

ELEKTRONINEN NENÄ MUNASARJASYÖVÄN DIAGNOSTIIKASSA

Tiia Kirjonen ja Tuija Sellmer
Syventävien opintojen kirjallinen työ
Tampereen Yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Joulukuu 2015

Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Kirurgian apulaisprofessori Oksalan tutkimusryhmä

KIRJONEN, TIIA & SELLMER, TUIJA: ELEKTRONINEN NENÄ MUNASARJASYÖVÄN DIAGNOSTIIKASSA

Syventävien opintojen opinnäytetyö, 27 sivua
Ohjaajat: Oksala, Niku & Roine, Antti

Joulukuu 2015

Avainsanat: ovariokarsinooma, eNose, ionimobiliteettispektrometria

Munasarjasyöpä on toiseksi yleisin gynekologinen maligniteetti Suomessa. Pienestä esiintyvyydestä huolimatta kuolleisuus siihen on korkea, johtuen lähinnä epämääräisten oireiden aiheuttamasta viivästyneestä diagnostiikasta. Diagnostiikkaa vaikeuttaa myös spesifien seulontamenetelmien puuttuminen.

Tässä tutkimuksessa munasarjasyöpää sairastavien, benignin kasvaimen omaavien sekä terveiden verrokkipotilaiden virtsanäytteistä määritettiin erilaisia haihtuvia orgaanisia yhdisteitä ionimobiliteettispektrometriaan perustuvan eNose-laitteiston avulla. Tutkimuksessa havainnoitiin laitteiston kykyä erotella benignit ja malignit näytteet toisistaan. Lisäksi malignit kasvaimet eroteltiin high-grade -kasvainten ja ei-high-grade -kasvainten luokkiin. Erottelu tehtiin lineaarista ja neliöllistä diskriminanttianalyysia sekä logistista regressiota käyttäen, ja tulokset validoitiin viisinkertaisella ristivalidoinnilla.

Terveiden verrokkien ja benignien kasvainten välillä saavutettiin 87% sensitiivisyys ja 53% spesifisyys. Vastaavasti benignien ja malignien kasvainten erottelussa sensitiivisyys oli 70% ja spesifisyys 60%. Eroteltaessa benignejä kasvaimia maligneista high-grade -kasvaimista saavutettiin 33% sensitiivisyys ja 87% spesifisyys. High-grade -kasvainten ja non-high-grade -kasvainten erottelussa sensitiivisyys oli 17% ja spesifisyys 64%.

Parhaiten erottelu onnistui verrattaessa benignejä kasvaimia maligneihin, high-grade -kasvaimiin, ja huonoin tulos saatiin maligniteettien sisäisellä erottelulla. Kasvaimen voidaan siis ajatella muuttavan virtsan hajuprofiilia jollakin tapaa. Lisäksi maligniteettiin voidaan olettaa liittyvän oma spesifi hajunsa, joka ei kuitenkaan tämän tutkimuksen osalta erottele maligneja kasvaimia toisistaan riittävällä tarkkuudella.

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	4
2	Taustaa	6
2.1	Munasarjasyövät	6
2.1.1	<i>Epiteliaaliset munasarjasyövät</i>	7
2.1.2	<i>Sukupuolen ja strooman kasvaimet</i>	8
2.1.3	<i>Itusolukasvaimet</i>	9
2.1.4	<i>Riski- ja suojatekijät</i>	10
2.2	Munasarjasyöpien diagnostiikka	11
2.3	Munasarjasyöpien hoito	12
3	eNose	14
3.1	Syövän tuoksu.....	14
3.2	Koiratyöt	14
3.3	eNose	15
3.4	eNose ja gynekologiset syövät.....	16
3.5	Hypoteesit	17
3.5.1	<i>Verrokki vs. hyvänlaatuinen kasvain</i>	17
3.5.2	<i>Hyvänlaatuinen vs. pahanlaatuinen kasvain</i>	17
3.5.3	<i>Hyvänlaatuinen vs. high-grade kasvain</i>	17
3.5.4	<i>Ei-high-grade vs. high-grade-kasvain</i>	17
4	Tutkimusmenetelmät	19
4.1	Potilasmateriaali	19
4.2	Ionimobilitiispektrometria (IMS).....	19
4.3	Tilastolliset menetelmät	20
5	Tulokset	21
5.1	Verrokki vs. hyvänlaatuinen kasvain.....	21
5.2	Hyvänlaatuinen vs. pahanlaatuinen kasvain.....	21
5.3	Hyvänlaatuinen vs. high-grade kasvain	21
5.4	Ei-high-grade vs. high-grade kasvain	21
6	Pohdinta	22
7	Johtopäätökset	24
8	Tulevaisuudennäkymät	25
	Lähteet	26

1 JOHDANTO

Munasarjasyövät muodostavat n. 4% kaikista naisten syövästä maailmanlaajuisesti. Suomessa niiden ilmaantuvuus 100 000 henkilövuotta kohden oli 8.6 vuonna 2012, ollen näin toiseksi yleisin gynekologinen maligniteetti heti kohdunrungon syövän jälkeen (ilmaantuvuus 12.9/100 000). Vaikka esiintyvyys on suhteellisen vaatimatonta, korkea kuolleisuus (yli 50%) tekee sairaudesta merkittävän. Suuri kuolleisuus johtuu lähinnä taudille ominaisesta alkuvaiheen oireettomuudesta tai oireiden epämääräisyydestä, ja täten hoidon tuloksia heikentävästä pitkästä viiveestä diagnostiikassa. (Horvath et al. 2010).

Munasarjasyöpien diagnostiikkaa hidastaa oireettomuuden/oireiden epämääräisyyden lisäksi se, ettei diagnostiikan avuksi ole käytössä juuri mitään riittävän spesifejä tai sensitiivisiä seulontamenetelmiä. Munasarjasyövän tämänhetkiset käytössä olevat seulontamenetelmät ovat gynekologinen rektovaginaalinen palpaatiotutkimus, transvaginaalinen kulkukuvaus sekä CA-125-merkkiainepitoisuuden määrittäminen. Kuuluminen riskiryhmään rintaja munasarjasyöpäoireyhtymän (BRCA1-/BRCA2-geenimutaatiot) tai periytyvän paksusuolioireyhtymän (HNPCC) voi ohjata diagnostista tarkkaavaisuutta varhaisen ja säännöllisen CA-125-merkkiainepitoisuuden määrittämisen kautta, mutta perinnöllinen alttius kattaa kuitenkin ainoastaan 5-10% kaikista munasarjasyöpätapauksista. Edes yhdistettyinä edellä mainitut seulontamenetelmäkään eivät ole riittävän sensitiivisiä tai spesifejä, eikä toisaalta ole tutkimusnäyttöä siitä, että seulonta näillä menetelmillä vaikuttaisi edes oireetoman väestön tai suuressa sairastumisvaarassa olevan väestön munasarjasyöpäkuolleisuuteen. (Munasarjasyöpä: Käypä hoito -suositus, 2012).

Samoin kuin muidenkin maligniteettien, myös munasarjakasvainten on todettu erittävän erilaisia metabolisia tuotteita, joita esimerkiksi koulutettuja koiria on kyetty opettamaan erottamaan niiden ominaistuuksun perusteella. Koirakokeiden avulla on kyetty osoittamaan, että malignien ja benignien munasarjakudosten lisäksi myös munasarjamaligniteettien ja muiden gynekologisten maligniteettien ominaistuuksussa on riittävästi vaihtelua niiden erottelun mahdollistamiseksi. (Horvath et al. 2008). Kudoksenäytteiden lisäksi munasarjamaligniteettien ominaistuuksun on koirien hajutyöskentelyn avulla kyetty havaitsemaan

myös veri-/plasmanäytteistä (Hovarth et al. 2010), mikä luonnollisesti tarjoaa kudospäätteen käyttökelpoisempia lähestymistapoja munasarjasyövän varhaisdiagnostiikkaan.

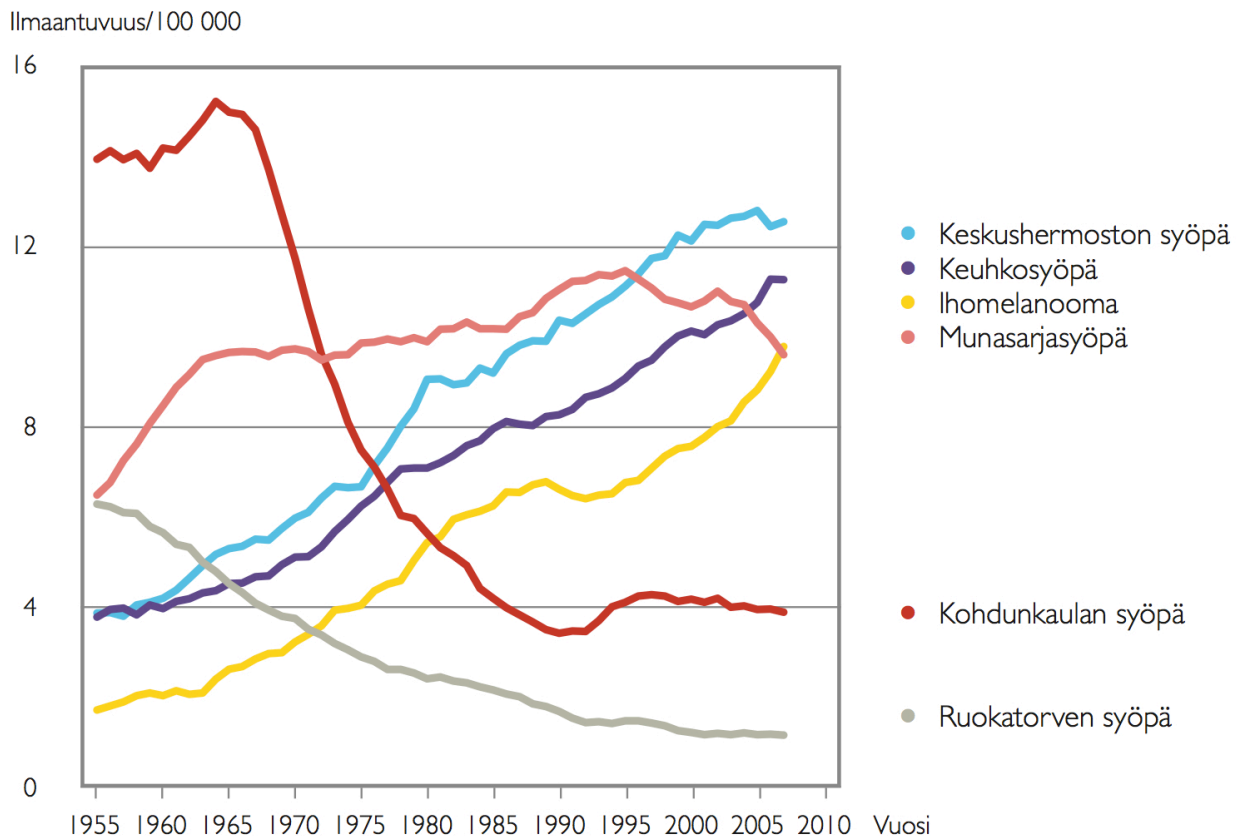
Koiratyöskentelyn suurten resurssivaatimusten ja muiden eläindiagnostiikkaan liittyvien puutteiden vuoksi tutkimuskehitys on suuntautunut eläinten koulutuksesta elektroniseen kehitykseen, ja niinpä viimeaikaisen kiinnostuksen kohteena onkin ollut maligniteettien erittämien polyamiinien pitoisuuksien määrittäminen virtsanäytteistä erilaisia elektronisia menetelmiä hyödyntäen.

Oman tutkimuksemme tarkoituksena on ionimobilitetispektrometrian (IMS) keinoin mitata haihtuvia orgaanisia yhdisteitä (volatile organic compound, VOC) gynekologisten potilaiden virtsanäytteistä, ja havainnoida elektronisen laitteiston kykyä erotella benignit ja malignit näytteet toisistaan.

2 Taustaa

2.1 Munasarjasyövät

Munasarjasyöpä on ensisijaisesti korkean elintason maiden sairaus. Suomessa se on toiseksi yleisin gynekologinen syöpä ja kymmenenneksi yleisin naisten syöpä ylipäänsä. Vaikka tautia voi periaatteessa esiintyä missä ikäryhmässä tahansa, on se kuitenkin erittäin harvinainen alle 30-vuotiailla. (Grenman & Leminen 2013). Ikävakioitu ilmaantuvuus oli vuonna 2010 Suomen Syöpärekisterin mukaan 8,8/100 000. Vuodesta 2005 alkaen munasarjasyöpien ilmaantuvuudessa näkyy tilastoissa kaikkien pohjoismaiden osalta jyrkkä laskusuhdanne, jolle ei ole keksitty mitään selkeitä syitä (Pukkala et al. 2011).



Kuva 1: Naisten syöpien ikävakioituja ilmaantuvuustrendejä Suomessa vuosina 1953-2009 liukuvina 5-vuotiskeskiarvoina.

Munasarjan kasvaimet voidaan luokitella munasarjojen sisältämien kudostyyppien mukaan histologisesti eri alatyyppeihin (Grenman & Leminen 2013, Leminen & Loukovaara 2011) :

1. Epiteliaaliset kasvaimet (osuus 85-90%)
2. Sukupienen ja strooman kasvaimet (osuus 3-5%)
3. Itusolukasvaimet (osuus 1-3%)
4. Metastaasit sekä muut harvinaiset kasvaimet, joita munasarjoissa esiintyy, mutta joiden alkuperästä ei ole varmaa tietoa.

Jokainen kudostyyppi voi ilmentää joko hyvän- tai pahanlaatuisia kasvaimia, minkä lisäksi epiteelikasvainryhmästä on löydettävissä käyttäytymiseltään ja histologialtaan rajalaatuiseksi luokiteltavia kasvaimia (borderline-kasvaimet). Kaikista munasarjakasvaimista 15% on pahanlaatuisia, ja pahanlaatuisuuden todennäköisyys kasvaa iän myötä siten, että ennen murrosikää löydettyistä kasvaimista (pois luettuna itusolukasvaimet) lähes kaikki ovat hyvänlaatuisia, mutta yli 50-vuotiaiden munasarjakasvaimista pahanlaatuisia on jopa puolet. (Grenman & Leminen 2013).

2.1.1 Epiteliaaliset munasarjasyövät

Epiteliaaliset syövät luokitellaan tyypeihin I ja II, joista tyyppin I syövät ovat suhteellisen matalan maligniteettiasteen syöpiä, jotka kehittyvät pääosin rajalaatuisista kasvaimista. Tyyppin II syövät puolestaan ovat histologisesti aggressiivisia high grade -seroosia tai huonosti erilaistuneita syöpiä, joilla ei tunneta minkäänlaista esiastevaihetta. (Grenman & Leminen 2013)

Aikaisemmin munasarjasyöpien on ajateltu saavan alkunsa valtaosin munasarjan pintaepiteelistä, mutta uusimpien tutkimustulosten mukaan syöpien lähtökohta voikin olla osassa tapauksista myös endometrium (endometrioidit ja kirkassolukasvaimet) tai munanjohtimen epiteeli (high grade -seroosi karsinooma). (Grenman & Leminen 2013). Munasarjakasvaimet voidaankin jaotella myös seroosiin, musinoosiin, endometrioidiin ja kirkassoluiseen alaluokkaan. Näistä seroosi munasarjasyöpä kattaa noin 50% epiteliaalisista munasarjasyöivistä, ollen siis eri alaluokista yleisin. (Leminen & Loukovaara 2011).

Epiteliaalisen munasarjasyövän tärkein riskitekijä on geneettinen alttius. Kun koko naisväestössä elinikäinen sairastumisalttius on 1-2%, on sairastumisvaara 70 ikävuoteen mennessä 4-7% niillä naisilla, joilla on yksi tautiposiitivinen ensimmäisen asteen sukulainen ja 7-15% niillä, joilla tautiposiitivisia ensimmäisen asteen sukulaisia on kaksi tai useampia. Myös BRCA1-, BRCA2- tai HNPCC-kantajuus ovat suuren riskin vaaratekijöitä. Perinnöllisen rinta- ja munasarjasyöpäoireyhtymään (BRCA) liittyvä munasarjasyövän riski on BRCA1-geenivirheeseen liittyen 39-63% ja BRCA2-geenivirheeseen liittyen n.11% 70 ikävuoteen mennessä. BRCA1-geenivirhe lisää myös riskiä sairastua nuorena (mediaani-ikä 45 vuotta vs. normaali geenivariaatio 60 vuotta). Perinölliseen ei-polypoottiseen paksusuolisyöpään (HNPCC) altistava geenivirhe puolestaan nostaa elinikäistä munasarjasyövän riskiä 9-12%, taudin mediaani-ikä ollessa n. 43 vuotta. Epiteliaalisista munasarjasyövistä 10% ilmaantuu juuri näille geenivirheen omaaville naisille. (Leminen & Loukovaara 2011).

2.1.2 Sukupienan ja strooman kasvaimet

Sukupienan ja strooman kasvaimet ovat joko yhdestä solutyypistä tai solutyypien yhdistelmistä muodostuvia kasvaimia, joiden alkuperä on joko sikiön suk rauhasen sukupiena tai siihen liittyvä mesenkyymi. Näille kasvaimille tyypillistä on hormonaalinen aktiivisuus, joka yleensä on kasvainten aiheuttamien kliinisten oireiden taustalla. (Leminen & Loukovaara 2011).

Suurimman ryhmän sukupienakasvaimista muodostavat granuloosa-teekasolukasvaimet. Granuloosakasvaimet jaotellaan sekä histologialtaan että tyypilliseltä ilmaantumisiältään aikuistyyppin- sekä juveniilin muodon kasvaimin. Aikuistyyppin kasvaimet diagnosoidaan pääasiassa menopaussin jälkeen, juveniilit kasvaimet puolestaan pääasiassa ennen puberteettia. Aikuistyyppin kasvaimille tyypillistä käyttäytymistä ovat potentiaalisen pahalaatuisuuden lisäksi erilaiset fertiili-ikä kuukautishäiriöt sekä postmenopausaaliset vuotohäiriöt. Postmenopausaalisesti tyypillistä on myös runsaan estrogeenierityksen aiheuttama kohdun limakalvon hyperplasia, jota ilmenee jopa 50%:lla potilaista. Juveniilikasvaimet puolestaan voivat olla esimerkiksi ennenaikaisen puberteetin taustatekijänä. (Leminen & Loukovaara 2011).

Teekasolukasvaimet kykenevät niin ikään tuottamaan estrogeenia, ja aiheuttavat tätä kautta granuloosasolukasvainten kaltaisia hormonaalisia häiriöitä. Ne saattavat myös aiheuttaa kliiniseltä kavaltaan erehdyttävästi munasarjasyöpää muistuttavan Meigsin oireyhtymän, mutta ovat kuitenkin luonteeltaan lähes poikkeuksetta hyvänlaatuisia ja vain toiseen munasarjaan rajoittuvia. (Leminen & Loukovaara 2011).

Sukupienan ja strooman kasvaimiin luetaan mukaan myös Sertolin- ja Leydiginsolukasvaimet eli androblastoomat. Nimensä mukaisesti näiden kasvainten lähtökohta on joko Sertolin tai Leydiginsoluissa. Harvinaisuutensa lisäksi suurin osa näistä kasvaimista on hyvänlaatuisia. Ne kykenevät tuottamaan androgeeneja, mikä kliinisesti näkyy potilaan virilisoitumisena. (Leminen & Loukovaara 2011)

Lisäksi sukupienan ja strooman kasvaimiin kuuluvat hyvin harvinaiset sekamuotoiset kasvaimet, esimerkiksi granuloosa-teekasoluista ja Sertolin ja Leydigin soluista koostuvat gynandroblastoomat sekä strooma- ja hilumsoluista erilaistuneet lipidisolukasvaimet.

2.1.3 Itusolukasvaimet

Itusolukasvaimet ovat alkusukusoluista kehittyviä, harvinaisia ja lähes poikkeuksetta erittäin pahanlaatuisia kasvaintyyppisiä, jotka voidaan luokitella erilaistumissuuntansa mukaisesti joko embryonaaliseen, ei-embryonaaliseen sekä erilaistumattomaan ryhmään.

Vaikka itusolukasvaimet ovatkin lähes poikkeuksetta pahanlaatuisia, on yleisin itusolukasvain kuitenkin embryonaaliseen ryhmään kuuluva, lähes yksinomaan hyvänlaatuinen dermoidikysta eli kypsä teratooma. Pahanlaatuisista itusolukasvaimista yleisin on puolestaan erilaistumattomien kasvainten ryhmään kuuluva dysgerminooma, joka kattaa noin puolet pahanlaatuisista itusolukasvaimista. Toiseksi yleisin, erittäin pahanlaatuinen itusolukasvain on ei-embryonaalista perää oleva ruskuaispussikasvain. Niin ikään pahanlaatuinen on lähökohdaltaan dermoidikystaa vastaava epäkypsä teratooma. (Leminen & Loukovaara 2011).

Teratoomille tyypillistä on useammasta alkiolehdessä lähtöisin olevat kudokset, ja kasvaimista voidaankin löytää pitkälle kehittyneitä kudostyyppejä, esim. rusto-, luu- tai hermo- kudosta. Epäkypsät teratoomat ovat kuitenkin nimensä mukaisesti huonosti erilaistuneita, alkio-tyypisiä kasvaimia. Useammasta alkiolehdessä lähtöisin olevat teratoomat eivät yleensä tuota mitään hormoneja, monodermaaliset sen sijaan tuottavat kudostyyppinsä mukaisesti esimerkiksi kilpirauhashormoneja. (Leminen & Loukovaara 2011)

Dysgerminoomat ovat teratoomien tapaan 80-90%:sti toispuoleisia, eivätkä puhtaassa muodossaan tuota mitään hormoneja. Ruskuaispussikasvain sen sijaan ruskuaispussirakenteidensa vuoksi tuottaa suuria määriä diagnostiikkaa ja hoitovasteen seurantaan helpottavaa alfa-fetoproteiinia (AFP). Ruskuaispussikasvaimen ohella muut ei-embryonaaliset kasvaimet ovat hyvin harvinaisia mutta ruskuaispussikasvaimen tapaan hyvin pahanlaatuisia, usein hCG:ta tuottavia kasvaimia. (Leminen & Loukovaara 2011)

2.1.4 Riski- ja suojatekijät

Munasarjasyöpien tärkein riskitekijä on positiivinen sukuhistoria, erityisesti ensimmäisen asteen sukulaisten osalta. Ensimmäisen asteen sukulaisen munasarjasyövän on todettu nostavan riskiä noin 3,6-kertaiseksi ja toisen asteen sukulaisen n. 2,9-kertaiseksi. Myös ensimmäisen asteen sukulaisen rintasyöpä on osoitettu munasarjasyövän riskitekijäksi. Muita tunnettuja perimään liittyviä riskitekijöitä ovat mutaatiot BRCA1/BRCA2 -geeneissä sekä DNA:n korjausmekanismin puutteellisesta toiminnasta aiheutuva, suolistosyöville altistava Lynchin oireyhtymä. (Hunn & Rodriguez 2012)

Perimän ulkopuolelta munasarjasyöville altistaa muun muassa lapsettomuus. Ensimmäinen raskaus alentaa munasarjasyövän riskiä jopa kolmanneksen, ja toistuvat raskaudet vähentävät riskiä entisestään keskimäärin 20% jokainen (Hunn & Rodriguez 2012, Leminen & Loukovaara 2011). Toistuvan ovulaation ajatellaan kuitenkin aiheuttamansa epiteelivaurion vuoksi altistavan munasarjasyöville, mistä syystä ehkäisytablettien käyttö yli viiden vuoden ajan pienentää munasarjasyöpien riskiä jopa 50%. Ovulaatioiden vähentymiseen johtavat niin ikään pitkän imetyksen lisäksi munajohdinten poistolla tai sulkemisella toteutettava sterilisaatio sekä kohdunpoisto, jotka pienentävät munasarjasyövän riskiä lähes 50% nekin. (Leminen & Loukovaara 2011).

Lapsettomuuden osalta suurin riski munasarjasyöville on endometriooosi, joka aiheuttaa noin 2,5-kertaisen syöpäriskin. Myös postmenopausaalinen, yli 5-10 vuoden ajan käytetty hormonikorvaushoito nostaa munasarjasyövän riskiä 1,3-1,6 -kertaiseksi. (Leminen & Loukovaara 2011).

2.2 Munasarjasyöpien diagnostiikka

Munasarjasyöväällä ei ole tyyppioireita ja alkuun tauti on usein täysin oireeton. Myöhemminkin oireet voivat olla epämääräisiä; lieviä vatsakipuja, ruokahaluttomuutta, väsymystä, seksuaalista haluttomuutta, laihtumista ja kuumeilua. Anamneesissa tulisi huomioida erityisesti kuukautiskierron häiriöt, epämääräiset vatsavaivat, potilaan ikä sekä sukuanamneesi. Kasvain ei yleensä arista. Palpoiden sen voi tuntua kiinteältä ja kiinnittyneeltä tai pehmeältä ja liikkuvulta, mikä tekee diagnostiikasta hankalaa. (Grenman & Leminen 2013)

Jos kasvain on oireeton, se löydetään usein sattumalta sisätutkimuksen tai kaikukuvauksen yhteydessä. Kasvaessaan se aiheuttaa oireita: paineoireet ja niistä johtuva kipu, virtsaamis- ja ulostamisvaivat sekä vatsan turpoaminen kasvaimen ja vatsaontelon nesteen seurauksena. (Leminen & Loukovaara 2011) Vuotohäiriöt liittyvät munasarjakudoksen tuhoutumiseen tai leviämiseen. Myös yhdyntäkipuja voi esiintyä. (Grenman & Leminen 2013) Suuriin kasvaimiin liittyy alaraajojen turvottelu, laskimokongestio ja jopa kohdun laskeuma, vaikka yleistila säilyisi hyvänä. Diagnoosihetkellä voidaan havaita verenvuotoa ja äkillinen kiputila, mikä viittaa kasvaimen kiertymiseen tai puhkeamiseen. (Leminen & Loukovaara 2011)

Ultraäänessä näkyvät kystat, kiinteät massat, paksut väliseinät ja dopplertutkimuksessa nähtävä lisääntynyt verisuonitus herättävät epäilyn pahanlaatuisuudesta, mutta diagnoosi varmistuu histopatologisten kudoksenäytteiden perusteella (Grenman & Leminen 2013, Leminen & Loukovaara 2011). Levinneisyyttä tutkitaan ja diagnoosia tarkennetaan vielä kasvainmerkkiaineilla ja tietokone- ja magneettikuvauksilla. Yleisimmin käytetty kasvainmerkkiaine CA-125 on melko epäspesifi, mutta herkkä. Selvästi kohonneena CA-125 ja TATI (tumor-associated trypsin inhibitor) viittaavat maligniin kasvaimeen. Kaikukuvaus on erotusdiagnostisesti tärkeä tutkimus, ja se auttaa kasvaimen rakenteen ja tyyppin määrittelyssä. (Leminen & Loukovaara 2011) RMI- ja ROMA-indeksejä käytetään pahanlaatuisuuden

arviointiin (Grenman & Leminen 2013, Leminen & Loukovaara 2011). Sytologiset näytteet otetaan joko leikkauksen yhteydessä tai vatsaontelon huuhtelunäytteestä. Tietokonekuvaus on tärkeä myös uusiutuvan kasvaimen diagnosoinnissa. (Leminen & Loukovaara 2011) Jos muuta keinoa ei ole, voidaan kasvainta tutkia myös laparoskooppisesti (Grenman & Leminen 2013).

Yleisimmän eli epiteliaalisen munasarjasyövän taustalta voidaan osalla henkilöistä löytää geenivirhe – seulontaan on omat indikaationsa, mutta kyseisen geenin kantajille suositellaan emättimen kaikukuvausseurantaa sekä CA-125 -määritystä 25-35-vuotiaasta lähtien, samoin kuin syövän uusiutumisen seurantavaiheessa oleville. Tämä tähtää mahdollisimman varhaiseen diagnoosiin, jonka perusta ovat hyvä anamneesi sekä yleis- ja rektovaginaalinen tutkimus. (Leminen & Loukovaara 2011)

Itusolukasvaimet diagnosoidaan kuten muutkin munasarjakasvaimet, mutta niille tyypillisesti tuumori kasvaa nopeasti ja siksi vatsakivut pahenevat nopeasti. hCG ja AFP ovat yleensä koholla; dysgerminoomassa taas istukan alkalinen fosfataasi ja maitohappodehydrogenaasi. Hyvänlaatuisen dermoidikysta tunnistetaan yleensä jo kaikukuvauksessa, mutta viimeistään leikkauksessa. Sukupienakasvainta voidaan epäillä kliinisten, hormonaalisten oireiden perusteella. Tyypillisiä ovat ennenaikainen puberteetti, kuukautishäiriöt tai vaihdevuosien aikaiset vuodot. (Leminen & Loukovaara 2011)

2.3 Munasarjasyöpien hoito

Munasarjasyövän hoito aloitetaan yleensä avoimella tai laparoskooppisella leikkauksella. Tarkoituksena on varmistaa diagnoosi, selvittää levinneisyys ja helpottaa potilaan oireita samalla kun pyritään mahdollisimman täydelliseen kasvaimen poistoon. Mahdolliset metastasit pyritään löytämään. Kohtu ja adnexit poistetaan, samoin infrakolinen vatsapaita. Imusolmukkeet poistetaan lantiosta ja para-aortaalitilasta. Toisinaan suositellaan umpilisäkkeen poistoa. Metastasoituneessa munasarjasyövässä suoritetaan radikaali debulking-leikkaus, jossa eri elimiä ja suolta voidaan poistaa merkittävästi. (Leminen & Loukovaara 2011)

Benignit kysta-adenoomat hoidetaan munasarjan tai koko adnexin poistolla. Myös kystektomia voidaan harkita erityisesti nuorilla potilailla ja niillä, joilla kasvain on molemminpuo-

linen. Epiteliaalinen kasvain voi kehittyä semimaligniksi borderline-kasvaimeksi, joka hoidetaan kirurgisesti: ”vatsaontelosta otetaan sytologiset huuhtelunäytteet, kohtu sivuelimien poistetaan, vatsakalvon pinnat biopsoidaan ja infrakolinen vatsapaita poistetaan”. (Leminen & Loukovaara 2011)

Solunsalpaajahoito täydentää leikkaushoitoa, mutta se voidaan toteuttaa myös ensihoitona. Hoidossa käytetään useimmiten paklitakselin ja karboplatiinin yhdistelmää, ja se toteutetaan 3-4 viikon välein laskimonsisäisesti, joissakin tilanteissa intraperitoneaalisesti. Hoitoon liittyy monilääkeresistenssiriski ja haittavaikutuskirjo on laaja. Mikäli kyseessä on munasarjoihin rajoittuva, hyvin erilaistunut kasvain, solunsalpaajahoito voi olla turha. Sätehoitoa käytetään harvoin; käyttö rajoittuu lähinnä lantioon rajoittuneisiin uusiutuneisiin syöpiin, kun solunsalpaajahoito ei tule kysymykseen, sekä palliatiiviseen sädehoitoon. (Leminen & Loukovaara 2011)

Yksittäisiä uusiutuvia kasvaimia voidaan yrittää poistaa. Kemosensitiivisiin kasvaimiin kohdistetaan myös kemoterapiaa aiemmalla lääkeyhdistelmällä. Kemoresistenttejä kasvaimia voidaan yrittää hoitaa uudella solunsalpaajakombinaatiolla – ennuste on usein huono, mutta elinaikaa on mahdollista lisätä. (Leminen & Loukovaara 2011)

Itusolukasvaimista hyvänlaatuinen dermoidikysta poistetaan yleensä täyhystyskirurgisesti, kun taas pahanlaatuisten kasvainten leikkaukset ovat konservatiivisia. Solunsalpaajayhdistelmähoidot parantavat ennustetta. Dysgerminooman hoito vaihtelee levinneisyyden mukaan munasarjan poistosta liitännäiskemoterapiaan tai –sädehoitoon. Sukupienakasvaimet hoidetaan munasarjakasvainten yleisten hoitoperiaatteiden mukaan. (Leminen & Loukovaara 2011)

3 eNose

3.1 Syövän tuoksu

Patologisten tilojen havaitseminen hajuaistin välityksellä on hyvin historiallinen ilmiö. Ennen nykyaikaista laboratoriodiagnostiikkaa esimerkiksi diabeetikon ketoasidoottinen tila oli havaittavissa ennen kaikkea potilaan hengityksestä huokuvasta asetonin hajusta. (Roine 2014). Sama ilmiö ohjaa toki muiden oireiden ohella diabeteksen diagnostista päättelyä tänäkin päivänä. Myös gynekologisessa tutkimuksessa hajuaistilla on edelleen diagnostiikkaa tukeva merkitys, sillä esimerkiksi monet emättimen tulehduslöydöksistä varmentuvat muiden oireiden ohella niille tyypillisen hajulöydöksen avulla. Esimerkiksi bakteerivaginiitti tunnetaan yleisesti sille ominaisesta "tympeästä, kalamaisesta" hajusta (Paavonen 2011, Roine 2014).

Muiden patologisten tilojen ohella myös erilaisilla maligniteeteilla on osoitettu olevan oman tuoksunsa. Useiden tutkimusten pohjalta on pystytty osoittamaan sekä koirien että elektronisen laitteiston kyky havaita ja erotella kasvainsolukkoja niiden tuottaman hajuprofiilin mukaan. Kasvainsolukon ominaishajun mikrobiologinen tausta on kuitenkin edelleen jokseenkin epäselvä. Maligniteettien on havaittu muun muassa nostavan elimistön polyamiinipitoisuuksia (Gerner & Meyskens 2004), ja näitä kohonneita pitoisuuksia on onnistuneesti kyetty mittaamaan muun muassa virtsanäytteistä (Häkkinen et al. 2013). Kasvainsolukojen hajuprofiileista on kyetty tekemään erottelua sekä niiden erilaisten kasvuvaiheiden että elimistön syöpään kohdistuvan systeemisen vasteen pohjalta. (Roine 2014).

3.2 Koiratyöt

Ensimmäiset julkaisut koiran havaitsemista maligniteeteista ajoittuvat jo 1980-luvun loppupuolelle, jolloin Lancetissa julkaistiin tapauselostus koiran lisääntyneestä kiinnostuksesta isäntänsä jalassa olevaa luomea kohtaan. Poistettu luomi osoittautui sittemmin melanoomaksi, mikä herätti kysymyksiä koirien kyvyistä havaita maligniteetteja jonkinlaisten

niille tyypillisten hajulöydösten pohjalta (Williams & Pembroke 1989). Ajan asenneilmapiiri rajoitti kuitenkin kiinnostusta eläintyötä kohtaan, ja vasta 2000-luvun alkupuolelta alkaen alettiin tehdä systemaattisempia tutkimuksia koirista maligniteettien diagnostiikassa. Tutkituimmat maligniteetit käsittävät melanooman, rakkosyövän, rintasyövän sekä keuhkosyövän, joiden osalta koiradiagnostiikan sensitiivisyys ja spesifisyys ovat osoittaneet huomattavaa tarkkuutta lähes kaikissa tutkimuksissa.

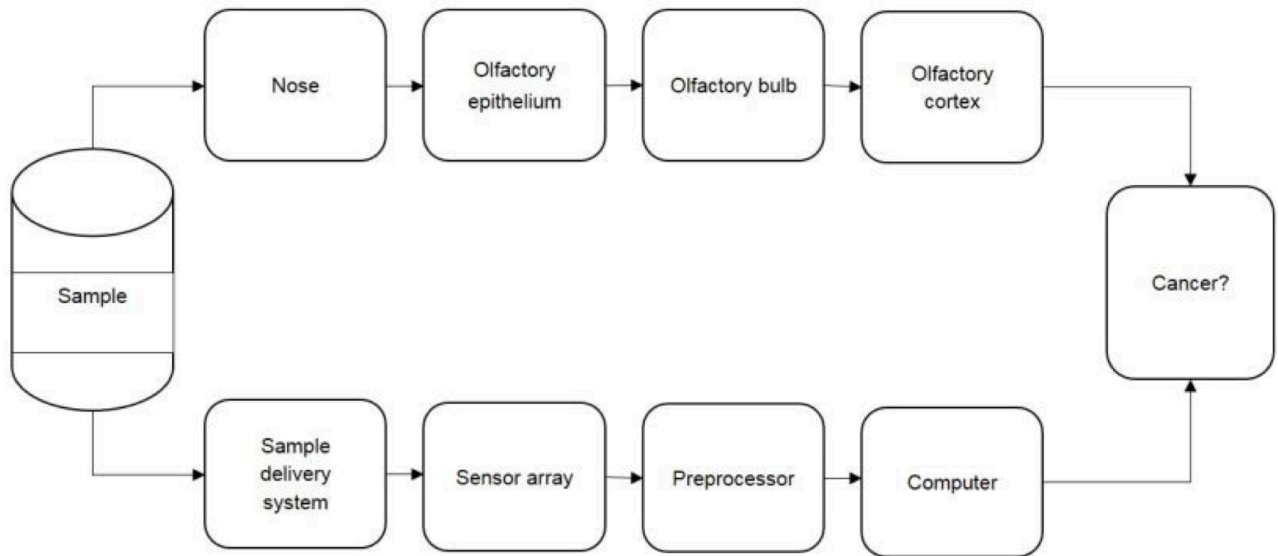
Gynekologisten syöpien osalta koirien hajudiagnostiikkaa on tutkittu suhteellisen vähän muihin maligniteetteihin verrattuna. Horvath et al. tutkivat koirien kykyä erotella munasarjasyöpiä muista gynekologisista kasvaimista tai kontrollikudoksista kudoksenäytteiden pohjalta (Hovarth et al. 2008) sekä toisessa tutkimuksessa plasmanäytteistä (Hovarth, Anderson et al. 2010) saavuttaen lähes 100%:n sensitiivisyyden ja spesifisyyden sekä kudoksenäytteiden että plasmanäytteiden suhteen. Horvath et al. (2013) tutki myös koirien kykyä ennustaa relapseja tutkimalla niiden kykyä havaita munasarjasyöpäpotilaat hoidon jälkeen.

Niin muiden maligniteettien kuin gynekologistenkin syöpien kohdalla koirien kyky havaita maligniteetit on ollut radiologisten kuvantamistutkimusten luokkaa, mutta koirien käyttöä käytännön diagnostiikassa rajoittavat kuitenkin useat seikat. Koirien luotettavan hajutyökentelyn saavuttamiseen vaadittava koulutusaika on pitkä ja runsaasti resursseja vaativa. Lisäksi koirat ovat diagnostikkoina suhteellisen alttiita erilaisille häiriötekijöille, minkä lisäksi niiden työikä koulutuksen jälkeen jää valitettavan lyhyeksi. Karvakuonoisten ystäviemme rajoitetun käytettävyyden mutta toisaalta koiratöiden erittäin lupaavien tutkimustulosten vuoksi mielenkiinto onkin kohdistunut eläinten koulutuksen sijaan elektronisen hajuaistin kehittämiseen. (Roine 2014)

3.3 eNose

eNose on normaalia nisäkkään hajuaistia jäljittelevä laitteisto, jonka perustana on hajuepiteelin toimintaperiaatteella toimiva sensoriikka. Hajuepiteelin tavoin eNosen hajusensorit ovat epäspesifejä, mutta toisin kuin normaali hajuepiteeli, elektroninen sensoriikka kykenee havaitsemaan myös hajuttomia kaasuja. eNosen multisensoriikan etuja on myös sen kyky tunnistaa kaasuseoksia ilman aikaisempaa kokemusta kyseisistä molekyyleistä. (Roine 2014). Ensimmäiset elektroniset nenät otettiin käyttöön jo 1980-luvulla, jonka jäl-

keen toimintaperiaate (kts. Kuva 2) on säilynyt samana, mutta elektronisen kehityksen myötä laitteistojen käytettävyys ja kapasiteetti ovat lisääntyneet valtavasti. (Roine 2014).



Kuva 2: eNosen toimintaperiaate hajuepiteeliin verrattuna. (Roine 2014)

eNosen data-analyysi tapahtuu neljässä osassa. Kaasunäyte syötetään laitteistoon filttarin läpi ja esitellään IMS-sensoreille. Tämän jäkeen näyte ionisoidaan ja sähkökentän avulla suunnataan kohti toista sähkökenttää, joka puolestaan aiheuttaa ionisoitujen molekyylien poikkeamisen kulkureitiltään kohti kentän päässä olevia detektoreita tuottaen sähkövarauksen. Näin tuotettu sähkövaraus tuottaa toivotun mittausdatan. (Roine 2014).

3.4 eNose ja gynekologiset syövät

Horvathin (Horvath et al. 2008) lupaavia tuloksia osoittaneiden koiratöiden jälkeen munasarjasyövät ja niiden haju ovat alkaneet kiinnostaa muitakin tutkijoita. Vuonna 2010 Horvath tutkimusryhmineen (Horvath, Chilo et al.) totesi, että munasarjasyöpäkasvaimista haihtuvat orgaaniset yhdisteet voivat olla tulevaisuudessa apuna syövän diagnostiikassa. Amal et al, (2014) keksi yhdistää kaasu-kromatografian ja massaspektrometrian ja tutki niiden avulla munasarjasyövän diagnostiikkaa uloshengitysilmaasta verrokkiryhminään munasarjasyöpää sairastavat, terveet kontrollipotilaat sekä potilaat, joilla oli diagnosoitu benigni gynekologinen neoplasia. Tutkimusryhmä löysi viisi eri hengitysilmaasta havaittavaa yhdistettä, joiden pitoisuudet olivat korkeampia syöpäpotilailla kuin muilla, ja joiden avulla

voi näin ollen olla mahdollista erottaa syöpäpotilaat terveistä ja benignin muutoksen omaavista potilaista.

3.5 Hypoteesit

3.5.1 Verrokki vs. hyvänlaatuinen kasvain

Tarkoituksena on verrata keskenään kontrollipotilaita eli potilaita, joilla ei ole munasarjakasvainta, potilaisiin, joilla on todettu hyvänlaatuinen munasarjakasvain, ja selvittää, onko hyvänlaatuisella kasvaimella jokin tunnistettava haju. Tutkimushypoteesi on, että hyvänlaatuinen munasarjakasvain erittää virtsaan tunnistettavaa hajua.

3.5.2 Hyvänlaatuinen vs. pahanlaatuinen kasvain

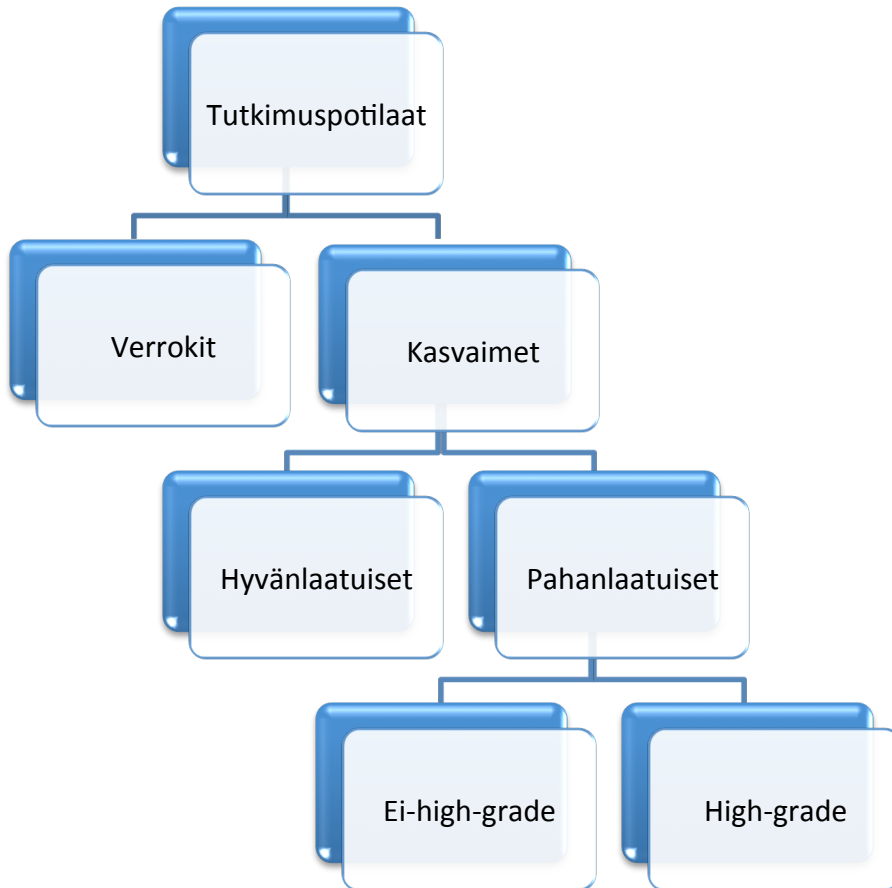
Tarkoituksena on verrata keskenään potilaita, joilla on hyvänlaatuinen munasarjakasvain, potilaisiin, joilla on minkä tahansa asteinen pahanlaatuinen munasarjakasvain, ja selvittää, eroavatko hyvän- ja pahanlaatuiset munasarjakasvaimet toisistaan. Tutkimushypoteesina on, että kasvaimet on mahdollista erottaa toisistaan hajun perusteella.

3.5.3 Hyvänlaatuinen vs. high-grade kasvain

Tarkoituksena on verrata keskenään potilaita, joilla on hyvänlaatuinen munasarjakasvain, potilaisiin, joilla on hyvin korkean riskin pahanlaatuinen munasarjakasvain. Tutkimushypoteesina on se, että pahanlaatuiset high-grade-munasarjakasvaimet erittävät vielä jotakin spesifistä ainetta, joka olisi mahdollista tunnistaa.

3.5.4 Ei-high-grade vs. high-grade-kasvain

Tarkoituksena on verrata keskenään potilaita, joilla on matalan riskin pahanlaatuinen munasarjakasvain, potilaisiin, joilla on korkean riskin pahanlaatuinen munasarjakasvain. Tutkimushypoteesi on, että high-grade-kasvaimet tuottavat virtsaan eri hajua kuin ei-high-grade-kasvaimet.



Kuva 3: Tutkimusryhmien jaottelu

4 Tutkimusmenetelmät

4.1 Potilasmateriaali

Tutkimuksessa käytetyt näytteet on kerätty Tampereen yliopistollisen keskussairaalan naistentautien klinikasta 24.5.-1.7.2014 terveiltä kontrollipotilailta (dg 0), jotka ovat hakeutuneet naistentautien klinikkaan virtsankarkailu- tai laskeumaleikkaukseen, sekä potilailta, jotka ovat tulleet klinikkaan lähetteellä munasarjan kasvaimen vuoksi. Jälkimmäiset jakautuvat vielä erikseen benignien (dg 1) ja malignien (dg 2) kasvainten ryhmään. Benignien kasvainten ryhmässä oli 15 potilasta, malignien kasvainten ryhmässä 20 ja terveitä potilaita 15. Kaikki näytteet kerättiin leikkauspäivän aamuna.

	Kaikki	Verrokki (dg 0)	Benigni (dg 1)	Maligni (dg 2)
Potilas lkm	50	15	15	20
Ikä ja keskihajonta	65,4 ±9,68	71,5± 8,85	61,1± 7,91	64,1± 9,59
Ikä: min - max (v)	51 - 87	55 - 82	51 - 73	51 - 87

4.2 Ionimobiliteettispektrometria (IMS)

Tutkimusnäytteet analysoitiin ionimobiliteettispektrometriaa hyödyntävällä ChemPro 100-laitteistolla. IMS-laitteisto koostuu ionisaattorista, joka nimensä mukaisesti ionisoi tutkimusnäytteenä toimivan kaasun. Ionisoitu kaasu kulkeutuu tämän jälkeen elektronisen gradientin läpi detektorille. IMS-laitteiston mittaama parametri on molekyylien jakaantuminen tilassa. Ionien mobiliteettiin vaikuttavia tekijöitä ovat muun muassa ionien massa, varaus, fyysinen koko sekä muoto. (Roine 2014).

IMS-laitteiston etuja ovat sen herkkyys ja lyhyet vasteajat sekä laitteiston pienen koon mahdollistava, ja näin ollen käytettävyyttä parantava matala energiankulutus. Lisäksi laitteisto toimii normaalissa ilmanpaineessa ja kykenee hyödyntämään ympäröivää ilmaa vä-

littäjäkaasuna. Se heikkouksia on kuitenkin samanaikainen häiriöherkkyys kosteuden suhteen. (Roine 2014)

4.3 Tilastolliset menetelmät

Erottelu on tehty käyttäen lineaarista (LDA) ja neliöllistä (QDA) diskriminanttianalyysiä sekä logistista regressiota. Tulokset on validoitu viisinkertaisella ristivalidoinnilla.

5 Tulokset

5.1 Verrokki vs. hyvänlaatuinen kasvain

50 potilaan joukosta hyvänlaatuinen kasvain oli 15 potilaalla, ja terveitä verrokkeja oli niin ikään 15. Paras analyysitulokset saavutettiin käyttäen QDA-analyysiä, jolla saavutettiin 86,7 % herkkyys ja 53,3 % tarkkuus. Analyysin virhemarginaali oli 44,8 % eli se erottelee 65,2 % todennäköisyydellä hajut toisistaan.

5.2 Hyvänlaatuinen vs. pahanlaatuinen kasvain

Hyvänlaatuinen kasvain oli 50 potilaan ryhmästä 15 potilaalla, pahanlaatuinen kasvain 20 potilaalla. Paras analyysitulokset saavutettiin käyttäen LDA-analyysiä, jolla saavutettiin 70,0 % herkkyys ja 60,0 % tarkkuus.

5.3 Hyvänlaatuinen vs. high-grade kasvain

Paras tulos saavutettiin käyttäen LDA-analyysiä, jolla saavutettiin 33,3 % herkkyys ja 86,7 % tarkkuus.

5.4 Ei-high-grade vs. high-grade kasvain

Paras tulos saavutettiin käyttäen LDA-analyysiä, jolla saavutettiin 16,7 % herkkyys ja 64,3 % tarkkuus.

6 Pohdinta

Munasarjasyövän diagnostiikka on haastavaa, sillä kasvaimia on hyvin monenlaisia ja merkittävän ryhmän muodostavat ns. borderline-kasvaimet, joita ei suoraan voi luokitella joko hyvän- tai pahanlaatuisiksi.

Munasarjasyövän diagnostiikassa on aiemmin tutkittu CA-125:n roolia. CA-125 on seerumista mitattava kasvainmerkkiaine, niin sanottu syöpäantigeeni, joka on epäspesifi, mutta herkkä. JAMA julkaisi 2011 RCT-tutkimuksen CA-125:n ja transvaginaalisen ultraäänen käytöstä munasarjasyöpäkuolleisuuden vähentäjänä. Tutkimuksessa todettiin, että seulonta ultraäänen ja syöpämarkkerin avulla ei vähentänyt munasarjasyövän kuolleisuutta. Sen sijaan väärät positiiviset tulokset ja niistä seuranneet lisätutkimukset lisäsivät komplikaatioita.

Syöpädiagnostiikan kiinnostavimpia ulottuvuuksia on koiratöistä alkunsa saanut elektroninen hajudiagnostiikka. Vaikka koiratöiden sensitiivisyyden ja spesifisyyden on todettu yltävän jopa radiologisten kuvantamistutkimusten tasolle, rajoittavat eläinten diagnostista käyttöä koulutuksen vaatimat resurssit sekä muut inhimilliset rajoitteet eläinten häiriöherkkyydestä aina suhteellisen lyhyeksi jäävään työikään. Siksi tarve samaa diagnostista menetelmää kliinisemmin toteuttavalle elektroniselle laitteistolle on olemassa.

Toistaiseksi elektroniseen haisteluun perustuvia tutkimuksia syövän diagnostiikassa on tehty niukasti, mutta tulokset ovat olleet lupaavia. Merkittäviä tuloksia saivat esimerkiksi Haitham et al. (2014) tutkimuksessaan kaasumaisista yhdisteistä, joiden avulla munasarjasyöpä voidaan diagnosoida potilaan uloshengitysilmaa analysoimalla. Erityisesti erottelu kasvainpositiivisten ja kasvaimettomien potilaiden välillä onnistui merkittäväällä herkkyydellä (79%) ja tarkkuudella (100%).

Tämän tutkimuksen elektronisen laitteiston osalta erottelu onnistui parhaiten, kun verrattiin eri kasvaimia ja malleista kasvaimista vertailuun otettiin vain high-grade-taudit; tällöin väärin positiivisten määrä oli pieni. Pahanlaatuisuuteen voidaan siis ajatella liittyvän oma

hajunsa. Tämän asetelman rajoituksena oli kuitenkin näytteiden vähäisyys. Toisaalta pahanlaatuisten kasvainten erottelu toisistaan high-grade- ja ei-high-grade -muotoihin oli hyvin epäherkkä, arvauksen tasoa.

Verrokkipotilaiden ja hyvänlaatuista kasvaintautia sairastavien potilaiden näytteet vaikuttivat eroavan jonkin verran. Tämän taustalla voi olla joko ryhmien demografiset erot (verrokkit hieman vanhempia) tai se, että kasvain muuttaa virtsan hajuprofiilia jollakin tapaa.

Hyvänlaatuisten kasvaimien erottelu pahanlaatuisista onnistui kohtalaisesti. Tämä viittaa siihen, että pahanlaatuisen kasvaimen olemassaolo vaikuttaa virtsan hajuprofiiliin ja munasarjasyövän havaitseminen virtsasta voisi olla mahdollista.

7 Johtopäätökset

eNose laitteisto toimi munasarjasyövän diagnostiikassa parhaiten eroteltaessa benignejä kasvaimia maligneista, high-grade -tyyppisistä kasvaimista. Huonoiten erottelu onnistui maligniteettien sisäisessä erottelussa. Tutkimuksen perusteella, on todennäköistä että kasvainten haju välittyy virtsaan mutta menetelmää tulee kehittää jotta siitä saadaan huomattavasti tarkempi.

8 Tulevaisuudennäkymät

Tämän tutkimuksen keskeisimmät rajoitukset olivat pieni aineisto ja laitteiston kehittymättömyys. Elektronisen nenän imuilman suodattamista varten kehitettyä kaasukiertoa ei ollut vielä tutkimusta tehdessä otettu käyttöön. On odotettavissa, että näillä muutoksilla elektronisen nenän suorituskykyä voidaan parantaa.

Jatkossa tullaan entistä tarkemmin selvittämään, soveltuuko eNose munasarjasyövän diagnostiikkaan. Aineistoa laajennetaan, näytteenottoa kehitetään ja sensorille tuleva imuilma pyritään suodattamaan kohinaa aiheuttavista molekyyleistä. Myös sensoria tullaan jatkossa kehittämään ja kokeilemaan erilaisia vaihtoehtoja.

Elektronista nenää on sovellettu jo muun muassa eturauhassyövän diagnostiikassa. Jatkossa eNosen soveltuvuutta muiden syöpien diagnostiikkaan tullaan laajemmin tutkimaan.

Lähteet

- Amal, H, Shi, D., Ionescu R, Zhang W, Hua Q. et al. Assessment of ovarian cancer conditions from exhaled breath. *International Journal of Cancer* 2015 Vol 136, Issue 6: E614-E622.
- Gadducci A, Ferdeghini M, Rispoli G, Prontera C, Bianchi R, Fioretti P. Comparison of tumor-associated trypsin inhibitor (TATI) with CA125 as a marker for diagnosis and monitoring of epithelial ovarian cancer. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1991; 207:19-24.
- Gerner E, Meyskens F. Polyamines and Cancer: Old Molecules, New Understanding. *Nature Reviews* 2004; 4: 781-792.
- Grenman S, Leminen A. Munajohdinsyöpä ja munasarjan kasvaimet. Kirjassa: Joensuu H, Roberts P, Kellokumpu-Lehtinen P, Jyrkkiö S, Kouri M, Teppo L, toim. Syöpätaudit. Helsinki: Duodecim 2013, s.642-53.
- Horvath, G, af Klinteberg Järverud G, Järverud S, Horváth I. Human Ovarian Carcinomas Detected by Specific Odor. *Integrative Cancer Therapies* 2008.
- Horvath G, Andersson H, Paulsson G. Characteristic odour in the blood reveals ovarian carcinoma. *BMC Cancer* 2010, 10:643.
- Horvath G, Chilo J, Lindblad T. Different volatile signals emitted by human ovarian carcinoma and healthy tissue. *Future Oncol.* 2010 Jun;6(6):1043-9.
- Häkkinen M, Roine A, Auriola S, Tuokko A, Veskimäe E et al. Analysis of free, mono- and diacetylated polyamines from human urine by LC-MS/MS. *Journal of Chromatography B* 941 2013, s.81-89
- Leminen A, Loukovaara M. Munasarja- ja munanjohdinkasvaimet. Kirjassa: Ylikorkala O, Tapanainen J, toim. Naistentaudit ja synnytykset. Helsinki: Duodecim 2011, s. 240-253.
- Munasarjasyöpä (online). Käypä hoito -suositus. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Gynekologiyhdistyksen asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim, 2012 (viitattu 19.3.2015). Saatavilla Internetissä: www.käypähoito.fi
- Paavonen, J. Gynekologiset infektiot. Kirjassa: Ylikorkala O, Tapanainen J, toim. Naistentaudit ja synnytykset. Helsinki: Duodecim 2011, s.297.
- Patsner B and Mann WJ. The value of preoperative serum CA 125 levels in patients with a pelvic mass. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159:873-6.
- Pukkala E, Sankila R, Rautalahti M. Syöpä Suomessa 2011. Suomen Syöpäyhdistyksen julkaisu nro 83 (pdf). Suomen syöpäyhdistys 2011.
- Roine, A. Novel Spectrometric Methods in Detection of Prostate Cancer and Urinary Tract Infection. Väitöskirja. *Acta Universitatis Tampereensis* 2014.
URL: <http://tampub.uta.fi/bitstream/handle/10024/95395/978-951-44-9470-3.pdf?sequence=1>
- Williams, H. & Pembroke, A., 1989. Sniffer dogs in the melanoma clinic? *Lancet*, 1(8640), p.734.