

# Ocena użyteczności oznaczeń białka HE4 i algorytmu ROMA w przedoperacyjnej diagnostyce guzów przydatków

Evaluation of applicability of HE4 and ROMA in the preoperative diagnosis of adnexal masses

Łukasz Janas<sup>1</sup>, Ewa Głowacka<sup>2</sup>, Jacek R. Wilczyński<sup>1</sup>, Andrzej Malinowski<sup>3</sup>, Marek Nowak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika Ginekologii i Onkologii Ginekologicznej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, Polska

<sup>2</sup> Centrum Diagnostyki Laboratoryjnej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, Polska

<sup>3</sup> Klinika Ginekologii Operacyjnej, Endoskopowej i Ginekologii Onkologicznej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, Polska

## Streszczenie

**Cel pracy:** Ocena użyteczności oznaczeń surowiczych stężeń białka HE4 osobno oraz w zestawieniu z CA125 (algorytm ROMA) w wyodrębnianiu pacjentek wysokiego ryzyka złośliwości zmian w przydatkach.

**Materiał i metody:** U 259 kobiet zakwalifikowanych do operacji z powodu guza przydatków przedoperacyjnie oznaczono surowicze stężenia CA125 i HE4 oraz obliczono wartość algorytmu ROMA. Uzyskane wartości zestawiono z wynikami badania histopatologicznego zmian.

**Wyniki:** Czulość i swoistość w przedoperacyjnej diagnostyce pierwotnego raka jajnika dla CA125 wyniosły odpowiednio 93,2% i 71,5%, a dla HE4 – 95,4% i 81,3%. Algorytm ROMA osiągnął czulość 95,4% przy swoistości 79,8%. U kobiet przed menopauzą wszystkie metody osiągnęły czulość 100% przy swoistości 65,6% dla CA125, 93,4% dla HE4 i 82,0% dla ROMA. U kobiet pomenopauzalnych czulość i swoistość osiągnęły wartości odpowiednio 92,1% i 81,7% dla CA125, 94,7% i 60,6% dla HE4 oraz 94,7% i 76,1% dla ROMA. Zarówno surowicze stężenia CA125, jak i HE4, były znamienne wyższe u pacjentek z pierwotnym rakiem jajnika niż u kobiet w każdej grupie zmian łagodnych. Stężenia CA125 u chorych z endometriozą były istotnie podwyższone w porównaniu do kobiet z innymi zmianami łagodnymi. Powyższej zależności nie odnotowano dla stężeń HE4.

**Wnioski:** Zarówno oznaczenia CA125 i HE4, jak i algorytm ROMA są przydatne w przedoperacyjnej diagnostyce raka jajnika. HE4 zwiększa skuteczność diagnostyki w przypadkach endometriozy, weryfikując fałszywie dodatnie wyniki CA125.

Słowa kluczowe: rak jajnika / HE4 / ROMA /

## Autor do korespondencji:

Łukasz Janas

Klinika Ginekologii i Onkologii Ginekologicznej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki

ul. Rzgowska 281/289, 93-338 Łódź, Polska

tel.: (42) 2711151

e-mail: ukasz.janas@gmail.com

Otrzymano: 09.01.2014

Zaakceptowano do druku: 14.05.2014

Łukasz Janas et al. Ocena użyteczności oznaczeń białka HE4 i algorytmu ROMA w przedoperacyjnej diagnostyce guzów przydatków.

## Abstract

**Objective:** The aim of the study was to evaluate the effectiveness of HE4 alone and in combination with CA125 (ROMA) in selecting patients at high risk of adnexal malignancy.

**Material and methods:** Serum CA125 and HE4 levels were determined and the ROMA value was calculated in 259 women qualified for surgery due to adnexal mass. The results were compared with histopathological findings.

**Results:** Sensitivity and specificity in preoperative diagnosis of primary ovarian cancer were 93.2% and 71.5% for CA125 and 95.4% and 81.3% for HE4, respectively. ROMA algorithm achieved sensitivity of 95.4% and specificity of 79.8%. All methods reached sensitivity of 100% at specificity of 65.6% for CA125, 93.4% for HE4 and 82.0% for ROMA in premenopausal women, whereas in postmenopausal women sensitivity and specificity achieved levels of 92.1% and 81.7% for CA125, 94.7% and 60.6% for HE4 and 94.7% and 76.1% for ROMA, respectively. Serum levels of both CA125 and HE4 were significantly higher in women with primary ovarian cancer as compared to benign disease. Concentrations of CA125 in patients with endometriosis were significantly elevated as compared to women with other benign tumors. Such relation was not observed when HE4 levels were concerned.

**Conclusions:** CA125, HE4 and ROMA are useful in preoperative diagnosis of ovarian malignancy. HE4 improves the diagnostic accuracy in cases of endometriosis, verifying false positive results of CA125.

Key words: **ovarian cancer / HE4 / ROMA /**

## Wstęp

U około 20% kobiet w ciągu ich życia rozpoznana zostaje zmiana przydatków i połowa z nich jest leczona operacyjnie [1,2]. Większość zmian ma charakter łagodny i zwykle jest operowana przez ginekologów ogólnych. Zaledwie niewielki odsetek zmian przydatków ma charakter złośliwy i powinny one być leczone w ośrodkach ginekologii onkologicznej [3]. Stwierdzono, bowiem szereg korzyści dla pacjentek z rakiem jajnika operowanych przez ginekologów onkologicznych (dokładniej określony stopień zaawansowania nowotworu, skuteczniejsza cytoredukcja, mniejsza ilość powikłań) [4].

W chwili obecnej „złoty standard” w diagnostyce raka jajnika stanowi: badanie kliniczne, USG narządu rodowego z oceną przepływów dopplerowskich oraz ocena markerów nowotworowych [5, 6].

Surowicze stężenia powszechnie stosowanego markera CA125 pozostają w granicach normy u co najmniej 20% pacjentek z pierwotnym rakiem jajnika oraz u około połowy – we wczesnym jego stadium [7]. CA125 często wykazuje podwyższone stężenia w surowicy pacjentek z chorobami ginekologicznymi (endometrioza, inne łagodne guzy jajnika, mięśniaki macicy), pozaginekologicznymi (marskość wątroby, wrodzone wady serca), w ciąży oraz u 1-5% kobiet zdrowych.

Wśród nowych potencjalnych markerów raka jajnika najbardziej obiecujące wydaje się białko HE4 (Human Epididymis Protein 4) [1]. W opublikowanym w 2008 roku badaniu wykazano najwyższą czułość HE4 spośród wszystkich testowanych białek [1]. Połączenie CA125 i HE4 charakteryzowało się najwyższą czułością spośród wszystkich ocenianych par markerów, a dodanie kolejnego markera nie poprawiało znacząco trafności diagnostycznej [1]. Stężenia białka HE4 były podwyższone w około połowie przypadków raka jajnika, u których stężenia CA125 pozostawały w granicach normy [1]. HE4 okazało się również bardziej skuteczne w diagnostyce wczesnego raka jajnika [1]. W przypadku zmian łagodnych, zwłaszcza endometriozy, stężenia HE4 przekraczają wartości referencyjne znacznie rzadziej niż CA125 [8,9].

Na podstawie zachęcających wyników oznaczeń stężeń HE4 w przedoperacyjnej diagnostyce raka jajnika, zwłaszcza w zestawieniu z białkiem CA125, opracowano *Risk of Ovarian Malignancy Algorithm* (ROMA). Wykorzystując surowicze stężenia obu markerów oraz status menopauzalny pacjentki, ROMA kwalifikuje chore do grupy wysokiego lub niskiego ryzyka złośliwości guza jajnika [10].

## Cel pracy

Większość badań potwierdza skuteczność oznaczeń surowiczych stężeń białka HE4 oraz algorytmu ROMA w przedoperacyjnej diagnostyce raka jajnika, jednakże pojawiły się publikacje kwestionujące ich użyteczność [5, 9, 11-15].

Celem pracy jest weryfikacja przydatności oznaczeń surowiczych stężeń białka HE4 i algorytmu ROMA w przedoperacyjnym wyodrębnianiu pacjentek wysokiego ryzyka złośliwości zmian przydatków, w codziennej praktyce klinicznej.

## Materiał i metody

Badanie zostało przeprowadzone w latach 2011-2014 wśród pacjentek Kliniki Ginekologii i Onkologii Ginekologicznej oraz Kliniki Ginekologii Operacyjnej, Endoskopowej i Ginekologii Onkologicznej ICZMP w Łodzi zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego z powodu zmian w przydatkach.

W surowicy krwi chorych oznaczono stężenia CA125 i HE4 z użyciem zestawów Elecsys HE4 i Elecsys CA125 II firmy Roche. Wartości referencyjne dla CA125 i HE4 ustalono odpowiednio na poziomie 35 U/ml i 76,1 pM. Wartości algorytmu ROMA wyliczono według wzorów opracowanych przez autorów metody [10]. Do grupy wysokiego ryzyka złośliwości kwalifikowano pacjentki przed menopauzą, gdy wartość ROMA przekraczała 11,4% oraz po menopauzie – dla ROMA powyżej 29,9%. Uzyskane wartości zestawiono z wynikami badania histopatologicznego zmian przydatków.

Na podstawie badania patomorfologicznego wyodrębniono dwie grupy: zmiany złośliwe – razem oraz zmiany łagodne – razem. Do pierwszej z nich zaliczono przypadki pierwotnego

Łukasz Janas et al. Ocena użyteczności oznaczeń białka HE4 i algorytmu ROMA w przedoperacyjnej diagnostyce guzów przydatków.

raka jajnika, przerzuty do jajnika oraz guzy granicznej złośliwości. Z kolei wśród zmian łagodnych wyodrębniono endometriozę (torbiele czekoladowe) oraz zmiany łagodne bez endometriozy.

Ze względu na brak rozkładu normalnego uzyskanych wyników wyliczono medianę, IQR (*interquartile range* – rozstęp ćwiartkowy), a do porównania stężeń markerów pomiędzy poszczególnymi grupami użyto testu mediany. Do analizy statystycznej użyto programu STATISTICA 10.0. Poza tym obliczono czułość, swoistość, dodatnią i ujemną wartość predykcyjną CA125, HE4 i ROMA w diagnostyce zmian przydatków.

## Wyniki

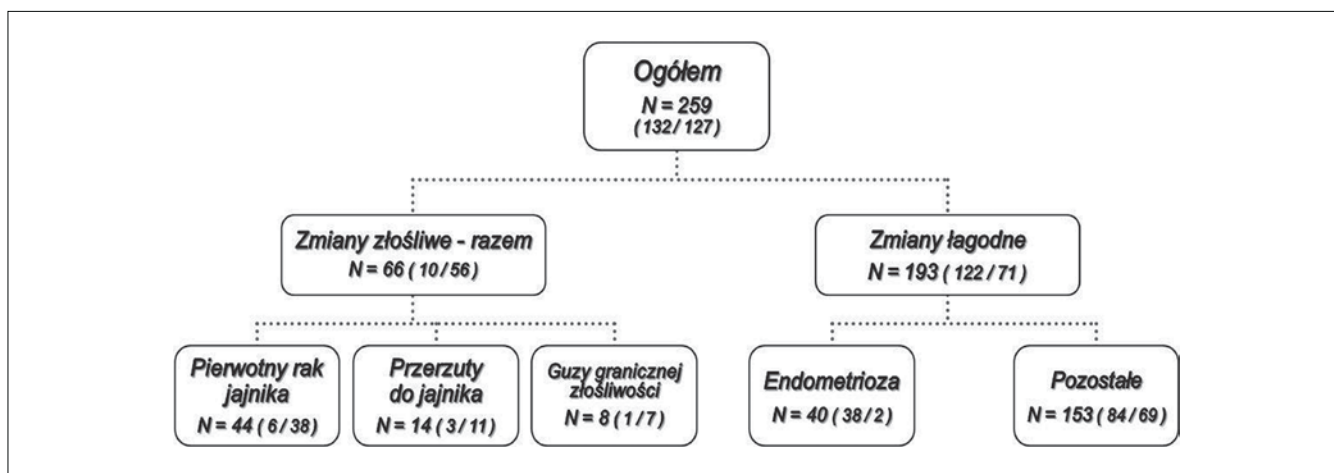
Do badań zakwalifikowano 259 kobiet (132 przed oraz 127 po menopauzie). Na podstawie wyniku badania histopatologicznego usuniętych zmian 66 pacjentek zakwalifikowano do grupy zmian złośliwych, a pozostałe 193 – do zmian łagodnych (Ryc. 1).

W grupie zmian złośliwych znalazły się 44 pacjentki cierpiące z powodu pierwotnego raka jajnika, u 14 rozpoznano prze-

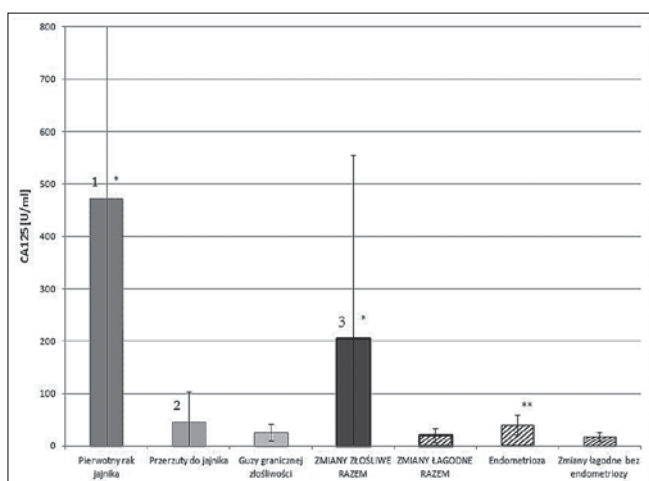
rzuty innych nowotworów do jajnika, a u 8 – guzy granicznej złośliwości. (Rycina1).

Histopatologicznie najczęstszym typem raka jajnika był rak surowicy (31/44). Poza tym rozpoznano 4 niskozróżnicowane, 4 śluzowe, 3 endometrioidalne i 2 jasnokomórkowe raki jajnika. Wśród przerzutów do jajnika, pierwotnym ogniskiem był rak endometrium (6/14), nowotwory przewodu pokarmowego (5/14), mięsak/mięsakorak trzonu macicy (2/14) oraz rak piersi (1/14).

W grupie kobiet ze zmianami łagodnymi 40 pacjentek cierpiało z powodu endometriozy (torbiele czekoladowe) (Rycina 1). W pozostałej grupie kobiet ze zmianami łagodnymi (153 pacjentki) odnotowano: potworniaki (33/153), torbiele proste (55/153) gruczolaki (29/153), włókniaki (14/153), zmiany zapalne (8/153), torbiele krwotoczne (6/153) oraz wodniaki jajowodów (3/153). U 5 pacjentek przedoperacyjnie obserwowane guzy miednicy mniejszej okazały się być mięśniakami macicy.



**Rycina 1.** Rozkład pacjentek pod względem rozpoznania histopatologicznego usuniętych zmian przydatków i statusu menopauzalnego [N – liczba pacjentek (przed/po menopauzie)].

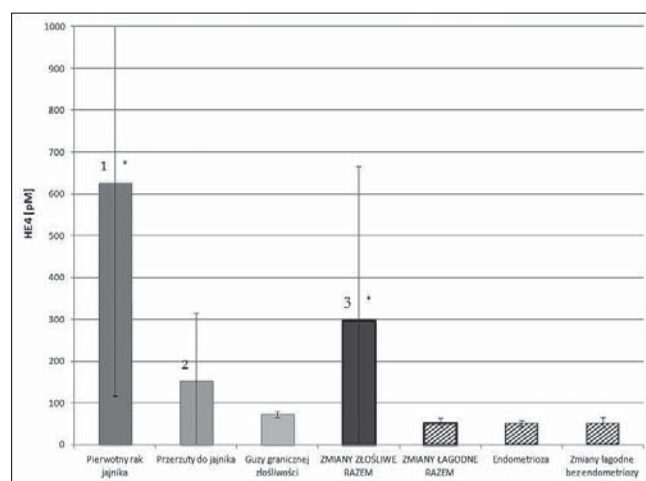


**Rycina 2.** Stężenia CA125 w surowicy badanych kobiet (mediana ± IQR).

\* istotnie wyższe niż zmiany łagodne – razem ( $p < 0,0001$ ), endometrioza ( $p < 0,0001$ ) i zmiany łagodne bez endometriozy ( $p < 0,0001$ ).

\*\* istotnie wyższe niż zmiany łagodne bez endometriozy ( $p < 0,0001$ ).

- 1 – IQR = 1084,8 U/ml
- 2 – IQR = 112,3U/ml
- 3 – IQR = 700,6 U/ml



**Rycina 3.** Stężenia HE4 w surowicy badanych kobiet (mediana ± IQR).

\* istotnie wyższe niż zmiany łagodne – razem ( $p < 0,0001$ ), endometrioza ( $p < 0,0001$ ) i zmiany łagodne bez endometriozy ( $p < 0,0001$ ).

- 1 – IQR = 1017,3 pM
- 2 – IQR = 323,8 pM
- 3 – IQR = 736,3 pM

Łukasz Janas et al. Ocena użyteczności oznaczeń białka HE4 i algorytmu ROMA w przedoperacyjnej diagnostyce guzów przydatków.

Wyniki oznaczeń surowiczych stężeń CA125 i HE4 w każdej z grup badanych zobrazowano na rycinach 2 i 3.

Stężenia CA125 w surowicy krwi pacjentek z pierwotnym rakiem jajnika oraz z wszystkimi zmianami złośliwymi były istotnie wyższe w porównaniu z kobietami ze „zmianami łagodnymi – razem”, z endometriozą i ze zmianami łagodnymi bez endometriozy. Surowicze stężenia CA125 były znamienne statystycznie wyższe w przypadkach endometriozy w porównaniu ze zmianami łagodnymi bez endometriozy. (Rycina 2).

Surowicze stężenia białka HE4 były istotnie statystycznie wyższe u pacjentek z pierwotnym rakiem jajnika i „zmianami złośliwymi – razem” niż u pacjentek ze „zmianami łagodnymi – razem”, endometriozą i zmianami łagodnymi bez endometriozy. Stężenia HE4 w surowicy krwi kobiet z endometriozą i ze zmianami łagodnymi bez endometriozy były zbliżone ( $p=0,304$ ). (Rycina 3).

Analizując surowicze stężenia białek CA125, HE4 oraz wartości algorytmu ROMA u pacjentek przed- i pomenopauzalnych z wszystkimi zmianami łagodnymi oraz pierwotnym rakiem jajnika wykazano, że czułość i swoistość badanych metod w przedoperacyjnej diagnostyce pierwotnego raka jajnika wyniosły 93,2% i 71,5% dla CA125, 95,4% i 81,3% dla HE4, 95,4% i 79,8% dla ROMA. Wśród kobiet przed menopauzą każda z metod wykazała 100% czułość przy swoistości 65,6% dla CA125, 93,4% dla HE4 i 82,0% dla ROMA.

U kobiet pomenopauzalnych opisywane metody osiągnęły czułość i swoistość odpowiednio na poziomie 92,1% i 81,7% dla CA125, 94,7% i 60,6% dla HE4 oraz 94,7% i 76,1% dla ROMA (Tabela I).

Gdy przeanalizowano stężenia surowicze CA125, HE4 i wartości algorytmu ROMA wśród kobiet z wszystkimi zmianami łagodnymi oraz wszystkimi zmianami złośliwymi, stwierdzono czułość i swoistość CA125 na poziomie 78,8% i 71,5%, HE4 – 83,3% i 81,3%, ROMA 80,3% i 79,8%. U kobiet przedmenopauzalnych każda z metod osiągnęła czułość 90% (przy swoistości 65,6% dla CA125, 93,4% dla HE4 i 82,0% dla ROMA). Po menopauzie czułość i swoistość wyniosły odpowiednio 76,8% i 81,7% dla CA125, 82,1% i 60,6% dla HE4 oraz 78,6% i 76,1% dla ROMA, (Tabela II).

## Dyskusja

Pomimo, iż oznaczenia białka HE4 i algorytm ROMA weszły już do praktyki klinicznej, pewne kontrowersje odnośnie ich stosowania wciąż pozostają nierozstrzygnięte [5, 11, 12].

Uzyskane przez nas wyniki dość jednoznacznie dowodzą, iż stężenia HE4, w przeciwieństwie do CA125, nie są podwyższone u kobiet z endometriozą. Ta właściwość HE4, potwierdzona również przez innych autorów, pozwala na udoskonalenie przedoperacyjnej diagnostyki zmian przydatków w tej właśnie grupie chorych, która jest źródłem największej ilości fałszywie dodatnich wyników CA125 [8, 9].

**Tabela I.** Porównanie skuteczności CA125, HE4 i ROMA w przedoperacyjnej diagnostyce pierwotnego raka jajnika (PPV – dodatnia wartość predykcyjna, NPV – ujemna wartość predykcyjna).

		Czułość (%)	Swoistość (%)	PPV (%)	NPV (%)
Ogółem	CA125	93,2	71,5	42,7	97,9
	HE4	95,4	81,3	53,8	98,7
	ROMA	95,4	79,8	51,8	98,7
Przed menopauzą	CA125	100,0	65,6	12,5	100,0
	HE4	100,0	93,4	42,9	100,0
	ROMA	100,0	82,0	21,4	100,0
Po menopauzie	CA125	92,1	81,7	72,9	95,1
	HE4	94,7	60,6	56,2	95,6
	ROMA	94,7	76,1	67,9	96,4

**Tabela II.** Porównanie skuteczności CA125, HE4 i ROMA w przedoperacyjnej diagnostyce złośliwych zmian przydatków – pierwotny rak jajnika, przerzuty do jajnika i guzy granicznej złośliwości (PPV – dodatnia wartość predykcyjna, NPV – ujemna wartość predykcyjna).

		Czułość (%)	Swoistość (%)	PPV (%)	NPV (%)
Ogółem	CA125	78,8	71,5	48,6	90,8
	HE4	83,3	81,3	60,4	93,4
	ROMA	80,3	79,8	57,6	92,2
Przed menopauzą	CA125	90,0	65,6	17,6	98,8
	HE4	90,0	93,4	52,9	99,1
	ROMA	90,0	82,0	29,0	99,0
Po menopauzie	CA125	76,8	81,7	76,7	81,7
	HE4	82,1	60,6	62,2	81,1
	ROMA	78,6	76,1	72,1	81,8

Łukasz Janas et al. Ocena użyteczności oznaczeń białka HE4 i algorytmu ROMA w przedoperacyjnej diagnostyce guzów przydatków.

Podkreślić należy, że zarówno CA125, HE4, jak i algorytm ROMA uzyskały wysoką czułość, potwierdzając swoją przydatność w przedoperacyjnej diagnostyce pierwotnego raka jajnika. W porównaniu z białkiem CA125, HE4 osiągnęło nieznacznie wyższą czułość oraz zdecydowanie wyższą swoistość w diagnostyce pierwotnego raka jajnika wśród ogółu pacjentek. Opublikowane dotychczas metaanalizy również podkreślają wysoką swoistość białka HE4 w diagnostyce raka jajnika, choć sygnalizują one jednocześnie porównywalną, a nawet nieco wyższą czułość białka CA125 [16-18].

Wśród pacjentek przedmenopauzalnych wszystkie przypadki pierwotnego raka jajnika zostały przedoperacyjnie „wykryte” przez CA125, HE4 i algorytm ROMA. Zauważyć jednak należy, że swoistość HE4 była dużo wyższa od CA125. Wynika to prawdopodobnie ze znaczącej obecności pacjentek ze zmianami endometrialnymi, u których stężenia białka HE4 podwyższone są znacznie rzadziej niż CA125.

Wśród kobiet po menopauzie algorytm ROMA i ocena stężeń HE4 uzyskały najwyższą czułość w diagnostyce pierwotnego raka jajnika, natomiast CA125 charakteryzowało się wyższą swoistością, zwłaszcza w porównaniu z HE4. Powyższa obserwacja częściowo potwierdza wnioski płynące z pracy Moore’a i wsp., którzy nie wykazali diagnostycznej przewagi HE4 nad CA125 w tej grupie pacjentek [1]. Przyczyną relatywnie niskiej specyficzności białka HE4 może być fakt, iż jego stężenia u kobiet zdrowych stopniowo wzrastają wraz z wiekiem. Według niektórych autorów znacząco wyższe stężenia białka HE4 występują zwłaszcza powyżej ósmej dekady życia [19]. Być może zasadne byłoby, zatem opracowanie nowych, wyższych wartości referencyjnych dla kobiet pomenopauzalnych lub kobiet w podeszłym wieku.

Dostępne metaanalizy wskazują na wyższą czułość algorytmu ROMA w porównaniu z CA125 i HE4 oraz jego niższą niż HE4 swoistość [18]. W naszym badaniu czułość algorytmu ROMA była identyczna z czułością HE4 w każdej z grup przy niższej od niego swoistości wśród ogółu pacjentek i w grupie kobiet przedmenopauzalnych. Wśród pacjentek pomenopauzalnych swoistość ROMA wyraźnie przewyższała HE4.

Podobnie jak w innych opracowaniach czułość wszystkich metod uległa obniżeniu, gdy analizę poszerzono o przerzuty do jajnika i guzy granicznej złośliwości [17].

## Wnioski

Zarówno oznaczenia CA125 i HE4 w surowicy, jak i algorytm ROMA są przydatne w przedoperacyjnej diagnostyce raka jajnika. HE4 zwiększa skuteczność diagnostyki w przypadkach endometriozy, weryfikując fałszywie dodatnie wyniki CA125.

### Oświadczenie autorów:

1. Łukasz Janas – autor koncepcji i założeń pracy, zebranie materiału, analiza statystyczna, interpretacja wyników, przygotowanie manuskryptu i piśmiennictwa – autor zgłaszający i odpowiedzialny za manuskrypt.
2. Ewa Głowacka – zebranie materiału, wykonanie badań laboratoryjnych.
3. Jacek R. Wilczyński – zebranie materiału, korekta manuskryptu.
4. Andrzej Malinowski – zebranie materiału, korekta manuskryptu.
5. Marek Nowak – współautor koncepcji i założeń pracy, zebranie materiału, interpretacja wyników, przygotowanie, korekta i akceptacja ostatecznego kształtu manuskryptu.

### Źródło finansowania:

Praca finansowana z dotacji MNISW – grant wewnętrzny ICZMP nr 2012/57-MN

### Konflikt interesów:

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów oraz nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy.

## Piśmiennictwo

1. Moore RG, Brown AK, Miller MC, [et al.]. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol.* 2008, 108, 402-840.
2. Curtin JP. Management of the adnexal mass. *Gynecol Oncol.* 1994, 55, 42-46.
3. Berek JS, Natarajan S. Rak jajnika i jajowodu. W: Ginekologia. Tom 4. Red. Berek JS, Novak E. Warszawa: Medipage. 2008, 1585-1679.
4. Giede KC, Kieser K, Dodge J, Rosen B. Who should operate on patients with ovarian cancer? An evidence-based review. *Gynecol Oncol.* 2005, 99, 447-461.
5. Van Gorp T, Veldman J, Van Calster B, [et al.]. Subjective assessment by ultrasound is superior to the risk of malignant index (RMI) or the risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) in discriminating benign from malignant adnexal masses. *Eur J Cancer.* 2012, 48, 1649-1656.
6. Moszynski R, Szperek D, Szubert S, Sajdak S. Analysis of false negative results of subjective ultrasonography assessment of adnexal masses. *Ginekol Pol.* 2013, 84, 102-107.
7. Zurawski VR Jr, Knapp RC, Einhorn N, [et al.]. An initial analysis of preoperative serum CA 125 levels in patients with early stage ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol.* 1988, 30, 7-14.
8. Moore RG, Miller MC, Steinhoff MM, [et al.]. Serum HE4 levels are less frequently elevated than CA125 in women with benign gynecologic disorders. *Am J Obstet Gynecol.* 2012, 206, 351.e1-8.
9. Huhtinen K, Suvitie P, Hiissa J, [et al.]. Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts. *Br J Cancer.* 2009, 100, 1315-1319.
10. Moore RG, McMeekin DS, Brown AK, [et al.]. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol.* 2009, 112, 40-46.
11. Jacob F, Meier M, Caduff R, [et al.]. No benefit from combining HE4 and CA125 as ovarian tumor markers in a clinical setting. *Gynecol Oncol.* 2011, 121, 487-491.
12. Van Gorp T, Cadron I, Despierre E, [et al.]. HE4 and CA125 as a diagnostic test in ovarian cancer: prospective validation of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm. *Br J Cancer.* 2011, 104, 863-870.
13. Moore RG, Miller MC, Disivestro P, [et al.]. Evaluation of the diagnostic accuracy of the risk of ovarian malignancy algorithm in women with a pelvic mass. *Obstet Gynecol.* 2011, 118, 280-288.
14. Nolen B, Vellikhatnaya L, Marrangoni A, [et al.]. Serum biomarker panels for the discrimination of benign from malignant cases in patients with an adnexal mass. *Gynecol Oncol.* 2010, 117, 440-445.
15. Kadja S, Stefanovic A, Jeremic K, [et al.]. The utility of human epididymal protein 4, cancer antigen 125, and risk for malignancy algorithm in ovarian cancer and endometriosis. *Int J Gynecol Cancer.* 2012, 22, 238-244.
16. Yang Z, Wei C, Luo Z, Li L. Clinical value of serum human epididymis protein 4 assay in the diagnosis of ovarian cancer: a meta-analysis. *Oncol Targets Ther.* 2013, 6, 957-966.
17. Li F, Tie R, Chang K, [et al.]. Does risk for ovarian malignancy algorithm excel human epididymis protein 4 and CA125 in predicting epithelial ovarian cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer.* 2012, 12, 258.
18. Lin J, Qin J, Sangvatanakul V. Human epididymis protein 4 for differential diagnosis between benign gynecologic disease and ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013, 167, 81-85.
19. Moore RG, Miller MC, Eklund EE, [et al.]. Serum levels of the ovarian cancer biomarker HE4 are decreased in pregnancy and increase with age. *Am J Obstet Gynecol.* 2012, 206, 349.e1-7.