (z rodiny EGFR), jehož stimulací dochází k aktivaci dějů vedoucích ke stimulaci proliferčních a antiapoptotických mechanismů. HER-2 je klíčová molekula, jejíž vyšetření je standardem u karcinomu prsu a žaludku. Je též významným prognostickým faktorem u endometroidního endometriálního karcinomu, stejně tak klíčovou molekulou informující o senzitivě těchto nádorů k taxanům. Ženy s HER-2 pozitivním endometroidním karcinomem mají horší celkové přežití a kratší PFS, dobře však reagují na léčbu paclitaxelem (16).

**ER/PR** - estrogenové i progesteronové receptory ovlivňují transkripci cílových genů zodpovědných za buněčné dělení, inhibici apoptózy, angiogenezi a degradaci extracelulární matrix. Jejich exprese je fyziologická v normálním žlázovém epitelu endometria a v době diferencovaném endometroidním karcinomem časného stádia, oproti úbytku této exprese až vymizení u pokročilých, špatně diferencovaných endometriálních nádorů. Mechanismus není zatím znám. Některé, ale ne všechny studie, potvrzují postupné zhoršování prognózy s úbytkem exprese ER, ale i PR receptoru. S tím souvisí i agresivita a biologické chování nádoru (17).

**L1CAM** (L1 cell adhesion molecule - CD171) - je imuno-histochemický marker, který lze využít jako prognostický faktor u endometriálního adenokarcinomu typu I, FIGO I. Pacientky s diagnózou endometriálního adenokarcinomu typu I ve stádiu I mají relativně dobrou prognózu s 10letým přežitím dosahujícím až 80 %. Některé pacientky, které splňují tato základní kritéria, však neočekávaně časně recidivují a mohou následkem této malignity zemřít. Interpretací těchto faktů je několik a všechny spojuje pozitivita L1CAM. Otázkou zůstává, jaký management zvolit pro pacientky s pozitivitou L1CAM ve tkáni endometriálního adenokarcinomu získané například kyretáží dutiny děložní. Zdá se, že radikálnější operační přístup nezlepší výstup ve smyslu delšího PFS či OS. Rovněž adjuvantní radioterapie se nezdá jako optimální řešení, a proto výzvou pro následující klinické studie zůstává evaluace adjuvantní chemoterapie či adjuvantní konkomitantní chemoradioterapie (18).

**PROVAR** (PRotein index of OVARian cancer) je panel 9 proteinových markerů zahrnující: AR - androgenní receptor, BID - BH3 interacting-domain death agonist, EEF2 - eukaryotic translation elongation factor 2, pEGFR - EGFR fosforylovaný Tyr1173, HSP70 - 70kDa heat-shock pro-

tein, pMEK1 - Dual specificity mitogen activated protein kinase 1, pPKC $\alpha$  - PKC $\alpha$  fosforylovaný Ser657, STAT5 $\alpha$ , pTAZ - Tafazzin fosforylovaný Ser89.

Pacientky s ovariálním karcinomem mají po léčbě vysoké riziko rekurence onemocnění. Možnost předpovědět úspěšnost léčby by nabídla možnost výběru nejideálnější léčebné varianty. Panel PROVAR může poměrně dobře rozdělit pacientky s high-grade serózním ovariálním karcinomem na kohortu low-risk a high-risk ve vztahu k PFS a OS (19).

**TILs** (intraepiteliální tumor-infiltrující lymfocyty). Imunologickým markerem prognózy epiteliálních ovariálních nádorů je přítomnost T-lymfocytů ve stromatu nádoru jako důkaz protinádorové odpovědi. Jejich přítomnost je spojena s lepším přežitím a dobrou prognózou. Použití tohoto markeru není zatím zavedeno do klinické praxe pro nekonzistentnost dat, ale jeho úloha a prognostická hodnota u ovariálních karcinomů již byla potvrzena. Ze závěru metaanalýzy Wi-Ting Hwanga vyplývá, že pacientky s TILs pozitivními nádory mají 2-2,6krát delší celkové přežití (HR 1,33 - 7,62) (20).

**Ki67 (MIB1)** - imunochemické stanovení proliferační aktivity buněk - proteinu Ki67 pomocí protilátky MIB1. Ki67 je jaderný protein detekovatelný pouze u proliferujících buněk v G1, S, G2 a M fázi buněčného cyklu, nedetekovatelný v G0 fázi buněčného cyklu. Poměrově zastoupení buněk vykazujících MIB1 pozitivitu k celkovému počtu hodnocených buněk se nazývá Ki67 index a je vyjadřován v procentech. Vysoká mitotická aktivita nádoru je obecně spojována s horší prognózou, kratším přežitím i kratším obdobím do progresu. U karcinomu ovaria toto ale neplatí absolutně a některé studie toto nepotvrzují. Nebyla potvrzena korelace mezi proliferační aktivitou a jednotlivými typy ovariálních karcinomů. U karcinomu endometria míra positivity indexu Ki67 koreluje s rozsahem, stupněm diferenciací nádoru i histologickým typem. Je vyšší u high-grade endometriálních karcinomů oproti low-grade. U atrofického endometria je jeho exprese nulová (21,22).

**Genové expresní profily** - analýzy exprese mnoha vybraných genů mohou být použity nejen v určení biologických vlastností nádoru, ale také ke stanovení prognózy onemocnění a ke stanovení predikce léčebné odpovědi na určité režimy chemoterapie. Pomáhají tak individualizovat onkologickou léčbu. U gynekologických malignit je možné uvést jako příklad analýzu genů dráhy PI3K-AKT. To je dráha, která reguluje expresi genů inhibujících apoptózu a podporujících buněčný růst. Aktivace této dráhy je spojena s agresivním fenotypem a špatnou prognózou u glioblastomů, nádorů prostaty, prsu a dalších. U gynekologických nádorů je zájmem mnoha studií. Endometriální karcinomy je možné rozdělit na základě znalostí molekulárních změn na dva typy: typ I - low-grade endometroidní-estrogen dependentní, s častým výskytem mikrosatelitní instability, PTEN, PIK3CA, CTNNB1 a K-ras mutacemi - který se vyskytuje převážně u pre či perimenopauzálních žen, a typ II - non-endometroidní, spojený především s alterací p53, vyskytující se u postmenopauzálních žen.

Taktéž ovariální karcinomy je možné rozdělit na základě znalostí molekulárních změn na dva typy: malignity řadící

se pod typ I mají poměrně dobře identifikované prekursorů a jejich progresse jde po krocích od benigního, zpravidla cystického tumoru, přes „borderline“ tumory k invazivnímu karcinomu. V době projevení bývají spíše omezené na vaječníky, chovají se jako „pomalé“ nádory, jsou dále charakterizovány vyšším pětiletým přežitím ve srovnání s typem II, sdílejí společně mnohé molekulárně genetické alterace, které nelze najít u typu II, jsou poměrně geneticky stabilní, vznikají obvykle kumulací somatických mutací v genech K-ras, BRAF, PTEN, PIK3CA, CTNNB1 (kódování genu beta catenin), a ARID1A PPP2R1A, ale jen velmi zřídka TP53. Inaktivace BRCA nebyla u typu I nalezena. Zahrnují low-grade serózní a low-grade endometrioidní karcinomy, clear-cell a mucinózní karcinomy, maligní Brennerův tumor.

Nádory řadící se pod typ II naopak bývají zachyceny v pokročilých stádiích, vznikají de novo, chovají se agresivně, typická je pro ně mutace genu TP53 (ve více než 95 % případů) a jsou velice geneticky nestabilní. Jsou charakterizovány horší prognózou a vyšším gradíngem. Inaktivace BRCA, mutací či metylací promotoru se nachází u 40-50 % high-grade serózních karcinomů. Hlavními tumory typu II jsou high-grade serózní karcinom, karcinosarkom a nediferencovaný karcinom.

High-grade serózní karcinom představuje téměř 75 % ze všech epiteliálních ovariálních karcinomů a sám se podílí cca 90 % na mortalitě pro ovariální karcinom. Hledání etiopatogenetické cesty vzniku tohoto závažného tumoru je proto náplní řady výzkumů posledních desetiletí. Dosud se předpokládalo, že nádor vzniká maligní transformací povrchového epitelu vaječníku. Nový pohled spatřuje možný původ ve vejcovodu, konkrétně v lézi nazývané „STIC - serous tubal intraepithelial carcinoma“, kterou se prezentuje zhruba 45-60 % případů a kterou je možné při pečlivém histologickém zpracování sekčního materiálu nalézt vedle invazivního karcinomu.

Koncept, že část ovariálních karcinomů má původ mimo vaječník, je velkým odklonem od původního smýšlení a přinese jistě nové postupy včasné detekce, léčby a možné prevence tohoto závažného a devastujícího onemocnění.

Je jen otázkou času, kdy se budeme o léčbě gynekologických nádorů rozhodovat na základě genového expresního modelu (23,24).

**Proteiny rezistence** - většina proteinů rezistence je spojená s MDR (multi-drug resistance) fenotypem a patří do skupiny ABC (ATP-binding cassette) membránových transportních proteinů. V současné době je popsáno přibližně 50 ABC transportérů (ATP-binding cassette membrane proteins) v lidském genomu (25-27). Několik členů ABC transportérů má schopnost vylučovat malé molekuly zahrnující protinádorová léčiva a tak přispívá k chemorezistenci. Úloha ABC transportérů v klinické rezistenci a zejména výskyt rezistence u chemonaičních pacientů se solidními nádory je stále předmětem mnoha diskusí.

- **P-glykoprotein (Pgp)** - jako první z ABC transportérů byl identifikován v roce 1976. Nejnověji je označován jako ABCB1 (28). P-glykoprotein (Pgp) - produkt MDR1/ABCB1 genu je nejvíce převažující ABC „drug resistance“ transportér, který byl a je obsáhle studován (29-33). Pgp je transportér s velmi širokou substrátovou specificitou, zahrnující přibližně jednu třetinu všech

protinádorových léků, stejně jako mnoho dalších léků užívaných v dalších oblastech medicíny (34). Pgp je běžně přítomen v mnoha normálních tkáních a je také značně zastoupen v maligních nádorech, kde vede ke klasické mnohočetné lékové rezistenci. Substráty Pgp je řada léčiv zahrnující antracykliny (doxorubicin, daunorubicin a epirubicin), vinka alkaloidy (vinkristin, vinblastin, vinorelbin), taxany (paklitaxel, docetaxel), epipodophylotoxiny (etoposid), mitoxantron a dactinomycin (29). Klinický význam Pgp v lékové rezistenci je podpořen řadou dat, ve kterých jeho exprese prokázala nepříznivou prognózu u mnoha typů maligních nádorů, zahrnujících karcinom prsu i karcinom ovaria. Vysoká exprese MDR1 koreluje s kratším celkovým přežitím a horší odpovědí na chemoterapii (35). Při zvýšené expresi Pgp/MDR mohou být taková léčiva za účasti transportní funkce Pgp předčasně vylučována z nádorových buněk, což může způsobit pokles účinku dané léčby.

- **Multidrug resistance-associated protein (MRP1)** – v roce 1992 byl objeven druhý transportér nazývaný „Multidrug resistance-associated protein“ (Multidrug Related Protein, MRP, později označován jako MRP1 a nejnověji ABCC1). MRP1/ABCC1 vykazuje rezistenci na antracykliny, vinka alkaloidy, epipodophylotoxiny a také léky využívající ke svému transportu glutathion.
- **Lung resistance protein (LRP)** - je další protein rezistence, ovšem nepatří do skupiny ABC transportérů (36). Poprvé ho identifikoval Scheper, et al. u nemalobuněčného karcinomu plic (37). Je přítomný v mnoha nádorech a stejně tak i v normální tkáni. LRP se vyskytuje u akutní myeloidní leukémie, mnohočetného myelomu, sarkomů, ovariálního karcinomu, karcinomu prsu a kolorektálního karcinomu a je všeobecně spojován se špatnou odpovědí na chemoterapii a s kratším celkovým přežitím (38). Počet léků asociovaných s LRP je podstatně menší než u Pgp a MRP1 a zahrnuje alkylační cytostatika jako melphalan, cyklofosfamid a platinové preparáty (39).

#### Závěr

Z výše uvedeného vyplývá, že možnosti, jak rutinně předoperačně predikovat biologické chování gynekologických tumorů, není mnoho. Základem zůstává podrobná anamnéza, zhodnocení performance status pacientky, klinické a hlavně zobrazovací vyšetření, zejména ultrazvukové, a eventuálně stanovení základních markerů z periferní krve. Ostatní tkáňové parametry se využívají výběrově. Pacientka, daný tumor a zvolený léčebný přístup tvoří vždy individualitu, jakési jedinečné spojení, jehož chování a z toho plynoucí QoL, DFI a OS je obtížné predikovat. Proto žádné z dosud používaných vyšetření ani žádný v současnosti známý marker nedokáže lékaři ani pacientce přesně odpovědět na tyto základní existenciální otázky, které si pacientka a její nejbližší pokládají nejčastěji.

#### Literatura

1. Kaijser J, Bourne T, Valentin L, Sayasneh A, Van Holsbeke C, Vergote I, et al. Improving strategies for diagnosing ovarian cancer: a summary of the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) studies. *Ultrasound in obstetrics & gynecology*. 2013;41(1):9-20

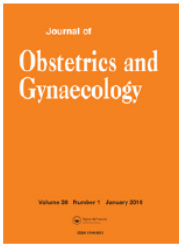


2. Novotny Z, Presl J, Kucera R, Topolcan O, Vrzalova J, Fuchsova R, et al. HE4 and ROMA index in Czech postmenopausal women. *Anticancer research*. 2012; 32(9):4137-40
3. Moore R, Miller M, MacLaughlan S, Vucetic Z, Gajewski W, DiSilvestro P. The use of the risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA) with clinical assessment improves ovarian cancer detection in women with a pelvic mass. *Gynecologic Oncology*. 2012;125, Supp. 1(0):S38
4. Partheen K, Kristjansdottir B, Sundfeldt K. Evaluation of ovarian cancer biomarkers HE4 and CA-125 in women presenting with a suspicious cystic ovarian mass. *Journal of gynecologic oncology*. 2011;22(4):244-52
5. Cibula D, Petruzzelka L. *Onkogynekologie*. Prague: Grada Publishing, a.s.; 2009
6. Markman M, Petersen J, Belland A, Burg K. CA-125 monitoring in ovarian cancer: patient survey responses to the results of the MRC/EORTC CA-125 Surveillance Trial. *Oncology*. 2010;78(1):1-2
7. Moore RG, Miller MC, DiSilvestro P, Landrum LM, Gajewski W, Ball JJ, et al. Evaluation of the diagnostic accuracy of the risk of ovarian malignancy algorithm in women with a pelvic mass. *Obstetrics and gynecology*. 2011;118(2 Pt 1):280-8
8. Moore RG, Brown AK, Miller MC, Skates S, Allard WJ, Verch T, et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecologic Oncology*. 2008;108(2):402-8
9. Trudel D, Tetu B, Gregoire J, Plante M, Renaud MC, Bachvarov D, et al. Human epididymis protein 4 (HE4) and ovarian cancer prognosis. *Gynecol Oncol*. 2012;127(3):511-5
10. Ben David Y, Chetrit A, Hirsh-Yechezkel G, Friedman E, Beck BD, Beller U, et al. Effect of BRCA mutations on the length of survival in epithelial ovarian tumors. *Journal of clinical oncology*. 2002;20(2):463-6
11. Rennert G, Bisland-Naggan S, Barnett-Griness O, Bar-Joseph N, Zhang S, Rennert HS, et al. Clinical outcomes of breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations. *The New England journal of medicine*. 2007;357(2):115-23
12. Weil MK, Chen AP. PARP inhibitor treatment in ovarian and breast cancer. *Current problems in cancer*. 2011;35(1):7-50
13. Cohen JG, Tran AQ, Rimel BJ, Cass I, Walsh CS, Karlan BY, et al. Thrombocytosis at secondary cytoreduction for recurrent ovarian cancer predicts suboptimal resection and poor survival. *Gynecol Oncol*. 2014;132(3):556-9
14. Williams KA, Labidi-Galy SI, Terry KL, Vitonis AF, Welch WR, Goodman A, et al. Prognostic significance and predictors of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2014;132(3):542-50
15. Viale G, Maisonneuve P, Bonoldi E, Di Bacco A, Bevilacqua P, Panizzoni GA, et al. The combined evaluation of p53 accumulation and of Ki-67 (MIB1) labelling index provides independent information on overall survival of ovarian carcinoma patients. *Annals of oncology*. 1997;8(5):469-76
16. Mori N, Kyo S, Nakamura M, Hashimoto M, Maida Y, Mizumoto Y, et al. Expression of HER-2 affects patient survival and paclitaxel sensitivity in endometrial cancer. *British journal of cancer*. 2010;103(6):889-98
17. Huvila J, Talve L, Carpen O, Edqvist PH, Ponten F, Grenman S, et al. Progesterone receptor negativity is an independent risk factor for relapse in patients with early stage endometrioid endometrial adenocarcinoma. *Gynecol Oncol*. 2013;130(3):463-9
18. Zeimet AG, Reimer D, Huszar M, Winterhoff B, Pustola U, Azim SA, et al. L1CAM in early-stage type I endometrial cancer: results of a large multicenter evaluation. *Journal of the National Cancer Institute*. 2013;105(15):1142-50
19. Yang JY, Yoshihara K, Tanaka K, Hatae M, Masuzaki H, Itamochi H, et al. Predicting time to ovarian carcinoma recurrence using protein markers. *The Journal of clinical investigation*. 2013;123(9):3740-50
20. Hwang WT, Adams SF, Tahirovic E, Hagemann IS, Coukos G. Prognostic significance of tumor-infiltrating T cells in ovarian cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol*. 2012;124(2):192-8
21. Konstantinos K, Marios S, Anna M, Nikolaos K, Efstratios P, Paulina A. Expression of Ki-67 as proliferation biomarker in imprint smears of endometrial carcinoma. *Diagnostic cytopathology*. 2013;41(3):212-7
22. Le Page C, Huntsman DG, Provencher DM, Mes-Masson AM. Predictive and prognostic protein biomarkers in epithelial ovarian cancer: recommendation for future studies. *Cancers*. 2010;2(2):913-54
23. Catusus L, D'Angelo E, Pons C, Espinosa I, Prat J. Expression profiling of 22 genes involved in the PI3K-AKT pathway identifies two subgroups of high-grade endometrial carcinomas with different molecular alterations. *Modern pathology*. 2010;23(5):694-702
24. Shih le M, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *The American journal of pathology*. 2004;164(5):1511-8
25. Glavinas H, Krajcsi P, Cserepes J, Sarkadi B. The role of ABC transporters in drug resistance, metabolism and toxicity. *Current drug delivery*. 2004;1(1):27-42
26. Gottesman MM, Ambudkar SV. Overview: ABC transporters and human disease. *Journal of bioenergetics and biomembranes*. 2001;33(6):453-8
27. Huang Y. Pharmacogenetics/genomics of membrane transporters in cancer chemotherapy. *Cancer metastasis reviews*. 2007;26(1):183-201
28. Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochimica et biophysica acta*. 1976;455(1):152-62
29. Ambudkar SV, Kimchi-Sarfaty C, Sauna ZE, Gottesman MM. P-glycoprotein: from genomics to mechanism. *Oncogene*. 2003;22(47):7468-85
30. Arts HJ, Katsaros D, de Vries EG, Massobrio M, Genta F, Danese S, et al. Drug resistance-associated markers P-glycoprotein, multidrug resistance-associated protein 1, multidrug resistance-associated protein 2, and lung resistance protein as prognostic factors in ovarian carcinoma. *Clinical cancer research*. 1999;5(10):2798-805
31. Holzmayer TA, Hilsenbeck S, Von Hoff DD, Roninson IB. Clinical correlates of MDR1 (P-glycoprotein) gene expression in ovarian and small-cell lung carcinomas.

- Journal of the National Cancer Institute. 1992;84(19):1486-91
32. Riordan JR, Ling V. Genetic and biochemical characterization of multidrug resistance. *Pharmacology & therapeutics*. 1985;28(1):51-75
  33. Rubin SC, Finstad CL, Hoskins WJ, Saigo PE, Provencher DM, Federici MG, et al. Expression of P-glycoprotein in epithelial ovarian cancer: evaluation as a marker of multidrug resistance. *Am J Obstet Gynecol*. 1990;163(1 Pt 1):69-73
  34. Ueda K, Cardarelli C, Gottesman MM, Pastan I. Expression of a full-length cDNA for the human "MDR1" gene confers resistance to colchicine, doxorubicin, and vinblastine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1987;84(9):3004-8
  35. Metzinger DS, Taylor DD, Gercel-Taylor C. Induction of p53 and drug resistance following treatment with cisplatin or paclitaxel in ovarian cancer cell lines. *Cancer letters*. 2006;236(2):302-8
  36. Scheffer GL, Wijngaard PL, Flens MJ, Izquierdo MA, Slovak ML, Pinedo HM, et al. The drug resistance-related protein LRP is the human major vault protein. *Nature medicine*. 1995;1(6):578-82
  37. Scheper RJ, Broxterman HJ, Scheffer GL, Kaaijk P, Dalton WS, van Heijningen TH, et al. Overexpression of a M(r) 110,000 vesicular protein in non-P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Cancer research*. 1993;53(7):1475-9
  38. Scheffer GL, Schroeijers AB, Izquierdo MA, Wiemer EA, Scheper RJ. Lung resistance-related protein/major vault protein and vaults in multidrug-resistant cancer. *Current opinion in oncology*. 2000;12(6):550-6
  39. Izquierdo MA, Shoemaker RH, Flens MJ, Scheffer GL, Wu L, Prather TR, et al. Overlapping phenotypes of multidrug resistance among panels of human cancer-cell lines. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 1996;65(2):230-7

8. **BARTAKOVA, A., MICHALOVA, K., PRESL, J., et al. CD44 as a cancer stem cell marker and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma. J Obstet Gynaecol. 2018, 38 (1), p. 110-114.**

**IF 0, 545**



## CD44 as a cancer stem cell marker and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma

Alena Bartakova, Kveta Michalova, Jiri Presl, Pavel Vlasak, Jan Kostun & Jiri Bouda

**To cite this article:** Alena Bartakova, Kveta Michalova, Jiri Presl, Pavel Vlasak, Jan Kostun & Jiri Bouda (2018) CD44 as a cancer stem cell marker and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 38:1, 110-114, DOI: [10.1080/01443615.2017.1336753](https://doi.org/10.1080/01443615.2017.1336753)

**To link to this article:** <https://doi.org/10.1080/01443615.2017.1336753>



Published online: 17 Aug 2017.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 120



View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at  
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ijog20>

## CD44 as a cancer stem cell marker and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma

Alena Bartakova<sup>a</sup>, Kveta Michalova<sup>b</sup>, Jiri Presl<sup>a</sup>, Pavel Vlasak<sup>a</sup>, Jan Kostun<sup>a</sup> and Jiri Bouda<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital Pilsen, Charles University, Prague, Czech Republic; <sup>b</sup>Sikl's Department of Pathology, University Hospital Pilsen, Charles University, Prague, Czech Republic

### ABSTRACT

The aim of our study was to clarify whether the CD44 adhesion molecule as a cancer stem cell marker could also serve as a prognostic factor in patients with epithelial ovarian cancer (EOC). A retrospective study was performed on 87 patients with histologically verified EOC. Specimens of both primary tumour and implantation metastases were tested from 48 of them. CD44 expression was detected by immunohistochemistry. We looked for the cut-off levels of CD44 expression using the Cox regression model. We confirmed statistically significant prognostic factors for overall survival (OS) and disease-free interval (DFI) to be: stage of the disease, postoperative residual tumour and papillary serous histological type. We demonstrated a statistically significant correlation between low CD44 expression and serous papillary carcinoma histotype, tumour recurrence and chemoresistance at a value below 2%. CD44 was neither a prognostic factor of OS nor of DFI.

### IMPACT STATEMENT

- **What is already known about this subject:** Epithelial ovarian cancer is the second most common gynaecological cancer in developed countries. Despite great efforts devoted to ovarian cancer research during past decades, levels of patient mortality have changed very little. Cancer stem cells (CSCs) are subpopulations of cells with typical characteristics of stem cells – i.e. the ability to self-renew and differentiate in a variety of cell types. The main surface marker typical for CSCs is CD44.
- The aim of our study was to clarify whether the CD44 as a CSCs marker could serve as a prognostic factor in patients with epithelial ovarian cancer. Previous studies published on this topic revealed controversial results. The novelty of our study lies in looking for the cut-off using the Cox regression model.
- **What this study adds:** We demonstrated a statistically significant correlation between low CD44 expression and serous papillary carcinoma histotype, tumour recurrence and chemoresistance at a value below 2%, however, CD44 was neither a prognostic factor of overall survival nor of disease-free interval. We propose to investigate other markers including other CSCs as a prognostic factors or potential aims for targeted therapy in ovarian cancer.

### KEYWORDS

CD44; epithelial ovarian cancer; cancer stem cells



### Introduction

Epithelial ovarian cancer (EOC) is the second most common gynaecological cancer in developed countries and the most lethal of all gynaecological malignancies (Torre et al. 2015). Higher incidence generally appears in economically developed countries. Despite great efforts devoted to ovarian cancer research during past decades, levels of patient mortality have changed very little.

At present, there is unfortunately no effective population screening for ovarian cancer established and ovarian cancer is often diagnosed at an advanced stage of the disease. The age-standardised five-year relative survival is 36.1% in Europe (Oberaigner et al. 2012). Clinical symptoms are not specific and occur at an advanced stage of the disease. Treatment is based on the surgical removal of the tumour and

chemotherapy. Usually, a combination of platinum derivatives (carboplatin, cisplatin) and taxanes is used. However, chemotherapy is often complicated by the development of resistance, especially in the case of recurrence. Chemoresistant patients are diagnosed with progression or a recurrence within 6 months of the end of the treatment. The prognostic factors of the development of resistance are not known.

At present, great attention is given to cancer stem cells (CSCs), which could contribute to tumour growth, metastasis formation and chemoresistance. CSCs are subpopulations of cells with typical characteristics of stem cells – i.e. the ability to self-renew and differentiate in a variety of cell types. The first CSCs were detected by Lapidot et al. (1994) in acute myeloid leukaemia. The transfer of the cells (which were isolated by Lapidot) into a mice model caused the formation of

**CONTACT** Alena Bartakova  bartakovaa@fnplzen.cz  Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital Pilsen, Charles University, Alej Svobody 80, Prague 304 60, Czech Republic

© 2017 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

myeloid leukaemia. Since then the CSCs have been detected in many tumours.

Several characteristics typical for CSCs were found at the cell membrane surface. The main surface markers include CD44 (Cluster of Differentiation 44), a transmembrane adhesion molecule type I of a molecular weight of 85–90kDa. CD44 is a cell surface receptor for hyaluronate, which suggests a possible role in regulating the interaction of cells, the interaction of cells with the substrate and cell migration (Aruffo et al. 1990). CD44 was detected in a standard form (CD44s), and also in its variant isoforms (Wang et al. 2012).

The aim of this study is to detect CD44 in primary tumours and metastases, and to evaluate the expression of CD44 in relation to known prognostic factors, as well as to overall survival (OS) and disease-free interval (DFI), i.e. whether CD44 would be a suitable prognostic marker for OS and DFI, and a marker of the formation of chemoresistance.

## Materials and methods

### Tissue samples

A retrospective study was performed on 87 patients with histologically verified EOC. All patients were tested for primary tumour specimens, 48 of them were tested with regard to both specimens of primary tumour and implantation metastasis. Samples were retrieved retrospectively from all patients operated for EOC from 2004 to 2007. The study included all patients who had histologically verified EOC, follow-up more than five years, and histological slides available. The follow-up ended on March 1 2015. At the time of diagnosis, the patients' ages ranged from 32 to 87 years. The median age was 55 years and cancer was mostly diagnosed at the age of 63 years.

The study included 65 samples of papillary serous ovarian carcinoma (40 papillary serous carcinoma metastases), three samples of mucinous carcinoma, 14 samples of endometrioid ovarian carcinoma (six metastases), two samples of clear cell carcinoma and three samples which did not fall within these categories (two metastases). The grading system for papillary serous carcinomas comprised three grades at the time of the diagnosis. Dividing to high grade and low grade papillary serous carcinoma was not used. Patients were predominantly in stage III according to the FIGO (40 samples), then stage IV (19 samples), II (10 samples) and I (18 samples). Seventy eight patients underwent primary surgical treatment while nine patients underwent neoadjuvant chemotherapy. Tissue samples from patients with NACT were taken prior administration of chemotherapy in all cases. Thirty seven patients underwent radical surgery with no postoperative residual tumour. Residual tumour diameter was evaluated in patients with postoperative tumour residuum. The residual tumour diameter was <1 cm in seven patients, 1–2 cm in six patients and >2 cm in 37 patients. The important prognostic factor is the sensitivity of the disease to platinum-based chemotherapy. Recurrence was diagnosed in 41 patients. Platinum-resistant disease was evaluated as persistence, disease progression or recurrence within 6 months after the completion of the primary therapy (25 patients). In the intermediate group,

Table 1. Clinicopathological characteristics of patients.

	Primary tumour tissue (number of patients, %)	Metastatic tissue (number of patients, %)
<b>Histological type</b>		
Papillary serous	65–74.7%	40–83.3%
Mucinous	3–3.4%	0–0%
Endometrioid	14–16.1%	6–12.5%
Clear cell	2–2.3%	0–0%
Other	3–3.4%	2–4.2%
<b>FIGO stage</b>		
I	18–20.1%	0–0%
II	10–11.5%	3–6.25%
III	40–46%	31–68.6%
IV	19–21.8%	14–29.2%
<b>Grade</b>		
I	12–13.8%	5–10.4%
II	31–35.6%	15–31.3%
III	44–50.1%	28–58.3%
<b>Primary therapy</b>		
Operation	78–90%	39–81.3%
Neoadjuvant chemotherapy	9–10.3%	9–18.8%
<b>Residual tumour diameter</b>		
0	37–42.5%	10–20.8%
<1 cm	7–8%	5–10.4%
1–2 cm	6–6.9%	6–12.5%
>2 cm	37–42.5%	27–56.3%
<b>Chemotherapy</b>		
Platinum + Taxan	73–83.9%	40–83.3%
Platinum monotherapy	6–6.9%	5–10.4%
Other type	8–9.2%	3–6.3%
<b>Response to chemotherapy</b>		
Platinum resistant	25–28.7%	13–27.1%
Intermediate group	10–11.5%	5–10.4%
Platinum sensitive	45–51.7%	30–62.5%
<b>Overall survival</b>		
Five-year survival	32–36.8%	14–29.2%
Three-year survival	43–49.4%	21–24.1%

recurrence was diagnosed from 6 to 12 months after the completion of the primary therapy (10 patients). A carcinoma is considered platinum-sensitive in cases when relapse occurs 12 months after the completion of the primary therapy (21 patients). DFI was calculated from the completion of the primary treatment until the disease recurrence. OS was calculated from the date of diagnosis of the disease until the patient's death. Five-year survival was 36.8% (32 patients), while 3-year survival was 49.4% (43 patients). The median survival was 35.5 months, with a minimum of two months and a maximum of 142 months, 38 patients were still alive (observed in 3/2015) (Table 1).

### Immunohistochemistry

Paraffin blocks of specimens were collected, then cut into slices of 5 mm thickness, deparaffinised, rehydrated and then stained according to the general procedure for manual IHC/TL monoclonal mice antibody against CD44 type IgG1, kappa (Monoclonal Mouse Anti-Human CD44 Phagocytic Glycoprotein-1 Clone DF1485, 1 mL, Code M7082, DAKO, Glostrup, Denmark).

The antibody–antigen reactions primarily take place on the surface of the cell membrane. Macrophages, on which antigen–antibody reactions occur, were used as a quality control for staining. The reaction was evaluated by a pathologist as a percentage of positive cells per single high-power field.

### Statistical analysis

The data were analysed using SAS software (SAS Institute Inc., Cary, NC). The Spearman correlation coefficient was used to determine any dependence of the examined parameters. Selected relations were described by linear regression. An analysis of OS and DFI was performed by the Kaplan–Meier curves of survival. The difference between each group was tested by Log-Rank test and Wilcoxon's test. Multivariate analysis for OS and DFI was determined by the Cox regression model and the hazard ratio was evaluated. We looked for the CD44 expression positivity limit using the Cox regression model.

### Results

First, established prognostic factors of clinical outcome were evaluated. We confirmed statistically significant prognostic factors for OS and DFI stage of the disease (I, II × III, IV  $p = .0002$  for OS,  $p = .0001$  for DFI), postoperative residual tumour ( $p = .0003$  for OS,  $p = .0001$  for DFI), and papillary serous histological type ( $p = .0079$  for OS,  $p = .0013$  for DFI). Other factors – preoperative value of CA 125, tumour grade, and the age of the patient at the time of diagnosis were not statistically significant.

Then, we analysed CD44 expression in tumour and metastatic cells and established prognostic factors. A significant correlation between serous papillary carcinoma and CD44 expression in the primary tumour ( $p = .0493$ ) (Figure 1) and in metastatic tissue ( $p = .0049$ ) (Figure 2) was detected. No statistically significant correlation was found for CD44 expression and stage of the disease, postoperative residual tumour, grade, preoperative value of CA125, or the age of the patient at the time of diagnosis.

A statistically significant correlation between expression CD44 in primary tumour and in metastasis was found ( $p = .001$ , Spearman's correlation coefficient 0.59973).

The expression of CD44 in primary tumour and in metastasis was tested for OS and DFI. No statistically significant cut-off of the expression CD44 in primary tumour or in metastasis for OS was detected. No statistically significant cut-off of the expression CD44 in primary tumour for DFI was found, but we established 2% as a statistically significant cut-off for CD44 expression in metastatic tissue ( $p = .0029$ , Figure 3).

Finally, we performed multivariate analysis for OS and DFI. Statistically significant prognostic factors (stage of the disease, postoperative residual tumour and histological type) were taken for multivariate analysis of OS. The same prognostic factors and expression of CD44 in metastatic tissue were included for DFI. Stage of the disease ( $p = .0018$ ) and postoperative residual ( $p = .0046$ ) tumour were statistically significant for OS and DFI in multivariate analysis. CD44 expression was not statistically significant in multivariate analysis for OS and DFI.

### Discussion

CD44 has been studied as a prognostic factor for many cancers. Theoretically, CD44 expression as a CSCs marker should correlate with tumour progression, recurrence, and resistance to chemotherapy (Curley et al. 2011).

There are several methods of CD44 detection, however, IHC is the most frequently used method for its simplicity, reproducibility and cost-effectiveness. Zhang et al. (2013) used a semiquantitative evaluation of cell positivity (0% CD44 positive cells, up to 5%, 5–25%, 26–50%, above 50%). The classification used for statistical evaluation was negative (0% positive cells) or positive ( $\geq 1$  positive cells).

Pylvas-Eerola et al. (2016) categorised samples as negative if fewer than 5%, weakly positive if 5–50% and strongly positive if  $>50\%$  of the malignant cells showed positive immunostaining. Nuclei were considered to be positive if over 5% were immunopositive.

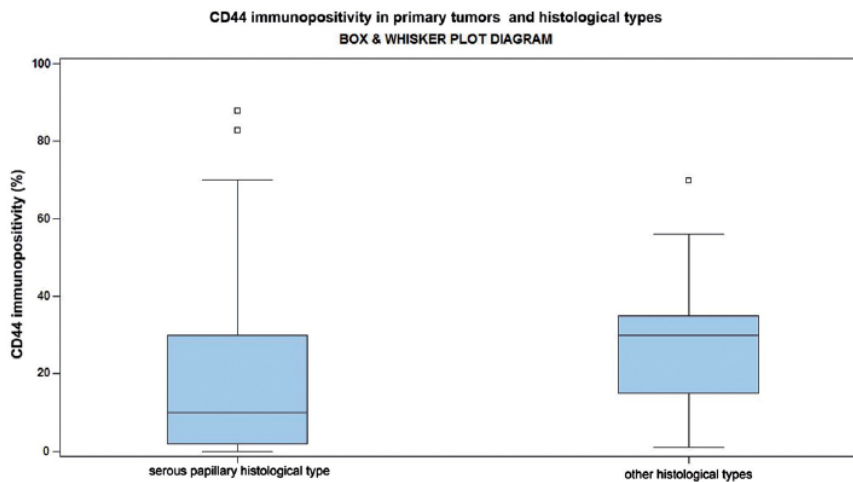


Figure 1. Statistically significant correlation between serous papillary carcinoma and CD44 expression in primary tumours.

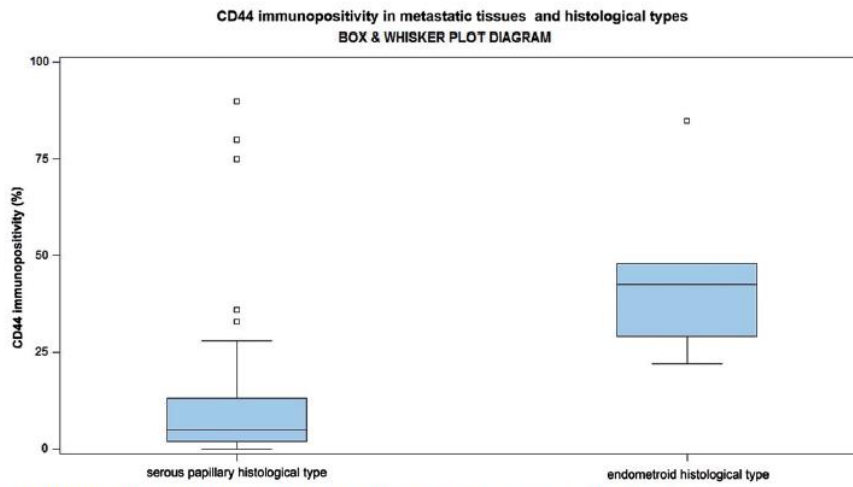


Figure 2. Statistically significant correlation between serous papillary carcinoma and CD44 expression in metastatic tissues.

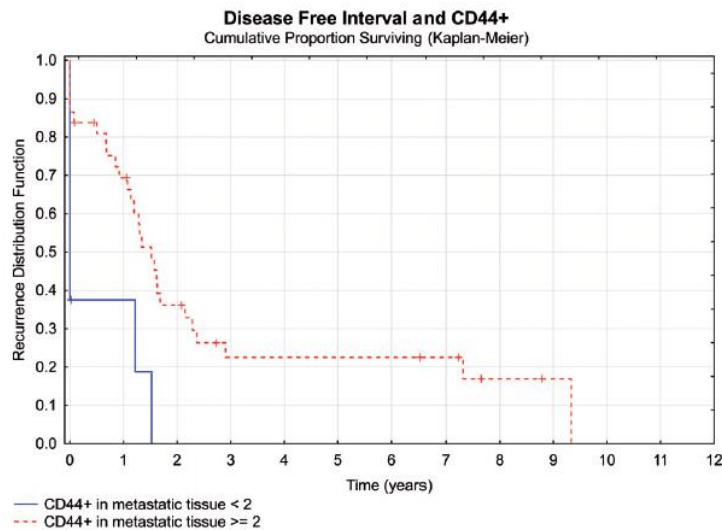


Figure 3. DFI of CD44 expression in metastatic tissue (cut-off 2% of immunopositive cells).

In our study, we evaluated the percentage of positive cells per single high-power field. The novelty of our study lies in looking for the cut-off using the Cox regression model.

Several factors are recognised as prognostic of clinical outcomes in patients with ovarian cancer. The International Federation of Gynecology and Obstetrics reported the most important prognostic factors to be stage of the disease, residual tumour after primary surgical cytoreduction (Winter et al. 2007) and histological type. In our study, we confirmed the statistically significant prognostic factors – stage of the disease, postoperative residual tumour and papillary serous

histological type – in accordance with the commentary of FIGO recommendations.

When analysing the established prognostic data and CD44 expression, a significant correlation between serous papillary carcinoma and CD44 expression in the primary tumour ( $p = .0493$ ) and in metastatic tissue ( $p = .0049$ ) was found. There were no statistically significant correlations between expression of CD44 and stage of the disease or residual tumour in our study. However, studies of CD44 expressions still provide conflicting results. A study by Zhang et al. (2013) demonstrated that expression of the standard form of CD44



correlates with advanced stage of disease and dedifferentiation of the tumour. However, according to a study by Sillanpaa et al. (2003) with 307 patients, CD44 expression is associated with a well-differentiated tumour with mucinous histology and with early stage tumour. According to our study, the low expression of CD44 in metastatic tissue is associated with a higher risk of recurrence. Bonneau et al. (2015) studied the immunohistochemical expression of CD44, ALDH1 and CD117 in EOC before and after chemotherapy. They confirm that a decrease in CD44 expression after chemotherapy was associated with poor OS.

Chemoresistance is an important issue during the treatment of ovarian cancer. It means that the disease is in progression or a diagnosis of recurrence is made within 6 months of the end of the treatment. According to our results, low expression of CD44 ( $\leq 2\%$ ) in metastasis is associated with chemoresistance. On the other hand, Pylvas-Eerola et al. (2016) investigated that CSCs overexpression of CD44 is associated with platinum resistance. In a study by Elzarkaa et al. (2016), CD44 expression contributes to carboplatin resistance in advanced serous EOC, but is not an independent predictor of recurrence. Different results are summarised in a review by Sacks and Barbolina (2015). Differences between studies could be attributed to technical factors, i.e. using of different clones of antibodies, different values of positivity. Another explanation could be that CD44 expression is not the only factor that contributes to the development of drug resistance. Indeed, many other pathways and factors contribute to the development of drug resistance in ovarian cancer (Bonneau et al. 2015). As already mentioned, CD44 is investigated as a biomarker of CSCs because it participates in many cellular processes – growth, differentiation and motility of cells. Nevertheless, CD44 is a polymorphic group of transmembrane glycoproteins. Variant isoforms are generated by alternative splicing and post-translational modifications (Garson and Vanderhyden 2015). Isoforms of CD44 v3~10 (Afify et al. 2001; Rodriguez-Rodriguez et al. 2003; Tjhay et al. 2015; Motohara et al. 2016; Sosulski et al. 2016) have been detected in ovarian cancer in addition to the standard CD44. The heterogeneous expression of CD44 could be the reason for the aforementioned different outcomes.

There are some other markers which are considered as CSCs in ovarian cancer, namely CD133, CD117, CD24 and ALDH 1. Some studies investigated combination of markers (Meng et al. 2012; Wang et al. 2012; Pylvas-Eerola et al. 2016). In conclusion, we demonstrated a statistically significant correlation between low CD44 expression and serous papillary carcinoma, tumour recurrence and chemoresistance at a value below 2%. CD44 is neither a prognostic factor of OS nor of DFI.

#### Disclosure statement

The authors report no conflicts of interest.

#### Funding

Specific student research grant of Charles University in Prague [260 279/2016].

#### References

- Afify AM, Ferguson AW, Davila RM, Werness BA. 2001. Expression of CD44S and CD44v5 is more common in stage III than in stage I serous ovarian carcinomas. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology* 9:309–314.
- Aruffo A, Stamenkovic I, Melnick M, Underhill CB, Seed B. 1990. CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. *Cell* 61:1303–1313.
- Bonneau C, Rouzier R, Geyl C, Cortez A, Castela M, Lis R, et al. 2015. Predictive markers of chemoresistance in advanced stages epithelial ovarian carcinoma. *Gynecologic Oncology* 136:112–120.
- Curley MD, Garrett LA, Schorge JO, Foster R, Rueda BR. 2011. Evidence for cancer stem cells contributing to the pathogenesis of ovarian cancer. *Frontiers in Bioscience* 16:368–392.
- Elzarkaa AA, Sabaa BE, Abdelkhalik D, Mansour H, Melis M, Shaalan W, et al. 2016. Clinical relevance of CD44 surface expression in advanced stage serous epithelial ovarian cancer: a prospective study. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 142:949–958.
- Garson K, Vanderhyden BC. 2015. Epithelial ovarian cancer stem cells: underlying complexity of a simple paradigm. *Reproduction (Cambridge, England)* 149:R59–R70.
- Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, et al. 1994. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 367:645–648.
- Meng E, Long B, Sullivan P, McClellan S, Finan MA, Reed E, et al. 2012. CD44+/CD24– ovarian cancer cells demonstrate cancer stem cell properties and correlate to survival. *Clinical & Experimental Metastasis* 29:939–948.
- Motohara T, Fujimoto K, Tayama S, Narantuya D, Sakaguchi I, Tashiro H, et al. 2016. CD44 variant 6 as a predictive biomarker for distant metastasis in patients with epithelial ovarian cancer. *Obstetrics and Gynecology* 127:1003–1011.
- Oberaigner W, Minicozzi P, Bielska-Lasota M, Allemanni C, De Angelis R, Mangone L, et al. 2012. Survival for ovarian cancer in Europe: the across-country variation did not shrink in the past decade. *Acta Oncologica* 51:441–453.
- Pylvas-Eerola M, Liakka A, Puistola U, Koivunen J, Karihtala P. 2016. Cancer stem cell properties as factors predictive of chemoresistance in neoadjuvantly-treated patients with ovarian cancer. *Anticancer Research* 36:3425–3431.
- Rodriguez-Rodriguez L, Sancho-Torres I, Mesonero C, Gibbon DG, Shih WJ, Zotalis G. 2003. The CD44 receptor is a molecular predictor of survival in ovarian cancer. *Medical Oncology (Northwood, London, England)* 20:255–263.
- Sacks JD, Barbolina MV. 2015. Expression and function of CD44 in epithelial ovarian carcinoma. *Biomolecules* 5:3051–3066.
- Sillanpaa S, Anttila MA, Voutilainen K, Tammi RH, Tammi MI, Saarikoski SV, et al. 2003. CD44 expression indicates favorable prognosis in epithelial ovarian cancer. *Clinical Cancer Research* 9:5318–5324.
- Sosulski A, Horn H, Zhang L, Coletti C, Vathipadiekal V, Castro CM, et al. 2016. CD44 splice variant v8–10 as a marker of serous ovarian cancer prognosis. *PLoS One* 11:e0156595.
- Tjhay F, Motohara T, Tayama S, Narantuya D, Fujimoto K, Guo J, et al. 2015. CD44 variant 6 is correlated with peritoneal dissemination and poor prognosis in patients with advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Science* 106:1421–1428.
- Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. 2015. Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 65:87–108.
- Wang YC, Yo YT, Lee HY, Liao YP, Chao TK, Su PH, et al. 2012. ALDH1-bright epithelial ovarian cancer cells are associated with CD44 expression, drug resistance, and poor clinical outcome. *The American Journal of Pathology* 180:1159–1169.
- Winter WE, 3rd, Maxwell GL, Tian C, Carlson JW, Ozols RF, Rose PG, et al. 2007. Prognostic factors for stage III epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. *Journal of Clinical Oncology* 25:3621–3627.
- Zhang J, Chang B, Liu J. 2013. CD44 standard form expression is correlated with high-grade and advanced-stage ovarian carcinoma but not prognosis. *Human Pathology* 44:1882–1889.

9. **PRESL, J., BOUDA, J., VLASAK, P., et al. Hereditary risk of ovarian cancer and its prophylactic measures. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2018, 10 p. 14-18.**

## Hereditární riziko ovariálního karcinomu a profylaktická opatření

Jiří Presl, Jiří Bouda, Pavel Vlasák, Jan Kostun, Denis Berezovskiy  
Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň

Korespondenční adresa: MUDr. Jiří Presl, Ph.D., Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň,  
alej Svobody 80, 304 60 Plzeň, tel.: +420 377 105 240, fax: +420 377 105 290,  
e-mail: jiri.presl77@gmail.com

Publikováno: 16. 4. 2018    Přijato: 12. 12. 2017    Akceptováno: 29. 3. 2018  
Actual Gyn 2018, 10, 14-18    ISSN 1803-9588    © 2018 Aprofema s.r.o.  
Článek lze stáhnout z [www.actualgyn.com](http://www.actualgyn.com)



Citujte tento článek jako: Presl J, Bouda J, Vlasák P, Kostun J, Berezovskiy D. Hereditární riziko ovariálního karcinomu a profylaktická opatření. Actual Gyn. 2018;10:14-18

### HEREDITARY RISK OF OVARIAN CANCER AND ITS PROPHYLACTIC MEASURES

#### Review article

#### Abstract

Ovarian cancer is a serious disease with high mortality. Sporadic carcinomas form the majority of the diagnosed cases. Hereditary forms, mainly due to mutation in BRCA genes, account for about 15 - 20% of cases. Each complex oncology center should have an outpatient system that would provide specialized follow-up programs, consultations and prophylactic surgical procedures were performed at the center.

**Key words:** ovarian cancer, BRCA mutation, prophylactic surgery

#### Přehledový článek

#### Abstrakt

Ovariální karcinom je závažné onemocnění s vysokou mortalitou. Sporadické karcinomy tvoří většinu z diagnostikovaných případů. Hereditární formy, podmíněné zejména mutací v BRCA genech, pak tvoří kolem 15 – 20 % případů. Každé komplexní onkologické centrum by mělo disponovat definovaným systémem odborných ambulancí, které by zajišťovaly specializované dispenzarizační programy, konzultační činnost a indikace profylaktických operačních výkonů.

**Klíčová slova:** ovariální karcinom, BRCA mutace, profylaktická operace

## Úvod

Ovariální karcinom je pátým nejčastějším nádorovým onemocněním u žen a je 4. nejčastější příčinou úmrtí na nádorové onemocnění. Podle nejaktuálnějších dat dostupných v registrech ÚZIS ČR bylo v roce 2015 zachyceno 19 nových případů na 100 000 žen, což v absolutních číslech znamená 1 023 nových případů karcinomu vaječniku a téměř 14 na 100 000 jich na toto onemocnění zemřelo (1). Za tímto čísly stojí zejména fakt, že téměř 75 – 80 % případů je diagnostikováno v pokročilém stadiu, tedy s velmi malou šancí na úplné vyléčení. Pětileté přežití je pak při maximálně vynaloženém léčebném úsilí kolem 30 – 40 % (2). Časná diagnostika je prakticky nemožná. Toto onemocnění zatím stále vzdoruje všem pokusům o vytvoření efektivního screeningového programu. U tří žen ze čtyř jde o high-grade nádor, který vzniká z prekursorů, jejichž detekce je v současnosti prakticky nemožná, a progresse onemocnění je velmi rychlá (3). Příznaky nádorového onemocnění vaječníků jsou nespecifické a ženy často vedou nejprve k praktickému lékaři či na interní oddělení pro zažívací potíže. V době, kdy přijde na řadu gynekologické vyšetření, je již nádor většinou generalizovaný a diagnóza je stanovena využitím obligatorních vyšetření – klinický obraz/klinické vyšetření, expertní ultrazvukové vyšetření, biopsie a eventuálně odběr sérových nádorových markerů. Následný léčebný management je dílem spolupráce onkogynekologa a onkologa, tedy kombinace radikální chirurgické léčby a chemoterapie. Řadou studií ověřené schéma primární či intervalové radikální operace, při které je dosaženo nulového pooperačního nádorového rezidua, a chemoterapie založené na platinovém derivátu a taxanu, je zlatým standardem léčby posledních desetiletí (2). Vzhledem k nemožnosti časně diagnostiky a chybní nových lékových strategií se zásadním vlivem na přežití, je stále větší pozornost věnována preventivním strategiím.

Ovariální karcinom a zejména jeho nejčastější histologická varianta, high-grade serózní karcinom, je onemocnění s velkou frekvencí genových mutací. V roce 2011 bylo popsáno, že až 96 % těchto nádorů nese mutaci v genu p53. Z tohoto výzkumu pochází i upřesnění role BRCA1/2 genů, resp. jejich mutací, v souvislosti s karcinomem vaječníků (4). Další studium etiopatogenetických cest vzniku těchto malignit postupně vedlo k uplatnění poznatků např. ve vývoji nových lékových strategií či formování názoru na profylaktické výkony a jejich rozsah.

První zmínka o ovariálním karcinomu, jakožto částečně „dědičném onemocnění“, pochází již z roku 1866 (5). V současnosti mluvíme o hereditárním ovariálním karcinomu nejčastěji v souvislosti se syndromem dědičného karcinomu prsu a vaječniku (HBOC – hereditary breast and ovarian cancer syndrome). Tento syndrom je nejčastěji asociován s mutacemi v BRCA1 či BRCA2 genu. BRCA1/2 mutace jsou odpovědné cca za 40 – 50 % všech HBOC. Kolem 10 % těchto dědičných nádorů jde pravděpodobně na vrub mutacím v genech TP53, PTEN, PALB2, CHEK2 a STK11. Ostatní připadají na dosud neznámé genetické varianty či vzácné případy (6). Asi 15 – 20 % serózních karcinomů ovaria má dědičný podklad. BRCA geny patří mezi tumor-supresorové geny s vysokou penetrací a hrají významnou roli v opravě dvouvláknových zlomů DNA, tzv. homologní rekombinaci. K poruchám in-

tegrity buněčné DNA dochází denně a můžeme je počítat na tisíce. Pokud nedojde k opravě, nastane buněčná smrt. Mutace BRCA1/2 genů mají v běžné populaci prevalenci 1 na 600 – 800 osob. Jedinci se zárodečnou mutací BRCA1/2 genů mají zvýšené riziko vzniku zejména karcinomu prsu a vaječniku. Celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu strmě stoupá od 20 let věku a dosahuje až 87 % bez ohledu na typ BRCA mutace. V běžné populaci s výskytem sporadického karcinomu prsu je toto riziko kolem 9 %. U karcinomu ovaria se liší riziko pro BRCA1 pozitivní pacientky, kde dosahuje 40 – 60 % a stoupá od 35 – 40 let věku, u BRCA2 pozitivních žen je 10 – 30 % a stoupá po 50. roce věku (7). V běžné populaci s výskytem sporadického karcinomu ovaria je toto riziko 1,8 %. Jedinci s mutací v BRCA genech jsou ale ohroženi i dalšími malignitami. Jedná se zejména o nádory slinivky břišní, kolorekta, žlučových cest, hrdla děložního a maligního melanomu, u mužů je navíc zvýšené riziko karcinomu prostaty.

Z výše uvedeného vyplývá nutnost specializované péče o nositelky zárodečných mutací BRCA genů. Každé onkogynekologické centrum by mělo disponovat ambulancí, která pečuje o tyto pacientky. Její náplní by měla být organizace spolupráce jednotlivých odborností (genetik, onkogynekolog, chirurg resp. plastický chirurg, onkolog, gastroenterolog, oční a kožní lékař a lékař kliniky zobrazovacích metod) a péče o pacientky s dědičnou dispozicí k nádorovému onemocnění. Zdravým či již nemocným ženám a dalším rodinným příslušníkům je nabízeno poradenství, genetické testování po konzultaci s genetikem a u pozitivně testovaných jedinců zařazení do sledovacích schémat a načasování profylaktických operací.

Preventivní gynekologické operace vycházejí ze základního předpokladu, že high-grade serózní karcinom vaječniku má svůj původ většinou ve tkáních epitelu vejcovodu. Až u 80 % BRCA pozitivních žen s high-grade serózním karcinomem je přítomna prekursorová léze STIC (serózní tubární intraepiteliální karcinom) v distální části vejcovodu (3).

Profylaktické výkony na prsech jsou pak další velkou kapitolou.

Po dosažení věku, kdy začíná strmě narůstat riziko vzniku nádorového onemocnění, nabývá téma preventivních operací na důležitosti. Pokud pacientka operaci z jakéhokoli důvodu odmítá, je nezbytné ji upozornit na strmě rostoucí riziko vzniku této závažné malignity a pokračovat v pravidelném sledování ultrazvukovým vyšetřováním a odběrem nádorových markerů (minimálně CA125, eventuálně spolu s HE4) každých 6 měsíců. Pacientka musí být upozorněna, že tyto vyšetřovací postupy však nezajišťují časnou detekci karcinomu vaječniku a tím pádem nepřispívají k redukci mortality na toto onemocnění. V současnosti panuje obecná shoda na načasování profylaktické gynekologické operace – u BRCA1 pozitivních žen je to mezi 35. až 40. rokem života po ukončení reprodukčních plánů, u BRCA2 pozitivních je možné odložit řešení mezi 45. až 50. rok. Nicméně, až u 34 % těchto žen vznikne karcinom prsu před 50. rokem života, a proto i tyto ženy (zejména BRCA2 pozitivní) mohou profitovat z profylaktické operace provedené mezi 35. až 40. rokem života pro redukci rizika vzniku karcinomu prsu (7,8). Prsní operace – zda vůbec, jaký rozsah, načasování – se v současnosti stále více diskutuje.

Při vlastním gynekologickém operačním řešení, které by mělo proběhnout v onkogynekologickém centru, je preferován laparoskopický přístup a minimální rozsah zákroku, pečlivá explorační peritoneálních povrchů dutiny břišní, lavage a oboustranná adnexektomie. Ligamentum suspensorium ovarii by mělo být přerušeno 2 cm od pólu ovaria. Je nezbytné se vyvarovat termickému poškození ovaria i distálních částí vejcovodů, což by mohlo znemožnit detekci okultních lézí (9). Vejcovody by měly být histopatologicky vyšetřeny technikou SEE-FIM (Sectioning and Extensively Examining the FIMbriated End) (10), právě z důvodu pátrání po již přítomné prekursorové lézi STIC či okultním karcinomu, který je možné najít až v 10 % případů (11). Pravděpodobnost okultního nálezu je větší u BRCA1 pozitivních pacientek ve srovnání s BRCA2 pozitivními (6 % vs. 4,2 %), zároveň u BRCA1 pozitivních lze tento nálezu očekávat v mladším věku. Zjištění malignity pak zásadně mění následný management. Benefit zjištění okultního nálezu ve srovnání s výkonem u symptomatické pacientky se odráží v 5letém přežití – 91,6 % vs. 54,4 %. BRCA1 pozitivní pacientka, která čeká s profylaktickým výkonem do 40 let věku, má riziko zjištění karcinomu vaječniku kolem 4 % (okultního při operaci či symptomatického kdykoli dříve), pokud čeká do 50 let, pak toto riziko vzroste na 14 % (12).

Problematika nálezu izolované léze STIC bez invazivní komponenty a její další management je kontroverzní. Neexistuje žádný guideline. Náhodný nálezu STIC léze u dosud geneticky netestované pacientky při výkonu z benigní indikace by měl vést k indikaci genetického testování a následnému follow-up expertním sonografistou s odběrem nádorových markerů CA125 a event. HE4 a gynekologickému vyšetření každých 6 měsíců (13,14). Tento follow-up je o to důležitější u již BRCA pozitivně testovaných žen s izolovaným nálezem STIC bez invazivní komponenty, kde někteří autoři udávají riziko vzniku následného primárního peritoneálního karcinomu až 4,5 % (15). Radikální operační řešení či chemoterapie nemají v řešení STIC zatím své místo. Otázku optimálního managementu má odpovědět například běžící Pelvic-Ovarian carcinoma INterception (POINT) projekt – registr založený ke sledování chování těchto prekursorových lézí resp. pacientek s tímto nálezem. Výsledky by měly vést k získání chybějících dat, a tak ideálně k vytvoření guidelines péče o tyto pacientky.

Otázkou zůstává, zda k preventivní oboustranné adnexektomii připojit v jedné době hysterektomii či nikoli. Pro tento výkon hovoří několik argumentů. Odstraníme riziko vzniku nádoru děložního hrdla, jsou odstraněny i intramurální části vejcovodů, u žen bez anamnézy karcinomu prsu je možné v rámci hormonální substituce užívat pouze estrogeny preparáty, v případě již přítomného karcinomu prsu a probíhající hormonální léčbě Tamoxifenem odpadá riziko karcinomu endometria a v neposlední řadě by mělo odstranění dělohy přispívat k redukci rizika primárního peritoneálního karcinomu. Objevují se práce, které poukazují na mírně zvýšené riziko vzniku serózního karcinomu endometria u BRCA nosiček. Vycházejí však z limitovaného počtu případů (16). Proti hysterektomii hovoří následující argumenty: hysterektomie není nikdy nabízena jako alternativa odběru cytologie či první volba při zhoršené cytologii, dochází k prodloužení vlastního operačního zákroku a pacientku vystavujeme riziku možných peri a pooperačních komplikací z rozsahu výkonu. Ženám po oboustranné adnexektomii, s ponechanou dělohou a bez anamnézy karcinomu prsu, je možné a dokonce vhodné, nabídnout užívání hormonální substituční estrogen-gestageny terapie do věku nástupu přirozené menopauzy, bez zvýšení rizika karcinomu prsu (17). Některé ženy špatně psychicky nesou odstranění zdravého orgánu, který je součástí jejich ženství. Indikace hysterektomie by tak měla vycházet z detailního poučení pacientky, jejího rozhodnutí a event. přidružených nálezu.

Profylaktická oboustranná adnexektomie vede ve svém důsledku až k 96% redukci rizika vzniku BRCA asociovaných gynekologických nádorových onemocnění. Přetrvává však malé riziko vzniku primárního peritoneálního karcinomu (3 – 4 %) (12,18-20). Původně uváděná až 50% redukce rizika karcinomu prsu po bilaterální ovariectomii u BRCA pozitivních pacientek byla v posledních letech několikrát zpochybněna. Nejprve velkou holandskou studií, která neprokázala žádnou redukci rizika karcinomu prsu po bilaterální adnexektomii ani u BRCA1 ani BRCA2 pozitivních žen (21) a v roce 2016 z velké prospektivní studie byl pozorován efekt bilaterální ovariectomie resp. adnexektomie na redukci rizika karcinomu prsu pouze u BRCA2 pozitivních žen do 50 let věku (8).

Pokud se na ovariální karcinom díváme jako na onemocnění, jehož etiopatogenetická cesta je u velké většiny pacientek započata v ampulární části vejcovodu (3), nabízí se otázka, zda by nebylo dostačující, provést v rámci profylaxe pouze bilaterální salpingektomii resp. salpingektomii v první době a dokončení profylaktické operace (ovarektomie případně s hysterektomii) ve druhé době. Vzhledem k věku, kdy bychom měli BRCA pozitivním pacientkám profylaktický výkon provádět, bychom tímto přístupem zamezili vzniku nežádoucích projevů předčasné menopauzy se všemi přímými (akutní, subakutní a chronický estrogen-deficitní syndrom) i nepřímými (sexuální život, fungující partnerský vztah atd.) důsledky. Tímto tématem se zabývala řada prací (22-25). V současné době ještě probíhají studie, které si kladou za cíl na tuto otázku odpovědět (Holandsko - NCT02321228 - TUBA, MD Anderson – USA - NCT01907789, Francie - NCT01608074).

V tuto chvíli nelze přijmout profylaktickou bilaterální salpingektomii jako standard péče o BRCA pozitivní pacientky. Problematická zůstává otázka již přítomného invazivního karcinomu, kdy riziko postižení vejcovodu a ovaria je 1:1. Riziko okultního karcinomu dosahuje 1,1 – 10 %. Ne všechny ovariální karcinomy, všechny histologické typy, mají svůj původ ve vejcovodu, a tedy tímto přístupem nedochází k tak významné redukci rizika jako při bilaterální adnexektomii. Zůstává nejednoznačně zodpovězená otázka možné předčasné menopauzy po bilaterální salpingektomii (26-28). V neposlední řadě, v případě ponechání ovarii, nedojde k redukci rizika karcinomu prsu – zejména u premenopauzálních BRCA2 pozitivních žen (8), byť byl tento efekt v poslední době zpochybněn.

Operačním výkonem péče o BRCA pozitivní pacientky v ambulanci gynekologa nekončí. Je nezbytné jim nadále věnovat zvýšenou pozornost. Pravidelné roční gynekologické kontroly by měly být doplněny expertním gynekologickým ultrazvukem pro trvalé riziko vzniku primárního peritoneálního karcinomu.

Takto rozsáhlá péče je finančně a časově náročná a je tedy poskytována výhradně pacientkám pozitivně testo-

**Tab. 1** Modifikovaná indikační kritéria (dle NCCN, National Comprehensive Cancer Guidelines, 2015, schválená Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP)

<b>Sporadické formy karcinomu vaječníku a prsu</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>epitelový karcinom ovaria/tuby/primární peritoneální karcinom v jakémkoliv věku</li> <li>triple negativní karcinom (receptory ER, PR a HER2 negativní) prsu do 60 let (medulární karcinomy prsu se téměř vždy shodují s TNBC)</li> <li>unilaterální karcinom prsu do 45 let (do 50 let pokud není známá vůbec rodinná anamnéza)</li> <li>dva samostatné primární karcinomy prsu, první do 50 let, nebo oba do 60 let (bilaterální nebo ipsilaterální/synchronní nebo metachronní)</li> <li>duplicita karcinomu prsu a slinivky v jakémkoliv věku</li> <li>karcinom prsu u muže v jakémkoliv věku</li> </ul>
<b>Familiární formy karcinomu vaječníku a prsu (karcinom ovaria, tuby nebo primární peritoneální v rodinné anamnéze je vždy indikací k testování)</b>
<b>3 příbuzní</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>alespoň 3 přímí příbuzní (včetně probandky) s karcinomem prsu v jakémkoliv věku</li> </ul>
<b>2 příbuzní</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>2 přímé příbuzné (včetně probandky) s karcinomem prsu, alespoň jedna diagnostikovaná ve věku pod 50 let, nebo obě do 60 let (empirické riziko karcinomu prsu je pro přímé příbuzné nad 20 %, tj. vysoké a doporučujeme MRI prsou)</li> <li>probandka s karcinomem prsu do 50 let s přímým příbuzným s nádorem spojeným s HBOC (především karcinom slinivky, prostaty)</li> </ul>
Prediktivní testování známé rodinné mutace u příbuzných od 18 let věku (ve zvláštních případech individuálně)
<i>TNBC - triple negativní karcinom prsu, HBOC - hereditární karcinom prsu a ovaria</i>

vaným či s vysokým rizikem plynoucím ze zatížené rodinné anamnézy. Ke genetické konzultaci je však možné odeslat každou ženu. Genetik poté indikuje testování u jedinců, kteří splňují modifikovaná indikační kritéria NCCN, schválená Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP 2015. Jedná se o všechny ženy se sporadickým karcinomem vaječníků, vejcovodů či primárním peritoneálním karcinomem, a dále pak ženy s karcinomem prsu, kde jsou kritéria blíže specifikována (**Tab. 1**) (29,30). Doporučení dále obsahuje kritéria pro familiární formy nádorových onemocnění se vztahem k BRCA mutacím (**Tab. 1**).

#### Závěr

S rostoucím počtem indikací ke genetickému testování (**Tab. 1**) přibývá pozitivně testovaných jedinců. S vědomím výše uvedených dat jsou ženy konfrontovány se svým rizikem vzniku nádorového onemocnění a možnými profylaktickými operačními přístupy. Klinický management těchto pacientek je komplexní a vyžaduje zamýšlení nad riziky na straně jedné a kvalitou života na straně druhé. Operační řešení je nevratný zásah, který s sebou nese možnou operační morbiditu, symptomy estrogen deficitního syndromu a problémy týkající se „osobního resp. tělesného obrazu ženy“. Většina studií se však nezabývá otázkou kvality života. Veškerá data jednoznačně ukazují, že profylaktická oboustranná adnexektomie je ve srovnání s dispenzarizací vysoce efektivní v redukci rizika ovarálního karcinomu u BRCA pozitivních žen. K poklesu incidence a mortality karcinomu vaječníku dochází jak u BRCA1, tak u BRCA2 pozitivních žen, i když významnější pokles je patrný u BRCA1 pozitivních nosiček.

#### Literatura

- Národní onkologický registr. Statistika 2015. Česká republika, Praha 2017

- Cibula D. Onkogynekologie. Praha: Grada Publishing, a.s.; 2009
- Kurman RJ, Shih Ie M. The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded. *Am J Pathol.* 2016;186(4):733-747
- Cancer Genome Atlas Research N. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature.* 2011;474(7353):609-615
- Broca PP. *Traite des tumeurs.* Paris: P. Asselin, 1866
- Castera L, Krieger S, Rousselin A, et al. Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes. *Eur J Hum Genet.* 2014;22(11):1305-1313
- King MC, Marks JH, Mandell JB, et al. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science.* 2003;302(5645):643-646
- Kotsopoulos J, Huzarski T, Gronwald J, et al. Bilateral Oophorectomy and Breast Cancer Risk in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *J Natl Cancer Inst.* 2017;109(1)
- Manchanda R, Silvano A, Abdelraheim A, et al. Diathermy-induced injury may affect detection of occult tubal lesions at risk-reducing salpingo-oophorectomy. *Int J Gynecol Cancer.* 2012;22(5):881-888
- Rabban JT, Krasik E, Chen LM, et al. Multistep level sections to detect occult fallopian tube carcinoma in risk-reducing salpingo-oophorectomies from women with BRCA mutations: implications for defining an optimal specimen dissection protocol. *Am J Surg Pathol.* 2009;33(12):1878-1885
- Li HX, Lu ZH, Shen K, et al. Advances in serous tubal intraepithelial carcinoma: correlation with high grade serous carcinoma and ovarian carcinogenesis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(3):848-857

12. Finch AP, Lubinski J, Moller P, et al. Impact of oophorectomy on cancer incidence and mortality in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. *J Clin Oncol.* 2014;32(15):1547-1553
13. Weinberger V, Bednarikova M, Cibula D, et al. Serous tubal intraepithelial carcinoma (STIC) - clinical impact and management. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2016;16(12):1311-1321
14. Powell CB, Swisher EM, Cass I, et al. Long term follow up of BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with unsuspected neoplasia identified at risk reducing salpingo-oophorectomy. *Gynecol Oncol.* 2013;129(2):364-371
15. Patrono MG, Iniesta MD, Malpica A, et al. Clinical outcomes in patients with isolated serous tubal intraepithelial carcinoma (STIC): A comprehensive review. *Gynecol Oncol.* 2015;139(3):568-572
16. Saule C, Mouret-Fourme E, Briaux A, et al. Risk of Serous Endometrial Carcinoma in Women With Pathogenic BRCA1/2 Variant After Risk-Reducing Salpingo-Oophorectomy. *J Natl Cancer Inst.* 2018;110(2)
17. Kotsopoulos J, Huzarski T, Gronwald J, et al. Hormone replacement therapy after menopause and risk of breast cancer in BRCA1 mutation carriers: a case-control study. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;155(2):365-373
18. Domchek SM, Friebel TM, Singer CF, et al. Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers with cancer risk and mortality. *JAMA.* 2010;304(9):967-975
19. Powell CB, Chen LM, McLennan J, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy (RRSO) in BRCA mutation carriers: experience with a consecutive series of 111 patients using a standardized surgical-pathological protocol. *Int J Gynecol Cancer.* 2011;21(5):846-851
20. Kauff ND, Domchek SM, Friebel TM, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of BRCA1- and BRCA2-associated breast and gynecologic cancer: a multicenter, prospective study. *J Clin Oncol.* 2008;26(8):1331-1337
21. Heemskerk-Gerritsen BA, Seynaeve C, van Asperen CJ, et al. Breast cancer risk after salpingo-oophorectomy in healthy BRCA1/2 mutation carriers: revisiting the evidence for risk reduction. *J Natl Cancer Inst.* 2015;107(5)
22. Schenberg T, Mitchell G. Prophylactic bilateral salpingectomy as a prevention strategy in women at high-risk of ovarian cancer: a mini-review. *Front Oncol.* 2014;4:21
23. Kwon JS, Tinker A, Pansegrau G, et al. Prophylactic salpingectomy and delayed oophorectomy as an alternative for BRCA mutation carriers. *Obstet Gynecol.* 2013;121(1):14-24
24. Polcher M, Hauptmann S, Fotopoulou C, et al. Opportunistic salpingectomies for the prevention of a high-grade serous carcinoma: a statement by the Kommission Ovar of the AGO. *Arch Gynecol Obstet.* 2015;292(1):231-234
25. Manchanda R, Abdelraheim A, Johnson M, et al. Outcome of risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA carriers and women of unknown mutation status. *BJOG.* 2011;118(7):814-824
26. Anderson RA, Nelson SM, Wallace WH. Measuring anti-Mullerian hormone for the assessment of ovarian reserve: when and for whom is it indicated? *Maturitas.* 2012;71(1):28-33
27. Morelli M, Venturella R, Mocciano R, et al. Prophylactic salpingectomy in premenopausal low-risk women for ovarian cancer: primum non nocere. *Gynecol Oncol.* 2013;129(3):448-451
28. Findley AD, Siedhoff MT, Hobbs KA, et al. Short-term effects of salpingectomy during laparoscopic hysterectomy on ovarian reserve: a pilot randomized controlled trial. *Fertil Steril.* 2013;100(6):1704-1708
29. Foretova L, Machackova E, Palacova M, et al. Doporučení rozšíření indikačních kritérií ke genetickému testování mutací v genech BRCA1 a BRCA2 u hereditárního syndromu nádorů prsu a ovarií. *Klin Onkol.* 2016;29 Suppl 1:S9-13
30. NCCN Guidelines Version 2.2015 [online]. Hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome. National Comprehensive Cancer Network. Available from: [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp)

**10. PRESL, J. Prevence ovariálního karcinomu v ordinaci gynekologa v souvislosti s detekcí mutace genu BRCA. Gyn Por. 2017, 1(4), p. 249-252.**



# Prevence ovariálního karcinomu v ordinaci gynekologa v souvislosti s detekcí mutace genu *BRCA*

**Presl J.**

Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň

## SOUHRN

Ovariální karcinom je závažné onemocnění s vysokou mortalitou. Časná diagnostika je prakticky nemožná. Funkční screeningový program neexistuje. Sporadické karcinomy tvoří většinu z diagnostikovaných případů. Hereditární formy, podmíněné zejména mutací genu *BRCA* (Breast CAncer), pak tvoří kolem 15 % případů. Nové léky, které by zasáhly do léčby tohoto závažného onemocnění, lze bohužel snadno spočítat. S jedním z nich, inhibitorem poly(adenozindifosfát-ribózo) polymerázy olaparibem, se zároveň otevírá rozsáhlá kapitola komplexní péče právě o nositelky zárodečných mutací genu *BRCA*. Každé komplexní onkologické centrum by mělo disponovat systémem ambulancí, které by zajišťovaly specializované dispenzarizační programy a v rámci centra se prováděly profylaktické operační výkony.

**Klíčová slova:** ovariální karcinom, mutace genu *BRCA*, inhibitory PARP

## SUMMARY

Ovarian cancer is a serious disease with high mortality. Early diagnosis is almost impossible. There is no functional screening program. Sporadic carcinomas form the majority of the diagnosed cases. Hereditary forms, mainly due to mutation in *BRCA* genes, account for about 15% of cases. New drugs that could have affected this serious disease can, unfortunately, easily be counted. With one of these, the PARP inhibitor olaparib, at the same time, one big chapter of complex care opens for the bearer of germline mutations in *BRCA* genes. Each complex oncology center should have an outpatient system that would provide specialized follow-up programs and prophylactic surgical procedures were performed at the center.

**Key words:** ovarian cancer, *BRCA* gene mutations, PARP inhibitors

## ÚVOD

Ovariální karcinom je pátou nejčastější malignitou u žen a řadí se na 4. místo v příčinách úmrtí na nádorové onemocnění. Podle posledních údajů Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR bylo v roce 2015 zachyceno 19 nových případů na 100 000 žen a téměř 14 na 100 000 jich na toto onemocnění zemřelo [1]. Za těmito čísly stojí zejména fakt, že téměř 75–80 % případů je diagnostikováno v pokročilém stadiu, tedy s velmi malou šancí na úplné vyléčení. Pětileté přežití je pak při maximálně vynaloženém léčebném úsilí kolem 30–40 % [2].

## NEEXISTUJÍCÍ SCREENING A MINIMUM NOVÝCH LÉČEBNÝCH MOŽNOSTÍ

Karcinom ovaria patří mezi onemocnění, u kterých je časná diagnostika prakticky nemožná. Toto onemocnění zatím stále vzdoruje všem pokusům o vytvoření účinného screeningového programu. Naším cílem je najít takový test či kombinaci metod, které zachytí onemocnění v časném stadiu, nejlépe stále omezené na ovaria, a kdy je tedy vysoká šance na vyléčení onemocnění a na redukci mortality. Dosud používané modalities, jako je gynekologické vyšetření, transvaginální ultrasonografické vyšetření či vyšetření sérových hodnot biomarkerů CA125 a HE4, prováděné samostatně či v kombinaci a s různými intervaly, zatím nepřinesly očekávané výsledky co do zlepšení přežití (populační

„screeningová“ studie UKCTOCS, „screening“ rizikových skupin UKFOCSS) [3,4]. U tří ze čtyř žen postižených karcinomem ovaria jde o high-grade nádor, který vzniká z prekursorů, jejichž detekce je v současnosti prakticky nemožná, a progresse onemocnění je velmi rychlá [5]. Příznaky nádorového onemocnění ovarii jsou nespecifické a ženy často vedou nejprve k praktickému lékaři či na interní oddělení z důvodů trávicích obtíží. V době, kdy přijde na řadu gynekologické vyšetření, je již nádor většinou generalizovaný a diagnózu tvoří klinický obraz, expertní ultrasonografické vyšetření, biopsie a eventuelně odběr sérových koncentrací nádorových markerů. Následný léčebný management je dílem spolupráce onkogynekologa a onkologa, tedy kombinace radikální chirurgické léčby a chemoterapie. Řadou studií ověřené schéma primární či intervalové radikální operace, při které je dosaženo nulového pooperačního nádorového rezidua, a chemoterapie založené na platinovém derivátu a taxanu, je zlatým standardem posledních desetiletí [2]. Nových léků, které by pozitivně ovlivnily léčbu a které máme k dispozici, není bohužel mnoho. Jednu takovou skupinu tvoří inhibitory poly(adenozindifosfát-ribózo) polymerázy (PARP). Olaparib byl prvním inhibitorem PARP, který byl ve Spojených státech amerických na základě klinických studií schválen americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) pro cílenou léčbu karcinomu ovaria. S ním se zároveň otevírá jed-

na rozsáhlá kapitola komplexní péče o nositelky zárodečných mutací genu *BRCA*.

#### TUMOR-SUPRESOROVÉ GENY *BRCA1/2*

Ovariální karcinom a zejména jeho nejčastější histologická varianta, high-grade serózní karcinom, je onemocnění s velkou frekvencí genových mutací. V roce 2011 bylo popsáno, že až 96 % těchto nádorů nese mutaci v genu *p53*. Z tohoto výzkumu pochází i upřesnění role genů *BRCA1/2*, resp. jejich mutací, v souvislosti s karcinomem ovarii [6]. Další studování etiopatogenetických cest vzniku těchto malignit postupně vedlo k uplatnění poznatků ve vývoji nových léčebných strategií.

První zmínka o ovariálním karcinomu, jakožto částečně „dědičném onemocnění“, pochází již z roku 1866 [7]. V současnosti víme, že 15–20 % serózních karcinomů ovaria má dědičný podklad. Uplynulo tedy dalších téměř 150 let, než jsme mohli porozumět těmto nádorům, z části podmíněným přítomností *BRCA*, jejich odpovědi na léčbu a klinickému chování [8–10].

Geny *BRCA* patří mezi tumor-supresorové geny s vysokou penetrací a hrají významnou roli v opravě dvouvláknových zlomů DNA, tzv. homologní rekombinaci. K poruchám integrity buněčné DNA dochází denně a můžeme je počítat na tisíce. Pokud nedojde k opravě, nastane buněčná smrt. Mutace genů *BRCA1/2* mají v běžné populaci prevalenci 1/600–800 osob. Jedinci se zárodečnou mutací genů *BRCA1/2* mají zvýšené riziko vzniku zejména karcinomu prsu a ovaria. Celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu strmě stoupá od 20 let věku a dosahuje až 87 % bez ohledu na typ mutace *BRCA*. V běžné populaci s výskytem sporadického karcinomu prsu je toto riziko kolem 9 %. U karcinomu ovaria se liší riziko pro pacientky pozitivní na mutaci *BRCA1*, kde dosahuje 40–60 % a stoupá od 35–40 let věku, u mutace *BRCA2*-pozitivních žen je riziko 10–30 % a stoupá po 50. roce věku [11]. V běžné populaci s výskytem sporadického karcinomu ovaria je toto riziko do 2 %. Jedinci s mutací genů *BRCA* jsou ale ohroženi i dalšími malignitami. Jedná se zejména o nádory slinivky břišní, kolorekta, žlučových cest a maligního melanomu, u mužů je navíc zvýšené riziko karcinomu prostaty.

Ve zdravých buňkách jsou *BRCA1/2* i PARP součástí reparačních mechanismů buňky určených k opravě poškozené DNA a k prevenci přenosu těchto chyb, které vznikají během růstu a dělení buněk. *BRCA* opravuje dvouvláknové zlomy homologní rekombinací, PARP jednovláknové zlomy excizí bází. V případě mutací *BRCA* u karcinomu ovaria a prsu jsou opravné mechanismy odkázány především na funkci PARP, a pokud ta je inhibována, dochází k potlačení schopnosti opravy DNA a následně podání chemoterapie má vyšší cytotoxický účinek [12].

#### NUTNOST SPECIALIZOVANÝCH AMBULANCÍ

Z výše uvedeného vyplývá nutnost specializované péče o nositelky zárodečných mutací genů *BRCA*. Každé onkogynologické centrum by mělo disponovat ambulancí, která pečuje o tyto pacientky. Ve Fakultní nemocnici v Plzni taková ambulance vznikla v polovině roku 2016. Její náplní je organizace spolupráce jednotlivých odborností a péče o pacientky s dědičnou dispozicí k nádorovému onemocnění. Zdravým i již nemocným ženám a dalším rodinným příslušníkům nabízíme poradenství, genetické testování po konzultaci s genetikem a u pozitivně testovaných jedinců zařazení do sledovacích schémat. V centru tak spolupracuje genetik, onkogynolog, chirurg, resp. plastický chirurg, onkolog, gastroenterolog, oční lékař a kožní lékař a lékař kliniky zobrazovacích metod. V rámci našeho onkogynologického pracoviště každá pacientka pravidelně (každých 6

měsíců) podstupuje expertní ultrasonografické vyšetření břicha a páne a odběr nádorových markerů (CA125). Běžná gynekologická péče je zajištěna ošetřujícím gynekologem. Pacientka je při první návštěvě poučena a vybavena informačním letákem, kde jsou kontakty na jednotlivá pracoviště a intervaly vyšetření. V rámci poučení je s každou pacientkou probírána rodinná a osobní anamnéza, je komplexně informována o problematice mutací *BRCA* a o možnosti profylaktických operačních zákroků. Obsah a frekvence kontrol je dána doporučením dispenzární péče o nositelky mutací *BRCA1/2* [13].

#### PROFYLAKTICKÉ OPERACE

Preventivní operace vycházejí ze základního předpokladu, že high-grade serózní karcinom ovaria má svůj původ většinou v tkáních epitelu vejcovodu. Až u 80 % *BRCA*-pozitivních žen s high-grade serózním karcinomem je přítomna prekurzorová léze serózního tubárního intraepiteliálního karcinomu (serous tubal intraepithelial carcinoma, STIC) v distální části vejcovodu [5].

Po dosažení věku, kdy začíná strmě narůstat riziko vzniku nádorového onemocnění, nabývá téma preventivních operací na důležitosti. V současnosti panuje obecná shoda na načasování profylaktické gynekologické operace – u *BRCA1*-pozitivních žen je to mezi 35. a 40. rokem života, u *BRCA2*-pozitivních žen je možné odložit řešení na období mezi 45. a 50. rokem věku. Nicméně až u 34 % těchto žen dojde k rozvoji karcinomu prsu před 50. rokem života, a proto i tyto ženy mohou významně profitovat z profylaktické operace provedené mezi 35. a 40. rokem života pro redukcii rizika rozvoje karcinomu prsu [11].

Při vlastním operačním řešení, které by mělo proběhnout v onkogynologickém centru, je preferován laparoskopický přístup a minimální rozsah zákroku je explorace dutiny břišní, lavage a oboustranná adnexektomie. Vejcovody by měly být histopatologicky vyšetřeny technikou SEE-FIM (Sectioning and Extensively Examining the FIMbriated End) [14], právě z důvodu pátrání po již přítomné prekurzorové lézi STIC či okultním karcinomu, který je možné najít až v 10 % případů [15]. Tento nálezkem pak zásadně mění následný management. Při operačním řešení je vhodné připojit rovněž hysterektomii, a to z několika důvodů. Odstraníme riziko vzniku nádoru děložního hrdla, jsou odstraněny i intramurální části vejcovodů, u žen bez anamnézy karcinomu prsu je možné v rámci hormonální substituce podávat pouze estrogenní přípravky, v případě již přítomného karcinomu prsu a probíhající hormonální léčbě tamoxifenem odpadá riziko rozvoje karcinomu endometria a v neposlední řadě by mělo odstranění dělohy přispívat k redukcii rizika primárního peritoneálního karcinomu. Proti hysterektomii hovoří argument prodloužení vlastního operačního zákroku a možné perioperační a pooperační komplikace z rozsahu výkonu. Některé ženy zároveň hůře psychicky nesou odstranění zdravého orgánu, který je součástí jejich ženství.

Profylaktická oboustranná adnexektomie vede ve svém důsledku až k 96% redukcii rizika vzniku gynekologických nádorových onemocnění asociovaných s mutací *BRCA*. Přetrvává však malé riziko vzniku primárního peritoneálního karcinomu (3–4 %). U *BRCA1*-pozitivních žen tento výkon vede rovněž k 53% redukcii rizika vzniku karcinomu prsu, u *BRCA2*-pozitivních pak až k 72% redukcii rizika [16,17].

Operačním výkonem péče o pacientky pozitivní na mutaci *BRCA* v ambulanci gynekologa nekončí. Je nezbytné jim nadále věnovat zvýšenou pozornost. Pravidelné roční gynekologické kontroly by měly být doplněny expertní gynekologickou ultrasonografií pro trvající riziko vzniku primárního peritoneálního karcinomu. Toto vyšetření však patří do rukou zku-

Tab. 1 Modifikovaná indikační kritéria (podle National Comprehensive Cancer Network Guidelines z roku 2015, schválená Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP)

Sporadické formy karcinomu ovaria a prsu
› Epitelový karcinom ovaria/tuby/primární peritoneální karcinom v jakémkoliv věku
› Triple-negativní karcinom (receptory ER, PR a HER2 negativní) prsu do 60 let věku (medulární karcinomy prsu se téměř vždy shodují s TNBC)
› Unilaterální karcinom prsu do 45 let věku (do 50 let věku, pokud není známa rodinná anamnéza)
› Dva samostatné primární karcinomy prsu, buď první do 50 let věku, nebo oba do 60 let věku (bilaterální nebo ipsilaterální/synchronní nebo metachronní)
› Duplicita karcinomu prsu a slinivky břišní v jakémkoliv věku
› Karcinom prsu u muže v jakémkoliv věku
Familiární formy karcinomu ovaria a prsu (karcinom ovaria, tuby nebo primární peritoneální karcinom v rodinné anamnéze je vždy indikací k testování)
<b>Tři příbuzní</b>
› Alespoň tři příímí příbuzní (včetně probandky) s karcinomem prsu v jakémkoliv věku
<b>Dva příbuzní</b>
› Dva příímí příbuzní (včetně probandky) s karcinomem prsu, alespoň u jedné diagnostikován ve věku pod 50 let věku, nebo u obou karcinomy do 60 let věku (empirické riziko karcinomu prsu je pro příímé příbuzné > 20 %, tj. vysoké, a doporučujeme magnetickou rezonancí prsů)
› Probandka s karcinomem prsu do 50 let věku s příímým příbuzným s nádorem spojeným s HBOC (především karcinom slinivky břišní a prostaty)
Prediktivní testování známé rodinné mutace u příbuzných od 18 let věku (ve zvláštních případech individuálně)

ER – estrogenový receptor; PR – progesterový receptor; HBOC – hereditární karcinom prsu a ovaria, hereditary breast and ovarian cancer; HER – receptor pro lidský epidermální růstový faktor, human epidermal growth factor receptor; TNBC – triple negativní karcinom prsu, triple-negative breast cancer

Zdroj: upraveno podle citací 18 a 19

šeného sonografisty v onkogynekologickém centru. Předčasně navozená menopauza vyžaduje často hormonální substituci a pravidelnou péči u praktického lékaře, zejména se zaměřením na krevní tlak a lipidogram. Kostní denzitometrie doplní škálu potřebných vyšetření rok po operaci a následně podle doporučení osteologa.

#### GENETICKÉ KONZULTACE, GENETICKÉ TESTOVÁNÍ

Takto rozsáhlá péče je finančně a časově náročná a je tedy poskytována výhradně pacientkám pozitivně testovaným či s vysokým rizikem plynoucím ze zatížené rodinné anamnézy. Ke genetické konzultaci je však možné odeslat každou ženu. Genetik poté indikuje testování u jedinců, kteří splňují modifikovaná indikační kritéria NCCN (National Comprehensive Cancer Network) schválená Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP v roce 2015. Jedná se o všechny ženy se sporadickým karcinomem

ovaria, vejcovodů či primárním peritoneálním karcinomem, a dále pak ženy s karcinomem prsu, kde jsou kritéria blíže specifikována (tab. 1) [18,19]. Doporučení dále obsahuje kritéria pro familiární flaky nádorových onemocnění se vztahem k mutacím genů BRCA (tab. 1).

#### ZÁVĚR

Jaké jsou tedy možnosti prevence ovariálního karcinomu v ordinaci gynekologa v souvislosti s detekcí mutace genu BRCA? Nejdůležitější je na tuto diagnózu nezapomenout. Pečlivá rodinná, osobní a gynekologická anamnéza spolu s komplexním gynekologickým vyšetřením jsou hlavními nástroji v ruce praktického gynekologa. Vědomí možnosti genetické konzultace, resp. genetického testování, a správné zacházení se zjištěnými výsledky jsou poté dalšími a prakticky jedinými možnostmi prevence tohoto závažného onemocnění.

#### LITERATURA

1. National Cancer Registry. Cancer Incidence 2015. Health Statistics. Czech republic, Prague 2017.
2. Cibula D. Onkogynekologie. Praha: Grada Publishing, 2009.
3. Jacobs IJ, Menon U, Ryan A, et al. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. Lancet 2016;387:945–956.
4. Rosenthal AN, Fraser LSM, Philpott S, et al. Evidence of stage shift in women diagnosed with ovarian cancer during phase II of the United Kingdom Familial Ovarian Cancer Screening Study. J Clin Oncol 2017;35:1411–1420.
5. Kurman RJ, Shih Ie M. The dualistic model of ovarian carcinogenesis: revisited, revised, and expanded. Am J Pathol 2016;186:733–747.

6. Cancer Genome Atlas Research N. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature* 2011;474:609–615.
7. Broca PP. *Traite des tumeurs*. Paris: P. Asselin, 1866.
8. Hall JM, Lee MK, Newman B, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 1990;250:1684–1689.
9. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994;266:66–71.
10. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12–13. *Science* 1994;265:2088–2090.
11. King MC, Marks JH, Mandell JB, New York Breast Cancer Study G. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 2003;302:643–646.
12. Weil MK, Chen AP. PARP inhibitor treatment in ovarian and breast cancer. *Curr Probl Cancer* 2011;35:7–50.
13. Zikan M. Gynecological care and prevention of gynecological malignancies in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Klin Onkol* 2016;29(Suppl 1):S22–30.
14. Rabban JT, Krasik E, Chen LM, et al. Multistep level sections to detect occult fallopian tube carcinoma in risk-reducing salpingo-oophorectomies from women with BRCA mutations: implications for defining an optimal specimen dissection protocol. *Am J Surg Pathol* 2009;33:1878–1885.
15. Li HX, Lu ZH, Shen K, et al. Advances in serous tubal intraepithelial carcinoma: correlation with high grade serous carcinoma and ovarian carcinogenesis. *Int J Clin Exp Pathol* 2014;7:848–857.
16. Heemskerk-Gerritsen BA, Seynaeve C, van Asperen CJ, et al. Breast cancer risk after salpingo-oophorectomy in healthy BRCA1/2 mutation carriers: revisiting the evidence for risk reduction. *J Natl Cancer Inst* 2015;107. pii: djv033.
17. Domchek SM, Friebel TM, Neuhausen SL, et al. Mortality after bilateral salpingo-oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a prospective cohort study. *Lancet Oncol* 2006;7:223–229.
18. Foretova L, Machackova E, Palacova M, et al. Recommended extension of indication criteria for genetic testing of BRCA1 and BRCA2 mutations in hereditary breast and ovarian cancer syndrome. *Klin Onkol* 2016; 29(Suppl 1):S9–13.
19. NCCN Guidelines Version 2.2015 [online]. Hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome. National Comprehensive Cancer Network. Available from: [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp).

MUDr. Jiří Presl, Ph.D.  
Gynekologicko-porodnická klinika  
LF UK a FN, Plzeň  
[preslj@fnplzen.cz](mailto:preslj@fnplzen.cz)

Doručeno do redakce: 4. 9. 2017  
Přijato po recenzi: 13. 9. 2017

**11. PRESL, J., BOUDA, J., VLASAK, P. et al. Ovariální karcinom – dědičná dispozice. Moderní gynekologie a porodnictví. 2018, 25(2), p. 163-170.**

## OVARIÁLNÍ KARCINOM – DĚDIČNÁ DISPOZICE

---

Jiří Presl, Jiří Bouda, Pavel Vlasák, Jan Kostun, Denis Berezovskiy

*Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň*

Ovariální karcinom je pátým nejčastějším nádorovým onemocněním u žen a 4. nejčastější příčinou úmrtí na nádorové onemocnění. Dle ÚZIS ČR bylo v roce 2015 zachyceno 19 nových případů na 100 000 žen, což v absolutních číslech znamená 1023 nových případů karcinomu vaječníku a téměř 14 na 100000 jich na toto onemocnění zemřelo<sup>(1)</sup>. Téměř 75–80 % případů je diagnostikováno v pokročilém stádiu, tedy s velmi malou šancí na úplné vyléčení. Pětileté přežití se pohybuje kolem 30–40 %<sup>(2)</sup>. Karcinom vaječníku patří mezi onemocnění, kde časná diagnostika je prakticky nemožná. Toto onemocnění zatím stále vzdoruje všem pokusům o vytvoření efektivního screeningového programu. Naším cílem je najít takový test či kombinaci metod, které zachytí onemocnění v časném stádiu, nejlépe stále omezené na vaječníky, a je tedy vysoká šance na jeho vyléčení a redukcí mortality. Dosud používané modality, jako je gynekologické vyšetření, transvaginální ultrazvuk či sérové biomarkery CA125 a HE4, prováděné samostatně či v kombinaci a s různými intervaly, zatím nepřinesly očekávané výsledky co do zlepšení přežití (populační „screeningová“ studie UKCTOCS, „screening“ rizikových skupin UKFOCSS)<sup>(3,4)</sup>. U 75 % žen je diagnostikován high-grade nádor, který vzniká z prekursorů, jejichž detekce je v současnosti prakticky nemožná, a progresse onemocnění je velmi rychlá<sup>(5)</sup>. Hlavní potíže, pro které jsou ženy prvně vyšetřeny lékařem již v době přítomného generalizovaného nádoru, jsou zažívací potíže, nechutenství. Dalším příznakem je zvětšování objemu břicha, a proto se tomuto onemocnění někdy říká „syndrom malé sukně“. V době, kdy přichází na řadu gynekologické vyšetření, je již nádor většinou generalizovaný. Mezi obligatorní diagnostické nástroje patří – klinický obraz / klinické vyšetření, expertní ultrazvukové vyšetření, biopsie a eventuálně odběr sérových nádorových markerů. Následný léčebný management je dílem spolupráce onkogynekologa a onkologa, tedy kombinace radikální chirurgické léčby a chemoterapie. Řadou studií ověřené schéma primární či intervalové radikální operace, při které je dosaženo nulového pooperačního nádorového rezidua, a chemoterapie založené na platinovém derivátu a taxanu, je zlatým standardem léčby posledních desetiletí<sup>(2)</sup>. Nové léky, které by zasáhly do léčby, lze, bohužel, snadno spočítat. Jednu takovou novou skupinu tvoří PARP inhibitory (poly-adenozindifosfát-ribózo-polymeráza). Olaparib byl prvním PARP inhibitorem, který byl v USA na základě klinických studií schválen FDA pro cílenou léčbu karcinomu ovaria. S ním se zároveň otevřela jedna rozsáhlá kapitola komplexní péče o nositelky zárodečných mutací BRCA genů. Vzhledem k nemožnosti časné diagnostiky a chybění nových lékových strategií se zásadním vlivem na přežití, je stále větší pozornost věnována preventivním strategiím.

Ovariální karcinom a zejména jeho nejčastější histologická varianta, high-grade serózní karcinom, je onemocnění s velkou frekvencí genových mutací. V roce 2011 bylo

popsáno, že až 96 % těchto nádorů nese mutaci v genu p53. Z tohoto výzkumu pochází i upřesnění role BRCA1/2 genů, resp. jejich mutací, v souvislosti s karcinomem vaječnicků jakožto částečně dědičným onemocněním<sup>(6)</sup>. V současnosti mluvíme o hereditárním ovariálním karcinomu nejčastěji v souvislosti se syndromem dědičného karcinomu prsu a vaječnicku (HBOC – hereditary breast and ovarian cancer syndrome). Tento syndrom je nejčastěji asociován s mutacemi v BRCA1 či BRCA2 genu. BRCA1/2 mutace jsou odpovědné cca za 40–50 % všech HBOC. Kolem 10 % těchto dědičných nádorů jde pravděpodobně na vrub mutacím v genech TP53, PTEN, PALB2, CHEK2 a STK11. Ostatní připadají na dosud neznámé genetické varianty či vzácné případy<sup>(7)</sup>. Cca 15–20 % serózních karcinomů ovaria má dědičný podklad.

Další studium etiopatogenetických cest vzniku této malignity postupně vedlo k uplatnění poznatků např. ve vývoji nových lékových strategií či formování názoru na profylaktické výkony a jejich rozsah.

BRCA geny patří mezi tumor-supresorové geny s vysokou penetrací a hrají významnou roli v opravě dvouvláknových zlomů DNA, tzv. homologní rekombinaci. K poruchám integrity buněčné DNA dochází denně a můžeme je počítat na tisíce. Pokud nedojde k opravě, nastane buněčná smrt. Mutace BRCA1/2 genů mají v běžné populaci prevalenci 1 na 600–800 osob. Jedinci se zárodečnou mutací BRCA1/2 genů mají zvýšené riziko vzniku zejména karcinomu prsu a vaječnicku. Celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu strmě stoupá od 20 let věku a dosahuje až 87 % bez ohledu na typ BRCA mutace. V běžné populaci s výskytem sporadického karcinomu prsu je toto riziko kolem 9 %. U karcinomu ovaria se liší riziko pro BRCA1 pozitivní pacientky, kde dosahuje 40–60 % a stoupá od 35–40 let věku, u BRCA2 pozitivních žen je 10–30 % a stoupá po 50. roce věku<sup>(8)</sup>. V běžné populaci s výskytem sporadického karcinomu ovaria je toto riziko 1,8 %. Jedinci s mutací v BRCA genech jsou ale ohroženi i dalšími malignitami. Jedná se zejména o nádory slinivky břišní, kolorekta, žlučových cest, hrdla děložního a maligního melanomu, u mužů je navíc zvýšené riziko karcinomu prostaty. Ve zdravých buňkách jsou BRCA1/2 i PARP součástí reparačních mechanismů buňky určených k opravě poškozené DNA a k prevenci přenosu těchto chyb, které vznikají během růstu a dělení buněk. BRCA opravuje dvouvláknové zlomy homologní rekombinací, PARP jednovláknové zlomy excizí bází. V případě BRCA mutací u karcinomu ovaria a prsu jsou opravné mechanismy odkázané především na funkci PARP, která, pokud je inhibována, vede k potlačení schopnosti opravy DNA a následné podání chemoterapie má vyšší cytotoxický účinek<sup>(9)</sup>.

Vzhledem ke zvýšenému riziku postižení celé řady orgánových soustav je nezbytná multioborová spolupráce. Každé komplexní onkologické centrum by mělo disponovat ambulancí, která pečuje o tyto pacientky. Její náplní by měla být organizace spolupráce jednotlivých odborností (genetik, onkogynekolog, chirurg, resp. plastický chirurg, onkolog, gastroenterolog, oční a kožní lékař a lékař kliniky zobrazovacích metod) a péče o pacientky s dědičnou dispozicí k nádorovému onemocnění. Zdravým či již nemocným ženám a dalším rodinným příslušníkům je zde nabízeno poradenství, genetické testování po konzultaci s genetikem a u pozitivně testovaných jedinců zařazení do sledovacích schémat a načasování profylaktických operací. Obsah a frekvence kontrol je dána

doporučením dispenzární péče o nositelky BRCA1/2 mutací<sup>(10)</sup>. V rámci onkogynekologických pracovišť každá pacientka pravidelně (à 4–6 měsíců) podstupuje expertní sonografické vyšetření břicha a pánve a odběr nádorových markerů (CA125 event. spolu s HE4). Běžná gynekologická péče je zajišťována ošetřujícím gynekologem. Jakákoli strategie však není, na rozdíl od hereditárního karcinomu prsu, alternativou k profylaktické chirurgii (adnexektomii). Pacientky musí být upozorněny, že tyto vyšetřovací postupy nezajišťují časnou detekci karcinomu vaječníku, a tím pádem nepřispívají k redukci mortality na toto onemocnění.

Preventivní gynekologické operace vycházejí ze základního předpokladu, že high-grade serózní karcinom vaječníku má svůj původ většinou ve tkáních epitelu vejcovodu. Až u 80 % BRCA pozitivních žen s high-grade serózním karcinomem je přítomna prekurzorová léze STIC (serózní tubární intraepiteliální karcinom) v distální části vejcovodu<sup>(5)</sup>.

Po dosažení věku, kdy začíná strmě narůstat riziko vzniku nádorového onemocnění, nabývá téma preventivních operací na důležitosti. V současnosti panuje obecná shoda na načasování profylaktické gynekologické operace – u BRCA1 pozitivních žen je to mezi 35. až 40. rokem života po ukončení reprodukčních plánů, u BRCA2 pozitivních je možné odložit řešení mezi 45. až 50. rok. Nicméně, až u 34 % těchto žen vznikne karcinom prsu před 50. rokem života, a proto i tyto ženy (zejména BRCA2 pozitivní) mohou profitovat z profylaktické operace provedené mezi 35. až 40. rokem života pro redukci rizika vzniku karcinomu prsu<sup>(8,11)</sup>.

Při vlastním gynekologickém operačním řešení, které by mělo proběhnout v onkogynekologickém centru, je preferován laparoskopický přístup a minimální rozsah zákroku je pečlivá explorační peritoneálních povrchů dutiny břišní, laváž a oboustranná adnexektomie. Ligamentum suspensorium ovarii by mělo být přerušeno 2 cm od pólu ovaria. Je nezbytné se vyvarovat termického poškození ovaria i distálních částí vejcovodů, což by mohlo znemožnit detekci okultních lézí<sup>(12)</sup>. Vejcovody by měly být histopatologicky vyšetřeny technikou SEE-FIM (Sectioning and Extensively Examining the FIMbriated End)<sup>(13)</sup>, právě z důvodu pátrání po již přítomné prekurzorové lézi STIC či okultním karcinomem, který je možné najít až v 10 % případů<sup>(14)</sup>. Pravděpodobnost okultního nálezu je větší u BRCA1 pozitivních pacientek ve srovnání s BRCA2 pozitivními (6 % vs. 4,2 %), zároveň u BRCA1 pozitivních lze tento nálezu očekávat v mladším věku. Zjištění malignity pak zásadně mění následný management. Benefit zjištění okultního nálezu ve srovnání s výkonem u symptomatizující pacientky se odráží v 5letém přežití – 1,6 % vs. 54,4 %. BRCA1 pozitivní pacientka, která čeká s profylaktickým výkonem do 40 let věku, má riziko zjištění karcinomu vaječníku kolem 4 % (okultního při operaci či symptomatizujícího kdykoli dříve), pokud čeká do 50 let, pak toto riziko vzroste na 14 %<sup>(15)</sup>.

Kontroverzním tématem co do dalšího managementu je nálezu izolované léze STIC bez invazivní komponenty. V současnosti neexistuje žádný konsensuální guideline. Pokud provádíme gynekologický operační výkon z „benigní indikace“ u dosud geneticky netestované ženy a jako náhodný nálezu je patologem ve vejcovodu popsán STIC, měl by tento nálezu vést k indikaci genetického testování a následnému sledování expertním



sonografistou s odběrem nádorových markerů CA125 a event. HE4 a gynekologickému vyšetření každých 4–6 měsíců<sup>(16,17)</sup>. Tento follow-up je o to důležitější u již BRCA pozitivně testovaných žen s izolovaným nálezem STIC bez invazivní komponenty, kde někteří autoři udávají riziko vzniku následného primárního peritoneálního karcinomu až 4,5 %<sup>(18)</sup>. Dokončení stagingového radikálního výkonu či podání chemoterapie nemají v řešení STIC zatím své místo. Otázkou optimálního managementu má odpovědět například běžící Pelvic-Ovarian carcinoma INTerception (POINT) projekt – registr založený ke sledování chování těchto prekursorových lézí, resp. pacientek s tímto nálezem. Výsledky by měly vést k získání chybějících dat, a tak ideálně k vytvoření guidelines péče o tyto pacientky.

U nosiček mutace genu BRCA1/2 neexistuje dosud jasný postoj k provádění profylaktické hysterektomie v jedné době spolu s profylaktickou oboustrannou adnexektomií. Pro tento výkon hovoří několik argumentů. Odstraníme riziko vzniku nádoru děložního hrdla, jsou odstraněny i intramurální části vejcovodů, byť vznik karcinomu v této části vejcovodu nebyl dosud u nosiček BRCA mutací popsán, u žen bez anamnézy karcinomu prsu je možné v rámci hormonální substituce užívat pouze estrogení preparáty s nízkým rizikem vzniku prsní patologie, v případě již přítomného karcinomu prsu a probíhající hormonální léčby Tamoxifenem či při užívání Tamoxifenu v rámci chemoprevence u BRCA2 pozitivních žen odpadá riziko karcinomu endometria a v neposlední řadě by mělo odstranění dělohy přispívat k redukcí rizika primárního peritoneálního karcinomu. Tímto tématem se dosud zabývala jediná kanadská práce, uvádějící redukcí rizika na 0,5 % ve srovnání se 4 % rizikem při ponechání dělohy. Dále se objevují práce, které poukazují na mírně zvýšené riziko vzniku serózního karcinomu endometria u BRCA nosiček. Vycházejí však z limitovaného počtu případů<sup>(19)</sup>. Tento fakt by tak hovořil jednoznačně ve prospěch odstranění dělohy.

Proti hysterektomii hovoří následující argumenty: dochází k prodloužení vlastního operačního zákroku a pacientku vystavujeme riziku možných peri a pooperačních komplikací z rozsahu výkonu, hysterektomie není nikdy nabízena jako alternativa odběru cytologie či první volba při zhoršené cytologii. Ženám po oboustranné adnexektomii, s ponechanou dělohou a bez anamnézy karcinomu prsu, je možné, a dokonce vhodné nabídnout užívání hormonální substituční estrogen-gestagení terapie do věku nástupu přirozené menopauzy, bez zvýšení rizika karcinomu prsu<sup>(20)</sup>. Děloha bývá pro některé ženy symbolem ženství, a tak některé ženy špatně psychicky nesou odstranění zdravého orgánu. Indikace hysterektomie by tak měla vycházet z detailního poučení pacientky, jejího rozhodnutí a event. přidružených nálezů.

Provedení základní profylaktické operace, oboustranné adnexektomie, vede ve svém důsledku až k 96% redukcí rizika vzniku BRCA asociovaných gynekologických nádorových onemocnění. Přetrvává však malé riziko (3–4 %) vzniku primárního peritoneálního karcinomu<sup>(15,21-23)</sup>. Původně uváděná až 50% redukce rizika karcinomu prsu po bilaterální ovariectomii u BRCA pozitivních pacientek byla v posledních letech několikrát zpochybněna.

Heemskerk-Gerritsen et al. neprokázali žádnou redukcí rizika karcinomu prsu po bilaterální adnexektomii ani u BRCA1, ani BRCA2 pozitivních žen<sup>(24)</sup>. V roce 2016

Kotsopoulos et al. popsali na základě výsledků velké prospektivní studie efekt bilaterální ovariectomie, resp. adnexectomie na redukcí rizika karcinomu prsu pouze u BRCA2 pozitivních žen do 50 let věku<sup>(11)</sup>.

Nový dualistický model ovariální kancerogeneze přinesl do problematiky ovariálního karcinomu revoluci. Pokud se na ovariální karcinom podíváme jako na onemocnění, jehož etiopatogenetická cesta je u velké většiny pacientek započata v ampulární části vejcovodu<sup>(5)</sup>, nabízí se otázka, zda by nebylo dostačující provést v rámci profylaxe pouze bilaterální salpingektomii, resp. salpingektomii v první době po dokončení reprodukčních plánů ženy a profylaktickou operaci (ovarektomii případně s hysterektomií) dokončit ve druhé době ve věku 40–45 let. Ačkoli se tento postup zdá jako racionální s ohledem na aktuální poznatky na poli etiopatogeneze ovariálního karcinomu, nemáme dosud k dispozici data, která by prokázala stejnou míru snížení rizika, tedy stejnou bezpečnost, jako provedení oboustranné adnexectomie v jedné době<sup>(25)</sup>. Ne všechny ovariální karcinomy, všechny histologické typy, mají svůj původ ve vejcovodu, a tedy tímto přístupem nedochází k tak významné redukcí rizika jako při bilaterální adnexectomii. Vzhledem k věku, kdy bychom měli BRCA pozitivním pacientkám profylaktický výkon provádět, bychom však tímto přístupem zamezili vzniku nežádoucích projevů předčasné menopauzy se všemi přímými (akutní, subakutní a chronický estrogen-deficitní syndrom) i nepřímými (sexuální život, fungující partnerský vztah atd.) důsledky. V současné době probíhají studie, které si kladou za cíl na tuto otázku lépe odpovědět (Holandsko – NCT02321228 – TUBA, MD Anderson – USA – NCT01907789, Francie – NCT01608074). V tuto chvíli tedy nelze přijmout profylaktickou bilaterální salpingektomii jako standard péče o BRCA pozitivní pacientky. Problematická zůstává otázka již přítomného invazivního karcinomu, kdy riziko postižení vejcovodu a ovaria je 1 : 1. Riziko okultního karcinomu dosahuje 1,1–10 %. Zatím zůstává nejednoznačně zodpovězená i otázka možné předčasné menopauzy po bilaterální salpingektomii<sup>(26–28)</sup>. V neposlední řadě, v případě ponechání ovaríí nedojde k redukcí rizika karcinomu prsu – zejména u premenopauzálních BRCA2 pozitivních žen<sup>(11)</sup>, byť byl tento efekt v poslední době zpochybněn.

Operačním výkonem péče o BRCA pozitivní pacientky v ambulanci gynekologa nekončí. Je nezbytné jim nadále věnovat zvýšenou pozornost. Pravidelné roční gynekologické kontroly by měly být doplněny expertním gynekologickým ultrazvukem pro trvající riziko vzniku primárního peritoneálního karcinomu.

Takto rozsáhlá péče je časově a finančně náročná, a je tedy poskytována výhradně pacientkám pozitivně testovaným či s vysokým rizikem plynoucím ze zatížené rodinné anamnézy. Ke genetické konzultaci je však možné odeslat každou ženu, u které je jakkoli zatížená rodinná anamnéza a pacientka se obává vzniku nádorového onemocnění. Genetik poté indikuje testování u jedinců, kteří splňují modifikovaná indikační kritéria NCCN, schválená Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP 2015 (**tabulka 1**)<sup>(29,30)</sup>. Toto doporučení dále obsahuje kritéria pro familiární formy nádorových onemocnění se vztahem k BRCA mutacím (**tabulka 1**).

**Tabulka 1. Modifikovaná indikační kritéria (dle NCCN, National Comprehensive Cancer Guidelines, 2015, schválená Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP).**

<b>Sporadické formy karcinomu vaječníku a prsu</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• epitelový karcinom ovaria / tuby / primární peritoneální karcinom v jakémkoliv věku</li> <li>• triple negativní karcinom (receptory ER, PR a HER2 negativní) prsu do 60 let (medulární karcinomy prsu se téměř vždy shodují s TNBC)</li> <li>• unilaterální karcinom prsu do 45 let (do 50 let, pokud není vůbec známá rodinná anamnéza)</li> <li>• dva samostatné primární karcinomy prsu, první do 50 let, nebo oba do 60 let (bilaterální nebo ipsilaterální / synchronní nebo metachronní)</li> <li>• duplicita karcinomu prsu a slinivky v jakémkoliv věku</li> <li>• karcinom prsu u muže v jakémkoliv věku</li> </ul>
<b>Familiární formy karcinomu vaječníku a prsu (karcinom ovaria, tuby nebo primární peritoneální v rodinné anamnéze je vždy indikací k testování)</b>
<b>3 příbuzní</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• alespoň 3 přímí příbuzní (včetně probandky) s karcinomem prsu v jakémkoliv věku</li> </ul>
<b>2 příbuzní</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 přímé příbuzné (včetně probandky) s karcinomem prsu, alespoň jedna diagnostikována ve věku pod 50 let nebo obě do 60 let (empirické riziko karcinomu prsu je pro přímé příbuzné nad 20 %, tj. vysoké, a doporučujeme MRI prsou)</li> <li>• probandka s karcinomem prsu do 50 let s přímým příbuzným s nádorem spojeným s HBOC (především karcinom slinivky, prostaty)</li> </ul>
Prediktivní testování známé rodinné mutace u příbuzných od 18 let věku (ve zvláštních případech individuálně)
TNBC – triple negativní karcinom prsu, HBOC – hereditární karcinom prsu a ovaria

Výsledek rutinního testování germinální mutace BRCA lze očekávat cca za 6 měsíců. V případě potřeby je v urgentním režimu možno výsledky obdržet již za 4 týdny. Cena genetikem indikovaného vyšetření se v současnosti pohybuje kolem 30 tisíc Kč a je plně hrazeno zdravotní pojišťovnou.

Pozitivně testovaných pacientek přibývá. Tyto ženy jsou konfrontovány se svým rizikem vzniku nádorového onemocnění a možnými profylaktickými operačními přístupy. Klinický management musí být vždy komplexní a vyžaduje zamýšlení nad riziky na straně jedné a kvalitou života na straně druhé. Již sama frekvence kontrol a počet vyšetření s ohledem na participující obory v ženách vzbuzuje obavy a napětí z očekávání výsledku vyšetření. Následné operační řešení je nevratný zásah, který sebou nese možnou operační morbiditu, symptomy estrogen deficitního syndromu a problémy týkající se „osobního, resp. tělesného obrazu ženy“. Naší úlohou je být trpěliví, a hlavně s ženami mluvit a vysvětlovat. Jen tak jim můžeme pomoci překonat obavy a vyrovnat se s realitou zjištěné dědičné dispozice k nádorovému onemocnění.

**Literatura:**

1. Národní onkologický registr 2015. Zdravotnická statistika, ÚZIS ČR 2017.
2. Cibula D. Onkogynekologie. Praha: Grada Publishing, a. s.; 2009.
3. Jacobs IJ, Menon U, Ryan A, et al. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. *Lancet* 2016; 387(10022): 945-956.
4. Rosenthal AN, Fraser LSM, Philpott S, et al. Evidence of Stage Shift in Women Diagnosed With Ovarian Cancer During Phase II of the United Kingdom Familial Ovarian Cancer Screening Study. *J Clin Oncol* 2017; 35(13): 1411-1420.
5. Kurman RJ, Shih Ie M. The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded. *Am J Pathol* 2016; 186(4): 733-747.
6. Cancer Genome Atlas Research N. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature* 2011; 474(7353): 609-615.
7. Castera L, Krieger S, Rousselin A, et al. Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes. *Eur J Hum Genet* 2014; 22(11): 1305-1313.
8. King MC, Marks JH, Mandell JB, et al. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 2003; 302(5645): 643-646.
9. Weil MK, Chen AP. PARP inhibitor treatment in ovarian and breast cancer. *Curr Probl Cancer* 2011; 35(1): 7-50.
10. Zikan M. [Gynecological Care and Prevention of Gynecological Malignancies in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers]. *Klin Onkol* 2016; 29(Suppl 1): S22-30.
11. Kotsopoulos J, Huzarski T, Gronwald J, et al. Bilateral Oophorectomy and Breast Cancer Risk in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *J Natl Cancer Inst* 2017; 109(1): pii: djw177.
12. Manchanda R, Silvanto A, Abdelraheim A, et al. Diathermy-induced injury may affect detection of occult tubal lesions at risk-reducing salpingo-oophorectomy. *Int J Gynecol Cancer* 2012; 22(5): 881-888.
13. Rabban JT, Krasik E, Chen LM, et al. Multistep level sections to detect occult fallopian tube carcinoma in risk-reducing salpingo-oophorectomies from women with BRCA mutations: implications for defining an optimal specimen dissection protocol. *Am J Surg Pathol* 2009; 33(12): 1878-1885.
14. Li HX, Lu ZH, Shen K, et al. Advances in serous tubal intraepithelial carcinoma: correlation with high grade serous carcinoma and ovarian carcinogenesis. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(3): 848-857.
15. Finch AP, Lubinski J, Moller P, et al. Impact of oophorectomy on cancer incidence and mortality in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. *J Clin Oncol* 2014; 32(15): 1547-1553.
16. Weinberger V, Bednarikova M, Cibula D, et al. Serous tubal intraepithelial carcinoma (STIC) - clinical impact and management. *Expert Rev Anticancer Ther* 2016; 16(12): 1311-1321.
17. Powell CB, Swisher EM, Cass I, et al. Long term follow up of BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with unsuspected neoplasia identified at risk reducing salpingo-oophorectomy. *Gynecol Oncol* 2013; 129(2): 364-371.
18. Patrono MG, Iniesta MD, Malpica A, et al. Clinical outcomes in patients with isolated serous tubal intraepithelial carcinoma (STIC): A comprehensive review. *Gynecol Oncol* 2015; 139(3): 568-572.
19. Saule C, Mouret-Fourme E, Briaux A, et al. Risk of Serous Endometrial Carcinoma in Women With Pathogenic BRCA1/2 Variant After Risk-Reducing Salpingo-Oophorectomy. *J Natl Cancer Inst* 2018; 110(2). doi: 10.1093/jnci/djx159
20. Kotsopoulos J, Huzarski T, Gronwald J, et al. Hormone replacement therapy after menopause and risk of breast cancer in BRCA1 mutation carriers: a case-control study. *Breast Cancer Res Treat* 2016; 155(2): 365-373.
21. Domchek SM, Friebel TM, Singer CF, et al. Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers with cancer risk and mortality. *JAMA* 2010; 304(9): 967-975.

22. Powell CB, Chen LM, McLennan J, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy (RRSO) in BRCA mutation carriers: experience with a consecutive series of 111 patients using a standardized surgical-pathological protocol. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21(5): 846-851.
23. Kauff ND, Domchek SM, Friebel TM, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of BRCA1- and BRCA2-associated breast and gynecologic cancer: a multicenter, prospective study. *J Clin Oncol* 2008; 26(8): 1331-1337.
24. Heemskerk-Gerritsen BA, Seynaeve C, van Asperen CJ, et al. Breast cancer risk after salpingo-oophorectomy in healthy BRCA1/2 mutation carriers: revisiting the evidence for risk reduction. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107(5). pii: djv033.
25. Falconer H, Yin L, Gronberg H, et al. Ovarian cancer risk after salpingectomy: a nationwide population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107(2). pii: dju410.
26. Anderson RA, Nelson SM, Wallace WH. Measuring anti-Mullerian hormone for the assessment of ovarian reserve: when and for whom is it indicated? *Maturitas* 2012; 71(1): 28-33.
27. Morelli M, Venturella R, Mocciano R, et al. Prophylactic salpingectomy in premenopausal low-risk women for ovarian cancer: primum non nocere. *Gynecol Oncol* 2013; 129(3): 448-451
28. Findley AD, Siedhoff MT, Hobbs KA, et al. Short-term effects of salpingectomy during laparoscopic hysterectomy on ovarian reserve: a pilot randomized controlled trial. *Fertil Steril* 2013; 100(6): 1704-1708.
29. Foretova L, Machackova E, Palacova M, et al. [Recommended Extension of Indication Criteria for Genetic Testing of BRCA1 and BRCA2 Mutations in Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome]. *Klin Onkol* 2016; 29(Suppl 1): S9-13.
30. NCCN Guidelines Version 2.2015 [online]. Hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome. National Comprehensive Cancer Network. Available from: [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp)

---

**MUDr. Jiří Presl, Ph.D.**

**doc. MUDr. Jiří Bouda, Ph.D.**

**MUDr. Pavel Vlasák**

**MUDr. Jan Kostun**

**MUDr. Denis Berezovskiy**

Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň

e-mail: [jiri.presl77@gmail.com](mailto:jiri.presl77@gmail.com)

- 12. ŠUBRT, I., PRESL, J., SVOBODA, T. Možnosti a následné souvislosti vyplývající z genetického testování pacientek s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu a ovaria vlivem mutace BRCA1 a BRCA2. Onkologie (Czech Republic). 2015, 9 (2), p. 58-64.**

## Možnosti a následné souvislosti vyplývající z genetického testování pacientek s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu a ovaria vlivem mutace BRCA1 a BRCA2

Ivan Šubrt<sup>1</sup>, Jiří Presl<sup>2</sup>, Tomáš Svoboda<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ústav lékařské genetiky FN Plzeň

<sup>2</sup>Gynekologicko-porodnická klinika FN Plzeň

<sup>3</sup>Onkologická a radioterapeutická klinika FN Plzeň

Přestože je výskyt BRCA pozitivita v populaci dlouhodobě stabilní, je význam tohoto nálezu především u žen stále častěji diskutován. Důvodem je velmi vysoké celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu a ovaria. Postižení pacienti musejí být pečlivě sledováni onkology a gynekology a naopak při podezření na možnost hereditárně podmíněného tumoru je nutné doplnit genetické vyšetření k určení možné přítomnosti mutace BRCA. Je však důležité neredukovat tento problém pouze na otázku profylaktické oboustranné mastektomie. Pro karcinom prsu i v této situaci lze využít modifikovaného screeningového programu a prognóza i léčba tohoto onemocnění je téměř shodná s nádory u ostatních žen, u karcinomu ovaria neexistují možnosti jeho časnějšího zachytu a většina nemocných na něj zemře. V tomto článku je zmíněna potřeba většího uvědomění u gynekologů vedoucí ke změně trendu upřednostnit profylaktickou chirurgii gynekologickou před výše zmíněnou mastektomií.

**Klíčová slova:** BRCA pozitivita, hereditární karcinom prsu a ovaria, sekvenování nové generace, profylaktická mastektomie, oboustranná adnexektomie a hysterektomie, nádorový marker CA125, PARP inhibitory.

### Options and consequences of genetic testing in patients with high risk of breast and ovarian cancer due to BRCA1 and BRCA2 mutations

Although incidence of BRCA positivity in population seems to be long-term stable this finding is especially in women discussed more and more often. The reason is extremely high lifelong risk of breast and ovarian cancer development. Affected patients have to be precisely followed by oncologists and gynecologists and on the contrary it is necessary to provide genetic testing for BRCA mutation positivity if some possibility of hereditary conditioned tumor exists. However, it is important not to reduce this problem on the question of prophylactic bilateral mastectomy only. Even in this situation we can use some modified screening program for breast cancer but there are no possibilities for earlier detection of ovarian cancer and the majority of patients will die because of this disease. There is a need of greater awareness by gynecologists leading to the trend change of preferring prophylactic gynecological surgery over mastectomy mentioned above.

**Key words:** BRCA positivity, hereditary breast and ovarian carcinoma, new generation sequencing, prophylactic mastectomy, bilateral salpingo-oophorectomy and hysterectomy, CA125 tumor marker, PARP inhibitors.

Onkologie 2015; 9(2): 58–63

### Problematika genetického testování BRCA1 a BRCA2

Pacienti s hereditárními nádorovými syndromy potřebují integrovaný systém vyhledávání genetické predispozice a lékařské podpory. Tento systém musí zahrnovat gynekology, chirurgy, onkology, pathology a lékařské genetiky. Zdá se, že přirozenou centrální roli v tomto systému by měl hrát registrující gynekolog, který ženu dlouhodobě sleduje, měl by znát podrobně její rodinnou anamnézu a preventivní onkologická vyšetření u ní přímo provádí, případně je zajišťuje u jiných odborností (screening karcinomu prsu).

Na některých pracovištích byl vyzkoušen systém pacientkou vyplňovaného dotazníku, zaměřeného na anamnézu karcinomu prsu, ovaria, endometria, případně dalších mnohočetných nádorových onemocnění (1). Pacientky splňující

indikaci ke genetickému poradenství jsou potom odeslány na pracoviště lékařské genetiky. Takový postup vede k významnému zvýšení počtu osob, u nichž je potřeba genetického poradenství správně identifikována. U pacientů mužského pohlaví by obdobnou roli měl sehrát praktický lékař.

Moderní příklad takových indikačních kritérií uvádějí guidelines National Comprehensive Cancer Network (tabulka 1). Také indikační kritéria v České republice jsou v současnosti přezkoumávána a budou v průběhu roku 2015 publikována v Modré knize České onkologické společnosti.

Nezbytnými součástmi genetické konzultace u jedince se zvýšeným genetickým rizikem jsou:

- detailní genealogické vyšetření
- detailní osobní anamnéza
- posouzení výsledků cílených vyšetření
- posouzení potřeb a obav pacienta

- posouzení kritérií pro cílené testování:
  - hereditárního karcinomu prsu a ovaria (HBOC)
  - Lynchova syndromu
  - Li-Fraumeniho syndromu
  - Cowdenova syndromu

Na základě výsledků genetické konzultace indikuje lékařský genetik genetické testování podle kritérií, která jsou restriktivnější než kritéria pro genetickou konzultaci. Vždy přitom respektuje i právo pacientky nevědět, ale v případě odmítnutí testu je vhodné, aby pacientka předala informaci o potřebě genetického poradenství i dalším osobám v riziku ve své rodině.

Pokud testování proběhne, je nezbytná další následná genetická konzultace v případě jak pozitivního, tak i negativního nebo neinformativního

**Tabulka 1.** Kritéria ke zhodnocení genetického rizika – indikace ke genetické konzultaci (NCCN 2. 2014)

Nemocný se:
známou genovou mutací zvyšující vnímavost ke karcinomu prsu/ovaria v rodinné anamnéze
karcinomem prsu s časným nástupem (pod 50 let)
triple negativním karcinomem prsu (ER-, PR-, HER2-)
dvěma primárními karcinomy
karcinomem prsu v kterémkoli věku a zároveň:
>=1 blízkým příbuzným s karcinomem prsu pod <=50 let věku nebo
>=1 blízkým příbuzným s epitelálním karcinomem ovaria v kterémkoli věku nebo
>=2 blízkými příbuznými s karcinomem prsu nebo karcinomem pankreatu v kterémkoli věku nebo příslušník rizikové populace
>=1 rodinný příslušník ze stejné strany rodiny s kombinací karcinomu prsu a >=1 z následujících onemocnění (zejména s časným nástupem): karcinom pankreatu, karcinom prostaty (Gleason score >=7, sarkom, karcinom nadledviny, tumor CNS, karcinom endometria, leukemie/lymfom, karcinom štítné žlázy, dermatologické projevy suspektní z Cowdenova syndromu, a/nebo makrocefalie, hamartomy GIT, difúzní karcinom žaludku
karcinom ovaria (pro účely guidelines i karcinomy vejcovodu a primární karcinomy peritonea)
karcinom prsu u muže
Zdravý jedinec s rodinnou anamnézou se:
známou genovou mutací zvyšující vnímavost ke karcinomu prsu/ovaria v rodinné anamnéze
dvěma primárními karcinomy u jednoho jedince
>=2 příbuznými s karcinomem prsu na stejné straně rodiny
>=1 příbuzným s karcinomem ovaria (pro účely guidelines i karcinomy vejcovodu a primární karcinomy peritonea)
příbuzným 1. nebo 2. stupně s karcinomem prsu <=50 let věku
>=1 rodinným příslušníkem ze stejné strany rodiny s kombinací karcinomu prsu a >=1 z následujících onemocnění (zejména s časným nástupem): karcinom pankreatu, karcinom prostaty (Gleason score >=7, sarkom, karcinom nadledviny, tumor CNS, karcinom endometria, leukemie/lymfom, karcinom štítné žlázy, dermatologické projevy suspektní z Cowdenova syndromu, a/nebo makrocefalie, hamartomy GIT, difúzní karcinom žaludku
karcinomem prsu u muže

výsledku. Součástí této konzultace je podrobná diskuze o významu výsledku testu pro pacientku i její příbuzné, posouzení psychologického dopadu výsledku a nabídka další podpory. V případě, že pacientka testování odmítne, zůstává osobou v riziku a měla by být zapojena do dalšího preventivního sledování i opakovaného posuzování potřeby případných profylaktických zákroků či preventivní terapie jako pacientky testované jako pozitivní (2).

Potřeba podrobného genetického poradenství a dlouhodobé podpory zvláště výrazně vystupuje do popředí u mladých pacientek s karcinomem prsu. Tyto ženy jsou zvláště ohroženy rizikem recidivy jak lokální, tak systémové. Jejich onemocnění často vyžaduje agresivní multimodální léčbu (tj. léčbu chirurgickou, radiční, chemoterapií, biologickou a endokrinní), která vede k významným vedlejším účinkům a nepříznivě ovlivňuje kvalitu života. V době diagnózy se jedná většinou o premenopauzální pacientky a uvedená léčba vede často k dočasné či trvalé amenoree a infertilitě. Také vývojové stadium jejich psychiky a nedostatek podpory od žen srovnatelné věkové skupiny zvyšuje významně

psychický stres po celou dobu onemocnění. Z těchto důvodů existuje snaha o vytvoření specifických guidelines pro poskytování zdravotní péče pacientkám uvedené skupiny. Management pacientek, u nichž byl karcinom prsu diagnostikován v těhotenství, pod zmiňované guidelines nespadá. Obecně by se měla léčba těhotných pacientek co nejvíce přibližovat obecným pravidlům pro léčbu karcinomu prsu (3).

V zájmu pacientek s vysokým rizikem positivity mutací BRCA1 nebo BRCA2 je podstoupit genetické poradenství a kompletní genetické testování, a to co nejdříve po stanovení diagnózy některé ze specifických malignit. Technicky je možné, aby pacientky byly odeslány ke genetické konzultaci a případnému genetickému testování ihned po stanovení diagnózy, a výsledek genetického testování může být znám v řádu týdnů, tj. ještě před chirurgickou léčbou. Znalost genetického statusu přináší pacientce výhody při plánování léčby, zejména při rozhodování o provedení mastektomie, případně profylaktické kontralaterální mastektomie či dalších zákroků (4). V současnosti je však genetické poradenství nabí-

zeno pacientkám obvykle až poté, co proběhne primární léčba. Důsledkem tohoto postupu je, že dodatečně profylaktické chirurgické zákroky jsou prováděny ve druhé době s časovým odstupem. Vytváření systémů rychlého genetického poradenství a testování (RGCT) má pro pacientky velký význam, naráží však na kapacitní omezení příslušných genetických pracovišť a limity úhradu za strany plátců zdravotní péče (4).

Genetické testování germinálních mutací BRCA1 a BRCA2 se provádí na genomické DNA, obvykle izolované z lymfocytů periferní krve. Mělo by zahrnovat úplnou mutační analýzu všech exonů a exon-intronových spojení obou genů metodou přímého sekvenování nebo jinou vysoce senzitivní analytickou metodou s prokázanou účinností. V případě genu BRCA1 se jedná o vyšetření 24 exonů, u genu BRCA2 27 exonů. Analýza je obvykle doplněna další metodou k detekci velkých genových přestavěb alespoň u genu BRCA1 (např. MLPA).

S nástupem technologie masivně paralelní sekvenace (sekvenování nové generace; NGS) je pozornost zaměřena i na využití této techniky k cílené resekvenaci rozsáhlých genů. Publikované práce potvrzují, že cílená resekvenace genů BRCA1 a BRCA2 může splňovat velmi přesná kritéria senzitivity a specifity pro diagnostické testování a nahradit tak tradiční sekvenování podle Sangera, s jasným přínosem zkrácení doby do obdržení výsledku a nižších nákladů na jedno vyšetření (5).

Patogenní germinální mutace genů BRCA1 a BRCA2 jsou nalézány pouze asi v 27% rodin se silnou zátěží karcinomu prsu a ovaria. Kromě možnosti mutací jiných genů je třeba předpokládat, že část mutací dosud uniká používaným detekčním metodám. V genech BRCA1 a BRCA2 jsou také často nalézány sekvenční varianty s nejasnou patogenicitou (např. missense mutace, malé inserce a delece bez posunu čtecího rámce a mutace sestřihových míst). Počet těchto variant prudce narůstá se zaváděním NGS. Ke stanovení rizika přítomnosti nezjištěné BRCA1/2 mutace či k posouzení patogenicity sekvenční varianty nejasného významu je proto snaha využívat i expresního profilování tumoru. Průkaz zapojení genů BRCA1/2 na základě poruchy exprese by se mohl stát dalším nástrojem pro výběr pacientek vhodných pro léčbu PARP inhibitory, pro vyhledávání nosiček nezjištěných mutací a pro odlišení benigních a patogenních variant (6).

S nárůstem počtu testovaných pacientek i počtu zjišťovaných variant roste nejen význam mezioborové spolupráce klinických, epidemiologů, bioinformatiků, statistiků a biologů v oblasti vý-



zkumu, ale i význam výměny informací mezi testujícími pracovišti. Tradičně jsou pacienti geneticky testováni v rámci jednotlivých pracovišť a fenotypová data nejsou dostupná jiným pracovištím. Jednotná databáze či registr anonymizovaných genotypů a fenotypů by nejen u pacientek testovaných na mutace BRCA genů mohla poskytnout zásadní poznatky o prediktorech nádorového onemocnění, léčebné odpovědi a případných modifikujících faktorech (7).

### BRCA pozitivita z pohledu gynekologa

Podle údajů Národního onkologického registru (NOR) vykazuje incidence zhoubných nádorů vaječniku v České republice mírně klesající trend. Poslední data jsou dostupná za rok 2011, kdy byla incidence 20,2 případů na 100 000 žen za rok (8). V zemích západní Evropy, kde je masivně používána hormonální antikoncepce déle než 20 let, klesá incidence znatelněji. V celosvětovém měřítku nám, při srovnání incidence České republiky s ostatními zeměmi světa, náleží 11. příčka. Mortalita je i přes pokles incidence (za poslední 10 let poklesla incidence cca o 10%) stále vysoká hlavně proto, že většina ovariálních nádorů (75–80%) se diagnostikuje v pokročilých stadiích (FIGO III a IV). Podle NOR byla mortalita v roce 2011 – 13,13/100 000 žen (8).

Zhoubné nádory vaječniku nejsou pravděpodobně primárně ovariální, ale ovaria jsou postižena sekundárně (9). Na základě znalosti molekulárních změn můžeme nádory vaječniku rozdělit na dva typy. Malignity řadící se pod typ I mají poměrně dobře identifikované prekursorzy a jejich progresse jde po krocích od benigního, zpravidla cystického tumoru přes borderline tumor k invazivnímu karcinomu. V době projevení bývají spíše omezené na vaječniky, chovají se jako „pomalé“ nádory, jsou charakterizovány vyšším pětiletým přežitím ve srovnání s typem II a sdílejí společně mnohé molekulárně genetické alterace, které nelze najít u typu II. Jsou poměrně geneticky stabilní a vznikají obvykle kumulací somatických mutací v genech KRAS, BRAF a ERBB2, či PTEN, PIK3CA a CTNNA1, ale jen velmi zřídka TP53. Inaktivace BRCA nebyla u typu I nalezena. Zahnují low-grade serozní a low-grade endometroidní karcinomy, clear-cell a mucinózní karcinomy a maligní Brennerův tumor.

Nádory řadící se pod typ II bývají, proti nádorům typu I, zachyceny v pokročilých stadiích, vznikají de novo, chovají se agresivně, typická je pro ně mutace genu TP53 (ve více než 80% případů) a jsou velice geneticky nestabilní. Jsou charakterizovány horší prognózou a vyšším gra-

dingem. Inaktivace BRCA, mutací či metylací promotoru, se nachází u 40–50% high-grade serozních karcinomů. Hlavními tumory typu II jsou high-grade serozní karcinomy, karcinosarkomy a nediferencovaný karcinom.

High-grade serozní karcinom představuje téměř 75% všech epitelálních ovariálních karcinomů a sám se podílí cca 90% na mortalitě pro ovariální karcinom. Hledání etiopatogenetické cesty vzniku tohoto závažného tumoru je proto naplní řady výzkumů posledních desetiletí. Dosud se předpokládalo, že nádor vzniká maligní transformací povrchového epitelu vaječniku. Nový pohled spatřuje původ ve vejcovodu, konkrétně v lézi nazývané STIC – serous tubal intraepithelial carcinoma, kterou se prezentuje zhruba 70% případů a kterou je možné při pečlivém histologickém zpracování sekčního materiálu nalézt vedle invazivního karcinomu. Prakticky všechny tyto léze vykazují stejnou p53 pozitivitu jako high-grade serozní karcinom. Buňky této léze po exfoliaci dosáhnou povrchu vaječniku, implantují se a dají vznik high-grade seroznímu karcinomu. Druhou možností vzniku tohoto závažného nádoru je již výše zmíněný mechanismus vzniku inkluzní cysty a mutace v genu TP53 (9).

Koncept, že velká část ovariálních karcinomů má původ mimo vaječnik, je velkým odklonem od původního smýšlení a otevírá možnosti pro nové postupyčasné detekce, léčby a možné prevence tohoto závažného a devastujícího onemocnění.

Dosud neexistuje funkční screening ovariálního karcinomu. Cílem je najít takový test či kombinaci metod, které zachytí onemocnění v časném stadiu, nejlépe stále omezené na vaječniky, a je tedy vysoká šance na jeho vyléčení a redukci mortality. U skupiny rizikových pacientek se ukazuje, že preventivní zákroky mohou zajistit významnou redukci jejich onkologického rizika. Dalším nezbytným krokem péči o tyto pacientky je individualizace léčby.

Příkladem preventivního postupu je profylaktická oboustranná adnexektomie u BRCA pozitivních žen. Okultní karcinom byl nalezen při histologickém vyšetření těchto tkání ve 4–17% případů a 57–100% jich bylo lokalizováno v distální části vejcovodů a fimbriích (10–12).

BRCA mutace, mutace tumor supresorových genů BRCA, mají prevalenci v běžné populaci 1 na 600–800, u Ashkenazi židů je to pak 1 na 40. Jedná se o geny s vysokou penetrací, tedy jejich mutace znamená 10x a více zvýšené riziko vzniku nádoru. Celoživotní riziko vývoje ovariálního karcinomu je pro nosičky BRCA1 mutace 40–60%, pro nosičky BRCA2 mutace

11–27%. V běžné populaci je toto celoživotní riziko kolem 1,8%. Věkový medián v době diagnózy hereditárního ovariálního karcinomu je u BRCA1 nosiček 51 let, u BRCA2 57 let.

Co se týká celoživotního rizika karcinomu prsu, pak nosičky jak BRCA1 mutace, tak BRCA2 mutace, mají celoživotní riziko prakticky identické, až 87%. Celoživotní riziko v nezatižené populaci je u karcinomu prsu 8–10%. Pro nosičky BRCA mutací je typická tendence k časnému vzniku nádoru (early onset cancer), tj. zhruba o 10 let dříve, než je v běžné populaci (13).

Abychom mohli vyselektovat skupinu žen, kterou necháme geneticky testovat na přítomnost zárodečné BRCA mutace, je třeba v první řadě věnovat velkou pozornost anamnéze. Po odebrání rodinné, gynekologické, chirurgické, onkologické anamnézy a anamnézy nynějšího onemocnění identifikujeme ženy s vysokým rizikem ovariálního karcinomu a karcinomu prsu a odešleme je ke genetické konzultaci. Genetik na základě kritérií pro testování dále zúží konzultovanou skupinu žen a tyto podrobí genetickému testování. Nález mutace plnáší, kromě možnosti prediktivního testování v rodině, také odlišný management pacientek, a to možnost provedení profylaktické bilaterální adnexektomie, profylaktické bilaterální mastektomie a do budoucna možnost onkologické léčby novými léky (PARP-1 inhibitory).

Otázkou je, ve kterém roce života přistoupit k profylaktickému výkonu. V současnosti je akceptováno podle NCCN guidelines pro provedení profylaktické adnexektomie věkové rozmezí 35–40 let a po ukončení reprodukčních plánů ženy. Do té doby by měla být riziková žena zařazena do pravidelného sledování pomocí ultrazvuku a nádorových markerů v intervalech kratších než 1 rok, pravděpodobně až 4 měsíce.

Provedením profylaktické bilaterální adnexektomie snížíme riziko vzniku ovariálního karcinomu o 90–97% a riziko vzniku karcinomu prsu u premenopauzálních žen o 50%. Otázkou zůstává, zda by měla být součástí profylaktického výkonu také hysterektomie (odstranění dělohy). V odborné veřejnosti však nepanuje jasná shoda v této indikaci. Pro provedení svédčí snížení rizika karcinomu děložního hrdla, jehož relativní riziko při BRCA1 mutaci je 3,3, dále při hysterektomii odstraníme i intramurální části vejcovodů, u BRCA2 pozitivních žen je možnost užívat tamoxifen v rámci chemoprevence i event. léčby karcinomu prsu atd. Proti tomuto výkonu hovoří možné operační komplikace, prodloužení operačního času atd. Provedením bilaterální profylaktické mastektomie snižujeme incidenci karcinomu prsu o 90–95%.

Celosvětově diskutovaným tématem je možnost redukce rizika nejčastějšího histotypu ovariálního karcinomu spojeného i s BRCA pozitivitou, high-grade serózního karcinomu, provedením samotné bilaterální salpingektomie v první době a následně doplnění oboustranné ovariectomie s odstupem, na místo v současnosti prováděné profylaktické adnexektomie (14). Tímto přístupem by bylo možné redukovat rizika hormonální deplece plynoucí z tohoto výkonu u premenopauzální populace žen. Jedná se zejména o kardiovaskulární morbiditu a mortalitu, osteoporózu se svými důsledky, plicní karcinom atd. (15). Problémem je, že původ ve vejcovodu však nemá 100% ovariálních malignit, a proto redukce rizika by nedosáhla ani výše zmíněných 90–97%. Reziduální riziko pro BRCA pozitivní pacientky by poté nebylo pouze v možném primárním peritoneálním karcinomu, ale též v ovariálním karcinomu primárně vzniklém v ovariu. Je proto potřeba dalších studií, které ověří platné možnosti preventivních zákroků.

Pokud již žena onemocní hereditárním ovariálním karcinodem na podkladě BRCA mutace, pak je možné očekávat dobrou citlivost těchto nádorů k platinovým derivátům, což rezultuje v delší DFI (disease-free interval) – medián 14 měsíců proti 7 měsícům u sporadického karcinomu. Pacientky s hereditární formou ovariálního karcinomu mají lepší celkové přežití, pro stádium FIGO III je mutační status nezávislým prognostickým faktorem. Jedná se pravděpodobně o sekundární efekt způsobený lepší citlivostí na chemoterapii, což je dáno narušenou schopností opravy buněčné DNA při BRCA mutaci.

### BRCA pozitivita z pohledu onkologa

Díky zvýšené medializaci je o genetické testování stále větší zájem. Nejčastějším důvodem je obava z rizika vývoje zhoubného nádoru u osob, které si uvědomily přítomnost tohoto typu zátěže ve své anamnéze a po vzoru Angeliny Jolie se snaží u sebe tuto skutečnost potvrdit nebo raději vyvrátit. Mimochodem, efekt související s medializací kroku této herečky vedl k mnohonásobnému zvýšení zájmu o genetické testování, které bohužel k financování na základě nezvyšujících se budgetů nelze časněji provést. Stejnou měrou pak došlo ke zvýšení počtu žádostí o provedení profylaktické oboustranné mastektomie, které zase nejsou schopna v dostupném termínu provádět pracoviště plastických chirurgů a kde tedy i v těchto případech narostly často čekací doby do řádu několika let. Incidence nádorů souvisejících s BRCA mutací nebo deficiencí – ztrá-

tu exprese – je u karcinomu prsu odhadována na 5–10% a u rovněž neselektované populace s karcinodem ovaria na 11–15,3%.

Nemocní (samozřejmě dominují ženy, ale v ambulancích onkologů a dalších specialistů se množí též případy mužů s BRCA pozitivitou) se tak dozvídají velké množství informací, na které nejsou vždy připraveni, ale které jim mohou pomoci nalézt nejvhodnější formu sledování. V případě positivity mutace BRCA1/2 u žen vstupuje do absolutního popředí problematika karcinomu prsu a ovaria. U takto charakterizované zátěže je riziko vývoje obou těchto malignit již v mladším věku velmi vysoké, nádorů ostatních (karcinomu pankreatu nebo prostaty u mužů) pak výrazně nižší, byť stále nezanedbatelné. Na místě je tedy velmi pečlivá dispenzarizace těchto osob.

Pokud jde o karcinom prsu, ten bývá v případě BRCA1 positivity proti ostatním pacientkám častěji triple negativní (ER negat., PgR negat. a současně HER2/neu negat.) a objevuje se v časnějším věku, reaguje však na klasicky podávanou chemoterapii. Lépe jsou na tom nemocné s pozitivitou BRCA2, u kterých lze terapeuticky postupovat zcela obvyklým způsobem a zejména jejich prognóza není horší proti pacientkám bez této genetické zátěže. BRCA pozitivní karcinom prsu lze léčit podáváním anthracyklinů – dokonce je udáváno, že dosažení léčebné odpovědi je vyšší, než jaká bývá dosažena u běžné populace. Naopak není jisté, že stejně dobrý bude efekt taxanů a není-li k jejich podání jiný důvod (nejčastěji jde o rozsah uzlinového postižení), lze si vystačit s běžnými anthracyklinovými režimy. Velmi nejasná je pozice platinových derivátů. Některé publikované práce hovoří o velkém benefitu této léčby u BRCA pozitivního karcinomu prsu, byly založeny na prezentaci menších souborů nemocných a zejména polská studie s extrémně vysokým počtem odpovědí (téměř 85% v neoadjuvanci) je třeba jinými polskými kolegy zpochybňována. Ale i další a možná důvěryhodnější současné práce zaměřené na tuto problematiku udávají počet dosažených pCR až 61%, avšak i zde se jedná převážně o studie 2. fáze. Nelze tedy jednoznačně přfnos platinových derivátů prokázat a tak je tato léčba rezervována spíše pro následné linie v paliativním podání nebo relaps onemocnění, než do léčby primární či adjuvantní.

Rozdílly u nádorů prsu vzniklých na podkladě BRCA positivity nelze prokázat ani z pohledu chirurgického přístupu, i v těchto případech lze tedy bez problémů provádět parciální resekční výkony, neboť není uváděno vyšší riziko recidivy. V případě nového patologického nálezu se totiž mnohem častěji jedná o nový primární

tumor, který může mít i dosti odlišnou charakteristiku. Především však nedochází k žádnému zhoršení přežití. Velkým tématem také zůstává význam doplnění kontralaterální mastektomie zejména u mladých žen. Ten je však poměrně omezený a tak potřeba tohoto přístupu zůstává kontroverzní, zejména s přihlédnutím k tomu, že stejně jako při předchozím nádoru by nedošlo ke změně léčebných postupů a pravděpodobně ani prognózy onemocnění. Také léčbu zářením může řada faktorů souvisejících se základním onemocněním modifikovat, nejčastěji ve smyslu úpravy celkové dávky nebo frakcionačního režimu, BRCA pozitivita však mezi ně nepatří, neboť efekt radioterapie je shodný, jako u pacientek ostatních.

Zatímco u karcinomu prsu se zdá, že onemocnění není spojeno s jiným průběhem, než u populace BRCA negativní, nevyžaduje ani příliš změněný léčebný postup a navíc se do popředí dostávají i nové léčebné možnosti přímo cílené na tuto skupinu (např. uvedené PARP inhibitory), možnosti časnějšího zachytu karcinomu ovarii stále k dispozici nemáme – screening není dostupný ani pro obecnou populaci, ani pro specifické rizikové skupiny, mezi něž BRCA pozitivní pacientky bezpochyby patří. Jelikož je naprostá většina pacientek zachycena s nádorem již pokročilým (je udáváno, že až 75% z nich je v době stanovení diagnózy ve stadiu T2c a vyšším), jsou jejich vyhlídky na dlouhodobé přežití velmi omezené, a to i přes radikální operační výkon s dosažením R0, tzn. že na toto onemocnění v průběhu několika let zemřou. O reálných možnostech screeningu ovariálního karcinomu nejlépe vypovídá skutečnost, že při provádění odběru CA125 s doplněním ultrasonografie každých 12 měsíců je zachyt tohoto onemocnění v pokročilých stadiích 70% a jsou-li tato vyšetření opakována po 4 měsících, pak stále ještě v 60%, takže nelze o benefitu spojeném s tímto aktivním přístupem hovořit.

Zajímavé je, že profylaktická adnexektomie, jak je uvedeno výše, vede ke snížení rizika vzniku ovariálního karcinomu o 96% (zbyvá riziko např. karcinomu peritoneálního), současně však u pacientek s mutací BRCA1 karcinomu prsu o 53% a u mutace BRCA2 o 73%. Gynekologický preventivní výkon je tedy více než žádoucí a měl by být proveden u nosiček BRCA1 nejlépe nedlouho po 35. roce věku, u BRCA2 pozitivních pak kolem 45. roku. O jeho významu svědčí také skutečnost, že i při všech negativních výsledcích vyšetření a profylaktické operaci bývá v 5–9% již zachyceno postižení okultním ovariálním karcinodem. Z toho rovněž plyne nutnost prove-

dení velmi pečlivě histologické revize preparátů, která je v rukách zkušeného patologa. Jestliže po operaci zůstává riziko vzniku nádoru ovaria cca 4–5%, není jasné, proč v případech doplnění oboustranné adnexektomie o současnou hysterektomii klesne až na pouhých 0,5–1%. Je jasné, že příznaky předčasné menopauzy u operovaných pacientek je nutno eliminovat podávaním HRT. Z pohledu léčebných možností však bohužel také platí, že jsou stejně jako u pokročilého ovariálního karcinomu extrémně omezené a prognóza těchto nemocných je velmi závažná. Lze použít standardní režimy chemoterapie, význam radioterapie není doložitelný, neboť z algoritmu terapie těchto nádorů bohužel před mnoha lety vymizela. I při možné aplikaci nových látek typu PARP inhibitorů zůstává charakter léčby pouze paliativní.

### Možnosti onkologické léčby v případě BRCA pozitivivity

Odlišnosti v aplikaci CHT a léčby hormonální u pacientek s tumory prsu nebo ovaria vzniklými na tomto hereditárním podkladě lze hledat jen velmi obtížně, víceméně máme k dispozici stejné armentarium, jaké je používáno u ostatní populace. Z cílených léčiv není důvod pominout aplikaci trastuzumabu jako jednoho z mála cílených léčiv s prokazatelnou a jasnou účinností u HER2 pozitivních nádorů, u mladých žen se však často jedná o nádory triple (ER-, PgR- a HER2-) negativní. V těchto případech je význam antiangiogenně působícího bevacizumabu minimální a ve studiích nebyla prokázána prakticky jakákoliv efektivita sunitinibu, cetuximabu, ale i sorafenibu. Jedinou nadějí se tak v blízké budoucnosti stanou PARP inhibitory. PARP je výrazně upregulována u velké části invazivních ductálních karcinomů, především ve skupině nádorů triple negativních (TNBC).

Jedná se o superrodinu 17 PARP [poly (ADP-ribose) polymerázy] enzymů, nízkomolekulárních látek, z nichž nejvýznamnější jsou PARP 1 a 2, přičemž oba jsou aktivovány poškozením DNA. Ve zdravých tkáních se BRCA1/2 a PARP1 podílí na opravě poškození DNA, když oprava DNA buněk nádoru s mutací BRCA1/2 závisí především na PARP (účastní se její opravy excízií bází a indukují v BRCA deficientních tkáních vznik chromozomálních aberací) a jejich inhibice tedy vede k buněčné smrti (17). Dochází totiž ke konverzi z jedno- na dvouvláknové zlomy během replikace, která tak kolabuje. PARP inhibice hraje také roli v organizaci chromatinových domén, modulaci transkripce a kontrole buněčného dělení a bývá spojena se zvýšením

antiproliferativního efektu dalších léků (temozolomidu, irinotecanu, topotecanu, gemcitabinu, karboplatiny) a radioterapie, kde by mohla mít význam silného radiosenzibilizátoru (16). Inhibice PARP je interakcí vedoucí k úmrtí buněk na základě většího množství onkogenů a nádorově supresorických genů, mezi které u karcinomu prsu patří např. zmíněné BRCA1/2, PTEN, ATM, PALB2 nebo CHEK2.

**Iniparib (BSI 201)** byl představen na konferenci ASCO 2009 ve studii II. fáze u triple negativních karcinomů prsu, kdy byl podáván v kombinaci s režimem karboplatina (v léčbě této skupiny je předpokládán velký význam platinového derivátu) + gemcitabin, neboť mezi oběma cytostatiky je znám synergistický efekt. V americké studii II. fáze se shodným designem (22) bylo zařazeno 123 pacientek s metastatickým TNBC, z nichž bylo kolem 60% léčeno v první linii a přibližně 70%, resp. 77% jich v předchozí době absolvovalo léčbu obsahující anthracykliny, resp. taxany. Vždy došlo ke zlepšení RR, PFS i OS, lék byl tedy následně zkoušen v otevřené studii III. fáze (n = 519). Výsledky prezentované na ASCO 2011 však zůstaly poněkud za očekávaním, bez významnějšího prodloužení PFS a OS. Zůstává otázka, zda lze iniparib řadit mezi skutečné PARP inhibitory – jeho účinnost je totiž až 1 000x menší než v případě ostatních ze skupiny (olaparib, veliparib). Nemá ani jejich typické nežádoucí účinky (tolerance léku je výborná) a již v preklinických studiích fungoval spíše odlišným mechanismem (ten přesný není dosud znám), než prostřednictvím PARP inhibice. V současnosti je tak jeho pozice v léčbě BRCA pozitivních nádorů nadále nejasná.

Ohledně **veliparibu** a dalších studijních látek ze skupiny PARP inhibitorů a jejich efektivitu a tolerabilitu je zatím dostupných jen minimum informací. Spíše jen na základě preklinického zkoušení a studií I.-II. fáze se zdají být perspektivní, zatím ale k širšímu klinickému zkoušení nejsou dostupné a na dosavadní výsledky čekáme.

Nejdále tak postoupily studie zaměřené na **olaparib (AZD2281)**. Ten je tvořen malou molekulou a jeho předností je p.o. způsob aplikace. Zkoumán byl v multicentrické nerandomizované studii II. fáze v dávce 400 mg 2x denně u serózního a nediferencovaného karcinomu ovaríí (n = 65) (24, 26) a TNBC bez přítomnosti BRCA mutace (n = 26) (19–21). Ve druhé uvedené skupině však k žádné léčebné odpovědi nedošlo, proto bylo s ohledem na mechanismus účinku rozhodnuto zaměřit se dále na nemocné s nádorem prsu při BRCA pozitivitě. Ve studii II. fáze (23) bylo jeho použitím dosaženo u pokročilých

nádorů spojených s mutací BRCA1/2 (ovaríí s rezistencí na platinu; prsu po nejméně 3 liniích léčby metastatického onemocnění; pankreatu po předchozím gemcitabinu a prostaty po selhání hormonální manipulace a dalšího režimu systémové léčby) odpovědi v 26,2% a přinejmenším stabilizace po dobu alespoň 8 týdnů v dalších 42%. Mediány počtu přežívajících v 1 roce činily za těchto okolností 64% u karcinomu ovaria, 45% u prsu, 41% u pankreatu a 50% u nádoru prostaty, což jsou výsledky převyšující očekávání i u BRCA nezatížené populace. Toxicita přitom byla jen nevýrazná, nejčastějším nežádoucím účinkem byla anémie (17%), dále se vyskytovaly úvaha, nauzea a zvracení, vše zvládnutelné krátkodobým přerušením léčby nebo mírnou redukcí dávky. Pacientky bez BRCA mutace, které odpověděly na léčbu, mohly mít tento gen epigeneticky umlčen nebo mít mutovaně některý z homologních rekombinačních genů RAD51D, ATM, PALB2, RAD51C, BRIP1 či dalších.

Ledermann a kol. rovněž prokázali, že udržovací terapie olaparibem má význam u pacientek s relabujícími ovariálními karcinomy po 2 liniích léčby založených na platině (25). Medián PFS byl 8,4 vs. 4,8 měsíce (p < 0,001), OS nebyl zlepšen zřejmě vlivem menšího počtu událostí nebo použitím následně léčby. I v těchto případech však interval do zahájení další linie léčby dosáhl 8,6 měsíce u pacientek s mutací, zatímco pouze 2,4 měsíce u nemutovaných. Zdá se tedy, že tento způsob blokády bude hrát důležitou roli, o čemž svědčí narůstající počet klinických studií a postupné rozšiřování možnosti podat olaparib v klinické praxi, díky čemuž budeme mít brzy dostatek informací na mnohonásobně větších souborech nemocných.

### Diskuze

Jednou z otázek, nad jejímiž řešením se mnoho lidí nezamýšlí, je způsob dispenzarizace. Patří tyto dosud zdravé osoby skutečně do onkologických ambulancí, jak ustanovují současné zákonné normy? Na jednu stranu je jistě snahou a možná i jistou povinností komplexních onkologických center mj. vytvořit ambulanci preventivní onkologie, ve skutečnosti to však při snaze o maximální dodržení vyšetřovacích algoritmů znamená při narůstajícím počtu sledovaných jedinců značnou zátěž. Možná by stálo za úvahu převedení těchto žen do podobných ambulancí gynekologických, neboť právě gynekologické vyšetření spolu s expertní ultrasonografií je jedním ze základů sledování a jsou to rovněž gynekologové, kteří nemocné odesílají na preventivní mammografická vyšetření.

Ještě více nejistot je však spojeno s úhradou těchto vyšetření a vytížením napojených oddělení, především radiodiagnostických. Pravidelné odesílání BRCA pozitivních pacientek na MR prsu dokáže z velké části naplnit kapacitu tohoto pracoviště takovou měrou, že na ostatní pacienty a diagnózy mnoho prostoru nezbude. Navíc není MR prsu zrovna u mladých pacientek pro horší přehlednost a velké procento falešné pozitivivity nejvhodnější metodou.

Velkým problémem může být také psychická zátěž, se kterou je potvrzená přítomnost mutace spojena. U velké části pacientů totiž přetrvávají v paměti převážně negativní zkušenosti s často nepřilís úspěšnou léčbou podobného nádorového onemocnění u nejbližších příbuzných (které bylo hlavním důvodem pro absolvování genetického testování) a představa podobného osudu je může děsit. Také opakované čekání na výsledky pravidelných vyšetření nikomu nepřidá. To vše může být důvodem rozhodnutí upřednostnit radikálnější postup, tedy v případě BRCA pozitivivity v podobě oboustranné mastektomie a minimálně adnexektomie.

Závažnou problematikou dnešní doby je provádění komerčních testů BRCA. Kontakty lze sehnat jak na internetu, tak jsou na provádějíci společnosti či zařízení navázáni někteří lékaři různých odborností, nejvíce zřejmě gynekologové. Zatímco zjištění přítomnosti mutace těchto genů je v indikovaných případech hrazeno z prostředků veřejného zdravotního pojištění, vyšetření komerční nikoliv a zájemkyně si musí připravit značný finanční obnos k jeho úhradě. Mnohem horší je skutečnost, že velká část těchto vyšetření není kompletní, ale zahrnuje testování pouze několika mutací z celkového počtu více než 2 000 mutací genů BRCA1/2, dosud popsaných v literatuře, a zájemkyně nejsou často o této limitaci lékaři dostatečně informovány. I v naší zemi již byly popsány případy, kdy u pacientky došlo po sdělení negativního výsledku komerčního testu s omezeným rozsahem k falešnému uklidnění, naštěstí však byla později odeslána ještě ke klasickému genetickému vyšetření a kompletní testování přítomnost mutace prokázalo.

Přestože se v souvislosti s mutací BRCA1/2 hovoří o rizicích vzniku karcinomu prsu a ovaria (24, 27), nelze opominout ani další, byť méně pravděpodobné malignity. Melanom by mělo včas odhalit kožní a oční vyšetření v ročním intervalu, nádory GIT může pomoci včas zachytit provedení kolonoskopie a EGDF každé 3 roky po dovršení 45. roku věku. Nejasný je význam odběru nádorových markerů. Asi nejvíce využitelným je stanovení CA125, zatímco přínos

CA15–3, CA19–9 a CEA je silně zpochybňován. Často se tedy v rámci doporučení osobám s takto změněnou genetickou informací neobejde bez klasických rad ve smyslu zákazu kouření, omezení příjmu alkoholu, dostatku fyzické aktivity, úpravy stravy spočívající ve zvýšení příjmu ovoce a zeleniny na úkor červeného masa a uzenin, omezení styku s chemikáliemi nebo neslunění – především v oblasti hrudníku a prsu.

## Závěr

Přestože průkaz BRCA pozitivivity neznamena absolutní jistotu vzniku zhoubného nádoru (karcinomu prsu a ovaria především) je celoživotní riziko těchto onemocnění natolik významné, že aktivní přístup založený na profylaktické chirurgii lze považovat za naprosto oprávněný. Z uvedeného vyplývá, že jakkoliv v podvědomí nemocných dominuje potřeba řešit riziko karcinomu prsu, je pro jejich dobro, pokud gynekologická a onkologická část jejich sledování zajistí především časný profylaktický výkon v této lokalizaci.

Léčebné možnosti se u BRCA pozitivních pacientek se zhoubným nádorem zatím příliš neliší od skupiny nemutovaných, ale minimálně v podobě PARP inhibitorů lze spatřit blyskání na lepší časy. Olaparib (Lynparza) tak je možno použít pro léčbu nemocných s karcinomem ovaria, prsu, pankreatu a prostaty, tedy nádorů souvisejících s BRCA mutací a u nádorů ovaria, tuby nebo peritonea těchto pacientů již obdržel schválení EMA.

Lze předpokládat, že stále většího uplatnění bude nacházet preimplantační diagnostika s cílem zabránění přenosu genetické informace (mutace BRCA1/2) na děti. Tento výkon je jednoznačně indikován a je potěšující, že je již některým centřům asistované reprodukce hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Aktuální informaci o vhodném postupu k zajištění preimplantační diagnostiky by měl rodině sdělit lékařský genetik v rámci genetické konzultace.

V některých zemích již přistoupili na testování přítomnosti mutace BRCA1/2 u všech pacientek s ovariálním karcinomem. V našich podmínkách zatím vše naráží na úhrady od plátců zdravotní péče. Přesto v systému péče o takto predisponované nemocné došlo v posledních letech k extrémnímu pokroku, jejich zajištění včetně genetického a psychologického poradenství je na vysoké úrovni. Jde o oblast, která je díky medializaci (jako v jednom z mála případů vhodné) středem zájmu onkologické veřejnosti, přestože se jedná často o profylaktická opatření. Jak však z výše uvedeného vyplývá, nesmíme podlehnout zjednodušení této problematiky především na provádění mastektomií, jako dů-

ležitější je vzhledem k závažnosti onemocnění primárně myslet na vznik karcinomu ovariálního. Zapotřebí je tedy především velmi dobré spolupráce onkologů s gynekology a genetiky.

## Literatura

- Morii-Kashima M, Tsubamoto H, Sato C, et al. Development of an integrated support system for hereditary cancer and its impact on gynecologic services. *Int J Clin Oncol*. 2011; 19(6): 1043–1051.
- Alexandre Christina, Olivia Pagani. Practical aspects of genetic counseling in breast cancer: Lights and shadows *The Breast* 2013; 22: 375–382.
- First international consensus guidelines for breast cancer in young women (BCY1) Ann H. Partridge, Olivia Pagani, Omalkhair Abulkhair d, et al. *The Breast* 2014; 23: 209–220.
- Breast cancer in women at high risk: The role of rapid genetic testing for BRCA1 and -2 mutations and the consequences for treatment strategies. Anne Brecht Francken \*, Philip C. Schouten, Eveline M.A. Bleiker, Sabine C. Linn, Emiel J.Th. Rutgers. *The Breast* 2013; 22: 561–568.
- Genetic Testing in Hereditary Breast and Ovarian Cancer Using Massive Parallel Sequencing. Anna Ruiz, Gemma Llort, Carmen Yagüe, et al. *BioMed Research International Volume* 2014, Article ID 542541, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/542541>
- Larsen MJ, Kruse TA, Tan Q, et al. (2013) Classifications within Molecular Subtypes Enables Identification of BRCA1/BRCA2 Mutation Carriers by RNA Tumor Profiling. *PLoS ONE* 8(5): -64268.
- Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing for BRCA-Related Cancer in Women: A Systematic Review to Update the U.S. Preventive Services Task Force Recommendation. Heidi D. Nelson, Miranda Pappas, Bernadette Zakher, et al. *Ann Intern Med*. 2014; 160: 255–266.
- Registry NC. Cancer Incidence 2011. Health Statistics. Czech republic, Prague 2014.
- Kurman RJ, Shih Ie M. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *The American journal of surgical pathology*. 2010; 34(3): 433–443.
- Powell CB, Kenley E, Chen LM, Crawford B, McLennan J, Zaloudek C, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA mutation carriers: role of serial sectioning in the detection of occult malignancy. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2005; 23(1): 127–132.
- Callahan MJ, Crum CP, Medeiros F, Kindelberger DW, Elvin JA, Garber JE, et al. Primary fallopian tube malignancies in BRCA-positive women undergoing surgery for ovarian cancer risk reduction. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2007; 25(25): 3985–3990.
- Hirst JE, Gard GB, McIlroy K, Nevell D, Field M. High rates of occult fallopian tube cancer diagnosed at prophylactic bilateral salpingo-oophorectomy. *International journal of gynecological cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2009; 19(5): 826–829.
- Cibula D. *Onkogynologie*. Praha: Grada Publishing, a.s.; 2009.
- Holman LL, Friedman S, Daniels MS, Sun CC, Lu KH. Acceptability of prophylactic salpingectomy with delayed oophorectomy as risk-reducing surgery among BRCA mutation carriers. *Gynecol Oncol*. 2014; 133(2): 283–286.
- Parker WH, Broder MS, Chang E, Feskanich D, Farquhar C, Liu Z, et al. Ovarian conservation at the time of hysterectomy and long-term health outcomes in the nurses' health study. *Obstetrics and gynecology*. 2009; 113(5): 1027–1037.
- Ossovskaya V, Li L, Broude EV, et al.: BSI-201 enhances the activity of multiple classes of cytotoxic agents and irradiation in triple negative breast cancer. In: Program and abstracts of the American Association for Cancer Research Annual Meeting, Denver, April 18–22, 2009: 5552. abstract.

17. Rehman, F. L. et al. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* advance online publication 19 October 2010; doi: 10.1038/nrclinonc.2010.172
18. Oral poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: A proof-of-concept trial Tutt A, Robson M, Garber J.E, Domchek S.M, Audeh M.W, Weitzel J.N, Friedlander M, Arun B, Loman N, Schmutzler R.K, Wardley A, Mitchell G, Earl H, Wickens M, Carmichael J. *The Lancet* 2010; 376: 9737 (235–244).
19. Can we define tumors that will respond to PARP inhibitors? A phase II correlative study of olaparib in advanced serous ovarian cancer and triple-negative breast cancer Gelmon K.A, Hirte H.W, Robidoux A, Tonkin K.S, Tischkowitz M, Swenerton K, Huntsman D, Carmichael J, Macpherson E, Oza A.M. *Journal of Clinical Oncology* 2010; 28: 15 SUPPL. 1.
20. Safety and efficacy of the oral PARP inhibitor olaparib (AZD2281) in combination with paclitaxel for the first- or second-line treatment of patients with metastatic triple-negative breast cancer: Results from the safety cohort of a phase I/II multicenter trial Dent R.A, Lindeman G.J, Clemons M, Wildiers H, Chan A, McCarthy N.J, Singer C.F, Lowe E.S, Kemsley K, Carmichael J. *Journal of Clinical Oncology* (2010)28: 15 SUPPL. 1.
21. Phase II trial of the oral PARP inhibitor olaparib in BRCA-deficient advanced breast cancer Tutt A, Robson M, Garber J.E, Domchek S, Audeh M.W, Weitzel J.N, Friedlander M, Carmichael J. *Journal of Clinical Oncology* (2009) 27:18 SUPPL. 1 (CRA501).
22. A randomized phase III study of iniparib (BSI-201) in combination with gemcitabine/carboplatin (G/C) in metastatic triple-negative breast cancer (TNBC). J. O'Shaughnessy, L. S. Schwartzberg, M. A. Danso, H. S. Rugo, K. Miller, D. A. Yardley, R. W. Carlson, R. S. Finn, E. Charpentier, M. Freese, S. Gupta, A. Blackwood-Chirchir, E. P. Winer, 2011 ASCO Annual Meeting Abstract No: 1007 Citation: *J Clin Oncol* 29: 2011 (suppl); abstr 1007
23. Kaufman B, Shapira-Frommer R, Schmutzler RK, et al. Olaparib Monotherapy in Patients With Advanced Cancer and a Germline BRCA1/2 Mutation. *JCO* 2014; Published online before print November 3. doi: 10.1200/JCO.2014.56.2728
24. Somatic Mutations in BRCA1 and BRCA2 Could Expand the Number of Patients That Benefit From Poly (ADP Ribose) Polymerase Inhibitors in Ovarian Cancer. Bryan T.J, Hennessy, Kirsten M, Timms, Mark S, Carey, Alexander Gutin, Larissa A, Meyer, Darl D, Flake II, Victor Abkevich, Jennifer Potter, Dmitry Pruss, Pat Glenn, Yang Li, Jie Li, Ana Maria Gonzalez-Angulo, Karen Smith McCune, Maurie Markman, Russell R, Broadus, Jerry S, Lanchbury, Karen H, Lu, and Gordon B. Mills. *J Clin Oncol* 28:3570–3576. © 2010
25. Olaparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive Relapsed Ovarian Cancer. Jonathan Ledermann, M.D., Philipp Harter, M.D., Charlie Gourley, M.B., Ph.D., Michael Friedlander, M.B., Ph.D., Ignace Vergote, M.D., Ph.D., Gordon Rustin, M.D., Clare Scott, M.B., Ph.D., Werner Meier, M.D., Ph.D., Ronnie Shapira-Frommer, M.D., Tamar Safra, M.D., Daniela Matei, M.D., Euan Macpherson, M.Sc., Claire Watkins, M.A., M.Sc., James Carmichael, M.D., and Ursula Matulonis, M.D. *N Engl J Med* 2012; 366: 1382–1392.
26. Olaparib, PARP1 inhibitor in ovarian cancer. Claudia Marchetti, Ludovica Imperiale, Maria Luisa Gasparri, Innocenza Palaia, Sandro Pignata, Terenzio Boni, Filippo Bellati & Pierluigi Benedetti Panici. *Expert Opin. Investig. Drugs* (2012) 21 (10)
27. Made-to-measure medicine: BRCA and gynaecological cancer. Foulkes William D. *Lancet Onc.*, Vol 15 July 2014: 783–784.

Článek přijat redakcí: 17. 2. 2015

Článek přijat k publikaci: 13. 3. 2015

---

**MUDr. Ivan Šubrt, Ph.D.**

Ústav lékařské genetiky

Alej Svobody 80, 304 60 Plzeň – Lochotín

subrt@fnplzen.cz

---

**13. PRESL, J., KUČERA, R., TOPOLČAN, O., et al. HE4 a biomarker of ovarian cancer. Ceska Gynekol. 2012, 77 (5), p. 445-449.**

---

### HE4 a biomarker of ovarian cancer

---

Presl J.<sup>1</sup>, Kučera R.<sup>2</sup>, Topolčan O.<sup>2</sup>, Novotný Z.<sup>1</sup>, Vrzalová J.<sup>2</sup>, Fuchsova R.<sup>2</sup>, Betincová L.<sup>1</sup>, Rokyta Z.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň, přednosta doc. MUDr. Z. Novotný, CSc.

<sup>2</sup>Imunoanalytická laboratoř LF UK a FN Plzeň, přednosta prof. MUDr. O. Topolčan, CSc.

---

#### ABSTRACT

**Objective:** Verification of the importance of determination of HE4 and calculation of ROMA index for increasing the efficiency of diagnosis of ovarian cancer in a population of Czech women.

**Design:** Prospective study.

**Setting:** Department of Gynaecology and Obstetrics, Faculty Hospital in Pilsen.

**Methods:** In the period from 06/24/2010 to 12/01/2011 was at the Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital Pilsen examined 552 patients with abnormalities in the pelvis. Patients were divided into two groups. There were 30 women with histologically confirmed malignant ovarian tumors. Another 522 women had benign findings. According to the levels of FSH were women in both groups divided into premenopausal and postmenopausal. At all women were measured CA 125, HE4 and FSH. HE4 and CA125 were determined using the chemiluminescent device Architect 1000 (Abbott, USA), FSH chemiluminescent method on the device DXI 800 (Beckman Coulter, USA). At all premenopausal women was calculated ROMA1 index and at all postmenopausal women ROMA2 index. SAS statistical software 9.2 were used for all statistical calculations.

**Results:** The highest diagnostic efficiency was achieved by a combination of HE4 and CA125 markers with the calculation ROMA2 index for postmenopausal women. In determining of menopausal status according to the values of FSH cut-off for menopause 40 IU/L and cut-off at 26.4% for ROMA2 reaches ROMA2 sensitivity of 92.3%, specificity of 88.5% and PV- of 99.3%. If we reduce the cut-off for laboratory diagnosis of menopause using FSH at 22 IU/L, and cut-off for ROMA2 was 26.3% reaches ROMA2 sensitivity of 95.2%, specificity of 87.8% and PV- of 99.5%.

**Conclusion:** HE4 in combination with CA125 and current ROMA index calculation is a suitable methodology to improve the detection of ovarian cancer.

**Key words:** HE4, CA125, ROMA index, ovarian cancer, menopausal status.

#### SOUHRN

**Cíl studie:** Ověření významu stanovení HE4 a výpočtu ROMA indexu pro zvýšení efektivity diagnostiky ovariálního karcinomu v populaci českých žen.

**Typ studie:** Prospektivní studie.

**Název a sídlo pracoviště:** Gynekologicko-porodnická klinika, Fakultní nemocnice v Plzni.

**Metodika:** V období od 24. 6. 2010 až do 1. 12. 2011 bylo na Gynekologicko-porodnické klinice UK a FN Plzeň vyšetřeno 552 pacientek s abnormálním nálezem v pánevi. Pacientky byly rozděleny do dvou skupin, 30 žen bylo s histologicky potvrzeným maligním nádorem ovarií, dalších 522 žen mělo benigní nálezy. Podle hladiny FSH byly ženy v obou skupinách rozděleny na premenopauzální a postmenopauzální. U všech bylo stanoveno CA125, HE4 a FSH. CA125 a HE4 byly stanovovány chemiluminiscenční metodou na přístroji Architect 1000i (Abbott, USA), FSH chemiluminiscenční metodou na přístroji DxI 800 (Beckman Coulter, USA). U všech premenopauzálních žen byl vypočítán ROMA1 index a u všech postmenopauzálních žen ROMA2 index. Pro veškeré statistické výpočty byl použit statistický software SAS 9.2.

**Výsledky:** Nejvyšší diagnostické efektivity bylo dosaženo kombinací markerů HE4 a CA125 s následným výpočtem ROMA2 indexu pro postmenopauzální pacientky. Při stanovení menopauzálního statusu podle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 26,4 % pro ROMA2, dosahuje ROMA2 senzitivity 92,3 %, specificity 88,5 % a prediktivní hodnoty PV- 99,3 %. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 26,3 % pro ROMA2, dosahuje ROMA2 senzitivity 95,2 %, specificity 87,8 % a PV- 99,5 %.

**Závěr:** HE4 v kombinaci s CA125 a současný výpočet ROMA indexu je vhodnou metodikou pro zlepšení záchytu ovariálního karcinomu.

**Klíčová slova:** HE4, CA125, ROMA index, ovariální karcinom, menopauzální stav.

---

## ÚVOD

Podle údajů ÚZIS za rok 2009 byla incidence ovariálního karcinomu v ČR 22,5/100 000 [13]. Mortalita je i přes pokles v posledních 10 letech stále vysoká. Ovariální malignity jsou z gynekologických nádorů nejčastější příčinou smrti, 47 %, představují 5 % ze všech nádorů u žen a dále 23 % z gynekologických zhoubných nádorů [1, 6].

Karcinom ovaria má špatnou prognózu hlavně kvůli pozdní detekci v pokročilých stádiích [1, 6]. Proto se celosvětově věnuje pozornost možnostem vyhledávání a následné léčby časných stadií. Bohužel, dosud nebyl objeven nádorový marker, který by se přibližoval „ideálnímu markeru“ [1]. Až do nedávné doby byl nádorový marker CA125 (cancer antigen 125) jediným využívaným nádorovým markerem. Je senzitivní, avšak málo specifický [3]. Po roce 2000 se objevily práce s využitím markeru HE4 (human epididymis protein 4) [4]. V posledních několika letech vedla snaha o zvýšení efektivity diagnostického procesu k zavedení ROMA indexu (risk of ovarian malignancy algorithm) [10]. K výpočtu indexu se využívá naměřených hodnot HE4 a CA125 a bere se též v úvahu menopauzální status pacientky. Zjištění řady autorů ohledně senzitivity a specifity HE4 a ROMA indexu jsou velmi povzbudivá, rozhodli jsme se proto ověřit jeho použití v populaci českých žen.

## SOUBOR PACIENTEK A METODIKA

V období od 24. 6. 2010 až do 1. 12. 2011 bylo na Gynekologicko-porodnické klinice UK a FN Plzeň vyšetřeno 552 pacientek s abnormálním nálezem v pánevi. Soubor tvořily dvě skupiny pacientek: 30 žen bylo s histologicky potvrzeným maligním nádorem ovarii, dalších 522 žen mělo benigní nález. Podle hladiny folikulostimulačního hormonu (FSH) byly ženy v obou skupinách rozděleny na premenopauzální, s hladinou FSH < 40 IU/L, a postmenopauzální, s hladinou FSH ≥ 40 IU/L (tab. 1) [2]. Protože je nám známo, že v určování menopauzálního statusu žen se používá více metodik a obávají jsme se velkých diskrepancí v získaných výsledcích AUC, senzitivit a specifit při použití různých

Tab. 1. Počet žen ve skupinách po rozdělení podle FSH cut-off 40 IU/l a diagnóz

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

Tab. 2. Počet žen ve skupinách po rozdělení podle FSH cut-off 22 IU/l a diagnóz

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

ných metodik, zařadili jsme do naší studie ještě druhou metodiku [10], kdy je pro premenopauzální ženy cut-off FSH < 22 IU/L a postmenopauzální cut-off FSH ≥ 22 IU/L (tab. 2) [10].

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

## VÝSLEDKY

V tabulkách 3–6 je uveden přehled základních parametrů porovnávaných skupin pacientek. U sledovaných

Tab. 3. Ženy po menopauze (cut-off FSH ≥40 IU/l), maligní vs. benigní

Metoda	AUC maligní vs. benigní	cut-off	Specifita	Senzitivita	PV+	PV-	RR
CA 125	0,97153	36,00	85,3107	92,3077	31,5789	99,3421	48,0000
		63,00	94,9153	84,6154	55,0000	98,8235	46,7500
HE4	0,93451	89,00	86,2857	76,9231	29,4118	98,0519	15,0980
		115,00	94,8571	76,9231	52,6316	98,2249	29,6491
ROMA 2	0,97767	26,40	88,5057	92,3077	37,5000	99,3548	58,1250
		37,70	94,8276	84,6154	55,0000	98,8024	45,9250



Tab. 4. Ženy před menopauzou (cut-off FSH &lt;40 IU/l), maligní vs. benigní

Metoda	AUC maligní vs. benigní	cut-off	Specificita	Senzitivita	PV+	PV-	RR
CA 125	0,95337	<b>68,00</b>	89,2754	94,1176	30,1887	99,6764	93,2830
		130,00	<b>95,0725</b>	58,8235	37,0370	97,9104	17,7249
HE4	0,87016	<b>88,00</b>	96,8116	52,9412	45,0000	97,6608	19,2375
		80,00	<b>95,0725</b>	52,9412	34,6154	97,6190	14,5385
ROMA 1	0,88166	<b>7,50</b>	83,2353	70,5882	17,3913	98,2639	10,0174
		19,90	<b>95,0000</b>	58,8235	37,0370	97,8788	17,4603

Tab. 5. Ženy po menopauze (FSH ≥22 IU/l), maligní vs. benigní

Metoda	AUC maligní vs. benigní	cut-off	Specificita	Senzitivita	PV+	PV-	RR
CA 125	0,97315	<b>36,00</b>	84,6809	95,2381	35,7143	99,5000	71,4286
		81,00	<b>94,8936</b>	80,9524	58,6207	98,2379	33,2672
HE4	0,91518	<b>89,00</b>	87,5536	71,4286	34,0909	97,1429	11,9318
		112,00	<b>94,8498</b>	71,4286	55,5556	97,3568	21,0185
ROMA 2	0,98031	<b>26,30</b>	87,8788	95,2381	41,6667	99,5098	85,0000
		37,70	<b>95,2381</b>	85,7143	62,0690	98,6547	46,1379

Tab. 6. Ženy před menopauzou (FSH &lt;22 IU/l), maligní vs. benigní

Metoda	AUC maligní vs. benigní	cut-off	Specificita	Senzitivita	PV+	PV-	RR
CA 125	0,94696	<b>85,00</b>	91,2892	88,8889	24,2424	99,6198	63,7576
		143,00	<b>95,1220</b>	44,4444	22,2222	98,2014	12,3556
HE4	0,81611	<b>86,00</b>	97,9094	44,4444	40,0000	98,2517	22,8800
		74,00	<b>95,1220</b>	55,5556	26,3158	98,5560	18,2237
ROMA 1	0,83235	<b>7,30</b>	84,8057	55,5556	10,4167	98,3607	6,35417
		17,60	<b>95,0530</b>	55,5556	26,3158	98,5348	17,9605

markerů CA125, HE4 a dále ROMA indexů je vždy uvedena AUC, senzitivita, specificita, pozitivní (PV+) a negativní (PV-) prediktivní hodnota a relativní riziko (RR) pro hodnotu cut-off používaného v současné době v naší rutinní praxi. Tyto cut-off bez rozdílu věku a menopauzálního stavu jsou následující: pro CA125 35 IU/ml, HE4 89 pmol/l, index ROMA1 < 7,4 % a ROMA2 < 25,3 %. Na druhém řádku jsou vždy uvedeny hodnoty, které odpovídají 95% specificitě pro hodnocený marker. Podle metodiky výpočtu ROMA indexu [10] je pro ženy po menopauze (tab. 3, tab. 5) uvedena hodnota indexu ROMA2, pro ženy před menopauzou pak tabulky 4 a 6 uvádějí hodnotu indexu ROMA1. Výsledky uvádíme u dvou způsobů určování menopauzálního statusu žen. V prvním případě jsme použili cut-off FSH 40 IU/l [2] a v druhém případě cut-off FSH 22 IU/l [10]. Při takto razantní změně cut-off FSH došlo ke změně počtu žen v jednotlivých skupinách (tab. 1, tab. 2). Předpokládali jsme výrazné změny specifity, senzitivity a AUC. Naše předpoklady se však neaplnily.

## DISKUSE

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

Současná praxe na našem pracovišti je taková, že již při první návštěvě je pacientce s abnormálním nálezem v páni odebrána krev na vyšetření markerů: CA125 a HE4, stanoví se hodnota FSH a vypočte ROMA index. Současně se provede komplexní gynekologické vyšetření a expertní ultrazvukové vyšetření, a tím se během jednoho sezení získají komplexní informace o povaze abnormálního pánevního nálezu.

S ohledem na věkovou distribuci epitelálního ovariálního karcinomu jsme se soustředili zejména na skupinu postmenopauzálních pacientek. Data z našeho souboru ukazují, že největší výtěžnost námi užívaného one-step

postupu pro postmenopauzální pacientky je dosaženo, pokud kombinujeme oba markery CA125 a HE4. Tehdy při stanovení menopauzálního statutu podle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 25,3 % pro ROMA2, resp. námi nejbližší kalkulované hodnotě 26,4 %, dosahuje ROMA2 senzitivity 92,3 %, specificty 88,5 % a PV- 99,3 %. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 25,3 %, resp. námi nejbližší kalkulované hodnotě 26,3 %, dosahuje ROMA2 senzitivity 95,2 %, specificty 87,8 % a PV- 99,5 %.

Moore et al. V roce 2009 publikovali v Gynecologic Oncology výsledky multicentrické prospektivní studie na 531 pacientkách. Tehdy, při cut-off 27,7 % pro ROMA2, byla senzitivita 92,3 %, specificta 74,7 % a PV- 92,6 %. Pro ROMA1, zmíněný níže, při cut-off 13,1 % byla senzitivita 76,5 %, specificta 74,8 % a negativní prediktivní hodnota 95 % [9]. Stejný autor v roce 2011 v Obstetrics & Gynecology uvedl výsledky dalšího souboru 472 pacientek. V této kohortě dosahoval ROMA2 senzitivity 90,2 % při specifictě 76 % a PV- 95,8 %, ROMA1 dosáhl senzitivity 81,3 % při specifictě 74,2 % a PV- 98,3 % [10]. Naše zjištění jsou v souladu s nálezy těchto studií.

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

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

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

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

Situace u premenopauzálních pacientek je v některých aspektech odlišná, proto při stanovení menopauzálního statusu podle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 7,4 % pro ROMA1, resp. námi nejbližší kalkulované hodnotě 7,5 %, dosahuje ROMA1 senzitivity 70,5 %, specificty 83,2 % a PV- 98,2 %. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 7,4 %, resp. námi nejbližší kalkulované hodnotě 7,3 %, dosahuje ROMA1 senzitivity 55,5 %, specificty 84,8 % a PV- 98,3 %. Cut-off CA125 je na našem pracovišti identické pro obě skupiny pacientek, při postmenopauzální, 35 IU/l. Ve shodě se zahraničními pracovišti se však jeví jako přínosný posun horní hranice normy u premenopauzální skupiny na hodnoty přibližně dvojnásobné, tj. 70–80 IU/l. Na rozdíl od pacientek postmenopauzálních, u premenopauzálních jsme dosáhli ve sledovaném souboru nejvyšší senzitivity 94,1 %, specificty 89,2 % při cut-off 68 IU/ml. Laboratorní známkou menopauzy byla opět hodnota FSH 40 IU/l. Při cut-off FSH 22 IU/l byla senzitivita 88,8 %, specificta 91,2 % při cut-off 85 IU/ml. HE4 u skupiny premenopauzálních pacientek, při stanovení menopauzálního statusu podle hodnot FSH při cut-off pro menopauzu 40 IU/l a při cut-off 89 pmol/l pro HE4, resp. námi nejbližší stanovené hodnotě 88 pmol/l, dosahuje senzitivity 52,9 %, specificty 96,8 % a PV- 97,6 %. Pokud snížíme cut-off FSH pro laboratorní diagnózu menopauzy na 22 IU/l, potom při cut-off 89 pmol/l, resp. námi nejbližší stanovené hodnotě 86 pmol/l, dosahuje HE4 senzitivity 44,4 %, specificty 97,9 % a PV- 98,2 %.

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

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

CA125 užívaný samostatně ve skupině premenopauzálních pacientek při cut-off FSH 40 IU/l a při hranici specificty 95%, dosahuje senzitivity blížící se 59 % při

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

Chang et al. publikovali v červenci 2011 v International Journal of Gynecological Cancer výsledky studie na 491 čínských ženách, kde sledovali senzitivitu a specifitu samotných markerů HE4 oproti CA125 a tytéž parametry u kombinace HE4 s CA125. Senzitivita pro ovarální karcinom, při porovnávací skupině pacientek s benigním ovarálním nálezem, byla při 95% specifitě u HE4 74 %, CA125 82 % a kombinace markerů dosáhla 86 %. Při 98% specifitě dosáhla HE4 senzitivity 72 %, CA125 68 % a kombinace markerů 76 % [5]. Námi získané hodnoty jsou v souladu s nálezy této studie.

AUC, senzitivita a negativní prediktivní hodnota pro sledované markery či jejich kombinace vztažené k věku a FSH, byla vždy největší pro ROMA2, následně CA125, ROMA1 a HE4. Tyto naše údaje jsou ve shodě s prací Partheen et al. ze Švédska, jejichž studie hodnotila soubor 394 pacientek [12].

## ZÁVĚR

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

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

## LITERATURA

1. Cíbula, D., Petruželka, L. Onkogynekologie. 1. vyd. Praha: Grada, 2009, 614 s.
2. Cepický, P., Burdová, M., Cíbula, D., et al. Doporučení k hormonální terapii a substituci perimenopauzy a postmenopauzy. Ces Gynek, 2006, 71, 2, s. 150–152.
3. Fritsche, HA., Bast, RC. CA 125 in ovarian cancer: advances and controversy. Clin Chem, 1988, 44, p. 1379–1380.
4. Hellstrom, I., Raycraft, J., Hayden-Ledbetter, M., et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. Cancer Res, 2003, 63, p. 3695–3700.
5. Chang, X., Ye, X., Dong, L., et al. Human epididymis protein 4 (HE4) as a serum tumor biomarker in patients with ovarian carcinoma. Int J Gynecol Cancer, 2011, 21 (5), p. 852–858.
6. Jurga, LM. Klinická a radiačná onkológia prvý a druhý diel. 1. vyd. Martin: Osveta, 2010, 2432 s.
7. Li, J., Dowdy, S., Tipton, T., et al. HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial cancer management. Expert Rev Mol Diagn, 2009, 9, p. 555–566.
8. Moore, RG., Brown, AK., Miller, MC., et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. Gynecol Oncol, 2008, 108, p. 402–408.
9. Moore, RG., McMeekin, DS., Brown, AK., et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. Gynecol Oncol, 2009, 112, p. 40–46.
10. Moore, RG., Miller MC., Disilvestro, P., et al. Evaluation of the diagnostic accuracy of the risk of ovarian malignancy algorithm in women with a pelvic mass. Obstet Gynecol, 2011, 118, p. 280–288.
11. Moore, RG., Jabre-Raughley, M., Brown, AK., et al. Comparison of a novel multiple marker assay vs the risk of malignancy index for the prediction of epithelial ovarian cancer in patients with a pelvic mass. Am J Obstet Gynecol, 2010, 203, p. 228.e1–6.
12. Partheen, K., Kristjansdottir, B., Sundfeldt, K. Evaluation of ovarian cancer biomarkers HE4 and CA-125 in women presenting with a suspicious cystic ovarian mass. J Gynecol Oncol, 2011, 22, p. 244–252.
13. ÚZIS (Národní onkologický registr CR). Novotvary 2009 CR. Praha: ÚZIS Zdravotnická statistika, 2012.

MUDr. Jiří Presl  
Gynekologicko-porodnická klinika  
LF UK a FN  
Alej Svobody 80  
304 60 Plzeň  
e-mail: jiri.presl77@seznam.cz

**14. NOVOTNY, Z., PRESL, J., KUCERA, R., et al. HE4 and ROMA index in Czech postmenopausal women. Anticancer Res. 2012, 32 (9), p. 4137-4140.**

**IF 1,865**

## HE4 and ROMA Index in Czech Postmenopausal Women

ZDENEK NOVOTNY<sup>1</sup>, JIRI PRESL<sup>1</sup>, RADEK KUCERA<sup>2</sup>, ONDREJ TOPOLCAN<sup>2</sup>,  
JINDRA VRZALOVA<sup>2</sup>, RADKA FUCHSOVA<sup>2</sup>, LUCIE BETINCOVA<sup>1</sup> and ZDENEK ROKYTA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty Hospital in Pilsen, Pilsen, Czech Republic;

<sup>2</sup>Laboratory of Immunoanalysis, Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Pilsen, Czech Republic

**Abstract.** *Aim: The first aim of the project was to evaluate the benefits of the determination of human epididymis protein 4 (HE4) and the risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) index for primary detection of ovarian cancer in a population of Czech women. The second aim was to study the advantages HE4, cancer antigen 125 (CA125) and ROMA index for distinguishing between benign and malignant tumors. Aware of the age distribution of ovarian cancer, we focused on postmenopausal patients. Patients and Methods: Our group of patients consisted of 256 females, 21 with ovarian cancer and 235 with benign ovarian tumors. All diagnoses were histologically verified. We determined the serum levels of HE4 and CA125 and calculated the ROMA2 index for postmenopausal women. Serum levels of the analytes were measured using an Architect I000i instrument. Serum samples were collected prior to surgery or any other form of treatment and the results of the two groups of patients were compared (malignant vs. benign). Results: There was a significant difference in the serum levels for all parameters studied between the groups of patients with malignant and those with benign diagnoses (Wilcoxon test,  $p < 0.0001$ ). When all parameters were evaluated at 95% specificity, the HE4 cut-off was 112 pmol/l at a sensitivity of 71.42%, a positive predictive value (PPV) of 55.56%, a negative predictive value (NPV) of 97.14% and an area under the curve (AUC) of 0.9152. The CA125 cut-off was 81 IU/l at a sensitivity of 80.95%, a PPV of 58.62%, a NPV of 98.23% and an AUC of 0.9731. ROMA2 index had a cut-off 37.70% at a sensitivity of 85.71%, a PPV of 62.06%, a NPV of 98.65% and an AUC of 0.9803. The highest diagnostic efficiency was achieved by the ROMA2 index. Conclusion: Determination of HE4 along with CA125 and ROMA2 index*

*calculation is a suitable method for the improvement of the primary detection of ovarian cancer. This approach also improves the differential diagnostic possibilities for distinguishing between malignant and benign tumors.*

According to the statistics for 2009, the incidence of ovarian cancer in the Czech Republic was 22.5/100,000 women (1). Mortality, despite the decline observed in the last 10 years, is still high. Ovarian cancer is the leading cause of gynecological cancer death, representing 5% of all cancers in women and 23% of all gynecological cancers. Ovarian cancer has a poor prognosis, mainly because of late detection at advanced stages (2). Worldwide attention is therefore focused on the potential of research and the subsequent treatment of this cancer. Unfortunately, no tumor marker approaching the ideal marker has yet been discovered. Until recently, the main tumor marker for ovarian cancer was cancer antigen 125 (CA125). Its use is sensitive but with low specificity (3). The tumor marker human epididymis protein 4 (HE4) has been in clinical use since the year 2003 (4). In the last few years, the effort to increase the efficiency of the diagnostic process has led to the implementation of the risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) index. The ROMA index is calculated using the measured values of HE4 and CA125, while the menopausal status of patients is also taken into account. Conclusions regarding the sensitivity and specificity of HE4 and the ROMA index have been very optimistic in recent studies (5, 6, 7). These developments led to this study being carried out on a female Czech population.

### Patients and Methods

**Group of patients.** The patient study group consisted of 256 females with abnormalities in the pelvis. We divided the patients into two groups. The first consisted of 21 females with ovarian cancer and the second of 235 females with benign ovarian tumors. The age characteristics of these groups are presented in Table I. Serum parameters of HE4 and CA125 were measured and the ROMA2 index was calculated for both groups. Calculation of the ROMA2 index was made according to the following equation:  $\text{ROMA index \%} = \frac{\exp(\text{PI})}{1 + \exp(\text{PI})} \times 100$ , where the predictive

**Correspondence to:** Professor Ondrej Topolcan, MD, Ph.D., Immunoanalytic Laboratory, Department of Nuclear Medicine, Faculty Hospital in Pilsen, Dr. E. Benese 13, CZ-305 99 Pilsen, Czech Republic. E-mail: topolcan@fnplzen.cz

**Key Words:** HE4, ROMA index, CA125, ovarian cancer, menopausal status.

index,  $PI = -8.09 + 1.04 \times LN[HE4] + 0.732 \times LN[CA125]$  (8). The serum samples were analyzed at the Laboratory of Immunoanalysis, Faculty of Medicine in Pilsen, (Czech Republic) from 2010 to 2011. The menopausal status of patients was determined by doctors at the gynecological clinic according to the methodology of Moore *et al.* (8), but always with emphasis on the actual clinical status of patients.

**Serum samples.** Serum samples were collected prior to surgery or any other form of treatment. The time of collection was between 7-10 AM for all women. Samples of venous blood were collected using the VACUETTE blood collection system (Greiner Bio-one Company, Kremsmünster, Austria). Blood was centrifuged for 10 min at 1700  $\times g$ . Serum samples were immediately frozen to  $-80^{\circ}C$ . Samples were thawed only once, just prior to analyses.

**Methods used.** HE4 and CA125 serum levels were measured using the Architect 1000i System (Abbott, Libertyville, IL, USA). Serum samples were collected prior to surgery and samples of the two subgroups of patients were compared (malignant vs. benign).

**Statistical methods.** SAS 9.2 (Statistical Analysis Software release 9.2; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) was used for all statistical analysis. A summary of statistical findings for age and serum levels of each of the analytes is presented. The Wilcoxon test was used to compare distributions of values between benign and malignant tumors.

**Results**

The number of females and the age characteristics of both groups of patients is shown in Table I. Serum levels of HE4 and CA125 are shown in Table II, together with the calculated results of the ROMA2 index. According to the Wilcoxon test ( $p < 0.0001$ ), the results for the benign and malignant groups of patients was significantly different. The results of the next statistical evaluation are summarized in Table III where area under the curve (AUC), cut-off, specificity, sensitivity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) are presented.

**Discussion**

Current practice in our hospital suggests that a patient with abnormal findings in the pelvis has samples taken at their first visit for testing of blood markers HE4 and CA125, and the ROMA index is calculated as well. At the same time, a comprehensive gynecological examination is performed, including ultrasound, and the menopausal status of patients is evaluated as well. Thus, during one visit, patients in the clinic receive comprehensive information about the nature of their abnormal pelvic findings. In this situation, clinicians request reliable laboratory parameters which would quickly extend the set of tools available and improve the diagnostics of ovarian cancer.

Table I. Age characteristics of the patient groups

Diagnosis	N	Age (years)			
		Mean	Median	Min.	Max.
Ovarian cancer	21	64.37	63	47	82
Benign ovarian tumor	256	65.28	64	48	93

Tumor markers are currently used for follow-up and therapy effect monitoring. In evaluating data, we have focused on the possibilities of using HE4, CA125 and ROMA index for the primary diagnostics of ovarian cancer. The second aim was to study the value of HE4, CA125 determination and the ROMA index for distinguishing benign from malignant tumors.

Table II shows the serum levels of both markers and the ROMA2 index results, calculated for both groups of females. There was a significant difference in the serum levels of all parameters between the groups with malignant and benign diagnoses, as shown by the Wilcoxon test, ( $p < 0.0001$ ). Further statistical parameters are shown in Table III. We have evaluated all parameters at cut-off levels which are currently used in our hospital. These results are presented in the first line of Table III. For a more extensive picture of changes in the cut-off levels of each parameter, we also evaluated all three parameters at 95% specificity, shown in the second line of Table III. The highest diagnostic efficiency was achieved by the ROMA2 index. If we focus on the cut-off of all parameters, a rise is observed, in comparison to the cut-off levels which are currently used in our hospital. In 2009, Moore *et al.* published, the results of a prospective multicenter study on 531 patients. In their study, the ROMA2 index had a cut-off of 27.7%, a sensitivity of 92.3%, with a specificity of 74.7%, and NPV of 92.6% (9). In 2011, the same author published the results of a further set of 472 patients. In this study, the ROMA2 index reached a sensitivity of 90.2% with a specificity of 76% and a NPV of 95.8% (8). Our findings are consistent with the findings of these studies.

If we consider the results of receiver operating characteristic (ROC) analysis, we see that the best values for the AUC were achieved in the ROMA2 index, followed by CA125 and then HE4. Our data are consistent with the work by Partheen *et al.*, from Sweden, whose study evaluated a group of 394 patients (10).

Before implementation of HE4, only the tumor marker CA125 was used for ovarian cancer detection at our hospital. The combination of both markers is an improvement compared to the results achieved by CA125 alone. In addition, around 20% of cases of epithelial ovarian cancer has little, if any, elevation of CA125. For

Table II. *Postmenopausal women, cancer vs. benign tumor.*

Parameter (units)	Diagnosis	N	Mean	Median	Range	p-Value, Wilcoxon test
HE4 (pmol/l)	Cancer	21	649.35	312	17.10-1842	<0.0001
	Benign	256	51.72	39.50	26.70-3590	
CA125 (IU/l)	Cancer	21	2349	295	32.80-44850	<0.0001
	Benign	256	65.80	16.20	3.60-2331	
ROMA2 (%)	Cancer	21	70.91	87.20	22.40-100	<0.0001
	Benign	256	13.75	9.72	1.81-99.60	

HE4: Human epididymis protein 4; CA125: cancer antigen 125; ROMA2: risk of ovarian malignancy algorithm.

Table III. *Postmenopausal women, cancer vs. benign tumor.*

Parameter (units)	AUC	Cut-off	Specificity	Sensitivity	PPV	NPV
HE4 (pmol/l)	0.91518	89.00	87.55	71.42	34.09	97.14
		112.00	94.85	71.42	55.56	97.35
CA125 (IU/l)	0.97315	36.00	84.68	95.23	35.71	99.50
		81.00	94.89	80.95	58.62	98.23
ROMA2 (%)	0.98031	26.30	87.88	95.24	41.67	99.51
		37.70	95.04	85.71	62.06	98.65

HE4: Human epididymis protein 4; CA125: cancer antigen 125; ROMA2: risk of ovarian malignancy algorithm; AUC: area under the curve; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value.

more than 50% of these malignancies, elevated levels of HE4 can be observed, and combinations of these markers may therefore optimize the potential for a successful diagnosis of ovarian malignancies in these patients. Another factor supporting a combination of both markers and the calculation of the ROMA index is that elevated levels of CA125 can be observed as a result of physiological conditions such as menstruation or pregnancy, as well as in benign ovarian tumor, inflammation and the presence of endometriosis and fibroids. This false positivity in the group of premenopausal patients may cause problems in routine clinical practice. Therefore, a combination of HE4 and CA125, together with the calculation of the ROMA index, increases the specificity and sensitivity of testing and is an interesting tool in ovarian cancer diagnostics.

## Conclusion

Ovarian cancer is, with its high incidence and mortality, a worldwide problem. One reason for this is the lack of symptoms. The second reason is practically non-existent screening for ovarian cancer. Until recently, the only routinely used marker for ovarian abnormalities was CA125. Determination of HE4 levels, together with those of CA125 and the calculation of the ROMA2 index, is a suitable method for improving primary detection of ovarian cancer.

This approach also broadens the range of differential diagnostic possibilities for distinguishing between malignant and benign tumors.

## Acknowledgements

This study was supported by the project of Ministry of Health of the Czech Republic for conceptual development of research organization 00669806-Faculty Hospital in Pilsen and a grant IGA NS 10258-3.

## References

- 1 National Cancer Registry of the Czech Republic: Cancer Incidence 2009. Health Statistics, Prague, 2012.
- 2 Oberaigner W, Minicozzi P, Bielska-Lasota M, Allemani C, de Angelis R, Mangone L and Sant M: Survival for Ovarian Cancer in Europe: The across-country variation did not shrink in the past decade. *Acta Oncol* 51(4): 441-453, 2012.
- 3 Fritsche HA and Bast RC: CA 125 in Ovarian Cancer: Advances and Controversy. *Clin Chem* 44: 1379-1380, 1988.
- 4 Hellström I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, Ledbetter JA, Schummer M, McIntosh M, Drescher C, Urban N and Hellström KE: The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. *Cancer Res* 63: 3695-3700, 2003.
- 5 Bandiera E, Romani C, Specchia C, Zanotti L, Galli C, Ruggeri G, Tognon G, Bignotti E, Tassi RA, Odicino F, Caimi L, Sartori E, Santin AD, Pecorelli S and Ravaggi A: Serum human epididymis protein 4 and risk for ovarian malignancy algorithm

- as new diagnostic and prognostic tools for epithelial ovarian cancer management. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 20(12): 2496-506, 2011.
- 6 Molina R, Escudero JM, Augé JM, Filella X, Foj L, Torné A, Lejarcegui J and Pahisa J: HE4 a novel tumour marker for ovarian cancer: comparison with CA 125 and ROMA algorithm in patients with gynaecological diseases. *Tumour Biol* 32(6): 1087-1095, 2011.
  - 7 Van Gorp T, Cadron I, Despierre E, Daemen A, Leunen K, Amant F, Timmerman D, De Moor B and Vergote I: HE4 and CA125 as a diagnostic test in ovarian cancer: prospective validation of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm. *Br J Cancer* 104(5): 863-70, 2011.
  - 8 Moore RG, Miller MC, DiSilvestro P, Landrum LM, Gajewski W, Ball JJ and Skates SJ: Evaluation of the diagnostic accuracy of the risk of ovarian malignancy algorithm in women with a pelvic mass. *Obstet Gynecol* 118: 280-288, 2011.
  - 9 Moore RG, McMeekin DS, Brown AK, DiSilvestro P, Miller MC, Allard WJ, Gajewski W, Kurman R, Bast RC Jr. and Skates SJ: A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol* 112: 40-46, 2009.
  - 10 Partheen K, Kristjansdottir B and Sundfeldt K: Evaluation of ovarian cancer biomarkers HE4 and CA-125 in women presenting with a suspicious cystic ovarian mass. *J Gynecol Oncol* 22: 244-252, 2011.
  - 11 Li J, Dowdy S, Tipton T, Podratz K, Lu WG, Xie X and Jiang SW: HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial cancer management. *Expert Rev Mol Diagn* 9: 555-566, 2009.

*Received May 29, 2012*

*Revised July 10, 2012*

*Accepted July 11, 2012*



**15. KUČERA, R., PRESL, J., TOPOLČAN, O., et al. Changes of serum levels of tumor markers in ovarian cancer and benign diseases. Klinicka Biochemie a Metabolismus. 2012, 20 (3), p. 168-171.**

## Změny sérových hladin nádorových markerů u ovariálního karcinomu a benigních onemocnění

<sup>1</sup>Kučera R., <sup>2</sup>Presl J., <sup>1</sup>Topolčan O., <sup>2</sup>Novotný Z., <sup>1</sup>Fuchsová R., <sup>1</sup>Vrzalová J.,  
<sup>2</sup>Betincová L., <sup>2</sup>Rokyta Z.

<sup>1</sup>Imunoanalytická laboratoř, FN a LF v Plzni, Univerzita Karlova v Praze

<sup>2</sup>Gynekologicko-porodnická klinika, Fakultní nemocnice v Plzni

### SOUHRN

*Cíl studie:* Sledování změn sérových hladin HE4, CA 125, CEA a CA 19-9 u ovariálního karcinomu a u onemocnění, která přicházejí v úvahu v diferenciální diagnóze.

*Typ studie:* Prospektivní studie

*Materiál a metody:* V období od června 2010 až do prosince 2011 bylo v Imunoanalytické laboratoři FN Plzeň vyšetřeno sérum 749 pacientek gynekologicko-porodnické kliniky s abnormálním nálezem v pánevi. Pacientky byly rozděleny do skupin podle diagnóz. U všech bylo stanoveno HE4 a CA 125 chemiluminiscenční metodou na přístroji Architect 1000i (Abbott, USA), CEA a CA 19-9 chemiluminiscenční metodou na přístroji Dxl 800 (Beckman Coulter, USA). Pro veškeré statistické výpočty byl použit statistický software SAS 9.2.

*Výsledky:* HE4 a CA 125 byly signifikantně zvýšeny u pacientek s histologicky potvrzeným karcinomem ovarií oproti všem ostatním pacientkám, (HE4 medián konc. 281 pmol/l, CA 125 medián konc. 249 IU/l). HE4 i CA125 byly velice nízké u pacientek s karcinomem ovarií v remisi. Border line tumory ovarií nevykázaly statisticky významné zvýšení žádného z nádorových markerů, který jsme v této studii sledovali. Pro diferenciální diagnostiku benigních a maligních nádorů ovarií je vhodné HE4 a CA 125 (shodně p-Value <0,0001). Změny hladin CEA a CA 19-9 mají význam pouze v individuálních případech, při statistickém porovnání neexistují signifikantní rozdíly.

*Závěr:* Sérové hladiny nádorových markerů HE4 a CA 125 byly významně zvýšené ve skupině maligního nádoru ovarií oproti benigním nádorům ovarií. Lze je tudíž použít pro diferenciální diagnostiku ovariálního karcinomu. Použití pro prvotní záchyt se jeví nadějně, ale pro definitivní závěr bude nutné zpracovat větší soubor pacientek. U border line tumorů ovarií jsou sérové hladiny zvýšené jen ojediněle, a proto je zatím nelze využít diagnosticky. Nádorové markery CEA a CA 19-9 pro prvotní záchyt ani diferenciální diagnostiku ovariálního karcinomu nejsou vhodné.

*Klíčová slova:* HE4, CA125, CEA, nádorový marker, ovariální karcinom

### SUMMARY

**Kučera R., Presl J., Topolčan O., Novotný Z., Fuchsová R., Vrzalová J., Betincová L., Rokyta Z.: Changes of serum levels of tumor markers in ovarian cancer and benign diseases**

*Objective:* Monitoring of changes in the serum levels of HE4, CA 125, CEA and CA 19-9 in ovarian cancer and diseases that can be considered in the differential diagnosis.

*Design:* Prospective study

*Material and Methods:* In the period from June 2010 to December 2011 was in the Immunoanalytical laboratory, University Hospital Pilsen serum of 749 patients examined. These patients with abnormalities in the pelvis came from department of Gynecology and Obstetrics. Patients were divided into groups according to diagnosis. Serum levels of HE4, CA 125, CEA and CA 19-9 were measured in all samples. HE4 and CA 125 were measured using the chemiluminescent Architect 1000 instrument (Abbott, USA), CEA and CA 19-9 were measured using the chemiluminescent Dxl 800 instrument (Beckman Coulter, USA). Statistical software SAS 9.2 was used for all statistical analysis.

*Results:* HE4 and CA 125 reached higher levels in the group of patients with histologically confirmed ovarian cancer compared with all other groups of diagnoses (median HE4 conc. 281 pmol/l, median CA 125 conc. 249 IU/l). HE4 and CA125 were very low in patients with ovarian cancer in remission. Border line ovarian tumors did not show a statistically significant increase in any of the tumor markers, we observed in this study. Endometriosis did not increase the levels of tumor markers, which were used. For differential diagnosis of benign and malignant ovarian tumors are HE4 and CA 125 suitable (both p-Value <0.0001). Changes in levels of CEA and CA 19-9 in this statistical comparison were not significant.

*Conclusion:* Serum levels of tumor markers HE4 and CA 125 were significantly increased (p-Value <0.0001) in the group of malignant ovarian tumors compared with benign ovarian tumors. They can be used as an useful tool for differential diagnosis of ovarian cancer. Using for primary detection looks promising, but for the final conclusion will be necessary to handle a larger set of patients. Border line ovarian tumors show not an increase in serum tumor markers which were used. Tumor markers CEA and CA 19-9 did not show a statistically significant difference in serum levels in the group of malignant tumors, compared to other ovarian diagnoses. For primary detection and differential diagnosis of ovarian cancer are not suitable.

*Key words:* HE4, CA125, CEA, tumor marker, ovarian cancer

## Úvod

Podle údajů Národního onkologického registru ČR byla v roce 2009 incidence ovariálního karcinomu v ČR 22,5/100000 [1]. Ovariální malignity jsou z gynekologických nádorů nejčastější příčinou smrti. Tyto nádory představují 5 % ze všech nádorů u žen a dále 23 % z gynekologických zhoubných nádorů. Mortalita je i přes pokles v posledních deseti letech stále vysoká. Celosvětově je proto věnována pozornost vyhledávání nových biomarkerů pro možnost primární a diferenciální diagnostiky tohoto onemocnění. Až do nedávné doby byl CA125 (Cancer antigen 125) jediným využívaným nádorovým markerem pro karcinom ovarii. Je senzitivní avšak málo specifický [2]. Po roce 2000 se objevily práce s využitím markeru HE4 (Human epididymis protein 4) [3]. Zjištění řady autorů ohledně senzitivity a specifity HE4 jsou velmi povzbudivá [4, - 7].

V naší práci jsme HE4 zasadili do palety nádorových markerů společně s CA 125, CEA (Cancer embryonic antigen) a CA 19-9 (Cancer antigen 19-9), protože poslední tři uvedené markery jsou gynekology nejčastěji požadovány při diagnostice karcinomu ovarii. Nejvíce frekventovaný je CA 125 a dále je pak následován CEA a CA 19-9.

## Materiál a metody

V období od června 2010 do prosince 2011 bylo v Imunoanalytické laboratoři FN Plzeň vyšetřeno sérum 749 pacientek gynekologicko-porodnické kliniky s abnormálním nálezem v pánevi. U všech žen byla odebrána krev z kubitální žíly vždy ráno mezi 7 až 10 hodinou do odběrových zkumavek VACUETTE®, (Greiner Bio-One, Rakousko). Sérum bylo odděleno centrifugací při 1700 x g po dobu 10 minut a vzorky byly buď okamžitě zpracovány nebo pokud je nebylo možno zpracovat do 24 hodin byly uchovávány až do doby stanovení při -80°C. Pacientky byly rozděleny do následujících šesti skupin podle diagnóz: benigní tumory ovaria bez histologické verifikace, benigní tumory ovaria histologicky

verifikované, karcinom ovaria před léčbou histologicky verifikovaný (rovnoměrné zastoupení nádorů ve stadiu FIGO I – IV), karcinom ovaria v remisi, ovariální tumor border line, endometrióza.

U všech bylo stanoveno HE4 a CA 125 chemiluminiscenční metodou na přístroji Architect 1000i (Abbott USA), CEA a CA 19-9 chemiluminiscenční metodou na přístroji Dxl 800 (Beckman Coulter, USA).

Pro veškeré statistické výpočty byl použit statistický software SAS 9.2.

## Výsledky

Výsledky sérových hladin nádorových markerů shrnuje Tabulka 1. V tabulce je vždy u každé diagnózy uveden počet žen s touto diagnózou a následuje pak medián a min – max koncentrace jednotlivých sérových markerů.

V Tabulce 2 jsme pak vyhodnotili statistickou významnost rozdílu sérových hladin nádorových markerů u skupiny maligních a benigních nádorů, ze které vyplývá použitelnost jednotlivých markerů pro diferenciální diagnostiku.

## Diskuse

V této práci jsme se věnovali vyhodnocení sérových hladin nádorových markerů u nemocných s patologickým nálezem v malé pánvi. Při vyhodnocení jsme v této studii záměrně neuplatnili žádné kritérium pro odlišení věku a menopauzálního statusu žen. Tato kritéria jsou v poslední době opakovaně diskutována a jejich podrobný rozbor bude předmětem naší další v současné době dokončené studie.

Z našich výsledků v Tabulce 1 je zřejmé, že HE4 dosahoval výrazně vyšších hladin (medián koncentrace 281 pmol/l) ve skupině pacientek s histologicky potvrzeným karcinomem ovarii oproti všem ostatním skupinám diagnóz. Též CA 125 dosáhl podobně výrazně vyšších hladin (medián koncentrace 249 IU/l) ve skupině pacientek s histologicky potvrzeným karcinomem ovarii.

**Table 1:** Serum levels of tumor markers in groups according diagnosis

Analyte (units)		HE4 (pmol/L)	CA125 (IU/L)	CEA (µg/L)	CA19-9 (IU/L)
Diagnosis	Count (N)	Median (Min – Max)	Median (Min – Max)	Median (Min – Max)	Median (Min – Max)
Benign without histology	367	38 (18 – 1842)	16 (3 – 2331)	1.2 (0.1 – 851)	5.0 (1.0 – 305)
Benign + histology	156	39 (17 – 214)	16 (3 – 1210)	1.1 (0.2 – 13.4)	6.0 (1.0 – 615)
Ovarian cancer before treatment + histology	30	281 (26 – 3590)	249 (32 – 44850)	1.5 (0.5 – 431)	9.0 (1.0 – 393)
Ovarian cancer in remission	54	39 (23 – 201)	11 (2 – 78)	1.6 (0.5 – 29.5)	5.0 (1.0 – 62)
Ovarian tumor border line	121	32 (16 – 97)	12 (4 – 2056)	1.0 (0.3 – 6.3)	7.0 (1.0 – 440)
Endometriosis	21	27 (18 – 51)	45 (15 – 195)	1.1 (0.3 – 3.3)	8.5 (5.0 – 117)

**Table 2:** Kruskal-Wallis test the statistical significance of difference in serum levels of tumor markers in a group of malignant and benign tumors

Diagnosis	Analyte	HE4 (p-Value)	CA125 (p-Value)	CEA (p-Value)	CA19-9 (p-Value)
Benign without histology vs. Ovarian cancer before treatment		<0.0001	<0.0001	0.0878	0.3269
Benign + histology vs. Ovarian cancer before treatment		<0.0001	<0.0001	0.0893	0.5326
Benign without histology vs. Benign + histology vs. Ovarian cancer before treatment		<0.0001	<0.0001	0.2132	0.3762
Benign without histology vs. Endometriosis		0.2354	<0.0482	0.2362	0.3256

HE4 i CA125 byly velice nízké u pacientek s karcinomem ovarí v remisi, a tudíž výborně korelovaly s klinickým stavem pacientek.

Border line tumory ovarí nevykázaly statisticky významné zvýšení žádného z nádorových markerů, který jsme v této studii sledovali. U CA 125 a CA 19-9 jsme sice zaznamenali několik zvýšených výsledků, ale výsledný medián nebyl těmito několika málo zvýšenými hodnotami ovlivněn. Záchyt nebo odlišení border line tumorů pomocí sérových nádorových markerů zůstává i nadále problematické.

Endometrióza hladiny HE4 nezvyšuje (min. hodnota 18 pmol/l, max. hodnota 51 pmol/l), naproti tomu u CA 125 jsme našli signifikantní rozdíl i když na 5% hladině významnosti oproti oběma skupinám benigních nádorů (p-Value <0.0482). Nádorové markery CEA a CA 19-9, které jsou často gynekology požadovány, nevykázaly statisticky významně odlišné sérové hladiny ve skupině maligních nádorů, oproti ostatním ovariálním diagnózám. Tyto dva markery jsou často zvýšeny v souvislosti s benigním nebo maligním onemocněním trávicího ústrojí a nesouvisejí tudíž s gynekologickou diagnózou. CA 19-9 dokonce vykázal několik absolutně nejvyšších výsledků ve skupině benigního tumoru ovarí (max 615 IU/l). Tyto hladiny byly sice ojedinělé, ale vysoce převyšily hladiny naměřené u skupiny ovariálního karcinomu (max 393 IU/l). CA 19-9 může být tedy někdy matoucí při hodnocení laboratorních výsledků, pokud se nejedná o mucinózní typ karcinomu, u kterého bývá marker CA 19-9 zvýšen.

V praxi je možné potom doporučit kombinaci nádorových markerů HE4 a CA125. Přibližně 20% epitelálních ovariálních karcinomů vykazuje malé nebo žádné zvýšení sérových hladin CA125, a tudíž samotný marker CA125 může být falešně negativní [9]. U více než 50% těchto malignit můžeme pozorovat zvýšené sérové hladiny HE4, a proto kombinace markerů může tyto nádory zachytit.

Užitečnost jednotlivých markerů pro diferenciální diagnostiku benigních a maligních nádorů ovarí, jednoznačně vyplývá ze statistické významnosti uvedené v Tabulce 2. Sérové hladiny nádorových markerů ze skupiny maligních, histologicky potvrzených diagnóz jsme porovnali nejprve s benigními nádory bez histologické verifikace a potom se skupinou benigních nádorů histologicky potvrzených. Nakonec jsme obě skupiny spojili a porovnali jsme je opět s maligní skupinou. Při třetím porovnání již byla skupina benigních nádorů

značně početnější oproti skupině maligních nádorů. U HE4 a CA125 se vůbec neprojevila změna počtu osob ve skupinách benigních nádorů a p-Value zůstalo vždy vysoce signifikantní (p-Value <0.0001).

## Závěr

Sérové hladiny nádorových markerů HE4 a CA 125 byly významně zvýšené ve skupině maligního nádoru ovarí oproti benigním nádorům ovarí. Lze je tudíž použít pro diferenciální diagnostiku ovariálního karcinomu. Použití pro prvozáchyt se jeví nadějně, ale pro ověření našeho závěru je nutné zpracovat větší soubor pacientek. Naš výzkumný úkol pokračuje a v současné době pracujeme na dalším sběru dat. HE4 i CA125 byly velice nízké u pacientek s karcinomem ovarí v remisi a korelovaly tudíž s klinickým stavem. Border line tumory ovarí nevykazují sérové zvýšení nádorových markerů a jejich detekce pomocí těchto metod zůstává problematická. Endometrióza hladiny HE4 neovlivňuje, signifikantně zvyšuje však hladinu CA 125.

Nádorové markery CEA a CA 19-9 nevykázaly statisticky významně odlišné sérové hladiny ve skupině maligních nádorů ovarí oproti ostatním benigním gynekologickým diagnózám. Pro prvozáchyt a rozlišení benigních od maligních ovariálních nádorů nemají takový význam jako HE4 a CA125.

## Literatura

1. ÚZIS (Národní onkologický registr ČR). Novotvary 2009 ČR. Praha: ÚZIS Zdravotnická statistika, 2012.
2. Fritsche, H. A., Bast, R. C., CA 125 in Ovarian Cancer: Advances and Controversy. *Clin. Chem.*, 1988, 44, p. 1379-1380
3. Hellstrom, I., Raycraft, J., Hayden-Ledbetter, M., et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. *Cancer Res.*, 2003, 63, p. 3695-3700.
4. Moore, R. G., McMeekin, D. S., Brown, A. K., et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecol. Oncol.*, 2009, 112, p. 40-46.
5. Molina, R., Escudero, J. M., Augé, J. M., Filella, X., Foj, L., Tomé, A., Lejarcegui, J., Pahisa, J., HE4 a novel tumour marker for ovarian cancer: comparison with CA 125 and ROMA algorithm in patients with gynaecological diseases. *Tumour Biol.* 2011, 32(6), p. 1087-95.

6. **Chang, X., Ye, X., Dong, L., et al.** Human epididymis protein 4 (HE4) as a serum tumor biomarker in patients with ovarian carcinoma. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2011, 21(5), p. 852-858.
7. **Partheen, K., Kristjansdottir, B., Sundfeldt, K.** Evaluation of ovarian cancer biomarkers HE4 and CA-125 in women presenting with a suspicious cystic ovarian mass. *J. Gynecol. Oncol.*, 2011, 22, p. 244-252.
8. **Moore, R. G., Miller, M. C., Disilvestro, P., Landrum, L. M., Gajewski, W., Ball, J. J., Skates, S. J.**, Evaluation of the diagnostic accuracy of the risk of ovarian malignancy algorithm in women with a pelvic mass. *Obstet. Gynecol.* 2011, 118: 280-288.
9. **Li, J., Dowdy, S., Tipton, T., et al.** HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial cancer management. *Expert Rev. Mol. Diagn.*, 2009, 9, p. 555-566.

*Tato studie byla podpořena z grantu MZ ČR IGAN S 10258-3.*  
Do redakce došlo 24. 5. 2012

*Adresa pro korespondenci:  
Mgr. Radek Kučera, Ph.D.  
FN Pízeň*

*Imunoanalytická laboratoř, Oddělení nukleární medicíny  
Dr. E. Beneše 13  
305 99 Pízeň  
e-mail: kuucera@seznam.cz*

**16. BEREZOVSKIY, D., VLASAK, P., KOSTUN, J., et al. Carcinosarcoma of the endometrium with melanocytic differentiation, case report. Ceska Gynekol. 82 (5), p. 390-395.**

# Karcinosarkom endometria s melanomovou diferenciací, kazuistika

## Carcinosarcoma of the endometrium with melanocytic differentiation, case report

Berezovskiy D., Vlasák P., Kosfun J., Bouda J., Presl J.

Gyneologicko-porodnická klinika LF UK a FN, Plzeň, přednosta doc. MUDr. Z. Novotný, CSc.

### ABSTRACT

**Objective:** The case report presents a case of 60-year old woman with a rare malignant mixed Müllerian tumor with melanomatous differentiation diagnosed from a histology after cervical polyp ablation and curettage.

**Design:** Case report.

**Setting:** Department of gynecology and obstetrics, University Hospital in Pilsen.

**Conclusion:** Carcinosarcoma, previously malignant mixed Müllerian tumor, is a very rare aggressive endo-

metrial carcinoma with low incidence, which typically occurs among older women and commonly affects the uterine body and cervix. Clinically, the carcinosarcoma is impossible to be distinguished from endometrial carcinoma or uterine sarcoma and the definitive diagnosis can only be made based on histological examination.

### KEYWORDS

**carcinosarkoma, malignán mixed Müllerian tumor, diagnostics, radical surgery, histology, relapse**

### SOUHRN

**Cíl studie:** Představujeme případ 60leté pacientky odeslané z okresní nemocnice, kde byla provedena ablace cervikálního polypu a separovaná kyretáž s histologickým nálezem vysoce maligního karcinosarkomu s melanomovou diferenciací.

**Typ studie:** Kazuistika.

**Název a sídlo pracoviště:** Gyneologicko-porodnická klinika LF UK a FN, Plzeň.

**Závěr:** Karcinosarkom, dříve maligní smíšený müllerian-ský tumor, je velice agresivní raritní endometriální kar-

cinom s nízkou incidencí, který se vyskytuje především u starších žen a nejčastěji postihuje děložní tělo a hrdlo. Klinicky karcinosarkom nelze odlišit od karcinomu endometria nebo sarkomu dělohy. Definitivní diagnóza může být stanovena pouze na základě histologického vyšetření.

### KLÍČOVÁ SLOVA

**karcinosarkom, maligní smíšený müllerian-ský tumor, diagnostika, radikální operace, histologie, recidiva**

MUDr. Denis Berezovskiy, e-mail: den.berezovsky@gmail.com  
Čes. Gynek., 2017, 82, č. 5, s. 390–395

### ÚVOD

Karcinosarkom (KS), dříve maligní smíšený müllerian-ský tumor (mixed malignant Müllerian tumor – MMT), je velice agresivní raritní endometriální karcinom (méně než 5 %), který obsahuje maligní epitelovou složku (karcinom) a maligní stromální složku (sarkom). Jedná se o tumor, který postihuje především starší ženy v průměrném věku 62–67 let, s nízkou incidencí, asi 1–4/100 000 žen.

Karcinosarkom nejčastěji postihuje děložní tělo a hrdlo, kdy typickým nálezem je velký korporální polyp vyplňující celou dutinu děložní, ale může být nalezen i ve vejcovodech, vaječnicích, pochvě, na

peritoneu či extragenitálně. Klinicky karcinosarkom nelze odlišit od karcinomu endometria nebo sarkomu dělohy. Definitivní diagnóza může být stanovena pouze na základě histologického vyšetření. Mikroskopická různorodost a nízká četnost případů má svůj odraz v častých nejasnostech o klinickém postupu a nízké úspěšnosti léčby této patologie.

V kazuistice představujeme případ 60leté pacientky odeslané z okresní nemocnice, kde byla provedena ablace cervikálního polypu a separovaná kyretáž s histologickým nálezem vysoce maligního KS s melanomovou diferenciací. Vzhledem

k nálezu byl v našem onkogynekologickém centru proveden radikální výkon v rozsahu střední laparotomie, extrafasciální hysterektomie s oboustrannou adnexektomií, infrakolická a suprakolická omentektomie, apendektomie a pánevní a paraaortální lymfadenektomie.

Definitivní histologické zpracování potvrdilo diagnózu karcinosarkomu s diferenciací do maligního melanomu stadia pT1apN0M0. U nemocné byla následně indikována dispenzarizace gynekologem. Po osmi měsících od radikální chirurgické léčby byla pacientka přijata k symptomatické terapii pro generalizaci karcinosarkomu a rozsáhlou plicní embolií.

### VLASTNÍ POZOROVÁNÍ

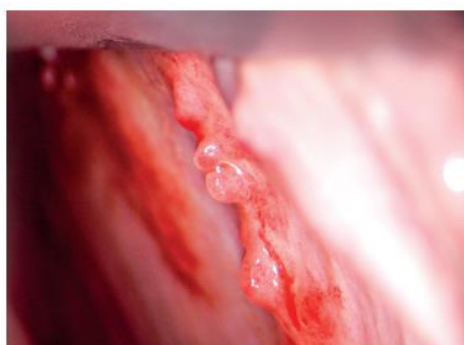
Šedesátiletá žena byla odeslána do Komplexního onkologického centra (KOC) FN Plzeň z gynekologického oddělení okresní nemocnice, kde byla provedena ablace cervikálního polypu velikosti 5×3 cm a separovaná kyretáž pro šest měsíců trvající špinění. Histologicky byl verifikován karcinosarkom s melanomovou diferenciací vycházející z cervikálního polypu. Bylo doplněno oční a kožní vyšetření, které neprokázaly známky primárního melanomu. Pacientka měla negativní gynekologickou anamnézu, pravidelně gynekologem sledována nebyla, naposledy byla vyšetřena před třemi lety. V osobní anamnéze měla pouze varixy obou dolních končetin při pravidelném užívání vazoprotektiv.

Podle vstupního gynekologického vyšetření v KOC FN Plzeň byla v zrcadlech v zevní brance patrná kontaktně krvácející žláznatá struktura velikosti 8×5 mm, makroskopicky podezřelá z rezidua tumoru, v oblasti levé poševní stěny dále patrné suspektní ložisko o rozměrech 1,2×1,5 mm (obr. 1, 2). Podle expertního sonografického vyšetření na Gynekologicko-porodnické klinice FN Plzeň byla popsána děloha a děložní hrdlo normální velikosti, v oblasti zevní branky centrálně patrné hyperechogenní reziduum po odstraněném maligním polypu velikosti 10×8×7 mm, s diskrétní vaskularizací, parametria bez infiltrace, Douglasův prostor bez volné tekutiny, myometrium homogenní, dutina děložní symetrická, dobře ohraničená, endometrium nízké, ovaria atrofická, normálního vzhledu, oblast pánevních cév a třísel bez patologické lymfadenopatie (obr. 3, 4).

Vzhledem k histologickému nálezu byla indikována radikální chirurgická léčba v rozsahu střední laparotomie: lavage dutiny břišní, extrafasciální hysterektomie s oboustrannou adnexektomií, infrakolická a suprakolická omentektomie, apendektomie, pánevní a paraaortální lymfadenektomie, a exstirpace suspektního ložiska z levé



Obr. 1 Reziduum tumoru v oblasti zevní branky po polypektomii



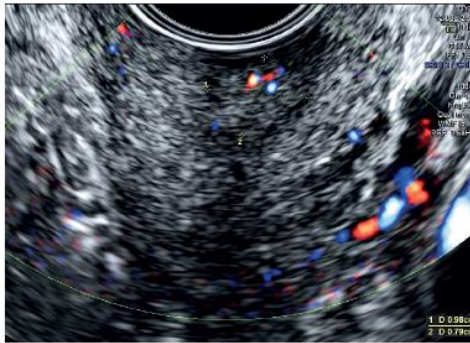
Obr. 2 Suspektní ložisko na poševní stěně

poševní stěny. Perioperačně byla zjištěna volná děloha v anteverzi, anteflexi, normální velikosti a vzhledu, adnexa oboustranně bez patologických změn, v Douglasově prostoru fyziologické množství výpotku, peritoneum, střevo i omentum bez maligních změn, bránice, játra a podjaterní krajina bez známek tumoru. Operace byla provedena s nulovým makroskopickým reziduem. Pooperační období proběhlo bez komplikací, pacientka byla propuštěna z hospitalizace devátý pooperační den.

Patologem byla popsána děloha s reziduem vřetenobuněčného epiteloidního novotvaru, který imunohistochemicky reagoval pozitivně s tyrozinázou, SOX10, HMB45 a s cytokeratiny. Omentum, appendix a lymfatické uzliny (histologicky vyšetřeno celkem 30 uzlin) bez nádorového postižení. Klinicky suspektní metastáza na poševní stěně byla histologicky vyšetřena a diagnostikována jako vaginální polyp. Cytologické vyšetření „lavage“ z břišní dutiny bylo negativní na přítomnost maligních buněk.

Vzhledem k přítomnosti jasných epitelových formací, vzhledem k nepřítomnosti primárního





**Obr. 3** Hyperchogenní reziduum po odstraněném maligním polypu



**Obr. 4** Přívodná céva s diskretním cévním zásobením

melanomu a absenci specifické translokace, byla vylučovacím způsobem stanovena diagnóza vysoce maligního KS s melanomovou diferenciací. Pacientka byla s definitivním výsledkem histologie přeložena na Onkologickou a radioterapeutickou kliniku FN Plzeň, kde byla indikována pouze pečlivá dispenzarizace gynekologem. Dále se již pacientka na kontrolní vyšetření na onkogynekologickou ambulanci KOC GPK FN Plzeň nedostavila.

Pacientka byla sledována u obvodního gynekologa, kterého navštívila dvakrát během čtyř měsíců, bez sonografického vyšetření a bez nálezu recidivy. Disease free interval (DFI) u pacientky trval asi pět měsíců. Po této době pacientka začala pozorovat pocit stupňujícího se nitrobršního napětí a po třech měsících sama přichází na centrální příjem FN Plzeň pro zhoršení celkového stavu, týden trvající ortostázu a nechutenství, pozoruje námahovou dušnost, otok a zarudnutí levé dolní končetiny, bez bolesti na hrudi či bolesti břicha, průjmu a dysurie, stolice je pravidelná, normokolorická, bez nadýmání, plyny

odcházejí, pacientka je subfebrilní, normotenzní s poslechově čistým dýcháním. Pro otok levé dolní končetiny bylo provedeno sonografické vyšetření žil dolních končetin, na kterém byla popsána subakutní rozsáhlá femoro-popliteo-cruální trombóza levé dolní končetiny, a proto byla doplněna CT angiografie s nálezem rozsáhlé plicní embolizace od větvení pravé a levé plicní tepny, jako vedlejší nález byla popisována volná tekutina a vícečetné peritoneální metastázy v pravém epigastriu. Byla provedena punkce ascitu pod USG kontrolou a vzorek punktátu odeslán na cytologické vyšetření.

Pacientka byla hospitalizována na I. interní klinice FN Plzeň, kde byla zahájena terapie nízkomolekulárním heparinem, infuzní terapie a indikována odlehčovací punkce ascitu. Cytologické vyšetření punktátu bylo pozitivní na přítomnost maligních buněk s jadernou pozitivitou SOX 10 a cytoplazmatickou pozitivitou HMB45, které odpovídají maligní komponentě dříve diagnostikovaného karcinosarkomu s melanomovou diferenciací. Sedmý den hospitalizace byla pacientka odeslána ke gynekologickému konziliárnímu vyšetření na ambulanci Gynekologicko-porodnické kliniky FN Plzeň. V pravém mezogastriu a hypogastriu byly hmatné fixované solidní rezistence. Bimanuální gynekologické vyšetření bylo ztížené ascitem, pochva klidná, bez zánětlivých změn a známek prorůstání, slepě končící. Dorzálně od poševního pahýlu je hmatný dolní pól fixované nepohyblivé solidní rezistence hladkých kontur, v průměru minimálně 7 cm. Při vyšetření per rectum je stěna rektu v dosahu prstu hladká. Nález byl uzavřen jako inoperabilní recidiva základního onemocnění, doporučena byla pozitronová emisní tomografie (PET-CT) k upřesnění rozsahu onemocnění, poté objednání k onkologickému konziliu k stanovení možnosti podání paliativní chemoterapie.

Podle PET-CT provedeného devátý den hospitalizace byla popsána rozsáhlá vysoce metabolicky aktivní generalizace maligního onemocnění na viscerálním i parietálním peritoneu. Počínající městnání v dutém systému pravé ledviny útlakem ureteru metastatickými pakety uzlin v úrovni dolního retroperitonea a pánve, ascites. Subjektivně se pacientka cítí velmi slabá, při námaze se zadýchává, je bledá, kachektizuje a po onkologickém konziliu byla přeložena na oddělení ORAK FN Plzeň. Vzhledem k celkovému stavu (WHO 3) byla pacientka shledána nevhodná k onkologické léčbě a dále byla doporučena pouze symptomatická léčba. Následně po domluvě s rodinou a pacientkou byl zajištěn překlád na Léčebnu dlouhodobě nemocných nemocnice Privamed Plzeň, kde pacientka zemřela.

## DISKUSE

Karcinosarkom s melanomovou diferenciací patří mezi extrémně vzácná nádorová onemocnění s nepříznivou prognózou, krátkým DFI i overall survival (OS). Doposud byly popsány pouze dva případy karcinosarkomu endometria s melanomovou diferenciací (Pubmed a ScienceDirect). První je kauzistika 54leté ženy s anamnézou karcinomu prsu a zjištěným karcinosarkomem endometria v průběhu léčby tamoxifenem. Po zahájení adjuvantní terapie pacientka zemřela za osm měsíců na generalizaci [7, 10, 15, 17]. Druhá kauzistika popisuje případ 65leté ženy s postmenopauzálním krvácením, u které byl diagnostikován špatně diferencovaný karcinom a byla provedena radikální hysterektomie s oboustrannou adnexektomií. Makroskopicky byl zjištěn endometriální tumor o velikosti tři centimetry, který histologicky odpovídal karcinosarkomu s větší epitelovou a menší mezenchymální komponentou a v obou dvou složkách byl nalezen melaninový pigment [1]. V citovaném článku nejsou uvedena klinická data o DFI či OS.

Karcinosarkom děložního těla nebo maligní smíšený müllerianský tumor je nediferencovaný (metaplastický) karcinom, který zahrnuje karcinomatózní a sarkomatoidní, popřípadě sarkomové elementy rostoucí z jednoho maligního kmene. Karcinosarkom je považován za high-risk variantu endometriálního adenokarcinomu. Epidemiologie, rizikové faktory a klinické příznaky těchto tumorů jsou shodné. Karcinosarkom je vzácný nádor s nízkou incidencí, který tvoří méně než pět procent maligních nádorů děložního těla a typicky postihuje ženy ve věku 62–67 let [2]. Rizikové faktory vzniku tohoto onemocnění jsou podobné jako u endometriálního karcinomu a jsou spojeny s obezitou, nuliparitou, vlivem exogenních estrogenů a užíváním tamoxifenu [7, 15, 17]. Karcinosarkom je dáván také do souvislosti s předchozí iradiací pánve (0–30 %) [12]. Progestinová kontraceptiva jsou protektivním faktorem proti vzniku obou typů malignit. Podle klinických příznaků, laboratorních vyšetření a zobrazovacích metod není možné rozlišit karcinosarkom, endometriální karcinom a děložní sarkom. Diagnóza může být stanovena pouze na základě histologického vyšetření. Pacientky s heterologními tumory bývají starší, mívají pokročilejší onemocnění a mohou mít klasickou klinickou triádu: bolesti, krvácení a rychle se zvětšující dělohu. Z výše uvedených symptomů je děložní krvácení nejčastějším klinickým příznakem [5, 6]. Prozatím největší práce, která analyzuje symptomy karcinosarkomu, zahrnuje 300 pacientek s perime-

nopauzálním krvácením (82 %), pánevní bolestí (13 %) a výtokem (10 %) [5].

Více než 10 % pacientek s karcinosarkomem má metastatické postižení extragenitálních orgánů, 60 % extrauterinní šíření tumoru a při fyzikálním vyšetření je přítomna hmatná rezistence v malé pánvi [13]. U 15 % pacientek lze diagnostikovat šíření tumoru do děložního hrdla při cervikální biopsii nebo kyretáži cervikálního kanálu [5]. Při diagnostice pacientek s podezřením na malignitu dělohy začíná vždy vyšetření sběrem anamnestických údajů, klinickým vyšetřením, a zejména expertním sonografickým vyšetřením. Pro KS může být charakteristický hyperechogenní vzhled v porovnání s okolním myometriem. Sonograficky by měla být popsána výška endometria, prorůstání nádoru do myometria a rozměry nádoru [8]. Avšak ani při expertním sonografickém vyšetření není možné odlišit karcinosarkom od endometriálního adenokarcinomu. U žen s klinickým podezřením na malignitu endometria je nutné provést cílenou biopsii cestou hysteroskopie či kyretáže dutiny děložní a na základě histologického výsledku a dalších obligatorních stagingových vyšetření je plánována následná léčba. Nicméně pokud je negativní biopsie endometria a klinické podezření na endometriální malignitu zůstává vysoké, je nutné biopsické vyšetření opakovat. Vzhledem k tomu, že karcinosarkom vychází ze sliznice děložní dutiny, je přístupnější k biopsii než čisté děložní sarkomy [3].

Diagnóza KS je založena na histologickém nálezu dvou komponent: epitelové (nejčastěji endometroidního karcinomu, adenokarcinomu se skvamózní diferenciací, serózního, clear cell nebo nediferencovaného karcinomu) a složky mezenchymální, podle které lze KS rozdělit na homologní, obsahující buňky, které jsou nativní součástí dělohy – hladká svalovina, endometriální stroma (endometriální stromální sarkom, leiomyosarkom, nediferencovaný endometriální sarkom) a heterologní, neobvyklou tkáň, jako je chrupavka, kost, kosterní svalovina – chondrosarkom, rabdomyosarkom, osteosarkom, liposarkom. U karcinosarkomů je typický jejich polypoidní růst. Na řezu jsou nehomogenní, s nekrotizací, cystickými změnami a krvácením. Ačkoli bývá invaze do myometria pravidlem, tumor může být omezen pouze na polyp. Nejdůležitějším prognostickým faktorem u karcinosarkomu je stadium onemocnění, hloubka invaze do myometria a extrauterinní šíření nádoru. Lymfovaskulární invaze je spojena se signifikantně vyšší pravděpodobností metastázování.

Pacientky s histologicky verifikovanou diagnózou by se měly podrobit dalším doplňujícím vyšet-

řením k vyloučení metastatického postižení vzhledem k 20% riziku extragenitálního šíření již v době projevů prvních příznaků onemocnění. Neexistují žádné studie, které by preferovaly jednu zobrazovací metodu. Vhodná je výpočetní tomografie (CT) hrudníku, břicha a pánve pro hodnocení rozsahu onemocnění. Tyto informace jsou nezbytné ke stanovení příslušného léčebného plánu. Pozitronová emisní tomografie (PET), případně PET/CT může být použita místo CT vyšetření, existují pouze omezené údaje, které naznačují, že PET/CT poskytuje více informací, ale využití PET/CT nebylo spojeno se zlepšením celkového přežití [14]. Diferenciální diagnostika je stejná jako u endometriálního adenokarcinomu.

Ženy, u kterých biopsie prokázala karcinosarkom, lze rozdělit do dvou kategorií: pacientkám bez známek extrauterinního šíření je doporučena primární chirurgická léčba, ženám s extrauterinním šířením tumoru, které je omezeno jen na dutinu břišní, je doporučena chirurgická cytoredukce a u pacientek s extraabdominálním šířením tumoru je indikována paliativní léčba. Přínos chirurgické léčby nebo chemoterapie je individuální a záleží na symptomech a klinickém stavu pacientky. Dosud není jednoznačný konsensus léčby tohoto onemocnění. Přístupem se neliší od adenokarcinomu endometria. V počátečních stádiích je indikována radikální chirurgická léčba s následnou dispenzarizací nebo adjuvantní chemoterapií (karboplatina + paklitaxel), která je preferována před radioterapií [16]. V pokročilých stádiích (III a více) je preferována primární chemoterapie. I přes záchyt onemocnění ve stadiu IA se pětileté přežití pohybuje kolem 50 %, pacientky ve vyšších stádiích umírají většinou do dvou let od zjištění diagnózy. Gonzales Bosquet et al. ve své práci provedli analýzu 121 pacientek po chirurgickém řešení děložního karcinosarkomu s následnou dispenzarizací (29 %), radioterapií (38 %) a chemoterapií (33 %). Bez ohledu na léčbu pětileté přežití u pacientek ve stadiu I/II bylo 59 %, st. III 22 %, st. IV 9 % [9].

## ZÁVĚR

Karcinosarkom s melanomovou diferenciací je raritní, vysoce maligní tumor se špatnou prognózou, časným relapsem a krátkým celkovým přežitím. Nejdůležitějším prognostickým faktorem je stadium onemocnění [11]. Dalšími důležitými prognostickými faktory jsou lymfovaskulární invaze, věk pacientky a pozdní nástup menopauzy [4]. Pokud máme podezření na karcinosarkom, mezi základní zobrazovací metody k určení stadia by mělo patřit celotělové CT, event. PET-CT.

Karcinosarkom má podobné šíření jako adenokarcinom, a proto se doporučuje stagingová operace v podobném rozsahu, jako odpovídá jednotlivým stadiím u adenokarcinomu. Cílem follow-up po radikální léčbě je časná detekce recidivy onemocnění. Dispenzarizace zahrnuje monitorování klinických symptomů a fyzikální vyšetření po třech měsících první dva roky a dále jednou za šest měsíců nebo ročně.

## LITERATURA

1. **Amant, F., Moerman, P., Davel, GH., et al.** Uterine carcinosarcoma with melanocytic differentiation. *Int J Gynecol Pathol*, 2001, 20(2), p. 90-186.
2. **Arend, R., Doneza, JA., Wright, JD.** Uterine carcinosarcoma. *Curr Opin Oncol*, 2011, 23, p. 531.
3. **Bansal, N., Herzog, T.J., Burke, W., et al.** The utility of preoperative endometrial sampling for the detection of uterine sarcomas. *Gynecol Oncol*, 2008, 110, p. 43.
4. **Bodner-Adler, B., Bodner, K., Obermalr, A., et al.** Prognostic parameters in carcinosarcomas of the uterus: a clinico-pathologic study. *Anticancer Res*, 2001, 21, p. 3069.
5. **Callister, M., Ramondetta, L.M., Jhingran, A., et al.** Malignant mixed Müllerian tumors of the uterus: analysis of patterns of failure, prognostic factors, and treatment outcome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 58, p. 786.
6. **Dave, KS., Chauhan, A., Bhansali, R., et al.** Uterine carcinosarcomas: 8-year single center experience of 25 cases. *Indian J Med Paediatr Oncol*, 2011, 32, p. 149.
7. **Fotlou, S., Hatjileftheriou, G., Kyrousis, G., et al.** Long-term tamoxifen treatment: a possible aetiological factor in the development of uterine carcinosarcoma: two case-reports and review of the literature. *Anticancer Res*, 2000, 20, p. 2015.
8. **Frühau, F., Dvořák, M., Haaková, L., et al.** Ultrazvukový staging karcinomu endometria - doporučená metodika vyšetření. *Čes Gynecol*, 2014, 79, 6, s. 76-466.
9. **Gonzalez Bosquet, J., Terstrie, SA., Cilby, WA., et al.** The impact of multi-modal therapy on survival for uterine carcinosarcomas. *Gynecol Oncol*, 2010, 116, p. 419.
10. **Kajo, K., Zubor, P., Spacek, J., Ryska, A., et al.** Carcinosarcoma of the uterus with melanocytic differentiation. *Pathol Res Pract*, 2007, 203, 10, p. 753.
11. **Nemani, D., Mitra, N., Guo, M., Lin, L.** Assessing the effects of lymphadenectomy and radiation therapy in patients with uterine carcinosarcoma: a SEER analysis. *Gynecol Oncol*, 2008, 111, p. 82.
12. **Pothuri, B., Ramondetta, L., Martino, M., et al.** Development of endometrial cancer after radiation treatment for cervical carcinoma. *Obstet Gynecol*, 2003, 101, p. 941.
13. **Salazar, OM., Bonfiglio, TA., Patten, SF., et al.** Uterine sarcomas: natural history, treatment and prognosis. *Cancer*, 1978, 42, p. 1152.
14. **Tirumani, SH., Ojili, V., Shanbhogue, AK., et al.** Current concepts in the imaging of uterine sarcoma. *Abdom Imaging*, 2013, 38, p. 397.

15. **Trelleux, T., Mignotte, H., Clement-Chassagne, C., et al.** Tamoxifen and malignant epithelial-nonepithelial tumours of the endometrium: report of six cases and review of the literature. *Eur J Surg Oncol*, 1999, 25, p. 477.
16. **Wolfson, AH., Brady, MF., Rocereto, T., et al.** A gynecologic oncology group randomized phase III trial of whole abdominal irradiation vs. cisplatin-ifosfamide and mesna as post-surgical therapy in stage I-IV carcinosarcoma of the uterus. *Gynecol Oncol*, 2007, 107, p. 177.
17. **Zelmanowicz, A., Hildeshelm, A., Sherman, ME., et al.** Evidence for a common etiology for endometrial carcinomas and malignant mixed mullerian tumors. *Gynecol Oncol*, 1998, 69, p. 253.

**MUDr. Denis Berezovskly**  
Gynekologicko-porodnická klinika  
LF UK a FN  
Alej Svobody 80  
304 60 Pízeň  
e-mail: den.berezovsky@gmail.com

**17. KOSTUN, J., BOUDA, J., VLASAK, P., et al. Incidence of uterine sarcomas in West Bohemia, at the Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital in Pilsen, Czech Republic. Ceska Gynekol. 2017, 82 (6), p. 436-442.**

# Incidence of uterine sarcomas in West Bohemia, at the Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital in Pilsen, Czech Republic

Výskyt děložních sarkomů v západních Čechách, Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň

Kosťun J.<sup>1</sup>, Bouda J.<sup>1</sup>, Vlasák P.<sup>1</sup>, Bartáková A.<sup>1</sup>, Berezovskiy D.<sup>1</sup>, Weinberger V.<sup>2</sup>, Presl J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN, Plzeň, přednosta doc. MUDr. Z. Novotný, CSc.

<sup>2</sup>Gynekologicko-porodnická klinika LF MU a FN, Brno, přednosta prof. MUDr. P. Ventruba, DrSc., MBA

## ABSTRACT

**Objective and setting:** A retrospective review of women of the West Bohemian population was performed at the Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital in Pilsen, Czech Republic from 1/2005 – 1/2017.

**Methods:** The following data was analysed: patients age, histological type, tumour size, FIGO stage, body mass index, previous irradiation, Tamoxifen usage, and other possible risk factors. A total number of 20 uterine sarcoma patients were detected in the period from 1/2005 to 1/2015, and these cases were followed until 1/2017.

**Results:** The histological types identified were: leiomyosarcoma in 12 cases, endometrial stromal sarcoma in 7 cases and one case of high-grade undifferentiated uterine sarcoma. This only patient diagnosed with high-grade undifferentiated uterine sarcoma showed distant metastases 12 months after the surgical treatment and died one month later. The whole group of uterine sarcoma patients regardless histological subtype reached two years in 50% of cases, with the median

disease-free interval 18 months and the median follow up of 38 months.

The diagnosis of sarcoma was already known in 25% of cases from dilatation and curettage histology. There were suspicious sonographic findings suggestive of sarcoma in 10% of cases. Multiparity was associated with 48.2% of endometrial stromal sarcoma cases. The leading clinical symptom was postmenopausal bleeding in 55% of patients.

**Conclusion:** We confirmed uterine sarcomas to be rare malignancies, even in the Czech population with high uterine malignancy incidence. Uterine cold knife morcellation during the vaginal part of laparoscopically assisted vaginal hysterectomy didn't worsen the prognosis of our patients.

## KEYWORDS

uterine sarcoma, incidence, risk factors, cold knife morcellation, Czech Republic

## SOUHRN

**Cíl studie, název a sídlo pracoviště:** Cílem této studie na Gynekologicko-porodnické klinice ve FN Plzeň bylo provedení retrospektivní analýzy dat našich pacientek s děložními sarkomy za účelem bližší charakteristiky této skupiny. Studie pokrývala období od 1/2005 do 1/2015, včetně údajů follow-up těchto pacientek do 1/2017.

**Metodika:** V rámci analýzy byla retrospektivně zhodnocena tato data a možné rizikové faktory: věk pacientky, histologický typ a velikost tumoru, FIGO klasifikace, body mass index, předchozí ozařování či užívání tamoxifenu atd. Od 1/2005 do 1/2015 bylo diagnostikováno 20 děložních sarkomů. Studie zohledňuje data z follow-up těchto pacientek do 1/2017.

**Výsledky:** V naší skupině bylo diagnostikováno 12 leiomyosarkomů, sedm endometriálních stromálních sarkomů a jeden případ nediferencovaného děložního sarkomu. Všechny pacientky, bez ohledu na histologický typ sarkomu, dosáhly dvouletého přežití v 50 %. Medián doby do návratu onemocnění byl 18 měsíců, medián follow-up 38 měsíců. Postmenopauzální krvácení bylo přítomno v 55 % případů. U 25 % pacientek byla diagnóza sarkomu známa již předoperačně z histologického výsledku kyretáže, 10 % případů mělo ultrazvukový nálezy se suspekci pro sarkom. Ve 48,2 % byl endometriální stromální sarkom asociován s multiparitou.

**Závěr:** Děložní sarkomy jsou vzácné agresivní tumory, což platí i pro populaci žen v západních Čechách s velmi vysokou incidencí děložních malignit. Ve dvou přípa-

dech došlo k morcelaci dělohy skalpelem při vaginální části LAVH (bez znalosti diagnózy děložního sarkomu). Tento fakt se však neprojevil negativně v následujícím období sledování.

#### KLÍČOVÁ SLOVA

děložní sarkomy, incidence, rizikové faktory, morcelace skalpelem, Česká republika

MUDr. Jan Kostun, e-mail: jan.kostun@gmail.com  
Čes. Gynec., 2017, 82, č. 6, s. 436–442

## INTRODUCTION

The Czech Republic ranks among the countries with the highest incidence of uterine malignancies in the world [13]. According to the Czech National Oncological Database, the female population of West Bohemia shows the highest nationwide incidence of uterine malignancies with an incidence of 34/100 000 and a mortality of 13.1/100 000. This database retrospectively covers the years from 1977–2013 [33].

Primary uterine malignancies are most commonly represented by epithelial tumours and only rarely by mesenchymal or mixed histological manifestations. Malignant mesenchymal tumours originating from uterine connective tissue are a histologically diverse group associated with a very poor prognosis [2]. According to literature, uterine sarcomas (US) account for approximately 3% to 7% of all uterine malignancies [32].

According to the WHO classification published in 2014 the uterine sarcomas are divided in two main groups: the mesenchymal and the mixed epithelial and mesenchymal tumours. The former group contains leiomyosarcoma, endometrial stromal sarcoma, undifferentiated endometrial sarcoma and smooth muscle cells of uncertain malignant potential. The latter group is including carcinosarcoma and adenosarcoma [27].

Approximately 40% of uterine sarcomas are represented by leiomyosarcomas. These tumours have typically pink or grey surface, necrotic and haemorrhagic areas and their margins are either infiltrative or well defined. The basic histological features defining the grade of the tumour are cellular atypia, mitotic activity and the presence of tumour cell necrosis. According to morphology we can distinguish following main categories: spindle, epithelioid and myxoid [6].

The second most frequent uterine sarcoma is represented by endometrial stromal sarcoma. It forms soft, yellow nodules infiltrating the endometrium and myometrium. The tumour necrosis and areas of haemorrhage may be observed. The microscopic characteristic of this lesion resembles the proliferative-phase endometrium. Very uncommon tumour is the undifferentiated endometrial stromal sarcoma. It is a high-grade sarcoma

without any specific histological features. Thus, the histological diagnosis is made after excluding all other possibilities [36].

In 2010 the International Federation of Gynaecology and Obstetrics (FIGO) published a new staging system for US including the size of the tumour as an important prognostic marker for disease limited to the uterus [16]. Detailed knowledge of risk factors is lacking due to the low incidence of US. The only risk factor present in 10–25% of cases is previous pelvic radiation therapy. In addition, the incidence of US was proven to be associated with the use of Tamoxifen [7, 8, 35].

The aim of this report is to retrospectively collect data from our patients diagnosed with any type of uterine malignancy, and then in detail to characterize those with malignant mesenchymal tumours to find any specific clinical features or possible risk factors. In doing so this analysis could improve the identification of patients with a higher risk of US, and lower the number of unexpected sarcomas with inadequate primary treatment or inappropriate usage of power morcellation.

Uterine carcinosarcoma (malignant Mullerian mixed tumour), is no longer considered a purely mesenchymal tumour but a mixed epithelial and mesenchymal tumour and so is not included in this analysis of sarcomas [28].

## PATIENTS AND METHODS

A search of the medical database of the Department of Obstetrics and Gynaecology at the University Hospital in Pilsen, Charles University in Prague between January 2005 and January 2015 was performed to collect data of all the patients with uterine malignancies and identify those with diagnosed US for a more detailed analysis. Their medical records, including follow up data until January 2017, were systematically reviewed for the following variables; date of diagnosis, histological subtype, age, parity, tumour size, association with Tamoxifen use or previous pelvic radiation therapy, FIGO staging, clinical manifestation, disease free interval and overall sur-

**Table 1a. Patient characteristics, general**

	LMS	ESS	High-grade undiff. US
Age in years (median)	53 (min 41, max 68)	55 (min 42, max 76)	69
Smokers	2 (16.7%)	4 (57.1%)	1 (100%)
BMI in kg/m <sup>2</sup> (median)	25.1 (min 21.7, max 30.5)	33.3 (min 25, max 50.2)	27
Parity (0-IVp)	0	-	-
I	5 (41.7%)	2 (28.6%)	1 (100%)
II	5 (41.7%)	1 (14.3%)	-
III	1 (8.3%)	1 (14.3%)	-
IV	-	3 (42.8%)	-
Tamoxifen	0	0	1
Pelvic radiation	0	0	0

**Table 1b. Patient characteristics irrespectively to histological subtype**

Age in years (median)	55 (min 41, max 76)
BMI in kg/m <sup>2</sup> (median)	27.3
Smokers	7 (35%)
Tamoxifen	1 (5%)
Pelvic radiation	0

**Table 1c. Patient characteristics, sites of metastasis**

Locoregional metastasis	LMS	ESS	High-grade undiff. US
Urinary bladder	1 (8.3%)	-	-
Vagina	-	1 (14.3%)	-
Pelvic nodes	-	1 (14.3%)	-
Pelvic peritoneum	1 (8.3%)	-	-
Rectosigma	3 (25%)	-	-
Distant metastasis	LMS	ESS	High-grade undiff. US
Bone	3 (25%)	2 (28.6%)	1 (100%)
Lung	2 (16.6%)	1 (14.3%)	1 (100%)
GI	2 (16.6%)	1 (14.3%)	1 (100%)
Brain	1 (8.3%)	-	-

vival. The staging was performed retrospectively according to current FIGO revision from 2009. The following US subtypes were distinguished by histology: leiomyosarcoma (LMS), endometrial stromal sarcoma (ESS) and high-grade undifferen-

tiated US. Furthermore, the medical records were searched for any types of uterine morcellation technique used and any suspicion of malignancy prior to surgical treatment (i.e. sonographic findings, histology etc.). Given the character of the



study, a patient informed consent was not considered necessary.

## RESULTS

Between January 2005 and January 2015, 1954 new cases of malignant gynaecologic diseases were diagnosed. The total count of uterine malignancies in the above mentioned period was 668 cases (34.2%); among them were 20 US (1% of all malignancies, 3% of uterine malignancies). For US, hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy (BSO) was the primary treatment in all cases, except in two LMS cases where BSO was not performed due to the low age of the patient and because malignancy was not suspected. In one case of ESS it was necessary to add further debulking with intestinal resection, and in one case of LMS omentectomy was performed due to tumoral infiltration. There were no cases of primary lymph-node dissection in this US study group.

The vast majority of US were represented by LMS in 12 cases (60%), ESS in 7 cases (35%) and high-grade undifferentiated US in one case (5%). Most of the women were postmenopausal (65%, n=13). The median age of the patient at the time of diagnosis was 55 irrespective of histological subtype (see Table 1a, 1b and 1c for more details).

The diagnosis of US was already known in five cases (25%) due to histology from dilation and curettage (D&C). In one case the histological examination from D&C showed a poorly differentiated endometrioid adenocarcinoma; nevertheless the final histology from a uterine specimen showed the result of endometrial stromal sarcoma with infiltrative growth to other pelvic structures. It was a 75-year-old patient, obese (BMI 37), presented with postmenopausal bleeding. The sonographic examination showed a suspicious tumorous mass greater than 10 cm in diameter with hyperechogenic homogenous features.

In two cases (10%) there was a suspicion of US according to expert sonographic examination (oval inhomogeneous solid structure of uterine mass with atypical vessels and necrosis- identified in both cases). In 13 cases the diagnoses of US was not expected prior to surgery (65%). All patients had one of the following clinical symptoms: pre or postmenopausal vaginal bleeding was present in 11 (55%) of the cases, abdominal discomfort in 8 (40%) cases and two patients suffered from fatigue (10%).

As reflected in the current FIGO classification of US, the size of the tumour does matter. Table 2 summarizes the size of the diagnosed malignancy irrespective of its histological type and Table 3 the

staging according to the latest FIGO revision (2009) in our patients.

In patients with LMS, 16 months was the me-

Table 2 Tumour size

Tumour size in cm	n.	%
< 5	6	30
5-10	3	15
10-15	7	35
> 15	4	20

Table 3 FIGO classification (2009)

		n	%
LMS	FIGO I	5	41.7
	FIGO II	4	33.3
	FIGO III	2	16.7
	FIGO IV	1	14.3
ESS	FIGO I	5	71.4
	FIGO II	-	-
	FIGO III	1	14.3
	FIGO IV	1	14.3
High-grade undiff. US	FIGO IB	1	100

dian disease free interval, the overall survival longer two years was 58%, the median follow up was 63 months. Two ESS patients died during the observed period. The first one however, not because of ESS, but due to polymorbidity and the consequences of extreme obesity, the second cause of death was the generalisation of the malignant process. Thus, the ESS patients showed better outcome comparing to LMS group with reaching 2 years in 5 of 7 cases (71,4%), the median follow up was 35,5 months, the median disease free interval was 35,5 months as well. The only patient diagnosed with high-grade undifferentiated US showed distant metastases 12 months after the surgical treatment and died one month later. The whole group of 20 patients regardless histological subtype of US showed overall survival of longer than 2 years in 50% of cases, the median disease free interval of 18 months, and the median follow up of 38 months.

There were no cases of power morcellation in our group of patients. However, there were two cases of morcellation (10%) of the specimen by cold knife during the vaginal part of laparoscopically assisted vaginal hysterectomy (LAVH). In both cases the diagnosis of US was made after the hysterectomy. The first of them was a patient diagnosed with LMS in 2010 at the age of 43, where the LAVH was indicated because of uterine fibroids. The patient showed no signs of recurrence in January 2017. The second case was a patient diagnosed with ESS in 2013 at the age of 61 and was also operated on due to uterine fibroids. This patient has shown no signs of recurrence either.

## DISCUSSION

Our analysis of US cases retrospectively diagnosed at our centre reflects the incidence of US in our region over the period of ten years. The total number of 20 cases confirms the rarity of this type of malignancy and is in accordance with the data so far reported. Although the total amount of uterine neoplasia in western Bohemia is well above average, the percentage of US is not higher and corresponds to global data with 3% of all uterine malignancies and 1% of all gynaecological malignancies. Corresponding numbers are presented also in the analysis of German authors, where our western neighbour Bavaria is showing incidence for uterine sarcoma of 1.30 for every 100 000 women averaged for years 2002–2011 [4].

LMS was acknowledged as the most frequent histological subtype with most cases diagnosed at FIGO stage I [1, 26]. Vaginal bleeding was the leading clinical symptom in agreement with other studies [17, 19, 21]. Patients diagnosed with ESS showed significantly better prognoses due to the low-grade behaviour of this malignancy [18, 31]. In the majority of cases the diagnosis of US was made following surgery for a benign condition such as uterine fibroids or vaginal bleeding [9, 29]. On the other hand, we couldn't confirm Tamoxifen usage as a risk factor although it has been debated and publications made on this subject [22]. Neither were there any cases associated with previous pelvic radiation. In one patient, there was a histological examination made from D&C pointing towards endometrioid adenocarcinoma. Nevertheless, the following examination of the specimen from the hysterectomy showed ESS. Given the suspicious indices (age, sonographic findings, obesity, Tamoxifen, pelvic radiation, ...) it seems we shouldn't absolutely exclude the possibility of the patient having had

uterine sarcoma before the final histological result, even though the D&C histology directs us towards another type of malignancy or even a benign result. In this study the histological diagnoses from D&C and the histology from the subsequent surgery had a consensus in five of six cases (83.3%).

In cases of ESS, 48.2% (3) of patients were quartiparas. Despite the small number of patients in the study group this could point to an association between the multiparity and the increased risk of ESS. The median of 5 for parity in ESS patients is described in an article from Behtash et al [5]. Yet this high number might be associated with the cultural background of the study population. Therefore, more research and data collection in this field needs to be carried out. The treatment in all cases was primarily surgical, with emphasis on zero residual disease in order to achieve the maximum therapeutic efficacy [24]. Lymph node dissection was not routinely performed as previously recommended [10, 14, 25, 30]. Amant et al published a paper in 2007 commenting on the importance of systematic lymphadenectomy in patients with ESS. In a multicentre study, 31 cases were reviewed retrospectively. No improved outcomes were found for patients with systematic lymphadenectomy or surgical castration [3]. Low incidence of nodal metastasis in soft tissue sarcomas was already postulated by Weingrad et al in 1978 in a retrospective study of 374 patients [34]. Bilateral salpingo-oophorectomy was performed in the majority of patients, although there is no clear scientific evidence regarding the benefit of BSO in the treatment of LMS and/or ESS [3, 12, 19, 20, 23, 30].

According to published data and based on FDA recommendations from 2014, uterine morcellation should not be performed during surgery for benign gynaecological conditions, as it may result in intraabdominal dissemination of a potential malignant disease [11]. In two cases, cold knife morcellation was performed during the vaginal part of the LAVH, as a benign condition was expected. No negative prognostic effect was found in these patients because the risk of intraabdominal dissemination during this type of specimen morcellation in the vagina is extremely low. A study by Zhang et al recently reported no additional increase in risk of sarcoma dissemination in the abdominal cavity in patients diagnosed postoperatively with uterine sarcoma where the transvaginal scalpel morcellation was used. Nevertheless, in accordance with most studies concerning uterine sarcomas, this study documents just a small cohort of patients undergoing

this type of procedure, and in addition there was only a short-term follow up [37]. In 2017 ESGO published a statement on fibroid and uterine morcellation concluding morcellation techniques should keep their place in gynaecologic surgery. Usage of endobag and proper preoperative workup should help to decrease the risk of tumour cells spillage [15].

In conclusion, we confirmed that uterine sarcomas are rare malignancies, even in a population with one of the highest risks of uterine neoplasia in the world. The aggressive behavioural pattern is expressed most by LMS and high-grade undifferentiated US (even when detected in FIGO stage I). A BMI of greater than 27 seems to be associated with an increased risk of US, and there might be a connection between multiparity and ESS. However, this study retrospectively evaluated just a small number of patients. As our analysis has shown, we shouldn't absolutely exclude the possibility of US in patients presenting risk factors for it, even if the uterus curettage histology offers other results.

## REFERENCES

- Abeler, VM., Royne, O., Thoresen, S., et al. Uterine sarcomas in Norway. A histopathological and prognostic survey of a total population from 1970 to 2000 including 419 patients. *Histopathology*, 2009, 54(3), p. 355–364.
- Amant, F., Coosemans, A., Deblec-Rychter, M., et al. Clinical management of uterine sarcomas. *Lancet Oncol*, 2009, 10(12), p. 1188–1198.
- Amant, F., De Knijf, A., Van Calster, B., et al. Clinical study investigating the role of lymphadenectomy, surgical castration and adjuvant hormonal treatment in endometrial stromal sarcoma. *Brit J Cancer*, 2007, 97(9), p. 1194–1199.
- Beckmann, MW., Juhasz-Boss, I., Denschlag, D., et al. Surgical methods for the treatment of uterine fibroids – risk of uterine sarcoma and problems of morcellation: position paper of the DGGG. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 2015, 75(2), p. 148–164.
- Behtash, N., Akhavan, S., Gilani, MM., et al. Low grade endometrial stromal sarcoma of uterine: review of 17 cases. *Acta Med Iranica*, 2011, 49(9), p. 619–624.
- Bell, SW., Kempson, RL., Hendrickson, MR. Problematic uterine smooth muscle neoplasms. A clinicopathologic study of 213 cases. *Amer J surg Pathol*, 1994, 18(6), p. 535–558.
- Bergman, L., Beelen, ML., Gallee, MP., et al. Risk and prognosis of endometrial cancer after tamoxifen for breast cancer. Comprehensive Cancer Centres' ALERT Group. Assessment of liver and endometrial cancer risk following tamoxifen. *Lancet*, 2000, 356(9233), p. 881–887.
- Cohen, I. Endometrial pathologies associated with postmenopausal tamoxifen treatment. *Gynecol Oncol*, 2004, 94(2), p. 256–266.
- D'Angelo, E., Prat, J. Uterine sarcomas: a review. *Gynecol Oncol*, 2010, 116(1), p. 131–139.
- Dos Santos, LA., Garg, K., Diaz, JP., et al. Incidence of lymph node and adnexal metastasis in endometrial stromal sarcoma. *Gynecol Oncol*, 2011, 121(2), p. 319–322.
- FDA, C.f.d.a.R.H. Safety Communications – Laparoscopic Uterine Power Morcellation in Hysterectomy and Myomectomy: FDA Safety Communication. 2014.
- Gluntoll, RL. 2nd, Metzinger, DS., DIMarco, CS., et al. Retrospective review of 208 patients with leiomyosarcoma of the uterus: prognostic indicators, surgical management, and adjuvant therapy. *Gynecol Oncol*, 2003, 89(3), p. 460–469.
- GLOBOCAN. Uterine cancer, incidence and mortality. 2012; <http://globocan.iarc.fr>.
- Goff, BA., Rice, LW., Fleschhacker, D., et al. Uterine leiomyosarcoma and endometrial stromal sarcoma: lymph node metastases and sites of recurrence. *Gynecol Oncol*, 1993, 50(1), p. 105–109.
- Halaska, MJ., Haldopoulos, D., Guyon, F., et al. European Society of Gynecological Oncology Statement on Fibroid and Uterine Morcellation. *Intern J Gynecol Cancer*, 2017, 27(1), p. 189–192.
- Horn, LC., Schmidl, D., Fathke, C., et al. [New FIGO staging for uterine sarcomas]. *Pathology*, 2009, 30(4), p. 302–303.
- Chan, JK., Kwar, NM., Shih, JY., et al. Endometrial stromal sarcoma: a population-based analysis. *Brit J Cancer*, 2008, 99(8), p. 1210–1215.
- Chang, KL., Crabtree, GS., Lim-Tan, SK., et al. Primary uterine endometrial stromal neoplasms. A clinicopathologic study of 117 cases. *Amer J surg Pathol*, 1990, 14(5), p. 415–438.
- Kapp, DS., Shih, JY., Chan, JK. Prognostic factors and survival in 1396 patients with uterine leiomyosarcomas: emphasis on impact of lymphadenectomy and oophorectomy. *Cancer*, 2008, 112(4), p. 820–830.
- Kim, WY., Lee, JW., Choi, CH., et al. Low-grade endometrial stromal sarcoma: a single center's experience with 22 cases. *Inter J Gynecol Cancer*, 2008, 18(5), p. 1084–1089.
- Kolvisto-Korander, R., Martinsen, JI., Welderpass, E., et al. Incidence of uterine leiomyosarcoma and endometrial stromal sarcoma in Nordic countries: results from NORDCAN and NOCCA databases. *Maturitas*, 2012, 72(1), p. 56–60.
- Lavie, O., Barnett-Griness, O., Narod, SA., et al. The risk of developing uterine sarcoma after tamoxifen use. *Inter J Gynecol Cancer*, 2008, 18(2), p. 352–356.
- Leliao, MM., Jr., Hensley, ML., Barakat, RR., et al. Immunohistochemical expression of estrogen and progesterone receptors and outcomes in patients with newly diagnosed uterine leiomyosarcoma. *Gynecol Oncol*, 2012, 124(3), p. 558–562.
- Leliao, MM., Jr., Zivanovic, O., Chi, DS., et al. Surgical cytoreduction in patients with metastatic uterine leiomyosarcoma at the time of initial diagnosis. *Gynecol Oncol*, 2012, 125(2), p. 409–413.
- Leliao, MM., Sonoda, Y., Brennan, MF., et al. Incidence of lymph node and ovarian metastases in leiomyosarcoma of the uterus. *Gynecol Oncol*, 2003, 91(1), p. 209–212.
- Nordal, RR., Thoresen, SO. Uterine sarcomas in Norway 1956–1992: incidence, survival and mortality. *Eur J Cancer*, 1997, 33(6), p. 907–911.

27. **Oliva, E., Carlinelli, SG., Ip, P., et al.** WHO classification of tumours of female reproductive organs. Kurman, R.J., Carcangiu, M.L., Herrington, C.S., Young, R.H., ed. Lyon: IARC Press 2014.
28. **Prat, J., Mbatani, S.** Uterine sarcomas. *Inter J Gynaecol Obstet*, 2015, 131, Suppl. 2S105–110.
29. **Sagae, S., Yamashita, K., Ishloka, S., et al.** Preoperative diagnosis and treatment results in 106 patients with uterine sarcoma in Hokkaido, Japan. *Oncology*, 2004, 67(1), p. 33–39.
30. **Shah, JP., Bryant, CS., Kumar, S., et al.** Lymphadenectomy and ovarian preservation in low-grade endometrial stromal sarcoma. *Obstet Gynecol*, 2008, 112(5), p. 1102–1108.
31. **Schick, U., Bolukbasi, Y., Thariat, J., et al.** Outcome and prognostic factors in endometrial stromal tumors: a Rare Cancer Network study. *Inter J Radiation Oncol Biol Physics*, 2012, 82(5), p. e757–763.
32. **Toro, JR., Travls, LB., Wu, HJ., et al.** Incidence patterns of soft tissue sarcomas, regardless of primary site, in the surveillance, epidemiology and end results program, 1978–2001: An analysis of 26,758 cases. *J Inter Cancer*, 2006, 119(12), p. 2922–2930.
33. **ÚZIS.** Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. 2013; www.svod.cz.
34. **Welngard, DN., Rosenberg, SA.** Early lymphatic spread of osteogenic and soft-tissue sarcomas. *Surgery*, 1978, 84(2), p. 231–240.
35. **Wickerham, DL., Fisher, B., Wolmark, N., et al.** Association of tamoxifen and uterine sarcoma. *J Clin Oncol*, 2002, 20(11), p. 2758–2760.
36. **Xue, WC., Cheung, AN.** Endometrial stromal sarcoma of uterus. *Best Practice: Clin Obstet Gynaecol*, 2011, 25(6), p. 719–732.
37. **Zhang, J., Li, T., Zhu, L., et al.** Clinical characteristics and prognosis of unexpected uterine sarcoma after hysterectomy for presumed myoma with and without transvaginal scalpel morcellation. *Inter J Gynecol Cancer*, 2016, 26(3), p. 456–463.

**MUDr. Jan Kostun**  
Gynekologicko-porodnická klinika  
FN a LFP UK  
Alej Svobody 80  
304 60 Plzeň  
e-mail: jan.kostun@gmail.com

- 18. PTAKOVA, N., MIESBAUEROVA, M., KOSTUN, J., et al. Immunohistochemical and selected genetic reflex testing of all uterine leiomyosarcomas and STUMPs for ALK gene rearrangement may provide an effective screening tool in identifying uterine ALK-rearranged mesenchymal tumors. Virchows Arch. 2018, 473 (5), p. 583-590.**
- IF 2,936**



## Immunohistochemical and selected genetic reflex testing of all uterine leiomyosarcomas and STUMPs for ALK gene rearrangement may provide an effective screening tool in identifying uterine ALK-rearranged mesenchymal tumors

Nikola Ptáková<sup>1,2</sup> · Markéta Miesbauerová<sup>1,2</sup> · Ján Kostun<sup>3</sup> · Petr Grossmann<sup>1,2</sup> · Henrieta Šidlová<sup>4,5</sup> · Jaroslav Pavelka<sup>2,6</sup> · Jiří Presl<sup>3</sup> · Reza Alaghebandan<sup>7</sup> · Jiří Bouda<sup>3</sup> · Ondrej Ondič<sup>1,2</sup>

Received: 11 May 2018 / Revised: 21 July 2018 / Accepted: 26 July 2018 / Published online: 16 August 2018  
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

### Abstract

We examined the value of targeted molecular screening for the identification of uterine anaplastic lymphoma kinase (ALK)-rearranged mesenchymal tumors, including ALK immunohistochemistry followed by molecular genetic testing, in all uterine leiomyosarcomas and STUMPs (smooth muscle tumors of uncertain malignant potential). All leiomyosarcoma and STUMP cases diagnosed in a 10-year period (2006–2016) at Charles University Faculty of Medicine in Pilsen were retrieved and reviewed. Of 23 cases, one case (LMS [leiomyosarcoma]) was positive for ALK rearrangement, namely, PPP1CB–ALK fusion gene. No specific histologic features (i.e., lymphocytic infiltrate and stromal edema) were observed in this case. This suggests that inflammatory myofibroblastic tumor (IMT)-like histologic features may not be an initial reliable screening tool in identifying uterine IMT cases. Thus, we proposed a two-step IHC and molecular genetic testing (as a reflex test) for IMT in all uterine LMS and STUMP cases. This will enhance the proper detection of such tumors at the population level and ultimately offer patients available targeted therapies.

**Keywords** IMT · ALK · STUMP · Leiomyosarcoma · Molecular genetics

**Electronic supplementary material** The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00428-018-2428-8>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Ondrej Ondič  
ondic@medima.cz

<sup>1</sup> Department of Pathology, Medical Faculty Pilsen, Charles University Prague and Charles University Hospital Pilsen, 304 60 Pilsen, Czech Republic

<sup>2</sup> Biopstická laboratoř, s.r.o., Pilsen, Czech Republic

<sup>3</sup> Department of Gynecology and Obstetrics, Medical Faculty Pilsen, Charles University Prague and Charles University Hospital Pilsen, Pilsen, Czech Republic

<sup>4</sup> Cytopathos, s.r.o., Bratislava, Slovak Republic

<sup>5</sup> Department of Pathology, Slovak Medical University in Bratislava, Bratislava, Slovak Republic

<sup>6</sup> Faculty of Education, University of West Bohemia, Pilsen, Czech Republic

<sup>7</sup> Department of Pathology, Royal Columbian Hospital, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada

### Introduction

Inflammatory myofibroblastic tumor (IMT) of the uterus is a rare mesenchymal neoplasm as initially reported by Bennett [1] with approximately 50 cases described in the English literature. Irrespective of location, approximately half of all IMTs harbor the anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene rearrangement at 2p23 [2], acting as an oncogene.

Tyrosine kinase inhibitors are currently available as targeted therapies in IMTs harboring ALK gene rearrangement [3], which proved to be clinically promising. Given the rarity of these tumors and their histopathologic diagnostic difficulties [3], the cost-effectiveness of identifying such tumors has remained a subject of debate.

The objective of this study was to assess the clinical utility of ALK immunohistochemistry and an anchored multiplex PCR (AMP) followed by next-generation sequencing (NGS) [4], as a screening tool, to identify IMTs among uterine leiomyosarcomas (LMS) and smooth muscle tumors of uncertain malignant potential (STUMPs).

## Materials and methods

A retrospective study was conducted to review all uterine LMS and STUMPs at Charles University Hospital in Pilsen over a 10-year period (2006–2016). Overall, 23 cases of LMS/STUMPs were identified and histologic slides were reviewed for histomorphologic features of IMTs including lymphoplasmacytic infiltrate and myxoid background [3, 5]. Representative formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue blocks from all cases were initially submitted for immunohistochemical studies (ALK immunostain). Subsequently, positive ALK immunostain cases were tested by molecular genetics methods.

## Immunohistochemistry

All 23 cases were immunohistochemically examined for ALK expression using FFPE tissue sections. Two commercially available antibodies were used, namely, anti-ALK (D5F3, Cell Signaling, 1:50) with epitope unmasking by CCI solution at pH 8.6 and 95 °C for 64 min, and with primary antibody coupling at 37 °C for 40 min. The second antibody in use was Confirm anti ALK1 (ALK-01, Ventana, mouse monoclonal, ready-to-use). The staining was performed on automated staining platform—Ventana Benchmark XT (Ventana Medical system, Inc., Tucson, AZ). IHC slides were reviewed and scored by one of the authors (M.M.) who was blinded to histological diagnosis and all clinical data. Positive ALK stain was defined as the presence of diffuse and strong staining in more than 90% of neoplastic cells.

## ALK rearrangement FISH study

A 4- $\mu$ m-thick section was placed onto a positively charged slide. Hematoxylin and eosin-stained slide was examined for determination of areas for cell counting. The unstained slide was routinely deparaffinized and incubated in the 1 $\times$  Target Retrieval Solution, Citrate pH 6 (Dako, Glostrup, Denmark) for 40 min at 95 °C and subsequently cooled for 20 min at room temperature in the same solution. The slide was washed in deionized water for 5 min and digested in protease solution with pepsin (0.5 mg/ml) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) in 0.01 M HCl at 37 °C for 35 min. The slide was then placed into deionized water for 5 min, dehydrated in a series of ethanol solution (70%, 85%, and 96% for 2 min each) and air-dried. Detection of rearrangement of ALK gene (2p23) was performed using Vysis LSI ALK Break Apart Rearrangement Probe Kit (Vysis/Abbott Molecular, IL, USA). An appropriate amount of factory premixed ALK probe mix was applied on the specimen, covered with a glass coverslip, and sealed with rubber cement. The slide was incubated in the

ThermoBrite™ instrument (StatSpin/Iris Sample Processing, Westwood, MA, USA) with co-denaturation parameters 85 °C for 8 min and hybridization parameters 37 °C for 16 h. Rubber-cemented coverslip was then removed and the slide was placed in post-hybridization wash solution (2 $\times$  SSC/0.3% NP-40) at 72 °C for 2 min. The slide was air-dried in the dark, counterstained with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (Vysis), coverslipped, and immediately examined.

## FISH interpretation

The section was examined with an Olympus BX51 fluorescence microscope (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) using a  $\times$  100 objective and filter sets of triple band pass (DAPI/SpectrumGreen/SpectrumOrange), dual band pass (SpectrumGreen/SpectrumOrange), and single band pass (SpectrumGreen or SpectrumOrange).

One hundred, randomly selected, non-overlapping tumor cell nuclei were examined for the presence of yellow (normal) and orange or green (chromosomal break) fluorescent signals. Cutoff value for positivity was set to be more than 10% of nuclei with chromosomal breakpoint signals (mean + 3 standard deviation in normal non-neoplastic control tissues).

## ALK rearrangement NGS

### Sample and library preparation

For NGS studies, two to three FFPE sections (10  $\mu$ m thick) were macrodissected to isolate tumor-rich regions. Samples were extracted for total nucleic acid using Agencourt FormaPure Kit (Beckman Coulter, Brea, CA) following the corresponding protocol with an overnight digest and an additional 80 °C incubation as described in the modification of the protocol by ArcherDX (ArcherDX Inc., Boulder, CO). Total nucleic acid was quantified using the Qubit Broad Range RNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) and 2  $\mu$ L of sample.

Unless otherwise indicated, 250 ng of FFPE RNA was used as input for NGS study. To assess RNA quality, the PreSeq RNA QC Assay using iTaq Universal SYBR Green Supermix (Biorad, Hercules, CA) was performed on all samples during library preparation to generate a measure of the integrity of RNA [in the form of a cycle threshold (Ct) value]. Library preparation and RNA QC were performed following the Archer FusionPlex Protocol for Illumina (ArcherDX Inc.). The Archer® FusionPlex® AST (Archer Solid Tumor) Kit was used. Final libraries were diluted 1:100,000 and quantified in a 10- $\mu$ L reaction following the Library Quantification for Illumina Libraries protocol and assuming a 200-bp fragment length (KAPA, Wilmington, MA). The concentration of final libraries was around 200 nM. Threshold representing the

minimum molar concentration for which sequencing can be robustly performed was set at 50 nM.

## NGS

Libraries were diluted to 4 nM and sequenced on a NextSeq sequencer (Illumina, San Diego, CA). The optimal number of raw reads per sample was set to 3,000,000. Library pools were diluted to 1.6-pM library stock with 20% 1.8 pM PhiX and loaded in the NextSeq cartridge.

## Data analysis

The fusion and other rearrangement detection algorithms in Archer Analysis rely on the specificity of the gene-specific primers (GSPs) used in the amplification steps in the AMP process. The resulting FASTQ files were analyzed using the Archer Analysis software (v5; ArcherDX Inc.). Fusion detection algorithm is described in Online Resource 1.

## Detection of *PPP1CB-ALK* fusion transcripts by RT-PCR

Total nucleic acid was extracted as described above. cDNA was synthesized using the Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit (RNA input 500 ng) (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). All procedures were performed according to the manufacturer's protocols. A detection of exon 5 of *PPP1CB* gene and intron 19 of *ALK* gene fusion transcript was performed by RT-PCR to confirm NGS result. Primer sequences and PCR conditions are described in Table 1.

Successfully amplified PCR products were purified with magnetic particles Agencourt® AMPure® (Agencourt Bioscience Corporation, A Beckman Coulter Company, Beverly, MA, USA). Products were then bidirectionally sequenced using Big Dye Terminator Sequencing kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), purified with magnetic particles Agencourt® CleanSEQ® (Agencourt Bioscience Corporation), all according to manufacturer's protocol, and run on an automated sequencer ABI Prism 3130xl (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) at a constant voltage of 13.2 kV for 11 min.

## Results

One of the 23 cases (no. 16) was positive for ALK by IHC, which further showed *PPP1CB-ALK* fusion transcript (Table 2). Macroscopically, this was a yellowish-gray uterine tumor of 15 cm confined to the myometrium. Microscopically, the tumor showed an expansive growth pattern with dense polymorphic spindle cell proliferation and pleomorphic cigar-shaped nuclei, with up to five mitoses per 10 high power fields. The tumor also exhibited small focal geographic necrosis with adjacent mild predominantly perivascular lymphocytic infiltrate. Slight focal edema or myxoid background, a known histologic feature of most IMTs, was not present in this case. The tumor was originally diagnosed as leiomyosarcoma (Fig. 1a). In this patient, the genetic alteration was initially detected immunohistochemically (Fig. 1b) and subsequently was confirmed by FISH (Fig. 2a, b) as well as NGS (Fig. 3a). Next-generation paired-end RNA sequencing and fusion detection algorithm in Archer analysis were applied in this case. Though the *PPP1CB-ALK* transcript was predicted to be out of frame, and thus a non-functional transcript at first, we found preservation of open reading frame (ORF) emerging from the rare exonization of 100-bp *ALK* intron 19; therefore, the fusion created functional protein with preserved *ALK* gene kinase domain (Fig. 3b). This finding was also supported by RT-PCR (Fig. 3c). The patient (a 66-year-old woman) initially presented with postmenopausal bleeding and underwent curettage leading to the diagnosis of leiomyosarcoma in 2006. Hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy was subsequently performed, but the patient died of the disease due to local tumor progression involving the colon, ileum, and urinary bladder and with additional metastases in the sacral bone and the neck of the femur 15 months post-surgery.

In this study, histomorphologic features of IMT, namely, intercellular edema and groups of lymphocytes, were identified in 7/23 cases (Table 2). Further, small collections of at least five lymphocytes were identified in 15/23 cases and stromal edema in 8/23 cases. Most often, these findings were very subtle except for a few cases.

**Table 1** RT-PCR primer sequences and PCR conditions

Primer	Sequence 5'-3'	Amplicon length (bp)	PCR protocol
Forward	TTGTCACCAGACCT GCAATC	160	95 °C/14 min, 40×(95 °C/1 min, 60 °C/1 min, 72 °C/1 min), 72 °C/10 min
Reverse	ACTT GGCTCACAGG CTGAAC		



**Table 2** Presence of lymphocytes and intercellular edema in 14 STUMPs and 9 leiomyosarcomas of the study group

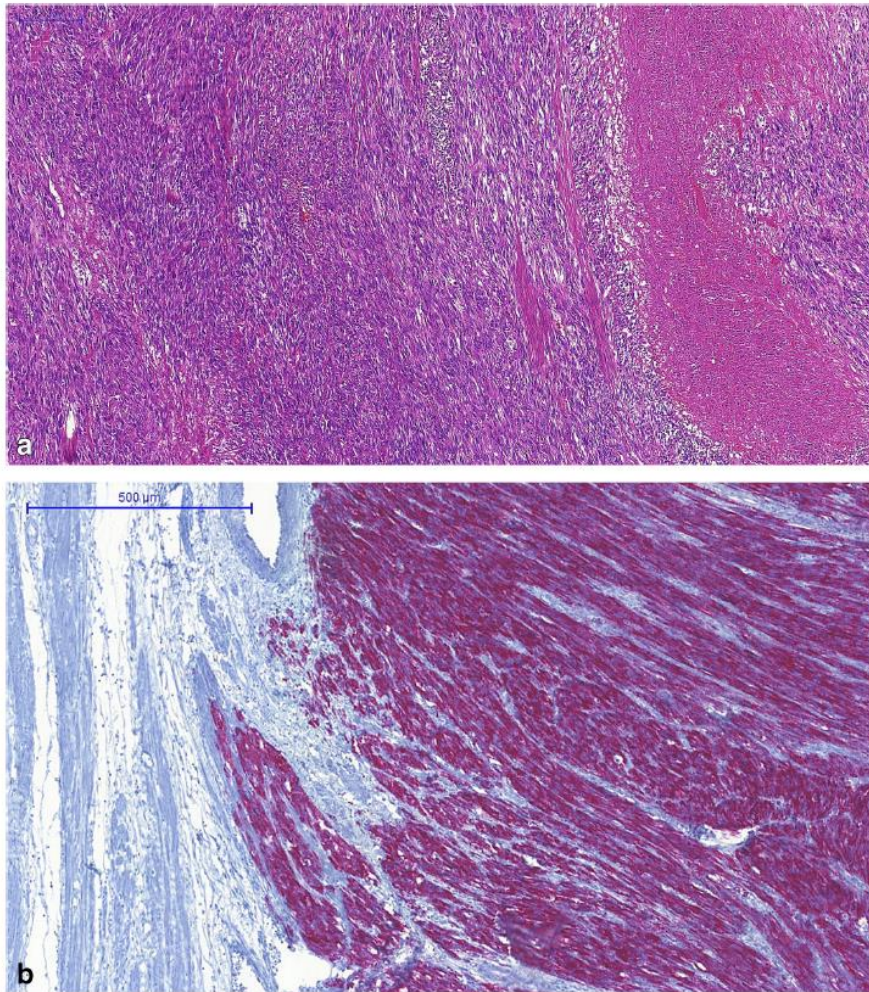
IDI	Diagnosis	Edema	Lymphocytes
1	STUMP	–	Up to 5 cell groups
2	STUMP	+ small foci	In edema up to 10 cells incl. plasmocytes
3	STUMP	++	Sporadic perivasc. groups
4	STUMP	+ small foci	Perivasc., up to 10 cell groups
5	STUMP	+ small foci	Perivasc., up to 10 cell groups
6	STUMP	–	Perivasc., sporadic individual cells
7	STUMP	–	++
8	STUMP	–	Perivasc., rare groups of 10 cell groups
9	STUMP	++	++
10	STUMP	–	Perivasc., up to 10 cell groups
11	STUMP	+	Rare perivasc., up to 10 cell groups
12	STUMP	+	–
13	STUMP	–	Rare perivasc., up to 10 cell groups
14	STUMP	–	–
15	LMS	–	–
16	LMS	Necrosis	Diffuse with perinecrotic accentuation
17	LMS	–	–
18	LMS	Necrosis	Diffuse
19	LMS	–	–
20	LMS	–	–
21	LMS myxoid	++	+
22	LMS	–	–
23	LMS	–	–

## Discussion

Although uterine IMTs are rare, accurately identifying *ALK*-rearranged uterine IMTs is of paramount importance. This is because such patients may potentially benefit from targeted *ALK* inhibitor therapy. This has been documented in individual cases since 2015 with reported 30% tumor reduction, indicating partial response to therapy 6 months post targeted treatment [6]. More recently in 2017, there was a case of good ongoing treatment response with 4 months of follow-up [3] and further in 2018, two cases with good initial response have been reported [7]. It is important to properly identify and treat uterine IMTs [7] which will ultimately enhance our knowledge of the disease on a larger scale and in the longer term. Given IMTs may closely mimic gynecologic smooth muscle tumors and perhaps are often under-diagnosed, developing a reasonable and effective screening strategy/tool would be important. Of all uterine mesenchymal tumors, LMS [3] and STUMPs [7] appear to harbor the highest numbers of IMTs.

It is apparent that identifying uterine IMTs or so-called *ALK*-rearranged uterine mesenchymal tumors can be a diagnostic challenge. IMTs may closely mimic other gynecologic mesenchymal tumors. We found that (often very subtle and down to the observational limit) the presence of stromal edema and lymphocytic infiltrate is nonspecific and does not

correlate with *ALK* gene rearrangement in uterine mesenchymal tumors. Our observation is similar to that recently reported by Pickett et al. [3]. On the other hand, it seems that unequivocal myxoid appearance of the tumor alerts pathologists to consider broader differential diagnosis including (1) myxoid variant of endometrial stromal sarcoma including recently described high-grade endometrial stromal sarcoma with ZC3H7B–BCOR fusion [8] characterized by (a) myxoid change of stroma, (b) multinodular or tongue-like pattern of myometrial infiltration, (c) at least focally exhibited typical endometrial stromal neoplasia growth pattern with prominent (arteriolar) vascular component, and (d) *ALK*–1 negativity. (2) Myxoid leiomyosarcoma as thoroughly discussed by Parra–Herran [9], histomorphologically with a cutoff value of 50% for the amount of myxoid matrix present, it is characterized by infiltrative tumor border and with at least one of the features that follow: moderate to significant nuclear atypia, more than two mitoses per 10 HPF (high power field), and necrosis. According to the authors, IHC studies other than *ALK* were proved not to be very helpful. Commonly used smooth muscle differentiation immune markers, namely, desmin, smooth muscle actin (SMA), and h-caldesmon were characterized by variable positivity ranging from mild/focal through moderate/multifocal to strong. Of note, they comment on two cases which were reclassified as IMT with FISH-

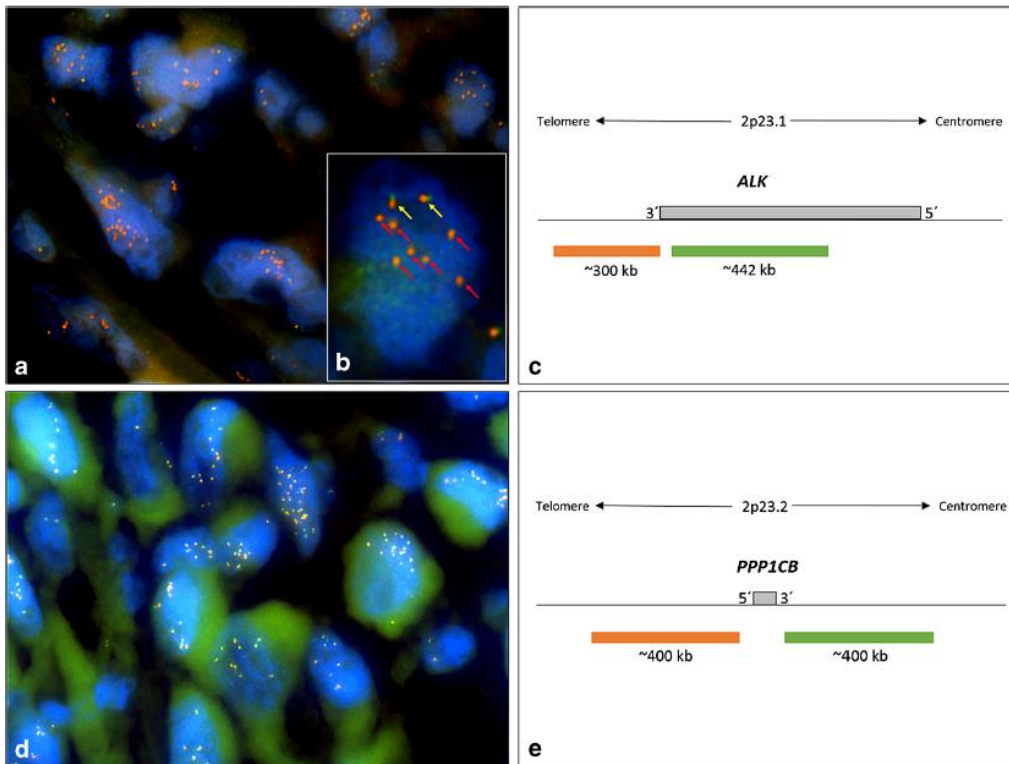


**Fig. 1** **a** Yellowish-gray uterine tumor (15 cm) confined to the myometrium was originally diagnosed as LMS. **b** Immunohistochemically, using two different antibodies, there was a diffuse strong cytoplasmic positive

expression of ALK antigen in tumor cells. The original myometrium at the periphery of excision served as internal negative control

confirmed ALK rearrangement and at the same time immunohistochemically presenting with strong desmin positivity and with weak/focal or strong positive expression of SMA, while being negative for h-caldesmon. In the same study, on the contrary, ALK rearrangement was not confirmed by FISH in two of four ALK IHC-positive cases. This last observation is unique as it was not reported in two other studies of six cases of ALK IHC-positive “STUMPs” with confirmed ALK rearrangement in each case and reclassified as IMT [7] nor in ALK IHC-positive tumors reported by Pickett

[3] originally diagnosed as five leiomyomas and one leiomyosarcoma all with FISH-proved ALK rearrangement. Also in our experience, IMT was characterized by strong positive expression of ALK. This was paired with only weak focal desmin and h-caldesmon positivity and by moderate focal positivity of SMA. The emerging concern would be the fact that there are uterine mesenchymal tumors that are IMTs (confirmed by IHC and molecular genetics), yet they may not demonstrate known histomorphologic features of IMTs, resulting in being misdiagnosed. In other words, it



**Fig. 2** FISH analysis using ALK break apart probe (a, b) revealed ALK gene rearrangement with a specific pattern consisting of 5' (centromeric) part of probe deletion and amplification of 3' (telomeric) part of the probe (c). **b** One nucleus from (a) in detail. Yellow arrows indicate fusion

signals of intact ALK gene region; red arrows indicate additional copies of rearranged of 3' part ALK locus. FISH analysis using PPP1CB break apart probe (d) with "classical" break apart design (e) demonstrates amplification of PPP1CB locus without the apparent break

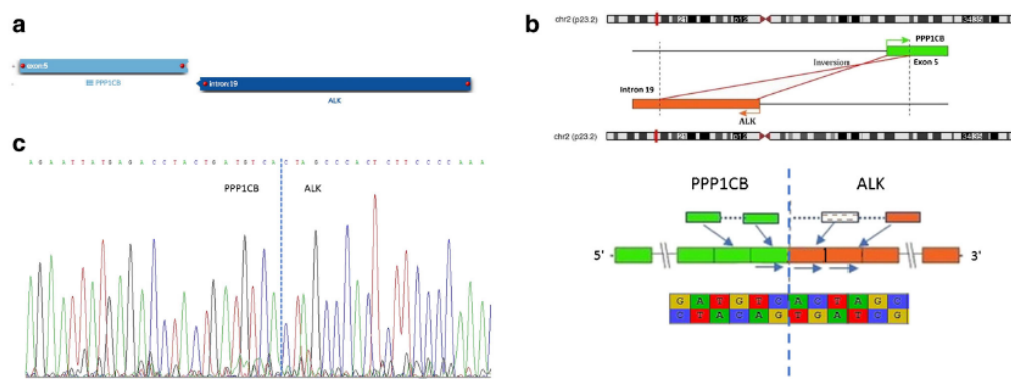
appears that histomorphologic features and desmin, SMA, and h-caldesmon IHC may not be sufficiently reliable in including or excluding the diagnosing of IMTs, while ALK IHC followed by molecular genetic studies is proved to be a robust diagnostic tool in this regard.

So far, it seems that strong diffuse cytoplasmic ALK positivity correlates with the result of different molecular genetic methods.

There has been a considerable amount of information gained on molecular genetics aspects of uterine mesenchymal tumors. Comprehensive genomic profiling of rare entities (myxoid tumors in particular) was already advocated [6]. This also included *ALK*-rearranged mesenchymal tumors, which were more carefully studied, although there remains a long way to fully and better understand and recognize such neoplasms. We believe that it may be worth considering IMTs in the family of uterine smooth muscle tumors (i.e., leiomyoma, STUMP, LMS). On the other hand, in terms of molecular genetic classification, some colleagues

may consider them as "uterine *ALK*-rearranged mesenchymal tumors." A molecular genetic classification approach to proper classification might be of value similarly as it has recently been applied in subtyping undifferentiated endometrial carcinomas [10, 11]. Since other authors including Harrison et al. [12], Croce et al. [13], and Griffin et al. [14] had suggested a similar notion regarding subtypes of uterine smooth muscle tumors, and myxoid tumor variants were also mentioned [6] in this regard, it is foreseeable that emerging molecular genetic classification of the uterine mesenchymal tumors may be imminent.

Given the abovementioned diagnostic difficulties, low incidence, and possible associated costs, we suggest all uterine LMS and STUMPs to be initially tested by ALK IHC. Of note, the performance of both ALK antibodies utilized in this study appeared equally satisfactory, with slightly stronger staining for ALK-01 clone. Upon establishing a positive ALK IHC testing, further confirmation by one of the well-established molecular genetic methods



**Fig. 3** a Schematic representation of the fusion transcript candidate identified by AMP, involving the *PPP1CB* exon 5 with *ALK* intron 19. b Identification of the *PPP1CB-ALK* gene rearrangement. The upper section shows a schematic representation of the *PPP1CB-ALK* genomic DNA rearrangement and the resulting transcript involving the *PPP1CB* locus on 2p23.2 with *ALK* located on 2p23.2, resulting in an

*inv(2)(p21p23)*inversion. The lower section shows the sequence spanning the rearrangement junction. Exons are represented by colored boxes, and introns are represented by lines: *PPP1CB* in green and *ALK* in orange. c RT-PCR validation and ABI sequence showing that *PPP1CB* exon 5 is fused to *ALK* intron 19, as previously described

should follow. In our study, three different methods were used (FISH was followed by NGS and confirmatory RT-PCR) and all proved to be applicable (with different levels of informativity) in such cases. Moreover, concordant results between FISH and NGS in detecting the *ALK* and *PPP1CB* loci amplification (Fig. 2d) and overexpression of *ALK*, respectively, in tumor harboring the atypical *PPP1CB-ALK* rearrangement support the use of these methods as an effective clinical tool for elucidating molecular features of these tumors.

*PPP1CB-ALK* fusion transcript was previously described only in high-grade glioma of infancy by Aghajan [15]. This fusion transcript consists of part of exon 5 of *PPP1CB* gene followed by a 100-bp-long part of intron 19 of *ALK* gene as well as exon 20 of *ALK* gene, resulting in the productive in-frame transcript with preserved *ALK* domain. From a molecular point of view, the mechanism of *PPP1CB-ALK* fusion transcript formation is the result of a paracentric inversion within chromosome 2 and fusing exons 1–5 of serine/threonine-protein phosphatase PP1- $\beta$  catalytic subunit (*PPP1CB*) gene, which is transcribed in the opposite direction as *ALK* with intron 19 and following exons 20–29 of *ALK*. This fusion transcript formation is peculiar and rare. A simple joining of exon 5 of *PPP1CB* gene and exon 20 of *ALK* gene would form nonfunctional protein due to frameshift as exon 20 of *ALK* gene starts with an incomplete triplet. However, exonization of the 100-bp-long part of intron 19 of *ALK* gene restores ORF; thus, fusion creates a protein with preserved *ALK* gene kinase domain.

Using the AMP target enrichment technique on the tumor sample, we detected the presence of the highly expressed

region of *ALK* downstream of intron 19 (relative expression level 9 of 9) and the lack of expression upstream of exon 19 (relative expression level 0 of 9) indicating an expression imbalance that confirms the fusion data. This overexpression was probably caused by amplification of the active part of the mentioned genes. This theory is also supported by unusual FISH detection which indicates additional copies of rearranged 3' part *ALK* and *PPP1CB* loci. Multiple orange signals 2A, 2B and multiple yellow signals 2D testify for concomitant amplification as described in Fig. 2 legend. Amplification of the *ALK* locus and consequent overexpression of *ALK* protein has already been reported in many different types of cancer cell lines and human tumor samples [16] including melanoma, NSCLC, neuroblastoma, glioblastoma, rhabdomyosarcoma, ovarian cancer, breast cancer, astrocytoma, Ewing's sarcoma, and retinoblastoma as well as in uterine IMT [7].

In conclusion, we proposed a reflex testing by *ALK* IHC followed by molecular genetic testing for identifying uterine *ALK*-rearranged mesenchymal tumors. This screening protocol would include all uterine mesenchymal tumors diagnosed as LMS and STUMPs. We would anticipate capturing a higher number of uterine IMTs using the above IHC/molecular diagnostic algorithm, which eventually leads to a better patient care and treatment using available and future targeted therapies.

**Contributions** Authors NP and OO conceived, designed, wrote, and edited the study. RA wrote and edited the study. Author MM performed immunohistochemistry study and wrote respective part of the manuscript. Authors JK, JP, JB, and HS researched and analyzed the data. Authors PG and JP performed FISH study and wrote respective part of the manuscript.

All authors gave final approval for publication. Author OO takes full responsibility for the work as a whole, including the study design, access to data, and decision to submit and publish the manuscript.

### Compliance with ethical standards

The study complies with hospital ethical standards.

**Conflict of interest** The authors declare that they have no conflict of interest.



### References

- Bennett JA, Nardi V, Rouzbahman M, Morales-Oyarvide V, Nielsen GP, Oliva E (2017) Inflammatory myofibroblastic tumor of the uterus: a clinicopathological, immunohistochemical, and molecular analysis of 13 cases highlighting their broad morphologic spectrum. *Mod Pathol* 30:1489–1503. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2017.69>
- Coffin CM, Patel A, Perkins S, Elenitoba-Johnson KS, Perlman E, Griffin CA (2001) ALK1 and p80 expression and chromosomal rearrangements involving 2p23 in inflammatory myofibroblastic tumor. *Mod Pathol* 14:569–576
- Pickett JL, Chou A, Andrici JA, Clarkson A, Sioson L, Sheen A, Reagh J, Najdawi F, Kim Y, Riley D, Maidens J, Nevell D, McIlroy K, Valmadre S, Gard G, Hogg R, Turchini J, Robertson G, Friedlander M, Gill AJ (2017) Inflammatory myofibroblastic tumors of the female genital tract are under-recognized: a low threshold for ALK immunohistochemistry is required. *Am J Surg Pathol* 41:1433–1442. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000909>
- Zheng Z, Liebers M, Zhelyazkova B et al (2014) Anchored multiplex PCR for targeted next-generation sequencing. *Nat Med* 20:1479–1484
- Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoom PCW et al (2013) WHO classification of tumours of soft tissue and bone, Pathology and genetics of tumours of soft tissue and bone, 4th edn. IARC Press, Lyon
- Subbiah V, McMahon C, Patel S, Zinner R, Silva EG, Elvin JA, Subbiah IM, Ohaji C, Ganeshan DM, Anand D, Levenback CF, Berry J, Brennan T, Chmielecki J, Chalmers ZR, Mayfield J, Miller VA, Stephens PJ, Ross JS, Ali SM (2015) STUMP un“stumped”: anti-tumor response to anaplastic lymphoma kinase (ALK) inhibitor based targeted therapy in uterine inflammatory myofibroblastic tumor with myxoid features harboring DCTN1-ALK fusion. *J Hematol Oncol* 8:66. <https://doi.org/10.1186/s13045-015-0160-2>
- Devereaux K, Kunder CH, Longacre T (2018) ALK-rearranged tumors are highly enriched in the STUMP subcategory of uterine tumors. *AJSP*:1. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001083>
- Hoang LN, Areja A, Conlon N, Delair DF, Middha S, Benayed R, Hensley ML, Park KJ, Hollmann TJ, Hameed MR, Antonescu CR, Soslow RA, Chiang S (2017) Novel high-grade endometrial stromal sarcoma: a morphologic mimicker of myxoid leiomyosarcoma. *Am J Surg Pathol* 41(1):12–24
- Parra-Hernan C, Scholmeester JK, Yuan L, Dal Cin P, Fletcher CD, Quade BJ, Nucci MR (2016) Myxoid leiomyosarcoma of the uterus: a clinicopathologic analysis of 30 cases and review of the literature with reappraisal of its distinction from other uterine myxoid mesenchymal neoplasms. *Am J Surg Pathol* 40(3):285–301
- Cancer Genome Atlas Research Network, Kandoth C, Schultz N, Chermiack AD, Akbani R, Liu Y, Shen H, Robertson AG, Pashtan I, Shen R, Benz CC, Yau C, Laird PW, Ding L, Zhang W, Mills GB, Kucherlapati R, Mardis ER, Levine DA (2013) Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 497:67–73. <https://doi.org/10.1038/nature12113>
- Bosse T, Nout RA, McAlpine JN, McConechy MK, Britton H, Hussein YR, Gonzalez C, Ganesan R, Steele JC, Harrison BT, Oliva E, Vidal A, Matias-Guiu X, Abu-Rustum NR, Levine DA, Gilks CB, Soslow RA (2018) Molecular classification of grade 3 endometrioid endometrial cancers identifies distinct prognostic subgroups. *Am J Surg Pathol (Mar 2)*:1. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001020>
- Harrison WJ, Andrici J, Maclean F, Madadi-Ghahan R, Farzin M, Sioson L, Toon CW, Clarkson A, Watson N, Pickett J, Field M, Crook A, Tucker K, Goodwin A, Anderson L, Srinivasan B, Grossmann P, Martinek P, Ondić O, Hes O, Trpkov K, Clifton-Bligh RJ, Dwight T, Gill AJ (2016) Fumarate hydratase-deficient uterine leiomyomas occur in both the syndromic and sporadic settings. *Am J Surg Pathol* 40:599–607. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000573>
- Croce S, Ducoulombier A, Ribeiro A, Lesluyes T, Noel JC, Amant F, Guillou L, Stoeckle E, Devouassoux-Shisheboran M, Penel N, Floquet A, Arnould L, Guyon F, Mishellany F, Chakiba C, Cuppens T, Zikan M, Leroux A, Frouin E, Farre I, Genestie C, Valo I, MacGrogan G, Chibon F (2018) Genome profiling is an efficient tool to avoid the STUMP classification of uterine smooth muscle lesions: a comprehensive array-genomic hybridization analysis of 77 tumors. *Mod Pathol* 31:816–828. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2017.185>
- Griffin B, Xu X, Wei J-J (2018) Molecular analysis of hydropic leiomyoma: a variant of leiomyoma closely related to HMG2A overexpression (1181). *Mod Pathol* 31(suppl 2):421
- Aghajan Y, Levy ML, Malicki DM, Crawford JR (2016) Novel PPP1CB-ALK fusion protein in a high-grade glioma of infancy. *BMJ Case Rep*. <https://doi.org/10.1136/bcr-2016-217189>
- Boi M, Zucca E, Inghirami G, Bertoni F (2015) Advances in understanding the pathogenesis of systemic anaplastic large cell lymphomas. *Br J Haematol* 168:771–783. <https://doi.org/10.1111/bjh.13265>

**19. KOSTUN, J., PESTA, M., SLAMA, J., et al. One-step nucleic acid amplification vs ultrastaging in the detection of sentinel lymph node metastasis in endometrial cancer patients. J Surg Oncol. 2019, 119 (3), p. 361-369.**

**IF 2,886**

# One-step nucleic acid amplification vs ultrastaging in the detection of sentinel lymph node metastasis in endometrial cancer patients

Jan Kosťun MD<sup>1</sup>  | Martin Peřta MD, PhD<sup>2,3,4</sup>  | Jiří Sláma MD, PhD<sup>5</sup> |  
 Robert Sluněćko MD<sup>6</sup> | Pavel Vlasák MD<sup>1</sup> | Jiří Bouda MD, PhD<sup>1</sup> |  
 Zdeněk Novotný MD<sup>1</sup> | Ondřej Topolčan MD<sup>4</sup> | Radek Kućera PhD<sup>4</sup> |  
 Vlastimil Kulda MD<sup>7</sup> | Kateřina Houfková Mgr<sup>2</sup> | Denis Berezovskiy MD<sup>1</sup> |  
 Alena Bartáková MD, PhD<sup>1</sup> | Jiří Presl MD, PhD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital Pilsen, Charles University, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic

<sup>3</sup>Biomedical Centre, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic

<sup>4</sup>Department of Immunochemistry, University Hospital and Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic

<sup>5</sup>Department of Obstetrics and Gynaecology, First Faculty of Medicine, Charles University, General University Hospital, Prague, Czech Republic

<sup>6</sup>Sikl's Department of Pathology, University Hospital Pilsen, Charles University, Prague, Czech Republic

<sup>7</sup>Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Prague, Czech Republic

## Correspondence

Jiří Presl, MD, PhD, Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital Pilsen, Charles University Prague, alej Svobody 80, 304 60 Plzeň-Lochotín, Czech Republic.  
 Email: preslj@fnplzen.cz

## Funding information

Faculty Hospital in Pilsen, Grant/Award Number: 00669806

**Background and Objectives:** Utilisation of the one-step nucleic acid amplification (OSNA) molecular biology method for the detection of the metastatic involvement of sentinel lymph nodes (SLNs) in endometrial cancer (EC) patients. A comparison with histopathological ultrastaging and a description of the clinical consequences.

**Methods:** Surgically treated EC patients underwent detection of SLNs. Nodes greater than 5 mm were cut into sections 2-mm thick parallel to the short axis of the node. Odd sections were examined according to the OSNA method, while even ones according to an appropriate ultrastaging protocol. Nodes less than or equal to 5 mm were cut into halves along the longitudinal axis with one half examined according to the OSNA method and the other half by ultrastaging.

**Results:** Fifty-eight patients were included and 135 SLNs were acquired. Both ultrastaging and OSNA agreed on 116 results. According to the OSNA method, 20.69% more patients were classified into International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) stage III. When comparing the results of the OSNA method to the conclusions of ultrastaging as a reference method, sensitivity of 90.9%, specificity of 85.5% and concordance of 85.9% were attained.

**Conclusions:** The results of the OSNA method showed a higher frequency of detection of micrometastases and included 20.69% more patients into FIGO stage III.

## KEYWORDS

cytokeratin 19, micrometastasis, one-step nucleic acid amplification assay

## 1 | INTRODUCTION

Endometrial carcinoma (EC) is the fourth most common malignancy in the female population in developed countries.<sup>1</sup> Due to the early

clinical symptoms, the disease is detected in a majority of patients in the early stages without the lymphatic system being involved, which means that the 5-year survival rate exceeds 90%.<sup>2</sup> However, with the involvement of the pelvic and paraaortic lymph nodes, the 5-year

survival rate decreases considerably to 57% to 58% and 49% to 52%, respectively.<sup>3</sup>

According to the current recommendations of the National Comprehensive Cancer Network (NCCN), systematic pelvic and paraaortic lymphadenectomy is recommended as standard for the staging of the lymphatic system.<sup>4</sup> This surgical treatment is demanding in terms of technique and time and is associated with an increased risk of perioperative and postoperative morbidity.<sup>5,6</sup> Similarly, as in the case of other gynaecological malignancies, the push to utilise the sentinel lymph node (SLN) concept for EC is on the rise as it allows the radicality of the surgical treatment and its potential complications to be reduced.<sup>7</sup> In 2017, the American Joint Committee on Cancer (AJCC) implemented revisions to the staging system for EC. The new version came into force in January 2018 and became an integral part of the NCCN recommendations.<sup>4</sup> The role of SLN mapping is still under evaluation, but it can be considered for surgical staging of uterine-confined disease. The utilisation of ultrastaging based on published data improves the detection of the metastatic involvement of lymph nodes by approximately 5%.<sup>8</sup>

Finding a sentinel lymph node enables detailed examination – ultrastaging. Examination based on staining by haematoxylin and eosin (H&E) and immunohistochemical examination utilising the cytokeratin 19 antibody (IHC CK19) enable the detection of cancer cells up to the level of micrometastases or isolated tumour cells (ITCs). Unfortunately, such examinations are very time consuming and provide delayed final results. On an intraoperative basis, the frozen section method, the attained reliability of which is only 60% based on available references, can be used.<sup>9</sup>

Our study deals with the possibility to improve the detection of micrometastases and macrometastases in sentinel lymph nodes (SLN) using the one-step nucleic acid amplification (OSNA) molecular biology method based on the detection of CK19 messenger RNA (mRNA) with the complete processing of SLNs in EC patients.

The objective of the study was to describe the sensitivity, specificity and diagnostic concordance of the OSNA method in comparison with an extensive histopathological examination at the ultrastaging level. Another objective was to determine the way in which the detection of lymph node metastases by the OSNA method would influence the patient's staging based on the International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) classification.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 | Study objectives

The main objective of the study was to compare the results of the OSNA-method with a detailed ultrastaging examination as a reference method in the evaluation of the metastatic involvement of SLNs in EC patients.

Another objective was to describe the effect of the SLN evaluation attained by these methods on the patients' FIGO classification.

### 2.2 | Patient selection

The inclusion criterion was the histologically confirmed EC assessed according to the current histological classification adopted by the WHO in 2014.<sup>10</sup>

For preoperative purposes, all patients underwent an expert ultrasonographic examination of the abdomen and pelvis. The objective was to gain a detailed description of the uterine cavity, endometrium, myometrium, peritoneal surfaces, the presence of free intraperitoneal fluid, pelvic and paraaortic lymph nodes. The examination was always performed by one of two certified expert sonographers and a detailed record of each examination generated in accordance with the standards maintained by our clinic.<sup>11,12</sup> Where necessary, a computerized tomography (CT) examination of the abdomen and pelvis was carried out to eliminate the possibility that the tumour had spread outside the uterus and retroperitoneally. Patients with enlarged lymph nodes or suspected involved lymph nodes were not included in the study.

The study was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medicine in Pilsen of Charles University in Prague and the Teaching Hospital in Pilsen. All the patients signed informed consent forms in conjunction with their voluntary participation in the study. The study is registered at ClinicalTrials.gov under ID No.: NCT02826291.

### 2.3 | Sentinel lymph node mapping

The detection of SLNs was executed using several procedures. In one group of patients (72.4%), a dose of 2 mL of 1% solution of Bleu Patente and a dose of 8 mL containing 50 MBq of nanocolloid <sup>99m</sup>Tc-albumin solution was applied to all four quadrants of the cervix, at first superficially (1–3 mm) and then deeper into the cervix stroma (10–20 mm). The application was executed with a thin 23-gauge needle.

In the remaining patients, either Bleu Patente (15.5%, due to a temporary unavailability of technetium) was applied using the same technique and in the same dosage or a 2.5 mg dose of indocyanine green (10.3%) dissolved in 2 mL of sterile water using the same application technique. In one case (1.7%) mapping was executed only using technetium due to the risks associated with the patient's allergic reaction to Bleu Patente.

Sentinel lymph nodes were detected during operations by direct visualisation (Bleu Patente, ICG) and the use of a  $\gamma$  probe (<sup>99m</sup>Tc).

### 2.4 | Sentinel lymph node processing

After excision, the sentinel lymph nodes were mechanically cleaned under sterile conditions. Those sentinel lymph nodes that were greater than 5 mm were cut into sections 2-mm thick parallel to the short axis of the node. Those sentinel lymph nodes that were less than or equal to 5 mm were cut into halves along the longitudinal axis. Sterile conditions were preserved to prevent the node tissue from contacting the epithelium resulting in potential contamination by CK19 and potential false-positive results acquired by the OSNA examination method. The odd sections were submitted for examination according



to the OSNA method, while the even ones were subjected to histopathological and immunohistochemical examination at the level of ultrastaging.

## 2.5 | Pathological evaluation

The 2 mm sections of the sentinel lymph node intended for histopathological examination were fixed in 10% buffered formalin, then embedded in a paraffin block and examined according to the ultrastaging protocol. Two consecutive sections with a thickness of 2 µm within the interval of 150 µm were acquired. The odd preparations were stained with H&E, while the even preparations were subjected to immunohistochemical examination on the basis of the detection of low molecular cytokeratins (CK MNF 116), including CK19 detection, using the A53-B/A2.26 monoclonal antibody (Ventana automatic instrument protocol; Ventana Medical Systems, Tucson, AZ). The immunohistochemical detection of CK19 was also performed on the primary tumour to confirm its expression. Approximately 40 sections from a single lymph node were examined.

The aforementioned protocol corresponds to the ultrastaging protocol for the processing of sentinel lymph nodes at our clinic and enables detection up to the level of individual ITCs. Metastatic lesions greater than 2 mm were evaluated as macrometastases, lesions less than or equal to 2 mm and greater than 0.2 mm as micrometastases and lesions less than or equal to 0.2 mm were evaluated as ITCs.

## 2.6 | OSNA evaluation

OSNA is a method for detecting mRNA of CK19 in lymph nodes upon the homogenisation of a whole node (or a part thereof where applicable) sample using the reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) technique. CK19 is the cytoskeleton filament of epithelial cells and also of the cells of carcinomas and their metastases. Normal lymphoid tissue does not express CK19.

Using isothermal amplification, the OSNA method is able to detect the numbers of CK19 mRNA copies. The whole lymph node is processed, not only several sections thereof. The surgeon has the result at their disposal within 20 to 30 minutes.

Analysis was performed using the OSNA Assay (Sysmex, Kobe, Japan) according to the manufacturer's instructions. Briefly, the 2 mm sections of the lymph nodes intended for OSNA processing were homogenised to form a lysate. The lysate was then centrifuged and inserted into the RD 100i instrument (Sysmex) where the isothermal amplification of CK19 mRNA by the RT-LAMP method was executed.<sup>13,14</sup>

For the purposes of the study, the cut-off values of the OSNA method implemented for the description of micrometastases or macrometastases in lymph nodes in breast cancer patients were utilised. This means that values less than 250 copies of CK19 mRNA/µL were evaluated as negative, from 250 to 4999 copies of CK19 mRNA/µL as micrometastases and 5000 and more copies of

CK19 mRNA/µL as macrometastatic involvement. Those lymph nodes with a value exceeding greater than or equal to 250 copies of CK19 mRNA/µL were therefore evaluated and statistically processed as positive. The expression of CK19 by endometrial carcinoma was always immunohistochemically verified in the primary tumour as well.

## 2.7 | Statistical analysis

The data characterising the group of patients included in the study are arranged in the form of Table 1 to 4, Venn diagrams (Figures 1 and 2), followed by the statistical evaluation of the data with a description of the percentage representation of specific phenomena

**TABLE 1** Patients characteristics, patients N = 58, SLN's N = 135

Age, median (range)	65.5 (31-81)
BMI, median (range)	31.8 (17-44.9)
Number of SLN, n (%)	135 (100%)
Bilateral SLN mapping, n (%)	54 (93.1%)
Number of SLNs per patient, median (range)	2 (1-5)
Histology, n (%)	
Endometrioid	54 (93.1%)
Clear cell	2 (3.4%)
Serous	1 (1.7%)
Carcinosarcoma	1 (1.7%)
Tumour grades, n (%)	
1	33 (56.9%)
2	16 (27.6%)
3	9 (15.5%)
Lymphovascular invasion, n (%)	
No	45 (77.6%)
Yes	13 (22.4%)
FIGO stages, n (%)	
I	45 (77.6%)
II	7 (12.1%)
III	6 (10.3%)

Abbreviations: BMI, body mass index; FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics; SLNs, sentinel lymph nodes.

**TABLE 2** Sentinel lymph nodes – relationship of histopathological ultrastaging vs OSNA

Lymph nodes (n = 135)	Histopathological ultrastaging (combination of H&E and IHC)	
	Positive	Negative
OSNA assay positive	10	18 <sup>a</sup>
OSNA assay negative	1	106 <sup>b</sup>

Abbreviations: H&E, haematoxylin and eosin; IHC, Immunohistochemistry; OSNA, one-step nucleic acid amplification.

<sup>a</sup>This number includes also one OSNA positive SLN with benign epithelial inclusions in histopathological evaluation (17 + 1).

<sup>b</sup>All the sentinel lymph nodes finally considered negative, this number includes also two nodes with benign epithelial inclusions and one node with ITC (103 + 3).

**TABLE 3** Discordant nodes characteristics

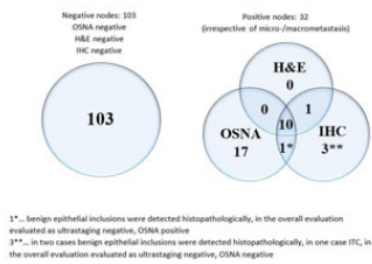
Node	Histology	Grades	LVSI	H&E	OSNA	IHC	mRNA CK19 copy/ $\mu$ L	Comments
1.	Endometrioid	1	Yes	++	+	++	1300	
2.	Endometrioid	2	No	-	+	-	1400	
3.	Clear cell	3	Yes	++	+	++	620	
4.	Clear cell	3	Yes	++	+	++	270	
5.	Endometrioid	2	Yes	-	+	-	270	
6.	Endometrioid	2	Yes	-	+	-	620	
7.	Endometrioid	1	No	-	+	-	620	
8.	Endometrioid	1	No	-	+	-	270	
9.	Clear cell	3	Yes	-	+	-	410	
10.	Clear cell	3	Yes	-	+	-	270	
11.	Endometrioid	2	No	-	++	-	35 000	
12.	Endometrioid	2	No	-	+	-	3800	
13.	Endometrioid	1	No	-	++	+	5200	Epithelial inclusions
14.	Endometrioid	1	No	-	-	+	<250	Epithelial inclusions
15.	Endometrioid	1	No	-	+	-	710	
16.	Endometrioid	1	No	-	+	-	470	
17.	Endometrioid	3	Yes	++	+	++	710	
18.	Endometrioid	2	Yes	-	++	-	13 000	
19.	Endometrioid	1	No	+	-	+	<250	
20.	Endometrioid	2	No	-	+	-	260	
21.	Endometrioid	2	No	-	+	-	400	
22.	Endometrioid	1	Yes	-	+	+	920	Isolated tumour cells
23.	Endometrioid	3	Yes	++	+	++	1800	
24.	Endometrioid	1	No	-	-	+	<250	Epithelial inclusions
25.	Endometrioid	3	No	-	+	-	2100	
26.	Serous	3	No	-	+	-	410	

Abbreviations: H&E, haematoxylin and eosin; IHC, Immunohistochemistry; LVSI, lymphovascular space invasion; mRNA, messenger RNA; OSNA, one-step nucleic acid amplification; +, micrometastasis; ++, macrometastasis.

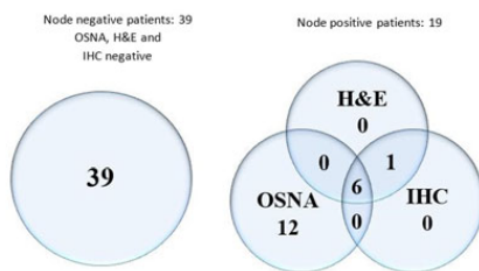
**TABLE 4** Changes in TNM and FIGO stage depending on OSNA results in discordant patients

Cases	Ultrastaging		OSNA staging		LVSI	Histology
	TNM	FIGO	TNM	FIGO		
1.	T1aN0M0	IA	T1aN1miM0	IIIC1	No	Endometrioid
2.	T2N0M0	II	T2N1miM0	IIIC1	Yes	Endometrioid
3.	T1aN0M0	IA	T1aN1miM0	IIIC1	No	Endometrioid
4.	T1aN0M0	IA	T1aN1miM0	IIIC1	No	Endometrioid
5.	T2N0M0	II	T2N1miM0	IIIC1	Yes	Clear Cell
6.	T2N0M0	II	T2N1aM0	IIIC1	No	Endometrioid
7.	T1aN0M0	IA	T1aN1aM0	IIIC1	No	Endometrioid
8.	T1aN0M0	IA	T1aN1miM0	IIIC1	No	Endometrioid
9.	T1aN0M0	IA	T1aN1miM0	IIIC1	No	Endometrioid
10.	T1bN0M0	IB	T1bN1miM0	IIIC1	Yes	Endometrioid
11.	T1aN0M0	IA	T1aN1miM0	IIIC1	No	Endometrioid
12.	T1aN0M0	IA	T1aN1miM0	IIIC1	No	Serous
13.	T1bN1mi	IIIC1	T1bN0M0	IB	No	Endometrioid

Abbreviations: FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics; LVSI, lymphovascular space invasion; OSNA, one-step nucleic acid amplification; TNM, tumour-node-metastasis.



**FIGURE 1** Examination of sentinel lymph nodes - relationship of the IHC, H&E and OSNA methods (number of nodes: 135). H&E, haematoxylin and eosin; IHC, Immunohistochemistry; OSNA, one-step nucleic acid amplification [Color figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]



**FIGURE 2** Resulting evaluation of the patients on the basis of the results of the examination using the IHC, H&E and OSNA methods (number of patients: 58). H&E, haematoxylin and eosin; IHC, Immunohistochemistry; OSNA, one-step nucleic acid amplification [Color figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

in the studied population or part thereof. The main objective was to describe the sensitivity, specificity and concordance of the OSNA method compared with a combination of histopathological and immunohistochemical examinations at the ultrastaging level.

The statistical evaluation of the comparison of the frequency of the detection of metastases by the OSNA and ultrastaging method in sentinel lymph nodes was conducted on the basis of the  $\chi^2$  method without Yates correction.

### 3 | RESULTS

#### 3.1 | Patient characteristics

A total of 58 patients operated on between April 2016 and January 2018 were included in the study and a total of 135 SLNs were examined based on the study protocol (Table 1).

During every examination by the pathologist, immunohistochemical verification of the CK19 expression was executed in the

tumorous tissue. In all the patients, the CK19 expression induced by a tumour was ascertained, within the range of 10% to 100%.

#### 3.2 | Sentinel lymph node detection

In the majority of patients (42; 72.4%), the sentinel lymph node was detected by the intracervical application of a combination of the Bleu Patente and  $^{99m}\text{Tc}$  tracers before the commencement of the operation. In 54 out of 58 (93.1%) patients included in the study, bilateral mapping was attained, while in four (6.9%) patients sentinel lymph nodes were localised only unilaterally. The most common localisation of the sentinel lymph node was in the position of the external iliac vessels (76.3%), with the second most common site being the obturator fossa (14.8%). All detected sentinel lymph nodes were located in the pelvic region or presacraly; during this study, no sentinel lymph nodes were found in the paraaortic region.

#### 3.3 | Comparison of OSNA and histopathological diagnosis

A total of 135 lymph nodes were examined for the presence of metastatic involvement. One hundred and six lymph nodes were evaluated as negative by all three methods (H&E, IHC CK19, and OSNA), while the remaining 29 lymph nodes were evaluated as positive by at least one method. The lymph node was evaluated positively only if the presence of a micrometastasis or macrometastasis was proven, while the presence of ITC was evaluated as negative. All three methods agreed on the positivity of 10 (13.5%) of the sentinel lymph nodes.

A total of 11 positive sentinel lymph nodes were detected by the H&E and IHC CK19 methods (ultrastaging). The OSNA method detected positivity in 18 more lymph nodes (more than 250 copies of CK19 mRNA/ $\mu\text{L}$ ) that were indicated as negative according to the ultrastaging approach. It was only possible in one case to detect the metastatic involvement of the lymph node at the level of micrometastasis using H&E and IHC CK19, while OSNA indicated the material from the lymph node as negative (Table 2 and Figure 1).

Table 2 summarises the comparison of positivity and negativity produced by the OSNA and ultrastaging methods in the final evaluation of the sentinel lymph nodes. Based on the results, the sensitivity, specificity and concordance of the used methods were calculated.

Detection of the metastatic involvement of sentinel lymph nodes using the OSNA method compared with ultrastaging as a standard reference method attained sensitivity of 90.9%, specificity of 85.5% and concordance of 85.9%. This proves that the OSNA method has a significantly greater proportion of detected positive sentinel lymph nodes ( $P = 0.0033$ ).

#### 3.4 | The ability of the applied methods to detect micrometastases and macrometastases

In addition to the comparison of the ability of the methods to detect the metastatic involvement of lymph nodes, we compared the individual methods (OSNA, H&E and IHC CK 19) from the point of view of their ability to detect micrometastases or macrometastatic involvement.

In the case of 26 discordant SLNs metastatic involvement was described using the OSNA method within the meaning of micrometastasis or macrometastasis. However, the result was not consistent with the results of the H&E or IHC methods. The methods did not bring consistent results both in terms of the detection of metastatic involvement of the node and in terms of the metastatic involvement level – micrometastasis vs macrometastasis.

In one SLN, the OSNA method recorded a negative result although the H&E and IHC CK19 examinations were positive for micrometastatic involvement.

In five SLNs, all methods detected the presence of metastatic involvement but were not consistent as far as the degree of its scope (micrometastasis vs macrometastasis) was concerned.

Out of 17 SLNs that were detected as positive using the OSNA method and as negative using the H&E and IHC CK19 methods, 14 were OSNA positive for micrometastasis, while the other methods produced a negative result. In three SLNs the OSNA method detected macrometastatic involvement, with the H&E and IHC CK19 methods providing a negative result.

In one SLN, the pathologist described ITC, which according to the OSNA method was micrometastasis positive. In two SLNs with IHC positivity vs H&E and OSNA negativity and one SLN with IHC and OSNA positivity vs H&E negativity, ectopic epithelial inclusions were described. The cases with benign epithelial inclusions were evaluated by the pathologist as three false-positive results (Table 3).

### 3.5 | Evaluation of patients on the basis of SLN condition

The results of the OSNA method and both standard methods (H&E and IHC) in relation to the individual patients are shown in Figure 2.

All three methods were consistent in 39 patients in the absence of metastatic involvement of SLNs. In six patients, all three methods were consistent in terms of the positivity of the examined sentinel lymph nodes. In addition, the OSNA method detected positive SLNs in 12 patients, whereas in one patient, the SLN's positivity detected by the H&E and IHC CK19, which was detected as negative by the OSNA method.

The false-positive lymph nodes due to benign epithelial inclusions detected by IHC CK 19 indicated in Figure 1 did not affect the overall evaluation of the patient.

### 3.6 | Tumour-node-metastasis (TNM) and FIGO classification of the patients based on the used examination methods

Under the OSNA method, diagnostics classified 12 patients (20.69%) as FIGO stage III, while the examination of the sentinel lymph nodes by ultrastaging resulted in their classification as FIGO stages I and II (Table 4).

One of the patients was classified as FIGO stage III based on the ultrastaging examination, while the examination of the SLNs using the OSNA method classified this patient as FIGO stage I.

In 45 patients, the TNM and FIGO classifications based on the SLN examinations using the OSNA and ultrastaging methods were consistent. These patients are not included in Table 4.

## 4 | DISCUSSION

Our study represents the largest group of EC patients to be examined so far using the OSNA method for the detection of the metastatic involvement of SLNs. Compared with standard ultrastaging, the OSNA method proved the metastatic involvement of SLNs more frequently and resulted in the upstaging of as many as 20.69% patients. The used methodology allowed every sentinel lymph node to be examined by ultrastaging and the OSNA method at the same time, whereby the results of both procedures could be compared. At all times, one-half of the sections were processed according to the OSNA method, while the other half were subjected to standard histopathological ultrastaging. While ultrastaging evaluated 8.15% (11/135) of the lymph nodes as metastatically involved, the OSNA method detected 20.69% (28/135) as metastatically involved ( $P \leq 0.0033$ ). The concordance of the OSNA method and the ultrastaging of sentinel lymph nodes as a reference method was 85.9%. The false negativity of the OSNA method was only recorded in one case.

The detection of the metastatic involvement of lymph nodes using the OSNA method in the case of EC was used in two smaller published studies. In 2014, a group of Japanese authors used the OSNA method in 35 EC patients for the first time. The examination of 137 sentinel lymph nodes resulted in the detection of 15 (10.95%) positive ones. The 2-mm-interval histopathological method was used as a control standard. The node was cut into sections 2-mm thick. The even sections were processed in a standard manner, while the odd ones using the OSNA method. Although the study utilised a less detailed histopathological examination (2-mm-interval histopathology method) than our study, a greater concordance was achieved. Only four discordant findings were described. Concordance of the OSNA method and the standard histopathological examination was 97.1%.<sup>15</sup> A detailed ultrastaging method of the processing of sentinel lymph node parts would further improve the comparison of both the methods, including the detection of phenomena comprising micrometastases, ITC or benign epithelial inclusion.

In another study, the authors examined a total of 94 sentinel lymph nodes from 34 patients using the OSNA method. The central 1-mm thick section of the lymph node was examined by H&E and IHC CK19, while the remaining lymph node tissue was examined according to the OSNA method. In this study, the OSNA method detected 16 metastatically involved lymph nodes and thus attained 88.3% concordance with the histopathological examination. Within the framework of this study, a total of 11 discordant results were detected: OSNA positive and histopathology negative. In two SLNs, benign epithelial inclusions were detected as a result of the histopathological examination, with the OSNA method providing a positive result in these cases. Regardless of the fact that the use of

the OSNA method proved to be more sensitive to metastases detection, the study was limited by the detailed histopathological examination of only the 1-mm central section of the node, which may not have detected metastatic involvement properly.<sup>16</sup>

Unlike our sample, neither study evaluates the possible impact of the selected detection methods on the management of the patients participating in the study. Considering the high proportion of upstaging in our study, we regard this fact as very important from the clinical point of view. We believe that a more accurate detection of lymph node metastatic involvement using the OSNA method could result in a more precise indication of adjuvant treatment in patients who have so far been included in the low-risk group, thereby reducing the risk of disease recurrence.

The processing of SLNs represents an essential issue. The OSNA method has established itself as a very efficient and comparable method to ultrastaging in that it provides information on the presence of tumour involvement from the entire lymph node and not on the basis of just several sections. However, its nature excludes a feedback check of the sample by the pathologist. Three lymph nodes included in our study, benign ectopic epithelial inclusions were found in the samples. Such inclusions may cause a false positivity of the OSNA method. The incidence of such inclusions in SLNs is very low; the references state about 1.6%. The total incidence, including non-SLNs then fluctuates around 0.1% to 0.2%.<sup>16</sup> In our group of examined SLNs their incidence attained 2.2% and caused one true-false positivity using the OSNA method. However, this result had no effect on the final evaluation of the patient as they also had an ultrastaging positive contralateral SLN with a detected micrometastasis.

In one case, the SLN was evaluated according to the OSNA method as negative, whereas ultrastaging evaluated the same lymph node as positive with a micrometastasis. This can be explained by the method used for cutting the node into sections 2-mm thick. It is possible that the pathologist received the part of the lymph node with micrometastatic involvement, while the instrument for the OSNA examination received the part of the lymph node without metastatic involvement. The same principle could have played a role in the opposite case, that is, the positivity of the OSNA method for a micrometastasis with H&E and IHC negativity. However, the significantly higher statistical incidence of such cases in our group, with a total of 18 positive lymph nodes with negative ultrastaging, is indicative of a higher sensitivity of the OSNA method to metastatic involvement compared to histopathological and IHC examinations (Table 3).

Detection of a sentinel lymph node in EC patients is not a standardised process yet. There are several methods of detection that differ according to the site of application and the combination of tracers.<sup>17,18</sup> In our study, the method of intracervical application was used. In addition, the possibility of the detection of sentinel lymph nodes within the framework of paraaortic localisation is controversial. Based on references, about 10% of sentinel lymph nodes are localised in this region.<sup>19</sup> The incidence of isolated metastases in this region, that is, without the involvement of pelvic lymph nodes, is reported to be about 1% to 3%.<sup>20,21</sup> Unsuccessful detection of an

isolated metastatically involved paraaortic lymph node could lead to the selection of an irrelevant adjuvant treatment. In addition, within the framework of preoperative examination it is possible to reduce this risk by utilising detailed imaging examinations (such as CT, positron emission tomography-computed tomography [PET-CT] or expert ultrasound) to identify clinically suspect lymph nodes in this region. Some of the published studies also point to the benefits of sentinel lymph node mapping (SLNM) in EC patients compared with the execution of systematic pelvic and paraaortic lymphadenectomy. The SLNM strategy shows a higher degree of detection of affected pelvic lymph nodes with a possible lower radicality of surgical treatment.<sup>22</sup> How et al<sup>19</sup> even describes a decrease in the incidence of pelvic recurrence of the disease (pelvic sidewall recurrences) by up to 68%.

Recently published data dealing with the importance of lympho-vascular space invasion (LVSI) in pT1N0 node-negative patients has shown the 5-year disease recurrence rate of 4.8% in lymph node negative and LVSI negative and 14.1% lymph node negative and LVSI-positive patients ( $P = 0.006$ ).<sup>23</sup> The question arises whether these facts are caused by the low sensitivity of the standard tests used for the detection of metastatic involvement of SLNs or not. In our group of patients, the OSNA method detected a statistically significant higher number of positive lymph nodes, which would result in the classification of a statistically significant higher number of patients into higher FIGO stages, which would better correspond to the frequency of patients in whom the recurrence of the disease occurs in the early stage.

In our medical care system, the cost of a sentinel lymph node examination using the OSNA method is about 10 times higher than histopathological ultrastaging. However, it is evident from practice that with the increasing number of OSNA tests, the cost of implementing is decreasing. Moreover, with a higher sensitivity of nodal involvement detection with the OSNA method, a decrease in retreatment costs may also be expected due to adequate first-line adjuvant therapy. A detailed cost-benefit analysis of the OSNA examination for patients with endometrial cancer has not yet been published. However, the cost-benefit analysis for breast cancer patients estimated by the total cost of treatment is in favour of OSNA testing, despite the higher entry cost per lymph node.<sup>24,25</sup>

## 5 | CONCLUSIONS

In conclusion, the OSNA method offers a quick and accurate alternative to detailed ultrastaging examination. Based on the results of this study, the OSNA method, compared with ultrastaging, shows sensitivity of 90.9%, specificity of 85.5% and concordance of 85.9%. In our study, the OSNA method compared with ultrastaging led to the detection of a higher number of metastatically involved SLNs, with the consequent upstaging of 20.69% more patients. In the case of breast and colorectal cancers, this method proved itself sufficient in the past and is already accepted as a standard method

in routine clinical practice.<sup>26</sup> The utilisation of the OSNA method in combination with SLNM techniques in EC patients holds great promise for the future for the highly sensitive detection of metastatically involved lymph nodes and the relevant application of adjuvant treatment. The next step of the study is to apply this method for examining SLNs in EC patients should focus on the inclusion of the examination of the whole SLN without indirect histological control.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

OSNA assay, data and statistical analysis were supported by the grant of Ministry of Health of the Czech Republic Conceptual Development of Research Organisation (Faculty Hospital in Pilsen [FNPI]: 00669806).

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Surgical team leader, writing, data collection and analysis: KJ. OSNA method team leader, writing: PM. Writing, writing revisions: SJ. OSNA method team member: KH, TO, KR and VK. Histopathological ultrastaging: SR. Surgical team member, data collection: VP, BJ, NZ, BA and BD. Writing revisions, surgical team member: PJ.

#### CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest.

#### ORCID

Jan Kostun  <http://orcid.org/0000-0003-4077-9031>

Martin Pešta  <http://orcid.org/0000-0001-8187-0566>

#### REFERENCES

- Globocan, Northern America, WHO Europe Region (EURO). *Estimated cancer incidence, all ages: female*. 2012. [http://globocan.iarc.fr/old/summary\\_table\\_pop.html?selection=145905&selection=221994&title=Northern+America%2C+WHO+Europe+region+%28EURO%29&sex=2&type=0&window=1&sort=3&submit=%C2%A0Execute](http://globocan.iarc.fr/old/summary_table_pop.html?selection=145905&selection=221994&title=Northern+America%2C+WHO+Europe+region+%28EURO%29&sex=2&type=0&window=1&sort=3&submit=%C2%A0Execute). Accessed May 14, 2017.
- Creasman W. Revised FIGO staging for carcinoma of the endometrium. *Int J Gynaecol Obstet*. 2009;105(2):109-109.
- Lewin SN, Wright JD. Comparative performance of the 2009 International Federation Of Gynecology And Obstetrics' Staging System for uterine corpus cancer. *Obstet Gynecol*. 2011;117(5):1226.
- NCCN. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines). 2017 *Uterine Neoplasms, Version 1.2018*. [https://www.nccn.org/store/login/login.aspx?ReturnURL=https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/uterine.pdf](https://www.nccn.org/store/login/login.aspx?ReturnURL=https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/uterine.pdf). Accessed March 26, 2017.
- Kitchener H, Swart AM, Qian Q, Amos C, Parmar MK. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet (London, England)*. 2009;373(9658):125-136.
- Daraï E, Dubernard G, Bats AS, et al. Sentinel node biopsy for the management of early stage endometrial cancer: long-term results of the SENTI-ENDO study. *Gynecol Oncol*. 2015;136(1):54-59.
- Cibula D, Oonk MH, Abu-Rustum NR. Sentinel lymph node biopsy in the management of gynecologic cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2015;27(1):66-72.
- Cormier B, Rozenholc AT, Gottlieb W, et al. Sentinel lymph node procedure in endometrial cancer: a systematic review and proposal for standardization of future research. *Gynecol Oncol*. 2015;138(2):478-485.
- Slama J, Dunder P, Dusek L, Cibula D. High false negative rate of frozen section examination of sentinel lymph nodes in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;129(2):384-388.
- Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. *WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs*. 4th ed., 6. Lyon: IARC; 2014:121-155.
- Fischerova D. Ultrasound scanning of the pelvis and abdomen for staging of gynecological tumors: a review. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011;38(3):246-266.
- Fischerova D, Frühauf F, Zikan M, et al. Factors affecting sonographic preoperative local staging of endometrial cancer. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;43(5):575-585.
- Tsujiimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, et al. One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2007;13(16):4807-4816.
- Vodicka J, Mukensnabl P, Vejvodova S, et al. A more sensitive detection of micrometastases of NSCLC in lymph nodes using the one-step nucleic acid amplification (OSNA) method. *J Surg Oncol*. 2018;117(2):163-170.
- Nagai T, Niikura H, Okamoto S, et al. A new diagnostic method for rapid detection of lymph node metastases using a one-step nucleic acid amplification (OSNA) assay in endometrial cancer. *Ann Surg Oncol*. 2015;22(3):980-986.
- López-Ruiz ME, Diestro MD, Yébenes L, et al. One-step nucleic acid amplification (OSNA) for the detection of sentinel lymph node metastasis in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2016;143(1):54-59.
- Robova H, Charvat M, Strnad P, et al. Lymphatic mapping in endometrial cancer: comparison of hysteroscopic and subserosal injection and the distribution of sentinel lymph nodes. *Int J Gynecol Cancer*. 2009;19(3):391-394.
- Holloway RW, Abu-Rustum NR, Backes FJ, et al. Sentinel lymph node mapping and staging in endometrial cancer: a Society of Gynecologic Oncology literature review with consensus recommendations. *Gynecol Oncol*. 2017;146(2):405-415.
- How J, Gauthier C, Abitbol J, et al. Impact of sentinel lymph node mapping on recurrence patterns in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2017;144(3):503-509.
- Kumar S, Podratz KC, Bakkum-Gamez JN, et al. Prospective assessment of the prevalence of pelvic, paraaortic and high paraaortic lymph node metastasis in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2014;132(1):38-43.
- Rossi EC, Kowalski LD, Scalici J, et al. A comparison of sentinel lymph node biopsy to lymphadenectomy for endometrial cancer staging (FIRES trial): a multicentre, prospective, cohort study. *Lancet Oncol*. 2017;18(3):384-392.
- Raimond E, Ballester M, Hudry D, et al. Impact of sentinel lymph node biopsy on the therapeutic management of early-stage endometrial cancer: results of a retrospective multicenter study. *Gynecol Oncol*. 2014;133(3):506-511.
- Cusano E, Myers V, Samant R, et al. Prognostic significance of lymphovascular space invasion in the absence of lymph node metastases in early-stage endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2018;28(5):890-894.
- Raia-Barjat T, Trombert B, Khaddage A, et al. OSNA (one-step nucleic acid amplification) sentinel lymph node intraoperative molecular analysis in breast cancer: a cost-benefit analysis. *Med Oncol*. 2014;31(12):322.

25. Guillén-Paredes MP, Carrasco-González L, Cháves-Benito A, Campillo-Soto Á, Carrillo A, Aguayo-Albasini JL. [One-step nucleic acid amplification (OSNA) assay for sentinel lymph node metastases as an alternative to conventional postoperative histology in breast cancer: a cost-benefit analysis]. *Cir Esp*. 2011;89(7):456-462.
26. Tamaki Y. One-step nucleic acid amplification (OSNA): where do we go with it? *Int J Clin Oncol*. 2017;22(1):3-10.

**How to cite this article:** Kosťun J, Peřta M, Sláma J, et al. One-step nucleic acid amplification vs ultrastaging in the detection of sentinel lymph node metastasis in endometrial cancer patients. *J Surg Oncol*. 2019;119:361-369.  
<https://doi.org/10.1002/jso.25322>

**20. KOSTUN, J., PESTA, M., SLUNECKO, R., et al. One-Step Nucleic Acid Amplification method - what is the future of sentinel lymph node management?. Ceska Gynekol. 2018, 83 (1), p. 57-61.**



# Metoda One-Step Nucleic Acid Amplification – jaká je budoucnost zpracování sentinelových uzlin?

## One-Step Nucleic Acid Amplification method – what is the future of sentinel lymph node management?

Kostun J.<sup>1</sup>, Pešta M.<sup>2</sup>, Slunéčko R.<sup>4</sup>, Vlasák P.<sup>1</sup>, Bouda J.<sup>1</sup>, Berezovskiy D.<sup>1</sup>, Topolčan O.<sup>3</sup>, Novotný Z.<sup>1</sup>, Presl J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gynekologicko-porodnická klinika FN a LF UK, Plzeň, přednosta doc. MUDr. Z. Novotný, CSc.

<sup>2</sup>Ústav biologie LF UK, Plzeň, vedoucí doc. RNDr. M. Pešta, Ph.D.

<sup>3</sup>Oddělení imunochemické diagnostiky FN a LF UK, Plzeň, primář prof. MUDr. O. Topolčan, CSc.

<sup>4</sup>Šiklův ústav patologie FN a LF UK, Plzeň, přednosta prof. MUDr. M. Michal

### ABSTRACT

**Objective:** The article summarizes current possibilities of usage of the One-Step Nucleic Acid Amplification method (OSNA) in the perioperative management of sentinel lymph nodes in oncologic surgery. The principle of this method is the detection of cytokeratin 19 (CK19) in the lymphatic tissue as a marker of the metastatic spread.

**Design:** Review article.

**Settings:** Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital Pilsen, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Prague; Department of Biology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Prague; Department of Immunochimistry, University Hospital Pilsen, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Prague; Šikl's Department of Pathology, University Hospital Pilsen, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Prague.

**Methods:** The review of the literature published until the end of April 2017 available on the PubMed database

was performed. The official abbreviation OSNA and the full name of the method One-Step Nucleic Acid Amplification was used for search in this database.

**Conclusion:** The usage of the OSNA method with the detection of CK 19 in the sentinel lymph nodes as a marker of metastatic spread to the lymphatic tissue currently represents an acceptable form of perioperative sentinel lymph node management in patients with breast and colorectal cancer. Until now published data are pointing towards possible successful application of this method in sentinel lymph node management in patients with some other malignancies, such as thyroid carcinoma, gastric cancer, uterus cancer and head and neck cancer. More data is needed to establish this method also in those neoplasms.

### KEYWORDS

OSNA, CK19, sentinel lymph node

### SOUHRN

**Cíl studie:** Článek popisuje současné možnosti využití molekulárně biologické metody One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) v peroperačním zpracování sentinelových lymfatických uzlin v onkologické operativě. Principem vyšetření je stanovení cytokeratinu 19 jako markeru metastatického postižení ve vzorku lymfatické tkáně.

**Typ studie:** Přehledový článek.

**Název a sídlo pracoviště:** Gynekologicko-porodnická klinika, Fakultní nemocnice Plzeň a Lékařská fakulta UK v Plzni; Ústav biologie, Lékařská fakulta UK v Plzni; Oddělení imunochemické diagnostiky, Fakultní nemocnice Plzeň a Lékařská fakulta UK v Plzni; Šiklův ústav patologie, Fakultní nemocnice Plzeň a Lékařská fakulta UK v Plzni.

**Metodika:** Literární rešerše literatury dostupné na databázi PubMed a publikované do dubna roku 2017. Jako

klíčových slov bylo použito oficiálně využívané zkratky OSNA i celého názvu metody One-Step Nucleic Acid Amplification.

**Závěr:** Využití metody OSNA s detekcí cytokeratinu 19 v sentinelových uzlinách jako markeru metastatického postižení představuje v současné době akceptovanou formu peroperačního zpracování sentinelových uzlin u karcinomu prsu a kolorektálního karcinomu. Dosud publikovaná data naznačují možnost úspěšného využití tohoto způsobu vyšetření sentinelových uzlin i u ostatních zhoubných novotvarů s lymfogenním šířením. Jedná se například o karcinomy štítné žlázy, žaludku, plic, dělohy, hlavy a krku. K prosazení metody OSNA i u těchto malignit je však zapotřebí většího množství publikovaných dat.

### KLÍČOVÁ SLOVA

OSNA, CK19, sentinelová uzlina

MUDr. Jan Kostun, e-mail: jan.kostun@gmail.com  
Čes. Gynek., 2018, 83, č. 1, s. 57–61

## ÚVOD

Stav lymfatického aparátu představuje u nádorů s lymfogenním šířením zásadní prognostický faktor. Jeho stanovení, včetně detailního vyšetření tzv. sentinelové uzliny, slouží k přesnějšímu určení rozsahu onemocnění, stagingu, a díky tomu k adekvátní volbě pooperační adjuvantní léčby. Koncept sentinelové uzliny v pojetí moderní medicíny dnes již není novinkou a těší se širokému využití v onkologické chirurgii mnoha lékařských oborů. První kroky vedly přes detekci uzlin u pacientů s rakovinou penisu v sedmdesátých letech minulého století [2], maligních kožních melanomů až ke snad největšímu masovému využití této metody, tedy k mapování sentinelové uzliny u pacientek se zhoubným nádorem prsu. V současnosti využíváme v onkogynekologii mapování sentinelových uzlin u pacientek s karcinomem vulvy, do rutinní praxe se postupně celosvětově dostává vyšetřování sentinelových uzlin u karcinomu děložního hrdla [25] a v případě karcinomu děložního těla probíhá intenzivní výzkum uplatnění této koncepce.

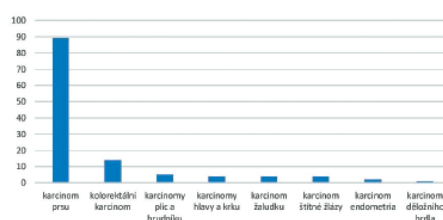
K mapování sentinelových uzlin jsou standardně využívány tyto značkovací látky/tracery samostatně či v kombinaci: Patentní Modř, <sup>99m</sup>Tc a ICG. Jejich detekce probíhá peroperačně, či v případě radioaktivního Technecia je možné sentinelové uzliny lokalizovat již před operací pomocí scintigrafických vyšetření. Aplikaci značkovací látky je pak doporučováno provádět nikoliv přímo do tumoru, ale do jeho lůžka, kde se předpokládá zachování architektury lymfatického řečiště, a tím volný odtok směrem ke spádové lymfatické uzlině. Specifickou problematiku představuje mapování sentinelové uzliny u karcinomu endometria, a to pro nejednotnost ve způsobu a místa aplikace tracerů. Tuto problematiku přehledným způsobem komentují například publikace Robové et al. [21, 22]. Navzdory dosavadním snahám v této oblasti nebylo standardizace způsobu mapování sentinelových uzlin u karcinomu endometria zatím dosaženo. Jedná se tedy o metodu dosud pouze experimentální, která je náplní výzkumných projektů [8]. V současné době, zejména zásluhou severoamerických autorů (protokol užívaný v Memorial Sloan Kettering Cancer Center), je prosazována aplikace značkovacích látek intracervikálním způsobem [3, 13]. Přes všechny nedostatky této metody je tento způsob aplikace t.č. nejrozšířenější a jeho využití je komentováno i v aktuálních doporučení ESMO-ESGO-ESTRO či NCCN pro léčbu pacientek s karcinomem endometria [4, 18].

Identifikace sentinelové uzliny však nepředstavuje jediný problém v této oblasti. Výzvou je i zpracování získaného materiálu. V tomto bodě naráží požadavky operátora a klinika na možnosti vyšetřovacího aparátu představované v současnosti téměř

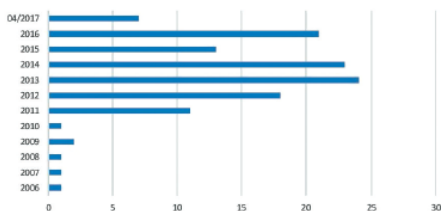
výhradně patologem a jeho vybavením. Ideálním postupem by bylo, kdybychom byli schopni detekovat sentinelovou uzlinu, vyjmout ji a odeslat na zpracování, které nám poskytne přesné výsledky během operace, a pokud možno v řádu minut. Toto samozřejmě v současnosti možné není. S využitím metody frozen section (FS) jsme sice během přibližně 30 minut schopni od zkušeného patologa obdržet validní výsledek, nicméně se jedná o výsledek předběžný a jeho definitivní platnost potvrdí až vyšetření trvající řadu dní. Jaká je ale přesnost předběžného výsledku FS? Publikace z roku 2013 kolektivu autorů Sláma et al. se podrobně zabývá zpracováním sentinelové uzliny metodou FS u karcinomu děložního hrdla na populaci 225 pacientek. V této publikaci metoda FS dosahovala přesnosti definitivního vyšetření v 56,2 % případů, či v 63 % při vyloučení kategorie izolovaných tumorových buněk (ITC) [24].

## NOVÉ MOŽNOSTI VYŠETŘENÍ SENTINELOVÉ LYMFATICKÉ UZLINY

Právě do tohoto rozporu mezi aktuálními možnostmi diagnostického aparátu a požadavky kliniků v současnosti vstupují moderní molekulární biologické metody, které si kladou za cíl vyhovět našim nárokům na přesnost i rychlost. Jednou z takových metod je metoda One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA). Tato progresivní metoda se dokázala prosadit do standardů operační péče pro pacienty s kolorektálním či prsním karcinomem a je využívána již téměř 300 nemocnicemi po celém světě [27]. Konkrétně v případě karcinomu prsu vykazuje senzitivitu 89,3 %, specifitu 94,8 % a shodu s definitivním patologickým výsledkem (konkordanci) v 93,8 % [27]. V případě kolorektálního karcinomu hovoříme o senzitivitě 86,2 %, specificitě 96,5 % a konkordanci 95,7 % [30]. Výzkum jejího využití v onkologické chirurgii probíhá již od roku 2006 a dosud bylo zveřejněno více než 120 publikací s touto tematikou (databáze PubMed, heslo: OSNA, One-Step Nucleic Acid Amplification), viz grafy 1 a 2.



Graf 1 Četnost publikací s tematikou OSNA podle origo tumoru do dubna 2017



**Graf 2** Četnost publikací s tematikou OSNA do dubna 2017

One-Step Nucleic Acid Amplification neboli OSNA, je metoda založená na detekci cytokeratinu 19 (CK19) v lymfatické tkáni a je plně akreditována pro Evropu podle evropské směrnice pro in vitro diagnostiku 98/97 EC. Jedná se o izotermický proces využívající technologie rychlé amplifikace nukleových kyselin (RT-LAMP: Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification) k semikvantitativnímu stanovení mRNA CK19. Tento cytokeratin je v podstatě epitelovým markerem, který normální lymfatickou tkáni není exprimován. Jeho míra exprese tedy poukazuje (v souvislosti s nádorovým onemocněním pacientky) na přítomnost nádorových buněk epiteliálního původu, a tedy metastatického postižení vyšetřované lymfatické uzliny [26].

Prvním krokem zpracování je tzv. homogenizace uzliny v lyzátu. Žádná další úprava již není nutná, a tak vzorek putuje do detekčního přístroje RD-100i (Sysmex, Kobe, Japan). Výsledky z vyšetření celé uzliny jsou známy asi do 30 minut a analyzovat je možno vzorky až ze čtyř uzlin najednou. Kvantitativní analýza vzorku umožňuje rozlišit, nejen zda se jedná o uzlinu pozitivní či negativní, ale podle množství exprimovaného CK19 lze posoudit i míru postižení uzliny ve smyslu mikrometastáza/makrometastáza. Podle analýzy

hodnot kopií mRNA CK19 byly stanoveny tyto cut off hodnoty pro karcinom prsu: uzliny s počtem kopií mRNA CK19 do 250 jsou hodnoceny jako negativní, od 250 do 5000 kopií mRNA CK19 jako mikrometastáza a nad 5000 kopií mRNA CK19 jako postižení makrometastatické [29]. Jako další využití této metody je podle posledních dat možnost predikce postižení axilárních nesentinelových uzlin u karcinomu prsu [28].

Výše zmiňované cut off hodnoty 250 a 5000 kopií mRNA CK19 pro odlišení mikrometastáz či makrometastáz byly postupně akceptovány i pro karcinom kolorekta a jsou aplikovány i ve studiích pro ostatní malignity plic, endometria, děložního hrdla atd. [5, 12, 16, 17, 19, 30].

Možnost využití metody OSNA u pacientek s karcinomem endometria byla zkoumána týmy japonských a španělských autorů. Jednalo se o soubory s 35 a 34 pacientkami, u kterých bylo tímto způsobem vyšetřeno 137 a 94 uzlin. Japonský tým metodu OSNA porovnával s histopatologickým zpracováním vzorku po 2 mm. Tým španělských autorů centrální jednomilimetrovou část uzliny vyšetřil po 200 µm včetně imunohistochemického vyšetření a detekce CK19 a zbývající tkáň uzliny byla určena ke zpracování metodou OSNA. Metoda OSNA vykazovala v porovnání s klasickým histopatologickým zpracováním senzitivitu 82,4–100 % a specifitu 87,6–99,2 % [15, 16]. Dále viz tabulku 1.

Tato metoda tedy teoreticky naplňuje naše požadavky na vysokou přesnost a zároveň dostupnost výsledku v krátkém časovém rámci a umožňuje během probíhající operace rozhodnout o rozsahu radikality výkonu. Vyšetření lze s úspěchem využít i u pacientů po neoadjuvantní chemoterapii. Zde odpadají vyšší nároky na zkušenost patologa, neboť OSNA změny tkáně uzlin způsobené proběhlou chemoterapií nezohledňuje. Navíc se jedná o automatizovaný proces, který lze dobře

**Tab. 1** Využití metody OSNA u gynekologických malignit, do 4/2017 (mimo karcinom prsu)

Autor, rok	Počet pacientek	Počet vzorků	Senzitivita %	Specifita %	Konkordance %	Pozit. Pred. Hodnota %	Negat. Pred. Hodnota %
Karcinom děložního hrdla							
Okamoto et al, 2013	32	130	50,0	98,4	96,2	60,0	97,6
Karcinom děložního těla							
López-Ruiz et al, 2016	34	94	100	87,6	88,3	68,8	100
Nagai et al, 2015	35	137	82,4	99,2	97,1	93,3	97,5
Součet/průměr	101	361	77,5	95,1	93,9	74,0	98,4

standardizovat a který může provádět zaškolený laboratorní pracovník [26]. I tato metoda má své limity. Za největší negativum tohoto vyšetření je považován fakt, že během analýzy OSNA je použita část vzorku zcela znehodnocena, a není tak možná jeho histologická kontrola. A totéž platí i opačně, histologicky zpracovaný vzorek není možné využít k analýze OSNA. Chybí tak kontrola vzorku zlatým standardem, v tomto případě histologickým/imunohistochemickým vyšetřením. Tento handicap je ve studiích nahrazován různými způsoby prokrájení vzorku či imunohistochemickým potvrzením exprese CK19 v mateřském tumoru a v částkách histologicky zpracovaných uzlin – viz výše.

## DISKUSE

OSNA se tak stává metodou, která má potenciál nalézt v budoucnu ještě širší uplatnění. Vysoká přesnost a rychlost vyšetření prokazatelně redukuje nejen anxiety našich pacientek (eliminace doby psychického tlaku spojené s čekáním na definitivní výsledek), ale i množství následných anestezií a chirurgických operací, což pozitivně ovlivňuje kvalitu života [1]. V roce 2016 byl publikován článek autorů z Velké Británie, kteří se touto zajímavou problematikou zabírali. Až 97 % respondentek ankety prohlásilo, že bylo s vyšetřením spokojeno a bylo by ochotno stejnou proceduru v budoucnu opět podstoupit [1]. Často diskutovaná nákladnost metody se stále širším zapojením do praxe neustále snižuje. Podle analýz publikovaných v roce 2014 a 2016 se model operační léčby s využitím OSNA jeví jako model významně redukující náklady na péči o pacientky s karcinomem prsu ve srovnání se standardním modelem využívajícím FS a následně definitivní histopatologické vyšetření s využitím imunohistochemie. Tento postup také snižuje až u 20 % pacientek nutnost druhého operačního výkonu [20, 23].

V poslední době peroperační vyšetření sentinelových uzlin karcinomu prsu ztrácí na významu. Pacientky s mikrometastázami či postižením jedné až dvou sentinelových uzlin, které nepodstoupily předoperační neoadjuvantní chemoterapii a u kterých je plánován prs zachovávající výkon, jsou indikovány k radiační léčbě [7, 9, 10]. U ostatních gynekologických malignit však využití této metody představuje do budoucna nadále přínos.

Studie s využitím metody OSNA u vyšetření sentinelových uzlin i u jiných zhoubných nádorů než u karcinomu prsu či kolorektálního karcinomu přinesly podobné výsledky ohledně senzitivity a specifity a naznačují její možné využití do budoucna. Jednalo se o studie vyšetření uzlin u karcinomu žaludku (senzitivita 83,3 %, specifita 95,9 %) [14], karcinomu plic (senzitivita 95 %, specifita 99,3 %) [12], karcinomu endometria (senzitivita 82,4 %, specifita 99,2 %) [16], karcinomy štítné žlázy (senzitivita 81,5 %, specifita 92,1 %) [6], skvamózního karcinomu krku a hlavy (senzitivita 86,9 %, specifita 96 %) [11] či děložního hrdla (senzitivita 50 %, specifita 98,4 %) [16]. Na základě výsledků studií u kolorektálního karcinomu byla tato metoda uznána japonským ministerstvem zdravotnictví a již od roku 2013 je hrazena ze zdrojů veřejného zdravotního pojištění [27].

## ZÁVĚR

Na jaře roku 2016 byla zahájena na Gynekologicko-porodnické klinice Fakultní nemocnice v Plzni ve spolupráci s Biomedicínským centrem a Šiklovým ústavem patologie nekomerční monocentrická klinická studie (ClinicalTrials.gov ID: NCT02826291) využívající tuto unikátní metodu u pacientek s karcinomem děložního těla. Výsledky této studie by měly být dostupné již v tomto roce.

## LITERATURA

1. Athwal, RK., Clarke D., Harries S., et al. Patient anxiety on the use of one step nucleic acid amplification (OSNA) during breast cancer surgery. *Breast Disease*, 2016, 36(1), p. 23–26.
2. Cabanas, RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer*, 1977, 39(2), p. 456–466.
3. Cibula, D., Oonk, MH., Abu-Rustum, NR. Sentinel lymph node biopsy in the management of gynecologic cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2015, 27(1), p. 66–72.
4. Colombo, N., Creutzberg, C., Amant, F., et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: Diagnosis, Treatment and Follow-up. *Inter J Gynecol Cancer*, 2016, 26(1), p. 2–30.
5. Croner, RS., Schellerer, V., Demund, H., et al. One step nucleic acid amplification (OSNA) – a new method for lymph node staging in colorectal carcinomas. *J Translat Med*, 2010, p. 883.
6. del Carmen, S., Gattia, S., Franch-Arcas, G., et al. Concordance study between one-step nucleic acid amplification and morphologic techniques to detect lymph node metastasis in papillary carcinoma of the thyroid. *Hum Pathol*, 2016, p. 48132–48141.
7. Donker, M., van Tienhoven, G., Straver, ME., et al. Radiotherapy or surgery of the axilla after a positive sentinel node in breast cancer (EORTC 10981-22023 AMAROS): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet Oncology*, 2014, 15(12), p. 1303–1310.
8. Dzvinčuk, P., Pilka, R., Kudela, M., et al. [Sentinel lymph node detection using <sup>99m</sup>Tc-nanocolloid in endometrial cancer]. *Ces Gynek*, 2006, 71(3), s. 231–236.
9. Gallmberti, V., Cole, BF., Zurrida, S., et al. Axillary dissection versus no axillary dissection in patients with sentinel-node micrometastases (IBCSG 23-01): a phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Oncology*, 2013, 14(4), p. 297–305.

10. **Giuliano, A.E., Hunt, K.K., Ballman, K.V., et al.** Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: a randomized clinical trial. *JAMA*, 2011, 305(6), p. 569–575.
11. **Goda, H., Nakashiro, K., Oka, R., et al.** One-step nucleic acid amplification for detecting lymph node metastasis of head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, 2012, 48(10), p. 958–963.
12. **Inoue, M., Hiyama, K., Nakabayashi, K., et al.** An accurate and rapid detection of lymph node metastasis in non-small cell lung cancer patients based on one-step nucleic acid amplification assay. *Lung Cancer*, 2012, 78(3), p. 212–218.
13. **Khoury-Collado, F., St Clair, C., Abu-Rustum, N.R.** Sentinel lymph node mapping in endometrial cancer: an update. *Oncologist*, 2016, 21(4), p. 461–466.
14. **Kumagai, K., Yamamoto, N., Mlyashiro, I., et al.** Multicenter study evaluating the clinical performance of the OSNA assay for the molecular detection of lymph node metastases in gastric cancer patients. *Gastric Cancer*, 2014, 17(2), p. 273–280.
15. **Lopez-Rulz, M.E., Diestro, M.D., Yebenes, L., et al.** One-step nucleic acid amplification (OSNA) for the detection of sentinel lymph node metastasis in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*, 2016, 143(1), p. 54–59.
16. **Nagai, T., Nilkura, H., Okamoto, S., et al.** A new diagnostic method for rapid detection of lymph node metastases using a one-step nucleic acid amplification (OSNA) assay in endometrial cancer. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(3), p. 980–986.
17. **Nakagawa, K., Asamura, H., Tsuta, K., et al.** The novel one-step nucleic acid amplification (OSNA) assay for the diagnosis of lymph node metastasis in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC): Results of a multicenter prospective study. *Lung Cancer*, 2016, p. 971–977.
18. **Network, NCC.** Uterine Neoplasms. 2017; [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp#uterine](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#uterine), 2017.
19. **Okamoto, S., Nilkura, H., Nakabayashi, K., et al.** Detection of sentinel lymph node metastases in cervical cancer: assessment of KRT19 mRNA in the one-step nucleic acid amplification (OSNA) method. *Gynecol Oncol*, 2013, 130(3), p. 530–536.
20. **Rala-Barjat, T., Trombert, B., Khaddage, A., et al.** OSNA (one-step nucleic acid amplification) sentinel lymph node intraoperative molecular analysis in breast cancer: a cost-benefit analysis. *Medical Oncol*, 2014, 31(12), p. 322.
21. **Robova, H., Charvat, M., Strnad, P., et al.** Lymphatic mapping in endometrial cancer: comparison of hysteroscopic and subserosal injection and the distribution of sentinel lymph nodes. *Inter J Gynecol Cancer*, 2009, 19(3), p. 391–394.
22. **Robova, H., Rob, L., Halaska, M.J., et al.** Current status of sentinel lymph node mapping in the management of endometrial cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2013, 13(1), p. 55–61.
23. **Saruta, Y., Pulg-Junoy, J.** Cost and budget impact analysis of an accurate intraoperative sentinel lymph node diagnosis for breast cancer metastasis. *Appl Health Econ Health Policy*, 2016, 14(3), p. 323–335.
24. **Slama, J., Dunder, P., Dusek, L., et al.** High false negative rate of frozen section examination of sentinel lymph nodes in patients with cervical cancer. *Gynec Oncol*, 2013, 129(2), p. 384–388.
25. **Slama, J., Zikan, M., Fischerova, D., et al.** [Contribution of sentinel lymph-node biopsy to treatment of locally advanced stages of cervical cancers]. *Ces Gynek*, 2016, 81(3), s. 165–170.
26. **Sysmex.** OSNA – molecular detection of metastases in lymph nodes. 2017. <https://www.sysmex-europe.com/products/oncology/sentinel-lymph-node-analysis-osna/clinical-evidence-osna.html>
27. **Tamaki, Y.** One-step nucleic acid amplification (OSNA): where do we go with it? *Int J Clin Oncol*, 2017, 22(1), p. 3–10.
28. **Terrenato, I., D'Alicandro, V., Casini, B., et al.** A cut-off of 2150 cytokeratin 19 mRNA copy number in sentinel lymph node may be a powerful predictor of non-sentinel lymph node status in breast cancer patients. *PLoS One*, 2017, 12(2), p. e0171517.
29. **Tsujimoto, M., Nakabayashi, K., Yoshidome, K., et al.** One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(16), p. 4807–4816.
30. **Yamamoto, H., Tomita, N., Inomata, M., et al.** OSNA-Assisted Molecular Staging in Colorectal Cancer: A prospective multicenter trial in Japan. *Ann Surg Oncol*, 2016, 23(2), p. 391–396.

**MUDr. Jan Kostun**  
 Gynekologicko-porodnická klinika FN Plzeň  
 Alej Svobody 80  
 304 60 Plzeň  
 e-mail: jan.kostun@gmail.com

**21. PRESL, J., NOVOTNY, Z., TOPOLCAN, O., et al. CA125 and HE4 levels in a Czech female population diagnosed with endometrial cancer in preoperative management. Anticancer Res. 2014, 34 (1), p. 327-331.**

**IF 1,865**

## CA125 and HE4 levels in a Czech Female Population Diagnosed with Endometrial Cancer in Preoperative Management

JIRI PRESL<sup>1</sup>, ZDENEK NOVOTNY<sup>1</sup>, ONDREJ TOPOLCAN<sup>2</sup>, PAVEL VLASAK<sup>1</sup>, RADEK KUCERA<sup>2</sup>, RADKA FUCHSOVA<sup>2</sup>, JINDRA VRZALOVA<sup>2</sup>, LUCIE BETINCOVA<sup>1</sup> and SARKA SVOBODOVA<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty Hospital in Pilsen, Pilsen, Czech Republic;

<sup>2</sup>Department of Nuclear Medicine, Laboratory of Immunoanalysis, Faculty Hospital in Pilsen, Pilsen, Czech Republic;

<sup>3</sup>Third Internal Medicine Department and First Medical Faculty, Charles University, Prague, Czech Republic

**Abstract.** Aim: The aim of the present study was to compare the use of cancer antigen 125 (CA125) and human epididymis protein 4 (HE4) biomarkers in patients with endometrial cancer for preoperative management and to particularly focus on relationship between CA125 and HE4 and disease stage in predicting myometrial invasion or intrauterine tumor spread. Patients and Methods: Thirty-four patients diagnosed with endometrial cancer and 32 healthy controls were enrolled into the pilot study in the period between May 2012 and March 2013. Blood from all the females was collected and examined for CA125 and HE4. Based on standardized ultrasound examination, including gynecological examination, the clinical disease stage was determined. Results: We found a significant difference ( $p < 0.0001$ ) for means of serum levels of HE4: females with endometrial cancer, 75.5 pmol/l, versus healthy females, 40.0 pmol/l. A non-significant statistical difference was found for mean serum CA125 levels ( $p = 0.4442$ ): females with endometrial cancer 19.0 IU/l, versus healthy females, 15 IU/l. A significant correlation with histopathological disease stage was found for both biomarkers (Spearman correlation). Sensitivity and specificity, and the related cut-off for HE4 suggest that HE4 would be a more appropriate biomarker for differential diagnosis between benign and malignant states. Conclusion: Based on our pilot study, we found that parallel examination of HE4 and CA125 may support endometrial ultrasound finding verification prior to biopsy. This study is ongoing and we expect that results on a larger population may enable HE4 measurement to be implemented in routine practice.

Correspondence to: Jiri Presl, MD, Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty Hospital in Pilsen, Alej Svobody 80, Pilsen-Lochotin, CZ-304 60, Czech Republic. Tel: +420 377105240, e-mail: preslj@fnplzen.cz

Key Words: Endometrial cancer, tumor markers, CA125, HE4.

Endometrial cancer represents the most frequent gynecological malignancy in the Czech Republic. According to the latest data from the National Oncology Registry from 2010, the incidence rate is 34.86/100000 females (17), which means that 1,870 new cases occur every year. Mortality is around 5.48/100000 females (17), meaning 294 patients dying from endometrial cancer per year. The most frequent incidence appears in the fifth and sixth decade of the life. Only 20-25% patients will be diagnosed prior to the menopause.

No ideal serum biomarker is currently in use for the management of endometrial cancer. The aim of this study was to compare the potential use of cancer antigen 125 (CA125) and human epididymis protein 4 (HE4) as biomarkers for patients diagnosed with endometrial cancer for preoperative management and to particularly focus on the relationship between CA125 and HE4 and disease stage in order to predict myometrial invasion or intrauterine tumor spread.

### Patients and Methods

Thirty-four patients diagnosed with endometrial cancer and 32 healthy controls were enrolled into the pilot study in the period between May 2012 and March 2013.

The mean age of the healthy females was 58.5 (37.0-73.0) years and that of females with endometrial cancer was 65.0 (43.0-88.0) years. The age distribution is shown in Figure 1.

The group of patients with endometrial cancer included 18 patients with clinical stage IA, eight patients with clinical stage IB, six patients with clinical stage II and two patients with clinical stage IIIA disease.

Blood from all the females for CA125 and HE4 biomarker measurement was collected from the cubital vein in the morning between 7 and 10 a.m. using VACUETTE® collection system (Greiner Bio-One, Austria). Sera were separated by centrifugation at 1700 ×g for 10 min and all specimens were stored in aliquots, immediately deep-frozen and stored at -80°C until laboratory analysis, if not measured within 24 h after collection. Both biomarkers were measured in the Laboratory of Immunoanalysis at

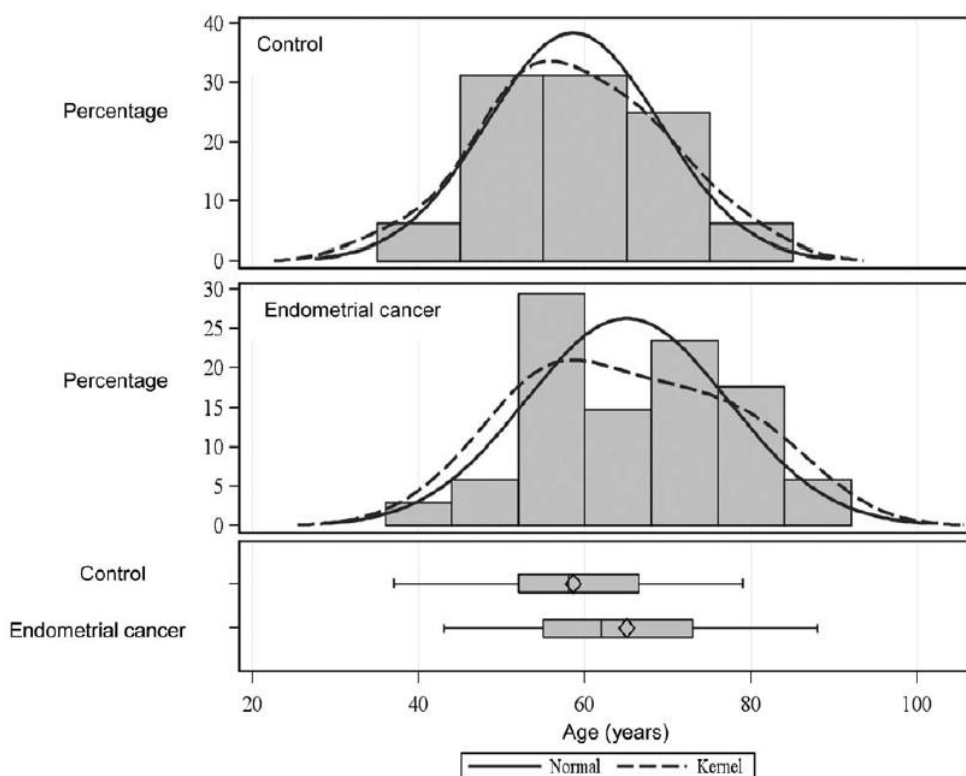


Figure 1. Age distribution of patients included in this study.

the Department of Nuclear Medicine in Pilsen, using commercially available chemiluminiscent kits using Architect 1000i instrument (Abbott, Chicago, IL, USA). Analytical sensitivity is set 1,0 kIU/l for CA125 and for HE4 limit of detection is 15 pmol/l and limit of quantification is 20 pmol/l.

Patients underwent expert standardized ultrasound examination and gynecological examination in order to determine the clinical stage of the disease prior to surgery.

In patients undergoing surgery, histological examination was performed perioperatively using frozen section method and based on these results, appropriate surgery to an extent reflecting the clinical stage of endometrial cancer was performed.

Statistical software SAS 9.3. (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) was used for all the statistical evaluations. Cut-off, sensitivity, specificity, positive and negative predictive value (PV+, PV-) and area under the receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC) was established for both biomarkers. Wilcoxon's test was used for comparison between the two groups of patients (healthy and endometrial cancer).

Table I. Correlation of tumor markers levels with staging of endometrial cancer.

Parameter	Spearman correlation coefficient (r)	p-Value
CA125	0.6120	0.0002
HE4	0.5047	0.0027

**Results**

Box-plots in Figures 2 and 3 show a highly significant difference ( $p < 0.0001$ ) between median serum HE4 levels: 75.5 pmol/l in females with endometrial cancer versus 40.0 pmol/l in healthy females. Comparison of medians for



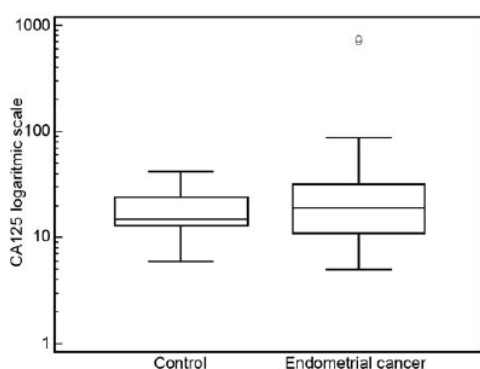


Figure 2. Box and whisker plot for CA125 (central boxes represents the values from the lower to upper quartile, 25-75% the middle line represent medians, and line extends from the min to max value excluding far out values).

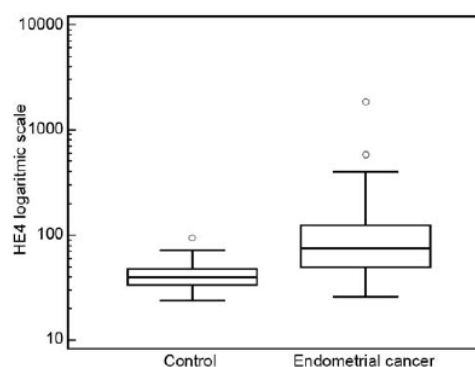


Figure 3. Box and whisker plot for HE4 (central boxes represents the values from the lower to upper quartile, 25-75% the middle line represent medians, and line extends from the min to max value excluding far out values).

Table II. Sensitivity, specificity and related cut-offs for both biomarkers.

Marker	AUC	Cut-off (kIU/l, pmol/l)	Specificity	Sensitivity	PV+	PV-
CA125	0.5699	32.00	93.75	26.47	81.82	54.55
		31.00	87.50	32.35	73.33	54.90
		42.00	96.88	20.59	87.50	53.45
HE4	0.8056	90.00	96.88	41.18	93.33	60.78
		62.00	90.63	55.88	86.36	65.91
		73.00	96.88	52.94	94.74	65.96
		49.00	78.13	79.41	79.41	78.13

AUC: area under the curve; PV+: positive predictive value; PV-: negative predictive value; CA125: cancer antigen 125; HE4: human epididymis protein 4.

CA125 showed no significant difference ( $p=0.4442$ ): 19 KIU/l females with endometrial cancer *versus* 15KIU/l healthy females. Both biomarkers significantly correlated with histopathological staging of the disease (Spearman) as shown in the Table I.

Sensitivity and specificity and the related cut-offs for both biomarkers are shown in the Table II. These data suggest that HE4 would be a more appropriate biomarker for differential diagnosis between benign and malign endometrial findings.

### Discussion

Endometrial cancer represents the most frequent gynecological malignancy in the Czech Republic (17). The majority of patients are diagnosed and treated in early stages due to early clinical symptoms, namely bleeding. Oncogynecology teams must stratify patients to low- or high-

risk cancer based on the histological diagnosis to allow for proper operative and postoperative management. This stratification is at present based only on clinical symptoms, gynecological examination and imaging techniques, particularly ultrasound examination. No ideal serum biomarker has been defined, neither for potential endometrial cancer screening, for therapy response monitoring, for follow-up nor for prediction of intrauterine or extrauterine spread for better surgery design and extent.

Myometrial invasion, including tumor grading, represents the most important decision factor within clinical stage I disease for the extent of surgery for pelvic and para-aortic lymphadenectomy. When considering other very frequent comorbidities and factors, such as arterial hypertension, diabetes mellitus, age, overweight, such extensive surgery may be very risky and this has often been discussed among the experts at international meetings (1, 16).

CA125 has a very low sensitivity and specificity as a biomarker in such cases (7, 9, 20, 21). It is claimed that only 10 to 20% patients in the early stages and 25% of asymptomatic patients with disease recurrence have elevated serum CA125 levels (5, 10, 14). Only a significantly elevated serum level of CA125 may signal extrauterine tumor spread (3). When compared to ovarian cancer patients, CA125 levels closely correlate with disease regression or progression (8). Postoperative serum CA125 increase has 84-94% sensitivity for prediction of cancer relapse (18, 19). Based on these facts, it is evident that new biomarkers for patients with endometrial cancer are needed.

Many recent publications demonstrate that serum biomarker HE4, which has led to significantly improved diagnosis of ovarian cancer (15), is also elevated in endometrial cancer type I and type II (2, 6). These findings initiated great interest in HE4 a potentially useful marker for patients with this diagnosis (4, 6, 11, 12). Our data correspond with the statement that median serum HE4 levels in patients with endometrial cancer are statistically significantly higher when compared with a healthy group (10). HE4, unlike CA125, has higher sensitivity in patients with endometrial cancer and this is fully in concordance with recently published data (10, 13).

For statistical evaluation of the results between patients with stage IA and IB disease, with myometrial invasion depth <50% vs. >50%, respectively, study of a larger group of patients will be required.

## Conclusion

In our pilot study, we found that parallel assessment of HE4 and CA125 biomarkers may improve pre-biopsy verification of ultrasound findings of endometrial abnormalities. In specific cases, these markers may help in precise preoperative staging of endometrial cancer, as added value to the borderline cases from obligatory routine examinations. These findings are insufficient for the proposal of routine clinical examinations of asymptomatic patients with abnormal ultrasound findings and for scheduling of preoperative examinations. This pilot study is, however, ongoing and we expect that results of study on a larger population may enable HE4 measurement to be included in routine practice.

## Acknowledgements

This study is supported by Ministry of Health, Czech Republic - conceptual development of research organization (Faculty Hospital in Pilsen - FNPI, 00669806, CZ.1.07/2.3.00/20.0040).

## References

- 1 Benedetti Panici P, Basile S, Maneschi F, Alberto Lissoni A, Signorelli M, Scambia G, Angioli R, Tateo S, Mangili G, Katsaros D, Garozzo G, Campagnutta E, Donadello N, Greggi

- S, Melpignano M, Raspagliesi F, Ragni N, Cormio G, Grassi R, Franchi M, Giannarelli D, Fossati R, Torri V, Amoroso M, Croce C, and Mangioni C: Systematic pelvic lymphadenectomy vs. no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: Randomized clinical trial. *Journal of the National Cancer Institute* 100: 1707-1716, 2008.
- 2 Bignotti E, Ragnoli M, Zanotti L, Calza S, Falchetti M, Lonardi S, Bergamelli S, Bandiera E, Tassi RA, Romani C, Todeschini P, Odicino FE, Facchetti F, Pecorelli S, and Ravaggi A: Diagnostic and prognostic impact of serum HE4 detection in endometrial carcinoma patients. *British J Cancer* 104: 1418-1425, 2011.
- 3 Cibula D and Petruzelka L: *Oncogynaecology*. Prague: Grada Publishing, a.s., 2009.
- 4 DeSouza LV, Grigull J, Ghanny S, Dube V, Romaschin AD, Colgan TJ and Siu KW: Endometrial carcinoma biomarker discovery and verification using differentially tagged clinical samples with multidimensional liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Molecular & cellular proteomics: MCP* 6: 1170-1182, 2007.
- 5 Duk JM, Aalders JG, Fleuren GJ and de Bruijn HW: CA125: A useful marker in endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 155: 1097-1102, 1986.
- 6 Galgano MT, Hampton GM and Frierson HF Jr.: Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 19: 847-853, 2006.
- 7 Ginath S, Menczer J, Fintsi Y, Ben-Shem E, Glezerman M and Avinoach I: Tissue and serum CA125 expression in endometrial cancer. *International journal of gynecological cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society* 12: 372-375, 2002.
- 8 Hawkins RE, Roberts K, Wiltshaw E, Mundy J and McCready VR: The clinical correlates of serum CA125 in 169 patients with epithelial ovarian carcinoma. *British J Cancer* 60: 634-637, 1989.
- 9 Hsieh C-H, ChangChien C-C, Lin H, Huang E-Y, Huang C-C, Lan K-C and Chang S-Y: Can a Preoperative CA 125 Level Be a Criterion for Full Pelvic Lymphadenectomy in Surgical Staging of Endometrial Cancer?. *Gynecol Oncol* 86: 28-33, 2002.
- 10 Kalogera E, Scholler N, Powless C, Weaver A, Drapkin R, Li J, Jiang SW, Podratz K, Urban N and Dowdy SC: Correlation of serum HE4 with tumor size and myometrial invasion in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 124: 270-275, 2012.
- 11 Li H, DeSouza LV, Ghanny S, Li W, Romaschin AD, Colgan TJ and Siu KW: Identification of candidate biomarker proteins released by human endometrial and cervical cancer cells using two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of proteome research* 6: 2615-2622, 2007.
- 12 Moore RG, Brown AK, Miller MC, Badgwell D, Lu Z, Allard WJ, Granai CO, Bast RC Jr. and Lu K: Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Gynecol Oncol* 110: 196-201, 2008.
- 13 Moore RG, Miller CM, Brown AK, Robison K, Steinhoff M and Lambert-Messerlian G: Utility of tumor marker HE4 to predict depth of myometrial invasion in endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *International journal of gynecological cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society* 21: 1185-1190, 2011.

- 14 Niloff JM, Klug TL, Schaetzl E, Zurawski VR, Jr., Knapp RC and Bast RC Jr.: Elevation of serum CA125 in carcinomas of the fallopian tube, endometrium, and endocervix. *Am J Obstet Gynecol* 148: 1057-1058, 1984.
- 15 Novotny Z, Presl J, Kucera R, Topolcan O, Vrzalova J, Fuchsova R, Betincova L and Rokyta Z: HE4 and ROMA index in Czech postmenopausal women. *Anticancer research* 32: 4137-4140, 2012.
- 16 Powell MA: Lymph node dissection in endometrial cancer treatment – to do or not to do, that remains the question. *Gynecol Oncol* 127: 1-2, 2012.
- 17 National Cancer Registry: Cancer Incidence 2010. In: Health Statistics. Czech republic, Prague, 2013.
- 18 Rustin GJ, Marples M, Nelstrop AE, Mahmoudi M, and Meyer T: Use of CA125 to define progression of ovarian cancer in patients with persistently elevated levels. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 19: 4054-4057, 2001.
- 19 Rustin GJ, Nelstrop AE, Tuxen MK and Lambert HE: Defining progression of ovarian carcinoma during follow-up according to CA125: A North Thames Ovary Group Study. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology/ESMO* 7: 361-364, 1996.
- 20 Sood AK, Buller RE, Burger RA, Dawson JD, Sorosky JI and Berman M: Value of Preoperative CA125 Level in the Management of Uterine Cancer and Prediction of Clinical Outcome. *Obstet Gynecol* 90: 441-447, 1997.
- 21 Vuento MH, Stenman U-H, Pirhonen JP, Mäkinen JI, Laippala PJ and Salmi TA: Significance of a Single CA125 Assay Combined with Ultrasound in the Early Detection of Ovarian and Endometrial Cancer. *Gynecol Oncol* 64: 141-146, 1997.

*Received October 17, 2013*

*Revised November 19, 2013*

*Accepted November 21, 2013*

**22. PRESL, Jiri, OVESNA, Petra, NOVOTNY, Zdenek, et al. Importance of Preoperative Knowledge of the Biomarker HE4 in Early-stage Endometrial Cancer Regarding Surgical Management. Anticancer Research. 2017, 37 (5), p. 2697-2702.**

**IF 1,865**

## Importance of Preoperative Knowledge of the Biomarker HE4 in Early-stage Endometrial Cancer Regarding Surgical Management

JIRI PRESL<sup>1</sup>, PETRA OVESNA<sup>2</sup>, ZDENEK NOVOTNY<sup>1</sup>, PAVEL VLASAK<sup>1</sup>, JIRI BOUDA<sup>1</sup>, JAN KOSTUN<sup>1</sup>,  
ONDREJ TOPOLCAN<sup>3</sup>, RADEK KUCERA<sup>3</sup>, MARKETKA BEDNARIKOVA<sup>4</sup> and VIT WEINBERGER<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Gynecology and Obstetrics, University Hospital Pilsen, Pilsen, Czech Republic;

<sup>2</sup>Institute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic;

<sup>3</sup>Laboratory of Immunoanalysis, Department of Nuclear medicine,

University Hospital in Pilsen, Pilsen, Czech Republic;

<sup>4</sup>Clinic of Internal Medicine – Hematology and Oncology,

University Hospital in Brno and Masaryk University, Brno, Czech Republic;

<sup>5</sup>Department of Gynecology and Obstetrics,

University Hospital in Brno and Masaryk University, Brno, Czech Republic

**Abstract.** Aim: To analyze the utility of HE4 assessment in preoperative management of patients with early-stage endometrial cancer for stratification into low-risk and high-risk groups. Patients and Methods: The following data were prospectively collected from patients operated for endometrial cancer from 05/2012 till 9/2016; age, HE4, CA125, expert ultrasound examination of the pelvis, histotype, grade, FIGO stage. Results: In total, 124 patients were enrolled. A cut-off of  $\geq 113$  pmol/l HE4 demonstrated 40.3% sensitivity and 83.9% specificity for detection of high-risk patients. Correlations of HE4 with age ( $p < 0.001$ ), depth of myometrial invasion ( $p = 0.001$ ), clinical stage of the disease according to ultrasound - T1a vs. T1b (63.6 pmol/l vs. 110.6 pmol/l,  $p < 0.001$ ) were found. However, no correlation of HE4 with lymph node invasion ( $p = 0.07$ ) and tumor grade ( $p = 0.212$ ) was identified. Conclusion: HE4 levels correspond to clinical and FIGO stage of the disease. The sensitivity and specificity does not reach the transvaginal ultrasound results in preoperative assessment of the extent of the disease. Combination of HE4 with ultrasound does not improve the stratification of patients into low-risk and high-risk groups. Preoperative assessment of HE4 is useful providing no imaging method is available.

Correspondence to: Vit Weinberger, MD, Ph.D., Department of Gynecology and Obstetrics, University Hospital Brno and Masaryk University, Obilni trh 11, Brno, 60200, Czech Republic. Tel: + 420 532238306, e-mail: vit.weinberger@gmail.com

Key Words: CA125, HE4, endometrial cancer, preoperative staging.

Endometrial cancer (EC) patients often exhibit signs and symptoms, such as postmenopausal bleeding that lead to diagnosis of the malignancy in early stages of the disease. As a result, more than 70% of EC cases are diagnosed at an early stage with a favorable prognosis (1). Abdominal ultrasound (US) combined with transvaginal ultrasound of the pelvis (TVUS) belong to obligatory imaging methods for EC staging in the Czech Republic. Histological type and grade of differentiation of the tumor are assessed from a biopsy obtained by dilatation and curettage of the uterus or hysteroscopy. The differentiation between carcinomas associated with good or poor prognosis helps selecting patients that would benefit from more aggressive primary treatment or adjuvant therapy.

In addition to established clinical parameters, biomarker(s) for better risk stratification in high-risk or low-risk EC could improve individualized primary treatment and would help avoid over- or undertreatment of EC patients. Studies investigating the prognostic value of CA125 in EC patients have revealed conflicting results. While Sood *et al.* (2) described preoperatively elevated CA125 levels as an independent prognostic marker for poor survival, other reports have shown no correlation between CA125 levels and extent of the disease (3-6). Moore *et al.* (7) showed the superiority of HE4 over CA125 in the detection of EC, especially in early stages. Recently, a study demonstrated a putative predictive role of HE4 in EC (8). Prognostic significance of serum HE4 has been demonstrated for patients with poorly differentiated endometrial cancer (9, 10). However, no serum biomarker is currently used in the management of EC owing to the lack of data and knowledge of relevant cut-offs (11).

The purpose of this study was to evaluate the clinical significance of preoperative assessment of serum levels of HE4 in differentiation between low- and high-risk EC patients. The secondary objective of this study was to evaluate the correlation of HE4 with clinical (according to preoperative ultrasound) and pathologic extent of the disease (IA versus IB and higher stages, lymph node involvement) as well as with grading and histotype of the tumor. Another objective for clinical practice was answering the question, whether the preoperative knowledge of HE4 level will add value to expert ultrasound and improve patient stratification in low- or high-risk groups.

## Patients and Methods

This was a single-Centre prospective study performed from April 2012 to September 2016. Patients with probable early stage EC according to previous staging examinations (US, chest X-ray, endometrial biopsy) were enrolled. Only patients with histologically-proven primary EC from uterine curettage or hysteroscopy preoperatively were included in the study. All patients underwent a pre-operative ultrasound staging examination according to the methodology and protocol of our institution (12) and blood samples for CA125 and HE4 were collected and examined. The extent of the surgery was based on the staging ultrasound examination and knowledge of histotype and grading. Type A radical hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy was performed in all patients (13). Systematic pelvic and paraaortic lymphadenectomy was included where indicated.

Age, preoperative levels of CA125 and HE4, results of TVUS with respect to depth of myometrial invasion and cervical involvement, lymphadenopathy, and pathological data from biopsies (type of the tumor, grading) were recorded. Final pathological data (stage, histotype and grade) were assessed post-operatively according to the International Federation of Gynecology and Obstetrics 2009 staging system (FIGO) and the World Health Organization 2003 (14) pathologic classification of female reproductive organs. The patients were divided into three groups for statistical evaluation. Low risk group was defined as FIGO IA, grade 1-2 according to preoperative investigations. The systematic pelvic (PLN) and paraaortic lymphadenectomy (PALN) was not performed in these cases. Intermediate risk group was defined as FIGO stage IB, G1-2. In this case, the systematic PLN and PALN are not obligatory and were considered according to the perioperative circumstances. The systematic PLN and PALN were always performed in high risk group, *i.e.* FIGO IA and IB, G3 endometrioid and non-endometrioid histotype and all clinically more advanced stages. The differentiation between low and high risk patients is a key for clinical practice; therefore, ROC (Receiver Operating Characteristic) analysis was employed for the assessment of the optimal HE4 cut-off value. In the first analysis, the group of patients with intermediate-risk carcinoma was joined with the low-risk while, the second analysis was performed joining intermediate-risk carcinoma to high-risk group. Cut-off levels for CA125 and HE4 markers for both scenarios were determined; sensitivity and specificity for differentiation of a low- and high-risk group were calculated. This study was approved by the local ethics committee, and all patients gave their informed consent.

**Preoperative ultrasound examination.** Each patient underwent both transabdominal and transvaginal US scan within 14 days before admission in the operating theater by one of the two oncogynecologists

experienced in the field of US diagnostics in gynecologic oncology. They were expert sonographers with gynecologic oncology experience and national certification. Each US examination was immediately described in the written report; these reports were used for the study analysis. Descriptions and examination reports were based on the standards applied by our center (15). During US staging examination of uterine cavity, myometrium, cervix and pelvic lymph nodes were carefully assessed in every patient to describe the extent of the tumor locally (16, 17).

**Quantitative determination of HE4 and CA125 in human serum.** Blood was collected prior to surgery and after diagnostic curettage. The sampling was always performed from the cubital vein using VACUETTE® blood collection tubes (Greiner Bio-One, Austria) between 7-10 am. Serum was separated by centrifugation for 10 minutes at  $1,700 \times g$  and the samples were analyzed either immediately or stored frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  until the analysis. Levels of both markers were determined using a chemiluminescence method by Architect 1000i (Abbott, USA) in Immunoanalysis laboratory of the University Hospital Pilsen.

**Statistical analysis.** Original values of HE4 and CA125 markers were transformed with log-function due to their log-normal distribution. Geometric mean and 95% confidence interval (CI) after back transformation are presented in the results. All other parameters had normal distribution of values. Student *t*-test or ANOVA with Tukey *post-hoc* test were employed for the comparison of HE4 in different two or more groups (clinical parameters). Relation between HE4 and age was assessed using Pearson correlation. ROC (Receiver Operating Characteristic) analysis was applied to determine the best cut-off to distinguish patients into low-risk and high-risk group. A cut-off with the highest sum of sensitivity and specificity was chosen. All analyses were performed using SPSS Statistics 23, all tests were done as two-sided at a level of significance of 0.05.

## Results

In total, 124 patients with EC were enrolled in the study, all operated in the Center for Gynecologic Oncology of the University Hospital in Pilsen. The FIGO stage of the disease was determined from the final histology report postoperatively. In the studied group, 70 patients were in FIGO stage IA, 44 FIGO stage IB, and none FIGO stage II. A total of 10 patients had retroperitoneal lymph nodes involvement; pelvic lymph nodes in six cases - FIGO IIIC1; paraaortic lymph nodes in four patients - FIGO IIIC2. Pathomorphologic and sonographic characteristics of the groups are provided in Table I. Median preoperative HE4 and CA125 levels in the studied group of patients with early stage endometrial cancer were 75.5 and 18.0 respectively. The patients with very low HE4 level had a low-risk carcinoma; conversely patients with extremely high HE4 level had an intermediate or high-risk carcinoma (Table II). Paradoxically, the highest HE4 levels were observed in intermediate-risk group of patients. No clear HE4 cut-off for differentiation of risk groups could be determined. The most patients were diagnosed at the stage of disease IA or IB.

Table I. Pathomorphologic and sonographic characteristics of the groups.

	N (%)
Age (years), mean (SD)	67.6 (9.8)
Clinical staging by TVUS	
T1aNxM0	80 (64.5%)
T1bNxM0	39 (31.5%)
T2NxM0	2 (1.6%)
T3aNxM0	2 (1.6%)
T0	1 (0.8%)
FIGO	
IA	70 (56.5%)
IB	44 (35.5%)
IIIC1	6 (4.8%)
IIIC2	4 (3.2%)
Depth of tumor invasion into the myometrium	
<50%	71 (57.3%)
>50%	53 (42.7%)
Histologic type	
Endometrioid adenoca	110 (88.7%)
Clear cell adenoca	5 (4%)
Mixed (adeno, squamous)	1 (0.8%)
High-grade serous adenoca	6 (4.8%)
Mucinous adenoca	1 (0.8%)
Grade	
1	65 (52.4%)
2	32 (25.8%)
3	27 (21.8%)

Table II. HE4 (pmol/l) according to the risk group of carcinoma.

	N	Mean	95% CI
Low risk	62	64.7	21.5-194.7
Intermediate	31	100.9	25.8-394
High risk	31	86.3	25.9-287.7
Total	124	77.7	22.4-269.3

Table III. HE4 (pmol/l) and clinical staging by TVUS and FIGO.

	N	Mean	95% CI
Clinical staging by TVUS			
T1aNxM0	80	63.6	21.6-187.6
T1bNxM0	39	110.6	34.8-350.9
T2NxM0	2	112.1	18.9-664.2
T3aNxM0	2	211.0	29.7-1498.9
T0	1	47.0	-
FIGO			
IA	70	63.2	21.9-182.1
IB	44	99.7	27.3-363.9
IIIC1	6	84.2	36.7-193.2
IIIC2	4	164.9	35.8-759.6

In the first analysis, (intermediate-risk patients were added to low-risk group) only 35.5% of patients with high-risk carcinoma with a specificity of 75.3% were identified with cut-off HE4 $\geq$ 115. Regarding CA125, the best cut-off calculated by ROC analysis was CA125 $\geq$ 30, providing sensitivity 48.4% and specificity 80.6%. In second scenario, (intermediate-risk patients were added to high-risk group) cut-off HE4  $\geq$ 113 was identified with the sensitivity of 40.3% and specificity of 83.9% to determinate these two risk groups (Figure 1). Cut-off CA125 $\geq$ 15 demonstrated 75.8% sensitivity and 53.2% specificity.

We focused on the correlation of serum HE4 level with patient age, preoperative TVUS, tumor histotype, grading and lymph node involvement. HE4 correlated well with patient age ( $p<0.001$ ) (Figure 2) and preoperative TVUS, where statistically significant differences between patients stage T1a and T1b were observed. The mean values for HE4 for clinical stage T1a reached 63.6 pmol/l (95% CI, 21.6-187.6) vs. 110.6 pmol/l (95% CI, 34.8-350.9) for T1b,  $p<0.001$  (Table III). Furthermore, a correlation between HE4 and histological depth of myometrial invasion was found; the HE4 levels for stage FIGO IA vs. IB were 63.2 pmol/l (95% CI=21.9-182.1) vs. 99.7 pmol/l (95% CI=27.3-363.9) respectively,  $p=0.001$ . Correlation with FIGO staging FIGO IA and IIIC2 was also found 63.2 pmol/l (95% CI=21.9-182.1) and 164.9 pmol/l (95% CI=35.8-759.6)

respectively,  $p=0.01$  (Table III). The HE4 level did not correlate with tumor grade, following mean values were observed; G1 70.7, G2 87.8 and G3 84.5 pmol/l,  $p=0.212$ . The correlation of HE4 with lymph nodes involvement did not reach statistical significance ( $p=0.07$ ) in spite of the fact that patients with positive lymph nodes had higher HE4 levels (mean=110.2) than those with no lymph node involvement (mean=75.4 pmol/l).

## Discussion

There is a need for EC markers that can help stratify patients preoperatively into high-and low-risk categories to assist gynecologic oncology surgeon in selection of patients that can benefit from lymphadenectomy, hysterectomy or radical hysterectomy, or extensive surgery. A number of recent studies demonstrate that the serum biomarker HE4 is increased not only in ovarian cancer, but also in EC, type I and II (9, 18). Studies on patients with EC have shown that serum HE4 levels correlated with myometrial invasion, grading, advanced stage disease and with the presence of extrauterine disease, such as lymphatic and peritoneal metastases (19). Other studies found no or only a partial correlation (8, 9, 20). No clear cut-off value for HE4 serum levels has been defined for EC patients (21, 22). In the study of Mutz-Dehbalai *et al.* from 2012, investigators established the cut-off level for discrimination between high and low HE4 serum levels based on median value (81 pmol/l). Serum HE4 median values in EC patients

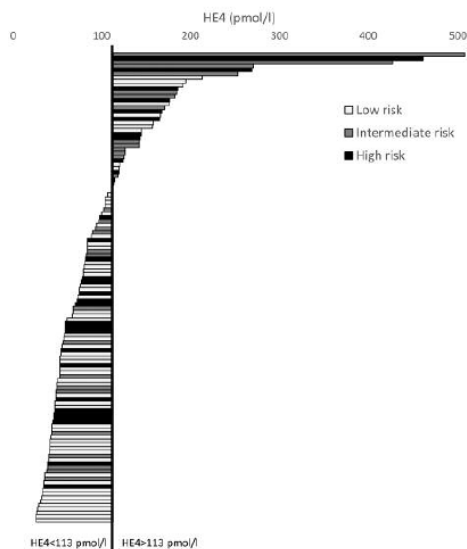


Figure 1. Classification of patients according to HE4 cut-off 113 pmol/l. Each patient is represented by one horizontal bar. The best cut-off for HE4 113 pmol/l divides all values into two group. Patients with HE4 < 113 pmol/l are on the left side; patients with HE4 ≥ 113 pmol/l are on the right side. White bars on the left sides depict correctly predicted patients, i.e. low risk, whereas grey and black bars (intermediate or high risk, respectively) represent wrongly predicted patients (false negative). White bars on the right side represent wrongly predicted patients (false positive). It is evident that patients with intermediate risk (grey bars) have higher values of HE4, thus these patients were joined to high risk group.

were similar in our study (median 75.5 pmol/l) as compared to previous published investigations (7-9). Median 75.5 pmol/l was affected by the selection bias as primarily advanced stages of disease were not included in the study. The distribution of median CA125 values corresponded to the low, intermediate and high risk categories. On the contrary, in case of HE4, the intermediate risk group paradoxically showed higher values than high-risk group of patients (Table II). The importance of this finding is unclear. It may be due to the random error with low number of patients. On the other hand, it may point to a group of patients with a different prognostic significance, i.e. different disease-free interval or overall survival.

The HE4 cut-off for risk group differentiation was calculated for the situations when the intermediate risk group was added to the low-risk group or the high-risk group. At the cut-off HE4 ≥ 113 we identified 40.3% patients in high/intermediate risk. If this cut-off was used routinely in preoperative evaluation, then 16.1% patients would be operated radically in spite of having a low-risk carcinoma. The correlation between high HE4 levels

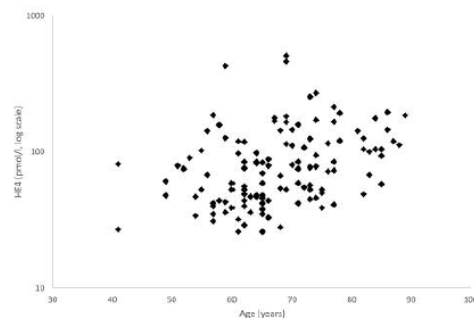


Figure 2. Correlation between HE4 and age. Relation between age and HE4 is evident – older patients higher HE4.

and myometrial invasion was reported previously (8, 20). Both studies described significantly elevated HE4 serum levels in patients with more than 50% myometrial invasion compared to patients with less than 50% myometrial invasion. Our results are in agreement with these reports regarding the association of HE4 and depth of myometrial invasion (IA vs. IB and higher,  $p=0.001$ ) (Table III). Given the fact that deep myometrial invasion increases the likelihood of lymph node metastasis, HE4 levels could provide an additional preoperative information concerning the benefit of lymphadenectomy. Bignotti *et al.* described that higher HE4 levels were significantly associated with positive lymph nodes and presence of lymphovascular invasion (9). Additionally, a recent study revealed that HE4 expression is associated with lymph node metastases in breast cancer (23). Interestingly, neither Moore *et al.* (8) nor our study ( $p=0.07$ ) found an association between HE4 serum levels and absence or presence of lymph node involvement. The result can be biased by the low number of patients with positive lymph nodes in our study ( $n=10$ ). The correlation of HE4 with histologic type of the tumor could not be calculated due to major representation of endometrioid carcinoma in our study group, which copies the clinical practice.

TVUS is associated with high sensitivity and specificity in identification of high-risk patients (78% (95% CI=63.7-88.0%) and 89% (95% CI=81.7-93.8%) respectively) (24). It is capable of diagnosis of tumor invasion into the myometrium by the more than 50% of its thickness, the cervix, the uterine appendages or surrounding tissues with high sensitivity and specificity (25-27). Depth of myometrial invasion as a basic parameter of FIGO stage I, may be undervalued especially in small well differentiated tumors with low perfusion and conversely overvalued in poorly differentiated or undifferentiated tumors of larger dimensions with high perfusion (16). One of the objectives of our study was to assess the additional benefit of serum marker



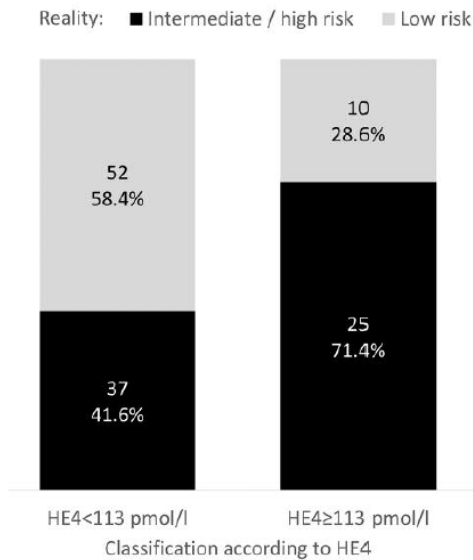


Figure 3. Classification of patients according to HE4 cut-off 113 pmol/l. Forty-seven (37.9%) patients were classified wrongly according to HE4 – 37 of them were misclassified into low-risk group (HE<113 pmol/l) although they had intermediate or high-risk in reality (false negative); 10 of them were misclassified into high risk group (HE≥113 pmol/l) although they had low risk in reality (false positive). The rest of 77 (62.1%) patients were classified correctly.

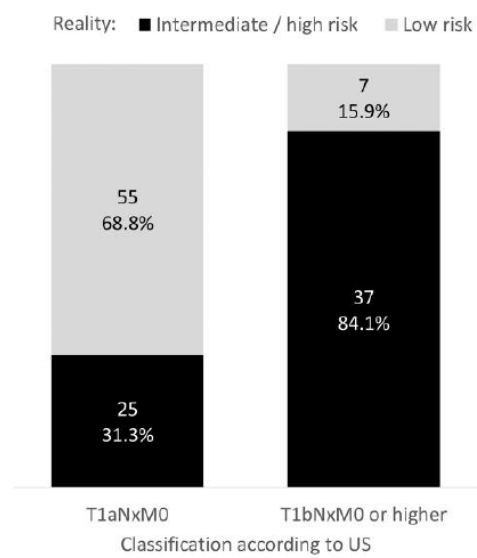


Figure 4. Classification of patients according to US. Thirty-two (25.8%) patients were classified wrongly according to US – 25 of them were misclassified into low risk group by US (T1a) although they had intermediate or high risk in reality (false negative); 7 of them were misclassified into high-risk group (T1b or higher) although they had low risk in reality (false positive). The rest of 92 (74.2%) patients were classified correctly.

HE4 use to pelvic TVUS in preoperative management of EC. At the cut-off HE4 ≥113, 47 (37.9%) patients were misclassified - 10 patients with low-risk carcinoma as high-risk patients and conversely 37 patients classified as low-risk had a high/intermediate cancer (Figures 1 and 3). On the contrary, TVUS let to misclassification of 32 (25.8%) patients – 25 patients with high/intermediate-risk carcinoma were clinically determined as having stage T1a and 7 patients were classified as T1b and had a low-risk carcinoma (Figure 4).

The current study has several limitations. Blood was collected after the initial curettage or hysteroscopy. The impact of curettage/hysteroscopy on HE4 serum levels is unknown to date, however, but serum HE4 median values were comparable to previously published results (7-9). All data come from one Center for Gynecologic Oncology and may be affected by random error due to low number of participants in some groups (number of patients in stage FIGO II, IIIA and IIIB). On the other hand the data were collected prospectively. The study design copies clinical practice; a patient with EC is stratified into the proper risk group using preoperative staging results and treated accordingly. According to our knowledge, no study

has compared the reliability of the serum marker HE4 and preoperative TVUS.

### Conclusion

The results of the study confirm a good correlation of HE4 with clinical staging using ultrasound and final FIGO staging by histopathology. HE4 correlates with depth of myometrial invasion, lymph node involvement and patient age. The determination of HE4 does not reach the sensitivity and specificity of an ultrasound examination and would not contribute to improvement in the stratification of a patient to proper risk group. According to our results, preoperative assessment of HE4 seems to be justifiable where no adequate imaging method for preoperative staging of the disease is available.

### Acknowledgements

This work was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic under Projects Fakultní nemocnice Plzeň - FNPl, 00669806 and CZ-DRO FNBr 65269705.

## References

- 1 Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C and Thun MJ: Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 56: 106-130, 2006.
- 2 Sood AK, Buller RE, Burger RA, Dawson JD, Sorosky JI and Berman M: Value of preoperative CA 125 level in the management of uterine cancer and prediction of clinical outcome. *Obstet Gynecol* 90: 441-447, 1997.
- 3 Lo SS, Cheng DK, Ng TY, Wong LC and Ngan HY: Prognostic significance of tumour markers in endometrial cancer. *Tumour Biol* 18: 241-249, 1997.
- 4 Price FV, Chambers SK, Carcangiu ML, Kohorn EI, Schwartz PE and Chambers JT: CA 125 may not reflect disease status in patients with uterine serous carcinoma. *Cancer* 82: 1720-1725, 1998.
- 5 Soper JT, Berchuck A, Olt GJ, Soisson AP, Clarke-Pearson DL and Bast RC: Preoperative evaluation of serum CA 125, TAG 72, and CA 15-3 in patients with endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 163: 1204-1209, 1990.
- 6 Chen Y, Ren Y-L, Li N, Yi X-F and Wang H-Y: Serum human epididymis protein 4 vs. carbohydrate antigen 125 and their combination for endometrial cancer diagnosis: a meta-analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 20: 1974-1985, 2016.
- 7 Moore RG, Brown AK, Miller MC, Badgwell D, Lu Z, Allard WJ, Granai CO, Bast RC and Lu K: Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Gynecol Oncol* 110: 196-201, 2008.
- 8 Moore RG, Miller CM, Brown AK, Robison K, Steinhoff M and Lambert-Messerlian G: Utility of tumor marker HE4 to predict depth of myometrial invasion in endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Int J Gynecol Cancer* 21: 1185-1190, 2011.
- 9 Bignotti E, Ragnoli M, Zanotti L, Calza S, Falchetti M, Lonardi S, Bergamelli S, Bandiera E, Tassi RA, Romani C, Todeschini P, Odicino FE, Facchetti F, Pecorelli S and Ravaggi A: Diagnostic and prognostic impact of serum HE4 detection in endometrial carcinoma patients. *Br J Cancer* 104: 1418-1425, 2011.
- 10 Capriglione S, Plotti F, Miranda A, Lopez S, Scaletta G, Moncelli M, Luvero D, De Cicco Nardone C, Terranova C, Montero R and Angioli R: Further insight into prognostic factors in endometrial cancer: the new serum biomarker HE4. *Expert Rev Anticancer Ther* 17: 9-18, 2017.
- 11 Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martín A, Ledermann J, Marth C, Nout R, Querleu D, Mirza MR, Sessa C and ESMO-ESGO-ESTRO Endometrial Consensus Conference Working Group: ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 27: 16-41, 2016.
- 12 Frühauf F, Dvořák M, Haaková L, Hašík L, Herboltořová P, Chaloupková B, Kořnarová J, Kubeřová B, Lukáčová I, Marek R, Neumannová H, Peschout R, Přibyl V, Sedlářková I, Smařinka M, Svobodová P, Vančo M, Vlasák P, Weinberger V, Zikán M and Fischerová D: Ultrasound staging of endometrial cancer - recommended methodology of examination. *Ceska Gynekol* 79: 466-476, 2014.
- 13 Querleu D and Morrow CP: Classification of radical hysterectomy. *Lancet Oncol* 9: 297-303, 2008.
- 14 FIGO Committee on Gynecologic Oncology: FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and corpus uteri. *Int J Gynaecol Obstet* 125: 97-98, 2014.
- 15 Fischerová D: Ultrasound scanning of the pelvis and abdomen for staging of gynecological tumors: a review. *Ultrasound Obstet Gynecol* 38: 246-266, 2011.
- 16 Fischerová D, Frühauf F, Zikan M, Pinkavová I, Kocián R, Dunder P, Nemejcová K, Dusek L and Cibula D: Factors affecting sonographic preoperative local staging of endometrial cancer. *Ultrasound Obstet Gynecol* 43: 575-585, 2014.
- 17 Eriksson LSE, Lindqvist PG, Flöter Rådestad A, Dueholm M, Fischerová D, Franchi D, Jokubkiene L, Leone FP, Savelli L, Sladkevicius P, Testa AC, Van den Bosch T, Amez L and Epstein E: Transvaginal ultrasound assessment of myometrial and cervical stromal invasion in women with endometrial cancer: interobserver reproducibility among ultrasound experts and gynecologists. *Ultrasound Obstet Gynecol* 45: 476-482, 2015.
- 18 Galgano MT, Hampton GM and Frierson HF: Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues. *Mod Pathol* 19: 847-853, 2006.
- 19 Li J, Dowdy S, Tipton T, Podratz K, Lu W-G, Xie X and Jiang S-W: HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial cancer management. *Expert Rev Mol Diagn* 9: 555-566, 2009.
- 20 Kalogera E, Scholler N, Powless C, Weaver A, Drapkin R, Li J, Jiang S-W, Podratz K, Urban N and Dowdy SC: Correlation of serum HE4 with tumor size and myometrial invasion in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 124: 270-275, 2012.
- 21 Abdalla N, Piórkowski R, Stanirowski P, Słomka A, Cendrowski K and Sawicki W: Assessment of levels of the tumor markers HE4 and CA125 considering staging, grading and histological types of endometrial cancer. *Prz Menopauzalny* 15: 133-137, 2016.
- 22 Capriglione S, Plotti F, Miranda A, Ricciardi R, Scaletta G, Aloisi A, Guzzo F, Montero R and Angioli R: Utility of tumor marker HE4 as prognostic factor in endometrial cancer: a single-center controlled study. *Tumour Biol* 36: 4151-4156, 2015.
- 23 Kamei M, Yamashita S-I, Tokuiishi K, Hashimoto T, Moroga T, Suehiro S, Ono K, Miyawaki M, Takeno S, Yamamoto S and Kawahara K: HE4 expression can be associated with lymph node metastases and disease-free survival in breast cancer. *Anticancer Res* 30: 4779-4783, 2010.
- 24 Alcázar JL, Pineda L, Caparrós M, Utrilla-Layna J, Juez L, Mínguez JA and Jurado M: Transvaginal/transrectal ultrasound for preoperative identification of high-risk cases in well- or moderately differentiated endometrioid carcinoma. *Ultrasound Obstet Gynecol* 47: 374-379, 2016.
- 25 Sawicki W, Spiewankiewicz B, Stelmachów J and Cendrowski K: The value of ultrasonography in preoperative assessment of selected prognostic factors in endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 24: 293-298, 2003.
- 26 Akbayir O, Corbacioglu A, Numanoglu C, Guleroglu FY, Ulker V, Akyol A, Guraslan B and Odabasi E: Preoperative assessment of myometrial and cervical invasion in endometrial carcinoma by transvaginal ultrasound. *Gynecol Oncol* 122: 600-603, 2011.
- 27 Savelli L, Ceccarini M, Ludovisi M, Fruscella E, De Iaco PA, Salizzoni E, Mabrouk M, Manfredi R, Testa AC and Ferrandina G: Preoperative local staging of endometrial cancer: transvaginal sonography vs. magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol* 31: 560-566, 2008.

Received March 23, 2017

Revised April 7, 2017

Accepted April 10, 2017

**Protokol studie: The Role of HE4 in the Follow-up of Advanced Ovarian, Fallopian Tube and Primary Peritoneal Cancer**



## **The Role of HE4 in the Follow-up of Advanced Ovarian, Fallopian Tube and Primary Peritoneal Cancer**

### **First prospective multicentre observational study**

**Project number: CEEGOG OX-01**

**Project short name: HE4-FU-OVCA**

Study design ver. 2

### **1. RESEARCH BACKGROUND AND HYPOTHESIS**

#### **Ovarian Cancer (Fallopian tube and Primary Peritoneal Cancer)**

The dualistic theory of ovarian carcinogenesis proposes that epithelial “ovarian” cancer is not one entity with several histological subtypes but a collection of different diseases arising from cells of different origin, some of which may not originate in the ovarian surface epithelium. The increasing understanding as to the complex and interconnected nature of ovarian, tubal, and peritoneal malignancies has been recognized by the International Federation of Gynecology and Obstetrics in the revised staging system that includes ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal carcinoma, as well as the challenges in changing from the traditional classification by presumed site of origin discussed in the recent updated staging publication [1]. Type II tumors are more common than type I and account for most tubal and peritoneal cancers. High-grade serous carcinomas, whether classified as ovarian/tubal/peritoneal, seem to behave as one disease entity with no significant difference in survival outcomes.

Ovarian cancer (OC) is the second most common gynaecologic cancer and the leading cause of death from gynaecologic malignancy among women in industrialized countries [2]. The global incidence in both developed and developing countries can be estimated as 165,000 new cases per year [3]. A heavy difference in prognosis exists between the early-stage disease

(International Federation of Gynaecology and Obstetrics [FIGO] I-II) and the advanced stages (FIGO III-IV) [4]. Unfortunately, at present, we do not have an effective screening strategy for this malignancy; most (70-80%) of the cases are diagnosed as advanced-stage disease, and this explains the high mortality rate [5]. These aggressive features of the OC encouraged in recent years a big effort in order to find new strategies for early diagnosis of OC. These studies focused dominant on new markers and diagnostic algorithms among new markers. HE4 is one of the most promising [6]. It is a protein initially identified in the epithelium of the distal epididymis and may be involved in sperm maturation. Despite its wide distribution, it is overexpressed only in pathological tissue, and it has demonstrated good sensitivity and specificity in detecting OC, overcoming the traditional role of CA-125 [7]. Despite an aggressive upfront treatment strategy (surgery plus chemotherapy), leading to clinical remission in more than 80% of patients, the relapse-free survival varies from 95.8% (for early FIGO stages) to 33.6% (for advanced stages) at 2 years [6].

At present, periodical evaluation of CA-125 combined with physical examination is the recommended strategy for OC follow-up, typically every 3 to 4 months in the first 2 years after primary treatment and then every 6 months until the fifth year [8-10]. Five years' overall survival rate, however, is 49.7% (ranging from 83%-89% in stage I OC to 18% in stage IV) [11]. New markers should be tested in the follow-up of patients with OC to improve the surveillance program performance: **the challenge is to try to anticipate the diagnosis of OC recurrence and to translate this early diagnosis of relapse in a survival improvement.** Few studies only are available to date about HE4 use in follow up of ovarian cancer [2, 4, 5, 6, 12-14]. All of these studies analyzed a small number of women (8-73). HE4 was shown as an earlier indicator of recurrence of OC with respect to CA-125, with a lead-time of 5 to 8 months [6]. Only 1 prospective controlled study has been published [4]. In this study the sensitivity and specificity of HE4, alone or in association with other markers (CA-125, CA-72-4), seems to be higher in the diagnosis of the OC relapse with respect to CA-125 alone.

The other side of the question is whether the patient is advantaged by an earlier detection of the recurrent disease, in terms of overall survival, disease-free survival, and quality of life. Early detection and treatment of cancer in general or its recurrence are usually associated with better outcomes for patient, this being the rationale behind screening programs and follow-up strategies. In OC follow-up, periodical CA-125 evaluation can detect recurrence of cancer about 5 months before clinical signs or symptoms [15]. At the same time, we have to remind that

treatments of relapsing OC are rarely curative and have heavy adverse effects, and elevation of CA-125 is often cause of anxiety in patients undergoing follow-up. The main study that tried to clarify the role of CA-125 in OC follow-up was MRC OV05/EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) 55955 trial a randomized study comparing early versus delayed treatment in women with relapsed OC [15]. Patients in the delayed treatment group were treated only at clinical or symptomatic relapse. Women assigned to early treatment started chemotherapy 4.8 months earlier than those allocated to the delayed treatment. With a median follow-up of 56.9 months, there was no evidence of a difference in overall survival between the 2 groups. **In particular, the results provided no evidence of an improved overall survival or a better quality of life in the early treatment group. The authors' explanation for these findings was that the lead-time between CA-125 rise and the clinical recurrence could be too short for chemotherapy to give a beneficial effect.**

In this setting HE4 employment could be a valid strategy to anticipate the diagnosis of the relapse as much as to get a beneficial effect from second line chemotherapy. Moreover, earlier detection of the relapse could potentially lead to more patients being diagnosed with completely resectable recurrent disease and thus potentially to a longer survival. However, the efficacy in terms of survival of early surgical treatment of OC relapse has yet to be demonstrated. Fleming et al [16] found that patients who achieved an optimal secondary cytoreduction were those, who underwent surgical treatment of the relapse after a shorter interval time from CA-125 elevation, in comparison to patients achieving suboptimal secondary cytoreduction (5.3 vs 16.4 weeks; hazard ratio, 1.03; 95% CI, 1.01Y1.06; P = 0.04). In other words, **each week delay after CA-125 elevation correlated with a 3% increased chance of suboptimal resection at secondary cytoreductive surgery.** However, published randomized controlled trials demonstrating a survival advantage with secondary cytoreductive surgery are still lacking (the DESKTOP 3 study is still ongoing). A recent Cochrane Review [17] analysed the effectiveness and safety of optimal secondary cytoreduction for women with platinum-sensitive recurrent epithelial OC, in 9 nonrandomized studies. Meta-analyses and single-study analyses showed a statistically significant prognostic difference between women treated with complete secondary cytoreduction and those with residual disease.

The role of imaging methods during the follow-up of OC can we summarized as follows: The routine performance of follow-up CT scans did not significantly improve the overall detection of early relapses in ovarian carcinoma. A longitudinal monitoring of serum CA 125 is a reliable

method of follow-up. Abdominal and pelvic CT scans should be performed in patients who, after a period in which they have been classified as not having evidence of disease with normal CA 125 serum levels, show elevated and rising CA 125, with the aim of finding and characterizing relapses. Accuracy of the CT imaging for the detection of recurrent disease ranges from 38% to 88%. The reason for this wide range is its low sensitivity for the detection of small tumors and inadequate resolution for differentiation between postoperative and pathologic changes [18].

In the first published articles, HE4 has demonstrated a potential role in terms of diagnostic accuracy and lead time in the follow-up of OC. However, the utility of an early diagnosis of the OC relapse is still an open question, because at present evidence of survival advantages from earlier chemotherapeutic treatment is still lacking, and evidence of survival advantage from earlier secondary cytoreduction is still weak. Moreover, elevation of markers in the follow-up often has detrimental effects on patients' quality of life, because of the charge of anxiety that it brings. **An answer to our questions may come from ongoing studies on surgical management of recurrent OC, from future studies analyzing quality of life of OC patients during their follow-up and from future randomized trials about HE4 and follow-up.**

## 2. **AIMS**

### **Primary aim**

- 1) To evaluate and to compare the effectiveness of CA-125 and HE4 serum levels in epithelial OC follow-up in terms of time to detection of elevation after the end of the first line treatment.
- 2) To evaluate the lead-time of the rise of marker levels before epithelial OC recurrence diagnosis by CT imaging method.
- 3) To evaluate the appropriate HE4 cut-off value for follow-up of patients after the treatment of ovarian, Fallopian tube and primary peritoneal cancer.

### **HYPOTHESIS**

- 1) HE4 can be earlier indicator of the relapse OC with a lead time of approximately 5 to 8 months before CA 125 and clinical signs or symptoms.

- 2) The sensitivity and specificity of diagnosis of recurrence of OC by HE4 level can be statistically higher than using CA-125.
- 3) HE4 can be earlier indicator of the relapse OC than CT finding.
- 4) In this setting, HE4 employment would be a valid strategy to anticipate the diagnosis of the relapse as much as to get a beneficial effect from second line chemotherapy or salvage surgery. This hypotheses and successfully evaluation of above-mentioned two hypotheses, could be the key stones of following study, which rise from the results of the first one.
- 5) There are no data in the literature about the sensitivity and specificity of HE4 in recurrence of ovarian cancer. That's why the problem of HE4 cut-off is still open, and more data are needed in order to draw definitive conclusions.

### **3. PROJECT DURATION**

The study starts in April 2016. Based on power calculation at least 150 patients should be included to the study. The duration of the study should be 24 months after the recruitment of the last patient.

### **4. METHODS**

#### Prerequisite

Data System (CLADE IS) for study registration will be created. CLADE IS will enable the continuous (online) collection and recording of all needed data of the patients in follow up. There will be the possibility to filter data according to specific conditions.

#### Pre-registration investigations

We only collect patient with histologically confirmed advanced (FIGO III and IV) epithelial ovarian, fallopian tube or primary peritoneal carcinoma (histotype high-grade serous, low-grade serous, endometrioid, clear cell, undifferentiated) with initial elevation of one or both tumor markers CA125/HE4 at the date of diagnosis (CA 125 > 35 IU/ml, HE4 > 140 pmol/l). Complete remission after the first line treatment (surgery + platinum-based chemotherapy) is necessary. For inclusion the patient to the study, it is necessary to take blood sample for serum CA 125, HE4 levels and perform CT scan of the chest and abdomen within 3 weeks after the end of the first line treatment. Both tumor markers (CA 125 and HE4) must be within normal



range ( $CA\ 125 \leq 35\ IU/ml$ ,  $HE4 \leq 140\ pmol/l$ ) before registration and since completion of first line treatment. CT scan of chest and abdomen must be without any persistent disease according RECIST criteria [19]. **Both, negative markers and negative CT scans mean the complete remission of OC for our study.** It is not important for registration the patient to this study, what residual disease after radical surgery there was or how many cycles of adjuvant or neoadjuvant chemotherapy there were. It is also not exclusion criterium, if there was any biological treatment together with neoadjuvant chemotherapy or if the patient continues on biological therapy (Bevacizumab, Olaparib or any other study drug) after completion of surgery and chemotherapy treatment. The information of biological treatment must only be filled in Data System /CLADE IS/.

#### Laboratory background

Analytical garant of the project is Laboratory of immunoanalysis, Department of nuclear medicine, University Hospital, Pilsen. HE4 and CA-125 serum levels will be measured using the chemiluminescence automated immunoassay instrument Architect (Abbott, USA). This method will be the reference method for this study. In this study the samples of venous blood will be collected using the VACUETTE blood collection system (Greiner Bio-one Company, Austria). Blood will be centrifuged for 10 minutes at 1700x g. Separated serum samples will be immediately analysed. The samples will be analysed in each participating laboratory. If the Abbott Architect instrument will be not available in certain laboratory, the Roche or other instrument can be used. As a tool to monitor the quality of the laboratory measurement we suggest to measure an independent control material for CA125 and HE4 (Tumor Marker Control, manufacturer of Fujirebio Diagnostics). We suggest to add control material Level 1 to each run and using of the control material Level 2 once a month. Results of independent checks should be recorded in the table and results will be also evaluated by the final statistical evaluation.

There are no data in the literature about the sensitivity and specificity of HE4 in recurrence of ovarian cancer. That's why the problem of HE4 cut-off during the follow-up is still open, and more data are needed in order to draw definitive conclusions. Based on the manufacturer's /Abbott, Roche/ indications and also on the available papers, we consider two HE4 cut-off for follow-up: normal values less than ( $\leq$ ) 140 pmol/l, according to the manufacturer's indications, and also less than ( $\leq$ ) 70 pmol/l, as suggested by Moore et al. [20] and used e.g. by Plotti et al. [4]

For those patients with HE4 remission levels below 70 pmol/l, meaning levels within 3 weeks after the end of the first line treatment, we set HE4 normal value as 70 pmol/l. CT scan will be

indicated after the rise of HE4 above this level. For those patients with HE4 remission levels between 71 - 140 pmol/l, meaning levels within 3 weeks after the end of the first line treatment, we set HE4 normal value as 140 pmol/l. CT scan will be indicated after the rise of HE4 above this level.

Follow-up cut-off for CA125 is 35 IU/ml.

For possible future using (control analysis or next parameters determination etc.) one serum aliquote from each sample will be done (0.5 – 1 mL), frozen to  $-20^{\circ}\text{C}$  and twice a year will be sent to the Laboratory of Immunoanalysis in Pilsen.. These aliquotes will be centralized and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  in Human Sample Biobank in Laboratory of immunoanalysis in University Hospital, Pilsen.

#### Follow up

In the study, periodical determination of CA-125 and HE4 is performed every 3 to 4 months in the first 2 years after primary treatment and then every 6 months until the fifth year. Physical examination is strongly recommended. In case of a rise of one of the markers, or both of them (CA 125, HE4), above the upper limit of set cut-off */see above/*, the CT examination of the abdomen and chest will be performed within 3 following weeks. The finding of new measurable lesions on CT according to RECIST criteria will be declared to first relapse and the patient is discarded from the study.

In case CT scan remains (abdomen, chest) without evidence of recurrence according RECIST criteria, then at the next check after 3 to 4 months, blood sample for CA 125 and HE4 level is to be tested again. In the situation, when one of the markers, or both of them (CA 125, HE4) are again above the upper limit of normal and rising in comparing to its last level, the CT examination of the abdomen and chest should be done within 3 following weeks. If the elevation is  $\leq 20\%$  of the last level, then the decision to perform CT scan of abdomen and chest depends on doctor. If the elevation is  $> 20\%$  of the last level, then CT scan is necessary. If the marker(s) level is decreased in comparing to its last level, patient not need to be checked by CT and remains in standard follow up regime. The patient is discarded from the study and periodical controls only in case of confirmation of relapse according to RECIST criteria or histologically. The elevation of tumor markers only or one of them (CA 125, HE4), do not mean recurrence of OC and patients' withdrawal from the study (*Appendix 1*).

In case of symptoms pointing to a possible recurrence of OC (abdominal pain, constipation, decreased appetite, increase in volume of the abdomen, etc.) or result from any other imaging method revealing the causative suspect for recurrence, both tumor markers together with CT scan (abdomen, chest) will be performed at any time.

All data will be recorded in the Data System (CLADE IS), from where after finishing the study period, all data will be carried out and an analysis of particular patient groups will be performed with their counterparts in tumor markers (CA125, HE4) and CT findings.

Possible discomforts:

Patients participating in this study get in principle a clinically indicated standard follow up (treatment).

On all participating patients are requested:

1. Imaging (CT chest, CT abdomen) and blood samples (CA 125, HE4) prior to inclusion the study, to proof the complete response after the end of the first line therapy of OC.
2. Blood will be sampled prior to inclusion the study and at every subsequent follow up visit.
3. Imaging (CT) will be performed prior inclusion the study and only in case of suspicion for recurrence of OC. CT imaging will be assessed according to RECIST criteria.
4. Some patients could be stressed by intensive follow up including blood samples (HE4, CA 125), especially in case of rising markers, that can be earlier indicator of recurrence.
5. In case of a rise in tumor markers without detecting the presence of cancer on CT and no clinical signs will be the patient hereinafter monitored. The actual increase in tumor markers do not entitle us to re-deploy chemotherapy according to the latest findings of medical science. This can lead to concerns about the further development of the disease and thus to the deterioration of the quality of life.

Possible advantages:

1. Patients will be followed more intensive than routine patients throughout their follow up. This could be something that may increase the sense of security for some patients. Patients' participation in the study will contribute to the acquisition of new knowledge that can help in setting new rules of care for patients with cancer of the ovary, fallopian tube or primary peritoneal cancer.

On the other hand is to mention, that some patients could be stressed by intensive follow up including blood samples (HE4, CA 125), especially in case of rising markers, that can be earlier indicator of recurrence.

2. As patients otherwise get routine treatment, there will not be specific advantages to them. Any advantages are likely to occur only in future patients starting the adequate therapy for early detected recurrence of ovarian cancer.

## **5. RECRUITMENT**

### **Inclusion criteria**

1. patient  $\geq$  18 year old
2. invasive ovarian cancer; fallopian tube cancer; peritoneal cancer; histotype high-grade serous, low-grade serous, endometrioid, clear cell, undifferentiated
3. initial elevation of one or both tumor markers CA125/HE4 (CA 125 > 35 IU/ml, HE4 > 140 pmol/l) – at the date of diagnosis
4. stage FIGO III – IV of the disease
5. complete remission after the 1st line treatment - according to CT abdomen + CT thorax (RECIST), negative CA 125 ( $\leq$  35 IU/ml), and negative HE4 ( $\leq$  140 pmol/l) - 3 weeks after the last cycle of chemotherapy
6. signed informed consent

### **Exclusion criteria**

1. FIGO I and II of invasive ovarian cancer, fallopian tube and peritoneal cancer
2. not achieving CR after first line treatment
3. pre-existing renal insufficiency with creatinine over 150  $\mu$ mol/l
4. refusal to sign the informed consent

Patient must meet all of the inclusion criteria and must not be present any exclusion criteria. After signing the informed consent, patient can be included in the study.

## **5. ETHICAL ASPECTS, CONSENT AND APPROVALS**

The study should be approved by local ethical committees. All patients will, prior to inclusion, be informed both orally and in written form about the study. All patients must sign informed consent prior inclusion the study. One original stays with physician, one is given to the patient. In case, the patient changes her mind on the participation in the study, it is possible to discontinue the participation in the study at any time. This will in no way influence the relationship with her doctor and the patient will be still treated in follow up according to current

best medical practices. All personal data from the study are secret. Data on patients, their treatment and follow-up, and test results will be processed anonymously.

## **6. INSURANCE**

As for standard clinical care, no separate insurance related to the project.

The follow up themselves, clinical examinations, CA 125, HE4 and CT imaging will fall under the routine medical care and therefore reimbursed in the normal clinical ways, not adding to study costs.

## **7. CONTACT DETAIL**

### CONTACT DETAILS FOR UNIVERSITY HOSPITAL PILSEN, CZECH REPUBLIC

PI: Jiri Presl, MD, Ph.D.                      +420736679845                      [jiri.presl77@gmail.com](mailto:jiri.presl77@gmail.com)

Analytical garant of the project:

Prof. Ondrej Topolcan, MD, Ph.D.      +420377402948                      [topolcan@fnplzen.cz](mailto:topolcan@fnplzen.cz)

### CONTACT DETAILS FOR UNIVERSITY HOSPITAL BRNO, CZECH REPUBLIC

PI: Vit Weinberger, MD, Ph.D.            +420777217802                      [vit.weinberger@gmail.com](mailto:vit.weinberger@gmail.com)

## **8. REFERENCES**

1. Prat J, FIGO Committee on Gynecologic Oncology. Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet.* 2014;124(1):1-5.
2. Granato T, Midulla C, Longo F, Colaprisca B, Frati L, Anastasi E. Role of HE4, CA72.4, and CA125 in monitoring ovarian cancer. *Tumour Biol.* 2012;33(5):1335-1339.
3. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer.* 1999;80(6):827-841.
4. Plotti F, Capriglione S, Terranova C, et al. Does HE4 have a role as biomarker in the recurrence of ovarian cancer? *Tumour Biol.* 2012;33(6):2117-2123.
5. Havrilesky LJ, Whitehead CM, Rubatt JM, et al. Evaluation of biomarker panels for early stage ovarian cancer detection and monitoring for disease recurrence. *Gynecol Oncol.* 2008;110(3):374-382.

6. Anastasi E, Marchei GG, Viggiani V, Gennarini G, Frati L, Reale MG. HE4: a new potential early biomarker for the recurrence of ovarian cancer. *Tumour Biol.* 2010;31(2):113-119.
7. Ferraro S, Braga F, Lanzoni M, Boracchi P, Biganzoli EM, Panteghini M. Serum human epididymis protein 4 vs carbohydrate antigen 125 for ovarian cancer diagnosis: a systematic review. *J Clin Pathol.* 2013;66(4):273-281.
8. Morgan RJ, Alvarez RD, Armstrong DK, et al. Ovarian cancer, version 2.2013. *J Natl Compr Canc Netw.* 2013;11(10):1199-1209.
9. Ledermann JA, Raja FA, Fotopoulou C, et al. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2013;24 Suppl 6:vi24-vi32.
10. Ovarian Carcinoma. Amsterdam, the Netherlands: Association of Comprehensive Cancer Centres (ACCC); 2009:53.
11. Heintz APM, Odicino F, Maisonneuve P, et al. Carcinoma of the ovary. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet.* 2006;95 Suppl 1:S161-S192.
12. Schummer M, Drescher C, Forrest R, et al. Evaluation of ovarian cancer remission markers HE4, MMP7 and Mesothelin by comparison to the established marker CA125. *Gynecol Oncol.* 2012;125(1):65-69.
13. Manganaro L, Michienzi S, Vinci V, et al. Serum HE4 levels combined with CE CT imaging improve the management of monitoring women affected by epithelial ovarian cancer. *Oncol Rep.* 2013;30(5):2481-2487. doi:10.3892/or.2013.2682.
14. Braicu EI, Chekerov R, Richter R, et al. HE4 expression in plasma correlates with surgical outcome and overall survival in patients with first ovarian cancer relapse. *Ann Surg Oncol.* 2014;21(3):955-962.
15. Rustin GJS, van der Burg MEL, Griffin CL, et al. Early versus delayed treatment of relapsed ovarian cancer (MRC OV05/EORTC 55955): a randomised trial. *Lancet.* 2010;376(9747):1155-1163.
16. Fleming ND, Cass I, Walsh CS, Karlan BY, Li AJ. CA125 surveillance increases optimal resectability at secondary cytoreductive surgery for recurrent epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2011;121(2):249-252.
17. Al Rawahi T, Lopes AD, Bristow RE, et al. Surgical cytoreduction for recurrent epithelial ovarian cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;2:CD008765.

18. Garzetti G, Ciavattini A, Busilacchi P, et al. Is CT scan monitoring useful in patients with epithelial ovarian cancer and follow-up negative CA 125 serum levels? *Oncol Rep.* 1997;4(5):1077-1081.
19. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer.* 2009;45(2):228-247.
20. Moore RG, Brown AK, Miller MC, Skates S, Allard WJ, Verch T, et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol.* 2008;108(2):402-8.

## V práci uváděné a komentované publikace:

1. BOUDA, J., PRESL, J., VLASAK, P., et al. New opinion on the pathogenesis of ovarian carcinoma. *Aktualni Gynekologie a Porodnictvi*. 2018, 10 p. 19-22.
2. KAPOUN, M., BOUDA, J., PRESL, J., et al. Agressive small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type, surgery and oncological treatment: case report. *Ceska Gynekol*. 2015, 80 (3), p. 218-221.
3. BARTAKOVA, A., ONDIC, O., PRESL, J., et al. Oligodendroglioma originating in mature cystic teratoma. *J Obstet Gynaecol*. 2016, 36 (2), p. 269-270.  
**IF 0,545**
4. VLASAK, P., KOSTUN, J., BEREZOVSKIY, D., et al. Role of ultrasound-guided biopsy in the management of pelvic tumors. *Aktualni Gynekologie a Porodnictvi*. 2017, 9 p. 1-4.
5. KOSTUN, J., VLASAK, P., BOUDA, J., et al. The principles of the surgical treatment in ovarian cancer patients. *Aktualni Gynekologie a Porodnictvi*. 2018, 10 p. 10-13.
6. VLASAK, P., BOUDA, J., KOSTUN, J., et al. New trends in systemic treatment of ovarian cancer. *Aktualni Gynekologie a Porodnictvi*. 2018, 10 p. 4-9.
7. PRESL, Jiri, ŠEFRHANSOVÁ, Lucie, SEDLÁKOVÁ, Iva, et al. Možnosti předoperační predikce biologického chování gynekologických pánevních tumorů. *Aktualni Gynekologie a Porodnictvi*. 2014, 6 p. 53-59.
8. BARTAKOVA, A., MICHALOVA, K., PRESL, J., et al. CD44 as a cancer stem cell marker and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma. *J Obstet Gynaecol*. 2018, 38 (1), p. 110-114.  
**IF 0, 545**



9. **PRESL, J., BOUDA, J., VLASAK, P., et al. Hereditary risk of ovarian cancer and its prophylactic measures. Aktualni Gynekologie a Porodnictvi. 2018, 10 p. 14-18.**
10. **PRESL, J. Prevence ovariálního karcinomu v ordinaci gynekologa v souvislosti s detekcí mutace genu BRCA. Gyn Por. 2017, 1(4), p. 249-252.**
11. **PRESL, J., BOUDA, J., VLASAK, P. et al. Ovariální karcinom – dědičná dispozice. Moderní gynekologie a porodnictví. 2018, 25(2), p. 163-170.**
12. **ŠUBRT, I., PRESL, J., SVOBODA, T. Možnosti a následné souvislosti vyplývající z genetického testování pacientek s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu a ovaria vlivem mutace BRCA1 a BRCA2. Onkologie (Czech Republic). 2015, 9 (2), p. 58-64.**
13. **PRESL, J., KUČERA, R., TOPOLČAN, O., et al. HE4 a biomarker of ovarian cancer. Ceska Gynekol. 2012, 77 (5), p. 445-449.**
14. **NOVOTNY, Z., PRESL, J., KUCERA, R., et al. HE4 and ROMA index in Czech postmenopausal women. Anticancer Res. 2012, 32 (9), p. 4137-4140.**  
**IF 1,865**
15. **KUČERA, R., PRESL, J., TOPOLČAN, O., et al. Changes of serum levels of tumor markers in ovarian cancer and benign diseases. Klinicka Biochemie a Metabolismus. 2012, 20 (3), p. 168-171.**
16. **BEREZOVSKIY, D., VLASAK, P., KOSTUN, J., et al. Carcinosarcoma of the endometrium with melanocytic differentiation, case report. Ceska Gynekol. 82 (5), p. 390-395.**
17. **KOSTUN, J., BOUDA, J., VLASAK, P., et al. Incidence of uterine sarcomas in West Bohemia, at the Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital in Pilsen, Czech Republic. Ceska Gynekol. 2017, 82 (6), p. 436-442.**

18. PTAKOVA, N., MIESBAUEROVA, M., KOSTUN, J., et al. Immunohistochemical and selected genetic reflex testing of all uterine leiomyosarcomas and STUMPs for ALK gene rearrangement may provide an effective screening tool in identifying uterine ALK-rearranged mesenchymal tumors. *Virchows Arch.* 2018, 473 (5), p. 583-590.  
**IF 2,936**
19. KOSTUN, J., PESTA, M., SLAMA, J., et al. One-step nucleic acid amplification vs ultrastaging in the detection of sentinel lymph node metastasis in endometrial cancer patients. *J Surg Oncol.* 2019, 119 (3), p. 361-369.  
**IF 2,886**
20. KOSTUN, J., PESTA, M., SLUNECKO, R., et al. One-Step Nucleic Acid Amplification method - what is the future of sentinel lymph node management?. *Ceska Gynekol.* 2018, 83 (1), p. 57-61.
21. PRESL, J., NOVOTNY, Z., TOPOLCAN, O., et al. CA125 and HE4 levels in a Czech female population diagnosed with endometrial cancer in preoperative management. *Anticancer Res.* 2014, 34 (1), p. 327-331.  
**IF 1,865**
22. PRESL, Jiri, OVESNA, Petra, NOVOTNY, Zdenek, et al. Importance of Preoperative Knowledge of the Biomarker HE4 in Early-stage Endometrial Cancer Regarding Surgical Management. *Anticancer Research.* 2017, 37 (5), p. 2697-2702.  
**IF 1,865**

### **Další publikace:**

23. PRESL, Jiri. Nutritional support/status in gynaecological cancer. *International Journal of Gynecological Cancer.* 2016, 26 (2), p. 68-68.  
**IF 2,192**

24. **PRESL, Jiri. Nutritional support/status in gynaecological cancer. International Journal of Gynecological Cancer. 2016, 26 (3), p. 69-69.**  
**IF 2,192**
25. **BARTAKOVA, A., PRESL, J., VLASAK, P., et al. Nádorové kmenové buňky – možnost cílené terapie karcinomu ovaria?. Plzensky lekarsky sbornik. 2014, 80, p. 63-66.**
26. **CASOVA, M., KUCERA, R., SVOBODOVA, S., et al. HE4 in comparison with other biomarkers in ovarian cancer diagnostics. Plzensky lekarsky sbornik. 2014, 80, p. 21-26.**
27. **VLASAK, P., PRESL, J., BOUDA, J., et al. Předoperační diagnostika ovariálních nádorů a management pacientek s primárně inoperabilním maligním nádorem vaječníku. Plzensky lekarsky sbornik. 2014, 80, p. 67-80.**
28. **KUČERA, R., TOPOLČAN, O., PRESL, J., et al. Clinical benefit of ROMA index in the diagnosis of ovarian cancer. Klinicka Biochemie a Metabolismus. 2012, 20 (4), p. 248-251.**
- Souhrnný IF 16,891**
29. **KUCERA, R., TOPOLCAN, O., SVOBODOVA, S., et al. HE4 and other markers in ovarian cancer. BenRafael, Z., editor. Bologna: Monduzzi Editore S P A; 2013, p. 173-175.**
30. **TOPOLCAN, O., KUCERA, R., PRESL, J., et al. ROMA2 index in postmenopausal women. BenRafael, Z., editor. Bologna: Monduzzi Editore S P A; 2013, p. 273-275.**

## Literatura:

1. CIBULA, D. Onkogynekologie. Praha: Grada Publishing, a.s. 2009.
2. BAST, R. C., Jr., KLUG, T. L., ST JOHN, E., et al. A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med.* 1983, 309 (15), p. 883-887.
3. REGISTRY, National Cancer. Cancer Incidence 2016. Health Statistics. Czech republic, Prague2019.
4. BRAY, F., FERLAY, J., SOERJOMATARAM, I., et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018, 68 (6), p. 394-424.
5. NOONE, A.M., HOWLADER, N., KRAPCHO, M., et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2015, National Cancer Institute. Bethesda, MD, [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2015/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/), based on November 2017 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2018.
6. BARNHOLTZ-SLOAN, J. S., SCHWARTZ, A. G., QURESHI, F., et al. Ovarian cancer: changes in patterns at diagnosis and relative survival over the last three decades. *Am J Obstet Gynecol.* 2003, 189 (4), p. 1120-1127.
7. KURMAN, R. J., SHIH IE, M. The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded. *Am J Pathol.* 2016, 186 (4), p. 733-747.
8. Cancer Stat Facts: Ovarian Cancer. National Cancer Institute. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>. Accessed February 11, 2019.
9. KAUFF, N. D., MITRA, N., ROBSON, M. E., et al. Risk of ovarian cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation-negative hereditary breast cancer families. *J Natl Cancer Inst.* 2005, 97 (18), p. 1382-1384.
10. CHEN, S., PARMIGIANI, G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol.* 2007, 25 (11), p. 1329-1333.
11. KOORNSTRA, J. J., MOURITS, M. J., SIJMONS, R. H., et al. Management of extracolonic tumours in patients with Lynch syndrome. *Lancet Oncol.* 2009, 10 (4), p. 400-408.
12. BARROW, E., ROBINSON, L., ALDUAIJ, W., et al. Cumulative lifetime incidence of extracolonic cancers in Lynch syndrome: a report of 121 families with proven mutations. *Clin Genet.* 2009, 75 (2), p. 141-149.
13. RAMUS, S. J., SONG, H., DICKS, E., et al. Germline Mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN Genes in Women With Ovarian Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2015, 107 (11), p.

14. SONG, H., DICKS, E., RAMUS, S. J., et al. Contribution of Germline Mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D Genes to Ovarian Cancer in the Population. *J Clin Oncol.* 2015, 33 (26), p. 2901-2907.
15. LEE, J. S., JOHN, E. M., MCGUIRE, V., et al. Breast and ovarian cancer in relatives of cancer patients, with and without BRCA mutations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006, 15 (2), p. 359-363.
16. NESS, R. B., CRAMER, D. W., GOODMAN, M. T., et al. Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Am J Epidemiol.* 2002, 155 (3), p. 217-224.
17. PEARCE, C. L., TEMPLEMAN, C., ROSSING, M. A., et al. Association between endometriosis and risk of histological subtypes of ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Lancet Oncol.* 2012, 13 (4), p. 385-394.
18. JORDAN, S. J., WHITEMAN, D. C., PURDIE, D. M., et al. Does smoking increase risk of ovarian cancer? A systematic review. *Gynecol Oncol.* 2006, 103 (3), p. 1122-1129.
19. TWOROGER, S. S., FAIRFIELD, K. M., COLDITZ, G. A., et al. Association of oral contraceptive use, other contraceptive methods, and infertility with ovarian cancer risk. *Am J Epidemiol.* 2007, 166 (8), p. 894-901.
20. COLLABORATIVE GROUP ON EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF OVARIAN, Cancer, BERAL, V., DOLL, R., et al. Ovarian cancer and oral contraceptives: collaborative reanalysis of data from 45 epidemiological studies including 23,257 women with ovarian cancer and 87,303 controls. *Lancet.* 2008, 371 (9609), p. 303-314.
21. IP, S., CHUNG, M., RAMAN, G., et al. A summary of the Agency for Healthcare Research and Quality's evidence report on breastfeeding in developed countries. *Breastfeed Med.* 2009, 4 Suppl 1 p. S17-30.
22. CIBULA, D., WIDSCHWENDTER, M., ZIKAN, M., et al. Underlying mechanisms of ovarian cancer risk reduction after tubal ligation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2011, 90 (6), p. 559-563.
23. CIBULA, D., WIDSCHWENDTER, M., MAJEK, O., et al. Tubal ligation and the risk of ovarian cancer: review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2011, 17 (1), p. 55-67.
24. TSILIDIS, K. K., ALLEN, N. E., KEY, T. J., et al. Oral contraceptive use and reproductive factors and risk of ovarian cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Br J Cancer.* 2011, 105 (9), p. 1436-1442.
25. YIN, B. W., LLOYD, K. O. Molecular cloning of the CA125 ovarian cancer antigen: identification as a new mucin, MUC16. *J Biol Chem.* 2001, 276 (29), p. 27371-27375.

26. JACOBS, I., BAST, R. C., Jr. The CA 125 tumour-associated antigen: a review of the literature. *Hum Reprod.* 1989, 4 (1), p. 1-12.
27. DORIGO, O., BEREK, J. S. Personalizing CA125 levels for ovarian cancer screening. *Cancer Prev Res (Phila).* 2011, 4 (9), p. 1356-1359.
28. ELTABBAKH, G. H., GUPTA, M. K., BELINSON, J. L., et al. Comparison between Centcor CA 125 and CA 125 II assays. *Eur J Gynaecol Oncol.* 1996, 17 (6), p. 504-506.
29. KENEMANS, P., VAN KAMP, G. J., OEHR, P., et al. Heterologous double-determinant immunoradiometric assay CA 125 II: reliable second-generation immunoassay for determining CA 125 in serum. *Clin Chem.* 1993, 39 (12), p. 2509-2513.
30. CARLSON, K. J., SKATES, S. J., SINGER, D. E. Screening for ovarian cancer. *Ann Intern Med.* 1994, 121 (2), p. 124-132.
31. GROVER, S., KOH, H., WEIDEMAN, P., et al. The effect of the menstrual cycle on serum CA 125 levels: a population study. *Am J Obstet Gynecol.* 1992, 167 (5), p. 1379-1381.
32. MOL, B. W., BAYRAM, N., LIJMER, J. G., et al. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 1998, 70 (6), p. 1101-1108.
33. ZUCKERMAN, E., LANIR, A., SABO, E., et al. Cancer antigen 125: a sensitive marker of ascites in patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* 1999, 94 (6), p. 1613-1618.
34. DEVARBHAVI, H., KAESE, D., WILLIAMS, A. W., et al. Cancer antigen 125 in patients with chronic liver disease. *Mayo Clin Proc.* 2002, 77 (6), p. 538-541.
35. TOPALAK, O., SAYGILI, U., SOYTURK, M., et al. Serum, pleural effusion, and ascites CA-125 levels in ovarian cancer and nonovarian benign and malignant diseases: a comparative study. *Gynecol Oncol.* 2002, 85 (1), p. 108-113.
36. SJOVALL, K., NILSSON, B., EINHORN, N. The significance of serum CA 125 elevation in malignant and nonmalignant diseases. *Gynecol Oncol.* 2002, 85 (1), p. 175-178.
37. JOHNSON, C. C., KESSEL, B., RILEY, T. L., et al. The epidemiology of CA-125 in women without evidence of ovarian cancer in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer (PLCO) Screening Trial. *Gynecol Oncol.* 2008, 110 (3), p. 383-389.
38. ESCUDERO, J. M., AUGÉ, J. M., FILELLA, X., et al. Comparison of serum human epididymis protein 4 with cancer antigen 125 as a tumor marker in patients with malignant and nonmalignant diseases. *Clin Chem.* 2011, 57 (11), p. 1534-1544.
39. JACOBS, I. J., SKATES, S., DAVIES, A. P., et al. Risk of diagnosis of ovarian cancer after raised serum CA 125 concentration: a prospective cohort study. *BMJ.* 1996, 313 (7069), p. 1355-1358.

40. VAN CALSTER, B., VALENTIN, L., VAN HOLSBEBE, C., et al. A novel approach to predict the likelihood of specific ovarian tumor pathology based on serum CA-125: a multicenter observational study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011, 20 (11), p. 2420-2428.
41. RUSTIN, G. J., NELSTROP, A. E., MCCLEAN, P., et al. Defining response of ovarian carcinoma to initial chemotherapy according to serum CA 125. *J Clin Oncol.* 1996, 14 (5), p. 1545-1551.
42. RUSTIN, G. J., MARPLES, M., NELSTROP, A. E., et al. Use of CA-125 to define progression of ovarian cancer in patients with persistently elevated levels. *J Clin Oncol.* 2001, 19 (20), p. 4054-4057.
43. RUSTIN, G. J., VAN DER BURG, M. E., GRIFFIN, C. L., et al. Early versus delayed treatment of relapsed ovarian cancer (MRC OV05/EORTC 55955): a randomised trial. *Lancet.* 2010, 376 (9747), p. 1155-1163.
44. DIAZ-PADILLA, I., RAZAK, A. R., MINIG, L., et al. Prognostic and predictive value of CA-125 in the primary treatment of epithelial ovarian cancer: potentials and pitfalls. *Clin Transl Oncol.* 2012, 14 (1), p. 15-20.
45. LHEUREUX, S., GOURLEY, C., VERGOTE, I., et al. Epithelial ovarian cancer. *Lancet.* 2019, 393 (10177), p. 1240-1253.
46. CHESNAIS, M., LECURU, F., MIMOUNI, M., et al. A pre-operative predictive score to evaluate the feasibility of complete cytoreductive surgery in patients with epithelial ovarian cancer. *PLoS One.* 2017, 12 (11), p. e0187245.
47. FAGOTTI, A., FERRANDINA, G., FANFANI, F., et al. A laparoscopy-based score to predict surgical outcome in patients with advanced ovarian carcinoma: a pilot study. *Ann Surg Oncol.* 2006, 13 (8), p. 1156-1161.
48. MUALLEM, M. Z., GASIMLI, K., RICHTER, R., et al. AGO Score As a Predictor of Surgical Outcome at Secondary Cytoreduction in Patients with Ovarian Cancer. *Anticancer Res.* 2015, 35 (6), p. 3423-3429.
49. KANG, S., KIM, T. J., SEO, S. S., et al. Interaction between preoperative CA-125 level and survival benefit of neoadjuvant chemotherapy in advanced epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2011, 120 (1), p. 18-22.
50. STURGEON, C. M., DUFFY, M. J., STENMAN, U. H., et al. National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *Clin Chem.* 2008, 54 (12), p. e11-79.

51. KIRCHHOFF, C., HABBEN, I., IVELL, R., et al. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular proteinase inhibitors. *Biol Reprod.* 1991, 45 (2), p. 350-357.
52. HELLSTROM, I., RAYCRAFT, J., HAYDEN-LEDBETTER, M., et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. *Cancer Res.* 2003, 63 (13), p. 3695-3700.
53. DRAPKIN, R., VON HORSTEN, H. H., LIN, Y., et al. Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer Res.* 2005, 65 (6), p. 2162-2169.
54. BINGLE, L., SINGLETON, V., BINGLE, C. D. The putative ovarian tumour marker gene HE4 (WFDC2), is expressed in normal tissues and undergoes complex alternative splicing to yield multiple protein isoforms. *Oncogene.* 2002, 21 (17), p. 2768-2773.
55. GALGANO, M. T., HAMPTON, G. M., FRIERSON, H. F., Jr. Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues. *Mod Pathol.* 2006, 19 (6), p. 847-853.
56. MOORE, Richard G., BROWN, Amy K., MILLER, M. Craig, et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecologic Oncology.* 2008, 108 (2), p. 402-408.
57. SHAH, C. A., LOWE, K. A., PALEY, P., et al. Influence of ovarian cancer risk status on the diagnostic performance of the serum biomarkers mesothelin, HE4, and CA125. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009, 18 (5), p. 1365-1372.
58. NOLEN, B., VELIKOKHATNAYA, L., MARRANGONI, A., et al. Serum biomarker panels for the discrimination of benign from malignant cases in patients with an adnexal mass. *Gynecol Oncol.* 2010, 117 (3), p. 440-445.
59. MOORE, R. G., MCMEEKIN, D. S., BROWN, A. K., et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol.* 2009, 112 (1), p. 40-46.
60. MOORE, R. G., MILLER, M. C., DISILVESTRO, P., et al. Evaluation of the diagnostic accuracy of the risk of ovarian malignancy algorithm in women with a pelvic mass. *Obstet Gynecol.* 2011, 118 (2 Pt 1), p. 280-288.
61. ČEPICKÝ, Pavel. Doporučení k hormonální terapii a substituci perimenopauzy a postmenopauzy. *Česká gynekologie.* 2006, 71 (2), p. 150-152.



62. MOORE, R., MILLER, C., DISILVESTRO, P., et al. Evaluation of the risk of ovarian malignancy algorithm in women with a pelvic mass presenting to general gynecologists. *Gynecologic Oncology*. 2011, 120 (0), p. S68.
63. PARTHEEN, K., KRISTJANSDOTTIR, B., SUNDFELDT, K. Evaluation of ovarian cancer biomarkers HE4 and CA-125 in women presenting with a suspicious cystic ovarian mass. *J Gynecol Oncol*. 2011, 22 (4), p. 244-252.
64. HUHTINEN, K., SUVITIE, P., HIISSA, J., et al. Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts. *Br J Cancer*. 2009, 100 (8), p. 1315-1319.
65. BORDIN, L., FIORE, C., DONA, G., et al. Evaluation of erythrocyte band 3 phosphotyrosine level, glutathione content, CA-125, and human epididymal secretory protein E4 as combined parameters in endometriosis. *Fertil Steril*. 2010, 94 (5), p. 1616-1621.
66. MONTAGNANA, M., LIPPI, G., DANESE, E., et al. Usefulness of serum HE4 in endometriotic cysts. *Br J Cancer*. 2009, 101 (3), p. 548.
67. MOORE, R. G., BROWN, A. K., MILLER, M. C., et al. Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Gynecol Oncol*. 2008, 110 (2), p. 196-201.
68. MONTAGNANA, M., DANESE, E., RUZZENENTE, O., et al. The ROMA (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) for estimating the risk of epithelial ovarian cancer in women presenting with pelvic mass: is it really useful? *Clin Chem Lab Med*. 2011, 49 (3), p. 521-525.
69. JACOB, F., MEIER, M., CADUFF, R., et al. No benefit from combining HE4 and CA125 as ovarian tumor markers in a clinical setting. *Gynecol Oncol*. 2011, 121 (3), p. 487-491.
70. VAN GORP, T., CADRON, I., DESPIERRE, E., et al. HE4 and CA125 as a diagnostic test in ovarian cancer: prospective validation of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm. *Br J Cancer*. 2011, 104 (5), p. 863-870.
71. VAN DER ZEE, A. G., COLOMBO, N., GITSCH, G., et al. ESGO statement on the role of CA-125 measurement in follow-up of epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2012, 22 (1), p. 175.
72. VERHEIJEN, R. H., CIBULA, D., ZOLA, P., et al. Cancer antigen 125: lost to follow-up?: a European society of gynaecological oncology consensus statement. *Int J Gynecol Cancer*. 2012, 22 (1), p. 170-174.
73. PARTRIDGE, E., KREIMER, A. R., GREENLEE, R. T., et al. Results from four rounds of ovarian cancer screening in a randomized trial. *Obstet Gynecol*. 2009, 113 (4), p. 775-782.

74. BUYS, S. S., PARTRIDGE, E., BLACK, A., et al. Effect of screening on ovarian cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Randomized Controlled Trial. *JAMA*. 2011, 305 (22), p. 2295-2303.
75. JACOBS, I. J., MENON, U., RYAN, A., et al. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016, 387 (10022), p. 945-956.
76. MENON, U., GENTRY-MAHARAJ, A., HALLETT, R., et al. Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS). *Lancet Oncol*. 2009, 10 (4), p. 327-340.
77. MENON, U., RYAN, A., KALSI, J., et al. Risk Algorithm Using Serial Biomarker Measurements Doubles the Number of Screen-Detected Cancers Compared With a Single-Threshold Rule in the United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening. *J Clin Oncol*. 2015, 33 (18), p. 2062-2071.
78. ROSENTHAL, A. N. Ovarian cancer screening in the high-risk population--the UK Familial Ovarian Cancer Screening Study (UKFOCSS). *Int J Gynecol Cancer*. 2012, 22 Suppl 1 p. S27-28.
79. ROSENTHAL, A. N., FRASER, L., MANCHANDA, R., et al. Results of annual screening in phase I of the United Kingdom familial ovarian cancer screening study highlight the need for strict adherence to screening schedule. *J Clin Oncol*. 2013, 31 (1), p. 49-57.
80. ROSENTHAL, A. N., FRASER, L. S. M., PHILPOTT, S., et al. Evidence of Stage Shift in Women Diagnosed With Ovarian Cancer During Phase II of the United Kingdom Familial Ovarian Cancer Screening Study. *J Clin Oncol*. 2017, 35 (13), p. 1411-1420.
81. TIMMERMAN, D., AMEYE, L., FISCHEROVA, D., et al. Simple ultrasound rules to distinguish between benign and malignant adnexal masses before surgery: prospective validation by IOTA group. *BMJ*. 2010, 341 p. c6839.
82. VALENTIN, L., JURKOVIC, D., VAN CALSTER, B., et al. Adding a single CA 125 measurement to ultrasound imaging performed by an experienced examiner does not improve preoperative discrimination between benign and malignant adnexal masses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009, 34 (3), p. 345-354.
83. VAN GORP, T., VELDMAN, J., VAN CALSTER, B., et al. Subjective assessment by ultrasound is superior to the risk of malignancy index (RMI) or the risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) in discriminating benign from malignant adnexal masses. *Eur J Cancer*. 2012, 48 (11), p. 1649-1656.

84. BOKHMAN, J. V. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 1983, 15 (1), p. 10-17.
85. SETIAWAN, V. W., YANG, H. P., PIKE, M. C., et al. Type I and II endometrial cancers: have they different risk factors? *J Clin Oncol.* 2013, 31 (20), p. 2607-2618.
86. MURALI, R., SOSLOW, R. A., WEIGELT, B. Classification of endometrial carcinoma: more than two types. *Lancet Oncol.* 2014, 15 (7), p. e268-278.
87. CANCER GENOME ATLAS RESEARCH, Network, KANDOTH, C., SCHULTZ, N., et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* 2013, 497 (7447), p. 67-73.
88. SEEBACHER, V., SCHMID, M., POLTERAUER, S., et al. The presence of postmenopausal bleeding as prognostic parameter in patients with endometrial cancer: a retrospective multi-center study. *BMC Cancer.* 2009, 9 p. 460.
89. GOLDSTEIN, S. R., NACHTIGALL, M., SNYDER, J. R., et al. Endometrial assessment by vaginal ultrasonography before endometrial sampling in patients with postmenopausal bleeding. *Am J Obstet Gynecol.* 1990, 163 (1 Pt 1), p. 119-123.
90. KARLSSON, B., GRANBERG, S., WIKLAND, M., et al. Transvaginal ultrasonography of the endometrium in women with postmenopausal bleeding--a Nordic multicenter study. *Am J Obstet Gynecol.* 1995, 172 (5), p. 1488-1494.
91. COLLABORATIVE GROUP ON EPIDEMIOLOGICAL STUDIES ON ENDOMETRIAL, Cancer. Endometrial cancer and oral contraceptives: an individual participant meta-analysis of 27 276 women with endometrial cancer from 36 epidemiological studies. *Lancet Oncol.* 2015, 16 (9), p. 1061-1070.
92. SETIAWAN, V. W., PIKE, M. C., KARAGEORGI, S., et al. Age at last birth in relation to risk of endometrial cancer: pooled analysis in the epidemiology of endometrial cancer consortium. *Am J Epidemiol.* 2012, 176 (4), p. 269-278.
93. JORDAN, S. J., NA, R., JOHNATY, S. E., et al. Breastfeeding and Endometrial Cancer Risk: An Analysis From the Epidemiology of Endometrial Cancer Consortium. *Obstet Gynecol.* 2017, 129 (6), p. 1059-1067.
94. ZHOU, B., YANG, L., SUN, Q., et al. Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer: a meta-analysis. *Am J Med.* 2008, 121 (6), p. 501-508 e503.
95. GUIDOS, B. J., SELVAGGI, S. M. Detection of endometrial adenocarcinoma with the ThinPrep Pap test. *Diagn Cytopathol.* 2000, 23 (4), p. 260-265.

96. SCHORGE, J. O., HOSSEIN SABOORIAN, M., HYNAN, L., et al. ThinPrep detection of cervical and endometrial adenocarcinoma: a retrospective cohort study. *Cancer*. 2002, 96 (6), p. 338-343.
97. GU, M., SHI, W., BARAKAT, R. R., et al. Pap smears in women with endometrial carcinoma. *Acta Cytol*. 2001, 45 (4), p. 555-560.
98. KALOGERA, E., SCHOLLER, N., POWLESS, C., et al. Correlation of serum HE4 with tumor size and myometrial invasion in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2012, 124 (2), p. 270-275.
99. HSIEH, C. H., CHANGCHIEN, C. C., LIN, H., et al. Can a preoperative CA 125 level be a criterion for full pelvic lymphadenectomy in surgical staging of endometrial cancer? *Gynecol Oncol*. 2002, 86 (1), p. 28-33.
100. DOTTERS, D. J. Preoperative CA 125 in endometrial cancer: is it useful? *Am J Obstet Gynecol*. 2000, 182 (6), p. 1328-1334.
101. POWELL, J. L., HILL, K. A., SHIRO, B. C., et al. Preoperative serum CA-125 levels in treating endometrial cancer. *J Reprod Med*. 2005, 50 (8), p. 585-590.
102. TODO, Y., SAKURAGI, N., NISHIDA, R., et al. Combined use of magnetic resonance imaging, CA 125 assay, histologic type, and histologic grade in the prediction of lymph node metastasis in endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol*. 2003, 188 (5), p. 1265-1272.
103. KIM, H. S., PARK, C. Y., LEE, J. M., et al. Evaluation of serum CA-125 levels for preoperative counseling in endometrioid endometrial cancer: a multi-center study. *Gynecol Oncol*. 2010, 118 (3), p. 283-288.
104. ABRAMOVICH, D., MARKMAN, M., KENNEDY, A., et al. Serum CA-125 as a marker of disease activity in uterine papillary serous carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1999, 125 (12), p. 697-698.
105. BORUTA, D. M., 2nd, GEHRIG, P. A., FADER, A. N., et al. Management of women with uterine papillary serous cancer: a Society of Gynecologic Oncology (SGO) review. *Gynecol Oncol*. 2009, 115 (1), p. 142-153.
106. BIGNOTTI, E., RAGNOLI, M., ZANOTTI, L., et al. Diagnostic and prognostic impact of serum HE4 detection in endometrial carcinoma patients. *Br J Cancer*. 2011, 104 (9), p. 1418-1425.
107. MOORE, R. G., MILLER, C. M., BROWN, A. K., et al. Utility of tumor marker HE4 to predict depth of myometrial invasion in endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Int J Gynecol Cancer*. 2011, 21 (7), p. 1185-1190.

108. MUTZ-DEHBALAIE, I., EGGLE, D., FESSLER, S., et al. HE4 is an independent prognostic marker in endometrial cancer patients. *Gynecol Oncol.* 2012, 126 (2), p. 186-191.
109. AKBAYIR, O., CORBACIOGLU, A., NUMANOGLU, C., et al. Preoperative assessment of myometrial and cervical invasion in endometrial carcinoma by transvaginal ultrasound. *Gynecol Oncol.* 2011, 122 (3), p. 600-603.
110. ALCÁZAR, Juan Luis, PINEDA, Laura, CAPARRÓS, Maria, et al. Transvaginal/transrectal ultrasound for preoperative identification of high-risk cases in well-or moderately differentiated endometrioid carcinoma. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.* 2016, 47 (3), p. 374-379.
111. KAMEI, M., YAMASHITA, S., TOKUISHI, K., et al. HE4 expression can be associated with lymph node metastases and disease-free survival in breast cancer. *Anticancer Res.* 2010, 30 (11), p. 4779-4783.
112. SAVELLI, L., CECCARINI, M., LUDOVISI, M., et al. Preoperative local staging of endometrial cancer: transvaginal sonography vs. magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008, 31 (5), p. 560-566.
113. SAWICKI, W., SPIEWANKIEWICZ, B., STELMACHOW, J., et al. The value of ultrasonography in preoperative assessment of selected prognostic factors in endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2003, 24 (3-4), p. 293-298.

## Poděkování

Touto cestou bych chtěl poděkovat současnému i předchozímu přednostovi Gynekologicko-porodnické kliniky LF UK a FN v Plzni – doc. MUDr. Zdeňku Novotnému, CSc. a doc. MUDr. Zdeňku Rokytovi, CSc., kteří mi dali šanci a svými zkušenostmi, radami a důvěrou mně umožnili vyprofilovat se v gynekologa-porodníka s všeobecným přehledem v oboru, se specializací v onkogynekologii a operativě.

Dále bych chtěl poděkovat prof. MUDr. Ondřeji Topolčanovi, CSc. a jeho imunoanalytickému týmu, kteří se podíleli na velké části mé práce odborným vedením a vyhodnocením výsledků laboratorních parametrů.

Onkogynekologický tým při KOC FN Plzeň byl a je přátelským a odborným zázemím pro naši společnou práci.

Poděkování patří i ostatním kolegům ze spolupracujících oborů Fakultní nemocnice Plzeň a kolegům onkogynekologům z dalších nemocnic v ČR i v zahraničí. Zejména bych uvedl doc. MUDr. Víta Weinbergera, Ph.D. z FN Brno, který je mým kamarádem, kolegou a konzultantem v životních i odborných otázkách.

V neposlední řadě je třeba poděkovat své rodině – rodičům, manželce a dětem, kteří mi umožnili dojít ve své práci tak daleko, byli trpěliví a shovívaví.

.....

MUDr. Jiří Presl, Ph.D.