



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

PATRICK NUNES PEREIRA

USO DE MODELOS PREDITIVOS DE MALIGNIDADE POR
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA, ULTRASSONOGRRAFIA E
BIOMARCADORES SÉRICOS NA DIFERENCIAÇÃO DAS MASSAS
ANEXIAIS

*USE OF MALIGNANCY PREDICTIVE MODELS BASED ON MAGNETIC
RESONANCE, ULTRASONOGRAPHY AND SERUM BIOMARKERS IN THE
DIFFERENTIATION OF ADNEXAL MASSES*

CAMPINAS

2021

PATRICK NUNES PEREIRA

USO DE MODELOS PREDITIVOS DE MALIGNIDADE POR
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA, ULTRASSONOGRRAFIA E
BIOMARCADORES SÉRICOS NA DIFERENCIAÇÃO DAS MASSAS
ANEXIAIS

*USE OF MALIGNANCY PREDICTIVE MODELS BASED ON MAGNETIC
RESONANCE, ULTRASONOGRAPHY AND SERUM BIOMARKERS IN THE
DIFFERENTIATION OF ADNEXAL MASSES*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a
obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde, na área de
Oncologia Ginecológica e Mamária.

ORIENTADOR: Prof. Dr. LUÍS OTÁVIO ZANATTA SARIAN

COORIENTADOR: Prof. Dra. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA
PELA ALUNO PATRICK NUNES PEREIRA, E ORIENTADO PELO PROF. DR. LUÍS
OTÁVIO ZANATTA SARIAN.

CAMPINAS

2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

P414u Pereira, Patrick Nunes, 1983-
Uso de modelos preditivos de malignidade por ressonância magnética, ultrassonografia e biomarcadores séricos na diferenciação de massas anexiais / Patrick Nunes Pereira. – Campinas, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Luís Otávio Zanatta Sarian.
Coorientador: Sophie Françoise Mauricette Derchain.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Ovário. 2. Ressonância magnética. 3. Ultrassonografia. 4. Antígeno Ca-125. 5. Antígeno carcinoembrionário. I. Sarian, Luís Otávio Zanatta, 1974-. II. Derchain, Sophie Françoise Mauricette, 1959-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Use of malignancy models based on magnetic resonance, ultrasonography and serum biomarkers in the differentiation of adnexal masses

Palavras-chave em inglês:

Ovary

Magnetic resonance

Ultrasonography

CA-125 antigen

Carcinoembryonic antigen

Área de concentração: Oncologia Ginecológica e Mamária

Titulação: Doutor em Ciências da Saúde

Banca examinadora:

Luís Otávio Zanatta Sarian [Orientador]

Daniella Braz Parente

Francisco José Candido dos Reis

João Renato Bennini Junior

Luiz Gustavo Oliveira Brito

Data de defesa: 02-09-2021

Programa de Pós-Graduação: Tocoginecologia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-4621-8537>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/2453098988716572>

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

PATRICK NUNES PEREIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. LUÍS OTÁVIO ZANATTA SARIAN

COORIENTADOR: PROF. DRA. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN

MEMBROS:

1. PROF. DR. LUÍS OTÁVIO ZANATTA SARIAN

2. PROFA. DRA. DANIELLA BRAZ PARENTE

3. PROF. DR. FRANCISCO JOSÉ CANDIDO DOS REIS

4. PROF. DR. JOÃO RENATO BENNINI JUNIOR

5. PROF. DR. LUIS GUSTAVO OLIVEIRA BRITO

Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa na FCM.

DATA DA DEFESA: 02/09/2021

Dedico esse trabalho:

A Deus, nosso Pastor.

Aos meus pais José e Carmélia, que sempre se doaram completamente para eu chegar até aqui.

Aos meus irmãos amados Priscila e Juliano, meus exemplos e frutos da mesma
Árvore tão generosa.

à minha família (Pri, Lucas, Mateus e Teresa).

AGRADECIMENTOS

Ao meu professor e orientador Dr. Luís Otávio que com toda a sagacidade conduziu-me durante essa pesquisa.

À Doutora Sophie Derchain, que me orientou corajosamente no mundo acadêmico.

À Doutora Adriana Yoshida, sem a qual seria impossível realizar essa pesquisa. É um exemplo de pessoa e médica para mim.

A todos funcionários do Caism e do Hospital Estadual de Sumaré que possibilitaram realizar esse trabalho.

Às pacientes dessa pesquisa, que em um momento de fragilidade, confiaram em mim.

“Combati o bom combate, acabei a carreira, guardei a fé. Desde agora, a coroa da justiça me está guardada, a qual o Senhor, justo juiz, me dará naquele dia; e não somente a mim, mas também a todos os que amarem a Sua vinda.”

2 Timóteo 4.7-8

RESUMO

Introdução: O diagnóstico pré-operatório das massas anexiais é de fundamental importância para o correto referenciamento: as massas malignas devem ser referenciadas para centro terciários enquanto massas benignas podem ser manejadas em centros secundários ou primários. Outra questão relevante é a diferenciação em tumores ovarianos dos não ovarianos, pois tumores anexiais não ginecológicos devem ser encaminhados para centros especializados.

Objetivo: Comparar os modelos preditivos de malignidade ultrassonográficos e de ressonância magnética do grupo *International Ovarian Tumor Analysis* (IOTA) – Regras Simples, Risco de Regras Simples e escore de Ressonância Magnética (O-RADS MRI). Adicionalmente, avaliar se a avaliação ultrassonográfica inicial, os parâmetros de Ressonância Magnética e a relação CA125/CEA possuem um papel na diferenciação de tumores ovarianos dos não ovarianos.

Métodos: Para o primeiro artigo, foram selecionadas no período de fevereiro de 2014 a fevereiro de 2016, as mulheres direcionadas ao ambulatório de Oncologia Pélvica – Ovário, do Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti da Universidade Estadual de Campinas, pela presença de tumor anexial descoberto em exame clínico e/ou de imagem prévio. No primeiro artigo, foram incluídas 171 pacientes e foram comparados os desempenhos de cinco abordagens distintas no diagnóstico pré-operatório, utilizando-se a análise de curvas de decisão. As cinco abordagens foram: 1-Regras Simples, referindo todos os casos indeterminados; 2-Risco das Regras Simples, com ponto de corte de 30%; 3- Regras Simples, seguidas de Avaliação Subjetiva por examinador experiente para os casos indeterminados; 4- Regras Simples seguidas do escore de Ressonância Magnética para os casos indeterminados e, 5- escore de Ressonância Magnética para todos os casos. No segundo artigo, foram avaliadas 159 pacientes com massas anexiais com diagnóstico histopatológico, incluídas no período entre outubro de 2011 a setembro de 2020. Foram avaliados se a impressão ultrassonográfica inicial, os parâmetros de RM e os biomarcadores séricos foram úteis na estratificação de massa anexial ovariana de não-ovariana.

Resultados: No artigo 1, a análise de curvas de decisão mostrou que aplicar o escore da Ressonância Magnética para todas as mulheres com massas anexiais mostrou o maior benefício líquido em todos os limiares de risco. No artigo 2, a impressão ultrassonográfica inicial de massa anexial ovariana ou não-ovariana (OR = 26,3; <0,001) e a relação CA125/CEA < 25 (OR = 0,24; p = 0,02) foram significativamente associados às massas anexiais não-ovarianas. O sinal na sequência em difusão (ausente / baixo versus alto) foi o único parâmetro de RM significativamente associado a massas anexiais não-ovarianas (OR= 0.26; p = 0,019).

Conclusão: Defronte a um resultado ultrassonográfico indeterminado para a massa anexial, a aplicação do escore da Ressonância Magnética O-RADS MRI mostrou o maior benefício líquido, independente do limiar de risco. Mulheres com massa anexial que apresentam alto sinal de difusão (*restrição à difusão*) na Ressonância Magnética e uma razão CA125/CEA baixa (<25) apresentaram uma alta probabilidade de ter um tumor anexial de origem não ovariana, após impressão ultrassonográfica inicial.

Palavras-chave: Ovário. Ressonância Magnética. Ultrassonografia. Antígeno Ca-125. Antígeno Carcinoembrionário.

ABSTRACT

Introduction: The preoperative diagnosis of the adnexal masses is crucial to the correct referral of the patient: malignant masses should be referred to tertiary centers, while benign masses can be managed in secondary or primary centers. Another relevant issue is the differentiation into ovarian from non-ovarian tumors, as non-gynecological adnexal tumors must be referred to specialized centers.

Objective: To compare the malignancy predictive models of ultrasound and magnetic resonance of the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) group - Simple Rules, Simple Rules Risk and Magnetic Resonance score (O-RADS MRI) to determine which women should be referred to treatment in cancer centers. In addition, to evaluate whether the initial ultrasound assessment, the Magnetic Resonance parameters and the CA125 / CEA ratio play a role in differentiating between ovarian from non-ovarian tumors.

Methods: For the first article, women referred to the Pelvic Oncology Outpatient Clinic - Ovary, from the Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti of the State University of Campinas due to the presence of an adnexal tumor previously identified in clinical and / or imaging exam were included from February 2014 to February 2016. In the first article, 171 patients were included and the performances of five different preoperative diagnosis approaches were compared, using the analysis of decision curves. The five approaches were: 1-Simple Rules, referring to cancer centers all indeterminate cases; 2- Simple Rules Risk, with a cut-off point of 30%; 3- Simple Rules, followed by Subjective Assessment by an experienced examiner for indeterminate cases; 4- Simple rules followed by the Magnetic Resonance score for indeterminate cases and, 5- Magnetic Resonance score for all cases. In the second article, 159 patients with adnexal masses with histopathological diagnosis were included between October 2011 and September 2020. It was evaluated whether the initial ultrasound impression, MRI parameters and serum biomarkers were useful in the discrimination of ovarian from non-ovarian adnexal mass.

Results: In the first article, the analysis of decision curves showed that applying the Magnetic Resonance score to all women with adnexal masses showed the best net benefit across all risk thresholds. In article 2, the initial ultrasound impression of ovarian versus non-ovarian adnexal mass (OR = 26.3; <0.001) and CA125 / CEA ratio <25 (OR = 0.24; p = 0.02) were significantly associated with non-ovarian adnexal masses. Signal in the diffusion sequence (absent / low versus high) was the only MR parameter significantly associated with non-ovarian adnexal masses (OR = 0.26; p = 0.019).

Conclusion: Faced with an indeterminate ultrasound result for the adnexal mass, the application of the MRI O-RADS MRI score showed the greatest net benefit, regardless of the risk threshold. Women with adnexal mass who have a high diffusion signal (diffusion restriction) on MRI and a low CA125/CEA ratio (<25) have a high probability of having an adnexal tumor of non-ovarian origin after initial ultrasound impression.

Key-words: Ovary. Magnetic Resonance. Ultrasonography. Carcinoembryonic Antigen. CA-125 Antigen.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADC- Apparent diffusion coefficient - Coeficiente de difusão aparente
AUC - Area under curve - área sob a curva
BI-RADS – Breast imaging report and data system
Caism – Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher Hospital Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti
EV – Endovenoso
GE – *General Electric*
IC - Intervalo de confiança
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IOTA - *International Ovarian Tumor Analysis*
MRI – *Magnetic Resonance Imaging*
OR – *Odds ratio*
O-RADS MRI – Ovarian-Adnexal Reporting Data System Magnetic Resonance Imaging
RM – Ressonância magnética
ROI - Region of Interest - região de interesse
RS – Regras Simples ultrassonográficas do IOTA
RVP - Razão de verossimilhança positiva
RVN - Razão de verossimilhança negativa
SRRisk – Risco das RS
Unicamp – Universidade Estadual de Campinas
US – Ultrassonografia
USTV – Ultrassonografia transvaginal
VEGFR – Receptor de fator de crescimento endotelial vascular
VPP - Valor preditivo positivo
VPN - Valor preditivo negativo

SUMÁRIO

PÁGINA

1.INTRODUÇÃO.....	12
2.OBJETIVOS.....	24
3.MÉTODOS.....	25
4.RESULTADOS.....	44
5.DISSCUSSÃO GERAL	79
6.CONCLUSÃO	85
7.REFERÊNCIAS.....	87
8.APÊNDICES.....	90
9.ANEXOS.....	91

1. Introdução

No Brasil, pelas estimativas do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, foram estimados 6.650 casos novos de câncer de ovário, para o ano de 2020, com uma taxa bruta calculada de 6,18 casos novos a cada 100 mil habitantes. Foram estimados para 2020, 1.590 casos novos no estado de São Paulo, o maior número entre todos os outros estados brasileiros. Excetuando os tumores da pele não melanoma, o câncer de ovário é o sétimo mais incidente em mulheres em nosso país(1).

Apesar dos avanços da cirurgia, quimioterapia e imunoterapia ao longo dos anos, 65% dos carcinomas de ovário são diagnosticados nos estágios III e IV quando a sobrevida em 5 anos não ultrapassa 41% e 20% respectivamente (2). Não existe até os dias atuais, nenhum programa efetivo de rastreamento de câncer de ovário que impacte positivamente na redução da mortalidade, e que não aumente o risco de cirurgias desnecessárias e suas morbidades relacionadas. A falta de sintomas e sinais mais precoces, aliada a ausência de métodos de rastreamento leva a descoberta da doença em estágios mais avançados, acarretando na alta letalidade por esta neoplasia(3–5).

As massas anexiais podem ser oriundas dos ovários, tubas uterinas ou tecidos adjacentes e são um achado incidental frequente em exames de imagem pélvica. Menos comumente, as massas anexiais são descobertas durante o exame físico ou na investigação de dor pélvica aguda ou intermitente (6).

Principais diagnósticos diferenciais das massas anexiais (6)

Ginecológica Benigna	Ginecológica Maligna
Cisto Funcional	Carcinomas
Endometrioma	Tumor células germinativos
Teratoma maduro	Tumor do cordão Estromal
Cistoadenoma	
Hidrossalpinge	
Anomalias <i>Mullerianas</i>	
Não ginecológica benigna	Não ginecológica Maligna
Abscesso apendicular ou mucocele	Cânceres do trato gastrointestinal
abscesso diverticular	Sarcoma retroperitoneal
tumores bainha nervosa	Doença linfoproliferativa
divertículo ureteral	Metástases
rim pélvico	
divertículo bexiga	

A paciente com massa anexial benigna, pode ser operada pelo ginecologista geral, de acordo com a sintomatologia, tamanho ou crescimento do tumor, utilizando-se técnicas de cirurgia minimamente invasiva. É importante notar que para as mulheres sem prole constituída, existe a preocupação com a preservação da fertilidade e, um diagnóstico pré-operatório preciso é fundamental para o planejamento cirúrgico prévio (6). Há ainda a possibilidade de seguimento clínico das pacientes assintomáticas, com tumores classificados

como benignos, que não apresentam crescimento nos exames de imagem e possuem dosagem de marcador tumoral sérica normal. Entretanto, não está estabelecida a periodicidade com que estas mulheres devem ser reavaliadas, nem a duração de tempo ideal de seguimento para que a suspeita de malignidade seja completamente afastada, nem o ponto de corte de malinidade do marcador tumoral CA125 (6). Infere-se que quanto mais longo o tempo de seguimento, com a estabilidade de achados ao exame de imagem, maior a chance de que o tumor seja histologicamente benigno, sendo o tempo mínimo necessário de seguimento de 12 meses. No caso de mudança de classificação do tumor de benigno para maligno nos exames de imagem, crescimento do tumor ou ainda de acordo com a sintomatologia da paciente, a cirurgia é indicada (7,8).

A exclusão de malignidade através de exames pré-operatórios é crucial para uma adequada triagem e planejamento do tratamento. Diante de uma mulher portadora de massa anexial com suspeita de malignidade, é necessário que a mesma seja encaminhada para o cirurgião oncologista ginecológico (6). Uma metanálise de 3 estudos envolvendo 9.041 mulheres mostrou que mulheres com câncer de ovário que receberam tratamento em centro oncológico especializado com cirurgiões oncologistas ginecológicos apresentaram uma melhor sobrevida do que aquelas que receberam tratamento em hospitais gerais não especializados, sendo o risco de morte comparado, *hazard ratio* (HR) 0,90; intervalo de confiança de 95% (IC95%): 0,82 a 0,99. A otimização no estadiamento cirúrgico e na citorredução completa realizadas nos centros especializados, sem aumentar as taxas de complicações graves, se refletem na elevação das taxas de sobrevida (9).

O ultrassom (US) transvaginal é geralmente o primeiro exame de imagem solicitado para investigar as massas anexiais, devido a sua habilidade para caracterizar a maioria das lesões(10). Diversos modelos preditivos de malignidade baseados em US foram desenvolvidos e vêm sendo avaliados nos últimos anos. As Regras Simples, descritas em 2008 pelo grupo de pesquisadores do *International Ovarian Tumor Analysis* (IOTA) são constituídas por cinco características ultrassonográficas indicativas de tumor benigno e cinco características malignas indicativas de tumor maligno, que são baseadas na presença de ascite, morfologia do tumor e o grau de vascularização no US(11).

Regras Simples ultrassonográficas (11)

Critérios Benignos		Critérios Malignos
B1 - Cisto unilocular		M1 - Tumor sólido irregular
B2 - Tecido sólido < 7 mm		M2 - Ascite
B3 - Sombra acústica		M3 - ≥ 4 projeções sólidas
B4- Cisto multilocular, paredes lisas < 10 cm		M4 - Cisto multilocular sólido, paredes irregulares e ≥ 10 cm
B5 - Sem fluxo ao Doppler		M5 intenso fluxo ao Doppler
Para ser classificada como benigna pelas regras simples ultrassonográficas, a lesão anexial precisa exibir pelo menos um critério benigno e nenhum critério maligno.		
Para ser classificada como maligna pelas regras simples, a lesão precisa exibir pelo menos um critério maligno e nenhum critério benigno.		

Nas lesões com critérios benignos e malignos ou sem nenhum critério benigno ou maligno, as regras simples são inconclusivas, o que ocorre em 24% dos casos.

Diante de um resultado inconclusivo pelas regras simples, pode-se recorrer a avaliação subjetiva (AS) do examinador experiente em patologia anexial, ou então, devido à alta prevalência de malignidade neste grupo, pode-se considerá-lo como maligno (11).

A AS, ou reconhecimento de padrões, é uma técnica subjetiva utilizada por um examinador experiente em US ginecológico que apresenta uma excelente performance na diferenciação de massas anexiais no pré-operatório. Profissionais com este grau de expertise técnica e experiência são encontrados nos grandes centros terciários, mas podem não estar disponíveis fora destes hospitais (12,13). A revisão sistemática e meta-análise de Meys et al. (13) envolveu 47 artigos, que avaliaram 19.674 tumores anexiais, 70,9% benignos e 29,1% malignos. As ASs pelos examinadores experientes apresentaram um melhor desempenho, com sensibilidade agrupada de 0,93 (IC95% 0,92 a 0,95) e especificidade agrupada de 0,89 (IC95% 0,86 a 0,92) quando comparada aos outros modelos preditivos de malignidade baseados em ultrassonografia como as Regras Simples, *Risk of Malignancy Index* (RMI), e Regressão Logística 2. É importante ressaltar que, diante de resultado inconclusivo após a aplicação das Regras Simples, a AS realizada subsequentemente por examinador experiente obteve a sensibilidade agrupada de 0,91 (IC95% 0,89 a 0,93) e a especificidade agrupada de 0,91 (IC95% 0,87 a 0,94) (13).

O Risco de Regra Simples (RRS) do grupo IOTA é outro modelo preditivo de malignidade baseado em US, que tem a vantagem de estimar um risco numérico de malignidade para a massa anexial avaliada, diferentemente das RS. Ele se baseia nas 10 características das RS e também no tipo de centro de realização do US, oncológico ou não oncológico (14). O estudo multicêntrico internacional de Timmerman et al. (14) que descreveu e avaliou o modelo de RRS incluiu 4.848 pacientes, provenientes de centros oncológicos e outros hospitais. A porcentagem de malignidade foi de 43% nos centros oncológicos e 17% nos outros centros. A área sob curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) foi semelhante em centros oncológicos (0,917; IC95%, 0,901 a 0,931) e em outros centros (0,916; IC95%, 0,873 a 0,945). No total, 23% das pacientes do grupo de validação tiveram um risco de malignidade estimado muito baixo <1%, e 48% tiveram um risco muito alto ($\geq 30\%$). Para um ponto de corte de 1% de risco, a sensibilidade foi de 99,7% a especificidade de 33,7%, o valor preditivo positivo (VPP) de 44,8% e o valor preditivo negativo (VPN) foi de 98,9%. Para um ponto de corte de 30% de risco, a sensibilidade foi de 89%, a especificidade de 84,7%, o VPP de 75,4% e o VPN de 93,9% (14).

Por outro lado, a Ressonância Magnética (RM) pélvica é um exame de imagem indicado para avaliar o tumor anexial cujo laudo foi indeterminado pelo US transvaginal, segundo a recomendação da *European Society of Urogenital Radiology* (ESUR) (15). Não há uma única definição conceitual para uma massa anexial indeterminada ao US, mas ela pode ser uma lesão na pelve cuja origem anatômica é indeterminada, ou uma lesão anexial com componentes de partes moles interno avascular ou com septos irregulares; ou ainda um

endometrioma, cisto dermóide ou cisto hemorrágico de aparência não clássica (10).

As lesões anexiais indeterminadas representam um dilema para toda a equipe que assiste a paciente. Ao se operar a paciente com lesão pélvica indeterminada, existe um risco de se realizar uma cirurgia desnecessária. Por outro lado, caso se opte por seguimento, pode-se perder a “janela” de oportunidade de se diagnosticar um câncer em estágio inicial. Existe ainda o risco da paciente ser submetida ao procedimento cirúrgico realizado pelo não especialista, no caso de um exame falso negativo ou uma lesão de origem não ovariana (10).

Ademais, outras contribuições importantes da RM são o seu elevado valor preditivo negativo, fundamental para o seguimento da paciente ou para indicação de cirurgia a ser realizada pelo ginecologista geral, devido a lesões benignas na RM (16); e a sua elevada especificidade, importante para o diagnóstico de câncer, sobretudo nos casos de câncer de ovário em estágio inicial, ou algum tipo mais raro de tumor ovariano, auxiliando na escolha entre seguimento ou avaliação com o cirurgião oncologista ginecológico (10).

Em 2013, Thomassin-Naggara et al. (7) apresentaram um sistema de avaliação de lesões anexiais que combina imagens de RM anatômicas e funcionais, para atribuir um escore numérico. Este sistema foi chamado inicialmente de *ADNEX MR SCORING*, com cinco categorias distintas (escores de 1 a 5), porém mais recentemente passou a ser denominado *Ovarian-Adnexal Reporting Data System Magnetic Resonance Imaging (O-RADS MRI)* (17). Esse algoritmo diagnóstico foi desenvolvido para simplificar e uniformizar o laudo radiológico dos exames de RM direcionados para avaliação de lesões anexiais, de forma

a oferecer ao médico assistente, as informações essenciais para o manejo clínico/cirúrgico mais adequado dessas pacientes, à semelhança do BI-RADS (*Breast Imaging Report and Data System*), cujo resultado está ligado à conduta clínica de lesões mamárias. Nesse escore diagnóstico, quando não se identifica lesão anexial suspeita o escore é 1, lesões anexiais quase certamente benignas são enquadradas como escore 2, lesões com baixo risco como escore 3; enquanto lesões com moderado risco como escore 4, e, finalmente, lesões com alto risco de malignidade como escore 5 (18). É importante ressaltar que a categoria “lesões malignas” inclui os tumores *borderline*, os tumores malignos de ovário de baixo e alto grau; todas as outras lesões são consideradas benignas (10).

Algoritmo ADNEX MR SCORING / O-RADS MRI SCORING (17)

<u>CATEGORIA</u>	<u>CRITÉRIOS</u>	<u>VPP*</u> <u>malignidade</u>
1: sem massa	ovários normais	0
2: massa quase certamente benigna	massa puramente cística, massas com gordura, endometrioma, ausência de realce parietal ou baixo sinal em T2	<0,5 %
3: massa com baixo risco	ausência de porção sólida ou curva dinâmica tipo I dentro da porção sólida	5%
4: massa com moderado risco	curva dinâmica tipo II dentro da porção sólida	50%
5: massa com alto risco	curva dinâmica tipo III dentro da porção sólida ou implantes peritoneais	90 %

*VPP = valor preditivo positivo

No estudo inicial (7), o *ADNEX MR SCORING* apresentou desempenhos excelentes no diagnóstico de malignidade tanto para o examinador com 8 anos de experiência em RM pélvica (AUC 0,96) quanto para o examinador com apenas 1 ano de experiência neste mesmo tipo de RM (AUC 0,94) na população de validação. Os escores 4 e 5 foram associados à malignidade, com uma sensibilidade de 93,5% (58 de um total de 62 tumores ovarianos e não ovarianos malignos) e especificidade de 96,6% (258 de um total de 267 tumores ovarianos ou outras condições benignas), portanto inferindo que pacientes com escores 4 e 5 deveriam ser encaminhadas para centros terciários, ao passo que, aquelas com o escore 3, no qual o risco de malignidade é mínimo, poderiam ser submetidas a seguimento, ou poderiam ser operadas pelo ginecologista geral em centros secundários (7).

Uma outra questão fundamental para a prática clínica é a diferenciação de massas pélvicas originárias do ovário, as massas pélvicas extra-ovarianas, e as metástases de outros órgãos nos ovários. Estima-se que 7% das massas ovarianas são metástases de outros órgãos (19). Diante da suspeita de neoplasia de origem extra-ovariana, seja pelo antecedente de tratamento de neoplasia prévia, ou por determinadas características dos exames de imagem, como bilateralidade, ausência de ascite; são necessários diversos exames complementares como endoscopia digestiva alta, colonoscopia, mamografia, tomografias de abdome superior, etc para avaliação do sítio primário, já que os tumores não ginecológicos que mais frequentemente metastatizam para os ovários são os de mama, colorretal, gástrico e de apêndice (19,20). Idealmente, a diferenciação precisa da origem do tumor é de fundamental importância para o correto encaminhamento ao especialista, e uma combinação de cirurgia

citoreduzora com quimioterapia adjuvante e/ou quimioterapia intraperitoneal hipertérmica podem ser necessárias para tratar neoplasias do trato gastrointestinal (20). Entretanto, nem sempre o diagnóstico por imagem no pré-operatório de um tumor de origem não ovariano é facilmente realizado, mesmo utilizando-se a RM que apresenta uma alta precisão na avaliação da morfologia interna das massas ovarianas (18). Algumas características clássicas como bilateralidade, tumores ovarianos de pequenas dimensões e sólidos, são típicas de metástases ovarianas de câncer de mama, por exemplo. As metástases ovarianas de câncer colorretal são predominantemente císticas, podendo ser bilaterais, e na maioria dos casos cursam sem o comprometimento peritoneal concomitante. Porém, muitas vezes as características de tumores metastáticos se sobrepõem àquelas encontradas nos exames de imagem de tumores primários do ovário, acarretando no diagnóstico de metástase ovariana somente após o exame histopatológico do material obtido em cirurgia realizada por outra especialidade (19,20).

Por sua vez, na prática clínica os marcadores tumorais séricos são utilizados frequentemente no auxílio ao diagnóstico pré-operatório, apesar da sensibilidade e especificidade moderadas destes exames, quando comparados aos exames de imagem. O CA125 é o marcador sérico mais conhecido e utilizado para câncer de ovário e foi inicialmente descrito em 1981. Sua aplicação formal, preconizada pela *Food and Drug Administration* é no monitoramento do tratamento e na detecção de doença residual ou recorrente das mulheres tratadas por carcinoma de ovário (21). O CA125 é um marcador pouco sensível como método de auxílio diagnóstico, sobretudo para carcinoma de ovário em estágio I, quando aumenta em somente 50% dos casos. É pouco

específico no cenário pré-operatório, à medida que se encontra elevado em diversas condições não malignas como endometriose, primeiro trimestre de gravidez, fase folicular do ciclo menstrual, cistos ovarianos, doença inflamatória pélvica, cirrose, hepatite e outras neoplasias como de mama, pulmão, fígado, pâncreas, endométrio, cólon, estômago, etc (21). A sensibilidade diagnóstica do CA125 foi de 79,6% e a especificidade de 82,5% em uma meta-análise publicada em 2016 (22). Outros marcadores (HE4) ou algoritmos que combinam vários marcadores (ROMA, Ova-1, Overa) possuem um desempenho melhor na triagem das massas anexiais (23), mas não são utilizados amplamente sobretudo na prática clínica nacional.

O antígeno carcinoembrionário (CEA) é uma glicoproteína envolvida na adesão celular, produzida durante o desenvolvimento fetal. Esta produção normalmente cessa ao nascimento, mas níveis elevados de CEA podem ser detectados em pessoas com algumas neoplasias como câncer colorretal, de mama, pulmão, pâncreas, ou outras condições: em fumantes, pessoas com cirrose, diabetes, pancreatite, insuficiência renal crônica, colite, diverticulite, síndrome do intestino irritável, pneumonia, etc (23). O CEA foi inicialmente descrito em 1965 para uso como marcador tumoral em câncer colorretal (23). Os *guidelines* europeus e norte-americanos recomendam que os níveis de CEA séricos sejam medidos com a finalidade de detectar recidiva do câncer colorretal durante o seguimento. Neste contexto, o CEA é considerado um teste de triagem, já que sua elevação indica a necessidade de se investigar com outros exames, já que ele não informa o local nem a extensão da recorrência (24). Em 1976, o CEA foi descrito como teste sanguíneo para mulheres com câncer de ovário (23). Mas os dados em relação ao uso deste marcador na detecção

desta neoplasia ginecológica são escassos. Um estudo envolvendo 495 pacientes mostrou que o CEA associado ao CA125 não apresentou desempenho superior ao CA125 sozinho na discriminação de massas anexiais benignas das malignas. Entretanto, um dado potencialmente relevante para a prática clínica mostrado neste estudo foi de que a relação CA125/CEA ≥ 25 mostrou um risco relativo significativo (RR = 2,4, IC95%, 1,3-4,6) do tumor ser ovariano primário e não metastático (25).

1.1 Justificativa

Duas questões fundamentais se impõem ao ginecologista oncologista no momento em que este recebe para avaliação uma paciente com massa anexial: 1) Se a massa tem origem ovariana e 2) se a massa é de natureza maligna. Da resposta para tais questões é que se delineiam as estratégias terapêuticas para a paciente. A resposta para tais questões é incerta em boa parte dos casos, e técnicas para aprimorar a precisão com que se obtém uma resposta a elas necessárias. Nesta tese, são apresentados estudos cujo objetivo foi aprimorar a avaliação dos desempenhos dos modelos preditivos de malignidade baseados em US e RM. Assim, potenciais resultados positivos dessas análises poderão resultar no fato de que em que as mulheres com suspeita de malignidade possam ser manejadas mais adequadamente pelo cirurgião oncologista ginecológico, ao passo que aquelas com características de benignidade possam ser acompanhadas ou operadas pelo ginecologista geral, através de cirurgia minimamente invasiva. Adicionalmente, a avaliação do papel dos biomarcadores tumorais séricos, da ultrassonografia e dos parâmetros da RM na diferenciação das massas ovarianas das não-ovarianas

é também crucial diante da dificuldade do diagnóstico pré-operatório de massas pélvicas cuja origem não é ovariana, o que leva a necessidade de vários exames complementares pré-operatórios e ao encaminhamento para tratamento adequado pelo especialista.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral:

Comparar os modelos preditivos de malignidade de massas anexiais baseados em parâmetros ultrassonográficos do grupo IOTA - Regras Simples, Risco de Regras Simples e Avaliação Subjetiva - e de ressonância magnética - *ADNEX MR SCORING (O-RADS MRI)* - para auxílio na decisão clínica de quais mulheres devem ser referenciadas para tratamento em centros oncológicos. Adicionalmente, avaliar se a impressão ultrassonográfica inicial, os parâmetros de RM e a relação CA125/CEA possuem um papel na diferenciação de tumores ovarianos dos não ovarianos.

2.2 Objetivos específicos:

2.2.1 - Comparar cinco abordagens diagnósticas e avaliar o benefício líquido de cada um delas: 1) Regras Simples, considerando operar todos os casos malignos e indeterminados; 2) Risco de Regras Simples, tendo como ponto de corte de 30% de risco de malignidade; 3) Regras Simples, seguido por

avaliação subjetiva realizada por um examinador experiente nos casos indeterminados; 4) RM com utilização do O-RADS para todas as mulheres e 5) Regras Simples, seguido de O-RADS para os casos inconclusivos.

2.2.2 Calcular a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), razão de verossimilhança positiva (RVP e razão de verossimilhança negativa (RVN) de cada abordagem diagnóstica.

2.2.3 Avaliar se a impressão ultrassonográfica inicial foi útil na estratificação de massa ovariana de não-ovariana.

2.2.4 Avaliar quais parâmetros de imagem de RM auxiliaram na distinção de massas ovarianas de não-ovarianas. Os parâmetros de RM avaliados são tamanho, septo, espessura de septo, sinal em T2, sinal na difusão ($b=1000$), realce da parede do cisto, curva dinâmica pós-gadólíneo, ascite, implante peritoneal e metástase.

2.2.5 Avaliar se os níveis séricos de CA125 e CEA e relação Ca125/CEA foram úteis na diferenciação de massas pélvicas ovarianas de não-ovarianas.

3. Métodos

3.1 Desenho do estudo:

Esta tese consiste em dois estudos prospectivos correlacionados, executados no Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti da Unicamp (protocolo CEP 8/2010 e adendo anexo). O primeiro estudo avalia modelos de predição de malignidade de massas anexiais baseados em 5 abordagens diferentes utilizando algoritmos diagnósticos baseados em ultrassonografia e/ou

ressonância magnética. O segundo estudo consiste na avaliação de biomarcadores séricos (CA125 e CEA), avaliação ultrassonográfica inicial e parâmetros de RM na diferenciação de massas anexiais ovarianas das não-ovarianas.

A metodologia geral para os dois estudos é detalhada abaixo, destacando-se que detalhes e particularidades metodológicas de cada estudo são pormenorizados nos artigos referentes a cada estudo.

3.2 Seleção dos pacientes:

3.2.1 Artigo 1

As mulheres foram recrutadas no período de fevereiro de 2014 a fevereiro de 2016, mulheres, independentemente da idade, encaminhadas ao ambulatório de Oncologia Pélvica – Ovário do Centro de Atenção à Saúde da Mulher da Universidade Estadual de Campinas, devido tumor anexial identificado em exame clínico e/ou de imagem prévio. Todas as pacientes selecionadas realizaram o exame de ressonância magnética pélvica preferencialmente no período de até 90 dias antecedentes à cirurgia.

Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foi realizado exame físico ginecológico das pacientes e foi agendada uma avaliação ultrassonográfica da pelve. As amostras de sangue foram coletadas para quantificação dos marcadores séricos (CA125 e CEA). Após a ultrassonografia, foram agendados 179 casos de ressonância magnética.

Quando indicado, foram agendados procedimentos cirúrgicos de diagnóstico e / ou tratamento. A indicação da cirurgia baseou-se em exame físico,

sintomatologia da paciente, biomarcadores pré-operatórios, ultrassonografia (Regras Simples) e resultados de ressonância magnética, conforme protocolo assistencial da instituição. Os leitores de RM não tiveram acesso às informações clínicas, exames laboratoriais ou imagens de pacientes.

As análises ultrassonográficas, cirúrgicas e histopatológicas foram realizadas nesta única instituição. Mais de um tumor foi encontrado em 16 mulheres; cada lesão foi descrita em ultrassonografia e RM, mas para fins estatísticos, apenas o tumor com pior prognóstico foi considerado nas análises.

3.2.1 Artigo 2

Foram selecionadas no período de outubro de 2011 a dezembro de 2020, as mulheres, independentemente da idade, referenciadas ao ambulatório de Oncologia Pélvica – Ovário do Centro de Atenção à Saúde da Mulher da Universidade Estadual de Campinas, devido tumor anexial identificado em exame clínico e/ou de imagem prévio. Todas as pacientes selecionadas realizaram o exame de ressonância magnética pélvica preferencialmente no período de até 90 dias antecedentes à cirurgia.

Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, as pacientes foram submetidas a exame físico ginecológico e agendada uma avaliação ultrassonográfica da pelve. Amostras de sangue foram coletadas para quantificação dos marcadores séricos (CA125 e CEA). Após a ultrassonografia, 278 pacientes foram encaminhadas e realizaram exames de ressonância magnética.

Quando indicado, foram agendados procedimentos cirúrgicos de diagnóstico e / ou tratamento. A indicação da cirurgia baseou-se em exame físico,

sintomatologia da paciente, biomarcadores pré-operatórios, ultrassonografia (Regras Simples) e resultados de ressonância magnética, conforme protocolo assistencial da instituição. Os leitores de RM não tiveram acesso a informações clínicas, exames laboratoriais ou imagens de pacientes. Para o artigo 2, o critério de exclusão foi não ter resultado histopatológico das lesões anexiais, sendo excluídas 117 pacientes. Adicionalmente, 2 pacientes foram excluídas por ausência de soro para dosagem do biomarcador sérico CEA. Após todas exclusões, dados de 159 mulheres foram avaliados.

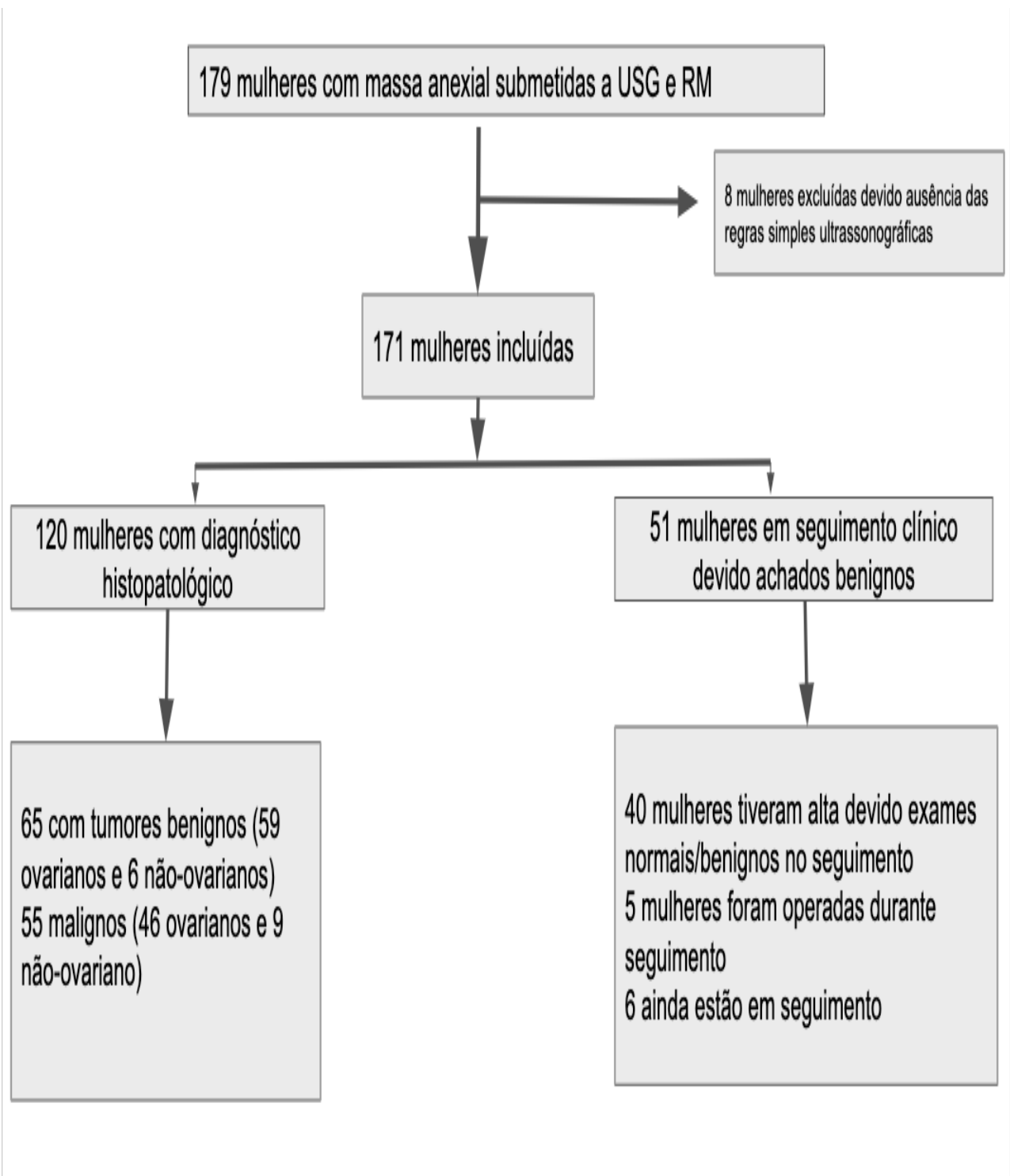


Figura 1 ilustra fluxograma de seleção dos pacientes para artigo 1

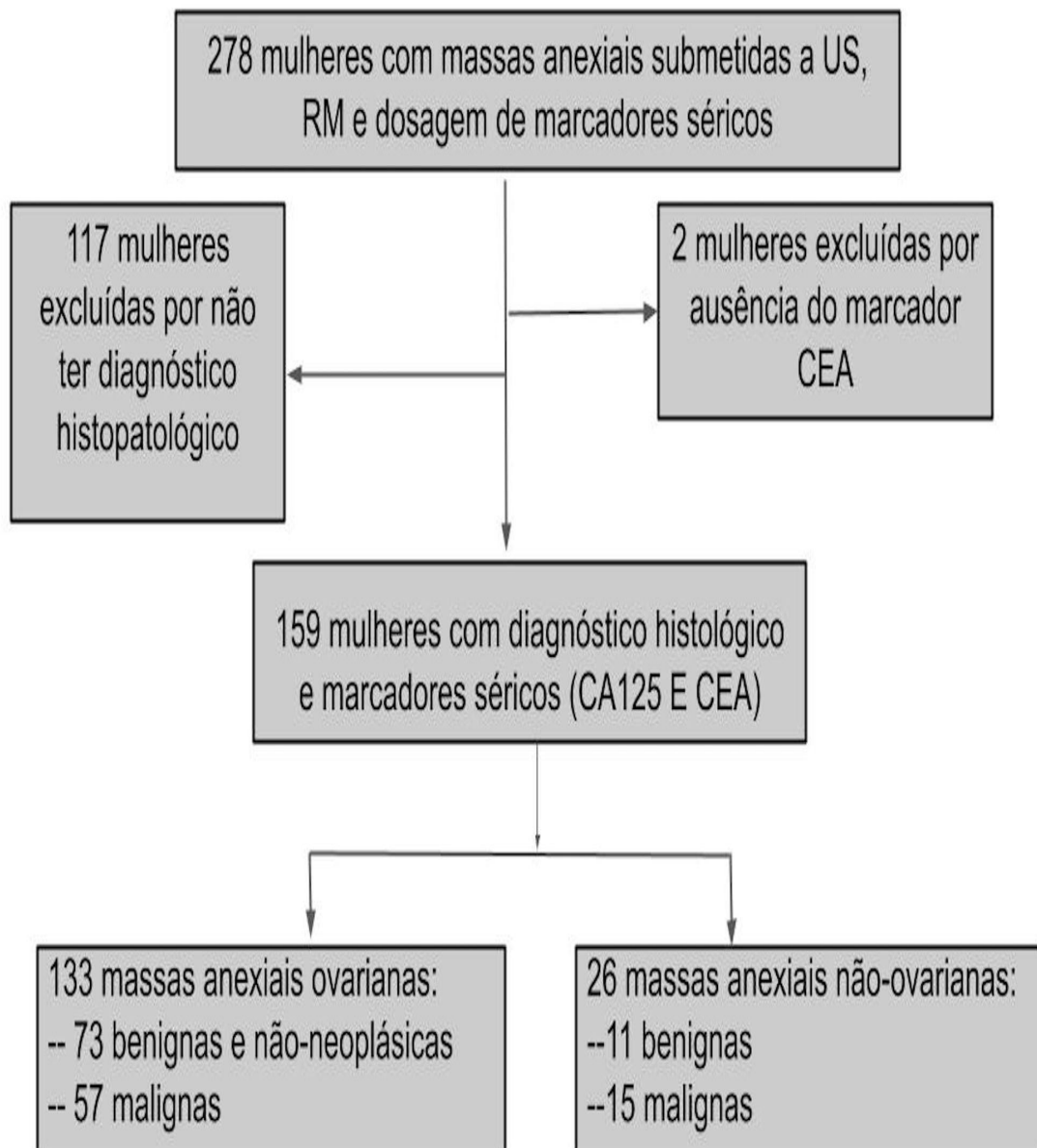


Figura 2 ilustra fluxograma de seleção dos pacientes para artigo 2

3.3 Testes Diagnósticos:

3.3.1 Ultrassonografia da pelve:

Os exames de ultrassonografia foram realizados na seção de ultrassonografia do setor de imagiologia do CAISM. As máquinas de ultrassonografia utilizadas no estudo foram Voluson Especialista 730 (GE Healthcare Ultrasound, Milwaukee, WI, EUA) e Toshiba Xsario SSA – 660A (Toshiba Medical Systems Corporation, Japão).

3.3.1.1 Técnica do exame de ultrassonografia da pelve

Todos os exames foram realizados por médicos especialistas em ultrassonografia pélvica, com certificação pelo IOTA. Na maior parte dos casos, a avaliação ultrassonográfica foi inicialmente realizada por uma abordagem transabdominal com bexiga repleta e posteriormente uma varredura transvaginal foi feita, com bexiga sem repleção. Massas anexiais foram descritas de acordo com termos do IOTA (13), incluindo todas as informações necessárias para a aplicação das regras simples (*IOTA simple ultrasound rules*). Uma impressão subjetiva sobre o sítio primário da massa anexial (ovariano vs não-ovariano/origem indeterminada) foi disponibilizada no laudo do exame. Os examinadores não tinham acesso aos diagnósticos anatomopatológicos finais ou ao desfecho clínico das pacientes.

3.3.2 Ressonância magnética da pelve:

Os exames de ressonância magnética da pelve foram executados no setor de imagiologia do Hospital Estadual de Sumaré, sob supervisão de um médico radiologista. Os exames foram adquiridos em um aparelho de ressonância magnética General Electric 1,5 Tesla (GE Signa HDxt®, Milwaukee, WI, EUA)

com uma bobina pélvica de 8 canais, otimizando a relação sinal/ruído das imagens. As pacientes jejuaram por 3 horas antes do exame e não foi utilizado gel vaginal ou agente antiespasmódico.

3.3.2.1 Técnica do exame de ressonância magnética da pelve

As imagens dos exames de ressonância magnética foram analisadas por dois médicos radiologistas especializados em imagem pélvica (P.N.P. e R.H.O.B), com títulos de especialista em radiologia e especialização em medicina interna. As massas anexiais foram relatadas, com a inclusão dos parâmetros de imagem necessários para a elaboração do sistema **ADNEX MR SCORING (O-RADS MRI scoring)**. Os avaliadores realizaram a classificação de todas as lesões anexiais utilizando o **ADNEX MR SCORING system (O-RADS MRI scoring)**, sem terem acesso aos diagnósticos anatomopatológicos finais ou ao desfecho clínico das pacientes.

Os parâmetros técnicos dos exames de ressonância magnética foram:

Sequência	Técnica	TE	TR	FOV (cm)	Espessura de corte (mm)	tempo de aquisição (segundos)
Axial T1	Fast spin-echo	12	650	25-30	5	124
Axial T2	Fast-recovery Fast spin-echo	126	3886	25-30	5	122
Sagital T2	Fast-recovery Fast spin-echo	115	3416	25-30	5	124
Coronal T2	Fast-recovery Fast	84	5166	25-30	5	139

	spin-echo					
Axial T2 com saturação de gordura	Fast-recovery Fast spin-echo	79	3250	25-30	5	161
Difusão (axial) $b=0$, $b=500$ e $b=1000$	Echoplanar	78	6975	25-30	5	245
Axial T1 com saturação	Gradient echo - 3D	2072	4308	25-30	2 a 3,8	17
Axial T1 com saturação pós-contraste	Gradient echo 3D	2072	4308	25-30	2 a 3,8	150

--- O estudo pós-contraste endovenoso consistiu em cinco sequências ponderadas em T1 com saturação de gordura, com um delay médio de 30 segundos entre elas. O tempo de aquisição de cada sequência pós-contraste variou entre 10 e 13 segundos, sendo a primeira sequência com início da aquisição entre 20 à 22 segundos após a injeção do meio de contraste endovenoso. Foi utilizado um ROI de no mínimo 1,0 cm² e no máximo de 2,0 cm² na porção sólida da massa anexial e no miométrio. Em casos de histerectomia prévia, utilizou-se o músculo psoas como referência.

Utilizamos contraste endovenoso gadolínio (Omniscan GE Healthcare®), dose de 0,2mL/kg, injetado através de acesso venoso periférico com bomba injetora da marca Medrad Spectris Solaris EP MR Injection System ®, com fluxo de 3,5mL/seg, seguido de 10mL de soro fisiológico para lavar o sistema.

Foi realizado pós-processamento das imagens adquiridas pós contraste endovenoso na estação de trabalho para a construção das curvas dinâmicas, sendo classificadas em três padrões (17,18) :

- **Curva de baixo risco (tipo 1):** realce da porção sólida da lesão anexial com mínimo ou discreto aumento da intensidade de sinal ao longo do tempo, sem definir *um ombro* e sem formar platô.
- **Curva de risco intermediário (tipo 2):** realce inicial da porção sólida da lesão anexial menor ou igual ao miométrio, formando um platô.
- **Curva de alto risco (tipo 3):** realce inicial da porção sólida da lesão anexial maior que miométrio, com intenso aumento da intensidade de sinal ao longo do tempo, formando um platô.

3.3.3 Técnica do processamento dos biomarcadores CA125 e CEA:

As amostras de sangue coletadas dos pacientes foram armazenadas em tubos separadores de soro. Eles foram deixados coagular por pelo menos 30 minutos antes da centrifugação. As amostras de sangue foram centrifugadas 1300g por 10min e o soro foi separado em alíquotas e armazenado a -80°C até a análise dos biomarcadores Antígeno de câncer 125 (CA125) e antígeno carcinoembrionário (CEA). O soro CA125 e CEA foram determinados pelos testes CA125 II e CEA, respectivamente, ambos biomarcadores através da técnica de quimioluminescência no analisador automático Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha), de acordo com as instruções do fabricante. O CA125 foi expresso em U / ml e o CEA em ng / ml.

3.4 Parâmetros avaliados nos testes diagnósticos:

3.4.1 Ultrassonografia

3.4.1.1 Parâmetros utilizados nas regras simples (RS ultrassonográficas):

Os parâmetros ultrassonográficos preditivos de benignidade das RS do IOTA (11) foram:

B1) cisto unilocular

B2) componente sólido com máximo diâmetro < 7 mm

B3) sombra acústica

B4) tumor multilocular com paredes lisas com máximo diâmetro < 100 mm

B5) ausência de fluxo ao Doppler (color score 1)

Os achados ultrassonográficos preditivos de malignidade foram:

M1) tumor sólido irregular

M2) ascite

M3) pelo menos quatro projeções papilares

M4) tumor multilocular sólido com paredes irregulares, com diâmetro máximo ≥ 100 mm

M5) presença de fluxo intenso ao Doppler (color score 4)

Uma ou mais característica(s) benigna(s) sem característica(s) maligna(s) das RSs resultaram na classificação benigna.

Uma ou mais característica(s) maligna(s) sem característica(s) benigna(s) das RSs resultaram na classificação maligna

Se a massa anexial possui característica(s) benigna(s) e maligna(s), ou se não possui nenhuma característica benigna ou maligna, ela foi classificada como inconclusiva pelas RS do IOTA.

3.4.1.2 Parâmetros utilizados para o Risco das regras simples do IOTA (SSRisk)

Os valores preditivos para malignidade do modelo de Risco de Regras Simples foram determinados por diferentes coeficientes de regressão estimados por regressão logística multivariada, considerando centro oncológico como fator de referência (14). Foi utilizado ponto de corte de malignidade de 30 % (cut-off).

Para estimar o risco de malignidade por este modelo foi adicionado -0,97 para os coeficientes para obter um escore de regressão (ER). A conversão do ER no risco estimado foi feita usando a fórmula: $\exp(\text{ER})/[1+\exp(\text{ER})]$, sendo exp a função exponencial natural (14).

Preditor	Coeficiente	SE*
<i>Intercept</i>	-0,97	0,24
B1 (cisto unilocular)	-3,41	0,27
B2 (componentes sólidos presentes, mas <7mm)	-2,25	0,46
B3 (sombra acústica)	-1,66	0,18
B4 (tumor multiloculado com paredes lisas <100mm)	-2,75	0,27
B5 (sem fluxo ao doppler, color score 1)	-1,86	0,17
M1 (tumor sólido irregular)	2,19	0,24
M2 (ascite)	2,65	0,21
M3 (pelo menos 4 projeções papilares)	1,53	0,20
M4 (tumor multiloculado sólido com paredes irregulares ≥100mm)	0,98	0,16
M5 (fluxo acentuado ao doppler, color score 4)	1,55	0,16
Exame de US em centro oncológico	0,92	0,27

*SE = *Standard Error*

3.4.1.3 Avaliação subjetiva (AS) ultrassonográfica pelo examinador experiente:

As massas anexiais foram classificadas como benigna ou maligna por dois examinadores experientes (R.M.J. ou K.G.A) em US ginecológico. Cada um deles possui mais de 12 anos de experiência nesta área e ambos já realizaram mais de 5.000 US pélvicas ginecológicas. Ambos possuem certificação do IOTA.

3.4.1.4 Avaliação subjetiva do sítio primário da massa anexial - impressão ultrassonográfica inicial:

As massas anexiais foram classificadas como origem ovariana ou origem não-ovariana/origem indeterminada pelos examinadores experientes.

3.4.2 Ressonância Magnética

3.4.2.1 Parâmetros morfológicos analisados na imagens de RM:

Foram avaliados parâmetros morfológicos das lesões anexiais descritos nos estudos de Thomassin-Naggara I et al. (7,17).

- **Unilocular** – lóculo único, sem septos, geralmente com baixo sinal na sequência T1 e sinal alto na sequência T2.
- **Porção sólida** – tecido sólido apresenta realce pelo contraste paramagnético e/ou sinal baixo ou intermediário em T2.
- **Vegetação sólida** – qualquer projeção sólida na parede do cisto ≥ 3 mm.
- **Septo** – linha de tecido que perpassa cisto de uma parede interna até a parede contralateral.

- **Septo fino** – septo com espessura máxima < 3mm.
- **Septo espesso/grosseiro** – septo com espessura máxima igual ou superior à 3mm.
- **Lesão com gordura** – lesão com componente sólido com sinal alto em T2 e queda de sinal nas sequências que saturam gordura.
- **Endometrioma** – lesão hemorrágica com fenômeno *shading* (sinal em T1 maior que o sinal em T2).
- **Cisto hemorrágico** – lesão hemorrágica com hipersinal em T1 e T2, sem definir *shading*.

3.4.2.2 Parâmetros analisados no estudo pós-contraste endovenoso das imagens de RM:

Nas massas anexiais com tecido sólido, foram avaliados o padrão de realce das sequências consecutivas adquiridas pós-contraste endovenoso, afim de construir as curvas dinâmicas: baixo risco (tipo 1), risco intermediário (tipo 2) e alto risco (tipo 3). Quando não possível categorizar nesses três padrões de curvas por limitações técnicas, foi considerado não categorizado.

Na ausência de identificação de porção sólida na massa anexial, foi avaliado se apresentou ou não realce parietal da lesão (massas císticas).

3.4.2.3 Parâmetros analisados nas sequências ponderadas em difusão da imagens de RM:

Esse parâmetro foi avaliado exclusivamente nas massas anexiais com porção sólida. Foi realizada uma análise visual/qualitativa: se a massa anexial apresentou ou não restrição à movimentação das moléculas de água, isto é, se apresentou hipersinal verdadeiro na difusão, considerando sempre nessa análise o mapa do ADC (*apparent diffusion coefficient*), afim de evitar o efeito *T2 shine through* (pseudorestrição).

3.4.2.4 Categorias do sistema ADNEX MR SCORING (O-RADS MRI)

As lesões anexiais foram classificadas no sistema elaborado por Thomassin-Naggara I et al. (7,17) em 5 categorias:

Categoria 1 :

-- Sem lesões anexiais suspeitas.

Categoria 2 (Massas anexiais quase certamente benignas):

-- Cisto unilocular com qualquer tipo de fluido (sem realce parietal e sem porção sólida com realce).

-- Cisto unilocular ou endometrioma, com discreto realce parietal e sem porção sólida com realce).

-- Lesão com componente de gordura e sem grandes porções sólidas com realce;

-- Lesão com sinal baixo em T2/difusão (hipossinal homogêneo em T2 e DWI)

Categoria 3 (Massas anexiais com baixo risco):

-- Cisto: unilocular com fluido proteináceo, hemorrágico ou mucinoso (discreto realce parietal e sem porção sólida com realce).

-- Cisto: multilocular- qualquer tipo de fluido, exceto gordura, com realce parietal ou septal, sem porções sólidas com realce.

-- Lesão com porção sólida (exceto sinal baixo em T2/DWI) com curva dinâmica de baixo risco (tipo 1).

Categoria 4 (Massas anexiais com moderado risco):

-- Lesão com porção sólida (exceto sinal baixo em T2/DWI) com curva dinâmica (DCE) com risco intermediário (tipo 2). Se não fosse possível traçar curva, Categoria 4 é qualquer lesão com porção sólida (exceto sinal baixo em T2/DWI) que realça relativamente menos que o miométrio no estudo pós-contraste (não-DCE) em 30-40 segundos.

-- Lesão com componente de gordura com grande porção sólida que realça pelo contraste.

Categoria 5 (Massas anexiais com alto risco):

-- Lesão com porção sólida (exceto sinal baixo em T2/DWI) com curva dinâmica de alto risco (tipo 3). Se não fosse possível traçar curva, categoria 4 é qualquer lesão com porção sólida (exceto sinal baixo em T2/DWI) que realça relativamente mais que o miométrio no estudo pós-contraste (não-DCE) em 30-40 segundos.

-- Nódulos peritoneais, mesentéricos ou omentais ou espessamento irregular peritoneal, com ou sem ascite.

3.5 Padrão-ouro:

Os padrões-ouro foram:

- para as massas anexiais com amostra tecidual obtida através de biópsia percutânea ou cirurgia: diagnóstico anátomo-patológico final realizado pelo Departamento de Anatomia Patológica da UNICAMP. Os tumores ovarianos foram classificados como doença benigna e doença maligna (borderline e maligno).
- para as massas anexiais que não foram submetidas à correlação histológica: seguimento com estabilidade ou não surgimento de sinais de suspeição na massa anexial durante pelo menos 12 meses, caracterizando doença benigna.

3.6 Instrumento para coleta de dados:

As informações relacionadas ao estudo foram tabuladas em uma planilha eletrônica. As mulheres incluídas no presente estudo declararam consentimento por escrito através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), vide ANEXOS IV e V.

3.7 Coleta de dados

Pacientes realizaram a primeira consulta no Ambulatório de Oncologia Pélvica – Ovário do CAISM, quando foi aplicado o TCLE (Anexo IV) e realizada a coleta de amostras de sangue para biomarcadores séricos. Posteriormente, as pacientes foram direcionadas ao setor de imagem do Caism, para agendamento dos exames de ultrassonografia e ressonância magnética, com aplicação do TCLE do exame de ressonância magnética (TCLE II – Anexo V).

As pacientes foram assistidas seguindo os protocolos e rotinas médicas do Ambulatório de Oncologia Pélvica – Ovário do CAISM. Foi realizada a revisão dos prontuários das pacientes, verificando o desfecho clínico

Todos os prontuários das pacientes foram avaliados, revisando o relato clínico e cirúrgico das pacientes. As pacientes que não foram submetidas à biópsia ou cirurgia, foram acompanhadas por pelo menos 12 meses, tendo o prontuário reavaliado novamente revisto no término desse interregno.

3.8 Critérios para descontinuação

O estudo poderia ser interrompido se por algum motivo ocorresse algum evento imprevisto que resultasse em malefício às pacientes inseridas no protocolo de estudo, ou a qualquer momento por desejo das pacientes, respeitando a autonomia das mesmas.

3.9 Processamento e análise estatística dos dados

O processamento dos dados foi realizado utilizando o programa R Environment for Statistical Computing Software (26). Cálculos estatísticos foram executados tendo intervalo de confiança (IC) de 95 %, considerando $P < 0,05$ com significante, exceto para árvore de inferência decisória do artigo 2, que consideramos um IC de 90 % ($P < 0,10$).

Para o artigo 1, utilizamos testes de Kruskal-Wallis e qui-quadrado para comparar as características clínicas e histopatológicas das pacientes. Em seguida, comparamos as 5 abordagens diagnósticas, calculando sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), razão de verossimilhança positiva (RVP e razão de verossimilhança negativa (RVN) de cada abordagem diagnóstica, Posteriormente, produzimos um resultado final dicotômico (positivo/negativo) para cada abordagem.

Finalmente, realizamos a análise de curva de decisão para extrair o benefício líquido (net benefit) de cada abordagem diagnóstica, conforme descrito por Vickers et al. (27).

Para o artigo 2, utilizamos ferramentas estatísticas similares ao artigo 1, destacando-se o peculiar emprego de algoritmo de particionamento recursivo baseado em um modelo de regressão linear, conforme descrito por Hothorn et al. (28). Finalmente, utilizamos análise univariada dos parâmetros de RM, impressão ultrassonográfica inicial e razão CA125/CEA para diferenciação de massas ovarianas de não-ovarianas, culminando em um modelo de regressão logística para ajuste/correção.

Há maior detalhamento das análises estatísticas realizadas em cada artigo na seção correspondente dos mesmos.

4. Resultados

4.1 Artigo 1

O artigo abaixo “Improving the performance of IOTA Simple Rules sonographic assessment of adnexal masses with resource-effective use of a magnetic resonance scoring (ADNEX MR Scoring System)” foi publicado na revista Abdominal Radiology em setembro de 2019.

<https://doi.org/10.1007/s00261-019-02207-9>



Improving the performance of IOTA simple rules: sonographic assessment of adnexal masses with resource-effective use of a magnetic resonance scoring (ADNEX MR scoring system)

Patrick Nunes Perelra^{1,2} · Luís Otavio Sarlan¹ · Adriana Yoshida¹ · Karla Galvão Araújo¹ · Ana Carolina Balão Silva¹ · Ricardo Hoelz de Oliveira Barros² · Rodrigo Menezes Jales³ · Sophie Derchain¹

© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2019

Abstract

Purpose To compare the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) simple rules, simple rules risk ultrasound models, alone or in combination with magnetic resonance (MR) score to predict malignancy in women with adnexal masses.

Methods 171 women with adnexal masses were included from February 2014 to February 2016. 120 women had histopathological diagnosis obtained from surgery or percutaneous biopsy. The other 51 women were submitted to surveillance with ultrasound (US) for at least 1 year. Patients were examined with US and MR. US reports were rendered using IOTA systems. We compared five diagnostic approaches, aimed at diagnosing women with malignant tumors among those with adnexal masses: We calculated the performance and net benefits (decision curve analysis) for five distinct diagnostic approaches: (1) US simple rules (SR), (2) simple rules risk score (SRRisk), (3) US SR followed by subjective assessment (SA) of indeterminate cases, (4) SR followed by MR score for the indeterminate cases, and (5) MR score for all women.

Results The MR score for all patients was the approach that yielded the best-standardized net benefit regardless of the risk threshold. However, referring women with indeterminate masses on SR to MR score yielded the second-best net benefit.

Conclusion Although this study leaves no doubt about the superiority of MR score over US-based methods for the discrimination of malignant tumors in women with adnexal masses, restricting the use of MR score only to women with indeterminate masses on US SR is a safe, appropriate way to triage women with adnexal masses.

Keywords Ovarian cancer · Diagnostic · Adnexal masses · Ultrasound · Magnetic resonance · Preoperative · Decision curve analysis

Introduction

The correct referral of women with suspicious adnexal masses to either an oncological center or a non-specialized center depends on the precise discrimination of malignant from benign masses. Adequate, timely preoperative

diagnosis results in correct treatment with impact on survival of women with ovarian cancer. For those with benign conditions, minimal invasive surgery or expectant management with or without imaging would be more appropriate. Transvaginal ultrasound is generally the first approach to investigate suspicious adnexal masses [1, 2].

In 2008, the Simple Rules (SR) from the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) group were reported to discriminate benign from malignant adnexal masses. Although SR performance was very good with sensitivity of 93% and specificity of 90%, there were 24% of indeterminate results [3]. For these cases, the suggestion was ultrasound (US) examination by experienced examiner for subjective assessment (SA) [4–6]. Other options to the indeterminate masses involve the application of other established risk prediction models based on US features [1, 7–9].

✉ Adriana Yoshida
adriana122013@gmail.com

¹ Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas - Unicamp, Campinas, São Paulo 13083-970, Brazil

² Section of Imaging, Sumaré State Hospital, Affiliated to State University of Campinas, Sumaré, São Paulo, Brazil

³ Section of Ultrasonography, Women's Hospital, CAISM, State University of Campinas - Unicamp, Campinas, São Paulo, Brazil

The use of a magnetic resonance (MR) imaging score is another possibility to triage these indeterminate adnexal masses. The MR Scoring System comprises a one-to-five category score [10]. A score ≥ 4 was associated with malignancy with a sensitivity of 93.5% and a specificity of 96.6%, with the area under the ROC curve (AUC)s higher than 0.94 in the training and validating sets of the original study [10]. In an external validation, for a MR score ≥ 4 , the sensitivity was 91.7% and the specificity 92.7% for the diagnosis of a malignant or borderline ovarian tumor. The AUC was 0.92 [11].

More recently, the IOTA group proposed the Simple Rules Risk (SRRisk), which estimates a risk of malignancy in adnexal masses based on all SR features and the type of center in which the preoperative US was performed [12]. On prospective validation, the risk estimates showed good ability to discriminate between benign and malignant tumors (AUC 0.917) [12].

Decision curve analysis (DCA) was first presented in 2006 [13]. The decision curve provides the net benefit at different threshold probabilities. The risk model with the highest net benefit at a determinate threshold probability has the highest clinical value [14] and would be the more appropriate to triage women with suspicious adnexal masses in the present context. Our null hypothesis is that current US methods (scores) perform as well as MR in the discrimination of women with malignancy from those with benign adnexal masses. The aim of the present study was thus to compare five diagnostic approaches: (1) SR, considering as potentially malignant all indeterminate cases, (2) SRRisk, (3) SR followed by SA for indeterminate cases, (4) SR for all patients, if SR result is "indeterminate," patients are referred to MR score, and (5) MR score for all cases, as a performance benchmark.

Methods

This diagnostic accuracy study was conducted at the Women's Hospital (CAISM) of State University of Campinas (Unicamp), a tertiary cancer center, located in Campinas, São Paulo, Brazil. The study was approved by the University Research Ethics Committee (protocol #1092/2009 and #008/2010). Patient enrolment occurred from February 2014 to February 2016. In short, we invited women referred to our hospital due to an adnexal mass with the MR reader not knowing clinical information (e.g., time of evolution, whether palpable or not), laboratory tests (e.g., serum CA 125 levels), or details of previous imaging of the patient (pelvic US), trying to avoid selection bias. After signing the informed consent form, patients were submitted to physical exam and an US evaluation of the pelvis was scheduled. Blood samples were collected for serum marker

measurement. After US, 179 cases were scheduled for MR, which were performed in Sumaré State Hospital, an affiliated hospital of the University. The main cancer center unit and the affiliated hospital are just 8 miles apart and the radiologists involved in the present study work at both units. When indicated, diagnostic and/or treatment surgical procedures were scheduled. The indication of surgery was based on clinical exam, preoperative biomarkers, ultrasound (SR), and magnetic resonance results (clinicians did not have access to MR scoring results). For the present study, we excluded eight women without the US information needed to apply the SR. In total, 171 women were included in the study.

After the initial evaluation with US, MR, and CA 125, of the 171 women, 51 did not have indication for surgery or biopsy, since all exam results returned negative for malignancy. According to patient's files (last verified on July 1, 2019), 40 of these 51 women were discharged from the hospital after stable benign findings (e.g., hydrosalpinx, endometrioma, fibroma, unilocular cyst) or absence of disease on imaging, after a follow-up of at least 12 months. These women were allowed to continue their follow-up in non-oncologic centers. Another 6 women are still being followed up with US until this date with stabilized benign findings. During surveillance, the remainder 5 women had abnormal exam findings and underwent surgery, with a final histopathological diagnosis of benign teratomas (3 women) and mucinous cystadenomas (2 women) (Fig. 1).

Tissue specimens were analyzed by a team of pathologists specialized in gynecologic pathology, according to the guidelines of the World Health Organization International

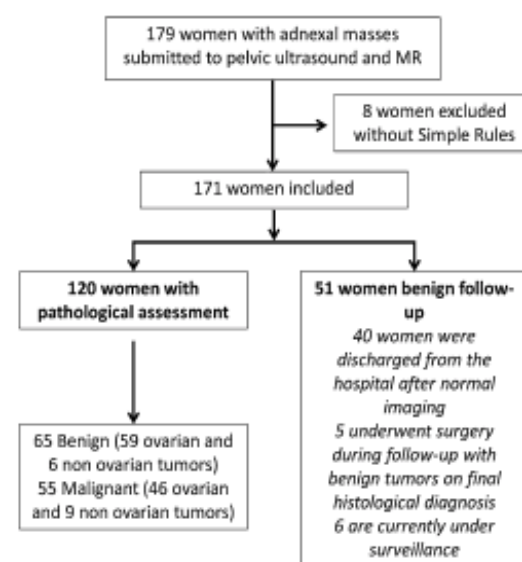


Fig. 1 Flowchart showing the inclusion of 171 women in the study

Classification of Ovarian Tumors [15]. For tumor staging, we followed the International Federation of Gynecologists and Obstetricians (FIGO) classification [16]. US, surgery, and histopathological analyses were performed in this single institution (CAISM). More than one tumor was found in 16 women; each lesion was described in ultrasound and MR but for statistical purposes, only the tumor with worse prognosis was considered in the analyses.

The reference standard was the histopathological diagnosis in 110 cases submitted to surgery and 10 cases obtained from percutaneous biopsy. All ultrasound and MR assessments were done before obtaining the histological diagnosis.

As described above, all patients included in this study were examined using US and MR. We postulated and compared the four US-based models using these exams in combination or as standalone tests.

Ultrasonography

Ultrasound examinations were performed at the Ultrasound Technical Section of CAISM. All recruited patients of the study were assessed by R.M.J. or K.G.A., both level 3 examiners in gynecological US. The US machines used were Voluson Expert 730 (GE Healthcare Ultrasound, Milwaukee, WI, USA) and Toshiba Xsario SSA – 660A (Toshiba Medical Systems Corporation, Japan). In most cases, US evaluation was assessed initially by a transabdominal approach with full bladder; next, a transvaginal scan with empty bladder was performed. Adnexal masses were described according to IOTA terms and definitions [17]. Color Doppler was applied (using pulse repetition frequency 0.3–0.6 kHz) and a color score (1 = no blood flow; 2 = minimal blood flow; 3 = moderate blood flow; 4 = marked blood flow) was attributed.

The sonographers assessed the following variables from SR model: the diameters of the lesion (millimeters), the diameters of the largest solid component (millimeters), type of tumor (unilocular, unilocular solid, multilocular, multilocular-solid, solid), presence of wall irregularity, ascites, acoustic shadows, number of papillary structures, and the color score, ranging from 1 to 4 as previously described. SR comprises five US features suggestive for benignity (B-features): unilocular (B1), presence of solid components where the largest one has a largest diameter < 7 mm (B2), presence of acoustic shadows (B3), smooth multilocular tumor with largest diameter < 100 mm (B4), no blood flow (color score 1) (B5) and five features suggestive for malignancy (M-features): irregular solid tumor (M1), presence of ascites (M2), at least four papillary structures (M3), irregular multilocular-solid tumor with largest diameter \geq 100 mm (M4), very strong blood flow (color score 4) (M5). If one or more B-features are present in the absence of M-features the mass is classified as benign, and vice versa. If both B- and

M-features exist or if none of the ten features is present, SR are classified as indeterminate [3]. Figure 2 shows an equivocal case with MR images correlation.

The first approach was to refer all women with malignant or indeterminate masses. As a second approach, we also calculated the SRRisk, which consists of calculating the probability of malignancy of a given mass using the parameters studied in SR and the type of center (oncology center versus other). The method was recently described by Timmerman et al. [12].

A third US-based approach was tested: refer patients with indeterminate masses on SR to the SA by an experienced examiner, to render a final positive/negative status for these masses. R.M.J. and K.G.A. assessed both SR for all women and SA in those with an indeterminate mass, without knowledge of histological and/or follow-up data.

MR

The MR were independently reported by two radiologists specialized in pelvic MR (P.N.P.) and upper abdomen MR (R.H.O.B.) imaging. Scans were acquired on a General Electric 1.5 Tesla machine (GE Signa HDxt®) by using a pelvic phased-array coil. Patients fasted for 3 h before the exam. The following image sequences were obtained: axial, sagittal, and coronal T2-weighted turbo spin-echo, axial T2-weighted with fat suppression, T1-weighted with and without fat suppression. Diffusion weighted were acquired in the axial plane, with the b-values corresponding to the diffusion sensitizing gradient were 0, 500, and 1000 s/mm². An additional diffusion sequence of upper abdomen was obtained (b values of 0, 500, and 1000), spending less than 1 min. After all these sequences, an intravenous gadolinium injection was performed, with dynamic study (5 post-contrast phases with 35–45 delay seconds between them). Gadolinium chelate (Omniscan GE Healthcare®) was given at a dose of 0.2 mL per kilogram of body weight by using a power injector (Medrad Spectris Solaris EP MR injection System®) at a rate of 3.5 mL/s, followed by 10 mL of normal saline infusion to clear the tubing.

Adnexal masses were described with terms already established in literature [18], including all necessary information for applying the MR score system [10]. Both radiologists applied MR score, without knowledge of the histological and/or follow-up data. When the assessors disagreed, a final classification was obtained through consensus. As per study protocol and in order to avoid biasing, the radiologists who made the MR scoring for this study were blinded to US results (US were made by other professionals). On the other hand, in order to warrant optimal clinical management of the patients, oncologists who took the clinical decisions on operating or not, the women had all information needed (they

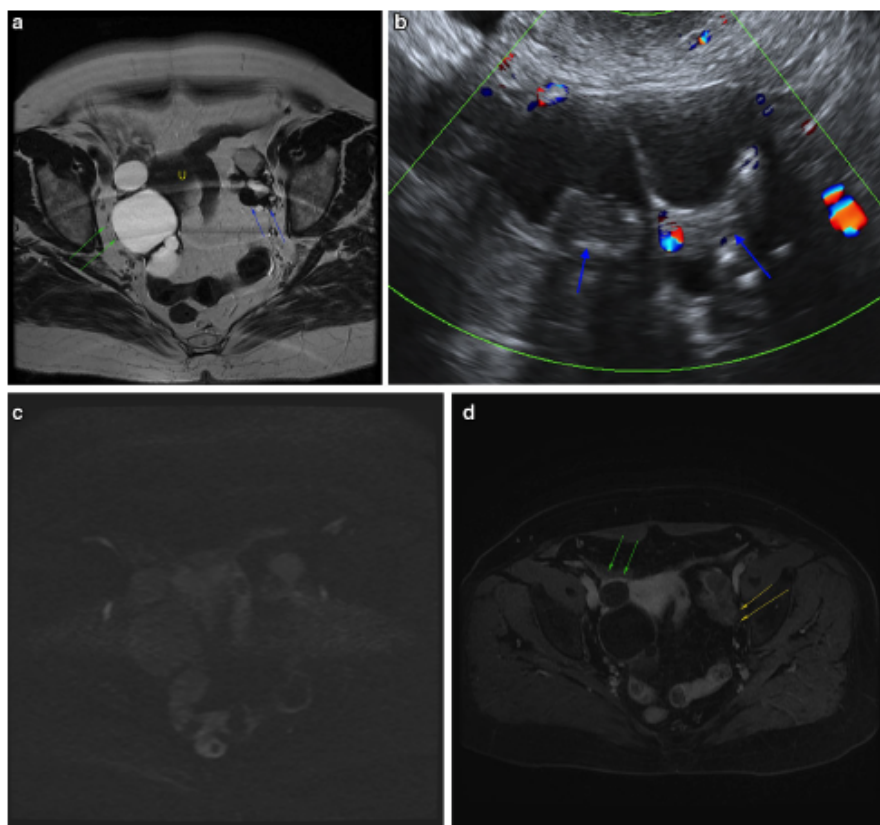


Fig. 2 Serous cystadenofibroma of left ovary (ADNEX MR score 2) and serous cystadenoma of right ovary (ADNEX MR score 3) in a 58-year-old woman. **a** Axial T2-weighted spin-echo image demonstrates left ovarian cystic mass with solid component with low T2 signal (blue arrows) and a right ovarian multiloculated mass with coarse septa in right ovary (green arrows). *U* UTERUS. **b** Ultrasound image with doppler reveals a left ovarian multiloculated cystic mass with two solid papillary projections (blue arrows) and color score=3.

IOTA simple rules: indeterminate masses. Subjective assessment: inconclusive but probably malignant. **c** Axial B-1000 diffusion-weighted image demonstrates no area of high signal in solid tissue of left adnexal mass. **d** Axial T1-weighted, with fat-sat, post-contrast-enhanced study demonstrates no significant enhancement of the solid tissue (yellow arrow) of left adnexal mass and parietal enhancement of right ovarian multiloculated mass (green arrow)

were unaware of the MR Scoring, but had all the images, including a conventional MR report.)

The curves types were classified according to time signal intensity of solid tissue in comparison with the signal intensity of the outer myometrium. As previously defined by Thomassin-Naggara et al., curve type 1 corresponds to a gradual increase in the signal of solid tissue, whereas curve type 2 was defined as a moderate initial rise, followed by a plateau. Curve type 3 presents as a steeper initial rise in the signal of solid tissue compared to the myometrium [18].

The MR score system lists five categories, based only on MR parameters [10]:

Score 1 (no mass)—no adnexal mass

Score 2 (benign mass)—purely cystic, endometriotic or fatty masses, absence of wall enhancement, low $b=1000 \text{ s/mm}^2$ -weighted and low T2-weighted signal intensity within solid tissue

Score 3 (probably benign mass)—absence of solid tissue, or curve type 1 within solid tissue

Score 4 (indeterminate mass)—curve type 2 within solid tissue

Score 5 (probably malignant mass)—peritoneal implants or curve type 3 within solid tissue. MR images

to illustrate the scoring system are shown in Figs. 3, 4, 5, 6, and 7.

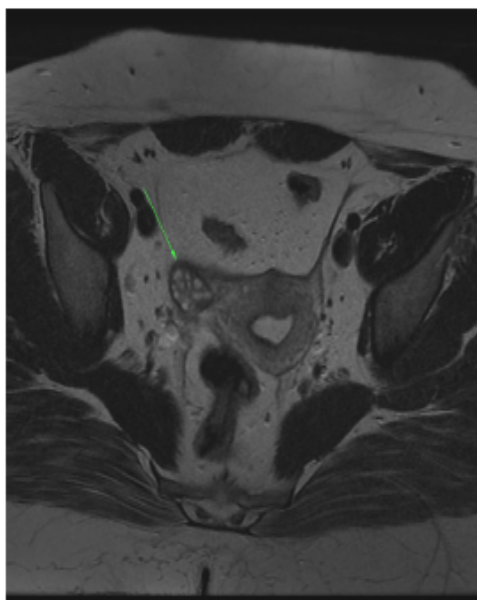


Fig. 3 Axial T2-weighted spin-echo image demonstrates a right normal ovary (green arrow) with ovarian follicles, ADNEX MR score 1

For the fourth approach, we combined the US information with that obtained from MR. In this approach, we used SR to render a first mass diagnosis; next, for the masses classified as indeterminate on SR, we used the MR score to triage the patient.

Finally, the evaluation of all adnexal masses using MR score was the fifth approach.

Statistical analysis

The aim of this study was to compare five diagnostic approaches: (1) SR referring all positive and indeterminate cases, (2) SRRisk, (3) SR followed by SA for indeterminate cases, (4) SR for all patients, if SR result is “indeterminate,” patients are referred to MR score, and (5) MR score for all women. All approaches rendered a final dichotomous result: positive/negative. Borderline ovarian tumors were classified as malignant for statistical purposes. For ADNEX MR Scoring, we used ≥ 4 as the cutoff for malignancy, as suggested by Thomassin-Naggara et al. [10]. First, we compared the key clinical and pathological features of the women who had malignant ($n = 55$) and benign or presumed benign tumors ($n = 116$) using means and frequencies. Kruskal–Wallis test and Chi-squares were used to compare these features. $p < 0.05$ indicated a statistically significant difference. Next, we calculated the basic performance indicators (sensitivity, specificity, positive, and negative predictive values—PPV

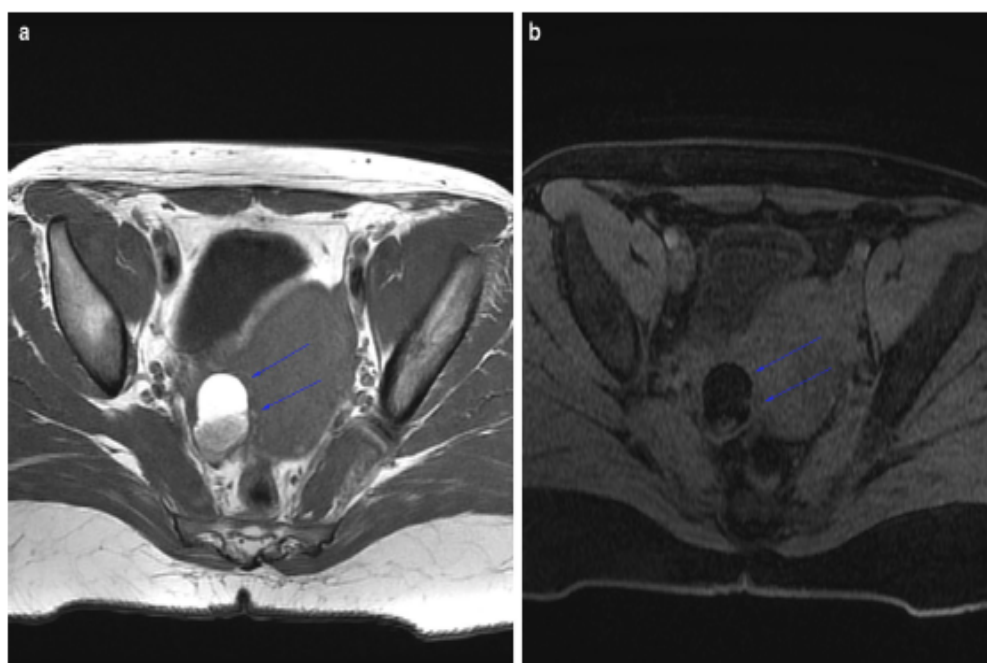


Fig. 4 Mature teratoma in the right ovary (ADNEX MR score 2). **a** Axial T1-weighted demonstrates a right ovarian cystic mass with high signal in fluid content (blue arrow). **b** Axial T1-weighted with fat-sat demonstrates drop of signal in fluid content, inferring fat fluid (blue arrow)

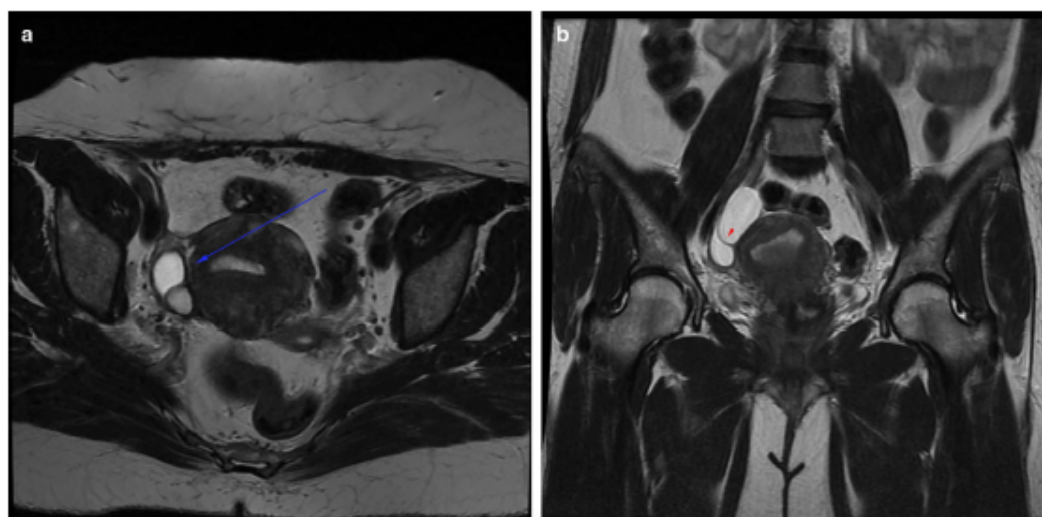


Fig. 5 An ADNEX MR score 3 mass, followed up for 2 years with stable findings. **a** Axial T2-weighted spin-echo image demonstrates cystic loculated mass (blue arrow). **b** Coronal T2-weighted image demonstrates thin septa (red arrowhead)

and NPV, positive and negative likelihood ratios—PLR and NLR) for all five approaches, using the final dichotomous positive/negative status as test result and malignant/non-malignant pathological/clinical outcome as final disease status. Finally, we calculated the standardized net benefit for all five approaches for a sequence of risk thresholds (i.e., the degree of certitude of malignancy over which the decision is made to refer the patient for treatment in a cancer center), beginning from zero and ending at 100%, at 0.005 intervals. We then produced DCA, plotting the standardized net benefits for each approach against the risk thresholds. All calculations were done as described by Vickers et al. [13], using software designed specifically for DCA [19, 20].

Results

Table 1 compares the key epidemiological and pathological features of women with benign and malignant masses. Women with malignant tumors were older (mean age 57.0 years vs. 47.5 of those with benign masses; $p < 0.01$), more frequently postmenopausal (70% vs 40% of those with benign masses; $p < 0.01$), and had higher mean CA125 levels (584.9 U/mL vs. 52.6 U/mL; $p < 0.01$) when compared to their counterparts with benign tumors. Of the 116 women with benign or presumed benign masses, 65 (38%) were operated and 51 (29.8%) were followed up with US for at least 12 months. The majority of them was then discharged from the hospital after benign or absent findings on imaging,

or were operated at some point during follow-up period (see methods for clarification). Of the 65 (38%) women who were operated, final pathological reports revealed 41 (24%) benign ovarian masses, 18 (10.5%) non-neoplastic, and 6 (3.5%) non-ovarian benign masses. On the other hand, for the 55 (32.2%) women with malignant masses, 28 (16.4%) had epithelial ovarian cancer, 11 (6.4%) had borderline ovarian tumors, 4 (2.3%) had rare ovarian malignant, and 3 (1.8%) had ovarian metastasis. Another 9 (5.3%) women had extra-ovarian malignant masses. Detailed histopathological diagnosis is available in Table 2.

In Table 3, we compare the performance indicators for the five diagnostic approaches (please see methods for a description of each approach). The best performance at diagnosing malignant tumors was obtained with MR scoring for all cases; the method yielded the best sensitivity [90.9%; 95% confidence interval (CI) 85.7 to 96.1%], specificity (93.1%; 95% CI 86.6 to 99.6%), PPV (86.2%), NPV (95.6%), PLR (13.2), and NLR (0.1) among all diagnostic approaches examined in this study. Among the US-only-based approaches, the best balance between sensitivity and specificity was obtained when IOTA simple rules indeterminate cases were referred to the SA of an experienced sonographer (sensitivity = 83.3%; 95% CI 76.5 to 90.1%), specificity (80.0%; 95% CI 70.5 to 89.5%), PPV (66.2%), NPV (91.1%), PLR (4.2), and NLR (0.2). However, when indeterminate cases on IOTA Simple Rules were evaluated using MR score, the second-best overall performance was obtained, reaching sensitivity = 89.1% (95% CI 83.4

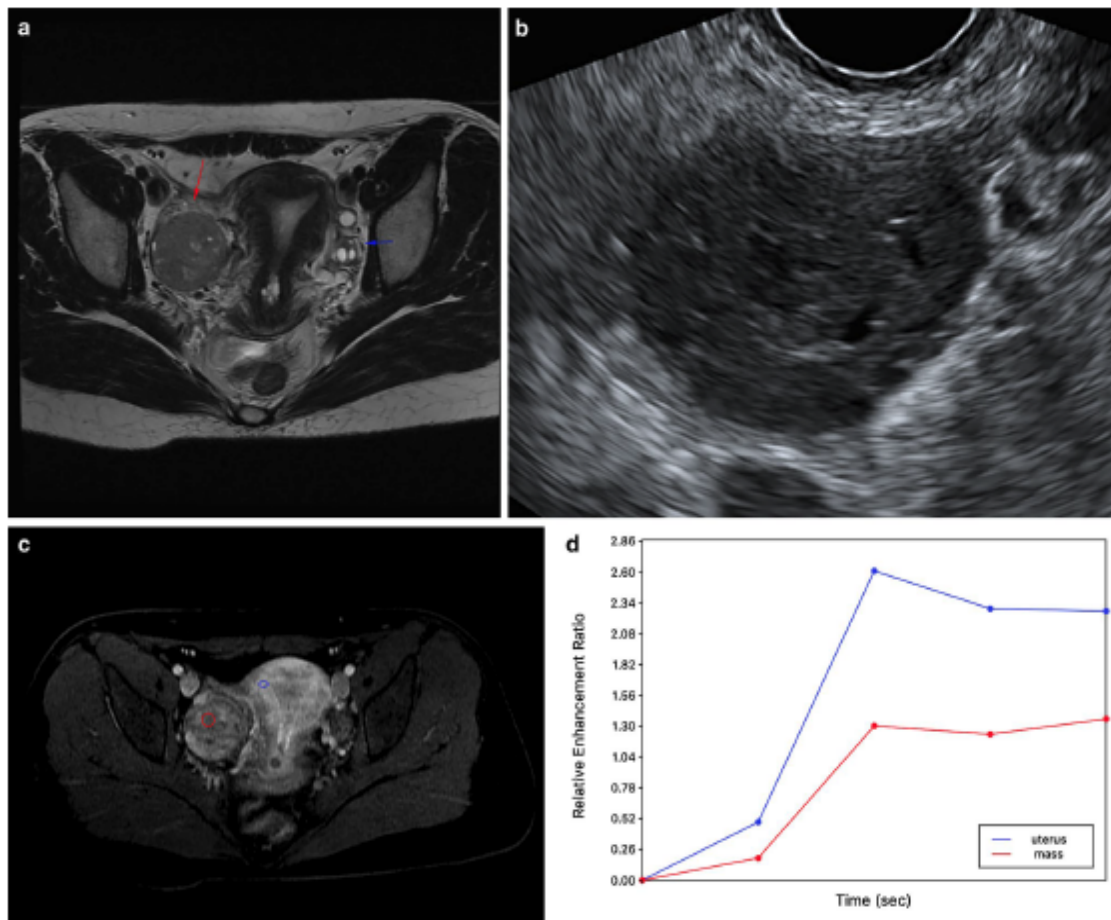


Fig. 6 Granulosa cell tumor in a 29-year-old woman (ADNEX MR score 4). **a** Axial T2-weighted spin-echo demonstrates a right solid ovarian mass (red arrow) with intermediate signal. Left ovary is shown by blue arrow. **b** Ultrasound image reveals a right ovarian solid mass with regular contours, without acoustic shadow. IOTA simple rules: indeterminate. Subjective assessment: inconclusive. **c**

Axial T1-weighted dynamic contrast-enhanced study demonstrates heterogeneous enhancement of the mass (blue circle ROI, uterus; red circle ROI, adnexal mass). **d** Relative enhancement graphic shows the adnexal mass has initial moderate enhancement, less than that of the myometrium, followed by a plateau (curve type 2)

to 94.8%), specificity = 82.7% (95% CI 73.8 to 91.7%), PPV (71.0%), NPV (94.1%), PLR (5.2), and NLR (0.13).

Among 28 cases which were indeterminate on US, 20 underwent surgery, and histopathological diagnosis were 4 benign ovarian tumors (2 teratomas and 2 serous cystadenomas), one non-ovarian mass (uterine leiomyoma), 3 borderline ovarian tumors (2 serous and 1 mucinous), 4 malignant ovarian tumors (2 granulosa cell tumors, 1 serous carcinoma, 1 mucinous carcinoma), 4 extra-ovarian malignant masses (2 pseudomyxoma peritonei, 1 appendix cancer, 1 endometrial cancer), 1 ovarian metastasis of colorectal adenocarcinoma, and 3 non-neoplastic (1 normal ovary, 1 endometrioma, 1 functional cyst). From the

remaining 8 cases, one is currently under surveillance and 7 were discharged from the hospital.

Figure 8 shows the decision curves for the five diagnostic approaches. The results are presented as a graphic where the standardized net benefit for each of the diagnostic approaches is plotted against the risk threshold (i.e., the degree of certitude of malignancy over which the decision is made to refer the patient for treatment in a cancer center). Using the MR score for all women yielded the best-standardized net benefit regardless of the risk threshold. Of note, the differences between curves for SR followed by SA of indeterminate cases and SR followed

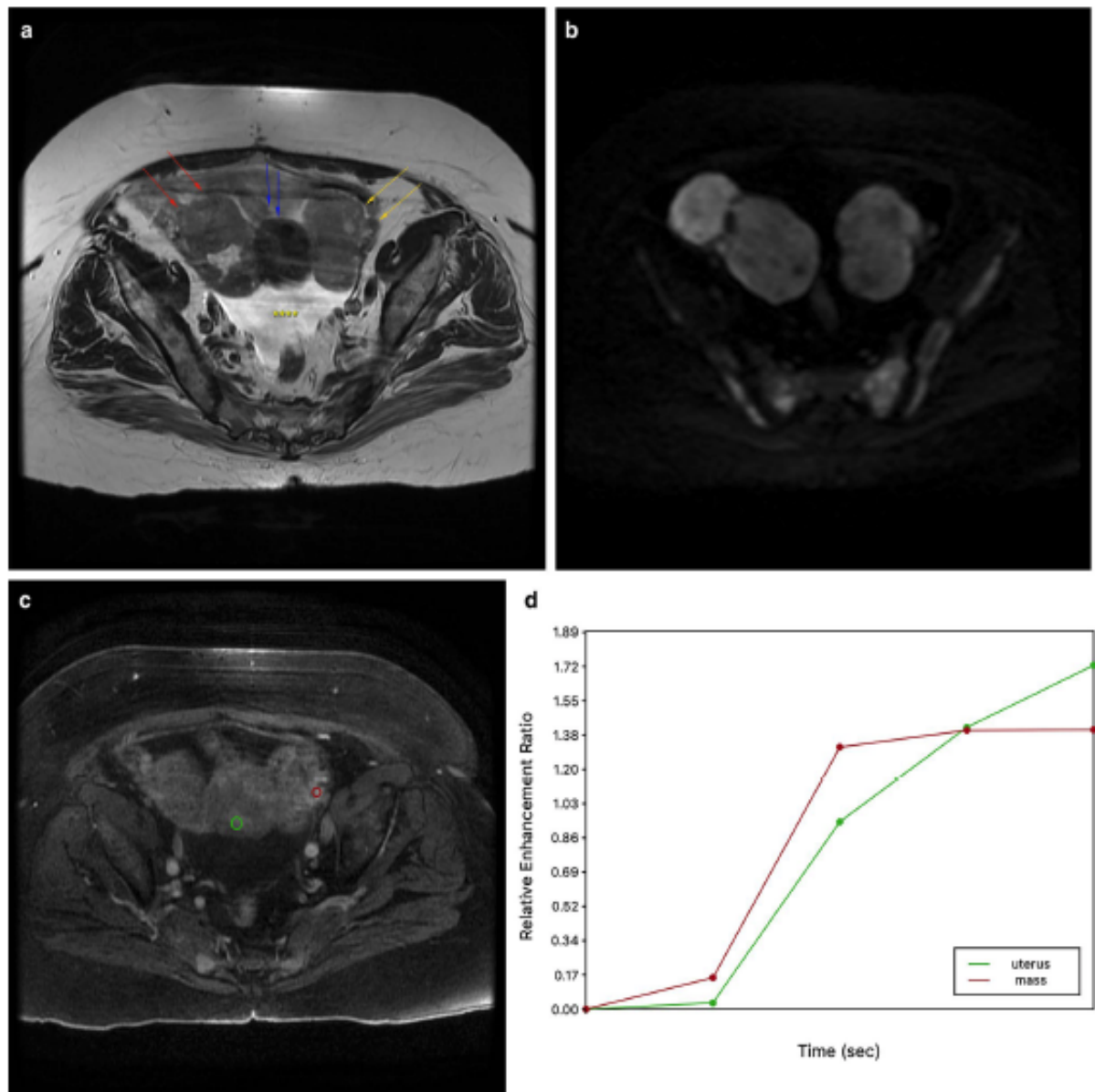


Fig. 7 Images of ADNEX MR score 5 masses: bilateral ovarian metastasis from right colon cancer in a 65-year-old woman. **a** Axial T2-weighted spin-echo image demonstrates bilateral solid ovarian masses (red and yellow arrows), in contact with the uterus (blue arrows). Moderate ascites (*). **b** Axial b-1000 diffusion-weighted demonstrated high signal in solid tissue in both masses. Additionally,

there is also high signal in pelvic bones, inferring secondary neoplastic involvement. **c** Axial T1-weighted dynamic contrast-enhanced study demonstrates enhancement of the solid component (green circle ROI, uterus; red circle ROI, adnexal mass). **d** Relative enhancement graphic shows strong initial mass enhancement, higher than the myometrium (curve type 3)

by MR score for the indeterminate cases show the benefit of replacing the SA for an indeterminate mass on SR with MR score. The most inefficient approaches, which yielded the lower net benefits regardless of the risk thresholds, were approach #1 (referring all women with indeterminate masses) and approach #2 (SRRisk with cutoff at 30%).

Discussion

In this study, we compared US- and MR-based approaches for the differentiation of women with malignancy from a pool of women with adnexal masses. This effort is justified since appropriate referral for oncologic centers is

Table 1 Key features of women with adnexal masses

	Final diagnosis		<i>p</i>
	Benign (<i>n</i> = 116)	Malignant (<i>n</i> = 55)	
Age [mean (SD)]	47.5 (15.2)	57.9 (16.9)	<0.01
Postmenopausal [<i>n</i> (%)]	47 (40%)	39 (70%)	<0.01
CA 125 levels in U/mL [mean (SD)]	52.6 (105.6)	584.9 (1636.4)	<0.01
Final diagnosis**			
Benign—with histopathology	65 (38)		
Ovarian benign	41 (24)		
Non-neoplastic	18 (10.5)		
Non-ovarian benign	6 (3.5)		
Presumed Benign—without histopathology*	51 (29.8)		
Malignant		55 (32.2)	
Epithelial ovarian cancer		28 (16.4)	
Borderline		11 (6.4)	
Rare ovarian malignant		4 (2.3)	
Metastatic		3 (1.8)	
Extraovarian malignant		9 (5.3)	

*Women with an adnexal mass deemed benign who were followed up for at least 1 year with imaging (ultrasound)

**See Table 2 for the final pathological diagnosis

crucial for achieving the best treatment results [1, 21]. Previous research showed that considerable diagnostic accuracy can be obtained using systematized forms of US and MR reporting [8, 22]. We picked two of the best methods described so far, namely, the IOTA Simple Rules (for US) and a MR score (for MR). In addition, we used the Net Benefit statistical approach [13] to determine which diagnostic approach yields the best benefit at predetermined risk thresholds.

Our analyses showed that upfront MR yields the best net benefit at any risk threshold and the best diagnostic performance compared to the other four diagnostic approaches. However, it is a common sense that upfront MR is certainly non-feasible first approach, due to cost and logistic constraints. The second-best option, according to our analyses, is using SR to first evaluate the women with an adnexal mass, leaving only the cases considered indeterminate for evaluation using a MR score. It is worth noting that the combined SR/MR score approach yields the second-best net benefit for pre-established risk thresholds ranging 10–75% approximately, leaving no doubt about its applicability in a vast range of clinical and logistic scenarios.

We also examined two pure US-based diagnostic approaches, which nonetheless yielded acceptable Net Benefits and diagnostic performances when compared to MR alone and SR/MR combined approaches. Our analyses showed that the third-best option in terms of Net Benefit and performance was using the SR for upfront evaluation followed by a SA of the indeterminate cases by a seasoned sonographer. For risk thresholds up to 30%, this approach

yielded a net benefit similar to that of operating all women with indeterminate masses or using the SRRisk. The DCA for these approaches start to build up distance from each other from that risk threshold onwards. In centers for which MR is not available, the best approach would thus be to systematize US evaluation with SR, which can be performed by sonographers with relatively low levels of expertise in gynecologic oncology imaging [6], leaving only the equivocal cases for expert sonographers. This approach is a tangible low-cost solution for non-specialized centers, since it reduces considerably the referral of women with benign masses to oncologic facilities, alleviating the burden on these specialized centers, which in turn are often overcrowded in low-resource settings. We have personal expertise with this clinical scenario, since in Brazil, although available, specialized cancer centers are extremely busy, due to a lack of appropriate triaging capacity at non-specialized centers.

Our study does not innovate with regard to the diagnostic techniques used, but it certainly compares consecrated diagnostic modalities using an innovative and easy-to-translate clinical practice amalgam of approaches. We centered our study design on two premises: (1) feasibility and reproducibility of the diagnostic approaches under scrutiny and (2) finding a best choice for healthcare planners dealing with distinct budget and expertise scenarios. For these reasons, we picked previously tested, easy-to-use diagnostic modalities, such as the SR and MR score. The designers of these techniques were concerned about the reproducibility of their proposed methods in centers with variable levels of professional expertise, dealing with the complex range of features

Table 2 Histopathological diagnosis of 120 operated cases

Histopathological diagnosis	n
Ovarian benign	41
Epithelial	23
Serous	15
Mucinous	7
Brenner tumor	1
Teratoma	17
Fibroma	1
Non-neoplastic	18
Endometrioma	7
Functional cyst	5
Ovarian torsion	2
Chronic salpingitis	1
Normal ovary	1
Paratubal cyst	1
Ovarian stromal hyperplasia	1
Non-ovarian benign	6
Uterine leiomyoma	6
Epithelial Ovarian Cancer	28
Serous	12
Seromucinous	1
Mucinous	5
Endometrioid	2
Clear cells	5
Carcinosarcoma	2
Adenocarcinoma, Not otherwise specified	1
Borderline ovarian tumor	11
Serous	7
Mucinous	4
Rare ovarian malignant	4
Sertoli–Leydig	1
Granulosa cell tumor	3
Ovarian metastasis	3
Colorectal cancer	1
Rectal cancer	1
Pseudomyxoma peritonei	1
Extraovarian malignant	9
Pseudomyxoma peritonei	2
Retroperitoneal lymphoma	1
Uterine leiomyosarcoma	1
Stomach cancer	1
Appendix cancer	1
Colorectal cancer	1
Endometrial cancer	1
Fallopian tube cancer	1

of adnexal masses. These techniques stood the tests of time and external validation [4, 6, 23, 24]. Furthermore, other imaging modalities such as MR have improved its techniques for the same purpose [10, 18].

In a systematic review, MR was considered the gold standard second imaging test for incidentally discovered, indeterminate, US-detected adnexal masses. In addition, they conclude that the main contribution of MR was its specificity as it provides reliable diagnosis of benign adnexal masses [22]. In our study, we used the MR model and obtained the best specificities with this predictive model based on MR. Our standard performance estimators for MR scoring are well in alignment with those published by Ruiz et al. [11], who used the same method for rendering a MR score for the diagnosis of borderline and malignant ovarian masses: those authors reported a sensitivity of 91.7% (95% CI 73 to 99%), specificity of 92.7% (95% CI 86.7 to 96.6%), compared to a sensitivity and specificity of 90.9 (95% CI 85.7 to 96.1) and 93.1 (95% CI 86.6 to 99.6), respectively, in our study. However, the use of indiscriminate MR score as a first imaging for all adnexal masses in the preoperative setting is cumbersome. Even if we consider an optimization of costs with MR usage, ultrasound is the imaging of choice for initial evaluation of a suspicious adnexal mass [22].

Additional problems arise, however, when translating the results of these studies to the audience of practitioners. Sensitivity, specificity, areas under the curve, and calibration are statistical measures most commonly used for the evaluation of performance of prediction models, although it is not clear how high or low these measures need to be to warrant clinical use [14]. For these reasons, we decided to use the DCA alongside classic performance indicators to compare the proposed diagnostic approaches. As proposed by Vickers et al. [13], DCAs, when used correctly, provide useful information for the practitioner dealing with question “which method/exam should I use for this specific patient, in the hospital/clinic where I work?” In our study, the classic analysis using performance indicators such as sensitivity, specificity, predictive values, and likelihood ratios converged with those using DCAs, although this later facilitates in a greater way our mission of conveying our findings to a language promptly understandable by the practitioner and healthcare planner. In essence, our results show that in the improbable scenario where MR is fully available, prompt evaluation of the patient using this method yields the best benefit, risk thresholds notwithstanding. However, in more common scenarios, where economical restraints apply, the combined use of US and MR affords a straightforward and effective way of discerning which women with an adnexal mass harbor malignancy. Our study also shows that if economic and logistic constraints are harder to surpass, US-based evaluation with SR followed by the evaluation of equivocal cases by a seasoned sonographer is also acceptable in terms of performance and Net Benefits, thus covering a vast array of clinical and budgetary situations with which professionals dealing with gynecologic care are faced every day.

Table 3 Performance of standalone and combined diagnostic procedures for the detection of malignant tumors in women with adnexal masses

Diagnostic approach	Sensitivity	Specificity	PPV (%)	NPV (%)	PLR	NLR
1) Simple rules—Refer Indeterminate tumors**	89.1 (83.4 to 94.8)	69.8 (60.0 to 79.6)	58.3	93.1	2.9	0.2
2) Simple rules risk (SR Risk—cutoff 30% risk)	87.2 (80.9 to 93.6)	70.8 (60.2 to 81.3)	56.9	92.6	3.0	0.2
3) Simple rules + Subjective assessment*	83.3 (76.5 to 90.1)	80.0 (70.5 to 89.5)	66.2	91.1	4.2	0.2
4) Magnetic resonance (MR scoring)	90.9 (85.7 to 96.1)	93.1 (86.6 to 99.6)	86.2	95.6	13.2	0.1
5) Simple rules + magnetic resonance for indeterminate cases***	89.1 (83.4 to 94.8)	82.7 (73.8 to 91.7)	71.0	94.1	5.2	0.13

PPV positive predictive value, NPV negative predictive value, PLR positive likelihood ratio, NLR negative likelihood ratio

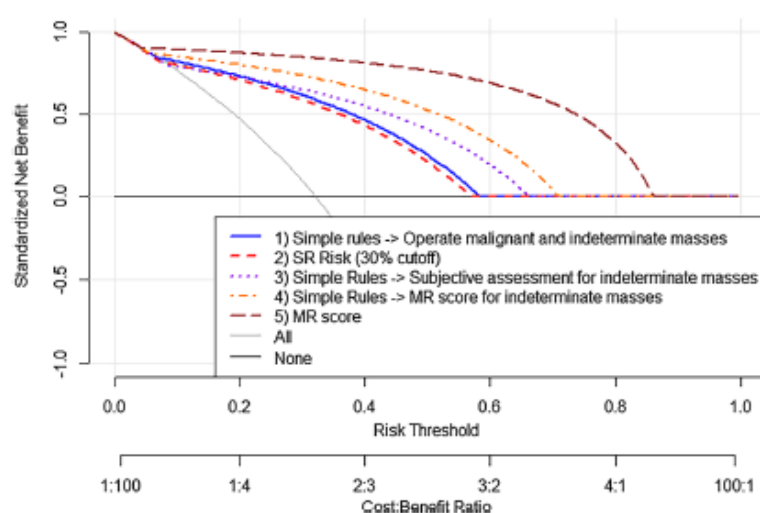
*Women whose tumors are classified as “indeterminate” using IOTA Simple Rules evaluated using the subjective assessment of an experienced sonographer

**Women with “malignant” and “indeterminate” tumors per IOTA Simple Rules are referred to a specialized cancer center

***Indeterminate tumors are evaluated using magnetic resonance (MR)

Sensitivity and Specificity are expressed in %, with 95% confidence interval in brackets

Fig. 8 Net benefit curves for the detection of malignant tumors in women with adnexal masses using standalone and combined diagnostic approaches. Net benefit curves display the rate of benefit (in this case, true positives) over harm (false positives) according to a given threshold probability (the probability of a woman having a malignant tumor). The basic interpretation of the a decision curve is that the approach with the highest net benefit at a particular threshold probability has the highest clinical value



Acknowledgements This study was supported by the São Paulo Research Foundation, Fapesp number 2012/15059-8 and by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

References

- Glanc P, Benacerraf B, Bourne T, Brown D, Coleman BG, Crum C et al. First International Consensus Report on Adnexal Masses: Management Recommendations. *J Ultrasound Med*. 2017 May;36(5):849–863. <https://doi.org/10.1002/jum.14197>
- Alcázar JL, Olartecoechea B, Guerriero S, Jurado M. Expectant management of adnexal masses in selected premenopausal women: a prospective observational study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013 May;41(5):582–8. <https://doi.org/10.1002/uog.12369>
- Timmerman D, Testa AC, Bourne T, Amsel L, Jurkovic D, Van Holsbeke C et al. Simple ultrasound-based rules for the diagnosis of ovarian cancer. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008 Jun;31(6):681–90. <https://doi.org/10.1002/uog.5365>
- Hartman CA, Juliato CR, Sarian LO, Toledo MC, Jales RM, Morais SS et al. Ultrasound criteria and CA 125 as predictive variables of ovarian cancer in women with adnexal tumors. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2012 Sep;40(3):360–6. <https://doi.org/10.1002/uog.11201>
- Sayasneh A, Kaijser J, Preisler J, Johnson S, Stalder C, Husicka R et al. A multicenter prospective external validation of the diagnostic performance of IOTA simple descriptors and rules to characterize ovarian masses. *Gynecol Oncol*. 2013 Jul;130(1):140–6. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2013.04.003>
- Alcázar JL, Pascual MA, Graupera B, Aubá M, Errasti T, Olartecoechea B et al. External validation of IOTA simple descriptors and simple rules for classifying adnexal masses.

- Ultrasound Obstet Gynecol. 2016 Sep;48(3):397-402. <https://doi.org/10.1002/uog.15854>
7. Kaijser J, Sayasneh A, Van Hoorde K, Ghaem-Maghani S, Bourne T, Timmerman D et al. Presurgical diagnosis of adnexal tumours using mathematical models and scoring systems: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2014 May-Jun;20(3):449-62. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmt059>
 8. Meys EM, Kaijser J, Kruiwagen RF, Slangen BF, Van Calster B, Aertgeerts B et al. Subjective assessment versus ultrasound models to diagnose ovarian cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2016 May;58:17-29. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2016.01.007>
 9. Thakur M, Timmerman D. Imaging of Adnexal Masses. *Clin Obstet Gynecol*. 2017 Mar;60(1):38-45. <https://doi.org/10.1097/grf.0000000000000261>
 10. Thomassin-Naggara I, Aubert E, Rockall A, Jalaguier-Coudray A, Rouzier R, Daraï E et al. Adnexal masses: development and preliminary validation of an MR imaging scoring system. *Radiology*. 2013 May;267(2):432-43. <https://doi.org/10.1148/radiol.113121161>
 11. Ruiz M, Labauge P, Louboutin A, Limot O, Fauconnier A, Huchon C. External validation of the MR imaging scoring system for the management of adnexal masses. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016 Oct;205:115-9. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.07.493>
 12. Timmerman D, Van Calster B, Testa A, Savelli L, Fischerova D, Froyman et al. Predicting the risk of malignancy in adnexal masses based on the Simple Rules from the International Ovarian Tumor Analysis group. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 Apr;214(4):424-37. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.01.007>
 13. Vickers AJ, Elkin EB: Decision curve analysis: A novel method for evaluating prediction models. *Med Decis Making* 26:565-574, 2006. <https://doi.org/10.1177/0272989x06295361>
 14. Vickers AJ, Van Calster B, Steyerberg EW. Net benefit approaches to the evaluation of prediction models, molecular markers, and diagnostic tests. *BMJ*. 2016 Jan 25;352:i6. <https://doi.org/10.1136/bmj.i6>
 15. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. World Health Organization Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2014.
 16. Prat J, FIGO Committee on Gynecologic Oncology. Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet*. 2014;124(1):1-5. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2013.10.001>
 17. Timmerman D, Valentin L, Bourne TH, Collins WP, Verrelst H, Vergote I et al. Terms, definitions and measurements to describe the sonographic features of adnexal tumors: a consensus opinion from the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) Group. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 16: 500-505. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0705.2000.00287.x>
 18. Thomassin-Naggara I, Daraï E, Cuenod CA, Rouzier R, Calard P, Bazot M. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging: a useful tool for characterizing ovarian epithelial tumors. *J Magn Reson Imaging*. 2008 Jul;28(1):111-20. <https://doi.org/10.1002/jmri.21377>
 19. R Project for Statistical Computing; package DecisionCurve- (<https://cran.r-project.org/web/packages/DecisionCurve/>.)
 20. R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL (<https://www.R-project.org/>).
 21. Forstner R, Thomassin-Naggara I, Cunha TM, Kinkel K, Masselli G, Kubik-Huch R et al. ESUR recommendations for MR imaging of the sonographically indeterminate adnexal mass: an update. *Eur Radiol*. 2017 Jun;27(6):2248-2257. <https://doi.org/10.1007/s00330-016-4600-3>
 22. Anthoulakis C, Nikoloudis N. Pelvic MRI as the "gold standard" in the subsequent evaluation of ultrasound-indeterminate adnexal lesions: a systematic review. *Gynecol Oncol*. 2014 Mar;132(3):661-8. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2013.10.022>
 23. Pecos Rama A, Llanos Llanos MC, Sánchez Ferrer ML, Alcázar Zambrano JL, Martínez Mendoza A, Nieto Díaz A. Simple descriptors and simple rules of the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) Group: a prospective study of combined use for the description of adnexal masses. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015 Dec;195:7-11. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2015.07.010>
 24. Ruiz de Gauna B, Rodríguez D, Olarte-coechea B, Aubá M, Jurado M, Gómez Roig MD et al. Diagnostic performance of IOTA simple rules for adnexal masses classification: a comparison between two centers with different ovarian cancer prevalence. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015 Aug;191:10-4. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2015.05.024>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

4.2 Artigo 2

O artigo abaixo, intitulado *Diffusion-weighted Magnetic Resonance sequence and CA125/CEA ratio significantly contribute to overcome ultrasound limitations for the identification of pelvic mass origin* foi submetido à publicação na revista International Journal of Gynecological Cancer em junho de 2021.

INTERNATIONAL JOURNAL OF GYNECOLOGICAL CANCER

Diffusion-weighted Magnetic Resonance sequence and CA125/CEA ratio significantly contribute to overcome ultrasound limitations for the identification of pelvic mass origin

Journal:	<i>International Journal of Gynecological Cancer</i>
Manuscript ID	ijgc-2021-002897
Article Type:	Original research
Date Submitted by the Author:	26-Jun-2021
Complete List of Authors:	Pereira, Patrick; State University of Campinas Yoshida, Adriana; Universidade Estadual de Campinas Sarian, Luis; State University of Campinas Jales, Rodrigo; State University of Campinas Barros, Ricardo; State University of Campinas Derchain, Sophie; Universidade Estadual de Campinas
Keywords:	Ovary < Ovarian Cancer, Ovarian Diseases < Ovarian Cancer, Ovarian Neoplasms < Ovarian Cancer, Gynecologic Surgical Procedures, Pelvis < Miscellaneous

Abstract

Purpose: To identify magnetic resonance (MR) parameters associated with non-ovarian origin of adnexal mass in women previously evaluated with pelvic ultrasound and CA125/CEA quantifications. **Methods:** This is a cross-sectional study in which we included 159 patients (133 with ovarian and 26 with non-ovarian tumors) who underwent surgery/biopsy for an adnexal mass. Preoperative CA125 and CEA serum measurements were obtained and a thorough pelvic and abdominal ultrasound was performed. Preoperative pelvic MR studies were also performed for all patients. Morphological and advanced MR sequences were obtained. Using a recursive partitioning algorithm to predict tumor origin, we devised a roadmap to determine the probability of non-ovarian origin using only statistically significant US, laboratory and MR parameters. **Results:** Upfront US classification as ovarian versus non-ovarian (OR=26.3; <0.001) and CA125/CEA ratio (OR= 0,24; p= 0.02) were significantly associated with non-ovarian tumors. Signal diffusion (absent/low versus high) (OR=0.26; p=0.019) was the only MR parameter significantly associated with non-ovarian tumors. When upfront US classified a tumor as ovarian, further MR signal diffusion and CA125/CEA ratio were effective in nearly counteracting all US error: patients with MR signal diffusion low/absent and those with signal high but CA125/CEA ratio ≥ 25 had an extremely low chance (<1%) of being of non-ovarian origin. However, for women whose ovarian tumors were incorrectly classified by upfront US as non-ovarian, neither MR nor CA125/CEA ratio were able to precisely determine tumor origin. **Conclusion:** MR signal diffusion is an extremely useful MR parameter to help determine adnexal mass origin when US and laboratory findings are inconclusive.

Abstract word count: 252

Keywords: magnetic resonance, CA125, CEA, adnexal mass, ovarian tumors, non-ovarian tumors

Diffusion-weighted Magnetic Resonance sequence and CA125/CEA ratio significantly contribute to overcome ultrasound limitations for the identification of pelvic mass origin

Introduction

The preoperative definition of tumor origin (ovarian vs. non-ovarian) is key to treatment planning for women with adnexal masses [1,2]. Preoperative investigation protocols for suspected malignant non-ovarian pelvic masses should encompass exams for the gastrointestinal tract (e.g. colonoscopy), and the surgical approach planning for these cases often requires the presence of medical teams capable of performing gastrointestinal or urologic interventions. Women with a suspected malignant non-ovarian pelvic mass should undergo extensive extra-pelvic investigation, in order to ascertain the tumors' primary site and disease extent [3].

Unfortunately, clinical manifestations, imaging and laboratory findings can be elusive and lead to incorrect identification of tumor origin in many cases [4]. In this context, it is not uncommon that unexpected intraoperative difficulties arise, such as the necessity of gastrointestinal and extra-pelvic interventions without the patient being prepared to undergo such interventions, or the surgical team not being properly trained to deal with non-gynecological patients. In contrast, patients with malignant ovarian tumors incorrectly identified as non-ovarian masses could have been better managed by gynecologic oncology surgeons [5].

The rarity of cases and the dearth of data on large cohorts of women with ovarian / non-ovarian pelvic masses hamper the development of diagnostic protocols capable of yielding sufficient preoperative data to discriminate women who should be treated by a gynecologic oncology surgeon from those who should be referred to a general surgeon [2,6]. Many attempts, however, are being made to tackle the problem using currently available diagnostic tools. For instance, the ultrasound (US) and cancer antigen 125 (CA125)-based malignancy prediction model of the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) group called ADNEX has been designed to categorize adnexal masses as benign borderline, malignant (initial, advanced) or metastatic [7].

Our study aimed to provide a straightforward approach to the sequential use of US, magnetic resonance (MR) and serum biomarkers in order to adequately differentiate tumor origin making the most efficient use of these diagnostic resources.

Methods

This cross-sectional study was conducted at the Women's Hospital of the University of Campinas, a tertiary cancer center, located in Campinas, São Paulo. The study was approved by the University Research Ethics Committee (protocol #1092/2009 and #008/2010) and included patients who were enrolled in the period from October 2011 to September 2020. Follow-up lasted through March 2021 and follow-up data for this study was logged up until then. In short, we consecutively invited women referred to our hospital due to an adnexal or pelvic mass, without prior (surgical) treatment. After signing the informed consent form, patients were submitted to a physical exam and blood samples

were collected for serum marker measurement. An US evaluation of the pelvis was scheduled for all women. After the US, 278 cases were scheduled for MR. MR readers did not know clinical information (e.g. time of evolution, whether the masses were palpable or not), biomarkers tests results (serum CA 125 and CEA levels) or information of previous imaging of the patient (pelvic US), trying to avoid diagnostic bias. MR were performed in Sumaré State Hospital, an affiliated hospital of the University, located close to the study's main hospital. When indicated, diagnostic and/or treatment surgical procedures were performed. The indication of surgery was based on clinical exam, preoperative biomarker levels, US (IOTA simple rules) [8] and MR results (practitioners did not have access to MR scoring results). Of the 278 women initially enrolled, we excluded 117 that did not have a histopathological diagnosis and 2 were also excluded due to missing CEA results. After exclusions, data from 159 women remained available for analysis (flowchart in **Figure 1**).

The final histological diagnosis was established following the guidelines from the World Health Organization International Classification of Ovarian Tumors [9] by a team of pathologists specialized in pelvic neoplasms.

Biomarkers assessment, US, surgery and histopathological analysis were performed at this single institution (Women's Hospital of the University of Campinas). More than one tumor was found in 15 women; each adnexal tumor was described separately in US and MRI reports. However, only the tumor with the worst prognosis was considered for statistical analysis.

The reference standard was the histopathological diagnosis in 132 cases submitted to surgery and 13 cases obtained from percutaneous biopsy, 2 from

Pipelle® biopsy and 1 through colonoscopy. All US and MRI assessments were done before obtaining the histological diagnosis.

Ultrasonography

Ultrasound examinations were performed by or were carried out under the supervision of experienced examiners at the Ultrasound Technical Section of Women's Hospital of the University of Campinas. All the recruited patients of the study were assessed by R.M.J., level 3 examiner in gynecological ultrasound. The ultrasound machines used were Voluson Expert 730 (GE Healthcare Ultrasound, Milwaukee, WI, USA) and Toshiba Xsario SSA – 660A (Toshiba Medical Systems Corporation, Japan). In the majority of cases, ultrasound evaluation was assessed initially by a transabdominal approach with full bladder; and then, a transvaginal scan with empty bladder was accomplished. Adnexal masses were described following IOTA terms and definitions [10], in order to apply Simple Rules [8]. Also, Color Doppler was used (utilizing pulse repetition frequency 0,3 - 0,6 kHz) and a color score (1 = no blood flow; 2 = minimal blood flow; 3 = moderate blood flow; 4 = marked blood flow) was attributed to each adnexal mass. Eventually, the examiner gave a subjective assessment of whether the mass was expected to be an ovarian or non-ovarian/indeterminate tumor. Sonographers performed all the exams without awareness of histological diagnosis and follow-up data.

Magnetic Resonance (MR)

The MR were independently reported by two radiologists specialized in pelvic MR (P.N.P.) and upper abdomen MR (R.H.O.B.) imaging, without knowledge of the histological diagnosis and/or follow-up data. Both radiologists

had vast prior expertise analyzing pelvic MR images (10 and 9 years, respectively). Scans were acquired on a General Electric 1.5 Tesla machine (GE Signa HDxt®) by using a pelvic phased-array coil. We used a protocol aimed at assessing adnexal masses, which consisted of T2-weighted multiplanar sequences (axial, sagittal and coronal), a T1-weighted sequence in and out phase, diffusion-weighted sequence with $b = 0, 500$ and 1000) and T1-weighted sequences, with fat sat, before and after intravenous contrast injection. An additional upper abdomen diffusion-weighted sequence was performed.

The following MRI parameters were evaluated: size, septa [no, single, two or more], septa thickness [thin, thick], T2-weighted signal intensity within solid tissue [absent/low, medium/high], $b=1000$ s/mm² –weighted signal intensity within solid tissue [absent/low, medium/high], wall enhancement [yes, no], time-signal intensity curve within solid tissue [type 1/type 2, type 3], ascites [yes, no], peritoneal implants [yes, no] and metastasis [yes, no]).

Biomarker measurement

Blood samples collected from patients were stored in serum separator tubes. They were left to clot for at least 30 minutes before centrifugation. Blood samples were centrifuged 1300g for 10min, and serum was separated into aliquots and stored at -80°C until analysis of biomarkers.

Cancer antigen 125 (CA125) and carcinoembryonic antigen (CEA)

Serum CA125 and CEA were determined by the CA125 II and CEA tests, respectively, both biomarkers through the chemiluminescence technique in the

automatic analyzer Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) according to the manufacturer's instructions, CA125 expressed in U/ml and CEA in ng/ml.

Statistical analysis

Data were analyzed using the R Environment for Statistical Computing Software [11]. Statistical calculations were performed using 95% confidence intervals (CIs), considering $P < 0.05$ as significant, except for the conditional inference tree, for which a 90% ($p < 0.10$) confidence interval was assumed. The study minimum sample size was estimated at 120 women (70 with benign and 50 with malignant ovarian tumors). Ovarian tumors were classified into malignant, benign and borderline, non-neoplastic and metastatic groups; non-ovarian tumors were classified into malignant or benign non-ovarian tumors according to histopathologic diagnosis. Clinical characteristics of groups classified histologically as ovarian or non-ovarian were compared using the chi-square test for categorical variables and Kruskal-Wallis test for continuous variables.

We fitted a logistic regression model for the discrimination of ovarian from non-ovarian tumors using as explanatory variables the upfront ultrasound evaluation impression (ovarian/non-ovarian), CA125/CEA ratio, and MR parameters (tumor size, septa [single, two or more], septa thickness [thin, thick], T2-weighted signal intensity within solid tissue [absent/low, medium/high], $b=1000$ s/mm² –weighted signal intensity within solid tissue [absent/low, medium/high], wall enhancement [yes, no], time-signal intensity curve within

solid tissue [type 1/type 2, type 3], ascites [yes, no], peritoneal implants [yes, no], metastasis [yes, no]).

Next, the explanatory variables significantly associated with non-ovarian status (upfront ultrasound impression, CA125/CEA ratio, and MR signal diffusion) were included in a recursive partitioning regression model [12], from which a conditional inference tree was generated. The global null hypothesis of independence between input variables (explanatory variables) and the response (non-ovarian/ ovarian mass) was tested. Branches of the generated inference tree bifurcate when a statistically significant association was detected ($P < 0.05$) (**Figure 2**).

Results

Table 1 shows the key clinical characteristics of women with ovarian and non-ovarian tumors. A total of 159 women were included in the study, 26 (16.4%) of whom had non-ovarian tumors. Age, menopausal status and CA125 levels were not statistically related to tumor origin, whereas women with non-ovarian tumors had significantly higher CEA levels (55.1 vs 5.8 ng/mL, $p = 0.03$) and significantly lower CA125/CEA ratios (38.3 vs. 333.5; $p = 0.006$). Most (57 out of 133) ovarian tumors were benign. Among these, 19 women had non-neoplastic (e.g. endometrioma, functional cysts) conditions. Among the malignant ovarian tumors, the majority were epithelial ovarian cancer, followed by borderline and rare malignant ovarian tumors. In women with non-ovarian tumors ($n = 26$), 11 (42.3%) had non-ovarian benign conditions (e.g. fibroids, salpingitis), whereas in women with malignant non-ovarian entities, 15 had

extra-ovarian malignant tumors (4 of which were metastasis to the ovary and the remainder 11 were malignant pelvic masses) (**Table 2**).

Table 3 shows the logistic regression model explanatory variables with the lowest p-values for the association with non-ovarian final status. Multivariate (adjusted) odds ratios and p-values for these parameters are shown. Upfront US was associated with non-ovarian tumors (OR=26.3; 95%CI 7.7 to 89.9, $p < 0.001$). CA125/CEA ratio < 25 was also significantly (OR= 0.24; 95%CI= 0.07 to 0.79; $p = 0.02$) associated with non-ovarian tumors. Medium to high diffusion signal in diffusion-weighted sequence with $b = 1000$ s/mm² was also significantly associated (OR = 0.26; 95%CI = 0.08 to 0.8, $p = 0.019$) with non-ovarian tumors.

Figure 2 also conveys a brief pathological description of the tumors allocated to each group. Upfront US incorrectly classified 22 ovarian masses: 10 out of 96 cases classified as “ovarian” by upfront US were found to be of non-ovarian origin (these cases are listed in groups #1 and #2) and 12 out of 28 cases classified as “non-ovarian” by upfront US were actually of ovarian origin (these cases are listed in group #4). It seems clear from the inferential tree that, when upfront US designates a tumor as ovarian, further MR signal diffusion and CA125/CEA ratio are capable of nearly offsetting US error: patients with MR signal diffusion low/absent and those with signal high but CA125/CEA ratio ≥ 25 had an extremely low probability ($< 1\%$) of being of non-ovarian origin. Group #2 encompasses those patients whose tumors were classified as ovarian by upfront US and that had medium/high MR diffusion signal and CA125/CEA ratio < 25 . This group encapsulates nearly all non-ovarian tumors erroneously

classified as ovarian by US: salpingitis, endometrial cancer, leiomyomas, a retroperitoneal lipoma and 3 metastatic tumors. Unfortunately, for women whose ovarian tumors were incorrectly classified by upfront US as non-ovarian, neither MR nor CA125/CEA ratio were able to correctly determine tumor origin (group #4).

Discussion

Our study shows the usefulness of MR signal intensity in diffusion-weighted sequence, in association with CA 125 and CEA levels, as adjuvant tools for the correct discrimination of difficult adnexal mass cases as of ovarian or non-ovarian origin. The interpretation of our conditional inference tree led us to conclude that, for women with an US impression of an adnexal mass of ovarian origin, a medium/high signal diffusion combined with CA125/CEA ratio ≥ 25 indicated a probability of 100% of diagnosing ovarian tumors; the majority of which (85.7%) being malignant. By contrast, after upfront US suggesting an ovarian origin for the adnexal mass, low or absent MR signal diffusion was strongly associated with benign and non neoplastic lesions. In addition, an US suggesting ovarian origin, followed a medium/high MR signal diffusion and then a CA125/CEA ratio < 25 identified 59% of primary ovarian tumors (all of them malignant), which indicates that a medium/high MR signal was more relevant than the biomarkers ratio in the determination of tumor origin. These findings are of utmost clinical relevance, since proper treatment strategies can be tailored for patients sharing these features.

Our findings are in alignment with the literature, since the vast majority of adnexal tumors that show high signal in MR diffusion-weighted sequences are

malignant [13,14]. In the present study, we chose to apply the MR morphological characteristics obtained in our previous study [14] and added the use of CA125/CEA ratio, which involves simple biomarkers which are widely available in the preoperative setting and bear a known relationship with tumor origin (whether ovarian epithelial or gastrointestinal). It is important to note that our study pioneered an attempt to integrate MR findings with serum biomarkers in order to define the primary site of adnexal masses.

In the biomarkers realm, Sagi-Dain and cols. [15] also reported an association between CA125/CEA ratio ≥ 25 and ovarian tumors, which in turn is in perfect alignment with our own findings. Biomarkers can be useful tools in the preoperative prediction of malignancy in women with suspicious adnexal masses, ranging from isolated CA125 to some algorithms based on a combination of multiple biomarkers, e.g. ROMA, OVA-1, Overa [16]. However, there is a dearth of data about the use of the available biomarkers in the discrimination of ovarian from non-ovarian tumors. Sorensen et al. in a study with 355 malignant ovarian and non-ovarian tumors demonstrated that when CA125/CEA ratio > 25 , 82% of the ovarian cancers were correctly identified [17]. A study involving 495 patients showed that CA125 associated to CEA did not perform better than CA125 alone in the discrimination of benign from malignant adnexal masses, although it is worth noting that CA125/CEA ratio ≥ 25 was significantly associated with primary and non-metastatic ovarian tumors (RR= 2.4, 95% CI, 1.3-4.6) [15].

It must be emphasized that, in the context of preoperative evaluation of suspicious adnexal masses, US is the triage imaging to characterize an adnexal

mass, and MR is indicated to indeterminate masses on US, especially those large pelvic masses with extension to the upper abdomen [18]. However, since the most common non-gynecological tumor types metastasizing to the ovaries are breast, colorectal, gastric, and appendix tumors, additional exams such as colonoscopy, upper abdomen computed tomography, mammography, and upper gastrointestinal endoscopy may be necessary in the preoperative scenario [3].

We must highlight some limitations of our study. In order to reflect the day-to-day clinical practice, we chose to evaluate a wide range of (non) ovarian adnexal tumors. However, endometriomas and germ cell tumors are easily identifiable using US and/or MR. Consequently, one may argue that there is no point in applying this algorithm for typical tumors. Nevertheless, our algorithm can provide valuable help in doubtful cases, such as very large adnexal lesions (when anatomical landmarks are lost) and in cases of malignant tumors, in which early and correct referral directly impacts patients' survival [5]. For most pelvic masses it is possible to determine the primary site (ovarian vs extraovarian) using indirect and/or direct MR imaging findings such as the identification of the ovarian vein drainage of the lesion which indicates an ovarian origin. By contrast, when both ovaries are discernible the possibility of ovarian origin of the mass is ruled-out [19].

In synthesis, this study may present useful data for radiologists and gynecologic surgeons concerned about the origin of adnexal/pelvic masses in subsets of their patients with difficult to interpret US findings. To be prepared to treat a gastrointestinal or other non-ovarian condition is always preferable to discovering the true nature of a pelvic mass in the intraoperative period, since

technical resources (e.g. surgeons with adequate expertise in gastrointestinal surgery) may not be readily available. Using a straightforward, relatively inexpensive strategy of combining information from MR and serum biomarkers, the extra resources needed to correctly treat women with non-ovarian masses can be summoned before treatment starts.

Conflict of interest: On behalf of all authors, the corresponding author states that there is no conflict of interest.

Funding: This study was supported by the São Paulo Research Foundation, Fapesp number 2012/15059-8 and by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

References

- [1] Masch WR, Kamaya A, Wasnik AP et al. Ovarian cancer mimics: how to avoid being fooled by extraovarian pelvic masses. *Abdom Radiol (NY)*. 2016 Apr;41(4):783-93. [https:// doi: 10.1007/s00261-015-0570-1](https://doi.org/10.1007/s00261-015-0570-1).
- [2] Shetty M. Nonovarian Mimics of Ovarian Malignancy. *Semin Ultrasound CT MR*. 2019 Aug;40(4):319-331. [https:// doi: 10.1053/j.sult.2019.04.003](https://doi.org/10.1053/j.sult.2019.04.003).
- [3] Karaosmanoglu AD, Onur MR, Salman MC et al. Imaging in secondary tumors of the ovary. *Abdom Radiol (NY)*. 2019 Apr;44(4):1493-1505. [https://doi: 10.1007/s00261-018-1809-4](https://doi.org/10.1007/s00261-018-1809-4).
- [4] Gangadhar K, Mahajan A, Sable N et al. Magnetic Resonance Imaging of Pelvic Masses: A Compartmental Approach. *Semin Ultrasound CT MR*. 2017 Jun;38(3):213-230. [https://doi: 10.1053/j.sult.2016.11.004](https://doi.org/10.1053/j.sult.2016.11.004).
- [5] Woo YL, Kyrgiou M, Bryant A et al. Centralisation of services for gynaecological cancers - a Cochrane systematic review. *Gynecol*

- Oncol. 2012 Aug;126(2):286-90. [https:// doi: 10.1016/j.ygyno.2012.04.012](https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2012.04.012).
- [6] Kubeček O, Laco J, Špaček J et al. The pathogenesis, diagnosis, and management of metastatic tumors to the ovary: a comprehensive review. *Clin Exp Metastasis*. 2017 Jun;34(5):295-307. [https://doi: 10.1007/s10585-017-9856-8](https://doi.org/10.1007/s10585-017-9856-8).
- [7] Van Calster B, Van Hoorde K, Valentin L et al. Evaluating the risk of ovarian cancer before surgery using the ADNEX model to differentiate between benign, borderline, early and advanced stage invasive, and secondary metastatic tumours: Prospective multicentre diagnostic study. *BMJ* 2014 Oct 15;349:g5920. [https:// doi: 10.1136/bmj.g5920](https://doi.org/10.1136/bmj.g5920).
- [8] Timmerman D, Testa AC, Bourne T et al. Simple ultrasound-based rules for the diagnosis of ovarian cancer. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008 Jun;31(6):681-90. [https:// doi: 10.1002/uog.5365](https://doi.org/10.1002/uog.5365).
- [9] Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS et al. *World Health Organization Classification of Tumours of Female Reproductive Organs*. 4th edition. International Agency for Research on Cancer; 2014.
- [10] Timmerman D, Valentin L, Bourne TH et al. Terms, definitions and measurements to describe the sonographic features of adnexal tumors: a consensus opinion from the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) Group. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 16: 500-505. [https:// doi: 10.1046/j.1469-0705.2000.00287.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-0705.2000.00287.x).
- [11] R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014. URL <https://www.R-project.org/>.
- [12] Hothorn T, Hornik K, Zeileis A. Unbiased recursive partitioning: a conditional inference framework. *J Comput Graph Stat* 2006; 15:3,

651–674. Available at <https://doi.org/10.1198/106186006X133933>, accessed on March 26th 2021.

- [13] Thomassin-Naggara I, Aubert E, Rockall A et al. Adnexal masses: development and preliminary validation of an MR imaging scoring system. *Radiology*. 2013 May;267(2):432–43. [https:// doi: 10.1148/radiol.13121161](https://doi.org/10.1148/radiol.13121161).
- [14] Pereira PN, Sarian LO, Yoshida A et al. Accuracy of the ADNEX MR scoring system based on a simplified MRI protocol for the assessment of adnexal masses. *Diagn Interv Radiol*. 2018 Mar-Apr;24(2):63-71. [https:// doi: 10.5152/dir.2018.17378](https://doi.org/10.5152/dir.2018.17378).
- [15] Sagi-Dain L, Lavie O, Auslander R et al. CEA in Evaluation of Adnexal Mass: Retrospective Cohort Analysis and Review of the Literature. *Int J Biol Markers*. 2015 Nov 11;30(4):e394-400. [https:// doi: 10.5301/jbm.5000158](https://doi.org/10.5301/jbm.5000158).
- [16] Ueland FR. A Perspective on Ovarian Cancer Biomarkers: Past, Present and Yet-To-Come. *Diagnostics (Basel)*. 2017 Mar 8;7(1):14. [https:// doi: 10.3390/diagnostics7010014](https://doi.org/10.3390/diagnostics7010014).
- [17] Sørensen SS, Mosgaard BJ. Combination of cancer antigen 125 and carcinoembryonic antigen can improve ovarian cancer diagnosis. *Dan Med Bull*. 2011 Nov;58(11): A4331.
- [18] Forstner R, Thomassin-Naggara I, Cunha TM et al. ESUR recommendations for MR imaging of the sonographically indeterminate adnexal mass: an update. *Eur Radiol*. 2017 Jun;27(6):2248-2257. [https:// doi: 10.1007/s00330-016-4600-3](https://doi.org/10.1007/s00330-016-4600-3).
- [19] Nougaret S, Nikolovski I, Paroder V et al. MRI of Tumors and Tumor Mimics in the Female Pelvis: Anatomic Pelvic Space-based Approach. *Radiographics*. Jul-Aug 2019;39(4):1205-1229. [https://doi: 10.1148/rg.2019180173](https://doi.org/10.1148/rg.2019180173).

Table 1: Key features of women with adnexal masses

	Final diagnosis				p
	Ovarian (n=133)		Non-ovarian (n=26)		
Age (mean (sd))	51.6	(17.6)	52.8	(13.6)	0.74
Postmenopausal (n (%))	67	(50.4%)	16	(61.5%)	0.40
CA 125 levels in U/mL (mean (sd))	506.1	(1590.7)	125.0	(314.7)	0.25
CEA levels in ng/mL (mean (sd))	5.8	(36.2)	55.1	(171.6)	0.03
CA125/CEA ratio (mean (sd))	333.5	(1130.8)	38.3	(86.1)	0.006

Table 2. Histopathological diagnosis of 159 study cases

Histopathological diagnosis	n (%)
Ovarian	133 (83.6%)
Non ovarian (including ovarian metastasis)	26 (16.4%)
Ovarian benign	57/159 (35.8%)
Epithelial	31
Serous	16
Mucinous	14
Brenner tumor	1
Teratoma	19
Fibroma	6
Fibrothecoma	1
Non neoplastic ovarian	19/159 (11.9%)
Endometrioma	8
Functional cyst	6
Ovarian torsion	2
Normal ovary	1
Ovarian stromal hyperplasia	1
Ovarian necrosis	1
Non ovarian benign	11/159 (6.9%)
Uterine leiomyoma	5

Myometrial cyst	1
Peri ovarian leiomyoma	1
Chronic salpingitis	1
Serous paratubal cyst	1
Pedunculated adenomyoma	1
Retroperitoneal angiomyolipoma	1
	36/159 (22.6%)
Epithelial Ovarian Cancer	
Serous	17
Seromucinous	1
Mucinous	5
Endometrioid	3
Clear cells	6
Brenner	1
Carcinosarcoma	2
Adenocarcinoma not otherwise specified	1
	13/159 (8.2%)
Borderline ovarian tumor	
Serous	7
Mucinous	4
Seromucinous	2
	8/159 (5%)
Rare ovarian malignant	
Sertoli-Leydig	1
Dysgerminoma	1
Granulosa cell tumor	4
Immature teratoma	2
	4/159 (2.5%)
Ovarian metastasis	
Colorectal cancer	1

Rectosigmoid cancer	1
Pseudomyxoma peritonei	2
Extra ovarian malignant	11/159 (6.9%)
Pseudomyxoma peritonei	2
Uterine leiomyosarcoma	1
Gastric cancer	1
Appendix cancer	1
Colorectal cancer	1
Endometrial cancer	4
Vaginal cancer	1

Table 3 - Magnetic resonance parameters, upfront ultrasound and CA125/CEA levels as related to non-adnexal tumors

	Adjusted odds ratio (95%CI)	P (LR test)
Upfront US (ovarian vs. non-ovarian)	26.3(7.7 to 89.9)	<0.001
CA125/CEA ratio (<25 vs. \geq 25)	0.24 (0.07 to 0.79)	0.02
Magnetic Resonance Parameters		
<i>Signal diffusion (absent/low vs. high)</i>	0.26 (0.08 to 0.8)	0.019

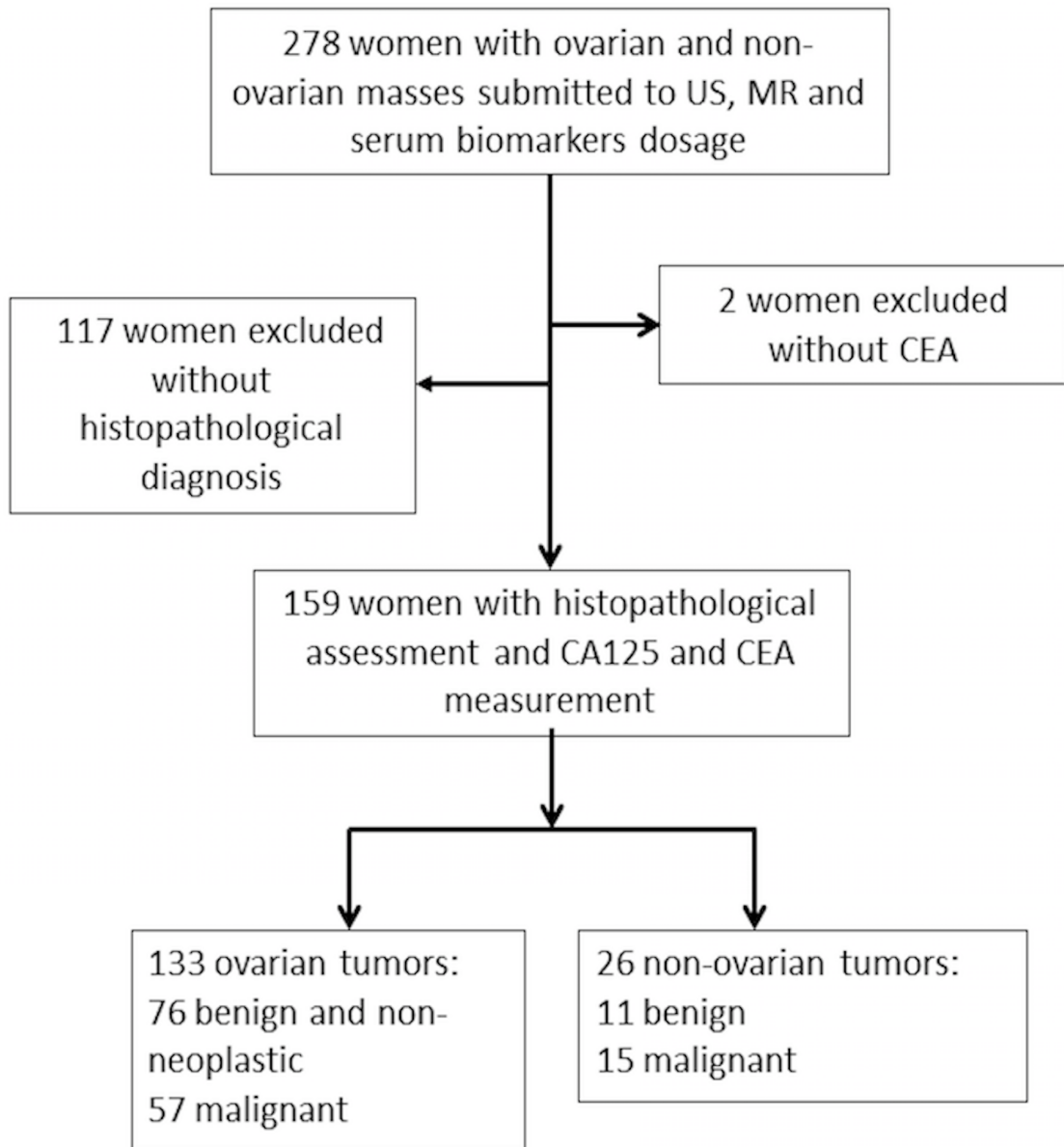


Figure 1 - Flowchart describing patient inclusion and exclusion in the study.

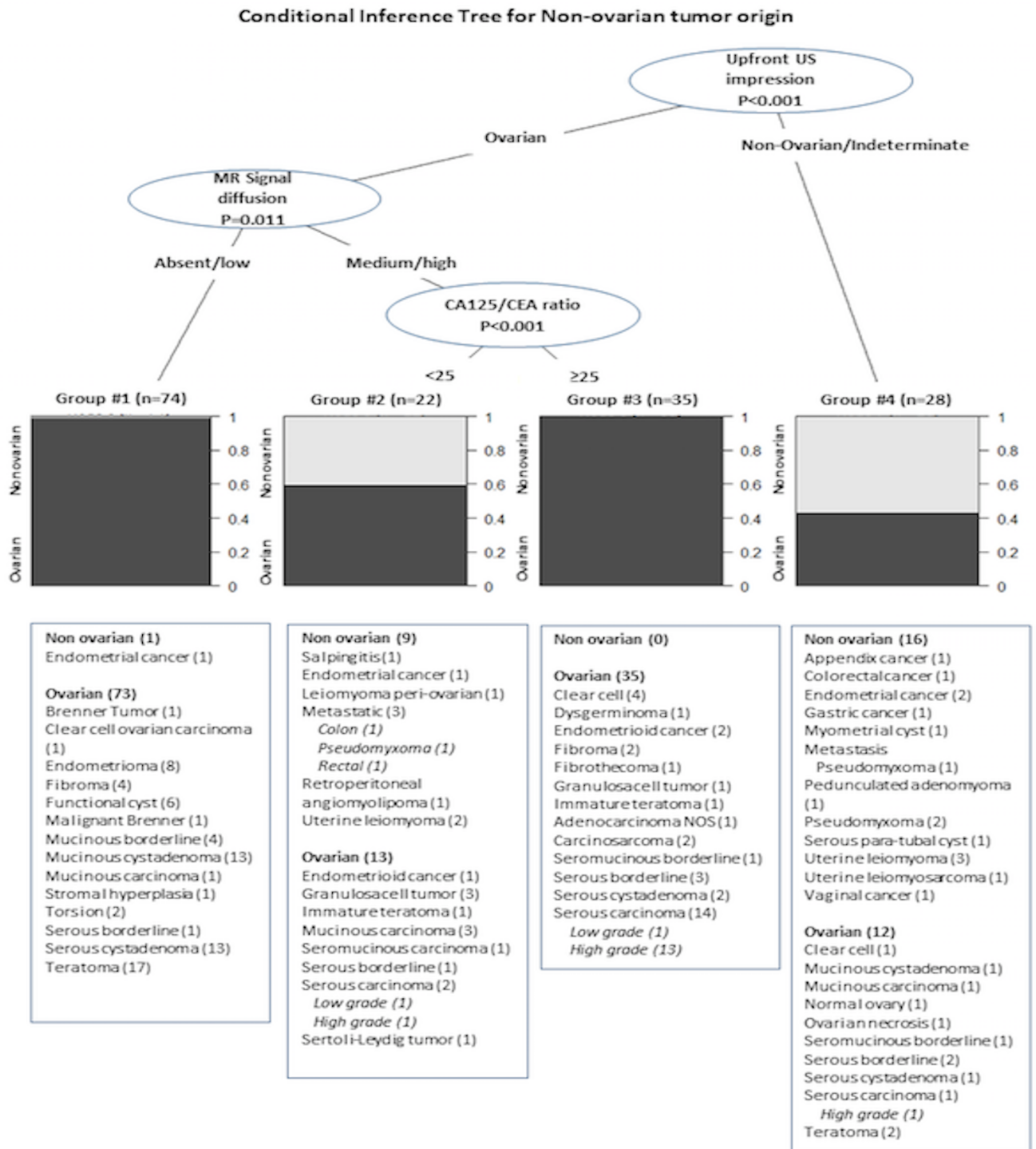


Figure 2 - Conditional Inference Tree (CIT) for non-adnexal origin of the tumor in the adnexa. Each group denotes a subset of women with the characteristics indicated in the CIT. Significance level set to $\alpha = 95\%$ (tree will branch only where $p < 0.05$). Variables included in CIT modeling: upfront ultrasound classification of tumors into ovarian/non-ovarian, CA125/CEA ratio, MRI signal in diffusion-weighted.

5. Discussão

As curvas de decisão para o diagnóstico de malignidade em mulheres com massas anexiais, utilizando os modelos isolados ou combinados mostraram que aplicar o escore da RM para todas as mulheres com massas anexiais mostrou o maior benefício líquido em praticamente todos os limiares de risco. No entanto, esta abordagem não é viável na prática clínica. Podemos destacar o custo elevado do exame de RM, pouca disponibilidade de serviços que oferecem estes exames e escassez de radiologistas experientes para a confecção de laudos de RM especializados. A segunda melhor abordagem foi a do escore da RM para os casos inconclusivos nas RS, cujo benefício líquido foi superior ao dos modelos que utilizaram somente US, inclusive do que utilizou a avaliação subjetiva para os casos inconclusivos ao US. O escore da RM isolado ou aplicado após RS inconclusivo apresentaram uma utilidade clínica em uma ampla variação de limiares de risco para referir pacientes com massas ovarianas para centros oncológicos.

Essa segunda melhor estratégia (RS seguida de RM para lesões indeterminadas) apresentou sensibilidade muito próxima a abordagem de uso isolado de RM (89,1 %; IC95% 83,4 a 94,8 % versus 90,9 %; IC95% 85,7 a 96,1 %; respectivamente). Essa abordagem revela que as RS ultrassonográficas são aptas para dar resposta diagnóstica adequada para grande maioria dos cenários clínicos. A maior diferença do benefício líquido entre essas duas abordagens se processou devido a maior especificidade do

uso isolado de RM comparado com RS seguida por RM para lesões indeterminadas (especificidade de 93,1%; IC95% 86,6 a 99,6 % versus 82,7%; IC95% 73,8 a 91,7; respectivamente). Essa maior especificidade da RM já foi estabelecida em estudos progressos (16,29).

Adicionalmente, também avaliamos 3 estratégias baseadas apenas com métodos de ultrassonografia, que culminaram em benefícios líquidos e performance diagnóstica razoáveis quando comparados com somente uso da RM ou a combinação RS do US e RM. Em serviços diagnósticos que a RM não está disponível, o que é uma situação comum na nossa realidade, a melhor tática seria aplicar a abordagem inicial das RS, que pode ser realizada por operadores com níveis relativamente baixos de conhecimento técnico em imagem oncológica, deixando apenas os casos indeterminados pelas RS para ultrassonografistas mais experientes (30).

A análise através das curvas de decisão é uma abordagem diferente das medidas estatísticas clássicas como sensibilidade, especificidade, área sob curva ROC, à medida em que consegue comparar os diversos modelos preditivos, colocando benefícios e danos na mesma escala; e consegue indicar se o modelo ou exame deveria ser usado na prática. Esta é uma questão relevante para o médico assistente, que diante de várias opções diagnósticas precisa escolher qual o modelo preditivo ou score mais adequado para tomar a melhor decisão clínica(31).

O US é o primeiro exame de imagem na investigação das lesões anexiais, devido a sua acurácia diagnóstica para a maioria das lesões como os cistos simples, cistos hemorrágicos, endometriomas, teratomas e lesões

malignas óbvias, com ascite, implantes peritoneais, acompanhadas de aumento acentuado de CA125 sérico. Entretanto, para casos com lesão anexial isolada, sem acometimento peritoneal ou elevação de CA125 e em lesões consideradas indeterminadas pelo US, a RM – utilizando o O-RADS MRI pode aumentar a especificidade para o diagnóstico de benignidade ou malignidade(10) . Por outro lado, uma limitação deste escore da RM é que ele foi desenvolvido em uma amostra de mulheres da população geral que foram submetidas à RM para avaliação de uma lesão anexial descoberta no US; e o valor preditivo positivo pode diferir em mulheres com alto risco para câncer de ovário – por exemplo entre as portadoras de mutações do gene BRCA ou em mulheres com sintomas sugestivos de infecção, inflamação e endometriose. A correlação com a anamnese e exame físico é fundamental para guiar o tratamento mais adequado à paciente porque há uma sobreposição entre entidades benignas e malignas nos escores 3 e 4 (10).

Adicionalmente é importante ressaltar que utilizamos um protocolo técnico de exame de ressonância simplificado quando comparado com o algoritmo inicial (7) e conseguimos obter resultados semelhantes na elaboração do escore diagnóstico **O-RADS MRI**. No artigo seminal de 2013 (7), foram utilizadas sequências dinâmicas pós uso de contraste endovenoso com uma resolução temporal de 2,4 segundos e ao longo de 320 segundos, o que reduziria o emprego generalizado desse algoritmo devido a limitações técnicas da grande maioria dos magnetos e softwares disponíveis. Ao longo de nosso estudo, utilizamos um protocolo de RM pós-dinâmico que envolveu uma resolução temporal entre 10 e 15 segundos (8), obtendo resultados semelhantes. Posteriormente, foi publicado em 2020 (17), um artigo de revisão

do O-RADS MRI, no qual, dentre outras adaptações, foi incorporado o uso de estudos pós-dinâmico com menor resolução temporal do que o inicialmente apresentado no artigo de 2013 (7), permitindo estudo dinâmico com resolução < 15 segundos). Em seguida, o escore diagnóstico foi incorporado pelo Colégio Americano de Radiologia (*American College of Radiology*) (18).

Outro foco do nosso atual estudo foi a análise conjugada de biomarcadores séricos com parâmetros imaginológicos de RM com a finalidade de verificar a capacidade de discriminação de tumores anexiais ovarianos de não-ovarianos, após avaliação inicial por ultrassonografia. Foi possível construir uma árvore de inferência decisória com esse intuito, ao identificar que o parâmetro de RM capaz de auxiliar essa estratificação foi sinal na difusão (ausente/baixo vs alto). A interpretação de nossa árvore de inferência condicional nos levou a concluir que para massas anexiais cuja impressão ultrassonográfica inicial aponta para origem ovariana da lesão, sinal médio/alto na sequência de RM ponderada em difusão combinada com a razão CA125 / CEA ≥ 25 indicou uma probabilidade de 100% de diagnóstico de tumores ovarianos; a maioria (85,7%) maligna. Por outro lado, após impressão ultrassonográfica inicial sugerindo origem ovariana da massa anexial, sinal baixo/ausente na difusão foi fortemente associada a lesões ovarianas benignas e não neoplásicas.

A RM é um exame capaz de determinar o sítio de origem de uma massa pélvica e caracterizá-la (32). É útil também para detectar invasão local, devido a alta capacidade de diferenciação de diferentes tecidos moles, além da não exposição à radiação ionizante. As sequências ponderadas em T1 e T2 são

necessárias para obter a informação anatômica e avaliar as características morfológicas e de intensidade de sinal da massa. As imagens ponderadas em T1, com e sem saturação de gordura, são importantes para detectar áreas de hemorragia e tecido gorduroso. O uso do contraste gadolínico intravenoso melhora a detecção de septações e componentes sólidos dentro da massa, além de implantes peritoneais e em omento (33). Em nosso estudo atual, optamos por não aplicar diretamente o O-RADS MRI na diferenciação de massa anexial ovariana de não-ovariana pois ele não foi projetado para essa finalidade, tendo optado por utilizar os parâmetros primários de RM com esse intuito. Além disso, adicionamos o uso da razão CA125/CEA, que envolve biomarcadores simples, amplamente disponíveis no ambiente pré-operatório e que mantêm uma relação conhecida com a origem do tumor (epitelial ovariano ou gastrointestinal). É importante notar que nosso estudo foi pioneiro na tentativa de construir um algoritmo que conjugasse a avaliação ultrassonográfica inicial, os achados de RM e biomarcadores séricos para definir o local primário das massas anexiais.

Em relação aos biomarcadores séricos, sabe-se que o CEA encontra-se elevado em aproximadamente 35% das pacientes com carcinomas de ovário, sendo este aumento mais frequente nas mulheres com tumores mucinosos do que com tumores serosos. A presença destes níveis elevados de CEA em mulheres com carcinomas mucinosos de ovário (do tipo intestinal) pode ser explicada pela presença de células que se assemelham àsquelas presentes em carcinomas de cólon (32). No estudo de Choi et al. (33) os autores mostraram que a razão CA125/CEA foi significativamente menor nos carcinomas mucinosos de ovário do que nos subtipos de células claras e endometrióides

quando se comparou os tumores em estágio I. Quando se comparou os tumores em estágio II a IV, os carcinomas mucinosos apresentaram CA125/CEA mais baixo que os carcinomas serosos (33). Entretanto, poucos estudos avaliaram o papel da razão CA125/CEA na diferenciação de tumores primários do ovário dos tumores de origem não ovariana. Moro et al. investigaram qual o melhor ponto de corte e o desempenho da razão CA125/CEA na distinção das neoplasias primárias do ovário daquelas metastáticas no ovário em uma amostra de mulheres que apresentaram massas multiloculares com 5 ou mais lóculos e massas multiloculares sólidas detectadas no US (34). O melhor ponto de corte da razão CA125/CEA para distinguir entre neoplasia de ovário e metástases ovarianas foi 11,92. O desempenho do CA125/CEA neste ponto de corte foi: AUC 0,758 (IC95%, 0,683 a 0,833), acurácia 79,8%; sensibilidade 82,3%; especificidade 60,9%; VPP 94,1%; e VPN 31,1%. O desempenho do CA125/CEA não foi superior ao do CEA isoladamente, neste estudo(34).

O presente estudo pode oferecer dados úteis a radiologistas e cirurgiões ginecológicos preocupados em determinar a origem das massas anexiais e/ou pélvicas, bem como a probabilidade desta ser maligna. Em relação à origem da massa, é fundamental destacar que estar preparado para tratar uma condição gastrointestinal ou outra não-ovariana é sempre preferível em detrimento da descoberta da verdadeira natureza de uma massa pélvica no intra-operatório, uma vez que recursos técnicos (grampeadores intestinais, cateteres ureterais) e humanos (por exemplo, cirurgiões com experiência adequada em cirurgia gastrointestinal) podem não estar prontamente disponíveis. Usando uma estratégia de combinar informações de RM e biomarcadores, esses recursos

extras podem ser preparados antes de iniciar a cirurgia de pacientes com maior probabilidade de abrigar um tumor não ovariano.

6. Conclusão

Diante de um resultado ultrassonográfico indeterminado para a massa anexial, a aplicação do ADNEX MR scoring (O-RADS MRI scoring) mostrou um benefício líquido (*net benefit*) clínico superior ao da Avaliação Subjetiva por US realizada por um examinador experiente.

Foi possível construir um algoritmo diagnóstico na estratificação de massas anexiais ovarianas de não-ovarianas conjugando impressão ultrassonográfica inicial, parâmetro da sequência de difusão da RM (sinal ausente/baixo vs alto) e relação CA125/CEA (< 25 ou ≥ 25).

6.1 O algoritmo diagnóstico por RM (ADNEX MRI / O-RADS MRI) produz o melhor benefício líquido em qualquer limiar de risco e o melhor desempenho de diagnóstico em comparação com as outras quatro abordagens de diagnóstico avaliadas.

6.2 A primeira abordagem diagnóstica (Regras Simples, considerando operar todos os casos malignos e indeterminados) obteve sensibilidade de 89,1 % (83,4 a 94,8), especificidade de 69,8 % (60,0 a 79,6), VPP de 58,3 %, VPP de 93,1 %, RVP de 2,9 e RVN de 0,2. A segunda abordagem diagnóstica (Risco de Regras Simples, tendo como ponto de corte de 30% de risco de malignidade) obteve sensibilidade de 87,2 % (80,9 a 93,6), especificidade de

70,8 % (60,2 a 81,3) , VPP de 56,9, VPN de 92,6, RVP de 3,0 e RVN de 0,2. A terceira abordagem diagnóstica (Regras Simples, seguido por avaliação subjetiva realizada por um examinador experiente nos casos indeterminados) apresentou sensibilidade de 83,3 % (76,5 to 90,1), especificidade de 80,0 % (70,5 to 89,5), VPN de 66,2, VPN de 91,1, RVP de 4,2 e RVN de 0,2. A quarta abordagem diagnóstica (RM com utilização do O-RADS para todas as mulheres) apresentou sensibilidade de 90,9 % (85,7 a 96,1), especificidade de 93,1 % (86,6 a 99,6), VPP de 86,2, VPN de 95,6, RVP de 13,2 e RVN de 0,1. A quinta e última abordagem (Regras Simples, seguido de O-RADS para os casos inconclusivos) apresentou sensibilidade de 89,1 % (83,4 a 94,8), especificidade de 82,7 % (73,8 a 91,7), VPP de 71,0, VPN de 94,1, RVP de 5,2 e RVN de 0,13.

6.3 A impressão ultrassonográfica inicial auxiliou a estratificação de massas anexiais ovarianas de não-ovarianas, com *odds ratio* ajustado de 26,3 (IC95 % de 7,7 a 89,9).

6.4 O parâmetro imaginológico de RM que auxilia na estratificação de massas anexiais ovarianas de não-ovarianas foi sinal na difusão. Sinal ausente/baixo na difusão ($b=1000$) prediz massa anexial não-ovariana em detrimento de ovariana, com *odds ratio* ajustado de 0,24 (IC95 % de 0,07 a 0,79).

6.5 A Relação CA125/CEA ≥ 25 indicou que a massa anexial era ovariana e a relação Ca125/CEA < 25 indicou que a massa anexial era não-ovariana, com *odds ratio* ajustado de 0,24 (IC95 % de 0,07 a 0,79).

7. Referências

1. INCA. Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil [Internet]. 2019. 300 p. Available from: <https://www.inca.gov.br/estimativa>
2. Torre LA, Trabert B, DeSantis CE, Miller KD, Samimi G, Runowicz CD, et al. Ovarian cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2018 Jul [cited 2020 Sep 14];68(4):284–96.
3. Buys SS. Effect of Screening on Ovarian Cancer Mortality. *JAMA* [Internet]. 2011 Jun 8 [cited 2020 Sep 14];305(22):2295.
4. Jacobs IJ, Menon U, Ryan A, Gentry-Maharaj A, Burnell M, Kalsi JK, et al. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. *Lancet* [Internet]. 2016 Mar 5 [cited 2020 Sep 14];387(10022):945–56.
5. Pinsky PF, Yu K, Kramer BS, Black A, Buys SS, Partridge E, et al. Extended mortality results for ovarian cancer screening in the PLCO trial with median 15 years follow-up. *Gynecol Oncol* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2020 Sep 14];143(2):270–5.
6. Eskander R, Berman M, Keder L. Practice Bulletin No. 174. *Obstet Gynecol* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2020 Sep 14];128(5):e210–26.
7. Thomassin-Naggara I, Aubert E, Rockall A, Jalaguier-Coudray A, Rouzier R, Daraï E, et al. Adnexal Masses: Development and Preliminary Validation of an MR Imaging Scoring System. *Radiology* [Internet]. 2013 May;267(2):432–43.
8. Pereira PN, Sarian LO, Yoshida A, Araújo KG, Barros RHO, Baião AC, et al. Accuracy of the ADNEX MR scoring system based on a simplified MRI protocol for the assessment of adnexal masses. *Diagnostic Interv Radiol* [Internet]. 2018 May 15;24(2):63–71.
9. Woo YL, Kyrgiou M, Bryant A, Everett T, Dickinson HO. Centralisation of services for gynaecological cancers — A Cochrane systematic review. *Gynecol Oncol* [Internet]. 2012 Aug;126(2):286–90.
10. Sadowski EA, Rockall AG, Maturen KE, Robbins JB, Thomassin-Naggara I. Adnexal lesions: Imaging strategies for ultrasound and MR imaging. *Diagn Interv Imaging* [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2020 Sep 14];100(10):635–46.
11. Timmerman D, Testa AC, Bourne T, Ameye L, Jurkovic D, Van Holsbeke

- C, et al. Simple ultrasound-based rules for the diagnosis of ovarian cancer. *Ultrasound Obstet Gynecol* [Internet]. 2008 Jun [cited 2018 Feb 25];31(6):681–90.
12. Timmerman D, Schwärzler P, Collins WP, Claerhout F, Coenen M, Amant F, et al. Subjective assessment of adnexal masses with the use of ultrasonography: an analysis of interobserver variability and experience. *Ultrasound Obstet Gynecol* [Internet]. 1999 Jan 1 [cited 2020 Sep 14];13(1):11–6.
13. Meys EMJ, Kaijser J, Kruitwagen RFPM, Slangen BFM, Van Calster B, Aertgeerts B, et al. Subjective assessment versus ultrasound models to diagnose ovarian cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* [Internet]. 2016 May;58:17–29.
14. Timmerman D, Van Calster B, Testa A, Savelli L, Fischerova D, Froyman W, et al. Predicting the risk of malignancy in adnexal masses based on the Simple Rules from the International Ovarian Tumor Analysis group. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2020 Sep 14];214(4):424–37.
15. Forstner R, Thomassin-Naggara I, Cunha TM, Kinkel K, Masselli G, Kubik-Huch R, et al. ESUR recommendations for MR imaging of the sonographically indeterminate adnexal mass: an update. *Eur Radiol* [Internet]. 2017 Jun 21;27(6):2248–57.
16. Anthoulakis C, Nikoloudis N. Pelvic MRI as the “gold standard” in the subsequent evaluation of ultrasound-indeterminate adnexal lesions: a systematic review. *Gynecol Oncol* [Internet]. 2014 Mar [cited 2015 Mar 25];132(3):661–8.
17. Thomassin-Naggara I, Poncelet E, Jalaguier-Coudray A, Guerra A, Fournier LS, Stojanovic S, et al. Ovarian-Adnexal Reporting Data System Magnetic Resonance Imaging (O-RADS MRI) Score for Risk Stratification of Sonographically Indeterminate Adnexal Masses. *JAMA Netw Open* [Internet]. 2020 Jan 24;3(1):e1919896.
18. American College of Radiology. O-RADS MRI Risk Score Governing Concepts : O-RADS MRI Risk Stratification and Management System. 2020;(September):2-3.<https://www.acr.org/-/media/ACR/Files/RADS/O-RADS/O-RADS-MR-Risk-Stratification-System-Table-September-2020.pdf>
19. Karaosmanoglu AD, Onur MR, Salman MC, Usubutun A, Karcaaltincaba M, Ozmen MN, et al. Imaging in secondary tumors of the ovary. *Abdom Radiol* [Internet]. 2019 Apr 25 [cited 2020 Sep 14];44(4):1493–505.
20. Lionetti R, De Luca M, Travaglino A, Raffone A, Insabato L, Saccone G, et al. Treatments and overall survival in patients with Krukenberg tumor. *Arch Gynecol Obstet* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2020 Sep 14];300(1):15–23.

21. Scatena R. Advances in cancer biomarkers. From biochemistry to clinic for a critical revision, vol. 867. Springer, 2015.
22. Dayyani F, Uhlig S, Colson B, Simon K, Rolny V, Morgenstern D, et al. Diagnostic Performance of Risk of Ovarian Malignancy Algorithm Against CA125 and HE4 in Connection With Ovarian Cancer: A Meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2020 Sep 14];26(9):1586–93.
23. Ueland F. A Perspective on Ovarian Cancer Biomarkers: Past, Present and Yet-To-Come. *Diagnostics* [Internet]. 2017 Mar 8 [cited 2020 Sep 14];7(1):14.
24. Nicholson BD, Shinkins B, Pathiraja I, Roberts NW, James TJ, Mallett S, et al. Blood CEA levels for detecting recurrent colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2015 Dec 10 [cited 2020 Sep 14];2015(12).
25. Sagi-Dain L, Lavie O, Auslander R, Sagi S. CEA in Evaluation of Adnexal Mass: Retrospective Cohort Analysis and Review of the Literature. *Int J Biol Markers* [Internet]. 2015 Oct 11 [cited 2020 Aug 2];30(4):394–400.
26. 3.5.1. RDCT. A Language and Environment for Statistical Computing [Internet]. Vol. 2, R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria; 2016. p. <https://www.R-project.org>. Available from: <http://www.r-project.org>
27. Vickers AJ, Elkin EB. Decision Curve Analysis: A Novel Method for Evaluating Prediction Models. *Med Decis Mak* [Internet]. 2006 Nov 5 [cited 2018 Feb 25];26(6):565–74.
28. Hothorn T, Hornik K, Zeileis A. Unbiased recursive partitioning: A conditional inference framework. *J Comput Graph Stat*. 2006;15(3):651–74.
29. Dodge JE, Covens AL, Lacchetti C, Elit LM, Le T, Devries-Aboud M, et al. Preoperative identification of a suspicious adnexal mass: A systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol* [Internet]. 2012 Jul [cited 2015 Mar 17];126(1):157–66.
30. Hartman CA, Juliato CRT, Sarian LO, Toledo MC, Jales RM, Morais SS, et al. Ultrasound criteria and CA 125 as predictive variables of ovarian cancer in women with adnexal tumors. *Ultrasound Obstet Gynecol* [Internet]. 2012 Sep [cited 2018 Feb 25];40(3):360–6.
31. Vickers AJ, Van Calster B, Steyerberg EW. Net benefit approaches to the evaluation of prediction models, molecular markers, and diagnostic tests. *BMJ* [Internet]. 2016 Jan 25 [cited 2018 Feb 25];i6.
32. Foti PV, Attinà G, Spadola S, Caltabiano R, Farina R, Palmucci S, et al. MR imaging of ovarian masses: classification and differential diagnosis. *Insights Imaging* [Internet]. 2016 Feb 16 [cited 2020 Sep 14];7(1):21–41.
33. Choi JH, Sohn GS, Chay DB, Cho HB, Kim J-H. Preoperative serum

levels of cancer antigen 125 and carcinoembryonic antigen ratio can improve differentiation between mucinous ovarian carcinoma and other epithelial ovarian carcinomas. *Obstet Gynecol Sci* [Internet]. 2018;61(3):344. Available from:

34. Moro F, Pasciuto T, Djokovic D, Di Legge A, Granato V, Moruzzi MC, et al. Role of CA125/CEA ratio and ultrasound parameters in identifying metastases to the ovaries in patients with multilocular and multilocular-solid ovarian masses. *Ultrasound Obstet Gynecol* [Internet]. 2019 Jan 2;53(1):116–23.

8. Apêndices

Métodos:

A presente tese faz parte de uma linha da pesquisa do projeto "Achados clínicos, ultrassonográficos e bioquímicos como preditores de malignidade em mulheres com tumores anexiais", que já estava sendo realizado na área de oncologia ginecológica e mamária e cujo parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas se apresenta no Anexo I. Foi solicitado um adendo (Anexo II) ao CEP para realizarmos adicionalmente os exames de ressonância magnética, sendo aceita a solicitação (adendo 008/2010) – Anexo III. O CEP orientou a aplicação do TCLP (Anexo IV) original e a inclusão de um TCLE próprio para o exame de RM (Anexo V).

Os princípios da Declaração de Helsinque (*World Medical Association*, 2000) e da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (Brasil, 1996), que norteiam pesquisa científica que envolve seres humanos, foram rigorosamente aplicados na presente tese.

9. Anexos

Anexo I – Solicitação do adendo ao projeto “Achados clínicos, ultrassonográficos e bioquímicos como preditores de malignidade em mulheres com tumores anexiais”



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 19/01/10
(Grupo III)

PARECER CEP: Nº 008/2010 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0004.0.146.000-09

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “ACHADOS CLÍNICOS, ULTRASSONOGRÁFICOS E BIOQUÍMICOS COMO PREDITORES DE MALIGNIDADE EM MULHERES COM TUMORES ANEXIAIS”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Caio Augusto Hartman

INSTITUIÇÃO: CAISM/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 07/01/2010

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 19/01/11 (O formulário encontra-se no *site* acima)

II - OBJETIVOS

Objetivo geral:

Avaliar os achados clínicos, ultrassonográficos e de marcadores tumorais como indicadores de risco pré-operatório para malignidade e definir a operabilidade e a extensão da doença em mulheres com tumores ovarianos.

Objetivos específicos:

- Identificar os sintomas capazes de prever a malignidade e extensão da doença.
- Identificar as características ultrassonográficas e da dopplervelocimetria capazes de prever malignidade e extensão da doença.
- Identificar o valor sérico do marcador tumoral CA-125, capaz de prever malignidade.
- Avaliar a acurácia de cada item isoladamente e em associação.

III - SUMÁRIO

RESUMO INFORMATIVO: O câncer de ovário é doença prevalente em mulheres após a menopausa, sendo a mais letal das neoplasias ginecológicas. Não há até hoje, nenhum método de rastreamento efetivo, levando a diagnósticos em estádios avançados com conseqüente prognóstico desfavorável. A inespecificidade dos sintomas, o baixo valor preditivo positivo dos métodos diagnósticos disponíveis e a baixa prevalência da doença, fazem com que muitas mulheres com tumores anexiais sejam submetidas a procedimentos cirúrgicos desnecessários. **Objetivo:** Avaliar os achados clínicos, ultrassonográficos e de marcadores tumorais como indicadores de risco pré-operatório para malignidade e definir a operabilidade e a extensão da doença em mulheres com tumores ovarianos. **Sujeitos e métodos:** será realizado um estudo prospectivo, tipo teste diagnóstico, em mulheres encaminhadas ao ambulatório de oncologia pélvica – ovário do CAISM/UNICAMP por tumoração anexial previamente diagnosticada por exame clínico ou de imagem e que necessitem de cirurgia para diagnóstico definitivo e/ou tratamento. O tamanho amostral calculado será de 242 sujeitos de pesquisa. Serão avaliadas características clínicas, ultrassonográficas e bioquímicas, através de entrevista para avaliação de

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13083-887 Campinas – SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br



sintomas, realização de ultrassonografia avaliando-se critérios de benignidade e malignidade pré-definidos e análise dos níveis séricos de CA-125. O padrão ouro para o diagnóstico será o resultado histológico pós-operatório. Análise estatística: os desempenhos das diferentes variáveis serão analisados em conjunto através do cálculo de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia dos métodos com seus respectivos intervalos de confiança 95%. O nível de significância será de 5%.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Trata-se de um estudo prospectivo do tipo validação de testes e diagnóstico que irá incluir 242 mulheres com tumor de ovário. O objetivo do estudo está bem definido, assim como os métodos para a análise estatística, apresenta cronograma detalhado em 18 meses, orçamento compatível e financiamento por agência de fomento. Os aspectos éticos estão bem descritos com Termo de Consentimento Livre Esclarecido bem redigido. Considero o projeto adequado a esse tipo de estudo.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, bem como todos os anexos incluídos na pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Anexo II – Adendo ao projeto de pesquisa

Campinas, 03/10/2011

ADENDO**I – IDENTIFICAÇÃO:****PROJETO: “ACHADOS CLÍNICOS, ULTRASSONOGRÁFICOS E BIOQUÍMICOS COMO PREDITORES DE MALIGNIDADE EM MULHERES COM TUMORES ANEXIAIS”.****PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Caio Hartman**ORIENTADORA:** Sophie Françoise Mauricette Derchain**PARECER CEP No. : 08/2010****II – ADENDO**

Submeto para apreciação do CEP este adendo que visa incluir no projeto supracitado a avaliação imaginológica adicional por ressonância magnética da pelve. Foi observado, no decorrer do estudo, que as imagens de ressonância magnética fornecerão informações relevantes ao mesmo, sem, no entanto, desrespeitar os princípios enunciados na Declaração de Helsinque (WORLD MEDICAL ASSOCIATION, 1996). As análises realizadas neste estudo não implicarão em quaisquer modificações no tratamento da doença e em momento algum serão introduzidas coletas adicionais. Não foram previstos quaisquer riscos ou transtornos às pacientes. Entretanto, se ocorrer alguma descoberta que possa modificar positivamente o tratamento e o acompanhamento das pacientes, estas poderão ser localizadas e informadas a respeito nos casos em que o Comitê de Ética em Pesquisa da FCM / UNICAMP julgar procedentes.

<p>_____ Profa. Dra. Sophie Derchain Orientadora</p> <p><i>Sop Der</i></p>	<p>_____ Dra. Caio Hartman Pesquisador</p> <p><i>Caio Hartman</i></p>
---	--

Anexo III - Aceite do adendo pelo comitê de ética em pesquisa.



CEP, 28/02/12.
(PARECER CEP: Nº 008/2010)

**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa

PARECER

I – IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “ACHADOS CLÍNICOS, ULTRASSONOGRÁFICOS E BIOQUÍMICOS COMO PREDITORES DE MALIGNIDADE EM MULHERES COM TUMORES ANEXIAIS”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Caio Augusto Hartman

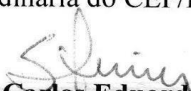
II – PARECER DO CEP.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou o adendo que inclui a avaliação imaginológica adicional por ressonância magnética da pelve, referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

III – DATA DA REUNIÃO.

Homologado na II Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 28 de fevereiro de 2012.


Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

Anexo IV - Termo de consentimento livre e esclarecido do projeto de pesquisa
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO:

Achados Clínicos, ultrassonográficos e bioquímicos como preditores de malignidade em mulheres com tumores anexiais. Laparoscopia na abordagem inicial de tumores ovarianos.

Eu, Sra _____,
atendida no ambulatório de oncologia pélvica – ovário do Centro de Atenção Integral a Saúde da Mulher (CAISM)-UNICAMP fui convidada a participar destas pesquisas por apresentar tumor na pelve, dentro da barriga e podendo ter necessidade de cirurgia para saber se o tumor é maligno ou benigno e para realizar o tratamento da minha doença. Essas pesquisas têm como objetivo verificar se há melhora na capacidade de classificar tumores de ovário em benignos e malignos (câncer) antes da cirurgia. Para isso avaliaremos: 1) a dosagem no sangue das substâncias chamadas de marcadores tumorais, CA 125, mesotelina, HE4; 2) o exame de ultrassonografia; 3) a avaliação de vários sintomas e; 4) o índice de risco de malignidade; separados e em conjunto.

Os critérios clínicos encontrados durante a consulta associados aos resultados dos exames de ultrassonografia e CA 125 serão utilizados para definição da conduta (observação do meu caso ou cirurgia) e se necessário da indicação médica do tipo de tratamento cirúrgico a ser realizado que poderá consistir em: videolaparoscopia (técnica cirúrgica pouco invasiva, que consiste na realização de 3 ou 4 pequenos cortes) ou laparotomia (técnica cirúrgica, que consiste na realização de um corte maior na barriga). A pesquisa não mudará em nada o tratamento que seria feito com você se você não participasse da pesquisa.

Sei que responderei a um questionário, com duração prevista de 20 a 30 minutos, com perguntas sobre informações pessoais. Essas perguntas serão feitas pelos responsáveis pela pesquisa, em uma única entrevista, antes da consulta médica, em uma sala do ambulatório de oncologia pélvica, não atrapalhando o meu atendimento. As fichas ficarão de posse do responsável pela pesquisa, que manterá o sigilo da fonte destas informações, mantendo o meu anonimato.

Sei que para este estudo será realizada a coleta de uma amostra de sangue por punção venosa, semelhante a uma injeção na veia sendo aspirada pequena quantidade de sangue que ficará armazenada no Laboratório Clínico Especializado para quantificação das substâncias chamadas de marcadores tumorais: CA125, mesotelina e HE4. O exame de ultrassonografia será agendado após a consulta no ambulatório de ovário e será feito no setor de ultrassonografia do CAISM que fica no andar térreo. Esse exame não dói nem faz mal à saúde e é realizado passando-se gel e aplicando-se um aparelho sobre a pele do abdome, ou utilizando-se um aparelho que é colocado no canal vaginal (ultrassom transvaginal), protegido por um condom (camisinha), a critério do médico que realizará o exame. Para realizar este exame a Sra permanecerá deitada por cerca de 20 minutos.

Se for necessária a realização de cirurgia para diagnóstico definitivo, tratamento e estadiamento do meu tumor esta poderá ser realizada de uma das seguintes formas: 1) videolaparoscopia ou; 2) laparotomia. Estas técnicas de cirurgia não são novas nem tampouco experimentais, existem há vários anos e suas técnicas e usos estão consolidadas. Sua indicação será baseada em critérios clínicos bem estabelecidos. A cirurgia por videolaparoscopia consiste em 3 ou 4 pequenos cortes na barriga de tamanho necessário à introdução de instrumental cirúrgico dentro da barriga o qual é usado para o tratamento do tumor tratando-se de técnica considerada pouco invasiva com vantagens bem estabelecidas na recuperação das pacientes após a cirurgia e na redução do tempo de retorno às atividades habituais, porém é técnica mais complexa, dependente de material especializado, e de realização dificultada por fatores como tumores de grande tamanho, aderências e outros. A laparotomia consiste em cirurgia com corte extenso em pé, no meio da barriga para permitir o acesso ao tumor localizado dentro da barriga, possui vantagens ao permitir manipulação mais fácil do tumor e não ser dependente de material especializado, porém está associada a mais dor no pós-operatório e recuperação mais lenta e maior demora no retorno às atividades habituais. Sempre que se propõe cirurgia por videolaparoscopia pode haver a necessidade de conversão para laparotomia a depender de necessidade e avaliação do cirurgião no momento da realização da cirurgia.

Só participarei da pesquisa intitulada “Laparoscopia na Avaliação Inicial de Tumores Ovarianos” caso o médico que me atender, baseando-se em critérios clínicos e no resultado de meus exames, indique a realização de cirurgia por videolaparoscopia.

Fui esclarecida que a participação nestas pesquisas é totalmente voluntária. Sei que não serei paga para participar destes estudos. A não aceitação na participação nas pesquisas não implicará na perda dos direitos iniciais rotineiramente oferecidos pelo hospital. Aceitando participar, não terei privilégios adicionais no atendimento.

Os possíveis benefícios que essas pesquisas possam trazer ao tratamento de pacientes com tumores ovarianos, só poderão ser utilizados após o término das mesmas, portanto, estas pesquisas não trarão nenhum privilégio ou benefício imediato. Também não acarretarão prejuízos.

Autorizo os responsáveis pelas pesquisas a examinarem meus registros médicos a fim de verificar informações relacionadas aos objetivos das pesquisas, para que sejam anexados às fichas de pesquisa. No entanto, os registros médicos serão tratados confidencial e sigilosamente.

Tenho o direito de fazer perguntas para esclarecer minhas dúvidas sobre minha participação em qualquer momento da entrevista, podendo desistir de participar desta pesquisa a qualquer momento, mesmo após a realização dos exames, sem nenhum prejuízo ou alteração no meu tratamento.

Em caso de dúvidas ou esclarecimento, tenho o direito de telefonar para os pesquisadores responsáveis, para a Dra Sophie Derchain, Profa Dra

Pesquisadora orientadora dos projetos no número (19) 3521-9305 ou para o Comitê de Ética em Pesquisa da FCM/UNICAMP no número (19) 3521-8936.

Paciente

RG _____
HC _____ Pesquisadores _____

Campinas, _____ de _____ de 20 _____

ANEXO V – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido específico do exame de RM

Adendo ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do projeto de pesquisa “Achados clínicos, ultrassonográficos e bioquímicos como preditores de malignidade em mulheres com tumores anexiais” (CEP 008/2010).

Médico/Pesquisador responsável: Caio Hartman tel 019 97732884

Médico/Pesquisador associado: Patrick Nunes Pereira tel 11 971893060

Eu, XXXXX, permito a realização de exame de ressonância magnética (RM) da pelve, exame que auxilia o correto diagnóstico do meu problema de saúde (lesão no ovário), podendo orientar o meu tratamento. O exame não trará nenhum prejuízo a mim, podendo ser útil para pacientes com suspeita ou diagnosticados com tumor de ovário.

Estou ciente que esse exame (RM) não dói e não há radiação (raios –x) envolvida. O exame consiste em eu ficar deitada em uma mesa parcialmente coberta durante 40 minutos, sem eu me movimentar. Em alguns casos, poderá haver necessidade de se usar contraste endovenoso (gadolíneo) para obtenção de informações úteis adicionais para o correto diagnóstico do meu problema de saúde. Esse contraste é seguro é injetado através de um punção venosa. Eu sei que a única contra-indicação ao uso do contraste é doença nos rins (nefropatia ou insuficiência), situação que em hipótese alguma o contraste será usado.

Na vigência de qualquer contra-indicação formal à realização do exame (claustrofobia- que é medo de ficar em lugares fechados - implantes cardíacos, cirurgias recentes, implantes de ouvido), ele não será realizado.

Eu estou ciente de que antes de começar a realização do exame, o médico radiologista do setor responsável irá me entrevistar para tentar identificar qualquer fator que me impeça de realizar o exame. O exame somente será realizado seguindo todas as normas técnicas vigentes estabelecidas pelo órgão regulador da área, o Colégio Brasileiro de Radiologia.

ANEXO VI - Licença para uso do artigo publicado (artigo 1) na presente tese

SPRINGER NATURE LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Jun 23, 2021

This Agreement between Patrick Pereira ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

License Number	5094751047062
License date	Jun 23, 2021
Licensed Content Publisher	Springer Nature
Licensed Content Publication	Abdominal Radiology
Licensed Content Title	Improving the performance of IOTA simple rules: sonographic assessment of adnexal masses with resource-effective use of a magnetic resonance scoring (ADNEX MR scoring system)
Licensed Content Author	Patrick Nunes Pereira et al
Licensed Content Date	Sep 3, 2019
Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	academic/university or research institute
Format	print and electronic
Portion	full article/chapter
Will you be translating?	no

Circulation/distribution 1 - 29

Author of this Springer Nature content yes

Title USE OF MALIGNANCY MODELS BASED ON MAGNETIC RESONANCE, ULTRASONOGRAPHY AND SERUM BIOMARKERS IN THE DIFFERENTIATION OF ADNEXIAL MASSES

Institution name State University of Campinas - Unicamp

Expected presentation date Aug 2021

Requestor Location Patrick Pereira
Department of Obstetrics and Gynecology,
Faculty of Medical Sciences,
State University of Campinas
Campinas, Sao Paulo 13083-970
Brazil
Attn: Patrick Pereira

Total 0.00 USD

Terms and Conditions

**Springer Nature Customer Service Centre GmbH
Terms and Conditions**

This agreement sets out the terms and conditions of the licence (the **License**) between you and **Springer Nature Customer Service Centre GmbH** (the **Licensor**). By clicking 'accept' and completing the transaction for the material (**Licensed Material**), you also confirm your acceptance of these terms and conditions.

1. Grant of License

1.1. The Licensor grants you a personal, non-exclusive, non-transferable, world-wide licence to reproduce the Licensed Material for the purpose specified in your order only. Licences are granted for the specific use requested in the order and for no other use, subject to the conditions below.

1.2. The Licensor warrants that it has, to the best of its knowledge, the rights to license reuse of the Licensed Material. However, you should ensure that the material you are requesting is original to the Licensor and does not carry the copyright of another entity (as credited in the published version).

1.3. If the credit line on any part of the material you have requested indicates that it was reprinted or adapted with permission from another source, then you should also

seek permission from that source to reuse the material.

2. Scope of Licence

2. 1. You may only use the Licensed Content in the manner and to the extent permitted by these Ts&Cs and any applicable laws.

2. 2. A separate licence may be required for any additional use of the Licensed Material, e.g. where a licence has been purchased for print only use, separate permission must be obtained for electronic re-use. Similarly, a licence is only valid in the language selected and does not apply for editions in other languages unless additional translation rights have been granted separately in the licence. Any content owned by third parties are expressly excluded from the licence.

2. 3. Similarly, rights for additional components such as custom editions and derivatives require additional permission and may be subject to an additional fee. Please apply to Journalpermissions@springernature.com/bookpermissions@springernature.com for these rights.

2. 4. Where permission has been granted **free of charge** for material in print, permission may also be granted for any electronic version of that work, provided that the material is incidental to your work as a whole and that the electronic version is essentially equivalent to, or substitutes for, the print version.

2. 5. An alternative scope of licence may apply to signatories of the [STM Permissions Guidelines](#), as amended from time to time.

3. Duration of Licence

3. 1. A licence for is valid from the date of purchase ('Licence Date') at the end of the relevant period in the below table:

Scope of Licence	Duration of Licence
Post on a website	12 months
Presentations	12 months
Books and journals	Lifetime of the edition in the language purchased

4. Acknowledgement

4. 1. The Licensor's permission must be acknowledged next to the Licenced Material in print. In electronic form, this acknowledgement must be visible at the same time as the figures/tables/illustrations or abstract, and must be hyperlinked to the journal/book's homepage. Our required acknowledgement format is in the Appendix below.

5. Restrictions on use

5. 1. Use of the Licensed Material may be permitted for incidental promotional use and minor editing privileges e.g. minor adaptations of single figures, changes of format, colour and/or style where the adaptation is credited as set out in Appendix 1 below. Any other changes including but not limited to, cropping, adapting, omitting material that

affect the meaning, intention or moral rights of the author are strictly prohibited.

5. 2. You must not use any Licensed Material as part of any design or trademark.

5. 3. Licensed Material may be used in Open Access Publications (OAP) before publication by Springer Nature, but any Licensed Material must be removed from OAP sites prior to final publication.

6. Ownership of Rights

6. 1. Licensed Material remains the property of either Licensor or the relevant third party and any rights not explicitly granted herein are expressly reserved.

7. Warranty

IN NO EVENT SHALL LICENSOR BE LIABLE TO YOU OR ANY OTHER PARTY OR ANY OTHER PERSON OR FOR ANY SPECIAL, CONSEQUENTIAL, INCIDENTAL OR INDIRECT DAMAGES, HOWEVER CAUSED, ARISING OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE DOWNLOADING, VIEWING OR USE OF THE MATERIALS REGARDLESS OF THE FORM OF ACTION, WHETHER FOR BREACH OF CONTRACT, BREACH OF WARRANTY, TORT, NEGLIGENCE, INFRINGEMENT OR OTHERWISE (INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, DAMAGES BASED ON LOSS OF PROFITS, DATA, FILES, USE, BUSINESS OPPORTUNITY OR CLAIMS OF THIRD PARTIES), AND WHETHER OR NOT THE PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES. THIS LIMITATION SHALL APPLY NOTWITHSTANDING ANY FAILURE OF ESSENTIAL PURPOSE OF ANY LIMITED REMEDY PROVIDED HEREIN.

8. Limitations

8. 1. *BOOKS ONLY:* Where 'reuse in a dissertation/thesis' has been selected the following terms apply: Print rights of the final author's accepted manuscript (for clarity, NOT the published version) for up to 100 copies, electronic rights for use only on a personal website or institutional repository as defined by the Sherpa guideline (www.sherpa.ac.uk/romeo/).

8. 2. For content reuse requests that qualify for permission under the [STM Permissions Guidelines](#), which may be updated from time to time, the STM Permissions Guidelines supersede the terms and conditions contained in this licence.

9. Termination and Cancellation

9. 1. Licences will expire after the period shown in Clause 3 (above).

9. 2. Licensee reserves the right to terminate the Licence in the event that payment is not received in full or if there has been a breach of this agreement by you.

Appendix 1 — Acknowledgements:**For Journal Content:**

Reprinted by permission from [the Licensor]: [Journal Publisher (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication)

For Advance Online Publication papers:

Reprinted by permission from [the Licensor]: [Journal Publisher (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication), advance online publication, day month year (doi: 10.1038/sj.[JOURNAL ACRONYM].)

For Adaptations/Translations:

Adapted/Translated by permission from [the Licensor]: [Journal Publisher (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication)

Note: For any republication from the British Journal of Cancer, the following credit line style applies:

Reprinted/adapted/translated by permission from [the Licensor]: on behalf of Cancer Research UK: : [Journal Publisher (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication)

For Advance Online Publication papers:

Reprinted by permission from The [the Licensor]: on behalf of Cancer Research UK: [Journal Publisher (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication), advance online publication, day month year (doi: 10.1038/sj.[JOURNAL ACRONYM])

For Book content:

Reprinted/adapted by permission from [the Licensor]: [Book Publisher (e.g. Palgrave Macmillan, Springer etc) [Book Title] by [Book author(s)] [COPYRIGHT] (year of publication)

Other Conditions:

Version 1.3

Questions? customercare@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.
