



DNA-ploiditet ved epitelial ovarialkreft – en uavhengig prognostisk faktor

DIAGNOSTIKK OG BEHANDLING

CLAES G. TROPÉ

VERA ABELER

MARK BAEKELANDT

JANNE KÆRN

Avdeling for gynekologisk onkologi
og
Avdeling for patologi
Det Norske Radiumhospital
0310 Oslo

Ovarialcancer er den gynekologiske kreftformen som har høyest dødelighet. Ved å finne variabler som kan bidra til å anslå behandlingseffekt og pasientoverlevelse håper man å kunne tilby en mer individualisert behandling til den enkelte pasient.

Studier utgått fra Det Norske Radiumhospital vedrørende den prognostiske betydningen av DNA-ploiditet ved borderline samt tidlig og avansert infiltrerende ovarialcancer ble gjennomgått. Konklusjonene fra disse studiene ble sammenliknet med internasjonal litteratur.

DNA-ploiditet har bestemt uavhengig prognostisk betydning ved borderline og tidlig (FIGO-stadium 1) ovarialcancer, og bidrar til en seleksjon av pasienter som forventes å ha nytte av adjuvant kjemoterapi eller hvor fertilitetskonserverende kirurgi kan overveies. Også ved ovarialcancer i avansert stadium har DNA-ploiditet prognostisk betydning, men foreløpig har denne informasjonen ingen umiddelbar konsekvens for pasientbehandlingen.

DNA-ploiditetsanalyse bør integreres i den rutinemessige histopatologiske undersøkelsen av borderline og tidlig stadium (stadium 1) ovarialcancer.

Globalt sett er ovarialcancer den 6. hyppigste kreftformen blant kvinner, og står for 4,3 % av alle krefttilfeller hos kvinnelige pasienter (1). De høyeste insidensratene er rapportert i Nord-Europa og Nord-Amerika, og insidensen har så å si holdt seg uforandret gjennom de siste 20 – 30 år. Ovarialcancer er betydelig mindre hyppig i u-land og i Japan, men i disse områdene har man observert en stigende insidens (2)

Prognosen for ovarialcancer er fremdeles dårlig, og i den vestlige verden forårsaker denne sykdommen flest dødsfall av alle maligne gynekologiske sykdommer, ca. 106 000 dødsfall årlig på verdensbasis (3). Den viktigste forklaringen på dette er at sykdommen som regel allerede har metastasert på diagnosetidspunktet. Bare 25 % av tilfellene oppdages i stadium 1, 11 % oppdages i stadium 2, 40 % i stadium 3 og 17 % i stadium 4 (4). I tillegg har ovarialcancer også en uttalt tendens til å residivere, selv hos pasienter som har gått i komplett remisjon etter førstelinjebehandling.

Prognostiske faktorer

Gradvis har man i løpet av de siste tiårene sett en forbedring i prognosen for pasienter med langt kommet ovarialcancer (5–7) noe som blant annet forklares av langt mer omfattende kirurgi med flere optimalt opererte pasienter, samt introduksjonen av platinabasert kombinasjonskjemoterapi. Siden platinabasert kombinasjonskjemoterapi har betydelige bivirkninger og opptil 25 % av pasientene med avansert ovarialcancer ikke responderer på denne behandlingen (8), finnes det et klart behov for objektive variabler som har en prediktiv verdi for behandlingseffekt og pasientoverlevelse. På denne måten håper man å kunne selekttere pasienter som ikke forventes å ha noen nytte av platinabasert kombinasjonskjemoterapi, slik at man kan tilby dem andre behandlingsalternativer. Disse kan ta sikte på symptomlindring eller være eksperimentelle behandlingsprinsipper med kurativ intensjon (9, 10). Ofte ser man at påstått relevante prognostiske faktorer er unøyaktig definert, vanskelige å måle og umulige å reproducere. Spesielt i retrospektive analyser kan viktige variabler som mengde resttumor etter operasjon eller pasientens allmenntilstand mangle. Slike variabler er nesten umulig å definere retrospektivt (10).

En rekke variabler har vist seg å korrelere med overlevelsen ved avansert ovarialcancer, som f.eks. FIGO-stadium (International Federation of Gynecology and Oncology), størrelsen på gjenværende tumor etter primæroperasjonen, histologisk type og grad, pasientens alder, ascites og hvilken type postoperativ behandling som er gitt (11–20). Dessverre er mange av disse faktorene ofte bare undersøkt ved hjelp av univariat analyse, en strategi som har betydelige begrensninger. Multivariat analyse, derimot, gjør at man kan identifisere de faktorene som har størst og uavhengig innflytelse på overlevelsen, og kan bidra til å identifisere pasientgrupper med høy og lav risiko.

DNA-ploiditet – en ny og uavhengig prognostisk faktor?

De fleste ovennevnte «klassiske» prognostiske faktorer inneholder et element av subjektivitet, og de kan være vanskelig reproducerbare. Man har derfor lett etter faktorer som er mer objektive og enklere å reproducere, f.eks. DNA-ploiditet og proliferasjonsaktivitet (S-fasefraksjon). De fleste pasienter med borderline ovarialsvulster eller invasive karsinomer i stadium 1 har en utmerket prognose etter kirurgisk fjerning av tumoren. Ikke desto mindre har nesten alle disse pasientene fått en eller annen form for adjuvant behandling, og man har lenge savnet faktorer som kan identifisere den lille pasientgruppen som vil kunne ha nytte av slik behandling. Likeledes kan man, forutsatt at prognosen kan bedømmes på en nøyaktig måte, blant unge pasienter som ønsker å beholde sin fertilitet, selekttere den gruppen hvor mindre radikal kirurgi kan være forsvarlig.

DNA-PLOIDITET GIR ET UTTRYKK FOR DNA-INNHOLDET I CELLEKJERNEN MÅLT VED CYTOMETRI

Vi har sammenliknet DNA-ploiditetsbestemmelser utført med væskestrømscytometri og med bildecytometri i 37 ulike gynekologiske krefttilfeller (24). Overensstemmelse ble oppnådd i 81 % av tilfellene. Alle væskestrømscytometriske aneuploide prøver var også bildecytometriske aneuploide, og alle bildecytometriske diploide viste seg også å være væskestrømsdiploide. Uoverensstemmelser ble sett blant fem væskestrømsdiploide prøver, hvorav tre viste seg å være bildecytometrisk aneuploide og to bildecytometrisk polyploide. Konklusjonen er da også at bildecytometri er den mest sensitive metoden for å oppdage aneuploide celler, og bildecytometri bør utføres på alle væskestrømsdiploide tilfeller.

Noen av de første i verden til å undersøke ploiditetsforstyrrelser i eggstokktumorer var Iversen og Lærum i Bergen (21, 22). De fleste undersøkelsesgruppene, inkludert Iversens (21) og vår egen (23), har anvendt væskestrømscytometri for å analysere DNA-ploiditet i ovarialsvulster. Kvaliteten på væskestrømscytometriske DNA-histogrammer fra ferskt vev er bedre enn histogrammer fra parafininnstøpt materiale. Man trenger standardreferanse for å kunne definere og beregne DNA-innholdet i svulsters stammelinje. En intern standard kan brukes når man måler på ferskt vev, men på arkivmateriale kan man bare anvende den eksterne standarden. Variasjonskoeffisienten til den DNA-diploide stammelinjen er høyere når man bruker parafininnstøpt vev ($8 - 10\%$) enn når man bruker ferskt vev ($3 - 5\%$), og sensitiviteten for å oppdage aneuploiditet er derfor redusert. DNA-histogrammer med høyere variasjonskoeffisientverdier burde ikke bli akseptert. Omkring 10 % av væskestrømscytometriske DNA-histogrammer fra parafininnstøpt vev kan ikke evalueres, og vi stoler ikke på en S-fasefraksjon estimert på et slikt materiale. Så å si alle DNA-histogrammer fra ferskt vev kan vurderes. Cellesuspensjoner fra ferskt vev må bli undersøkt cytologisk for å få bekreftet at det finnes tumorceller i prøven (23). Væskestrømscytometrianalysen har fordelen av å være rask å utføre, ulempen er at både tumor og stromaceller ikke visualiseres under analysen. Med bildecytometri utfører patologen en screening av cellene og kan velge ut celler for analysen. Stromaceller, n

ekrotiske celler, dubletter eller skadede celler kan velges bort. Bildecytometri tillater også bedre identifisering av tetraploide tumorer, ettersom tilstedeværelse av dubletter og små celleaggregater kan gi falske resultater med væskestrømscytometri.

S-fasefraksjon

Cellekinetiske data kan også være viktige markører for tumorens aggressivitet og respons på behandling. En tumors vekst vil være avhengig av balansen mellom celleproliferasjon og tap av celler, og proliferasjonen bestemmes av fraksjonen med prolifererende celler og av cellesyklusvarighet. Proliferasjonsaktiviteten kan være av prognostisk betydning for ovarialtumorer, og Ki-67-ekspresjonen og væskestrøms-S-fasefraksjonen bør undersøkes (25).

I en studie (26) ble epiteliale ovarialcancere undersøkt på Ki-67-ekspresjon, DNA-ploiditet og S-fasefraksjon. I tillegg ble normalt ovarialvev og benigne og borderline ovarialtumorer undersøkt med henblikk på Ki-67-ekspresjon, for å se på en mulig rolle i karsinogenesen. Både Ki-67-ekspresjon og S-fasefraksjon var signifikant korrelert med overlevelsen hos pasienter med maligne svulster. I tillegg var en S-fasefraksjon på over 10 % prognostisk for redusert overlevelse i stadium 1 og 2. Væskestrømscytometrisk undersøkelse gir også informasjon om cellesyklusfordelingen, og selv om noen data viser at S-fasefraksjon har prognostisk betydning i ovarialcancer, så finnes det også en rekke studier som viser at dette ikke er tilfellet (23). Tumorheterogenitet er sannsynligvis en av de viktigste forklaringer på disse kontroversielle resultatene. Andre usikkerhetsmomenter er biopsienes representativitet for hele svulsten, og om man bør teste både primærtumor og metastasene.

Ved Det Norske Radiumhospital har vi undersøkt heterogenitetsproblematikken i avansert ovarialcancer (24). 42 tumorer og 119 prøver ble undersøkt (mediant antall prøver per tumor = 2,8). I primærtumorer ble det funnet heterogenitet med hensyn til DNA-indeks i åtte (19 %) av tilfellene, mens metastasene viste et stabilt DNA-innhold. I 21 % av de aneuploide prøvene kunne man ikke estimere S-fasefraksjon, og i 38 % av prøvene utgjorde den aneuploide stamlinjen <math>< 15\%</math> av de målte cellekjernene. Samtidig ble en negativ korrelasjon oppdaget mellom S-fasefraksjon og prosent aneuploide celler, slik at S-fasefraksjonestimering ble upålitelig eller umulig i hele 59 % av de aneuploide prøvene.

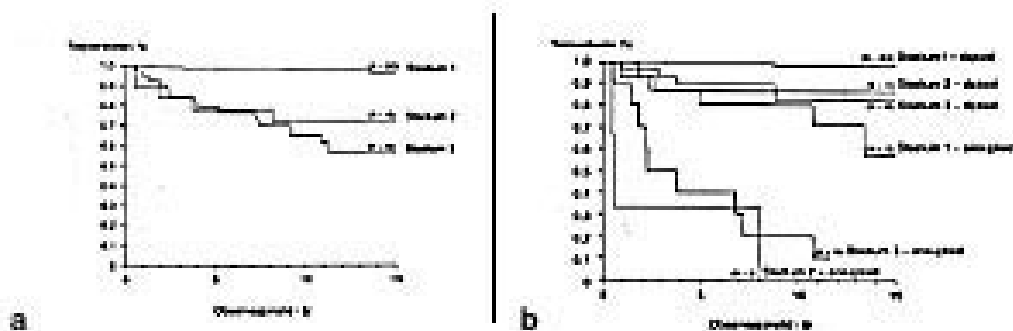
I tillegg til de ovennevnte momenter finnes det fremdeles en rekke tekniske problemer omkring måling av S-fraksjonen, spesielt i parafininnstøpt materiale. Det er nødvendig med internasjonale regler og standarder for måling og anvendelse av S-fasefraksjon, samt konsensus om definisjoner på diploiditet, nestendiploiditet og aneuploiditet i tumormateriale. En supplerings av væskestrømscytometriske målinger med bildeanalyse samt en cytologisk og/eller histologisk kontroll av preparatene ville allerede økt både sensitivitet og spesifisitet i deteksjon av aneuploide celler betraktelig.

Radiumhospitalets kliniske erfaring med DNA-ploiditet som prognostisk faktor

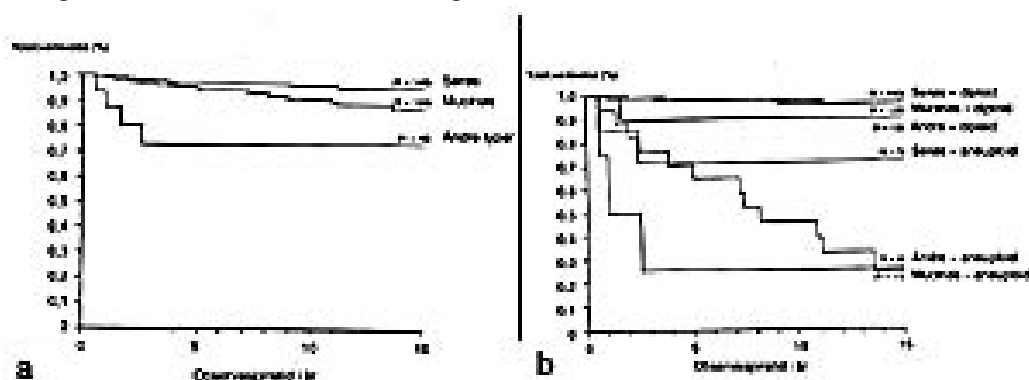
Tumormateriale fra 370 pasienter med borderline tumorer og 290 pasienter med infiltrerende epitelial ovarialcancer i FIGO-stadium 1, alle behandlet ved Det Norske Radiumhospital, ble retrospektivt analysert med henblikk på DNA-ploiditet (27, 28). Undersøkelsene ble utført på parafininnstøpt materiale. To andre studier som tok for seg 162 pasienter med FIGO-stadium 1, respektive 170 pasienter med FIGO-stadium 3 og stadium 4 var prospektive (29, 30).

Retrospektive studier

Alle pasienter med borderline tumorer ble fulgt opp over lang tid, med en median oppfølgingstid på 149 måneder (15 – 183 måneder) (28). Aneuploiditetsfrekvensen økte med høyere alder, mer avansert stadium, ikke-serøs eller ikke-mucinøs histologi, høyere grad av atypi og diagnosen pseudomyxoma peritonei. De forskjellige kirurgiske teknikkene og de ulike postoperative behandlingsmodaliteter som ble brukt, var homogent fordelt over de diploide og aneuploide gruppene. I en multivariat Cox-analyse av 315 radikalopererte pasienter med borderlinesvulster viste DNA-ploiditet seg å være den sterkeste prognostiske faktor for langtidsoverlevelse, etterfulgt av stadium, histologi og alder (fig 1a, fig 1b, fig 2a, fig 2b). Den relative risikoen for de ulike faktorene er gitt i tabell 1. Pasienter med aneuploid tumor hadde 19 ganger høyere risiko for å dø av sin sykdom enn pasienter med diploid tumor. Dette førte til at man kunne dele pasientene inn i risikogrupper (tab 2), en inndeling som også har terapeutiske konsekvenser. Man så ingen forskjell i overlevelse i grupper med diploid stadium 1-borderline tumorer mellom pasienter som hadde fått adjuvant behandling (98,8 %) og pasienter som ikke hadde fått slik behandling (99 %).



Figur 1 Borderline ovarialtumorer 1970 – 82. 1a) 15 års korrigert overlevelse relatert til stadium. 1b) Korrigert overlevelse relatert til stadium og ploiditet



Figur 2 Borderline ovarialtumorer 1970 – 82. 2a) 15 års korrigert overlevelse relatert til histologisk type. 2b) 15 års korrigert overlevelse relatert til ploiditet og histologisk type

Tabell 1

Uavhengige prognostiske variabler identifisert ved hjelp av Cox" multivariat analyse. Endepunktet er 15 års cancerrelatert overlevelse for 315 radikalopererte borderline ovarialcancer (28)

• Variabler	Koeffisient	SD	P-verdi	Relativ risiko
• Alle (n = 315)				
Ploiditet (aneuploid)	2,98	0,47	< 0,001	19,59
Stadium 1	2,14	0,63	< 0,001	8,46
Stadium 3	2,30	0,50	< 0,001	9,93
Histologi (annet)	2,15	0,62	< 0,001	8,54
Alder (år)				
(49 – 70)	1,26	0,67	0,06	3,54
(> 70)	1,68	0,75	0,03	5,37

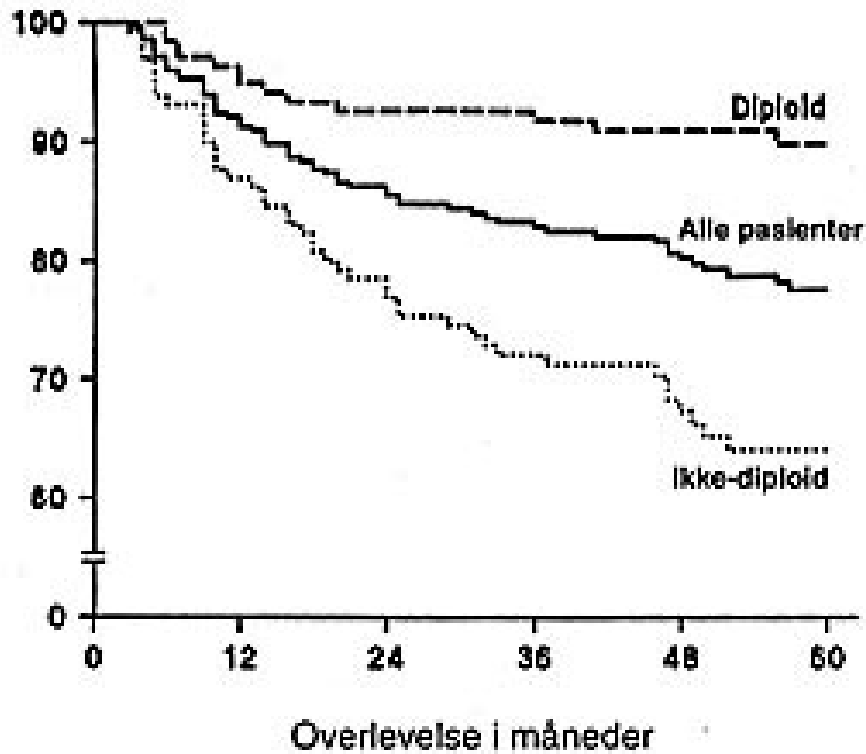
Tabell 2

Stratifisering i risikogrupper for 315 radikalopererte borderline ovarialcancere ut fra ploiditet, FIGO-stadium, histologisk type og aldersgruppe (28)

	Lavrisiko(RR 1 – 10)		Mellomrisiko(RR 11 – 100)		Høyrisiko(RR > 100)	
	Stadium 1	Stadium 2 – 3	Stadium 1	Stadium 2 – 3	Stadium 1	Stadium 2 – 3
Diploid						
Serøs eller mucinøs	Alle aldre	< 40 år		> 40 år		
Andre	≤ 40 år		> 40 år	≤ 40 år		> 40 år
Aneuploid						
Serøs eller mucinøs			≤ 70 år		> 70 år	Alle aldre
Andre					Alle aldre	Alle aldre

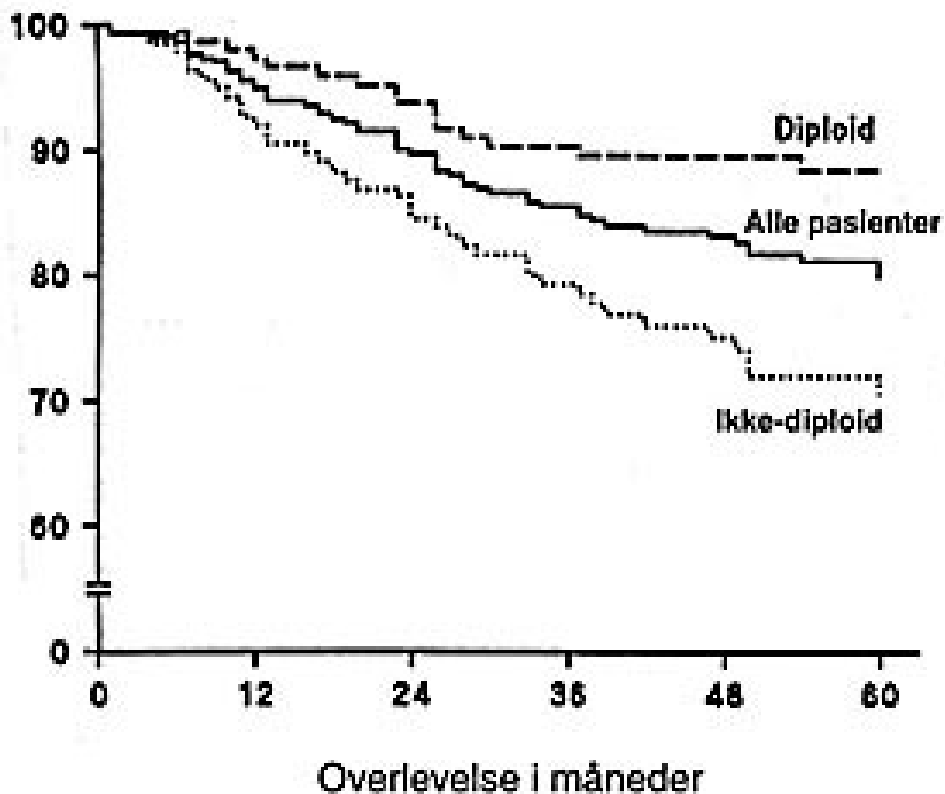
Den mediane oppfølgingstiden i vår analyse av prognostiske faktorer hos 290 pasienter med infiltrerende ovarialcancer i stadium 1 var 60 måneder (36 – 112 måneder) (27). Den totale og progredieringsfrie femårsoverlevelsen var 80 % og 78 % respektivt, og 21 % av pasientene hadde fått tilbakefall. 51 % av svulstene var diploide, 49 % var ikke-diploide. Diploide tumorer viste seg hyppigere å være i stadium 1a, høyt differensierte, av mucinøs- eller endometroid histologi, og oppstått i pasienter yngre enn 50 år. Ikke-diploide svulster var oftere i stadium 1c, lite differensierte, serøse eller klarcellede, og pasienten var ofte eldre. Det ble ikke observert forskjell i symptomfri overlevelse blant de ulike undergrupper med ikke-diploide svulster, men den femårs sykdomsfrie overlevelsen for pasienter med diploide tumorer var 90 %, sammenliknet med 64 % for dem med ikke-diploide svulster ($p < 0,0001$) (fig 3a, fig 3b).

Sykdomsfri overlevelse (%)



Figur 3a Sykdomsfri overlevelse hos pasienter med DNA-diploide tumorer (n = 136) versus ikke-diploide tumorer (n = 130) (logrank test, diploid versus ikke-diploid, $p < 0,0001$). Pasienter som døde av interkurrente sykdommer er ekskludert her. I gruppen alle pasienter (n = 277) ble også pasienter der DNA-ploiditeten ikke kunne bestemmes inkludert

Totaloverlevelse (%)



Figur 3b Korrigert overlevelse for pasienter med DNA-diploide tumorer (n = 143) versus ikke-diploide tumorer (n = 136) (logrank test, diploid versus ikke-diploid, p = 0,0004). I gruppen alle pasienter (n = 290) ble også pasienter hvor DNA-ploiditet ikke kunne bestemmes inkludert. En multivariat analyse utført på alle svulster som ble gradert histologisk (klarcellede svulster graderes ikke), viste at differensieringsgrad er den sterkeste prognostiske faktoren, etterfulgt av DNA-ploiditet og FIGO-stadieinndeling. Ingen av de 77 pasientene med høyt differensierte DNA-diploide tumorer fikk residiv. I den klarcellede gruppen var FIGO-stadium den viktigste prognostiske faktoren (27).

Ut fra disse resultatene begynte vi å dele pasientene inn i to risikogrupper. Blant de ikke-klarcellede ble gruppen med lav risiko definert som høyt differensiert og DNA-diploiditet, mens høyrisikogruppen bestod av pasienter med middels eller lite differensierte tumorer samt alle med høyt differensierte og ikke-diploide tumorer. Residivfrekvensen i høyrisikogruppen ligger på 25 %. Også alle pasienter med klarcellede tumorer i stadium 1b og stadium 1c hører til i høyrisikogruppen, siden 56 % av dem får residiv (tab 3).

Tabell 3

Residiver i stadium 1 epitelial ovarialcancer relatert til de viktigste prognostiske faktorene (27)

	Differensieringsgrad			Klarcellede ¹ Antall (%)
	Høyt Antall (%)	Middels Antall (%)	Lav Antall (%)	
Diploid	0/77 (0)	2/23 (9)	7/23 (30)	
Ikke-diploid	5/36 (14)	6/23 (26)	15/37 (41)	
Stadium 1a				1/15 (7)
Stadium 1b,1c				25/46 (56)
¹ Inkluderer blandede epiteliale tumorer med klarcellede elementer				

Prospektive analyser

På et konsensumøte om ovarialcancer i 1993 i Helsingør (31), ble følgende anbefalinger gitt: «Histopatologisk analyse med DNA-ploiditetsbestemmelse ved væskestrømscytometri, bildecytometri og morfometrisk analyse burde bli applisert og studert i prospektive kliniske studier. Især burde man undersøke om det kan finnes undergrupper av pasienter som ikke bør behandles med kjemoterapi, eller der behandlingen bør modifiseres. Målet burde være å finne en indeks som kan predikere dårlig prognose, og som kan brukes i den kliniske rutinen.»

Iversen (32) undersøkte allerede i perioden 1981 – 85 51 konsekutive eggstokkrefttumorer med væskestrømscytometri i en prospektiv studie og kunne vise at pasienter med aneuploide tumorer hadde et mer aggressivt forløp av sykdommen enn pasienter med diploide tumorer.

Mellom 1992 og 1997 ble pasienter med stadium 1-ovarialcancer, i regi av Nordisk gynecologisk selskap, randomisert prospektivt til adjuvant karboplatinkjemoterapi eller ingen adjuvant terapi (29) for å finne ut om kjemoterapi gav signifikant bedre residivfri overlevelse. Vi undersøkte også om DNA-ploiditet gav tilleggsinformasjon som prognostisk faktor.

Ingen studier, bortsett fra den aktuelle, har undersøkt den prognostiske betydningen av DNA-ploiditet i stadium 1- svulster prospektivt. Studien viste at både når det gjelder sykdomsfri overlevelse og korrigert overlevelse, var de eneste uavhengige prognostiske faktorer:

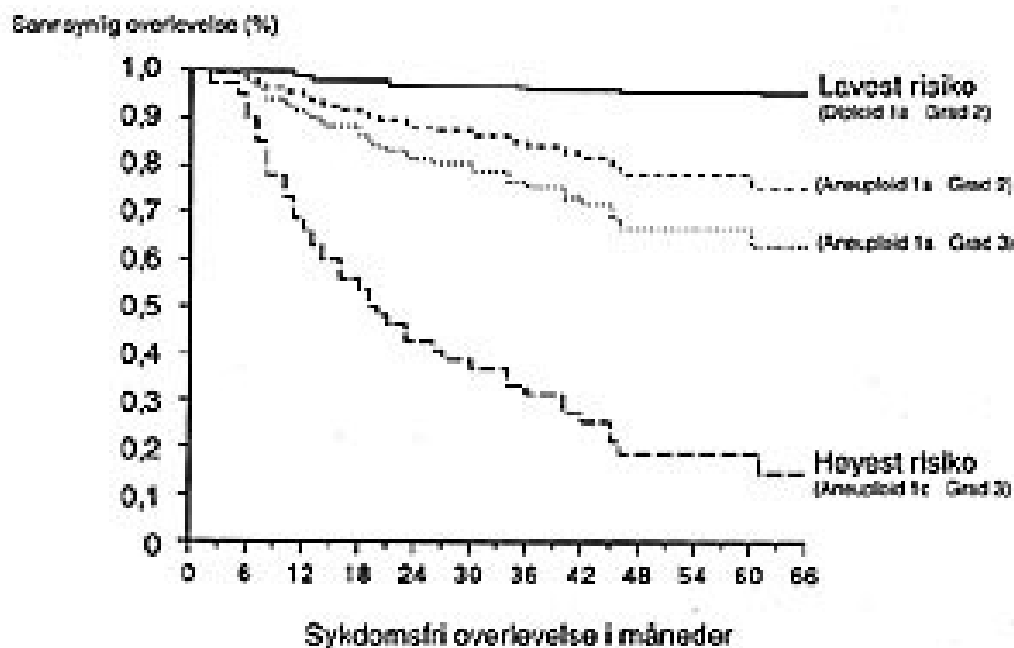
- – FIGO-substadium
- – DNA-ploiditet
- – Histologisk differensieringsgrad (tab 4)

Tabell 4

Multivariat analyse for residivfri og korrigert overlevelse (29)

Variabel	Residivfri			Korrigert		
	P-verdi	Relativ risiko	95 % konfidensintervall	P-verdi	Relativ risiko	95 % konfidensintervall
<i>FIGO-substadium</i>	0,004			0,0002		
Ia		Referanse			Referanse	
Ib		6,8	(1,8 - 26)		-	
Ic		4,8	(1,8 - 13)		13,5	(1,8 - 101)
<i>DNA-ploiditet</i>	0,005			0,002		
diploid		Referanse			Referanse	
tetraploid		2,8	(0,8 - 10)		8,6	(1,3 - 73)
aneuploid		5,3	(1,8 - 15)		7,7	(1,0 - 59)
<i>Differensieringsgrad</i>	0,05			0,008		
1 = alle aneuploide		Referanse			Referanse	
2		3,6	(1,2 - 11)		-	-
3		3,3	(1,2 - 9)		6,9	(1 - 56)

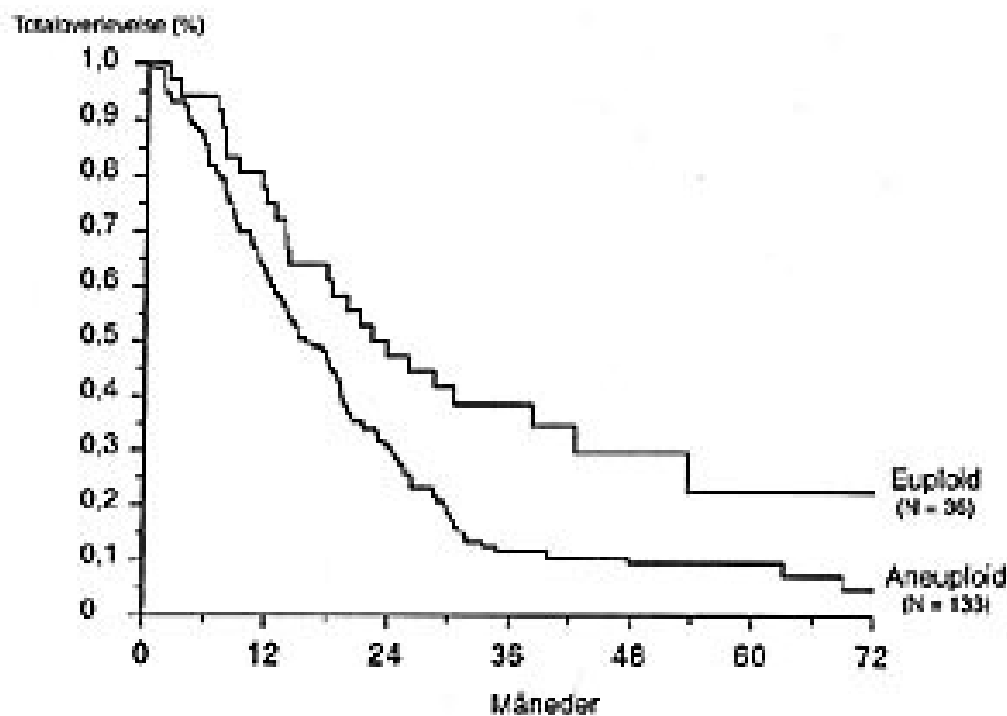
Den relative risikoen for residiv var 5,3 ganger høyere i aneuploide sammenliknet med diploide svulster, 4,8 ganger høyere i FIGO-stadium 1c-svulster sammenliknet med stadium 1a, og 3,3 ganger høyere for grad 3-tumorer sammenliknet med aneuploide grad 1-svulster.



Figur 4 Estimert korrigert overlevelse for pasientgrupper med lav risiko (relativ risiko = 1) og høy risiko (relativ risiko = 84). Analysen er basert på en prognostisk indeks sammensatt av faktorer med uavhengig prognostisk betydning i tidlig ovarialcancer. Pasienter med lavest risiko var karakterisert av følgende: diploid = DI, stadium Ia = Ia og grad 2 = Gr 2. Pasienter med høyest

risiko hadde følgende karakteristikker: aneuploide tumorer = AN, stadium Ic = Ic, og grad 3 = Gr 3 (29)

Mellom 1985 og 1990 ble verdien av DNA-ploiditet og S-fasefraksjonen undersøkt prospektivt på 169 pasienter med stadium 3 og stadium 4 epitelial ovarialcancer (30). Flertallet av pasientene hadde betydelige mengder resttumor, og ble behandlet postoperativt med cisplatin alene eller i kombinasjon med cyklofosamid og doksorubicin eller karboplatin. 79 % av svulstene var aneuploide. Svulstenes differensieringsgrad viste seg å være ujevnt fordelt mellom gruppene, aneuploide tumorer var overrepresentert blant de lavt differensierte. Det ble ikke funnet noen forskjell i korrigert eller progredieringsfri overlevelse mellom pasienter med diploide og pasienter med tetraploide tumorer, men pasienter med aneuploide svulster hadde signifikant dårligere to- og femårsoverlevelse (fig 5).



Figur 5 Korrigert overlevelse hos 169 pasienter med epitelial ovarialcancer stadium 3 – 4 relatert til DNA-ploiditet

Ved hjelp av Cox" multivariate analyse ble følgende variabler med uavhengig prognostisk betydning for korrigert overlevelse identifisert: FIGO-stadium, ploiditet, histologisk type, differensieringsgrad, størrelse på resttumor og alder (tab 5). Som konklusjon kan man fastslå at DNA-ploiditet er en viktig uavhengig prognostisk faktor ved avansert ovarialcancer, og denne faktoren bør legges til de kjente klassiske prognostiske variablene. DNA-ploiditet kan gi supplerende informasjon om hvilke pasienter som kan overleve i lengre tid, og kan brukes for å dele pasientene inn i risikogrupper. Som ved avansert ovarialcancer kan man tilby en mer individualisert behandling ved å kombinere de forskjellige uavhengige prognostiske variabler. Pasienter med gunstig prognose karakteriseres av: euploiditet, alder < 40 år, stadium 3, serøs eller endometroid histologi, grad 1 og uten resttumor. Derimot karakteriseres pasienter med høyest risiko for å dø av ovarialcancer av følgende: aneuploiditet, alder > 70 år, stadium 4, klarcellet eller udifferensiert type, grad 3 og med større resttumorer (fig 6).

Tabell

Tabell 5 Uavhengige prognostiske faktorer for korrigert overlevelse, resultat av en multivariat analyse på 169 pasienter med stadium 3 og stadium 4 epitelial ovarialcancer (30)

Variabler		Koeffisient	P-verdi	Relativ risiko	95% konfidensintervall
Ploiditet	Aneuploid	0,54	0,02	1,72	1,09 – 2,73
Alder (år)	40 – 70	0,29	0,51	1,34	0,57 – 3,16

Variabler		Koeffisient	P-verdi	Relativ risiko	95% konfidensintervall
	> 70	1,04	0,03	2,83	1,10 – 7,28
Stadium	IV	0,43	0,03	1,55	1,05 – 2,27
Histologisk type	Høyrisiko	0,89	< 0,001	2,43	1,55 – 3,83
Differensieringsgrad	2	0,72	0,10	2,06	0,88 – 4,85
	3	0,99	0,03	2,69	1,13 – 6,39
Resttumor	< 2 cm	0,88	0,04	2,41	1,04 – 5,60
	> 2 cm	1,00	0,09	2,71	1,30 – 5,65

Resultatene fra denne studien viser at DNA-ploiditet gir viktig tilleggsmasjasje når det gjelder prognosen for pasienter med FIGO-stadium 1 ovarialcancer. Ved å kombinere de forskjellige uavhengige prognostiske variabler, som identifiseres ved hjelp av multivariat analyse, kan man beregne en individuell pasients risiko for residiv. På den måten kan man komme frem til en individualisert behandling basert på inndelingen av pasientene i forskjellige risikogrupper. Basert på Cox" multivariate analyse kan man estimere den relative risikoen for sykdomsfri og korrigert overlevelse for en individuell pasient, basert på betakoeffisientene som er funnet i analysen. Referansegruppen med relativ risiko = 1,0 med henblikk på sykdomsfri overlevelse var karakterisert som følger: diploiditet, grad 2 og FIGO-substadium 1a. Med dette som referanse kunne man estimere den relative risikoen for andre pasientgrupper. Pasientgruppen med den høyeste risikoen for residiv (relativ risiko = 8,4) var kjennetegnet av aneuploiditet, differensieringsgrad 3 og FIGO-substadium 1c. Den estimerte sykdomsfrie overlevelsen for pasienter som ligger i hver ende av den prognostiske skalaen og for «mellomrisikopasienter» som har svulster som er aneuploide, grad 2-differensiering og FIGO-substadium 1a, vises i figur 4. Samme prosedyre ble brukt for å estimere korrigert overlevelse. Pasienter med 100 % femårsoverlevelse var karakterisert av diploide svulster, grad 2 eller grad 3 og FIGO-substadium 1a. Pasienter som hadde størst risiko for å dø av ovarialcancer, var karakterisert av aneuploide svulster med grad 3-differensiering og i FIGO-substadium 1c. Disse hadde en estimert ettårs- og femårsoverlevelse på 92 % og 60 % respektivt.

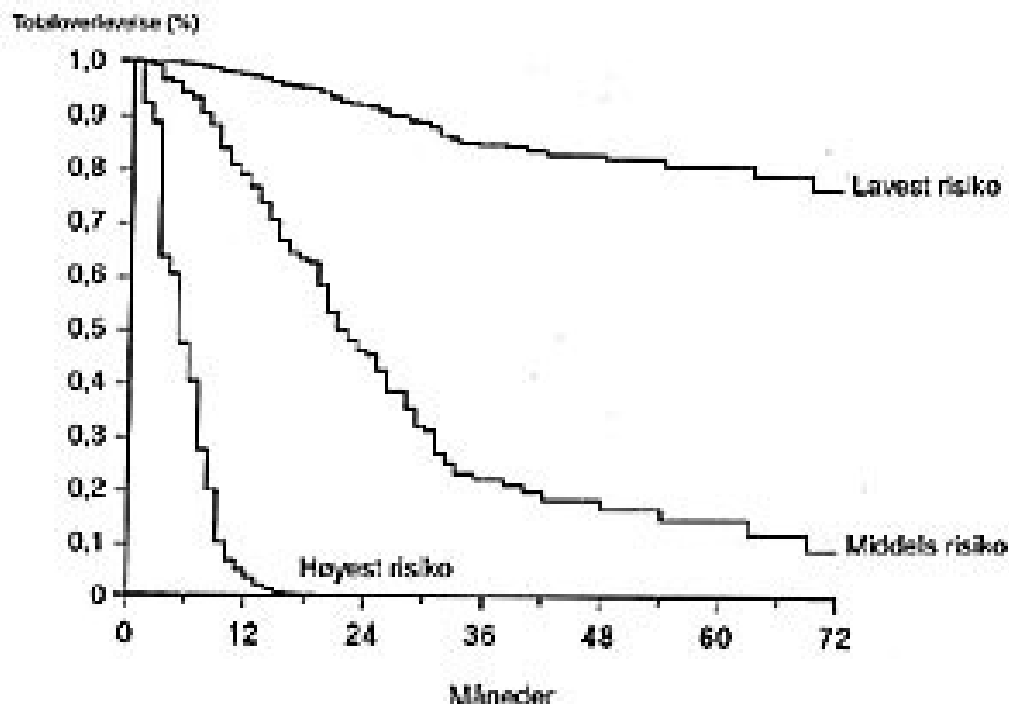
Internasjonal erfaring

Som vist ovenfor har DNA-analyse gjort det mulig å dele pasienter med borderline ovarialtumorer inn i risikogrupper (28). Allikevel er en slik inndeling aldri helt nøyaktig, og man ser også residiv hos pasienter med diploide tumorer. Dette betyr at også andre faktorer er viktige i en tumors evolusjon. Morfometriske studier av cellekjerne kan bidra med tilleggsmasjasje som kan være relevant for pasientprognosen. Baak og medarbeidere (33) studerte 303 pasienter med borderline ovarialtumorer fra Radiumhospitalet som var fulgt over lang tid (median 151 måneder, spredning 7 – 268 måneder). I tillegg til en rekke klassiske prognostiske faktorer ble også proliferasjonsvariabler og diverse aspekter av den cellulære arkitekturen (DNA + morfometri) undersøkt for prognostisk betydning. Multivariat analyse av prognostiske faktorer viste at DNA-ploiditet, FIGO-stadium, den morfometriske variabelen «mediant kjerneareal» og i noe mindre grad histologisk type var de viktigste uavhengige prognostiske variabler.

Undersøkelser av morfometriske variabler støtter betydningen av denne metoden, som, i tillegg til DNA-analyse, burde inngå i rutineanalyse av tilfeller av borderlinesvulster. Ved å kombinere klassiske kliniske og histologiske variabler med DNA-cytometri og morfometri vil man i enda større grad kunne selekere hvilke pasienter som vil ha mest nytte av adjuvant cytostatikabehandling. Differensieringsgrad, histologisk type, faste sammenvoksninger og alder er anerkjent som viktige prognostiske faktorer i stadium 1-infiltrerende ovarialcancer (18, 19).

Det finnes forholdsvis få større studier som har sett på DNA-ploiditetens betydning i denne situasjonen. Kallioniemi og medarbeidere (34) har analysert 77 tumorer, og fant, i overensstemmelse med våre resultater, at 48 % av dem var aneuploide, og at DNA-ploiditet var av prognostisk betydning. I to mindre studier fant man den samme aneuploiditetsfrekvensen, men kunne ikke bekrefte ploiditetens prognostiske betydning (35, 36). Baak og medarbeidere (37) undersøkte 33 svulster morfometrisk og med ploiditetsanalyse, og bekreftet ploiditetens prognostiske betydning, selv om frekvensen av aneuploidi på 24 % lå lavere i dette materialet. Til sammenlikning kan det nevnes at 65 – 90 % av avanserte ovarialtumorer er aneuploide (38, 39). Selv om det finnes en assosiasjon mellom DNA-ploiditet og FIGO-stadium (23, 38, 39), er denne sammenhengen ikke bekreftet i andre studier (40, 41), og det virker sannsynlig at DNA-ploiditet og differensieringsgrad er uttrykk for ulike biologiske egenskaper ved en tumor.

Den prognostiske betydningen av DNA-ploiditet i avansert ovarialcancer har vært studert i flere retrospektive undersøkelser, men bare i enkelte er det anvendt multivariat analyse. Ettersom mange ulike former for postoperativ behandling har vært brukt, er det vanskelig å sammenlikne studiene, selv om man som regel finner at FIGO-stadium, mengde resttumor etter primæroperasjon, histologisk type og differensieringsgrad er viktige prognostiske faktorer. Fire studier kunne ikke påvise noen prognostisk betydning for DNA-ploiditet (35, 36, 42, 43), mens DNA-ploiditet, S-fasefraksjon og morfometriske variabler var av uavhengig prognostisk signifikans i fire andre (34, 35, 40, 41). Disse studiene viser at den biologiske informasjonen i disse variablene bidrar til en bedre estimering av prognosen. Ved å kombinere de ulike uavhengige prognostiske faktorer er det mulig å dele pasientene inn i tre ulike grupper med svært forskjellig prognose (fig 4, fig 6). Slike studier burde bidra til en bedre planlegging av kliniske studier og individualisert pasientbehandling.



Figur 6 Estimert korrigert overlevelse for pasientgrupper med lav risiko (relativ risiko = 1), middels risiko (relativ risiko = 13) og høy risiko (relativ risiko = 134). Analysen er basert på en prognostisk indeks sammensatt av faktorer med uavhengig prognostisk betydning i avansert ovarialcancer. Pasienter med lavest risiko var karakterisert av følgende: euploidi, < 40 år gammel, stadium 3, serøs type, grad 1, ingen resttumor. Pasienter med høyest risiko hadde følgende karakteristikk: aneuploid tumor, > 70 år gammel, stadium 4, udifferensiert type og grad, og store resttumorer etter operasjon. Pasienter med mellomrisiko og var mellom 40 og 70 år gamle, hadde aneuploid tumor stadium 3, serøs type, grad 2 og stor resttumor (30)

Konklusjoner

- – DNA-ploiditet representerer en uavhengig prognostisk faktor ved epitelial ovarialcancer.

- – DNA-ploiditet er den nest sterkeste prediktor for sykdomsfri overlevelse i ikke-klarcellede stadium 1-ovarialcancer. Klarcellede tumorer har uansett en dårligere prognose.
- – DNA-ploiditet har en uavhengig prognostisk betydning i avansert ovarialcancer, der omkring 80 % av tumorene er aneuploide.
- – DNA-ploiditet kan bidra til en inndeling av pasienter i prognostiske grupper, noe som kan være relevant for valg av terapi.
- – En betydelig fraksjon av unge pasienter med stadium 1 epitelial ovarialcancer, i den lave risikogruppen, kan tilbys konservativ fertilitetsbesparende kirurgi.
- – De fleste pasienter med avansert ovarialcancer har en dårlig prognose, men ved hjelp av multivariat analyse kan man identifisere prognostiske faktorer som også i denne situasjonen tillater å dele pasientene inn i ulike risikogrupper.
- – S-fasefraksjonsbestemmelse er en lite brukbar variabel, spesielt ved bruk av parafininnstøpt vev.
- – Alle væskestrømscytometriske DNA-diploide tumorer bør i tillegg undersøkes med bildecytometri.
- – Heterogenitet med hensyn til DNA-ploiditet er et problem i omkring 15 – 20 % av tumorene. For å kunne bestemme den enkelte tumorens DNA-ploiditet bør det undersøkes minst to biopsier. Heterogeniteten er enda mer uttalt når det gjelder S-fasefraksjonsbestemmelse.

Kliniske anbefalinger

- – DNA-ploiditetsanalyse med væskestrømscytometri og bildeanalyse samt morfometrisk analyse burde utføres i tillegg til den rutinemessige histopatologiske undersøkelsen av spesielt borderline og tidlig stadium ovarialcancer.
- – Tilgjengeligheten til disse analysemetoder burde bli økt.
- – I tilfelle disse undersøkelsene tyder på en gunstig prognose i middels høyt og lavt differensierte tumorer som har undergått en fullstendig kirurgisk stadiuminndeling, behøver ikke pasienten å få adjuvant kjemoterapi (29).

Anbefalinger for vitenskapelige undersøkelser

- – De ovennevnte teknikkene og den prognostiske betydningen av informasjonen de fremskaffer bør bli gjenstand for prospektive studier.
- – Resultatene publisert av Gajewski og medarbeidere (44) tilsier at DNA-innholdet i tumor burde være et randomiseringskriterium i prospektive kliniske undersøkelser. Den eneste studien så langt er gjort ved Det Norske Radiumhospitalet (29). Man burde især forsøke å analysere hvorvidt denne biologiske informasjonen kan bidra til at pasientbehandlingen kan tilpasses individuelt.
- – En målsetting burde være å konstruere en indeks som kan identifisere pasienter med dårlig prognose, samtidig som den kan anvendes når terapeutiske avgjørelser skal tas. En slik indeks bør ha en positiv prediktiv verdi på minst 90 % (31).

LITTERATUR

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of eighteen major cancers in 1985. *Int J Cancer* 1993; 54: 594 – 606.
2. Tomatis L, Aito A, Day N, Heseltine E, Kaldor J, Møller AB et al. *Cancer: causes, occurrence and control*. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1990.
3. Pisani P, Parkin DM, Ferlay J. Estimates of the worldwide mortality from eighteen major cancers in 1985. Implications for prevention and projections of future burden. *Int J Cancer* 1993; 55: 891 – 903.

4. Petterson F. Annual report on the results of treatment in gynecologic cancer. Stockholm: Radiumhemmet, 1995.
5. Balvert LH, Coebergh JW, Hop WC, Brolmann HA, Crommelin M, van-Wijck DJ et al. Improved prognosis of ovarian cancer in The Netherlands during the period 1975 – 1985: a registry-based study. *Gynecol Oncol* 1991; 42: 3 – 8.
6. Haybittle JL, Kingsley PE. Long-term survival experience of female patients with genital cancer. *Br J Cancer* 1988; 57: 322 – 5.
7. Piver M. Ovarian karsinoma: a decade of progress. *Cancer* 1994; 54: 2706 – 15.
8. Neijt JP, ten-Bokkel-Huinink WW, van-der-Burg ME, van-Oosterom AT, Willemse PH, Vermorken JB et al. Long-term survival in ovarian cancer. Mature data from The Netherlands Joint Study Group for Ovarian Cancer. *Eur J Cancer* 1991; 27: 1367 – 72.
9. Brinkhuis M. Advanced ovarian cancer quantitative pathologic features grading and prognosis. Amsterdam: Free University, 1995.
10. Hakes T. Prognostic factors in ovarian cancer. I: Markman M, Hoskins W, red. *Cancer of the ovary*. New York: Raven Press, 1993: 115 – 25.
11. Kaern J, Trope CG, Abeler VM. A retrospective study of 370 borderline tumors of the ovary treated at the Norwegian Radium Hospital from 1970 to 1982. A review of clinicopathologic features and treatment modalities. *Cancer* 1993; 71: 1810 – 20.
12. Einhorn N, Nilsson B, Sjøvall K. Factors influencing survival in carcinoma of the ovary. Study from a welldefined Swedish population. *Cancer* 1985; 55: 2019 – 25.
13. Aure JC, Hoeg K, Kolstad P. Clinical and histologic studies of ovarian carcinoma. Long-term follow-up of 990 cases. *Obstet Gynecol* 1971; 37: 1 – 9.
14. Dembo AJ, Davy M, Stenwig AE, Berle EJ, Bush RS, Kjørstad K. Prognostic factors in patients with stage I epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1990; 75: 263 – 73.
15. Klaassen D, Shelley W, Starreveld A, Kirk M, Boyes D, Gerulath A et al. Early stage ovarian cancer: a randomized clinical trial comparing whole abdominal radiotherapy, melphalan, and intraperitoneal chromic phosphate: a National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group report. *J Clin Oncol* 1988; 6: 1254 – 63.
16. Young RC, Walton LA, Ellenberg SS, Homesley HD, Wilbanks GD, Decker DG et al. Adjuvant therapy in stage I and stage II epithelial ovarian cancer. Results of two prospective randomized trials. *N Engl J Med* 1990; 322: 1021 – 7.
17. Krag KJ, Canellos GP, Griffiths CT, Knapp RC, Parker LM, Welch WR et al. Predictive factors for long-term survival in patients with advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1989; 34: 88 – 93.
18. Friedlander ML, Dembo AJ. Prognostic factors in ovarian cancer. *Semin Oncol* 1991; 18: 205 – 12.
19. Marsoni S, Torri V, Valsecchi MG, Belloni C, Bianchi U, Bolis G et al. Prognostic factors in advanced epithelial ovarian cancer (Gruppo Interregionale Cooperativo di Oncologia Ginecologica (GICO)). *Br J Cancer* 1990; 62: 444 – 50.
20. Advanced ovarian cancer trialists group. Chemotherapy in advanced ovarian cancer: an overview of randomized clinical trials. *BMJ* 1991; 303: 884 – 92.
21. Iversen OE, Laerum OD. Ploidy disturbances in endometrial and ovarian carcinomas. A review. *Anal Quant Cytol Histol* 1985; 7: 327 – 36.
22. Iversen OE. Cellular DNA and steroid receptors in endometrial and ovarian carcinomas: clinical and prognostic importance. Doktoravhandling. Bergen: Gades Institutt og Haukeland Sykehus, 1986.
23. Kaern J. DNA ploidy in epithelial ovarian malignancies. Prognostic value and therapeutic implications. Doktoravhandling. Oslo: Det Norske Radiumhospital, 1993.
24. Kaern J, Wetteland J, Trope CG, Farrants GW, Juhng SW, Pettersen EO et al. Comparison between flow cytometry and image cytometry in ploidy distribution assessments in gynecologic cancer. *Cytometry* 1992; 13: 314 – 21.
25. Henriksen R. Ovarian carcinogenesis. A study of markers for growth mechanisms in epithelial ovarian tumors. Doktoravhandling. Uppsala: Uppsala universitet, 1994.
26. Henriksen R, Strang P, Backstrom T, Wilander E, Tribukait B, Oberg K. Ki-67 immunostaining and DNA flow cytometry as prognostic factors in epithelial ovarian cancers. *Anticancer Res* 1993; 14: 603 – 8.
27. Vergote IB, Kaern J, Abeler VM, Pettersen EO, De-Vos LN, Trope CG. Analysis of prognostic factors in stage I epithelial ovarian carcinoma: importance of degree of differentiation and deoxyribonucleic acid ploidy in predicting relapse. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 40 – 52.
28. Kaern J, Trope C, Kristensen G, Abeler VM, Pettersen EO. DNA ploidy, the most important prognostic factor in patients with borderline tumors of the ovary. *Int J Gynecol Cancer* 1993; 3: 349.
29. Tropé C, Kaern J, Vergote I, Hagen B, Rosenberg P, Bertelsen K et al. Randomized trial on adjuvant carboplatin versus no treatment in stage I high risk ovarian cancer by the Nordic Ovarian Cancer Study Group (NOCOVA). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1997; 16: 352.

30. Kaern J, Trope C, Kristensen G, Tveit KM, Pettersen EO. Evaluation of DNA ploidy and S-phase fraction as prognostic parameter in advanced epithelial ovarian carcinoma – a prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 479 – 87.
 31. Neijt J, Wiltshaw E, Lund B. Consensus. Advanced ovarian cancer: where do we stand and where do we go. *Elsinore* 1993. *Ann Oncol* 1993; 4: 583 – 8.
 32. Iversen OE. Prognostic value of the flow cytometric DNA index in human ovarian carcinoma. *Cancer* 1988; 61: 971 – 5.
 33. Baak JP, Abeler V, Broeckaert MA. Morphometry and DNA cytometry have strong and additional prognostic value in borderline ovarian tumors with long-term follow-up. *J Pathol* 1995; 42: 49.
 34. Kallioniemi OP, Punnonen R, Mattila J, Lehtinen M, Koivula T. Prognostic significance of DNA index, multiploidy, and S-phase fraction in ovarian cancer. *Cancer* 1988; 61: 334 – 9.
 35. Klemi PJ, Joensuu H, Maenpaa J, Kiilholma P. Influence of cellular DNA content on survival in ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol* 1989; 74: 200 – 4.
 36. Haapasalo H, Atkin NB, Collan Y, Pesonen E, Paljarvi L. Tumour ploidy, morphometry, histological grading and clinical features in ovarian carcinoma: mutual relations. *Anal Cell Pathol* 1991; 3: 261 – 71.
 37. Baak JP, Schipper NW, Wisse BE, Ceelen T, Bosman FT, van-Geuns H et al. The prognostic value of morphometrical features and cellular DNA content in cis-platin treated late ovarian cancer patients. *Br J Cancer* 1988; 57: 503 – 8.
 38. Klemi PJ, Joensuu H, Kiilholma P, Maenpaa J. Clinical significance of abnormal nuclear DNA content in serous ovarian tumors. *Cancer* 1988; 62: 2005 – 10.
 39. Lage JM, Weinberg DS, Huettner PC, Mark SD. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in ovarian tumors. Association of ploidy with tumor type, histologic grade, and clinical stage. *Cancer* 1992; 69: 2668 – 75.
 40. Friedlander ML, Hedley DW, Swanson C, Russell P. Prediction of long-term survival by flow cytometric analysis of cellular DNA content in patients with advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1988; 6: 282 – 90.
 41. Brescia RJ, Barakat RA, Beller U, Frederickson G, Suhrland MJ, Dubin N et al. The prognostic significance of nuclear DNA content in malignant epithelial tumors of the ovary. *Cancer* 1990; 65: 141 – 7.
 42. Erba E, Ubezio P, Pepe S, Vaghi M, Marsoni S, Torri W et al. Flow cytometric analysis of DNA content in human ovarian cancers. *Br J Cancer* 1989; 60: 45 – 50.
 43. Wils J, van-Geuns H, Baak J. Proposal for therapeutic approach based on prognostic factors including morphometric and flow-cytometric features in stage III-IV ovarian cancer. *Cancer* 1988; 61: 1920 – 5.
 44. Gajewski WH, Fuller-AF J, Pastel LC, Flotte TJ, Bell DA. Prognostic significance of DNA content in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1994; 53: 4 – 11.
-

Publisert: 20. januar 2000. Tidsskr Nor Legeforen.

© Tidsskrift for Den norske legeforening 2022. Lastet ned fra tidsskriftet.no 8. desember 2022.