

Ola Niklasson, leg läkare, f d överläkare, kvinnokliniken, Universitetssjukhuset i Lund

Gunnar Skude, docent, f d verksamhetschef, klinisk kemi, Länssjukhuset, Halmstad

Göran Lingman, docent, verksamhetschef

Bertil Casslén, docent, överläkare

Karel Marsál, professor, överläkare; de tre sistnämnda vid kvinnokliniken, Universitetssjukhuset i Lund

LD-isoenzym i uterusaspirat potentiell markör för endometriecancer

Utredning av postmenopausal blödning kan bli enklare och billigare

Blödning efter menopaus är ofta första tecknet på endometriecancer. Emellertid är det endast en mindre del av patienterna med postmenopausal blödning som har endometriecancer [1]. Vid misstänkt endometriecancer är det därför önskvärt med en utredningsgång som kan minska antalet onödiga skrapningar eller hysteroskopier utan att minska sannolikheten för påvisande av cancer. Endometriet är lättillgängligt, och diagnostik av endometriecancer på mottagning borde således vara möjlig.

Screening av endometriecancer, korpuscancer, har lika gamla anor som screening av cervixcancer. För mer än 60 år sedan aspirerade Cary uterussekret via en metallkanyl avsedd för insemination [2]; för den cytologiska undersökningen av dessa prov stod Papanicolaou [3]. Sedan dess har ett antal intrauterina provtagningstekniker för mikroskopisk undersökning föreslagits, t ex olika varianter av borstning av uterus-kaviteten [4, 5], sköljning av uterus-kaviteten [6, 7] och endometrin aspiration [7, 8].

Endometriecytologi är mycket svårbedömd, och det har dessutom varit svårt, för att inte säga omöjligt, att kombinera representativt endometrieutbyte med en smärtfri provtagning hos postmenopausal kvinnor, dvs just den grupp där screening för endometriecancer är som mest önskvärd.

Med flertalet intrauterina tekniker kan en sensitivitet på drygt 90 procent förväntas. Överdiagnostik utgör emellertid ett problem [7].

Diagnostik av endometriecancer inom öppenvården bör begränsas till patienter med symtom (postmenopausal blödning) och baseras på histologi. Enkla aspirationsmetoder har visat sig vara jämförbara med skrapning, åtminstone vid endometrietjocklek <7 mm [9]. Emellertid kvarstår problemet med representativt utbyte och smärtfri undersökning. Således hade i en metaanalys det bästa instrumentet (Pipelle) en sensitivitet på 99,6 procent; antalet otillräckliga utbyten för histologi varierade mellan 0 och 54 procent [10]. Vid ett utbyte som är otillräckligt måste komplettering ske med andra metoder [11].

Vi har därför undersökt om andra malignitetsparametrar än cytologi och histologi kan utnyttjas. En malign transformation medför metabola förändringar som när det gäller endometriecancer rimligen borde avspeglas i uterussekret. Följaktligen kompletterades den cytologiska och histologiska

Sammanfattat



Analys av laktatdehydrogenas(LD)-isoenzymmönstret i aspirat från livmoderhålan hos kvinnor med postmenopausal blödning synes ha 100 procents sensitivitet och 100 procents negativt prediktivt värde förenat med 85 procents specificitet och 38 procents positivt prediktivt värde.

För att minska behovet av andra, mer invasiva diagnostiska metoder kan vaginal ultraljudsundersökning vid oklart eller misstänkt fynd kompletteras med LD-isoenzymprofil för ytterligare selektion innan mer komplicerade kompletterande undersökningar utförs.

Bestämning av LD-isoenzymprofil i aspirat från uterus torde kunna rekommenderas som markör för endometriecancer hos kvinnor med postmenopausal blödning.

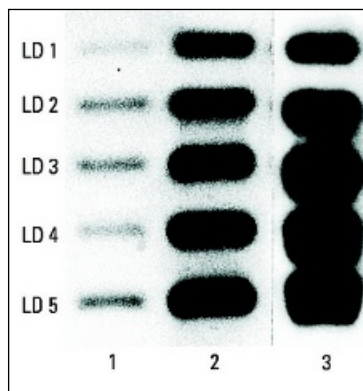
Kunskapsprov



Hur noga har du läst artikeln?
Kunskapsprov för denna artikel
finns på www.lakartidningen.se

ka undersökningen av endometriet med bestämning av tumörmarkörer i uterussekretet. Detta har medfört fördjupade studier av enzymet laktatdehydrogenas, LD, och aktiviteten av dess olika isoenzymer i uterussekret [12-15]. LD är det enzym som katalyserar slutsteget i den anaeroba glukolysen vid vilket pyruvat reduceras till laktat och som normalt förekommer som fem olika isoenzymer i plasma.

I denna studie redovisas resultat då LD-metoden kombinerats med transvaginal ultraljudsundersökning vid utredning av 72 patienter på grund av postmenopausal blödning.



Figur 1. Endometrie-cancers elektroforetiska streckkod. Exempel på laktatdehydrogenas(LD)-profil i uterusaspirat. Prov 1: normal LD-profil postmenopausal; prov 2 och 3: LD-profil vid endometrie-cancer.

II Material och metod

Patienter. Transvaginal ultraljudsundersökning och aspiration med s k Endorette (en tunn kateter med inbyggd kolv [8, 9]) utfördes som poliklinisk mottagningsundersökning på 72 patienter i åldersintervallet 46–89 år som sökt gynekologmottagningen i Landskrona på grund av postmenopausal blödning, dvs blödning efter amenorré >6 månader. Patientmaterialet inkluderar samtliga patienter som undersökts av gynekolog som behärskade endometriediagnostik med vaginalt ultraljud och som instruerats om aspirationsmetoden enligt nedan. Medianåldern för kvinnorna var 65 år. Av patienterna hade 33 hormonell behandling, av dessa hade 13 systemisk östrogenbehandling, 8 sekventiell substitutionsbehandling och 12 kontinuerlig substitutionsbehandling. Uppföljning skedde via regionala cancerregistret efter 4–9 år.

Ultraljudsundersökning, aspiration och mikroskopi. Transvaginal ultraljudsundersökning utfördes.

Uterussekret aspirerades, och för att minimera obehaget för patienten gjordes inget försök att öka vävnadsutbytet genom att manipulera katetern intrauterint. Aspiratet överfördes omedelbart efter provtagningen till ett provrör med 5 ml fysiologisk koksaltlösning. Efter sedimentation under minst 60 min i rumstemperatur avhålldes och centrifugerades supernatanten.

Den så erhållna vätskan användes för LD-analys. Aspiratet centrifugerades inte primärt, eftersom en sådan behandling försvårar den histologiska undersökningen [opubl data].

Om tillräcklig mängd vävnad aspirerats sändes provet fixerat i formalin för mikroskopisk bedömning. Om provmängden inte var tillräcklig för histologisk undersökning registrerades det som benignt.

LD-profil. LD-aktiviteten i aspirat-koksaltlösningen bestämdes med klinisk kemisk rutinmetod. LD-isoenzymanalysen gjordes genom elektroforetisk separation i agarosgel och efterföljande visualisering med hjälp av gängse substratreaktion för påvisande av isoenzymaktiviteter [16], Figur 1. Aktiviteten av de olika isoenzymfraktionerna bestämdes genom visuell skattning av en erfaren bedömare, vilket i våra händer ger ett resultat som är jämförbart med densitometrisk bestämning av isoenzymaktiviteterna [opubl data]. För att eliminera den varierande spådningsvariationen av uterussekretet användes LD 1-aktiviteten i det aktuella provet som intern standard = 1,0 för detta prov. En patologisk LD-profil definieras då som LD 1 = 1,0; LD 2 ≥ 1,5; LD 3 ≥ 2,5; LD 4 ≥ 2,6 och LD 5 ≥ 3,8 [15], Figur 2. För att LD-profilen skall bedömas som patologisk krävs att samtliga isoenzymer, LD 2–LD 5, överskrider respektive värde [15].

II Resultat

Patologisk LD-profil i uterussekret förelåg hos samtliga 6 patienter med endometrie-cancer och dessutom hos 10 av 66 patienter utan endometrie-cancer. Av de 10 patienterna med patologisk LD-profil utan malignitet hade 2 endometrit.

LD-profilen var normal hos resterande 56 patienter utan endometrie-cancer (Tabell I). Otillräckligt utbyte för bestämning av LD-isoenzymmönstret förekom således aldrig.

I detta patientmaterial var således sensitiviteten för påvisande av endometrie-cancer baserad på LD-profilen 100 procent, och motsvarande specificitet var 85 procent. Positivt och negativt prediktivt värde var 38 procent respektive 100 procent.

I samtliga 6 fall av endometrie-cancer var den histologiska bilden malign. Dessutom påvisades malignitetsmisstänkta celler i uterussekretet från en kvinna med normal LD-profil. Vid uppföljning med abrasio var den histologiska bilden av endometriet helt benign.

Sammanlagt 24 av 72 patienter, dvs var tredje patient som sökt för postmenopausal blödning, hade en vid vaginalt ultraljud icke-bedömbad livmoderslemhinna (Tabell II). I denna grupp av icke-bedömbad uteruslemhinna ingick 4 av de 6 patienterna med cancer.

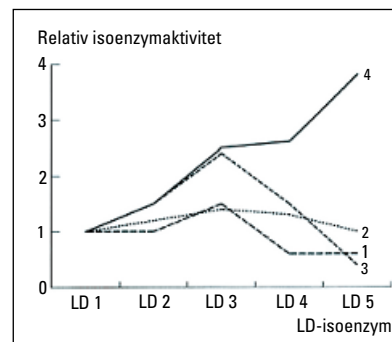
Förtjockad endometrieslemhinna (≥5 mm) sågs hos en kvinna med cancer utan hormonbehandling och hos en cancerpatient med hormonbehandling.

Vid uppföljningen i regionala cancerregistret 4–9 år senare fanns ingen patient med cancer registrerad utöver de 6 som redan registrerats.

II Diskussion

Enzymet laktatdehydrogenas, LD (LDH, EC 1.1.1.27), består i somatiska vävnader av 5 olika molekylära varianter, isoenzymerna LD 1–LD 5 i olika proportioner. I t ex hjärtmuskulatur, bukspottkörtel, njurar och erytrocyter dominerar LD 1; i de större musklerna, lever och granulocyter liksom i flertalet neoplastiska vävnader dominerar LD 5. Förhöjd aktivitet av LD och/eller avvikande LD-isoenzymmönster i serum/plasma ses vid flera olika cancerformer [17]. I vaginalsekretet utgör LD-aktiviteten en markör för inflammation [18]. I uterussekretet återspeglar LD-profilen både normal endometrieaktivitet och endometrieförändringar.

LD-aktiviteten reduceras vid frysning av spädda prov; framför allt påverkas aktiviteten av isoenzymerna LD 4 och LD 5. Uterusprov som späts i koksaltlösning kan emellertid sparas minst en vecka i kylskåp eller rumstemperatur utan att isoenzymaktiviteterna ändras [14]. Provtagning för LD-profil och omhändertagande av provet utgör således inget praktiskt problem.



Figur 2. Laktatdehydrogenas(LD)-profil i uterusaspirat. Aktiviteterna av LD 2–LD 5 anges i relation till LD 1 = 1,0. Normal bild postmenopausal (kurva 1), Normal bild premenopausal i proliferationsfas (kurva 2) och i sekretionsfas (kurva 3); gränslinje för endometrie-cancer (kurva 4); värden för LD 2–LD 5 på och över denna linje betraktas som patologiska och alltså misstänkta för endometrie-cancer. De värden som ligger till grund för kurvorna är hämtade från Niklasson och medarbetare 1985 [14] samt Niklasson och medarbetare 2004 [15].

Tabell II. Endometrietjocklek vid ultraljudsundersökning och resultat av mikroskopisk undersökning av Endorette-aspirat från 72 kvinnor med postmenopausal blödning.

Endometrietjocklek	Ingen hormonterapi		Aktuell hormonterapi		Totalt
	Benign bild	Malign bild	Benign bild	Malign bild	
<5 mm	20	1 ¹	7	0	28
≥5 mm	5	1	13	1	20
Icke-bedömbbar	9	3	11	1	24
Totalt	34	5	31	2	72

¹ Benign histologi vid abrasion

Tabell I. Laktatdehydrogenas(LD)-profil och resultat av mikroskopisk undersökning av Endorette-aspirat från kvinnor med postmenopausal blödning.

LD-profil	Histologi		Totalt
	Benign bild	Malign bild	
Normal	55	1 ¹	56
Patologisk	10	6	16
Totalt	65	7	72

¹ Benign histologi vid abrasion

Under utvecklingen av LD-metoden visade det sig att LD-isoenzymmönstret i uterussekret vid endometrie-cancer genomgående dominerades av framför allt isoenzymerna LD 4 och LD 5. Genom att skapa begreppet LD-profil där vi utnyttjar LD 1-aktiviteten i provet som en intern standard blir LD-analysen oberoende av kvantitativa bestämningar och provtagningsmetod [15]. Aktiviteten för isoenzymerna LD 2, LD 3, LD 4 och LD 5 uttryckta i relation till LD 1 hos kvinnor med endometrie-cancer visade sig vara mer än 1,4; 2,4; 2,5 respektive 3,7 gånger större än aktiviteten för LD 1. En patologisk LD-profil kunde således definieras som LD 1 = 1,0; LD 2 ≥ 1,5; LD 3 ≥ 2,5; LD 4 ≥ 2,6 och LD 5 ≥ 3,8.

Den sålunda definierade LD-profilen har herefter tillämpats på 100 patienter som skrapats på grund av postmenopausal blödning och på ett hälsokontrollmaterial (n = 366) [15]. Sensitiviteten för endometrie-cancer var 100 procent (14 av 14 upptäckta fall), negativt prediktivt värde 100 procent, specificiteten 85 procent (13 av 86 benigna fall uppvisade patologisk LD-profil) och positivt prediktivt värde 52 procent. I hälsokontrollmaterialet fanns inga cancerfall. Specificiteten var 96 procent (15 av 366 benigna fall hade patologisk LD-profil). I den nu aktuella studien kunde en normal LD-profil utesluta cancer i livmoderhålan, medan förekomsten av en patologisk LD-profil innebar 40 procents risk för cancer (6 av 16 fall med patologisk LD-profil hade endometrie-cancer).

Enighet råder om att diagnosen endometrie-cancer är osannolik om livmoderslemlinnans dubbla tjocklek är mindre än 5 mm hos kvinnor utan hormonbehandling [19]. Hos kvinnor med pågående hormonbehandling finns i dagsläget inga säkra riktlinjer. Endometriet kan också vara svårframställt, i denna studie så ofta som i 33 procent av undersökningarna. Förklaringen till svårigheterna torde vara åldersförändringar i myometriet. Hälften av de undersökta patienterna var äldre än 65 år (46–89 år), bland cancerfallen var hälften över 77 år (46–89 år). Dessutom kan sannolikt modern utrustning med högre upplösning bringa ned denna siffra.

Om patienterna i denna studie undersökts enbart med ultraljud och endometrietjocklek 5 mm tillämpats som gräns även för patienter med hormonbehandling hade malignitet varit osannolik hos 28 av de 72 patienterna med postmenopausal blödning. Hos resterande 44 patienter hade malignitetsmisstanken kvarstått. Om de däremot undersökts enbart med avseende på LD-profil hade malignitet uteslutits hos 56

av kvinnorna. Hos ytterligare 3 patienter (1 med endometriet och 2 med otillräckligt utbyte) hade i det senare fallet malignitet gjorts osannolik genom kombination av de båda teknikerna. Hos 13 av de 72 patienterna kvarstår således malignitetsmisstanken efter såväl vaginal ultraljudsundersökning som bestämning av LD-profil; av dessa 13 visade sig 6 ha endometrie-cancer.

Patientupplevelsen av endouterin aspiration med ett instrument varur Endorette senare utvecklades beskrevs 1985 [14]. Sammanlagt 4 av 91 patienter rapporterade lindriga till måttliga obehag, och 1 patient uppgav uttalat obehag av aspirationen. Vår uppfattning är att aspiration på det sätt som här beskrivits kan rekommenderas som ett värdefullt komplement till ultraljudsundersökning för diagnostik vid postmenopausal blödning.

Baserat på våra studier [12, 14, 15] av LD-isoenzymprofilen i uterussekret vid endometrie-cancer vågar vi – trots att det här redovisade materialet är litet – föreslå att vaginal ultraljudsundersökning vid fynd av endometrietjocklek ≥ 5 mm eller en icke-bedömbbar ultraljudsbild kompletterad med LD-profil i aspirat från livmoderhålan torde vara den idag lämpligaste kombinationen vid utredning av kvinnor med postmenopausal blödning. I det aktuella patientmaterialet omfattande 72 kvinnor kunde antalet kompletterande histologiska undersökningar sålunda minskas från 44 till 13, utan att någon cancer förbises. En sådan utredningsgång av postmenopausal blödning medför, förutom minskat obehag för patienterna, en inte obetydlig kostnadsbesparing. Idag är kostnaden för en LD-isoenzymbestämning drygt 100 kr (Länssjukhuset i Halmstad 116 kronor, Universitetssjukhuset MAS i Malmö 128 kronor).

*

Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

Referenser

- Karlsson B, Granberg S, Wikland M, Ylöstala P, Torvid K, Marsál K, et al. Transvaginal ultrasonography of the endometrium in women with postmenopausal bleeding – a nordic multicenter study. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:1488-94.
- Cary WH. Method of obtaining endometrial smears for study of their cellular content. *Am J Obstet Gynecol* 1943;46:422-4.
- Papanicolaou GN, Marchetti AA. The use of endocervical and endometrial smears in the diagnosis of cancer and of other conditions of the uterus. *Am J Obstet Gynecol* 1943;46:421-2.
- Johnsson JE, Stormby NG. Cytological brush technique in malignant disease of the endometrium. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1968;47:38-51.
- Vuopala S, Klemi PJ, Mäenpää J, Salmi T, Mäkärräinen L. Endobrush sampling for endometrial cancer. *Acta Obstet Gynecol* 1989;68:345-50.
- Gravlee LC Jr. Jet-irrigation method for the diagnosis of endometrial adenocarcinoma: Its principle and accuracy. *Obstet Gynecol* 1969;34:168-73.
- Niklasson O, Johansson R, Stormby N. Screening of endometrial carcinoma by jet wash and endouterine aspiration cytology. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1981;60:125-9.
- Moberger B, Nilsson S, Palmstierna S, Redvall L, Sternby N. A multicenter study comparing two endometrial sampling devices – Medscand Endorette and Pipelle De Cornier R. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998;77:764-8.
- Epstein E, Skoog L, Valentin L. Comparison of Endorette and dilatation and curettage for sampling of the endometrium in women with postmenopausal bleeding. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001;80:959-64.
- Dijkhuizen PP, Mol BW, Brölmann HA, Heintz AP. The accuracy of endometrial sampling in the diagnosis of patients with endometrial carcinoma and hyperplasia. A meta-analysis. *Cancer* 2000;89:1765-72.
- Farrell T, Jones N, Owen P, Baird A. The significance of an insufficient Pipelle

- sample in the investigation of post-menopausal bleeding. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999;78:810-2.
12. Niklasson O, Skude G, Johansson R, Stormby N. Screening of endometrial carcinoma by lactate dehydrogenase isoenzyme analysis of uterine fluid. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1981;60:1-8.
 13. Niklasson O, Svanberg L, Thorell J, Lecander I, Åstedt B. Urokinase-like plasminogen activator as a marker of endometrial neoplasia. *Cancer* 1981;48:1484-6.
 14. Niklasson O, Skude G, Johansson R, Stormby N. Screening for endometrial carcinoma by endouterine aspiration cytology with analysis of tumour markers in the aspirates. Development and applications of new screening technique. *Anal Quant Cytol Histol* 1985;7:61-8.
 15. Niklasson O, Skude G, Marsál K, Casslén B. Diagnosis of endometrial cancer in patients with postmenopausal bleeding by analysis of the lactate dehydrogenase isoenzyme activity profile in uterine fluid. *Gynecol Oncol* 2004;93:385-9.
 16. Lund B. A macromolecular serum lactate dehydrogenase activity in a case of leukaemia. *Clin Chim Acta* 1967;16:305-9.
 17. von Eyben FE. Laboratory markers and germ cell tumors. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2003;40:377-427.
 18. Niklasson O, Skude G, Mårdh PA. Lactate dehydrogenase and its isoenzymes in vaginal fluid in vaginitis/vaginosis cases and in healthy controls. *Int J STD AIDS* 2003;14:270-3.
 19. Epstein E. Management of postmenopausal bleeding in Sweden: a need for increased use of hydrososonography and hysteroscopy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004;83:89-95.



=artikeln är referentgranskad

annons

SUMMARY

In diagnosing endometrial carcinoma in women with postmenopausal bleeding analysis of lactate dehydrogenase, LD, isoenzymes in uterine aspirates appeared to have 100 per cent sensitivity and negative predictive value combined with high specificity and positive predictive value. Determination of the LD-profile is suggested as a marker for endometrial carcinoma in women with postmenopausal bleeding. Transvaginal ultrasonography might be combined with determination of the LD-isoenzyme profile to secure the diagnosis of endometrial malignancy in order to minimize the use of other more invasive diagnostic methods.

Ola Niklasson, Gunnar Skude, Göran Lingman, Bertil Casslén, Karel Marsál

Correspondence: Gunnar Skude, Götgängen 78, SE-271 44 Ystad, Sweden
gunnar.skude@telia.com