

## WID<sup>®</sup>-easy Test

**Epigenetischer Test zur Detektion des Endometriumkarzinoms bei peri- und postmenopausalen Frauen mit abnormalen vaginalen Blutungen.**

Bei 90% der Frauen mit Endometriumkarzinom (EC) tritt eine abnormale Blutung als Hauptsymptom auf. Allerdings kann in nur 3% der peri- und postmenopausalen Blutungsfälle das Endometriumkarzinom als Ursache festgestellt werden.<sup>1</sup> Die aktuelle S3-Leitlinie<sup>2</sup> empfiehlt subjektive Verfahren wie klinische Untersuchungen, Zytologie und transvaginale Ultraschalluntersuchungen zur Differentialdiagnose bei ungewöhnlicher Blutung.<sup>3</sup> Der transvaginale Ultraschall weist eine hohe Rate an falsch-positiven Ergebnissen auf, was dazu führt, dass die meisten Frauen, die sich einem operativen diagnostischen Eingriff unterziehen, tatsächlich kein Endometriumkarzinom haben.

Der WID<sup>®</sup>-easy Test bietet die Möglichkeit, diese Situation zu verbessern und rasch zu einer Diagnose zu kommen. Der Test zeigt eine vergleichbare Sensitivität im Vergleich zum transvaginalen Ultraschall, reduziert jedoch die Rate falsch-positiver Ergebnisse um 94 %.<sup>1</sup>

Das Endometriumkarzinom ist das häufigste gynäkologische Malignom<sup>2</sup> (mehr als doppelt so häufig wie Zervixkarzinom) und die Inzidenz steigt rapide an.<sup>4</sup> In Österreich erkranken jedes Jahr etwa 1.000 Frauen neu an Gebärmutterkörperkrebs, wovon etwa 200 Frauen daran versterben.<sup>5</sup> Es gibt bisher kein etabliertes Screeningverfahren für diese Krebsart.

Von allen gynäkologischen Malignomen hat eine verzögerte Diagnose eines Endometriumkarzinoms die drastischsten negativen Auswirkungen auf die Überlebensrate.<sup>6</sup> Eine frühzeitige und präzise Diagnose des Endometriumkarzinoms ist deshalb von entscheidender Bedeutung.

### Risikofaktoren

Als wichtiger Risikofaktor für Endometriumkarzinom gilt eine langfristig erhöhte Östrogenkonzentration. Frauen mit Zyklusstörungen, spätere Menopause, Kinderlosigkeit oder bestimmten Hormonersatztherapien haben ein erhöhtes Risiko an Gebärmutterkörperkrebs zu erkranken.

Außerdem können Übergewicht, Bluthochdruck oder Diabetes mellitus Typ 2 das Tumorrisiko erhöhen. Bekannt ist, dass Fettleibigkeit die Östrogenproduktion steigert. Ob eine Gefährdung durch Phytoöstrogene (östrogenartige Substanzen in Nahrungsmitteln) besteht, ist bisher nicht geklärt. Gesichert ist aber, dass eine Hormontherapie ausschließlich mit Östrogenen das Risiko sehr deutlich erhöht.

## Hohe falsch-positiv Rate in der bisherigen Diagnostik

Die aktuelle S3-Leitlinie<sup>2</sup> empfiehlt subjektive und erfahrungsabhängige Verfahren wie klinische Untersuchungen, Zytologie und transvaginale Ultraschalluntersuchungen zur Abklärung abnormaler Blutung.

Die Sensitivität der Zytologie für die Detektion des Endometriumkarzinoms ist unzureichend, mit 45% bei symptomatischen Frauen<sup>7</sup> und nur 26 % bei asymptomatischen Frauen, die bis zu drei Jahre vor der Diagnose einen PAP-Test durchgeführt haben.<sup>3</sup>

Die transvaginale Sonographie misst die Endometriumsdicke, wobei eine Dicke von mehr als 3 mm bei postmenopausalen Frauen als pathologisch angesehen wird.<sup>2</sup> Die Spezifität dieses Maßes variiert zwischen 25,7 %<sup>11</sup> und 42,1 %<sup>10</sup>. Dies bedeutet, dass viele Frauen, die sich einer operativen diagnostischen Untersuchung unterziehen, kein Karzinom aufweisen.

Vor diesem Hintergrund ist die Entwicklung eines Tests zur verbesserten Diagnose des Endometriumkarzinoms von großer Bedeutung. Dieser Test ist einfach durchzuführen, ermöglicht objektive und schnelle automatisierte Auswertungen, weist eine Sensitivität vergleichbar mit dem Ultraschall auf und bietet gleichzeitig eine erheblich gesteigerte Spezifität (weniger falsch-positive Ergebnisse).

## Das Prinzip des Tests

Der WID<sup>®</sup>-easy Test (in wissenschaftlicher Literatur als „WID-qEC“ bezeichnet) wurde in der Forschungsgruppe von Prof. Dr. Martin Widschwendter an renommierten Universitäten und Instituten (University College London, Karolinska-Institut Schweden, EUTOPS-Institut der Universität Innsbruck) entwickelt<sup>8</sup>.

Für die Durchführung des WID<sup>®</sup>-easy Tests wird der Patientin zuerst ein Zervikovaginalabstrich entnommen und ans Labor geschickt, wo die DNA isoliert und Bisulfit-modifiziert wird.

Der WID<sup>®</sup>-easy Test analysiert den Methylierungsstatus zweier DNA-Regionen der Gene *ZSCAN12* und *GYPC* mit Hilfe einer quantitativen real-time PCR. Diese beiden Zielregionen zeigen eine erhöhte Methylierung in Gegenwart von Endometriumkarzinomen, sind jedoch bei deren Abwesenheit nicht methyliert (Abbildung 1). Eine weitere Genregion des *COL2A1*-Gens dient als Referenz- und interne Kontrollregion. Der PMR-Wert ("Prozentsatz der vollständig methylierten Referenz") wird für beide Zielregionen (*ZSCAN12* und *GYPC*) berechnet und das Testergebnis wird als  $\Sigma$ PMR der beiden PMR-Werte berichtet.<sup>9</sup>

## Keine Methylierung

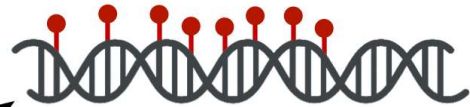
nachgewiesen in den untersuchten DNA-Regionen



Kein Krebs

## Methylierung

nachgewiesen in den untersuchten DNA-Regionen



Krebs

DNA

**Abbildung 1: Das Prinzip des WID<sup>®</sup>-easy Tests:** Der WID<sup>®</sup>-easy Test misst den Methylierungsstatus von DNA-Regionen, von denen bekannt ist, dass sie bei Gebärmutterkörperkrebs unterschiedlich stark methyliert sind.

### Deutlich verbesserte Spezifität dank WID<sup>®</sup>-easy Test

Dank dieses neuen Testverfahrens können die bei der Sonografie häufig auftretenden falsch positiven Ergebnisse erheblich reduziert werden. Die Studienergebnisse zum WID<sup>®</sup>-easy Test überzeugen, sodass die Patientinnen besser diagnostiziert, früher behandelt sowie unnötige Eingriffe und Gesundheitskosten reduziert werden können.

Eine mit über 700 Zervixabstrichen durchgeführte Studie zeigte, dass der epigenetische Test eine ähnliche Sensitivität wie Ultraschall bot, aber eine signifikant höhere Spezifität im Vergleich zur qualitativen Ultraschallbewertung aufwies. Die Erkennung von Endometriumkarzinomen schien in den hier untersuchten Kohorten nicht von Histologie, Grad, Stadium, Alter, Ethnizität und Menopausenstatus abzuhängen. Frühe Stadien des Endometriumkarzinoms und auch nicht-endometrioide Karzinome können dank WID<sup>®</sup>-easy verlässlich erkannt werden. Vor allem seröse Endometriumkarzinome können mit einer Sensitivität von 97% erkannt werden.<sup>11</sup> Zudem ist die Sensitivität des WID<sup>®</sup>-easy Tests der Zytologie deutlich überlegen und auch endozervikale Karzinome können damit leichter detektiert werden.<sup>10</sup>

In einer weiteren Studie wurde der Test in einer Kohorte von Frauen  $\geq 45$  Jahren mit abnormaler Blutung validiert. Von den 474 symptomatischen Frauen stimmten 400 (84,4 %) der Teilnahme an der Studie zu. Der transvaginale Ultraschall alleine war bei 62 % der Patientinnen aussagekräftig, während 38 % der Patientinnen zusätzliche bildgebende Tests benötigten. Bei 47 % der Frauen wurde eine histologische Abklärung empfohlen, wobei bei 3 % Karzinome diagnostiziert wurden. WID<sup>®</sup>-easy zeigte eine Sensitivität von 91 % und eine hohe Spezifität von 97 %, während der Ultraschall eine Sensitivität von 91 % und eine geringere Spezifität von 46 % aufwies. Interessanterweise wurden zwei Karzinome durch die Hysteroskopie und Abrasio nicht erkannt (erst in weiterer Folge durch Hysterektomie oder Biopsie einer Lebermetastase), während der WID<sup>®</sup>-easy-Test positiv war.<sup>1</sup>

# WID<sup>®</sup>-easy

## Vergleich von Ultraschall und WID<sup>®</sup>-easy Test

Zusammenfassend zeigt sich, dass unter Berücksichtigung der aktuellen Richtlinien<sup>2</sup> und unter optimaler sonographischer Diagnostik bei 100 Frauen in der Altersgruppe von  $\geq 45$  Jahren, die aufgrund abnormaler Blutungen vorstellig werden, etwa 56 Frauen einer operativen diagnostischen Abklärung unterzogen werden müssen, um 3 Karzinome zu identifizieren. Im Gegensatz dazu müssen bei Anwendung von WID<sup>®</sup>-easy nur etwa 6 Frauen mit einem positiven Testergebnis einer diagnostischen Operation unterzogen werden, um die 3 Karzinome zu identifizieren. Folglich wird die Rate falsch positiver Ergebnisse durch WID<sup>®</sup>-easy um 94% reduziert (Abbildung 2).<sup>1</sup>



**Abbildung 2: Ultraschall versus WID<sup>®</sup>-easy Test:** Dargestellt ist die Leistung des Ultraschall (Endometriumsdicke  $> 3$  mm) und des WID<sup>®</sup>-qEC Tests bei 100 Frauen  $\geq 45$  Jahren, welche sich mit abnormer Blutung vorstellen (adaptiert aus Evans et al., 2023<sup>1</sup>).

## Indikation und Handlungsempfehlung

Die Auswertung aller derzeit verfügbaren Daten zeigt, dass der WID<sup>®</sup>-easy-Test bei Frauen ( $\geq 45$  Jahre) mit abnormalen Blutungen indiziert ist. Frauen mit einem positiven WID<sup>®</sup>-easy-Testergebnis sollten sich so schnell wie möglich einer histologischen Diagnose unterziehen, um eine ggf. notwendige Behandlung nicht unnötig zu verzögern. Frauen mit einem negativen WID<sup>®</sup>-easy-Ergebnis können zunächst konservativ behandelt und mittels Ultraschall überwacht werden. Falls erforderlich, kann auch eine Wiederholung des WID<sup>®</sup>-easy-Tests in Betracht gezogen werden.

## Befundinformation

Das Testergebnis wird als  $\Sigma$  PMR der beiden Genregionen ausgegeben und die Interpretation erfolgt entsprechend Evans et al., 2023, THE LANCET Oncology,<sup>1</sup> wie folgt:

$\Sigma$  PMR < 0,03 = Negativ.

$\Sigma$  PMR  $\geq$  0,03 und < 0,3 = Schwache Methylierung nachweisbar, engmaschige Kontrolle sowie Wiederholung des Tests in 3-4 Wochen empfohlen.

$\Sigma$  PMR  $\geq$  0,3 = Positiv.

## Präanalytik

In Form eines Abstrichs (Testkit Copan) soll eine Probe des Sekrets um die Zervix und aus dem hinteren Scheidengewölbe genommen werden. Die Probenentnahme für den WID<sup>®</sup>-easy Test erfolgt:

- ⊙ ohne (oder sehr sparsame) Verwendung von Gleitmittel.
- ⊙ ohne vorherige Reinigung der Scheide, da die Tumor-DNA sich im Scheidensekret befindet.
- ⊙ vor der Probenentnahme für einen anderen Test, z.B. für einen PAP-Abstrich.
- ⊙ vor dem Einbringen einer anderen Substanz in die Scheide oder in die Nähe des Gebärmutterhalses, z.B. Essigsäure zur visuellen Inspektion (VIA).
- ⊙ vor dem transvaginalen Ultraschall.
- ⊙ oder frühestens drei Tage nach diesen Maßnahmen.

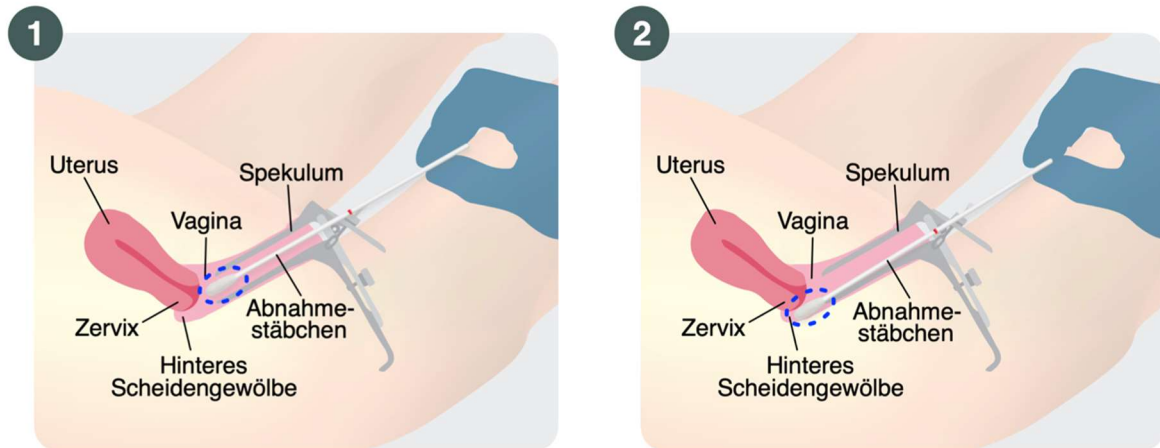
Wichtig ist, dass – im Gegensatz zur Abnahme des PAP-Abstrichs – mit dem Probenentnahmematerial nicht kraftvoll an der Zervix gerieben wird (es sind nicht die zervikalen Zellen von Interesse), sondern das Abnahmestäbchen das Sekret um die Zervix und aus dem hinteren Scheidengewölbe aufnimmt.

Bedingungen, die den Abfluss von Tumor-DNA aus der Gebärmutterhöhle in die Scheide einschränken, wie große endozervikale Polypen oder Myome, können die Empfindlichkeit des Tests beeinträchtigen. In diesem Falle bitte diese Diagnose am Überweisungsschein notieren.

## Anleitung Probennahme

- 1) Führen Sie das Spekulum (idealerweise ohne oder mit nur sehr wenig Gleitmittel) ein, um den Gebärmutterhals und das hintere Scheidengewölbe sichtbar zu machen.
- 2) Führen Sie das Abnahmestäbchen in die Scheide ein und entnehmen Sie zunächst eine Probe im oberen Scheidenbereich, nahe der Zervix (siehe Graphik 1 in Abbildung 3).
- 3) Halten Sie das Abnahmestäbchen in dieser Position und drehen Sie es langsam einmal um 360 Grad (2-3 Sekunden lang).
- 4) Führen Sie das Abnahmestäbchen in das hintere Scheidengewölbe ein, wie in Graphik 2 der Abbildung 3 dargestellt.
- 5) Auch hier halten Sie das Abnahmestäbchen in Position und drehen es langsam um 360 Grad für 2-3 Sekunden.

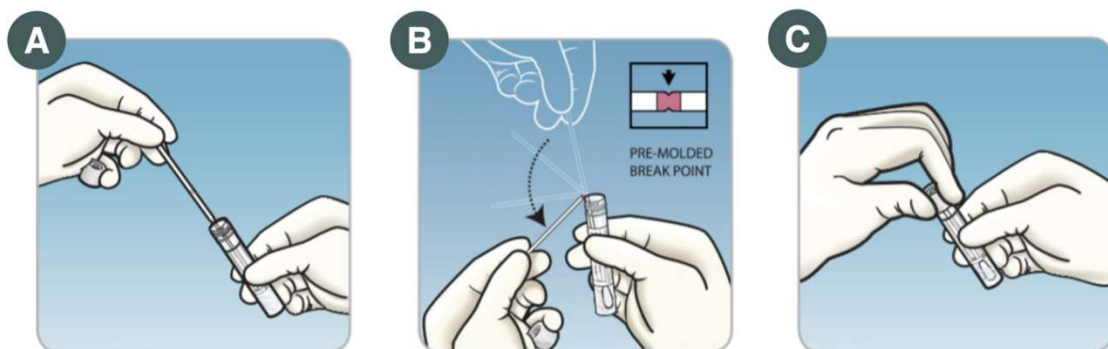
# WID<sup>®</sup>-easy



**Abbildung 3: Optimale Positionen für die Probennahme**

Graphik 1- im oberen Scheidenbereich; Graphik 2 - im Bereich des hinteren Scheidengewölbes.

- 6) Entfernen Sie das Abnahmestäbchen aus der Scheide.
- 7) Schrauben Sie die Kappe vom eNAT<sup>®</sup>-Röhrchen ab.
- 8) Führen Sie das Abnahmestäbchen in das Röhrchen ein, bis die Sollbruchstelle (rote Markierung) die Höhe der Röhrchenöffnung erreicht (Graphiken A und B in Abbildung 4).
- 9) Biegen Sie den Schaft des Abnahmestäbchens in einem Winkel von 180 Grad, um es an der Sollbruchstelle zu brechen, wobei Sie das Röhrchen vom Gesicht weghalten (Graphik B in Abbildung 4). Falls erforderlich, drehen Sie den Schaft des Abnahmestäbchens vorsichtig, um den Bruch zu erleichtern. Entsorgen Sie den oberen Teil des Stäbchens.
- 10) Setzen Sie die Kappe wieder auf das Röhrchen und verschließen Sie es fest (Graphik C in Abbildung 4).
- 11) Durchmischen Sie das Röhrchen 10-mal durch eine Drehbewegung um 180 Grad und lagern Sie die Probe für mindestens 5 Minuten aufrecht bei Raumtemperatur.
- 12) Lagern Sie die Probe bei Raumtemperatur 2 - 25°C, bis sie an das Labor geschickt wird.
- 13) Die Analyse im Labor sollte innerhalb von 7 Tagen nach Abnahme erfolgen.



**Abbildung 4: Überführung der Probe in das eNAT<sup>®</sup>-Röhrchen**

## Literatur

- 1 Evans I, Reisel D, Jones A, Bajrami A, Nijjar S, Solangon SA, Arora R, Redl E, Schreiberhuber L, Ishaq-Parveen I, Rothärmel J, Herzog C, Jurkovic D, Widschwendter M. Performance of the WID-qEC test versus sonography to detect uterine cancers in women with abnormal uterine bleeding (EPI-SURE): a prospective, consecutive observational cohort study in the UK. *Lancet Oncol.* 2023; 24(12):1375-1386. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(23\)00466-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(23)00466-7)
- 2 Emons G, Steiner E, Vordermark D, Uleer C, Paradies K, Tempfer C, Aretz S, Cremer W, Hanf V, Mallmann P, Ortmann O, Römer T, Schmutzler RK, Horn LC, Kommoss S, Lax S, Schmoeckel E, Mokry T, Grab D, Reinhardt M, Steinke-Lange V, Brucker SY, Kiesel L, Witteler R, Fleisch MC; Heinrich Prömpeler † 25; Friedrich M, Höcht S, Lichtenegger W, Mueller M, Runnebaum I, Feyer P, Hagen V, Juhasz-Böss I, Letsch A, Niehoff P, Zeimet AG, Battista MJ, Petru E, Widhalm S, van Oorschot B, Panke JE, Weis J, Dauelsberg T, Haase H, Beckmann MW, Jud S, Wight E, Prott FJ, Micke O, Bader W, Reents N, Henscher U; Reina Tholen † 52; Schallenberg M, Rahner N, Mayr D, Kreissl M, Lindel K, Mustea A, Strnad V, Goerling U, Bauerschmitz GJ, Langrehr J, Neulen J, Ulrich UA, Nothacker MJ, Blödt S, Follmann M, Langer T, Wenzel G, Weber S, Erdogan S. Endometrial Cancer. Guideline of the DGGG, DKG and DKH (S3-Level, AWMF Registry Number 032/034-OL, September 2022). Part 1 with recommendations on the epidemiology, screening, diagnosis and hereditary factors of endometrial cancer, geriatric assessment and supply Structures. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2023; 83(8):919-962. <https://doi.org/10.1055/a-2066-2051>
- 3 Frias-Gomez J, Tovar E, Vidal A, Murgui L, Ibáñez R, Peremiquel-Trillas P, Paytubi S, Baixeras N, Zanca A, Ponce J, Pineda M, Brunet J, de Sanjosé S, Bosch FX, Matias-Guiu X, Alemany L, Costas L; Screenwide Team. Sensitivity of cervical cytology in endometrial cancer detection in a tertiary hospital in Spain. *Cancer Med.* 2021; 10(19):6762-6766. <https://doi.org/10.1002/cam4.4217>
- 4 Clarke MA, Devesa SS, Harvey SV, Wentzensen N. Hysterectomy-corrected uterine corpus cancer incidence trends and differences in relative survival reveal racial disparities and rising rates of nonendometrioid cancers. *J Clin Oncol.* 2019; 37(22):1895-1908. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.00151>
- 5 Statistik Austria, Krebsstatistik, online abgerufen am 12.2.2024 unter <https://www.statistik.at/statistiken/bevoelkerung-und-soziales/gesundheit/krebserkrankungen>
- 6 Sud A, Torr B, Jones ME, Broggio J, Scott S, Loveday C, Garrett A, Gronthoud F, Nicol DL, Jhanji S, Boyce SA, Williams M, Riboli E, Muller DC, Kipps E, Larkin J, Navani N, Swanton C, Lyratzopoulos G, McFerran E, Lawler M, Houlston R, Turnbull C. Effect of delays in the 2-week-wait cancer referral pathway during the COVID-19 pandemic on cancer survival in the UK: a modelling study. *Lancet Oncol.* 2020; 21(8):1035-1044. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30392-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30392-2)
- 7 Frias-Gomez J, Benavente Y, Ponce J, Brunet J, Ibáñez R, Peremiquel-Trillas P, Baixeras N, Zanca A, Piulats JM, Aytés Á, Matias-Guiu X, Bosch FX, de Sanjosé S, Alemany L, Costas L; Screenwide Team. Sensitivity of cervico-vaginal cytology in endometrial carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Cytopathol.* 2020; 128(11):792-802. <https://doi.org/10.1002/cncy.22266>
- 8 Herzog C, Marín F, Jones A, Evans I, Reisel D, Redl E, Schreiberhuber L, Paytubi S, Pelegrina B, Carmona Á, Peremiquel-Trillas P, Frias-Gomez J, Pineda M, Brunet J, Ponce J, Matias-Guiu X, de Sanjosé S, Alemany L, Olaitan A, Wong M, Jurkovic D, Crosbie EJ, Rosenthal AN, Bjørge L, Zikan M, Dostalek L, Cibula D, Sundström K, Dillner J, Costas L, Widschwendter M. A Simple cervicovaginal epigenetic test for screening and rapid triage of women with suspected endometrial cancer: Validation in several cohort and case/control Sets. *J Clin Oncol.* 2022; 40(33):3828-3838. <https://doi.org/10.1200/JCO.22.00266>
- 9 Redl et al., 2024 <https://analyticalscience.wiley.com/content/article-do/hochdurchsatz-implementation-des-wid-qec-tests>
- 10 Schreiberhuber, L., Herzog, C., Vavourakis, C. D., Redl, E., Kastner, C., Jones, A., Evans, I., Zikan, M., Cibula, D., Widschwendter, P., Pfau, K., Math, B., Seewald, M., Amory, S., Obrist, P., & Widschwendter, M. (2023). The WID-qEC test: Performance in a hospital-based cohort and feasibility to detect endometrial and cervical cancers. *Int J Cancer*, 152(6), 1269-1274. <https://doi.org/10.1002/ijc.34275>
- 11 Herzog C, Marín F, Jones A, Evans I, Reisel D, Redl E, Schreiberhuber L, Paytubi S, Pelegrina B, Carmona Á, Peremiquel-Trillas P, Frias-Gomez J, Pineda M, Brunet J, Ponce J, Matias-Guiu X, de Sanjosé S, Alemany L, Olaitan A, Wong M, Jurkovic D, Crosbie EJ, Rosenthal AN, Bjørge L, Zikan M, Dostalek L, Cibula D, Sundström K, Dillner J, Costas L, Widschwendter M. A Simple cervicovaginal epigenetic test for screening and rapid triage of women with suspected endometrial cancer: Validation in several cohort and case/control Sets. *J Clin Oncol.* 2022; 40(33):3828-3838. <https://doi.org/10.1200/JCO.22.00266>
- 12 Redl et al., 2024 <https://analyticalscience.wiley.com/content/article-do/hochdurchsatz-implementation-des-wid-qec-tests>