

Submitted: 06.12.2012  
Accepted: 08.02.2013

## Wartość diagnostyczna ultrasonograficznych wskaźników ryzyka onkologicznego w przedoperacyjnym różnicowaniu guzów przydatków

Diagnostic value of ultrasound indicators of neoplastic risk in preoperative differentiation of adnexal masses

Nabil Abdalla, Michał Bachanek, Seweryn Trojanowski,  
Krzysztof Cendrowski, Włodzimierz Sawicki

*Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej, II Wydział Lekarski, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska  
Adres do korespondencji: Nabil Abdalla, Klinika i Katedra Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej, II Wydział Lekarski, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Kondratowicza 8, 83-242 Warszawa, e-mail: drnabilabdalla@yahoo.com, tel.: 22 326 58 38*

### Słowa kluczowe

guz przydatków,  
badanie  
ultrasonograficzne  
przydatków,  
wskaźnik ryzyka  
nowotworu  
złośliwego, rak  
jajnika, proste reguły  
ultrasonograficzne

### Streszczenie

**Cel:** Ocena przydatności diagnostycznej wskaźników ryzyka obecności nowotworu złośliwego i prostych reguł ultrasonograficznych w przedoperacyjnym różnicowaniu guzów przydatków. **Materiał i metody:** Retrospektywne badanie 87 pacjentek hospitalizowanych z powodu guza przydatków. Dokonano oceny tych zmian według międzynarodowej ultrasonograficznej klasyfikacji guzów jajnika, a następnie obliczono cztery wskaźniki ryzyka obecności nowotworu złośliwego w oparciu o badanie ultrasonograficzne, stężenie markera CA 125 i status menopauzalny. **Wyniki:** Wiek pacjentek wahał się od 17 do 79 lat, średnio 44,5 roku (odchylenie standardowe SD=16,6 roku). Większość chorych (60,91%) była przed menopauzą. Czułość metody prostych reguł ultrasonograficznych w rozpoznawaniu zmian złośliwych wyniosła 64,71%, a swoistość 90,00%. Wykazano znaczącą różnicę statystyczną obecności procesu złośliwego pod względem wieku, statusu menopauzalnego, stężenia CA 125 i analizowanych punktów ultrasonograficznych. Wszystkie wskaźniki charakteryzowały się podobną czułością diagnostyczną. Wśród nich najlepszą swoistość i wartość predykcji zmian złośliwych wykazywał wskaźnik ryzyka nowotworu złośliwego wg Yamamoto. Z kolei wskaźnik ryzyka nowotworu złośliwego wg Jacobsa cechował się najwyższą wartością predykcji zmian niezłośliwych. **Wnioski:** Zastosowanie wieloparametrycznego badania ultrasonograficznego może pomóc wyselekcjonować pacjentki z guzami przydatków do odpowiedniego postępowania – obserwacji, laparotomii, laparoskopii. Parametry te stanowią prostą metodę ambulatoryjnego określenia charakteru guzów przydatków przed skierowaniem pacjentek do właściwego leczenia.

**Key words**

adnexal tumor, ultrasound of the adnexa, risk of malignancy index, ovarian cancer, simple ultrasound-based rules

**Abstract**

**Aim:** To assess the diagnostic value of the risk of malignancy indices and simple ultrasound-based rules in preoperative differentiation of adnexal masses. **Material and methods:** Retrospective examination of 87 patients admitted to hospital due to adnexal tumors. The lesions were evaluated on the basis of international ultrasound classification of ovarian tumors and four risk of malignancy indices were calculated based on ultrasound examination, concentration of CA 125 and menopausal status. **Results:** The patients were aged between 17 and 79, the mean age was 44.5 (standard deviation SD=16.6). Most of the patients (60.91%) were before their menopause. The sensitivity of the simple ultrasound-based rules in the diagnosis of malignancies equaled 64.71% and the specificity constituted 90.00%. A significant statistical difference in the presence of the malignant process was demonstrated in relation to age, menopausal status, CA 125 concentration and analyzed ultrasound score. All indices were characterized by similar sensitivity and specificity. The highest specificity and predictive value of malignant lesions out of the assessed ones was demonstrated by the risk of malignancy index proposed by Yamamoto. The risk of malignancy index according to Jacobs, however, showed the highest predictive value in the case of non-malignant lesions. **Conclusions:** The multiparametric ultrasound examination may facilitate the selection of patients with adnexal tumors to provide them with an appropriate treatment – observation, laparotomy and laparoscopy. These parameters constitute a simple ambulatory method of determining the character of adnexal masses before recommending appropriate treatment.

**Wstęp**

Guzy przydatków należą do najczęstszych przyczyn hospitalizacji na oddziałach ginekologicznych. Przedoperacyjne różnicowanie zmian złośliwych i niezłośliwych jest jednym z istotniejszych etapów w ocenie tych zmian, gdyż decyduje o dalszym postępowaniu<sup>(1)</sup>. Trudności diagnostyczne związane z wykryciem raka jajnika wynikają z faktu, że nie jest to jednolita jednostka chorobowa. Najnowsze doniesienia wskazują, że w większości przypadków rak jajnika pochodzi z komórek jajowodów lub endometrium, natomiast pierwotne nowotwory złośliwe jajnika pochodzące z komórek germinalnych lub podścieliska gonad występują stosunkowo rzadko<sup>(2)</sup>. Rozpoznanie ustala się, a następnie przeprowadza wstępną ocenę guzów przydatków na podstawie wywiadu, badania klinicznego, wyniku badania ultrasonograficznego i markerów nowotworowych<sup>(3)</sup>. Badanie ultrasonograficzne jest podstawową metodą, pozwalającą na szczegółową ocenę tych zmian, obarczoną jednak pewną dozą subiektywizmu zależnego od czynnika ludzkiego<sup>(4,5)</sup>. W celu ułatwienia standaryzacji, a jednocześnie obiektywizacji wyników badań ultrasonograficznych stworzono międzynarodową klasyfikację ultrasonograficzną guzów jajnika (IOTA)<sup>(6)</sup>. Grupa IOTA ustaliła proste i przejrzyste reguły interpretacji wyników badań ultrasonograficznych niezależnie od doświadczenia lekarza wykonującego badanie. Dzięki nim możliwa jest klasyfikacja guzów przydatków do grupy złośliwych, niezłośliwych i niesklasyfikowanych. Ta ostatnia wymaga weryfikacji ultrasonograficznej przeprowadzonej przez osoby o większym doświadczeniu<sup>(7)</sup>.

W poszukiwaniu dodatkowych, maksymalnie obiektywnych parametrów oceny ultrasonograficznej guzów przydatków opracowano również tzw. wskaźniki ryzyka onkologicznego. W latach dziewięćdziesiątych Jacobs i wsp. przedstawili prostą metodę diagnostyczną polegającą na matematycznym oszacowaniu ryzyka obecności nowotworu złośliwego przydatków, tzw. *risk of malignancy index* (RMI), na podstawie prostych parametrów ultrasonograficznych,

**Introduction**

Adnexal masses constitute one of the most common causes of hospitalization on gynecological wards. The preoperative differentiation between malignant and benign tumors constitutes one of the most important stages in lesion evaluation since it decides about further treatment<sup>(1)</sup>. Diagnostic difficulties connected with detecting ovarian cancer result from the fact that it is not a uniform disease entity. The latest findings indicate that in the majority of cases, ovarian cancer derives from fallopian tube and endometrial cells. Primary malignant neoplasms of the ovaries, however, which originate from germ cell or gonadal stroma, occur relatively rarely<sup>(2)</sup>. The diagnosis and initial evaluation of adnexal tumors are established on the basis of the history, clinical examination, ultrasound scan as well as neoplastic markers<sup>(3)</sup>. Ultrasound examination constitutes the primary method which allows for thorough assessment of the lesions. It is, however, somewhat subjective and dependant on the human factor<sup>(4,5)</sup>. In order to facilitate the standardization and simultaneously, the objectivity of ultrasound examinations, an international ultrasound classification of ovarian masses was created (IOTA)<sup>(6)</sup>. The IOTA group established simple and transparent rules regarding the interpretation of ultrasound findings irrespective of the examiner's experience. They enable the categorization of adnexal masses as malignant, non-malignant and unclassified. The last one requires an ultrasound verification conducted by physicians with greater experience<sup>(7)</sup>.

In search of additional and the most objective ultrasound parameters in evaluating adnexal masses, so called cancer risk indices were created. In 1990s, Jacobs *et al.* presented a simple diagnostic method based on mathematical estimation of adnexal malignancy risk called *the risk of malignancy index* (RMI). This index was calculated on the basis of simple ultrasound features, menopausal status and serum CA 125 concentration<sup>(8)</sup>. Over the years, RMI was modified and perfected so as to achieve a parameter

statusu menopauzalnego i stężenia markera CA 125 w surowicy krwi<sup>(8)</sup>. Na przestrzeni lat modyfikowano i udoskonalano RMI w celu wypracowania wskaźnika możliwie doskonałego, o najwyższej czułości i swoistości diagnostycznej. I tak kolejne modyfikacje kalkulacji RMI, w tym z uwzględnieniem w formularzu matematycznym wymiarów guza, zaproponowane przez Yamamoto i wsp. znacznie poprawiły wyniki tej metody diagnostycznej<sup>(9–11)</sup>.

Celem naszego opracowania jest analiza wartości diagnostycznej poszczególnych indeksów ryzyka złośliwości oraz prostych reguł ultrasonograficznych w celu opracowania prostego, obiektywnego klinicznego algorytmu klasyfikacji i różnicowania przedoperacyjnego guzów przydatków. Praca ma charakter doniesienia wstępnego.

## Material i metody

Badanie miało charakter retrospektywny i obejmowało 87 pacjentek przyjętych do Katedry i Kliniki Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w roku 2011 z powodu guza przydatków. Z badania wyłączono pacjentki, u których nie wykonano badania stężenia CA 125 oraz których badania ultrasonograficzne były przeprowadzone więcej niż na 90 dni przed operacją. Analizie poddano wyniki ultrasonograficznych badań przezpochwowych. Poza oceną wielkości guza, jego morfologii i echostruktury w badaniu dopplerowskim oceniono stopień waskularyzacji zmiany.

W przypadku guza powyżej 5 cm wychodzącego poza miednicę mniejszą ultrasonografię przezpochwową uzupełniano badaniem przezbrzusznym. Przy zmianach obustronnych do analizy kwalifikowano guz o bardziej złożonej echostrukturze. Badania ultrasonograficzne były wykonywane w trybie ambulatoryjnym przez lekarza prowadzącego przed skierowaniem do szpitala. Używano różnych aparatów ultrasonograficznych przez lekarzy o różnym poziomie doświadczenia. Klasyfikacje do poszczególnych grup oparto na „prostych regułach ultrasonograficznych” wg IOTA. Według nich określano pięć cech ultrasonograficznych wskazujących na obecność guza złośliwego (M – *malignant*): M1 – lity guz o nieregularnych zarysach; M2 – wodobrzusze; M3 – obecność przynajmniej czterech wyrosła brodawkowatych; M4 – guz wielokomorowy o nieregularnych zarysach o wymiarze przekraczającym 100 mm z polami litymi; M5 – nasilone unaczynienie określane badaniem dopplerowskim kodowanym kolorem. Parametry ultrasonograficzne zmian niezłośliwych (B – *benign*) były następujące: B1 – torbiel jednokomorowa; B2 – obecność pól litych o maksymalnym wymiarze nieprzekraczającym 7 mm; B3 – obecność cienia akustycznego; B4 – gładkościenna torbiel wielokomorowa; B5 – brak unaczynienia guza w badaniu kolorowym dopplerem.

Po uzyskaniu tych parametrów guz klasyfikowano jako złośliwy, jeśli wykazywał przynajmniej jedną cechę „M” i jednocześnie nie wystąpiła żadna cecha „B” (reguła 1.) (ryc. 1, 2). Guz klasyfikowano jako niezłośliwy, jeśli stwierdzono przynajmniej jedną cechę „B” i nie potwierdzono żadnej cechy „M” (reguła 2.) (ryc. 3). Wynik badania ultrasonograficznego

of the highest possible values of diagnostic specificity and sensitivity. Thus, subsequent modifications of RMI calculations, including adding the tumor size to the mathematical models, which was put forward by Yamamoto *et al.*, significantly improved the results of this diagnostic method<sup>(9–11)</sup>.

The aim of this paper is to analyze the diagnostic value of individual risk of malignancy indices and simple ultrasound-based rules in order to create a simple and objective clinical algorithm for the classification and preoperative differentiation of adnexal masses. The paper constitutes a preliminary report.

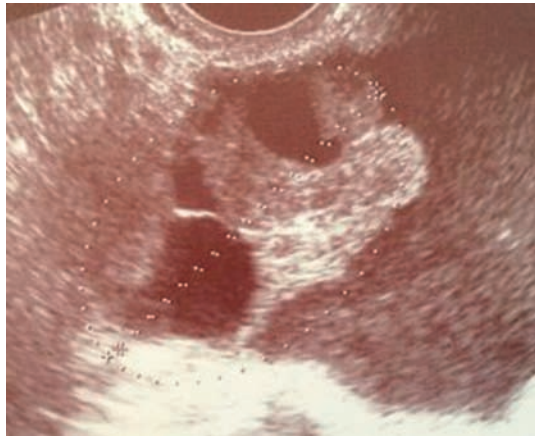
## Material and methods

The study was retrospective and encompassed 87 subjects, who due to adnexal masses in 2011, were admitted to the Department and Clinic of Obstetrics, Women's Diseases and Gynaecologic Oncology of the Second Faculty of Medicine of the Medical University of Warsaw. The patients, whose level of CA 125 had not been examined as well as those who had undergone an ultrasound scan earlier than 90 days before the surgery, were excluded from the study. The findings of transvaginal ultrasound examinations were subject to analysis. Apart from the assessment of the tumor size, its morphology and echostructure, the degree of the tumor vascularization was determined in Doppler examination.

If the tumors were larger than 5 cm and extended beyond the pelvis minor, the transvaginal ultrasound was supplemented with transabdominal examination. In the case of bilateral lesions, only the mass of more complex echostructure was subject to analysis. The ultrasound examinations were performed in ambulatory conditions by the attending physician prior to the referral to the hospital. The patients were examined by physicians of various levels of experience by means of various ultrasound apparatuses. The classification into given categories was based on “simple ultrasound-based rules” according to IOTA. Thus, five ultrasound characteristics were determined which indicated the malignant character of the tumor (M): M1 – irregular solid tumor; M2 – ascites; M3 – the presence of at least four papillary projections; M4 – irregular multilocular tumor with the presence of solid components and the size exceeding 100 mm; M5 – increased vascularization detected in color coded Doppler examination. The ultrasound features of benign lesions (B) were as follows: B1 – unilocular cyst; B2 – the presence of solid components where the largest is not greater than 7 mm; B3 – acoustic shadow; B4 – multilocular cyst with smooth walls; B5 – no signs of blood flow in color Doppler examination.

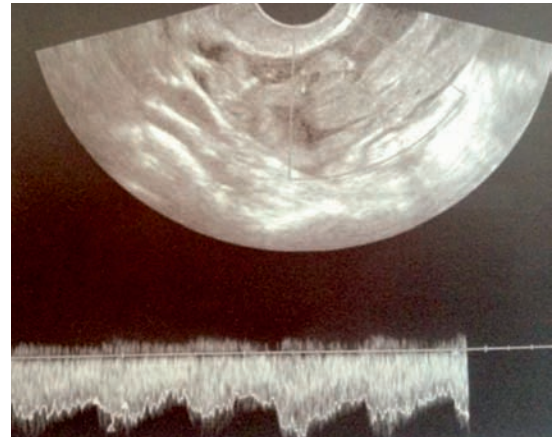
On the basis of these features, the tumor was classified as malignant if it demonstrated at least one “M” feature and no “B” features (rule 1) (figs. 1, 2). The mass was considered benign if at least one “B” feature was present and no “M” features were confirmed (rule 2) (fig. 3). Finally, the ultrasound findings were considered unclassifiable if both “M” and “B” features were detected simultaneously or none of them occurred (rule 3) (fig. 4)<sup>(7)</sup>. Next, four risk of malignancy indices (RMI) were calculated as





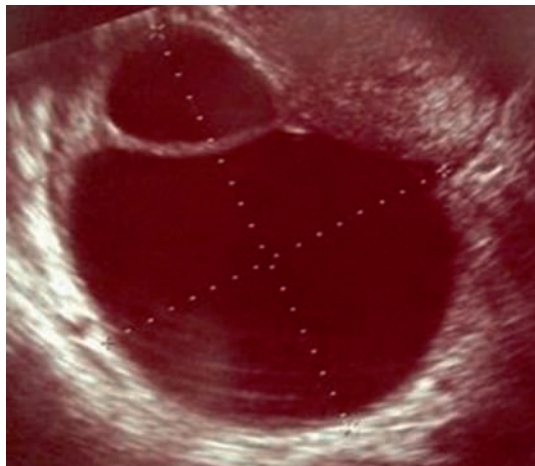
**Ryc. 1.** Torbielowato-lity guz jajnika o nieregularnych zarysach, o wymiarach 43×28 mm. W badaniu kolorowym dopplerem bogate unaczynienie guza. Obraz ultrasonograficzny złośliwego guza przydatków wg IOTA

**Fig. 1.** Solid-cystic ovarian mass with irregular margins and the size of 43×28 mm. Color Doppler examination shows increased blood flow. According to IOTA, the ultrasound image presents a malignant adnexal tumor



**Ryc. 2.** Niskooporowy przepływ (RI=0,33) w ścianie pękniętego guza torbielowatego przydatków

**Fig. 2.** Low-resistance flow (RI=0.33) in the wall of the ruptured cystic adnexal tumor



**Ryc. 3.** Gładkościenna torbiel dwukomorowa jajnika o wymiarach 58×68 mm. Obraz ultrasonograficzny niezłośliwego guza przydatków wg IOTA

**Fig. 3.** A bilocular cyst of the ovary with smooth walls and the dimensions of 58×68 mm. According to IOTA, the ultrasound image presents a non-malignant adnexal tumor



**Ryc. 4.** Wielotorbielowaty guz z polami litymi o nieregularnych zarysach, o średnicy około 200 mm, uwidoczniiony w badaniu ultrasonograficznym przezbrzusznym. W badaniu kolorowym dopplerem bez cech unaczynienia. Niejednoznaczny wynik ultrasonograficzny guza przydatków wg IOTA

**Fig. 4.** Polycystic tumor with solid components of irregular margins and the diameter of about 200 mm visualized in a transabdominal ultrasound examination. Color Doppler scan does not present any features of vascularization. According to IOTA, ultrasound findings are unclassifiable

traktowano jako niejednoznaczny, jeśli cechy „M” i „B” wystąpiły jednocześnie lub w ogóle nie wystąpiły (reguła 3.) (ryc. 4)<sup>(7)</sup>. W następnej kolejności wyliczono cztery wskaźniki ryzyka obecności nowotworu złośliwego (RMI) opracowane przez różnych autorów: Jacobsa w 1990 r., Tingulstad w 1996 r., Tingulstad w 1999 r. i Yamamoto w 2009 r.<sup>(8-11)</sup> Wskaźniki te oparte są na trzech parametrach: ultrasonograficznym (U), statusie menopauzalnym (M) i stężeniu markera CA 125 wyrażonym w jednostkach na mililitr. Wskaźnik ultrasonograficzny (U) obejmuje pięć parametrów (do każdej stwierdzonej cechy przyporządkowany jest jeden punkt).

provided by various authors: Jacobs in 1990, Tingulstad in 1996, Tingulstad in 1999 and Yamamoto in 2009<sup>(8-11)</sup>. These indices are based on three parameters: ultrasound parameter (U), menopausal status (M) and CA 125 concentration expressed in units per milliliter. The ultrasound parameter (U) encompasses five characteristic features (each detected feature is given one score). These parameters constitute: multilocular cyst, presence of solid components within the lesion, evidence for metastases in ultrasound scan, ascites and bilateral character of lesions. The menopausal status was defined as amenorrhea lasting

Parametrami tymi są: obecność torbieli wielokomorowej, obecność pola litego w obrębie zmiany, obecność przerzutów w badaniu ultrasonograficznym, wodobrzusze i obustronność zmian. Stan pomenopauzalny określano jako brak miesiączki od co najmniej roku lub wiek 50 lat i więcej u pacjentek, u których wcześniej wykonano wycięcie macicy. Stężenie CA 125 w surowicy jest używane bezpośrednio we wszystkich formularzach obliczania RMI. Wartość RMI stanowi wynik następującego równania:  $RMI = U \times M \times CA\ 125^{(8-11)}$ . Wg formuły RMI I opracowanej przez Jacobsa i wsp. parametr U może mieć następujące wartości: U=0 (liczba punktów 0), gdy nie stwierdza się żadnej wymienionej wcześniej cechy; U=1 (liczba punktów 1), gdy stwierdza się jedną cechę; U=3 (liczba punktów 2–5), gdy liczba stwierdzonych cech jest równa lub większa od 2. Parametr M może mieć wartość: M=1, w przypadku pacjentki przed menopauzą, lub M=3, w przypadku pacjentki po menopauzie<sup>(8)</sup>. W formule RMI II wg Tingulstad i wsp. U=1 (liczba punktów 0–1), gdy nie stwierdza się żadnej lub tylko jedną z wymienionych cech; U=4 (liczba punktów 2 i więcej), gdy występują dwie lub większa liczba cech. Parametr M może mieć wartość: M=1, w przypadku pacjentki przed menopauzą, lub M=4, w przypadku pacjentki po menopauzie<sup>(9)</sup>. W formule RMI III wg Tingulstad i wsp. U=1 (liczba punktów 0–1), gdy nie stwierdza się żadnej lub tylko jedną spośród wymienionych cech; U=3 (liczba punktów 2 i więcej), gdy występują dwie lub większa liczba cech. Parametr M przyjmuje wartość: M=1, w przypadku pacjentki przed menopauzą, lub M=3, w przypadku pacjentki po menopauzie<sup>(10)</sup>. Formuła RMI IV wg Yamamoto i wsp. obejmuje dodatkowy element ultrasonograficzny w postaci największego wymiaru guza przydatków (S), a wartość RMI IV stanowi wynik następującego równania:  $RMI = U \times M \times CA\ 125 \times S$ . W tej formule U=1 (liczba punktów 0–1), gdy nie stwierdza się żadnej lub tylko jedną spośród wymienionych cech; U=4 (liczba punktów 2 i więcej), gdy występują dwie lub większa liczba cech. Parametr M ma wartość: M=1, w przypadku pacjentki przed menopauzą, lub M=4, w przypadku pacjentki po menopauzie. W tej formule S=1, gdy największy wymiar guza jest mniejszy niż 7 cm, lub S=2, gdy największy wymiar guza ma 7 cm i więcej<sup>(11)</sup>.

Ze względu na dużą liczbę badanych parametrów nie ma ścisłych wartości progowych tych czterech wskaźników. Zgodnie z piśmiennictwem w naszej pracy dla wskaźnika RMI I–III przyjęto, że wartość od 0 do 200 świadczy o zmianie niezłośliwej, a powyżej 200 – o zmianie złośliwej, natomiast dla RMI IV wartość od 0 do 500 i powyżej 500 świadczą odpowiednio o zmianie niezłośliwej i złośliwej<sup>(8-11)</sup>. Ostateczne rozpoznanie guzów przydatków ustalano na podstawie badania histopatologicznego materiału pooperacyjnego. Stopień zaawansowania nowotworów złośliwych określano na podstawie klasyfikacji FIGO. W analizie statystycznej guzy o granicznej złośliwości włączono do zmian złośliwych. Wykonano analizę czujności, czułości i wartości predykcji pozytywnej i negatywnej wskaźników ryzyka nowotworu złośliwego i metody prostych reguł ultrasonograficznych. Używano testu U celem analizy statystycznej korelacji stężenia CA 125 z rodzajem guzów przydatków oraz używano testu niezależności chi<sup>2</sup> w celu analizy statystycznej pacjentek z różnymi guzami przydatków w stosunku do wieku, statusu menopauzalnego, punktów ultrasonograficznych oraz wymiarów guza.

at least a year and the age of 50 and more in patients with the history of hysterectomy. The serum CA 125 concentration is used directly in all models of RMI calculation. RMI value constitutes the product of the following equation:  $RMI = U \times M \times CA\ 125^{(8-11)}$ . According to the RMI I system created by Jacobs *et al.*, the U parameter may have the following values: U=0 (score: 0) when no features mentioned above are present; U=1 (score: 1) when one feature is found; U=3 (score: 2–5) when the number of detected features is equal or greater than 2. The M parameter may have the following values: M=1 in the case of pre-menopausal patients or M=3 in the case of post-menopausal patients<sup>(8)</sup>. According to the RMI II system proposed by Tingulstad *et al.*: U=1 (score: 0–1) when only one or none of the features are present; U=4 (score: 2 and more) when there are two or more features. The M parameter may have the following values: M=1 in the case of pre-menopausal patients or M=4 in the case of post-menopausal patients<sup>(9)</sup>. According to the RMI III system proposed by Tingulstad *et al.*: U=1 (score: 0–1) when only one or none of the features are present; U=3 (score: 2 and more) when there are two or more features. The M parameter has the following values: M=1 in the case of pre-menopausal patients or M=3 in the case of post-menopausal patients<sup>(10)</sup>. The RMI IV system put forward by Yamamoto *et al.* includes one additional ultrasound element. Namely, the greatest diameter of the adnexal tumor (S). Thus, the RMI IV value is the product of the following equation:  $RMI = U \times M \times CA\ 125 \times S$ . According to this system: U=1 (score: 0–1) when only one or none of the features are present; U=4 (score: 2 and more) when there are two or more features. The M parameter has the following values: M=1 in the case of pre-menopausal patients or M=4 in the case of post-menopausal patients. Finally, the parameter S=1 when the greatest size of the tumor is lower than 7 cm or S=2 when the greatest size of the tumor constitutes 7 cm or more<sup>(11)</sup>.

Due to the large number of analysed parameters, there are no exact threshold values for these four indices. According to the references quoted herein, it was assumed that the values between 0–200 in RMI I–III indices attested to a non-malignant lesion and the values above 200 – to a malignant one. In RMI IV, however, the values between 0–500 and more than 500 are attested to non-malignant and malignant lesions respectively<sup>(8-11)</sup>. The final diagnosis of adnexal masses was determined on the basis of post-operative histopathological examinations. The stage of malignant neoplasms was determined on the basis of the FIGO classification. In the statistical analysis, the tumors of borderline malignancy were considered malignant. The conducted analyses concerned the specificity, sensitivity as well as positive and negative predictive values of the risk of malignancy indices and the method of simple ultrasound-based rules. The Mann-Whitney U test was used in order to conduct statistical analysis of the correlation of CA 125 concentration with the types of adnexal tumors. The chi-squared test of independence was used for the statistical analysis of the patients with various tumors in relation to age, menopausal status, ultrasound score and tumor size.

Ocena USG US assessment	Wynik histopatologiczny Histopathological findings			
	Niezłośliwe (n=70) Non-malignant (n=70)		Złośliwe (n=17) Malignant (n=17)	
	N	%	N	%
Zmiana niezłośliwa Non-malignant lesion	63	90,00	1	5,88
Zmiana niejednoznaczna Inconclusive finding	6	8,57	5	29,41
Zmiana złośliwa Malignant lesion	1	1,43	11	64,71

Tab. 1. Rodzaje zmian nowotworowych wg kryteriów IOTA

Tab. 1. Types of neoplastic lesions according to IOTA

## Wyniki

Grupę badaną stanowiło 87 kobiet w wieku od 17 do 79 lat, średnio 44,5 roku (SD=16,6 roku). U 70 (80,5%) pacjentek wykryto niezłośliwe zmiany przydatków, a u 17 (19,5%) – złośliwe. Wśród zmian złośliwych stwierdzono 7 (41,2%) przypadków torbielakogruczolakoraka surowiczego, 3 (17,6%) guzy przerzutowe z przewodu pokarmowego, 3 (17,6%) przypadki guzów o granicznej złośliwości oraz po jednym przypadku (5,9%) torbielakogruczolakoraka śluzowego, raka jajowodu, raka mieszanego i raka niezróżnicowanego. Stopień zaawansowania nowotworów złośliwych wg FIGO przedstawiał się następująco: I stopień – 7 (41,2%), III stopień – 6 (35,3%), IV stopień – 1 (5,9%) przypadek. Trzy przypadki (17,6%) dotyczyły nowotworów złośliwych pochodzących z przewodu pokarmowego.

Analiza statystyczna wykazała, że czułość prostych metod ultrasonograficznych wg IOTA w przedoperacyjnej ocenie guzów przydatków wyniosła 64,71%, a swoistość – 90,00%, natomiast wartość predykcji zmian złośliwych i niezłośliwych odpowiednio 91,67% i 98,44%. W tab. 1 przedstawiono klasyfikację guzów przydatków wg IOTA, według której określono powyższe wskaźniki statystyczne.

W następnym etapie sprawdzono, czy kobiety z różnymi rodzajami zmian w przydatkach różniły się wiekiem, statusem menopauzalnym, punktami ultrasonograficznymi oraz wymiarami guza. W tab. 2 przedstawiono uzyskane wyniki.

Analiza powyższych parametrów wykazała, że istnieje statystycznie istotna różnica pomiędzy grupą pacjentek z niezłośliwymi i złośliwymi guzami przydatków względem wieku, statusu menopauzalnego, punktów ultrasonograficznych oraz wymiarów guza. Wśród pacjentek ze zmianami niezłośliwymi i złośliwymi średni wiek wynosił odpowiednio 41,2 i 57,6 roku. W grupie pacjentek ze zmianami niezłośliwymi było 50 (71,43%) kobiet w okresie przedmenopauzalnym i 20 (28,57%) pacjentek w okresie pomenopauzalnym, w porównaniu z 3 (17,65%) i 14 (82,35%) pacjentkami ze zmianami złośliwymi. Analiza reguły Jacoba wykazała, że wśród pacjentek ze zmianami niezłośliwymi 27 (38,57%) miało 0 punktów, 19 (27,14%) – 1 punkt, a 24 (34,29%) – 2–5 punktów. Z kolei w grupie

## Results

The examined group comprised 87 women aged between 17 and 79, the mean age was 44.5 (SD=16.6). In 70 subjects (80.5%), non-malignant adnexal lesions were detected and 17 patients (19.5%) were diagnosed with a malignant tumor. The malignancies included: 7 cases (41.2%) of serous cystadenocarcinoma, 3 cases (17.6%) of metastatic tumors from the gastrointestinal tract, 3 cases (17.6%) of borderline tumors as well as one case of mucinous cystadenocarcinoma, fallopian tube carcinoma, mixed carcinoma and undifferentiated carcinoma (5.9%). The stages of the malignancies according to FIGO classification were as follows: stage I – 7 cases (41.2%), stage III – 6 cases (35.3%), stage IV – 1 case (5.9%). Three cases (17.6%) were related to malignant neoplasms which originated in the gastrointestinal tract.

The statistical analysis showed that in the preoperative assessment of adnexal masses, the sensitivity of simple ultrasound parameters according to IOTA constituted 64.71% and the specificity was on the level of 90.00%. The predictive values of malignant and non-malignant lesions were 91.67% and 98.44% respectively. Tab. 1 presents the classification of adnexal tumors according to IOTA which was the basis for the estimation of the aforementioned statistical data.

The subsequent stage of the study aimed at determining whether the patients with various types of lesions differed in age, menopausal status, ultrasound score and tumor size. The obtained results are presented in tab. 2.

The analysis of the aforementioned parameters demonstrated that there is a statistically significant difference concerning age, menopausal status, ultrasound score and tumor size between the groups of patients with non-malignant and malignant adnexal tumors. The mean age of the patients with non-malignant and malignant tumors constituted 41.2 and 57.6 respectively. The group of subjects with non-malignant masses encompassed 50 premenopausal patients (71.43%) and 20 postmenopausal patients (28.57%). In comparison, the group with malignant lesions, encompassed 3 (17.65%) and 14 (82.35%) pre- and postmenopausal patients respectively. The analysis of Jacobs rule demonstrated that among the patients with benign lesions 27 (38.57%) scored 0,

Badany parametr <i>Parameter in question</i>	Rodzaj guza (histopatologia) <i>Type of tumor (histopathology)</i>				Chi <sup>2</sup> , poziom p Chi <sup>2</sup> , p level
	Niezłośliwe <i>Non-malignant</i>		Złośliwe <i>Malignant</i>		
	N	% grupy <i>% of the group</i>	N	% grupy <i>% of the group</i>	
<b>Wiek (lata)</b> <i>Age (years)</i>					
Do 20 lat <i>Below 20</i>	4	5,71	0	0,00	chi <sup>2</sup> (3)=18,16, p<0,001
21–40 lat	38	54,29	2	11,76	
41–50 lat	8	11,43	0	0,00	
Powyżej 50 lat <i>Above 50</i>	20	28,57	15	88,24	
<b>Status menopauzalny</b> <i>Menopausal status</i>					
Przed menopauzą <i>Before menopause</i>	50	71,43	3	17,65	chi <sup>2</sup> (1)=16,82, p<0,001
Po menopauzie <i>After menopause</i>	20	28,57	14	82,35	
<b>Punkty ultrasonograficzne</b> <i>Ultrasound score</i>					
0 pkt	27	38,57	0	0,00	chi <sup>2</sup> (2)=15,29, p<0,001
1 pkt	19	27,14	3	17,65	
2–5 pkt	24	34,29	14	82,35	
<b>Największy wymiar guza</b> <i>Greatest tumor size</i>					
<7 cm	53	75,71	4	23,53	chi <sup>2</sup> (1)=15,93, p<0,001
>7 cm	17	24,29	13	76,47	

**Tab. 2.** Wiek, status menopauzalny, punkty ultrasonograficzne oraz wymiary guza w grupie badanych kobiet

**Tab. 2.** Age, menopausal status, ultrasound score and tumor size in the examined group

Zmiana <i>Lesion</i>	Średnia <i>Average</i>	Minimalne stężenie <i>Minimal concentration</i>	Maksymalne stężenie <i>Maximal concentration</i>	SD	Test U i poziom p <i>U Test and p level</i>
Niezłośliwa <i>Non-malignant</i>	36,95	2,5	160,0	39,56	Z=4,51, p<0,001
Złośliwa <i>Malignant</i>	418,32	13,8	1767,0	560,07	

**Tab. 3.** Statystyki opisowe dla stężenia CA 125 w zależności od rodzaju zmiany

**Tab. 3.** Statistical data for CA 125 concentration in relation to the type of lesion

pacjentek ze zmianami złośliwymi u wszystkich punktacja przekraczała 0 – 3 pacjentki (17,65%) miały 1, a 14 (82,35%) – 2–5 punktów. Analiza stężenia markera CA 125 wykazała, że u kobiet ze złośliwą zmianą nowotworową jego poziom był wyższy niż u kobiet z guzem niezłośliwym. W tym celu przeprowadzono analizę testem U Manna-Whitneya. W tab. 3 przedstawiono statystyki opisowe z przeprowadzonej analizy.

W tab. 4–7 przedstawiono wyniki przewidywania rodzaju zmiany nowotworowej na podstawie parametrów RMI I, II, III i IV.

19 (27.14%) scored 1 and 24 (34.29%) scored 2–5. In the group with malignant tumors, on the other hand, all patients' scores exceeded 0. Three subjects (17.65%) scored 1 and 14 (82.35%) scored 2–5. The analysis of CA 125 concentration level, showed that its level was higher in the women with malignant tumors than in those with benign lesions. Here, the Mann-Whitney U test was applied. Tab. 3 presents the statistical data obtained in this analysis.

Tabs. 4–7 present the results of predicting the type of neoplastic lesion on the basis of the parameters in RMI I, II, III and IV.



Rodzaj guza wg RMI I <i>Type of tumor according to RMI I</i>	Rodzaj guza (badanie histopatologiczne) <i>Type of tumor (histopathology)</i>			
	Niezłośliwy <i>Non-malignant</i>		Złośliwy <i>Malignant</i>	
	N	%	N	%
Niezłośliwy <i>Non-malignant</i>	62	88,57	2	11,76
Złośliwy <i>Malignant</i>	8	11,43	15	88,24

Tab. 4. Ocena zmian nowotworowych wg testu RMI I

Tab. 4. Evaluation of neoplastic lesions according to RMI I

Rodzaj guza wg RMI II <i>Type of tumor according to RMI II</i>	Rodzaj guza (badanie histopatologiczne) <i>Type of tumor (histopathology)</i>			
	Niezłośliwy <i>Non-malignant</i>		Złośliwy <i>Malignant</i>	
	N	%	N	%
Niezłośliwy <i>Non-malignant</i>	57	81,43	2	11,76
Złośliwy <i>Malignant</i>	13	18,57	15	88,24

Tab. 5. Ocena zmian nowotworowych wg testu RMI II

Tab. 5. Evaluation of neoplastic lesions according to RMI II

Rodzaj guza wg RMI III <i>Type of tumor according to RMI III</i>	Rodzaj guza (badanie histopatologiczne) <i>Type of tumor (histopathology)</i>			
	Niezłośliwy <i>Non-malignant</i>		Złośliwy <i>Malignant</i>	
	N	%	N	%
Niezłośliwy <i>Non-malignant</i>	61	87,14	2	11,76
Złośliwy <i>Malignant</i>	9	12,86	15	88,24

Tab. 6. Ocena zmian nowotworowych wg testu RMI III

Tab. 6. Evaluation of neoplastic lesions according to RMI III

Wynik testu wg RMI IV <i>Test result according to RMI IV</i>	Rodzaj guza (badanie histopatologiczne) <i>Type of tumor (histopathology)</i>			
	Niezłośliwy <i>Non-malignant</i>		Złośliwy <i>Malignant</i>	
	N	%	N	%
Niezłośliwy <i>Non-malignant</i>	66	94,29	3	17,65
Złośliwy <i>Malignant</i>	4	5,71	14	82,35

Tab. 7. Ocena zmian nowotworowych wg testu RMI IV

Tab. 7. Evaluation of neoplastic lesions according to RMI IV

Analiza testem niezależności  $\chi^2$  wykazała istotne statystyczne różnice wyniku testu RMI I:  $\chi^2(1)=38,43$ ,  $p<0,001$ ; RMI II:  $\chi^2(1)=27,31$ ,  $p<0,001$ ; RMI III:  $\chi^2(1)=35,22$ ,  $p<0,001$ ; RMI IV:  $\chi^2(1)=44,40$ ,  $p<0,001$ . Wszystkie indeksy wykazywały podobną czułość diagnostyczną. Wśród nich RMI IV charakteryzował się najwyższą swoistością i wartością predykcji zmian złośliwych. Z kolei RMI I wykazywał najwyższą wartość predykcji

The chi-squared test of independence has shown statistically significant differences of the RMI I test:  $\chi^2(1)=38.43$ ,  $p<0.001$ ; RMI II:  $\chi^2(1)=27.31$ ,  $p<0.001$ ; RMI III:  $\chi^2(1)=35.22$ ,  $p<0.001$ ; RMI IV:  $\chi^2(1)=44.40$ ,  $p<0.001$ . All the indices demonstrated a similar diagnostic sensitivity. RMI IV was characterized by the highest specificity and predictive value in the case of malignant lesions. RMI I, on the other hand, demonstrated the highest predictive value



RMI	Czułość <i>Sensitivity</i>	Swoistość <i>Specificity</i>	PPV	NPV	Dokładność oszacowania <i>Estimation accuracy</i>
RMI I	88,24	88,57	65,22	96,88	88,51
RMI II	88,24	81,43	53,57	96,61	82,76
RMI III	88,24	87,14	62,50	96,83	87,36
RMI IV	82,35	94,29	77,78	95,65	91,95

PPV – wartość predykcji pozytywnej; NPV – wartość predykcji negatywnej.  
PPV – *positive predictive value*; NPV – *negative predictive value*.

Tab. 8. Porównanie wyników RMI u pacjentek z guzami przydatków

Tab. 8. Comparison of RMI in the patients with adnexal tumors

zmian niezłośliwych. W tab. 8 przedstawiono szczegółowe podsumowanie wyników wartości diagnostycznej poszczególnych testów RMI.

## Omówienie

Klasyfikacja guzów przydatków wg IOTA i za pomocą wskaźników ryzyka obecności nowotworu złośliwego (RMI) jest prostą metodą diagnostyczną przedoperacyjnego różnicowania zmian złośliwych i niezłośliwych przydatków, która może być zastosowana w warunkach ambulatoryjnych<sup>(12)</sup>. Różnicowanie tych guzów tylko na podstawie jednego ultrasonograficznego schematu diagnostycznego ze względu na subiektywnizm tej oceny, wynikającej przede wszystkim z doświadczenia badającego, cechuje się często niewystarczającą swoistością i wartością prognozy negatywnej, co utrudnia kwalifikację do odpowiedniego postępowania<sup>(13)</sup>. Z kolei stężenie markera CA 125 w surowicy obciążone jest dużą liczbą błędów fałszywie pozytywnych, również obniżających swoistość tego badania<sup>(14)</sup>. Możliwość wykluczenia zmian złośliwych przydatków ma kluczowe znaczenie przede wszystkim u młodych pacjentek, które chcą zachować zdolność rozrodczą. U takich pacjentek możliwe jest leczenie zachowawcze lub minimalnie inwazyjne<sup>(15)</sup>. Z drugiej strony pacjentki z podejrzeniem zmiany złośliwej powinny być po starannym planowaniu leczone radykalnie, co stanowi podstawowy czynnik prognostyczny i rokowniczy wpływający na przeżycie 5-letnie<sup>(16)</sup>. U tych kobiet odpowiedni plan chirurgiczny, m.in. laparotomia, cięcie proste ułatwiające dokonanie pełnego „stagingu”, może zmniejszyć jatrogenne ryzyko podwyższenia stopnia zaawansowania nowotworu złośliwego wg FIGO poprzez np. śródoperacyjne pęknięcia tych guzów przydatków<sup>(17)</sup>. W związku z tym istnieje konieczność opracowania takiej metody diagnostycznej, która w okresie przedoperacyjnym możliwie najdokładniej szacowałaby ryzyko obecności nowotworu złośliwego. Uważa się, że tylko wieloparametryczna ocena pozwala uściślić rozpoznanie w tych trudnych przypadkach. Wydaje się, że włączenie do ultrasonograficznego algorytmu diagnostycznego indeksu ryzyka złośliwości RMI wpisuje się w całości w te potrzeby. Jak wynika z naszych badań, wskaźniki RMI wykazywały dużą czułość w wykrywaniu zmian złośliwych. Wśród nich najlepszą swoistość i wartość predykcji zmian złośliwych miał RMI IV. Z kolei RMI I cechował się najwyższą wartością

w przypadku zmian łagodnych. Tab. 8 przedstawia szczegółowe podsumowanie wartości diagnostycznej dla poszczególnych RMI.

## Discussion

The classification of tumors according to IOTA and by means of risk of malignancy indices (RMI) is a simple diagnostic method of preoperative discrimination between malignant and benign adnexal masses. It may be performed in ambulatory conditions<sup>(12)</sup>. The differentiation of such lesions on the basis of one ultrasound model frequently presents insufficient levels of specificity and negative prognostic value. This results from the subjectivity of the examination and is related to the examiner's experience. Consequently, such results prevent the classification of the patients to appropriate type of treatment<sup>(13)</sup>. The serum concentration of CA 125 is in turn burdened by a large number of false positive errors which also decrease the specificity of the test<sup>(14)</sup>. The possibility to exclude malignant adnexal lesions is of vital importance especially for young patients who wish to conserve their reproductive capacity. Conservative treatment or minimally invasive procedures are possible in such patients<sup>(15)</sup>. On the other hand, the patients with the suspicion of malignancies should be treated radically after careful treatment planning. Such radical actions influence the basic prognostic factor determining 5-year survival<sup>(16)</sup>. A proper surgical plan, among others laparotomy and midline vertical incision, which facilitates complete staging, may decrease the iatrogenic risk of increasing FIGO stage by, for instance, intraoperative rupture of the adnexal tumor<sup>(17)</sup>. Therefore, it is crucial to establish a diagnostic method enabling precise risk estimation of the presence of a malignant tumor in a preoperative period. It is believed that only multiparametric assessment allows for precise diagnosis in these difficult cases. It seems that the incorporation of the risk of malignancy index (RMI) into the ultrasound algorithm fully satisfies these needs. The presented research shows that RMI indices demonstrated high sensitivity in detecting malignant lesions. Out of the assessed indices, the highest specificity and predictive value of malignant lesions was provided by RMI IV. RMI I, in turn, was characterized by the highest value in diagnosing benign lesions. The false positive results were detected in 8 (11.43%), 13 (18.57%), 9 (12.86%) and 4 (5.71%) patients with benign lesions according to RMI I-IV respectively.

wykrywania zmian niezłośliwych. Według wskaźników RMI I–IV wyniki fałszywie dodatnie stwierdzono odpowiednio u 8 (11,43%), 13 (18,57%), 9 (12,86%) i 4 (5,71%) pacjentek ze zmianami niezłośliwymi. Czułość prostych reguł ultrasonograficznych była nieco niższa w porównaniu ze wskaźnikami RMI. W naszym badaniu wyniki ultrasonograficzne były niejednoznaczne w 5 przypadkach, w tym w 3 torbielakogruczolakoraka surowiczego oraz w jednym torbielakogruczolakoraka śluzowego i guza granicznego. Jak widać, mimo coraz doskonalszej aparatury ultrasonograficznej guzy przydatków nadal stanowią istotną trudność diagnostyczną. Dotyczy to przede wszystkim zmian złośliwych we wczesnym stopniu zaawansowania, a więc grupy, w której maksymalne uściślenie przedoperacyjnego rozpoznania pozwala wdrożyć odpowiednie postępowanie. To z kolei w istotny sposób wpływa na rokowanie i poprawia wyniki leczenia raka jajnika. Wieloparametryczna ocena ultrasonograficzna, jak wynika z naszego opracowania, może stanowić podstawę do przedoperacyjnego różnicowania guzów przydatków. Z drugiej strony musimy pamiętać, że wyniki badań ultrasonograficznych trzeba uważnie interpretować, najlepiej z całością obrazu klinicznego popartego wywiadem, a szczególnie onkologicznym, z wynikiem stężenia innych markerów nowotworowych i w razie potrzeby innych metod obrazowych, takich jak tomografia komputerowa i obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego<sup>(18,19)</sup>.

### Konflikt interesów

*Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.*

### Piśmiennictwo/References

- Radosa MP, Camara O, Vorwergk J, Diebold H, Winzer H, Mothes A *et al.*: Preoperative multimodal strategies for risk assessment of adnexal masses: analysis of 1362 cases in a gynecologic cancer center. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1056–1062.
- Kuhn E, Kurman RJ, Shih IM: Ovarian cancer is an imported disease: fact or fiction? *Curr Obstet Gynecol Rep* 2012; 1: 1–9.
- Guzel AI, Kuyumcuoglu U, Erdemoglu M: Adnexal masses in postmenopausal and reproductive age women. *J Exp Ther Oncol* 2011; 9: 167–169.
- Guerriero S, Testa AC, Timmerman D, Van Holsbeke C, Ajossa S, Fischerova D *et al.*: Imaging of gynecological disease (6): clinical and ultrasound characteristics of ovarian dysgerminoma. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 37: 596–602.
- Walker K, Jayaprakasan K, Raine-Fenning NJ: Ultrasound in benign gynaecology. *Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine* 2007; 17: 33–44.
- Timmerman D, Valentin L, Bourne TH, Collins WP, Verrelst H, Vergote I; International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) Group: 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.
- 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* 2008; 31: 681–690.
- Jacobs I, Oram D, Fairbanks J, Turner J, Frost C, Grudzinskas JG: A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound and menopausal status for the accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer. *Br J Obstet Gynaecol* 1990; 97: 922–929.
- Tingulstad S, Hagen B, Skjeldestad FE, Onsrud M, Kiserud T, Halvorsen T *et al.*: Evaluation of a risk of malignancy index based on serum CA125, ultrasound findings and menopausal status in the pre-operative diagnosis of pelvic masses. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103: 826–831.
- Tingulstad S, Hagen B, Skjeldestad FE, Halvorsen T, Nustad K, Onsrud M: The risk-of-malignancy index to evaluate potential ovarian cancers in local hospitals. *Obstet Gynecol* 1999; 93: 448–452.
- Yamamoto Y, Yamada R, Oguri H, Maeda N, Fukaya T: Comparison of four malignancy risk indices in the preoperative evaluation of patients with pelvic masses. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009; 144: 163–167.
- Wang LM, Song H, Song X, Zhou XB: An improved risk of malignancy index in diagnosis of adnexal mass. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125: 533–535.
- Bast RC Jr, Skates S, Lokshin A, Moore RG: Differential diagnosis of a pelvic mass: improved algorithms and novel biomarkers. *Int J Gynecol Cancer* 2012; 22 Suppl 1: S5–S8.
- Escudero JM, Auge JM, Filella X, Torne A, Pahisa J, Molina R: Comparison of serum human epididymis protein 4 with cancer antigen 125 as a tumor marker in patients with malignant and nonmalignant diseases. *Clin Chem* 2011; 57: 1534–1544.
- Partheen K, Kristjansdottir B, Sundfeldt K: Evaluation of ovarian cancer biomarkers HE4 and CA-125 in women presenting with a suspicious cystic ovarian mass. *J Gynecol Oncol* 2011; 22: 244–252.
- Stany MP, Maxwell GL, Rose GS: Clinical decision making using ovarian cancer risk assessment. *AJR Am J Roentgenol* 2010; 194: 337–342.
- Smorgick N, Barel O, Halperin R, Schneider D, Pansky M: Laparoscopic removal of adnexal cysts: is it possible to decrease inadvertent intraoperative rupture rate? *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200: 237.e1–237.e3.
- Freydanck MK, Laubender RP, Rack B, Schuhmacher L, Jeschke U, Scholz C: Two-marker combinations for preoperative discrimination of benign and malignant ovarian masses. *Anticancer Res* 2012; 32: 2003–2008.
- Grigsby PW: Role of PET in gynecologic malignancy. *Curr Opin Oncol* 2009; 21: 420–424.