

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**OVERİN SERÖZ BORDERLİNE TÜMÖRÜ VE SERÖZ KAR-
SİNOMLARINDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK
PINCH-1(LIMS-1) EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ONUR ERTUNÇ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ÖZLEM ERDEM**

**ANKARA
OCAK 2015**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**OVERİN SERÖZ BORDERLINE TÜMÖRÜ VE SERÖZ KAR-
SİNOMLARINDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK
PINCH-1(LIMS-1) EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ONUR ERTUNÇ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ÖZLEM ERDEM**

**ANKARA
OCAK 2015**

TEŞEKKÜRLER

Asistanlığım süresi boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak yetişmemde büyük katkıları bulunan değerli hocalarım, Prof. Dr. Ömer Uluoğlu, Prof. Dr. Leyla Memiş, Prof. Dr. Ayşe Dursun, Prof. Dr. Gülen Akyol, Prof. Dr. Aylar Poyraz, Prof. Dr. Nalan Akyürek, tez danışmanım Prof. Dr. Özlem Erdem'e, Doç. Dr. İpek Işık Gönül, Doç. Dr. Güldal Esendağlı, Yrd. Doç. Dr. Özgür Ekinci, Yrd. Doç. Dr. Pınar Uyar Göçün ve daima birlikte çalışmaktan gurur duyduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma, tüm laboratuvar personeline, ilgilerini ve sevgilerini her daim hissettiğim sevgili anneciğim Mücella Ertunç ve babacığım Yakup Ertunç'a; ayrıca istatistiki anlamda benden bilgisini ve yardımını esirgemeyen Halk Sağlığı AD Arş. Gör. Dr. Önder Aydemir'e en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Onur Ertunç

İÇİNDEKİLER

Teşekkürler	i
İçindekiler	ii
Kısaltmalar	iii
Tablo Listesi	v
Şekil Listesi	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Over Tümörleri Epidemiyolojisi, Etyolojisi ve Risk Faktörleri	2
2.2 Over Tümörleri Patogenezi	5
2.3 Over Tümörlerinin Sınıflandırılması	9
2.4 Over Tümörlerinin TNM ve FIGO Evrelemesi	12
2.5 Over Seröz Tümörleri	15
2.6 Over Tümörlerinde Prognostik Parametreler	33
2.7 PINCH	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1 Olguların seçilmesi	40
3.2 Dokuların Histopatolojik Değerlendirilmesi	40
3.3 İmmunhistokimyasal boyanma	41
3.4 İmmunhistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi	43
3.5 İstatistiksel Değerlendirme	43
4. BULGULAR	45
4.1 Seçilen Hastaların Tümör, Demografik ve Parametrik Özellikleri	45
4.2 İmmünhistokimyasal Bulgular	51
4.2.1 PINCH Ekspresyon Patterni	51
5. TARTIŞMA	68
6. SONUÇ	81
7. ÖZET	83
8. SUMMARY	84
9. KAYNAKLAR	86

KISALTMALAR

FIGO	Uluslararası Jinekoloji ve Onkoloji Federasyonu
CEA	Karsinoembriyonik Antijen
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
PINCH	Particularly Interesting Cys-His Rich Protein (Özellikle İlginç Cys-His Açısından Zengin Bir Protein)
BCL-2	B-Hücreli Lenfoma-2
PrE	Primitif Endodermal Hücreler
JNK	c-Jun Amino-Terminal kinaz
ILK	İntegrin Link Kinase (intraseküler serin/treonin protein kinaz)
GFR	Büyüme Faktörü Reseptörü
bba(hpf)	Büyük Büyütme Alanı (High Power Field)
STIC	Seröz Tubal İntraepitelyal Karsinom
SBT	Seröz Borderline Tümör
APST	Atipik Proliferatif Seröz Tümör
LGSC	Düşük Dereceli Seröz Karsinom
HGSC	Yüksek Dereceli Seröz Karsinom
MPSC	Mikropapiller Seröz Karsinom
CCC	Şeffaf Hücreli Karsinom
MC	Müsinöz Karsinom
EC	Endometriod Karsinom
BRCA	Meme-Over Kanseri Sendromu Geni
HNPCC	Hereditör Nonpolipozis Kolorektal Kanseri
MSI	Mikrosatellit İstabilitesi
USA	Amerika Birleşik Devletleri
UK	Bileşik Krallık
KRAS	Kirstein Rat Sarkom Onkogeni
BRAF	V-Raf Murine Sarkom Viral Onkogen Homoloğu B
TP53	Kromozom 17p13.1 Tümör Protein 53 Geni

WT1	Wilms Tümör-1 Geni
P16/CDKN2A	Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörü (Protein 16)
CK	Sitokeratin
CEA	Karsinoembriyonik Antijen
BER-EP4 (EPCAM)	Epitelyal Hücre Adezyon Molekülü
İHK	İmmünohistokimya
ECM	Ekstrasellüler Matriks
CIC	Kortikal İnklüzyon Kisti
GÜTF	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
STD	Standart Deviasyon
PPLND	Pelvik Paraaortik Lenf Nodu Diseksiyonu
RTK	Reseptör Tirozin Kinaz
MAPK	Mitojen Aktive edici Protein Kinaz
GOG	Jinekolojik Onkoloji Grubu

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1.	Over Kanserinde Subgruplarda Ortalama Yaş	4
Tablo 2.2.	Tip 1 ve Tip 2 Over Karsinomu Prekürsörleri ve Moleküler Özellikleri	8
Tablo 2.3.	Overin Yüzey Epitelyal Tümörleri	10
Tablo 2.4.	TNM VE FIGO Klasifikasyonu(figo 2013)	12
Tablo 2.5.	Over Tümörleri Tipleri, Sıklığı Ve Yaş Aralığı	15
Tablo 2.6.	İnvaziv ve Noninvaziv Peritoneal İmplantları Ayıran Morfolojik Özellikler	22
Tablo 2.7.	Over Kanseri Tiplerinde İHK boyanma	33
Tablo 4.1	Tümör Tipi ve Tümör Derecesi	45
Tablo 4.2	Yaş, Tümör Boyutu, Kür Sayısı, FIGO Sınıflaması, Metastatik Lenf Nodu Sayısı ve CA125 Değerleri Arasındaki İlişki Durumu	50
Tablo 4.3.	PINCH Tümör Boyanma Yaygınlığına Göre Nüks İlişkisi	61
Tablo 4.4.	PINCH Tümör Boyanma Şiddetine Göre Tümör Tipi ile İlişkisi	62
Tablo 4.5.	PINCH Tümör Boyanma Şiddetine Göre FIGO İlişkisi	63
Tablo 4.6.	PINCH Tümör Boyanma Şiddetine Göre Uzak ve Yakın Visseral Yayılım ile İlişkisi	64
Tablo 4.7.	PINCH Peritümöral Stroma Boyanma Şiddetine Göre Over Kapsül İnvazyonu ile İlişkisi	65
Tablo 4.8.	PINCH Tümör Boyanma Şiddetine Göre Tümör Derecesi ile İlişkisi	66

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Dünya Over Kanseri İnsidansı (100000 kişi içinde)	3
Şekil 2.	Over epitelyal tümörlerinin şematik patogenezi	5
Şekil 3.	Dualistik Model Şematik Gösterimi	9
Şekil 4.	Seröz Kistadenom	17
Şekil 5.	Seröz Borderline Tümör (SBT), Düşük Dereceli Seröz Karsinom (LGSC) (<i>mikroskopi</i>)	25
Şekil 6.	Şematik LGSC patogenezi	27
Şekil 7.	Seröz Karsinom(<i>makroskopi</i>)	29
Şekil 8.	Bilateral Yüksek Dereceli Seröz Karsinom (<i>makroskopi</i>)	30
Şekil 9.	Yüksek Dereceli Seröz Karsinom (HGSC)(<i>mikroskopi</i>).	31
Şekil 10.	PINCH/ILK/PARVIN kompleksi	36
Şekil 11.	ILK/PINCH/Parvin kompleksi ve bağlantılı oldu ekstrasellüler ve intrasellüler domainler	38
Şekil 12.	SBT pT/FIGO dağılımı	47
Şekil 13.	Seröz karsinom pT ve FIGO dağılımı	47
Şekil 14.	Olguların FIGO evresi	48
Şekil 15.	PINCH ekspresyonunun 110 olgudaki yüzde olarak sıklığı.	52
Şekil 16.	Tümörde +1 Şiddetinde (zayıf) PINCH Pozitifliği (<i>mikroskopi</i>)	53
Şekil 17.	PINCH tümör boyanma yaygınlığının seröz borderline ve seröz karsinom olgularındaki dağılımı.	53
Şekil 18.	Streptavidin-biotin peroksidaz x200 büyütme, tümörde +2 şiddetinde (orta) PINCH pozitifliği (a ve b); peritümöral stromada +2 şiddetinde (orta) PINCH pozitifliği (yıldız, c ve d).	54
Şekil 19.	PINCH tümör boyanma şiddetinin seröz borderline ve seröz karsinom olgularındaki dağılımı.	54
Şekil 20.	Tümörde +3 Şiddetinde (kuvvetli) PINCH Pozitifliği, Peritümöral Stromada +3 Şiddetinde (kuvvetli) PINCH Pozitifliği (<i>mikroskopi</i>).	56
Şekil 21.	PINCH peritümöral stroma boyanma yaygınlığının seröz borderline ve seröz karsinom olgularındaki dağılımı.	57

Şekil 22. PINCH peritümöral stroma boyanma şiddeti seröz borderline ve seröz karsinom olgularındaki dağılımı.	57
Şekil 23. SBT ve SC olgularında nüks varlığı ve yokluğunun PINCH tümör boyanma yaygınlığına göre grafiği.	59
Şekil 24. PINCH tümör boyanma şiddetine göre FIGO'daki olgu dağılımı	60
Şekil 25. PINCH tümör boyanma şiddetine göre tümör derecesi olgu dağılımı	61

1. GİRİŞ

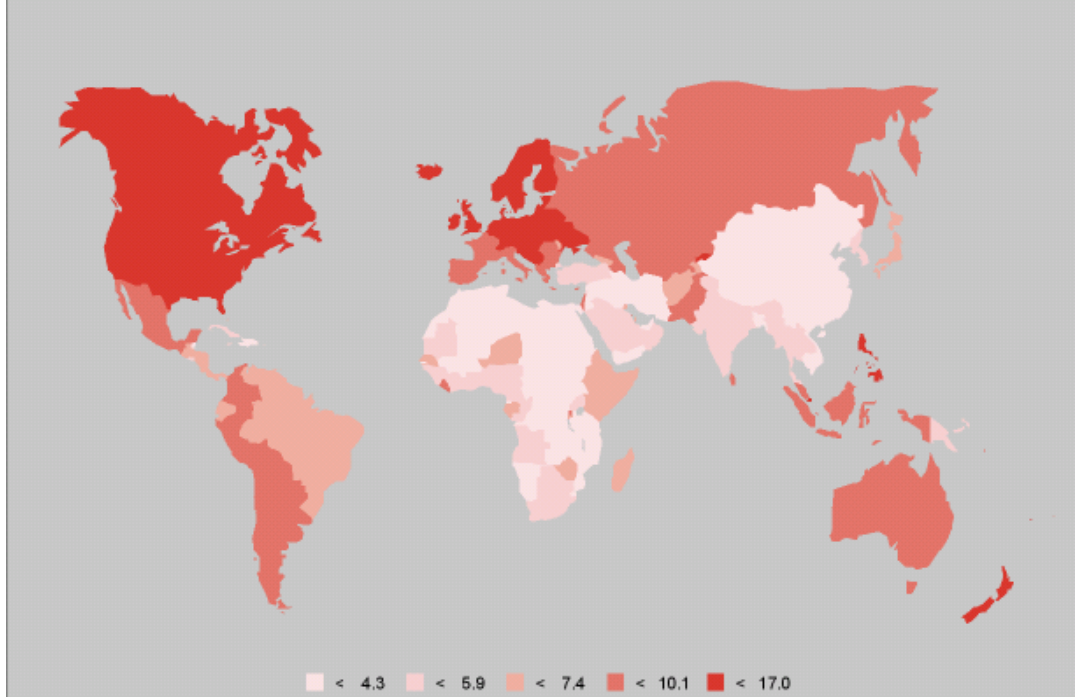
Bu çalışmada overin borderline ve malign tümörlerinde immünohistokimyasal olarak PINCH ekspresyonu ve prognostik faktörlerle ilişkisinin değerlendirilmesini hedefledik.

PINCH fokal adezyon proteini olup, ILK (integrin link kinaz) ile birleşip growth faktör reseptörünün (GFR) intrasellüler komponentlerinden birini oluşturur. Primitif endodermal (PrE) hücrelerin hayatta kalması için gereklidir (1). Literatürde PINCH'in tümör ve tümör ilişkili stromada kanser büyümesi ve invazyonundan sorumlu olduğunu gösteren veriler yer almaktadır (2). PINCH-1 kaybının PrE hücrelerde apoptotik mekanizmanın tetiğini çektiği bilinmektedir. Normal bir PrE hücrede bu mekanizma BCL-2 ilişkili sinyal yolağı, JNK bağımlı apoptozis'in inhibisyonu şeklinde işler (3). PINCH proteini (PINCH1 ve PINCH2) ekspresyonu memelilerde normal kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, mesane, testis, uterus, GIS, deri, iskelet kası ve yağ dokuları, timus ve dalak dokusunda olmakla birlikte (4), özellikle gastrointestinal sistem tümörleri, meme tümörleri, prostat, akciğer tümörlerinde ve malign mezotelyomada tümör stromasında PINCH ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (4)(5). Bu çalışmada borderline ve malign seröz over tümörlerinde tümör ve tümör stromasındaki PINCH ekspresyon değerlendirilmesi ve bunun prognostik faktörlerle ilişkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Literatürde seröz over tümörlerinde PINCH proteini ekspresyonu ve prognostik parametrelerle ilişkisi ile ilgili çalışma bulunmadığından bu çalışmanın literatüre katkısının olacağı düşünülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Over Tümörleri Epidemiyolojisi, Etyolojisi ve Risk Faktörleri

Over kanseri batı toplumlarında, kadınlardaki malignitelerin %3-4'ünü oluşturmaktadır. Over karsinomları jinekolojik malignensiler arasında en yüksek mortaliteye sahiptir. Her yıl dünya çapında ortalama 225.000 yeni olgu tanı almakta ve bunların 140.000 kadarı ölmektedir (6). Kadın genital sistem malignitelerinin %30'unu oluştururlar. Jinekolojik kanserler içinde endometrium kanserlerinden sonra 2. sıklıktadır. Doğum oranı düşük endüstriyel toplumlarda over kanseri görülme sıklığının daha fazla olduğu bildirilmektedir (7-9). Genel popülasyonda bir kadında ömür boyu over kanseri gelişme riski %1,6 iken, bu risk 1. derece akrabalarında over kanseri olan kadınlarda %5 olarak bildirilmektedir. Ayrıca BRCA1 ve BRCA2 mutasyonuna bağlı olarak gelişen herediter meme karsinomlu olgularda ve endometrium kanserli herediter nonpolipozis kolon kanseri gen defekti içeren (HNPCC, Lynch II)olgularda over karsinom gelişme riski daha da artmaktadır (10). Ömrü boyunca over kanseriyle karşılaşma oranları Japonya'da kısmen daha düşük olmak üzere %0,45, İsveç'te %1,7; USA, UK, Almanya ve İskandinavya'da 13/100.000 üzerinde; Gambia, Brazilya, Tayland, Hindistan ve Cezayir'de ise 5/100.000 olgunun altındadır. Dünya genelinde over kanseri 6. en sık izlenen tümör olup, kadınlarda kanserden ölümlerde 7. sırada yer almaktadır. Batı toplumlarında bu sıralama daha üst seviyelere çıkmaktadır(7-9).



Şekil 1. Dünya Over Kanseri İnsidansı (100000 kişi içinde) (11)

Over kaynaklı tümörlerin üçte ikisi reproduktif çağda izlenmekte olup, yaklaşık %80'i benigndir. Malign ve borderline tümörlerin %90'ı 4.dekad ve üzeri kadınlarda izlenmektedir. Over kaynaklı tümörlerinin %60'a yakını epitelyal tümörler olup % 30-50'si bilateralidir. Epitelial tümörler dışında, over tümörlerinin %30 kadarı germ hücreli tümörlerden ve %8 kadarıda sex-kord stromal tümörlerden oluşmaktadır. Over malignitelerinin %90'ı epitelyal maligniteler olup, seröz karsinomlar over malignitelerinin %60-80 oluşturmaktadır. Bunlar içinde de en sık yüksek dereceli seröz karsinom'a rastlanmakta olup, %50-70'i bilateralidir (10, 12-14).

Over kanserinin, diğer jinekolojik kanserlerden farklı olarak, hastaların hekime başvurmasına sebep olacak erken ve özgül belirtileri olmadığı için, hastaların 2/3'ünden fazlası FIGO Evre III-IV'de tanı almaktadır. Diğer

jinekolojik maligniteler içinde mortalite oranları bu yüzden de yükselmektedir. 5 yıllık overall survileri %45'ler civarındayken, ileri evre olgularda bu oran %10-28'ler civarına düşmektedir(10, 12).

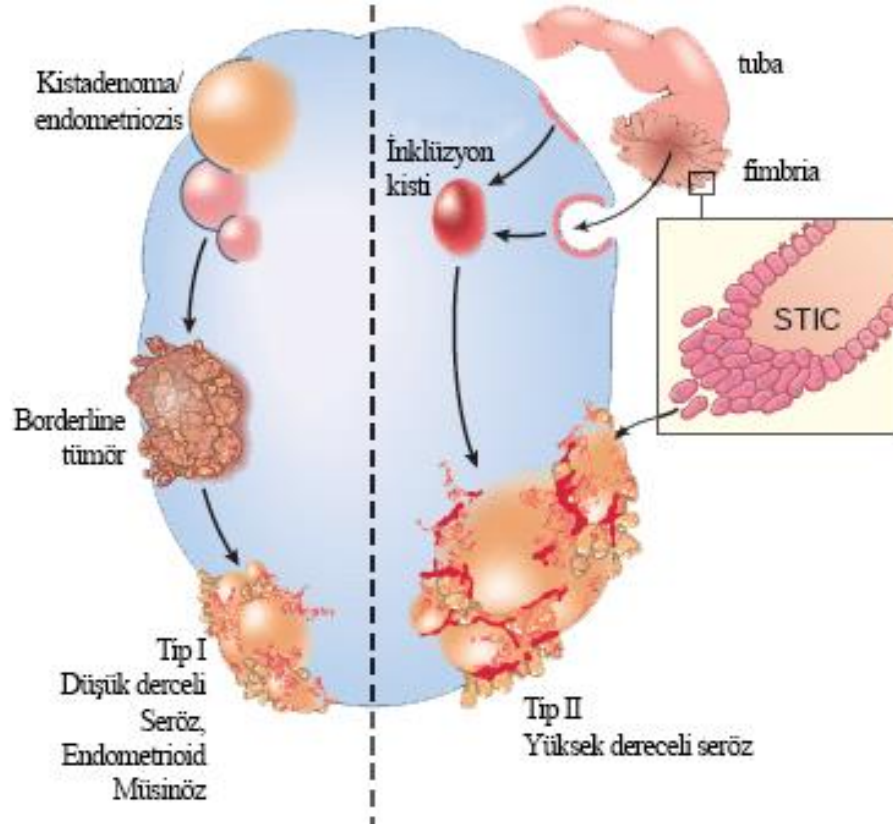
Overin borderline tümörleri en sık 4. dekatta tanı almaktadır. Malign over tümörleri ise genellikle en sık 45-65 yaş aralığında görülmektedir. Ortalama görülme yaşı herediter sendromlara ve over kanseri subgruplarına göre değişmektedir (Tablo 2.1).

Yüksek parite, OKS kullanımı, histerektomi, tubal ligasyon, bilateral salpingo-ooferektomi ve düşük yağlı diet ile beslenme over karsinomlarından koruyucu faktörler olarak bildirilirken; kalıtım – aile hikayesi, erken menarş – geç menapoz, nulliparite, yüksek sosyoekonomik düzey, ileri yaş, hormon replasman tedavisi, artmış ovulasyon, iyonize radyasyon, sigara, yüksek yağlı diet ve kronik salfenjitis karsinom gelişimi için yüksek risk faktörleri olarak sıralanmaktadır (9).

Tablo 2.1. Over Kanserinde Subgruplarda Ortalama Yaş(9)

Lynch syndrome II- ilişkili karsinom	40 yaş
İyi differansiye (mikropapiller) serözKarsinom	43-45 yaş
Endometriozis zemininde gelişmiş endometrioid karsinom	50 yaş
BRCA1-ilşkili karsinom	53 yaş
FIGO evre I karsinom	53 yaş
Şeffaf hücreli karsinom	50-53 yaş
Endometrioid karsinom	55-58 yaş
BRCA2-ilşkili karsinom	59 yaş
FIGO evre III yüksek dereceli seröz karsinom	59-64 yaş
Karsinosarcoma (malign mikst mullerian tümör (MMMT))	64-66 yaş

2.2 Over Tümörleri Patogenezi



Şekil 2. Over epitelyal tümörlerinin şematik patogenezi(15)

Overyan karsinogenez, malign transformasyon ve peritoneal disseminasyon olmak üzere iki faza ayrılabilir. Over yüzey epiteli (çölomik veya germinal epitel) peritoneal kaviteyi örten mezotel olarak devam eder. Bu iki yüzey epitelden gelişen tümörler histopatolojik olarak benzerlikler içerirler ve bir takım geçiş zonlarından gelişen tümörler (Özefagus ca, Serviks ca) gibi neoplazi gelişimine açıktırlar. Geleneksel over karsinogenez modelinde over yüzey epitelindeki ovulatuvar travmaya bağlı kortikal inklüzyon kistlerindeki (CIC) müllerian-tubal epitelyal metaplastik değişikliklerin neoplastik transformasyonla sonuçlandığı kabul edilir

(9). Ancak yakın dönemde özellikle BRCA mutasyonlu kadınlarda karsinom gelişme riskini azaltmak amacıyla yapılan profilaktik salpingo-ooforektomi materyallerindeki detaylı çalışmalar over yüzey epitelinden gelişen tümörlerin büyük çoğunluğunun fallop tüpü ile overin yakın pozisyonu nedeniyle fallop tüp epiteli kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle normal tuba epitelindeki TP53 mutasyon varlığının prekürsör lezyonu temsil ettiği ileri sürülmektedir(9, 16). Bu bulgular en azından olguların bir kısmındaklasik tümör gelişiminin overde başlayıp daha sonra sistemik yayılımla, pelvise, abdomene ve uzak organlara yayıldığı ve zaman içinde iyi differansiyeden az differansiye karsinoma ilerlediğine dair klasik karsinogenez görüşünün geçerli olmadığını düşündürmektedir.Klinikopatolojik ve moleküler genetik verilere dayanılarak geliştirilen yeni karsinogenez modeline göre over yüzey epiteli kaynaklı tümörler iki geniş kategoride incelenmektedir (*şekil 2 ve 3*):

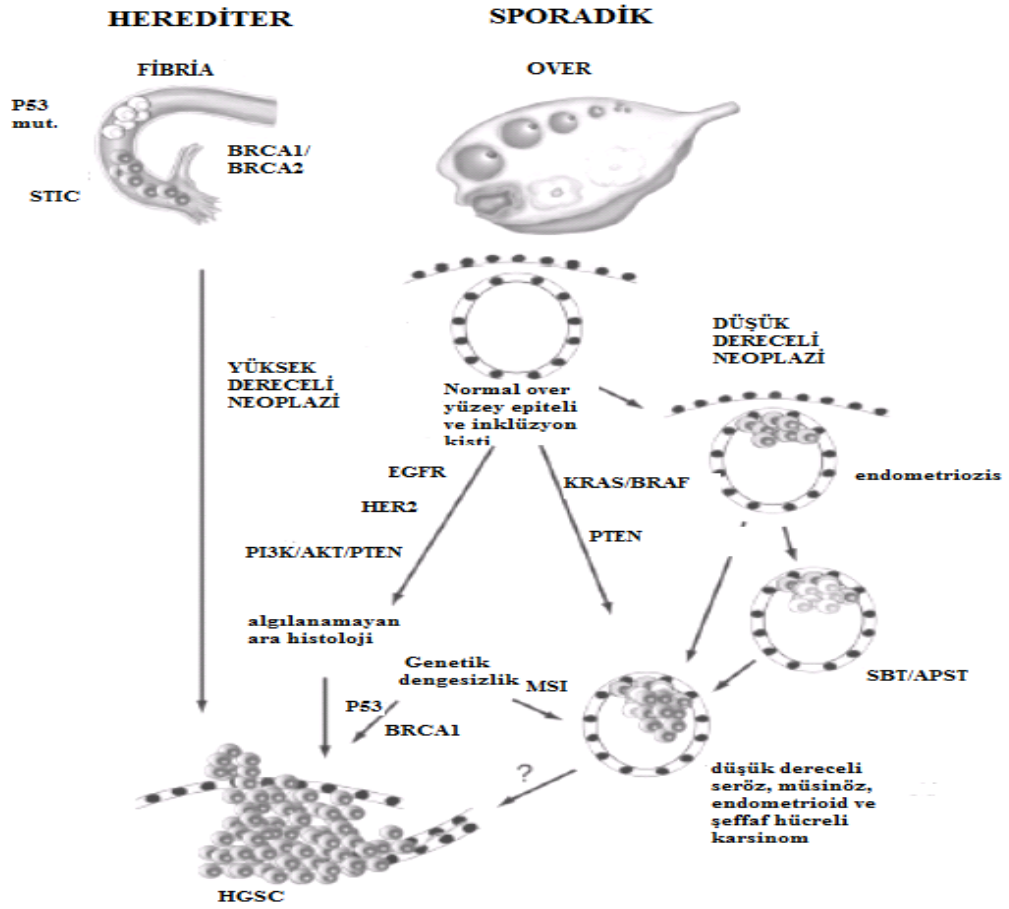
-Tip 1 tümörler: Bu grubu düşük dereceli, nispeten yavaş seyirli, iyi bilinen prekürsör lezyonlardan gelişen (atipik proliferatif, borderline tümör ve endometriozis) ve çoğu evre1 olan tümörler oluşturmaktadır. Düşük dereceli seröz karsinom (invaziv mikropapiller seröz karsinom (MPSC)/LGSC), düşük dereceli endometrioid ve müsinöz tümörler, malign brenner tümörü ve daha yüksek dereceli bir tümör olmasına rağmen şeffaf hücreli karsinom bu grupta yer almaktadır. Tip 1 tümörlerde protein kinaz kodlayan KRAS, BRAF, PIK3CA ve ERBB2 genlerinde hem de sinyal moleküllerini kodlayan PTEN ve CTNNB1(β katenin) genlerinde somatik mutasyonu mevcuttur (9, 17) .

-**Tip 2 tümörlerin** büyük çoğunluğunu ise yüksek dereceli seröz karsinomlar oluşturmaktadır. Agresif ve hızlı seyir gösteren maligniteler olup, TP53, BRCA ve genomik instabilitenin bu tip tümörlerin gelişiminde önemli rol oynadığını gösterilmiştir (9). Son çalışmalar yüksek dereceli seröz karsinomun tubal fimbrial intraepitelyal karsinomdan (seröz tubal intraepitelyal karsinom (STIC)) geliştiğini ileri sürmektedir (9). Bu tümörlerde STIC’te görülen TP53 mutasyonu ve aberran p53 protein ekspresyonu ile benzer mutasyonların olması bu görüşü destekler niteliktedir (18). P53 overekspresyonu seröz borderline tümörlerde (SBT) ve LGSC az sayıda olguda saptanmaktadır (9)(18)(19)(20). Özellikle tip 2 tümörler peritoneal disseminasyona yol açmaktave tümör volümünün çoğu over dışında yer almaktadır. Bu yüzden yüksek dereceli ekstrauterin seröz karsinomlar primer olarak fallop tübünden, overden ve daha az ihtimalle primer peritondan gelişmiş büyük kitleler olarak görülür. İleri evre olguların az bir kısmında primer tümör tespit edilebilmektedir. Yüksek dereceli seröz karsinom, tip 2 tümörlerin prototipi olmakla birlikte; yüksek dereceli endometrioid karsinom, karsinosarkom ve undifferansiye karsinom da bu grupta yer almaktadır (4, 21, 22).

Tip 1 ve Tip 2 Over karsinomu prekürsör lezyonları ve moleküler özellikleri Tablo 2.2’de, karsinogenez modeli ise Şekil 3’de özetlenmiştir.

Tablo 2.2. Tip 1 ve Tip 2 Over Karsinomu Prekürsörleri ve Moleküler Özellikleri (9, 22)

	Prekürsör lezyon	En sık mutasyon	Kromozom instabilitesi
TİP 1 tumor			
Düşük Dereceli Seröz CA (LGSC)	APST, noninvaziv MPSC	KRAS, BRAF	Düşük
Düşük Dereceli Endometrioid CA	Endometriozis	CTNNB1(â -katenin), PTEN	Düşük
Şeffaf Hücreli CA	Endometriozis	PIK3CA	Düşük
Müsinöz CA	APMT	KRAS	Düşük
TİP 2 tumor			
Yüksek Dereceli Seröz CA (HGSC)	Bilinmiyor, Tubal intraepitelyal lezyon	TP53	Yüksek
Yüksek Dereceli Endometrioid CA	Bilinmiyor	TP53	Yüksek
Undifferansiye CA	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
Karsinosarkom	Bilinmiyor	TP53	Bilinmiyor



Şekil 3. Dualistik model şematik gösterimi, Moleküler modele göre tip I karsinomlar PTEN, PIK3CA, KRAS ve CTNNB1 (β katenin) ve mikrosatellit instabilite (MSI) yollarındaki mutasyonlar sonucu gelişirken, Tip II karsinomların gelişiminde temel olarak p53 mutasyonu, heterozigosite kaybı ve Her2/neu amplifikasyonu rol oynamaktadır. (23)

2.3 Over Tümörlerinin Sınıflandırılması

Seröz karsinogenezdeki çalışmalar sonucunda, iki farklı tip karsinogenez mekanizması olduğunun tanımlanması yeni WHO (Dünya Sağlık Örgütü) sınıflamasında terminolojide değişikliklere neden olmuştur (Tablo 2.3). Buna göre malign over tümörleri LGSC ve HGSC olarak sınıflandırılmaktadır. Borderline tümörler ise seröz borderline tümör/ atipik proliferatif seröz tümör ve seröz

borderline tümör mikropapiller varyant/noninvaziv düşük dereceli seröz karsinom olarak ikiye ayrılmıştır. Noninvaziv olan bu tümörlerde sitolojik atipinin benign seröz tümörden fazla ancak LGSC'dan daha az olması kriter olarak alınmaktadır(14, 16, 24).

Over karsinomlarının gradelemesinde günümüze kadar FIGO'nun, WHO ve GOG'un yapısal özellikleri, nükleer özelliklerle ve mitotik indeksle kombine ettiği gradeleme sistemi kullanıldı. Yeni WHO sınıflamasında ise seröz tümörlerin derecelendirilmesinde ikili sınıflama önerilmektedir. Bu sınıflama esas olarak nükleer atipiye dayanmakta olup gerekli olan durumlarda mitotik indeksdikkate alınmaktadır ($\leq 12/10$ bba veya $>12/10$ bba)(25, 26).

Over kanserinde cerrahi evreleme yapılmakta ve buna göre de hastaların tedavisi planlanmaktadır. Over kanseri etyopatogenezindeki son değişikliklere bağlı olarak over kanseri cerrahi evrelemesi de yeniden gözden geçirilmiştir. Yeni değişiklikleri içeren evreleme sistemi Tablo 2.4'de gösterilmiştir.

Tablo2.3. Overin Yüzey Epitelyal Tümörleri

Over Tümörleri Histolojik Klasifikasyonu (Who Lyon 2013) (16)

EPİTELYAL TÜMÖRLERİ

SERÖZ TÜMÖRLER

1. Benign
 - a. Seröz kistadenom
 - b. Seröz adenofibrom
 - c. Seröz yüzey papillomu
2. Borderline
 - a. Seröz borderline tümör / Atipik proliferatif seröz tümör
 - b. Seröz borderline tümör-mikropapiller varyant / Non-invaziv düşük dereceli seröz karsinom
3. Malign

- a. Düşük dereceli seröz karsinom
- b. Yüksek dereceli seröz karsinom

MÜSİNÖZ TÜMÖRLER

- 1. Benign
 - a. Müsinöz kistadenom
 - b. Müsinöz adenofibrom
- 2. Borderline
 - Müsinöz borderline tümör / Atipik proliferatif müsinöz tümör
- 3. Malign
 - Müsinöz karsinom

ENDOMETRİÖİD TÜMÖRLER

- 1. Benign
 - a. Endometriotik kist
 - b. Endometrioid kistadenom
 - c. Endometrioid adenofibrom
- 2. Borderline
 - Endometrioid borderline tümör / Atipik proliferatif endometrioid tümör
- 3. Malign
 - Endometrioid karsinom

ŞEFFAF HÜCRELİ TÜMÖRLER

- 1. Benign
 - a. Şeffaf hücreli kistadenom
 - b. Şeffaf hücreli adenofibrom
- 2. Borderline
 - Şeffaf hücreli borderline tümör / Atipik proliferatif şeffaf hücreli tümör
- 3. Malign
 - Şeffaf hücreli karsinom

BRENNER TÜMÖRLERİ

- 1. Benign
 - Brenner tümörü
- 2. Borderlin
 - Borderline brenner tümör / Atipik proliferatif brenner tümör
- 3. Malign
 - Malign Brenner tümör

SERÖMÜSİNÖZ TÜMÖRLER

- 1. Benign
 - a. Serömüsinöz kistadenom
 - b. Serömüsinöz adenofibrom
 - 2. Borderline
 - Serömüsinöz borderline tümör / Atipik proliferatif serömüsinöz tümör
 - 1. Malign
 - Serömüsinöz karsinom
-

Tablo 2.3.(Devam) Overin Yüzey Epitelyal Tümörleri

UNDİFFERANSİYE KARSİNOM

2.4 Over Tümörlerinin TNM ve FIGO Evrelemesi**Tablo 2.4. TNM VE FIGO Klasifikasyonu(figo 2013) (16, 27)**

TNM	FIGO	
T_x		Primer tümör değerlendirilemedi.
T₀		Primer tümöre ait bulgu yoktur.
T₁	I	Tümör overlere sınırlıdır.
T_{1a}	IA	Tümör bir overe veya tuba uterinaya sınırlı olup over kapsülü intakt; over ve tuba yüzeyinde tümör yok, asit ya da batin yıkama sıvısında malign hücre yoktur.
T_{1b}	IB	Tümör her iki overe veya tuba uterinada sınırlı olup over kapsülü intakt, over ve tuba yüzeyinde tümör yok, batin yıkama sıvısında malign hücre yoktur.
T_{1c}	IC	Tümör bir ya da her iki overde veya tuba uterinaya sınırlı ve <u>bera-berinde aşağıdakilerden herhangi birinin varlığı</u>
T_{1c1}	IC1	Cerrahi dökülme
T_{1c2}	IC2	Cerrahi öncesi kapsül rüptürü ya da over veya tuba üzerinde tümör varlığı
T_{1c3}	IC3	Asit veya batin yıkama sıvısında tümör varlığı
T₂	II	Tümör bir ya da her iki overde veya tubada, pelvik yayılım (pelvik grim altı) veya primer peritoneal kanserle birlikte
T_{2a}	IIA	Uterus ve/veya tubada ve/veya overde tümör yayılımı ve/veya tümör implantı.
T_{2b}	IIB	Diğer pelvik dokulara yayılım
*T2c--- tüm evre 2 tümörler halihazırda zaten kemoterapi aldıklarından aslında Evre 2'de subklasifikasyon gerekli değildir; fakat Evre 2a ve 2b'de tümör zaten yüzeyde, kapsül rüptürü, asit veya pozitif sitoloji izlendiğinden Evre 2c subklasifikasyonuna ihtiyaç kalmamıştır(27).		
T₃ ve/veya N₁	III	Tümör bir ya da her iki overde veya tubada, veya primer peritoneal kanser ile birlikte histolojik ve sitolojik olarak pelvis dışı peritoneal yayılım konfirme edilmiş ve/veya retroperitoneal lenf nodu metastazı
N₁	IIIA1	Sadece retroperitoneal lenf nodu metastazı
N_{1a}	IIIA1(i)	Çapı ≤10mm lenf nodu metastazı
N_{1b}	IIIA1(ii)	Çapı ≥10mm lenf nodu metastazı
T_{3a}	IIIA2	Mikroskopik ekstrapelvik (pelvik grim yukarısı) peritoneal tutulum ile birlikte veya değil pozitif retroperitoneal lenf nodu
T_{3b}	IIIB	Makroskopik olarak 2 cm'den küçük peritonmetastazının varlığı ile birlikte veya değil retroperitoneal lenf nodu metastazı.
T_{3c}	IIIC	Makroskopik olarak 2 cm'den büyük periton metastazının varlığı ile birlikte veya değil retroperitoneal lenf nodu metastazı.(Karaciğer ve dalağın parankim infiltrasyonu olmadan her

		iki organ kapsül tutulumu)
M1	IV	Uzak metastaz mevcuttur (peritoneal metastazharici)
M1a	IVA	Sitolojik tümör pozitif plevral effüzyon
M1b	IVB	Parakim metastazı ve ekstraabdominal organ metastazı (inguinal lenf nodu ve abdominal kavite dışındaki lenf nodu tutulumu)

Tablo 2.4. (Devam) TNM VE FIGO Klasifikasyonu(FIGO 2013) (16, 27)

N-Bölgesel lenf Nodları			
NX		Bölgesel lenf nodları değerlendirilememekte	
N0		Bölgesel lenf nodu metastazı yok	
N1		Bölgesel lenf nodu metastazı mevcut	
N1a		Çapı ≤ 10 mm lenf nodu metastazı	
N1b		Çapı ≥ 10 mm lenf nodu metastazı	
M-Uzak metastaz			
MX		Uzak metastaz değerlendirilememekte	
M0		Uzak metastaz yok	
M1		Uzak metastaz mevcut	
M1a		Sitolojik tümör pozitif plevral effüzyon	
M1b		Parakim metastazı ve ekstraabdominal organ metastazı (inguinal lenf nodu ve abdominal kavite dışındaki lenf nodu tutulumu)	
EVRE GRUPLARI			
Evre IA	T1a	N0	M0
Evre IB	T1b	N0	M0
Evre IC1	T1c1	N0	M0
Evre IC2	T1c2	N0	M0
Evre IC3	T1c3	N0	M0
Evre IIA	T2a	N0	M0
Evre IIB	T2b	N0	M0
Evre IIIA1	T1/T2	N1	M0
Evre IIIA2	T3a	N0/N1	M0
Evre IIIB	T3b	N0/N1	M0
Evre IIIC	T3c	N0/N1	M0
Evre IV	Any T	Any N	M1

Not:

- **Diafragma çizgili kası (peritoneal yüzü), posterior abdominal duvar (psoas kası), anterior abdominal yüz (rektus kası) tutulumu,**
- **Diafragma plevral yüzeyi ya da parietal plevra tutulumu,**
- **Abdominal duvar anterior rektus kılıfı veya deri-derialtı tutulumu,**
- **Mesanein transmural tutulumu ve mukozal tümör varlığı, umbilikal depozit; karaciğer, dalak veya akciğer, kemik uzak organların parankim tutulumu (evre 4b)**
- **Tek başına plevral sitoloji pozitifliği (evre 4a)**

Evre 3

Evre 4

Overin yüzey epitelinden gelişen tümörler tüm diğer tiplere göre daha sık izlenmekte (%60-70) olup % 30-50'si bilateralidir. Epitelial tümörler dışında, over tümörlerinin % 20-30 kadarı germ hücreli tümörlerden ve %8-10kadarıda sex-kord stromal tümörlerden oluşmaktadır (Tablo 2.5).

Tablo 2.5. Over Tümörleri Tipleri, Sıklığı Ve Yaş Aralığı (28)

Orijin	Yüzey epitel hücreleri	Germ hücreleri	Sex-kord stroma	Metastaz
Genel sıklığı	%65-70	%15-20	%5-10	%5
Malign over tümörleri içindeki sıklığı	%90	%3-5	%2-3	%5
Etkilediği yaş aralığı	20+	0-25+	Tüm yaş grupları	Değişken
Tümör tipleri	Seröz tümör	Teratom	Fibrom	
	Müsinöz tümör	Disgerminom	Granülosa-teka hücreli tümör	
	Endometrioid tümör	Endodermal sinus tümörü	Sertoli-leydig hücreli tümör	
	Şeffaf hücreli tümör	Koryokarsinom		
	Brenner tümör			
	Mikst epitel-yal			

3. Over Seröz Tümörleri

a. Seröz Kistadenom, Adenofibrom ve Yüzey Papillomu (Benign Seröz Tümörler)

Tümör hücreleri fallop tüp epiteli hücrelerine benzer silyalı hücreler içerir. Epitelial komponent büyük oranda fibrotik stromal doku ile çevreleniyorsa “kistadenofibrom”,stromal komponent yoksa “kistadenom” veya over yüzeyinde papiller lezyon varsa “yüzey papillomu” olarak adlandırılır. Tüm bu patternlerin

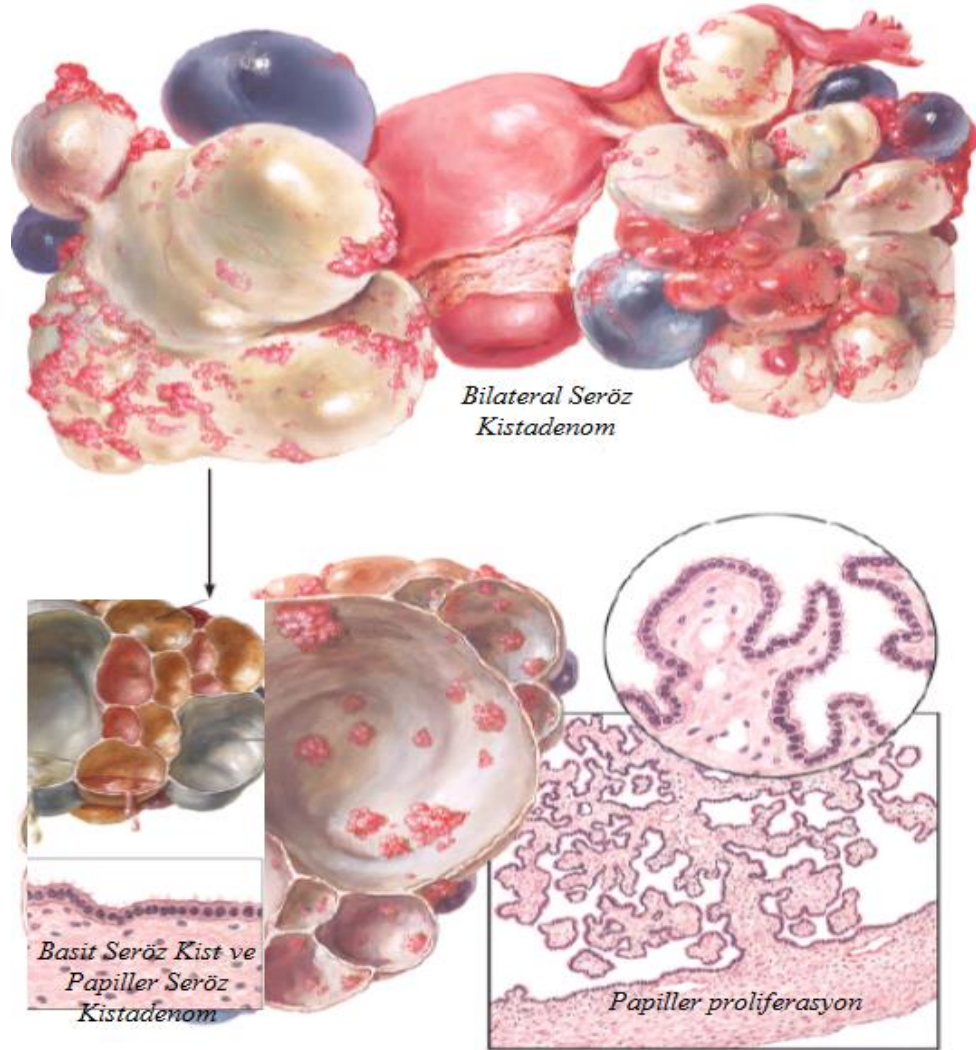
kombinasyonu görülebilir. Overin benign seröz tümörleri over seröz tümörlerinin 2/3'ünü oluşturur.

Klinik olarak 40-60 yaş arasında genellikle insidental olarak saptanır. Olguların çoğu asemptomatik olup, semptomatik olgularda; büyük tümör kitlesi, kronik pelvik ağrı ve torsiyona bağlı akut batına neden olabilir(16).

Makroskopik olarak 1 cm'den büyük (1-30cm arasında, ortalama 5-8cm boyutunda) kistik, düzgün yüzeyle, bir veya çok sayıda ince duvarlı, berrak sıvı dolu kistlerden oluşur (Şekil 4). Kistadenomların yaklaşık %12-23'ü bilateralidir.

Histopatolojik olarak seröz kistadenom kistleri ve papiller projeksiyonları döşeyen, tuba epiteline benzeyen stratifiye veya non-stratifiye, kübikten kolumnar epitele doğru değişen döşeyici epitel ile karakterlidir. Döşeyici epitelde değişen oranlarda olmakla birlikte hemen her zaman silya görülür. Fibröz stromanın baskın olduğu durumlarda “adenofibrom” olarak adlandırılır. Eşlik eden %10'un altında seröz borderline tümör / atipik proliferatif seröz tümör (SBT / APST) varsa “fokalepitelyal proliferasyon içeren seröz kistadenom / fibrom” şeklinde adlandırılır (9)(16).

Genetik olarak seröz kistadenomlarda KRAS ve/veya BRAF mutasyonu saptanmaz. Ancak benign seröz tümörlerin az bir kısmında daha çok fibromatöz stromal hücrelerde olmak üzere, DNA kopya sayılarında değişiklik olabileceği bildirilmektedir (16).



Şekil 4.Seröz Kistadenom (29)

b.Seröz Borderline Tümör-Atipik Proliferatif Seröz Tümör (SBT/APST)

LGSC'dan düşük, benign seröz tümörlere göre yüksek epitelyal proliferasyon ve sitolojik atipi içeren non invaziv tümörlerdir. Sinonim olarak pek önerilmese de düşük malign potansiyelli seröz tümör şeklinde isimlendirilebilir. Ortalama görülme yaşı 42'dir. Risk faktörleri over kanserleri ile benzer olup, HGSC'a

göre daha genç yaşta görülürler ve BRCA1/2 mutasyonları ile ilişkileri yoktur. HGSC'lerden daha az oranda görülme insidansına sahiptir (9)(16).

Olguların büyük çoğunluğu overle sınırlı kitleler şeklinde tespit edilir. Görüntüleme çalışmalarında benign tümörlere göre daha kompleks yapı gösterirler. Klinik olarak benign tümörlerle aynı semptomlara neden olurlar ve bazıları ileri evrelerde asit ile presente olabilirler. Yaklaşık üçte bir olgu (%37-55) bilateral over kitlesi şeklinde olup, tipik olarak kistik komponenti olan ve sıklıkla 5cm'den büyük kitleler şeklindedir. %70 olguda dış yüzeyde de papiller oluşumlar kist iç yüzündeki papiller oluşuma eşlik etmekte olup, az sayıda olguda sadece yüzey komponenti olan, ekzofitik papiller yapılar izlenmektedir. Ekzofitik yüzeyel papiller komponente sahip tümörlerin implant gelişimi ile daha çok ilişkili olduğu izlenmiştir (9)(16).

SBT / APST'ler tüm borderline over tümörlerin%50'sini oluşturmakta olup, histopatolojik olarak epitelde stratifikasyon, tomurcuklanmalar ve hiyerarşik şekilde dallanan büyük papiller yapılar ve onların sonlarına doğru oluşan küçük papiller yapılar ve tomurcuklar ile karakterlidir. Papiller yapıları stratifikasyon gösteren veya göstermeyen, genellikle silyalı kolumnar veya küboidal epitel döşer. Birçok tümörde değişen sayılarda eozinofilik sitoplazmalı, orta büyüklükte, hiperkromatik nükleuslu, bazen belirgin nükleol içeren poligonal ve hobnail hücreler görülebilir. Bu hücreler şeffaf sitoplazmalı da olabilir. Olguların üçte birinde silyalı hücreler tuba epiteline benzeyebilir. Mitoz çok beklenmemekle birlikte nadiren 10 büyük büyütme alanında (bba) 4'ü geçer. Psammom cisimleri APST'lerin yarısından fazlasında izlenir. APST tanısı vermek için stratifikasyo-

nun ve tomucuklanmanın en az tümörün %10'unu oluşturması gerekmektedir. Kompleks papiller yapılar çoğu zaman tanjansiyel kesitler nedeniyle invajinasyon gösterir, bu yüzden gerçek stromal invazyondan ayırt edilmelidir(9)(16).

Bazen APST fokal epitelyal füzyon alanları içerir, bu alanlar roman bridge ve kribriform alanlar oluşturduğu gibi fokal hiyerarşi göstermeyen dallanan yapılar ve mikropapiller yapılarda oluşturabilir. Mikropapiller yapılar ve kribriform pattern 5mm veya tümörün %10'unu oluşturursa o zaman “non-invaziv MPSC (non-invaziv LGSC)” olarak değerlendirilmesi önerilmektedir(9)(16).

APST de mikroinvazyon görülebilir. Bir yada birçok odakta, en büyük çapı 5 mm'yi geçmeyen stromal infiltrasyonlar “mikroinvazyon” olarak tanımlanmaktadır (16). İki tip mikroinvazyon tanımlanmıştır. Bunlardan “**olağan tip (eozinofilik tip)**” olguların çoğunda görülen tiptir. Papilla yüzey stromasına gömülü şekilde, eozinofilik sitoplazmalı izole hücreler ve küçük hücre toplulukları ile karakterizedir. Multiple olabilirler. Eozinofilik hücrelerin natürü net bilinmese de bu hücreler östrojen ve progesteron daha az eksprese ederler ve Ki-67 proliferasyon indeksleri düşüktür. Bu yüzden bu hücrelerin differansiasyonun son hücreleri veya yaşlı hücreler olduğu düşünülmektedir (9)(16). “**Mikroinvaziv karsinom**” ikinci mikroinvazyon tipi olup, daha az görülen ve mikropapiller ve solid hücresel toplulukların gelişigüzel infiltratif bir pattern oluşturduğu, bazen çevresinde boşlukların ve desmoplastik stromal yanıtın izlendiği alanlarla karakterlidir. Gerçek invaziv karsinoma benzeyen bu alanlar primer ovaryan invaziv düşük dereceli bir karsinoma hem de peritoneal invaziv bir implanta benzerler. Yapılan son çalışmalarda mikroinvazyonun %25 oranında APST'ye eşlik ettiği, hatta bir çalışmada da

noninvaziv implant içeren APST'lerde bu oranın %56'ya kadar yükseldiği bildirilmektedir(9)(16).

Mikroinvazyonun bilateralite, ekzofitik büyüme ve peritoneal implantlarla ve lenfatik invazyonla ilişkili olduğu bildirilmektedir (30, 31). Bu nedenle invazyonu saptayabilmek için çok sayıda örnek alınarak tümörün örneklenmesi önerilmektedir (9).

APST'lere %40 oranında peritoneal implant eşlik etmektedir. Bunların $\frac{3}{4}$ 'ü noninvaziv olup, $\frac{1}{4}$ 'ü invaziv implantlar şeklindedir (9).

Noninvaziv implantlar organ yüzey epiteline sınırlı olup, morfolojik olarak **“epitelyal”** ve **“desmoplastik”** olarak 2 alt gruba ayrılır. **“Epitelyal noninvaziv implantlar”**da papiller yapılar, fibrovasküler bir kor içerirler. Papillaları döşeyen epitel endosalpingiozisdeki epitele benzer, hiyerarşik dallanma veya hücre grupları şeklinde olup, non-fibrotik stroma içerir. Epitelde hafif atipi çoğu zaman olup, mitoz genellikle yoktur. Yaygın psammom cisim izlenir(9).

“Desmoplastik noninvaziv implantlar” ise peritoneal yüzeylerin altında kalınlaşmış plak tarzı lezyonlar ve septalar şeklinde omental lobüller oluşturur. Küçük büyütmeden invaziv odak gibi izlenirler. Bu implantların çevresinde granülasyon dokusu benzeri (reaktif), ödemli, yoğun fibroblastik proliferasyon mevcuttur ve arada gland benzeri veya papiller yapılar izlenir. Psammom cisimleri olguların %90'ına genellikle eşlik eder. **“Olağan Tip Mikroinvazyon”** hücrelerine benzer tek hücreli bol eozinofilik sitoplazmalı dağınık hücre grupları stroma içinde izlenebilir. Sitolojik atipi minimal olup bazen belirgin olarak izlenir. Mitoz

genellikle görülmez. İnflamasyon sıklıkla tüm implantlara eşlik etse de kronik inflamasyon her zaman desmoplastik infiltrasyona eşlik eder(9)(16).

“İnvaziv peritoneal implantlar” ise karakteristik olarak gelişigüzel yüzey epiteli altındaki dokuya infiltratif pattern gösterir. İnvaziv alanlar konfluent veya kribriform glandüler yapılar oluşturabilir, ekzofitik pattern ve mikropapiller pattern sık görülür. Glandüler ve mikropapiller yapılar füzyon yaparak örümcek ağı benzeri bir görünüm oluşturabilir. Tipik olarak mikropapiller alanlar etrafında şeffaf bir zonla birlikte fibröz stroma içerisine gömülü izlenirler. Hafif-orta derecede atipi ve bazen mitotik figürler izlenir(9)(16).

İnvaziv ve noninvaziv implantların histopatolojik özellikleri Tablo 2.6de özetlenmiştir.

Tablo 2.6. İnvaziv ve Noninvaziv Peritoneal İmplantları Ayıran Morfolojik Özellikler (9)

Özellik	İnvaziv İmplant	Noninvaziv implant	
		desmoplastik	epitelyal
<u>Büyüme patterni</u>	Gelişigüzel infiltrasyon	Düzenli sıralama	Peritoneal yüzeyde ekzofitik veya submezotelyal invajinasyonlar altında
	Yüksek epitel/stroma oranı	Düşük epitel/stroma oranı	
<u>Epitelyal komponent</u>	Çevresinde şeffaf alan içeren küçük-yuvarlak kümeler şeklinde seröz ve mezotelyal tip hücreler; yüksek çekirdek/sitoplazma oranı	Eozinofilik sitoplazmalı, epitelyal mi, mesotelyal mi olduğu anlaşılamayan tek ya da çift sıralı epitel ile örtülü irregüler gland benzeri yapılar	APST benzeri hiyerarşik papiller yapılar
	Endofitik mikropapiller görünümde kümelenen yapılar	Stroma içine gömülü gland benzeri yapılar	
	Ekzofitik mikropapiller, MPSC benzeri		
<u>Stromal komponent</u>	Gevşek ya da yoğun fibröz doku	Granülasyon dokusu görünümü (reaktif)	Stromal reaksiyon izlenmez
<u>Psammom cismi</u>	Genellikle seyrek ve dağınık, ama bazen yoğun olabilir	Sıklıkla ve yoğun olabilir	Sıklıkla
<u>Sitolojik atipi</u>	Genellikle hafif-orta	Hafif-orta	Hafif-orta
<u>İnflamasyon</u>	Genellikle minimal	Sıklıkla ve bazen belirgin fibrinopürülan eksuda	Minimal

Seröz Borderline Tümör-Atipik Proliferatif Seröz Tümör (SBT/APST)'lerin immunhistokimyasal olarak değişik epitelyal markerlar (CK7, EMA, CAM 5.2, AE1/AE3), CA125, BER-EP4 (EPCAM), PAX8 ve Leu M1 (CD15-%50 olguda) ile pozitif boyanma gösterir. Yine bir epitelyal marker olan WT1 zayıf pozitifdir. ER ve PR her ikisi de sıklıkla yüksek oranda pozitif boyanır. Yama tarzında p53 boyanması bazı olgularda görülsede; difüz p16 ve p53 ekspresyonu izlenmez(9)(16).

SBT/APST'lerin %50'sinde KRAS ve BRAF somatik mutasyonu saptanabilir (16). Prognostik olarak SBT/APST ve noninvaziv MPSC de 6,7 yıllık ortalama sağ kalım %99,5'leri geçmektedir (32). Evre 1 tümörlerde ve mikroinvazyon varlığında da genel popülasyondan farksız sağ kalım izlenmektedir. Noninvaziv peritoneal implant varlığında adezyon ve rekürrens nedeniyle cerrahi gereksede survi %95'ten fazladır. Evre 2 ve üzeri ekstraovaryan peritoneal implant içeren APST'lerde olguların önemli bir kısmında noninvaziv peritoneal implantlar görülmekle birlikte, %8'inde invaziv implant izlenmektedir (16). Bunların birçoğu benign gidişli olsa da bir kısmında APST rekürrensi veya invaziv LGSC'a progresyon izlenmektedir. LGSC'ye ilerleyenlerin %5'inin fatal klinik gidiş göstermektedir. Lenf nodu tutulumunun prognoza katkısının olmadığı bildirilmektedir (16).

c. Seröz Borderline Tümör-Mikropapiller Varyant / Non-invaziv

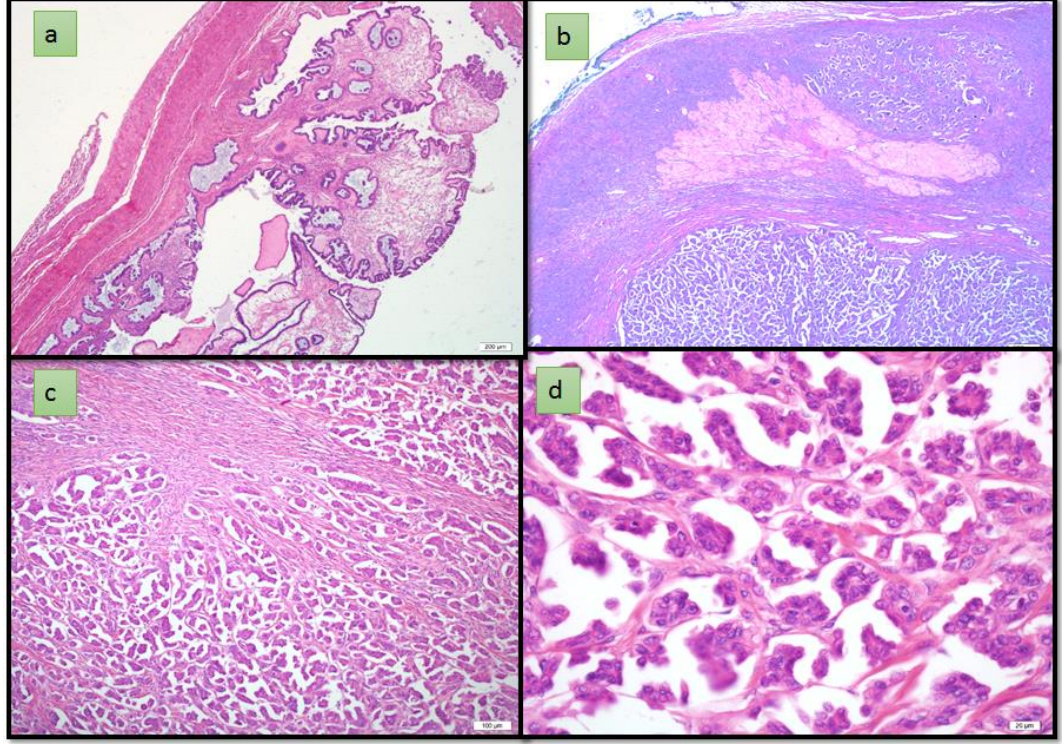
Mikropapiller Seröz Karsinom (noninvaziv MPSC) / Non-invaziv Düşük Dereceli Seröz Karsinom (noninvaziv LGSC) (9)(16)(33)

Epidemiyolojik, klinik ve makroskopik olarak SBT/APST ile benzer özelliklere sahip olup olguların 2/3 bilateraldir, ortalama yaş 42'dir. Olguların yarısı evre 1 tümörler olup, geri kalanı evre 2 ve 3 tümörlerdir.

Histopatolojik olarak noninvaziv, hiyerarşi göstermeyen, çok sayıda ince mikropapiller veya kribriform dallanan yapılar izlenir. Bazen büyük, fibrotik papilla görülebilir. Mikropapillaların stromal korları azdır ya da hiç yoktur ve genişliğinden 5 kat daha uzundur. Papiller yapıları döşeyen hücreler sıklıkla kolumnar ve silyalıdır. Mitotik indeks düşük olmakla birlikte, SBT/APST'den yüksektir (10 bba da 12'den az mitoz). Mikropapiller ve kribriform alanlar yanı sıra genellikle SBT/APST alanları da içerebilir(9)(16)(33).

Noninvaziv LGSC tanısı için histopatolojik olarak en az bir konfluent mikropapiller alanın bir boyutunun 5mm'den fazla olması veya tümörün %10'undan fazlasını oluşturması gerekmektedir. Nükleer atipi SBT/APST'den daha belirgin olmalıdır. Belirtilen değerlerden daha düşük mikropapiller yapılar ve atipi olması durumunda "fokal mikropapiller özellikler gösteren SBT/APST" tanısı verilmelidir (16).

İmmünohistokimyasal olarak epitelde p53 genellikle negatif olup, fokal pozitiflik izlenebilir. WT1 genellikle nükleer pozitifdir. ER ve PR olguların %50'si ve üzerinde pozitif olup, nükleer pozitiflik yüksek dereceli seröz karsinomdan daha fazladır. Değişik epitelyal markerlar (CK7, EMA, AE1/AE3, CAM5.2, BER-EP4 (EPCAM), PAX8, CA125) ekspresyon gösterebilir. P16'nın diffüz ekspresyonu izlenmez (16).



Şekil 5. Seröz borderline tümör (SBT), papiller hiyerarşik proliferasyonlar, epitelial stratifikasyon gösteren yapılar (a). Düşük dereceli seröz karsinom (LGSC),stromayı infiltre eden atipisi kısmen yüksek hücreler, halolu mikropapiller oluşumlar (b,c,d) (GÜTF, a ve b 4x10 büyütme H&E, c 10x10 büyütme H&E, d 40x10 büyütme H&E).

Genetik profil olarak noninvaziv LGSC ile SBT/APST aynı genetik değişikliği ve somatik mutasyonu (%50 sinde KRAS ve BRAF mutasyonu) içermektedir(16).

Prognostik olarak erken evre olgularda (evre 1) sağ kalım genel popülasyondan farklı değildir. Bununla birlikte ileri evre hastalık geliştirme oranları APST'ye göre yüksek olup, %13'tür. Bu olguların %50'sine invaziv implantlar eşlik eder(16).

Noninvaziv LGSC ileri evre olgularda rekürrens APST'den daha yüksek olup, daha agresif tümörlerdir(16).

d. **Düşük Dereceli Seröz Karsinom (LGSC / invaziv MPSC)**

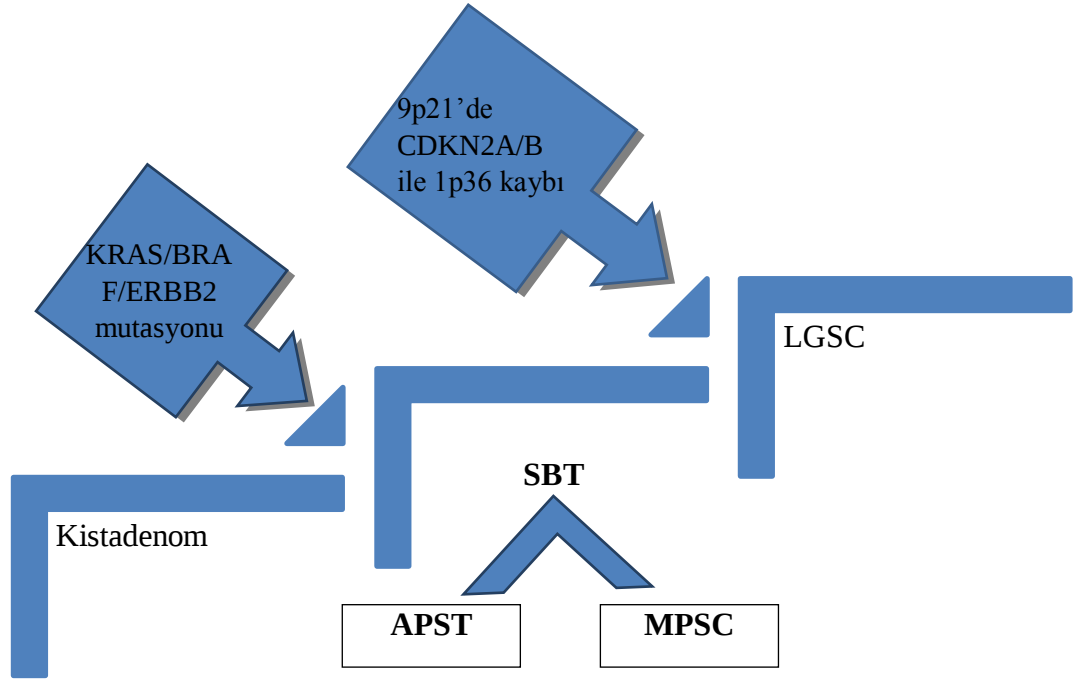
LGSC'nin tüm seröz karsinomlar içindeki oranı %5'dir. Ortalama yaş 45 olup, yaklaşık olarak HGSC'den bir dekad daha erken görülür. Semptom verebilir veya insidental pelvik kitle olarak saptanır. Birçok hastada klinik olarak asit, abdominal distansiyon ve ağrı görülür (34). Tümör volümü genellikle HGSC'den azdır. Görüntülemelerde, vaskülaritesi artmış, genellikle kistik ama kalın septasyon ve nodüller oluşturan over kitlesi şeklindedir (9)(16)(33)

Makroskopik olarak çoğu zaman bilateral ve belirgin ekzofitik papiller büyüme gösteren tümörlerdir. Noninvaziv MPSC (noninvaziv LGSC) ortalama 8cm civarı iken invaziv MPSC (LGSC) genellikle 11cm boyutunda kitle oluşturur. HGSC ile karşılaştırıldığında nekroz çok nadirdir. Kalsifikasyon sıklıkla yaygın tümörlerde izlenir(9)(16)(33).

Histopatolojik olarak tek hücreler ve irregüler şekilde küçük gruplar oluşturarak gelişigüzel stromaya infiltre olan hücreler, mikropapiller veya daha az sıklıkta makropapiller ve gland benzeri yapılar oluştur ve çevresinde boşluk veya yarık ile sarılı farklı patternler şeklinde invazyon görülebilir. Psammom cismi genellikle izlenir. Psammomatöz varyant invaziv MPSC'ye "psammokarsinom" denir ve papillaların %75'inde çok sayıda psammom cismi ile karakterizedir. Psammomatöz varyant myometriümda ve uterus serozasında daha sık yapışıklık ve invazyon oluşturur. İntratümöral lenfatik invazyon olguların 1/3'ünde saptanabilir. LGSC'lerin önemli bir kısmında SBT/APST komponenti görülebilir. LGSC'ü oluşturan hücreler yuvarlak, küçük, dar sitoplazmalı, HGSC'ye göre uni-

form ve sınırlı pleomorfizmi olan, hafif-orta nükleer atipiyeye sahip, tek belirgin nükleol içerebilen hücrelerdir. Nekroz genellikle izlenmez. Mitoz HGSC'den önemli ölçüde düşüktür (genellikle 10bba'da <3-5 mitoz, sıklıkla 12 altında mitoz beklenir.) (9)(16)(33).

İmmünohistokimyasal profil SBT/APST ve noninvaziv MPSC ile benzer olup, PR pozitifliği olguların %50 kadarında bildirilmektedir. HGSC ile karşılaştırıldığında Ki-67 proliferasyon indeksi tipik olarak düşüktür. LGSC ve HGSC ayırımının yapılamadığı olgularda immünohistokimyasal olarak yüksek p53 ekspresyonu HGSC'yi desteklemektedir(16).



Şekil 6 Şematik LGSC patogenezi(19)

KRAS ve BRAF somatik mutasyonu olguların %50-60'ında saptanmakla birlikte ileri evre olgularda BRAF mutasyonu sıklığının azaldığı bildirilmektedir. KRAS ve BRAF mutasyonlarının aktivasyonu için insan hücrelerinde kanser başlatıcı “on”-“off” switch olan MAPK (mitojen aktive edici protein kinaz) sinyaline ihtiyaç vardır. Bu sinyalin LGSC gelişimi yanı sıra HGSC gelişiminden ve klasik Platin bazlı KT rejimine dirençten sorumlu olduğu da bilinmektedir. LGSC gelişiminde ek olarak kromozom 1p36'da ve 9p21'de kayıplarında önemli rol oynadığı bilinmektedir. DNA metilasyon profiline bakıldığında LGSC'ların SBT/APST ile ilişkili olduğu dikkat çekmektedir(9)(16).LGSC'ların patogenezi şekil 6'da özetlenmiştir.

LGSC'ların prognozu iyi olup yalnızca cerrahi tedavi bile yeterli olabilmektedir. İleri evre olguların 5 ve 10 yıllık survileri sırasıyla %85 ve %50'olarak bildirilmektedir (9)(16).

e. Yüksek Dereceli Seröz Karsinom



Şekil 7. Seröz Karsinom, ok(*) büyümüş ve yer yer kistler oluşturmuş overi gösteriyor, yıldız(*) ekzofitik papiller yapıları ve tubada tümörü gösteriyor. (Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (GÜTF) Makroskopi Fotoğraf Arşivi)

En sık over kanseri tipi olup, over kanseri olgularının %50'sini oluşturur. Daha çok 6 ve 7 dekada ortalama 57-63 yaşlarında izlenir. Hemen hemen tüm olgular ileri evre olup, abdominal ve pelvik kavitede yaygın izlenirler. Klinik olarak çoğunlukla büyük kitle, gastrointestinal semptomlar (mide bulantısı, distansiyon, konstipasyon), abdominal-pelvik ağrı, genitoüriner semptomlar (disüri, vajinal akıntı) ve ileri evre olgularda asit ile prezente olurlar. İleri evre olgularda se-

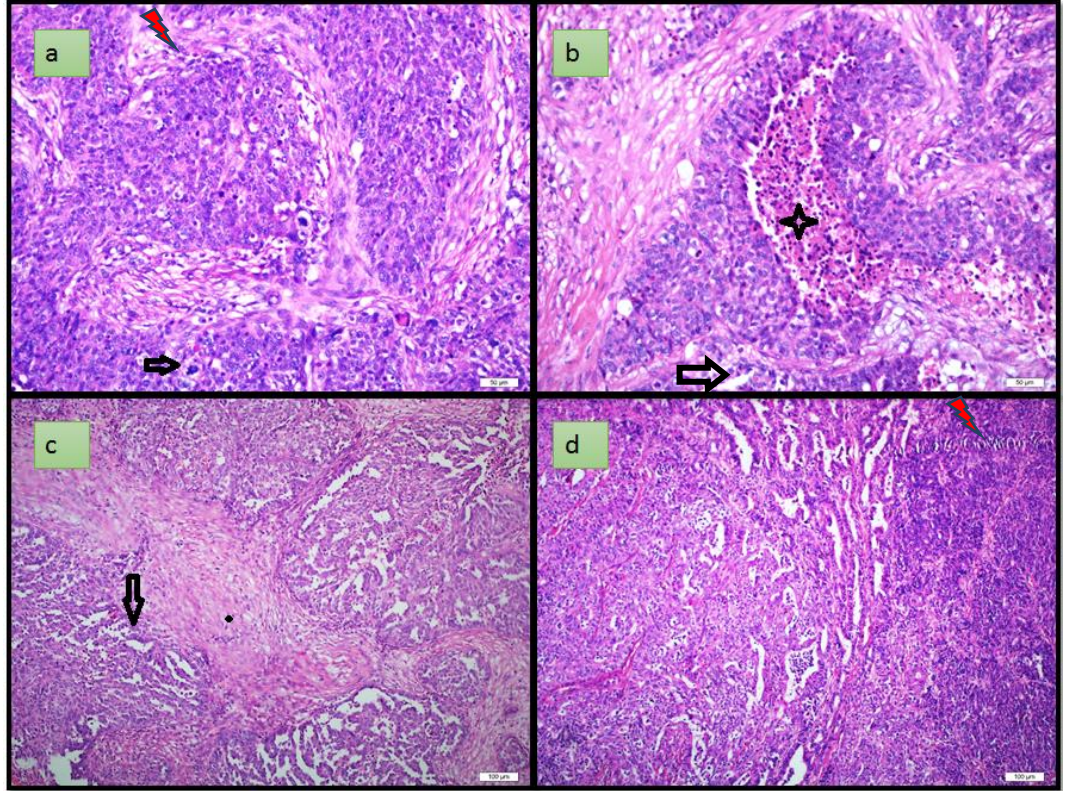
rum CA125 değerleri ortalama değerlerin çok üzerindedir (500-1000 U/ml).Batı toplumlarında beyaz kadınlar siyah kadınlara göre daha fazla risk altındadır. Geçmişte meme kanseri öyküsü olan olgularda primer over ve peritoneal seröz karsinom gelişmesi ve sonrasında peritoneal karsinomatosis gelişme riski 3 kat artmaktadır (35). Olguların 2/3' ileri evre olup, bilateral dir(9)(16)(26).

HGSC'lar da makroskopik olarak tümör boyutu büyük olup (20cm boyutuna ulaşan), sadece 1/3 olguda overler normal ve yüzeyde tümör nodülleri şeklinde 1cm'den küçük kitleler oluştururlar. Çoğunlukla kitleler bilateral, ekzofitik, solid ve papiller büyüme patternleri gösteren ve fragil papiller yapılarla dolu multiloküler kistler içerir (şekil 7 ve 8). Solid alanlar ten rengi ve beyaz renkte olup, tipik olarak geniş nekroz ve hemoraji alanları içerirler. %22 olguda omentum makroskopik olarak normal olup mikroskobik metastazlar izlenir(9)(16).



şekil 8. Bilateral Yüksek Dereceli Seröz Karsinom, kolay parçalanan ekzofitik papiller yapılar, makroskopik olarak tuba seçilemiyor (Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Makroskopi Fotoğraf Arşivi).

Tipik histopatoloji yarık benzeri, labirent ve köprüler oluşturan alanlar içeren kompleks solid yapılar şeklindedir. Bunun yanı sıra papiller, glandüler ve kribriform alanlar sıklıkla gözlenir. Nekroz sıktır. Villoglandüler tip papiller yapılarda izlenebilir. Hücreler belirgin, yüksek dereceli sitolojik atipi gösterirler (Şekil 9).



Şekil 9. Yüksek dereceli seröz karsinom (HGSC), solid (yıldırım işareti,a,d) alanlar, kribriform alanlar, glandüler ve yarık benzeri alanlar (yıldırım işareti a; ok işareti c ve d) , yüksek nükleer atipi mitoz ve nekroz (ok işareti, a; yıldız işareti,b) (GÜTF a ve b 20x10 büyütme H&E; c ve d 10x10 büyütme H&E).

Tümör hücreleri çok sayıda tipik ve atipik mitotik figürler içerir. Stromal invazyon mevcut olup tümör stroması fibröz, gevşek ödemli veya desmoplastik

olabilir. Psammom cisimleri %25 olguda belirgin ve değişen oranlarda olabilir (9)(16).

Olguların 1/3'ünde intratümöral lenfatik infiltrasyon, 2/3'ünde hiler lenfatik infiltrasyon izlenir (31).

İmmünohistokimyasal olarak tümör hücrelerinde CAM 5,2 ve CK7 ile %100'e yakın sitoplazmik, EMA ile %100'e yakın oranda membranöz, BER-EP4 ile %95 oranında sitoplazmik, CA 125 ile %91 oranında sitoplazmik, vimentin ile %45 oranında sitoplazmik, CK20 ile %34 oranında sitoplazmik, CEA ile %19 oranında sitoplazmik, GCDFP-15 ile %2, S-100 ile %30 oranında pozitiflik izlenir. WT-1 olguların %60-90'ında nükleer pozitiflik gösterir. ER %80-95 oranında nükleer pozitif ve PR genellikle negatif olup, hafif nükleer boyanma görülebilir. HGSC'larda P53 ekspresyonu iki farklı patternde izlenebilir; olguların %60-83'ü kuvvetli, diffüz nükleer pozitif iken diğer boyanma patterninde p53 tamamen negatiftir. Kalretinin seröz karsinomların 1/4'ünde sitoplazmik pozitifdir (36)(37). Özellikle düşük ve yüksek dereceli over seröz tümörlerinde CK7, WT1 ve PAX8 ekspresyonu ile olguların 2/3'ünde IMP-3 boyanması izlenmektedir. PAX 8 boyanması HGSC ve LGSC olduğu kadar CCC tümörlerde de kuvvetli ve spesifik olmaktadır. ER-/WT1-/p53- varlığında CCC ayırıcı tanıda yer almalıdır. P16 ile p53 diffüz pozitifliği HGSC görülmekle birlikte; p16 ve p53'ün fokal boyandığı WT-1'in negatif olduğu olgularda endometrioid karsinom dışlanmalıdır. Bu durumda IMP-3' de yardımcı olabilir. Tablo 2.7'de over kanserlerinde immünohistokimyasal bulgular özetlenmiştir(9)(16)(26).

Tablo 2.7. Over Kanseri Tiplerinde İHK boyanma

Kanser Tipi	PAX8(+)	WT1(+)	TP53 anormallığı	P16 diffüz(+)	ER(+)	PR(+)	CK7/CK20
LGSC	%100	%100	0	0	%96	%50	+/-
HGSC	%98	%92	%93	%60	%80	%30	+/-
MC	%50-60	0	%50	%14	%6	0	+/+
EC	%84	%4	%11	%6	%86	%72	+/-
CCC	%99	0	%12	%9	%13	%6	+/+

TP53 mutasyonu ileri evre seröz karsinomların %50'sinde, HGSC'lerin ise %80-90'ında saptanabilir. HGSC'lerin yaklaşık %50'sinde BRCA1 (17q21.31) / BRCA2(13q13.1) tümör supresör geninde germline veya somatik mutasyon veya metilasyon defekti nedeniyle inaktivasyon meydana gelmektedir(9)(16). Yapılan çalışmalarda CCNE1, PIK3CA ve ERBB2 DNA gen amplifikasyonu ve kopya sayısı değişikliklerinin olabileceği bildirilmektedir (9).

HGSC içinen önemli prognostik belirteç FIGO evresi olup, semptomatik olduklarında hastaların %75-80'i ileri evredir. İleri evre olguların %25'inden azı mevcut terapilerle kür olmaktadır. İleri olgularda debulking cerrahi ve evreleme sonrası residü tümör olması prognozu belirleyen en önemli prognostik faktördür. Evre 3 tümörlerde, optimal sitoreduksiyon cerrahisi ve platin bazlı KT uygulanmış olgularda, 5 yıllık survi %40'tır. BRCA1 ve BRCA2 germline somatik mutasyon içeren olguların survilerinin sporadik HGSC gelişimi gösteren olgulardan daha uzun olduğu bildirilmektedir(16)(26).

2.6 Over Tümörlerinde Prognostik Parametreler

Over kanserlerinde klinik prognostik faktörler içinde tanı anında hastalığın evresi, yaş, optimal debulking cerrahinin başarısı, tümör volümü, primer debulking

cerrahi sonrası rezidü tümör varlığı, neoadjuvan-adjuvan KT yanıtı, preoperatif ve postoperatif CA125 seviyeleri, primer ikinci bir malignite varlığı ve primer sitoreduktif cerrahi sonrası rekürrens sayılabilir. Tümörün histolojik tipi, grade'i, p53 ekspresyonu, tümör supresör genlerinde ve onkogenler de DNA amplifikasyonu (Rb, TP53, β katenin, BRCA1/2), gen delesyonları (PTEN, 1., 6., 7., 8., 9., 14., 17. Kromozomlarında delesyon), ailesel kalıtım, somatik mutasyonlar (TP53, BRCA1/2, PIK3CA), mismatch repair gen defektleri (MLH1, MSH2, PMS2 ve MSH6) ise prognozu etkileyen patolojik ve genetik faktörler arasında sayılabilir (23, 38-41) .

Bu prognostik veriler içinde tekrar edilebilirliği olan, birbiriyle ilişkisi ağır basan ve prognoza etkisi en yüksek olan evre ve primer debulking sonrası rekürrenstir (42). Evrenin ortaya çıkan en önemli prognostik veri olmasına karşın düşük evrelerde de histolojik tipe bağlı olarak (örneğin şeffaf hücreli karsinom) kötü prognoz izlenebilmektedir (9)(23)(43)(44).

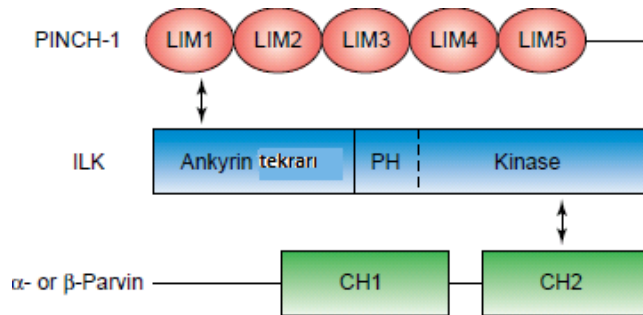
Cerrahi sonrası platin bazlı kemoterapi almış olgularda retrospektif olarak yapılan çalışmada hastalıksız sağ kalıma ve overall sağ kalıma en etkili parametrelerin FIGO evresi, suboptimal debulking cerrahi ve serum CA 125 değeri olduğu söylenmektedir. 5 yıllık overall sağ kalım ise FIGO evre 1 ve 2 hastalar için %52,7; FIGO evre 3 ve 4 için %30,8'dir. Tüm evreler için 5 yıllık hastalıksız sağ kalım %28,3; overall sağ kalım %39,2'dir (45).

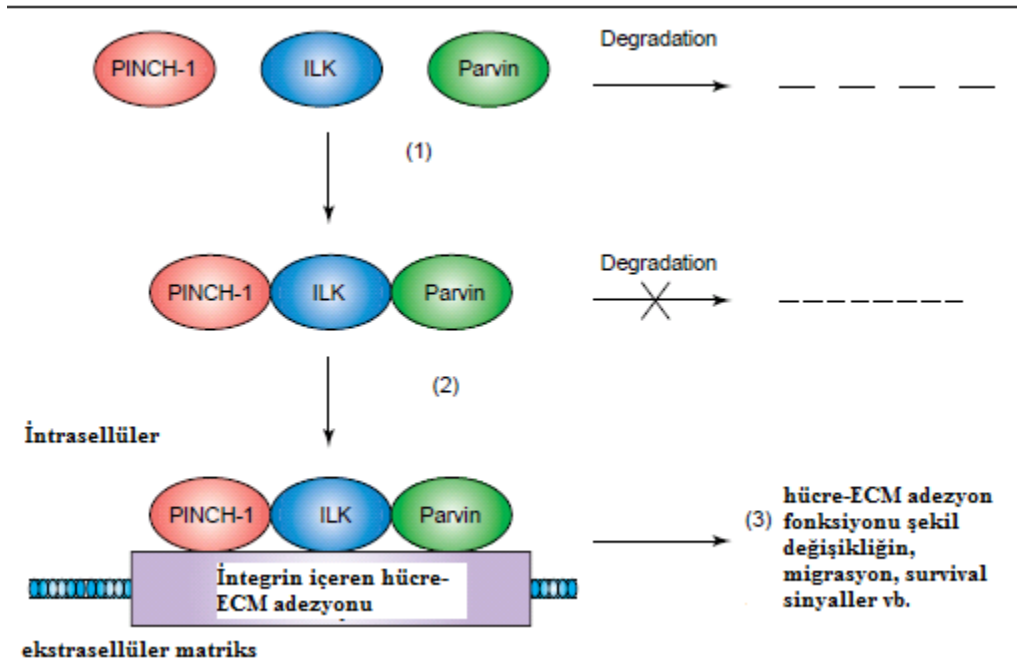
Bazı çalışmalarda da evre ve cerrahi sonrası rezidü tümör varlığı dışındaki prognostik belirteçlerin survide anlamlı sonuçlar vermediği gösterilmektedir (42) .

2.7 PINCH

PINCH (“Particularly interesting cys-his rich protein”) proteini 2q12.2 kromozomunda lokalizedir. PINCH, hücre adezyonunda rol alır, integrin-linked kinase (ILK) ile LIM domaini aracılığıyla bağlanıp adaptör görevi görür. PINCH ekspresyonu, tümörle ilişkili stromada, fibroblastlarda, myoblastlarda ve endotel hücrelerinde görülmektedir. PINCH ailesi PINCH-1 (LIMS-1) ve PINCH 2 olmak üzere iki üyeden oluşur. PINCH proteini 5 adet LIM integrin bağlayıcı sistidinden zengin yaklaşık 55 aminoasitlik, 37 kDa ağırlığında, 2 adet çinko parmak modülü içeren protein yapısından ve kısa C terminal kuyruktan oluşur. PINCH, LIM ailesinin (Lin11, Isl-1 & Mec-3) bir üyesidir(46)(47).

PINCH-1 ve PINCH-2 aynı kromozom üzerindeki farklı 2 gen tarafından kodlansa da %82 oranında aminoasid homolojisi gösterirler (4). PINCH-1 erken embriyonik gelişimde farklı tip hücrelerde ve dokularda bulunur. PINCH-2 ise embriyonik gelişim boyunca kısıtlı eksprese olur; ama birçok memeli hücresinde ekspresyonu saptanır. Bu yüzden çalışmalarda memeli hücrelerinden derive edilmiş PINCH proteinlerinin çoğu PINCH-1’dir (47).





Şekil 10. PINCH/ILK/PARVIN kompleksi(47)

PINCH-1 ve ILK integrin bağlayıcı proteinler olup, birçok protein bağlama alanı içerirler. PINCH-1 ve ILK kompleks sıkı ve direkt bir bağlanmayla PINCH-1'in LIM1 alanı üzerindeki çoğunlukla N terminali ile ILK'in tekrar eden ankyrin alanı üzerindeki N terminali üzerinden ANK-1'den bağlanır. Daha sonra ILK üzerindeki C-terminali, α ve β Parvin üzerindeki calponin homolog (CH) alana bağlanır (47)(48)(Şekil-10).

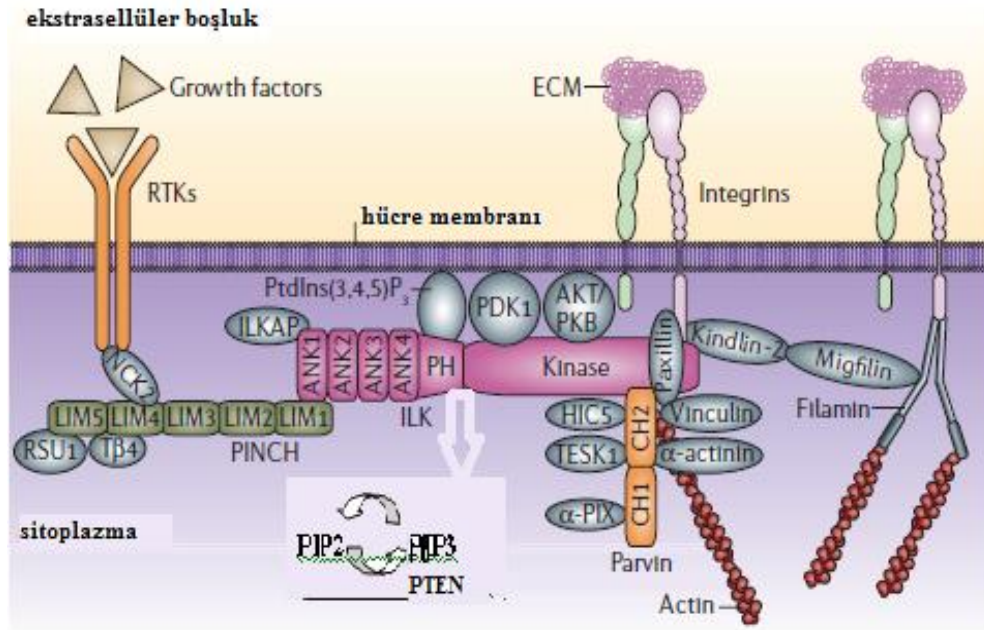
PINCH-1 ve LIM-1 hücre ECM adezyonundan önce bir araya gelirler, sonrasında bunlara en son α (aktopaksin) veya β (affiksin) parvin eklenir (Şekil-10). Parvin PINCH-1 ve ILK'nın stabilizasyonunu ve hücre-ECM adezyonunu kolaylaştırır. PINCH-1 ve ILK kompleksi birlikte hücre-ECM adezyonunda sinyal ve yapısal komponentlerinde majör rol alır. ILK proteini, N-terminal ankyrin tekrarı içeren domain, fosfoinozit fosfolipid bağlayan (plekstrin homolo-

ğu (PH)) domain,ve C-terminal serine / threonin protein kinaz domain olmak üzere 3 farklı fonksiyonel yapıdan oluşur. ILK kinaz domaini ile parvinlerle, paksilin, MIG2/kindlin-2 ve direkt olarak β 1 integrinin sitoplazmik domaini ile ilişki kurar. ILK C-terminal domaini ve α parvin ile birlikte f-aktine (filamentöz) direkt veya paksilin ile indirekt olarak alternatif yoldan bağlanır. Yine C terminali ve β parvin ile birlikte α aktine bağlanır. Böylece paksilin aracılığıyla da aktin iskeleti ile PINCH-1 ILK kompleksi oluşur. ILK kinaz domaini AKT/PKB (protein kinaz B)'nin ve PDK1 (fosfotidilinozitol-3 kinaz bağımlı kinaz-1)'in substratıdır. ILK'in protein kinaz B (AKT/PKB), glikojen sentaz kinaz-3 ve miyozin hafif zinciri gibi intrasellüler substratların fosforilasyonu ile esas rolünün integrinler ve hücre iskeletindeki aktin filamanları arasında bağlantı kurmak olduğunu gösterilmiştir (49)(Şekil-11).

PINCH, bir başka adaptör proteini olan Nck2 (Src-homology-2 (SH2)–SH3 adaptorü) LIM4 üzerinden reseptör tirozin kinaza (RTKs) bağlanır. Böylece integrin sinyali için growth faktör sinyali ile bir bağlantı oluşturur. PINCH-1 LIM5 üzerinden RSU-1'e (ras supressör-1 proteini) bağlanarak JNK (Jun N-terminal kinaz) aktivasyonu yapar ve growt faktörü negatif regüle eder (49) (Şekil-11).

PINCH, RSU-1 aracılığıyla JNK bağımlı apoptozis yolağını BCL-2 ve integrinleri arttırarak, BAX'ı azaltarak inhibe eder. Bu şekilde hücreye ölümsüzlük kazandırır. Özellikle bu mekanizma normal embriyo ve primitif endodermal hücreler üzerinde gösterilmektedir (3).

ILK aktivasyonun kontrolü kinaz aktivitesine bağlıdır. PTEN, fosfatidilinozitol 3,4,5-trifosfatın D3 pozisyonundaki fosfatı ortadan kaldıran bir lipid fosfatazdır ve direk olarak fosfatidilinozitol 3-kinazın (PI3K) etkisini antagonize eder. PTEN'in ILK aktivitesini kontrol ettiği gösterilmiştir (47)(49)(50)(Şekil-9).



Şekil 11. ILK/PINCH/Parvin kompleksi ve bağlantılı oldu ekstrasellüler ve intrasellüler domainler(49)

Hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda ILK, Parvinler ve PINCH'in AKT fosforilasyonunda, hücre şekillenmesinde, fibronektin ve matriks toplanmasında, hücre hareketliliğinde, motilitede, sağkalımda, invazyonda, metastazda, angiogenezde ve çoğalmada belirli görevler aldığı gösterilmiştir(4)(49).

Literatürde meme, prostat, akciğer, deri, kolorektal, ağız ve özefagus skuamöz hücreli kanserleri gibi çeşitli tümörlerde yapılan çalışmalarda immünohisto-

kimyasal olarak PINCH ekspresyonu ilk olarak tümör stromasında fibroblastoid hücrelerin sitoplazmasında gösterilmiştir. İlerleyen zamanlarda ise PINCH'in tümörle ilişkili stromada, fibroblastlarda, myoblastlarda ve endotel hücrelerinde eksprese olduğu saptanmıştır. Wang-Rodriquez, 2002 yılında, 33 meme, 22 prostat, 8 deri, 6 akciğer ve 5 kolorektal kanserde PINCH proteinin ekspresyonunu gösteren ilk çalışmayı yapmıştır(51). Sonuçlara göre deri dokusu hariç diğer tümörlerde PINCH ekspresyonunun normal dokulara göre daha fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Sonraki çalışmalarda PINCH proteinin normal dokularda da eksprese olduğu, sitoplazmada ve hücreler arası bağlantı bölgelerindeki matrikste eksprese olduğu gösterilmiştir(49)(51).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olguların seçilmesi

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2008-2014 yılları arasında, seröz borderline tümör ve seröz karsinom tanısı almış olgulardan cerrahi evreleme yapılmış, salpingoooforektomi, histerektomi ve debulking cerrahi uygulanmış toplam 110 olgu dahil edilmiştir. İncelenen olgular SBT, SC olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Olgulara ait klinik bilgiler hastane otomasyon sistemi ve hasta dosyalarından elde edilmiştir.

Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 08 Aralık 2014 tarihinde 544 nolu karar ile yerel etik kurulu onayı alınmıştır.

3.2 Dokuların Histopatolojik Değerlendirilmesi

Histopatolojik değerlendirme, %10'luk formaldehit içerisinde fikse edilmiş, rutin doku takibi uygulanarak parafine gömülmüş ve Hematoksilen-Eosin (H-E) ile boyanmış arşiv preparatlarında yapılmıştır.

Kesitler ışık mikroskopunda (Olympus Bx50), X40 x100, x200 (objektif lens x 10x oküler lens) büyütmelerde incelenmiştir. Olgular FIGO 2013 sınıflamasına göre evrenilmiş olup, WHO 2014 Lyons konsensusuna göre histopatolojik gradelemesi ve tiplendirmesi yapılmıştır.

Her olguda histopatolojiyi en iyi yansıtan tümör ve peritümöral stromanın izlendiği bloklar seçilmiş ve seçilen bloklardan PINCH-1 ekspresyonunu göstermek için immünohistokimyasal prosedür uygulanmıştır.

3.3 İmmunhistokimyasal boyanma

PINCH-1 antikorunun ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biotin üçlü indirekt immunperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır. PINCH-1 ekspresyonu için PINCH/LIMS1 (Rabbit polyclonal, Klon: GTX114984, 1/150 dilüsyon, Genetex, Lot numarası: 40240, USA), antikor kullanılmıştır.

Biotinlenmiş bağlayıcı (sekonder) antikor olarak, ticari olarak kullanıma hazır kitler şeklinde, streptavidin-biotin kompleksi ve kromojen olarak 3-amino-9 Ethylcarbazole (AEC) kullanılmıştır. PINCH antikorunun pozitif kontrolü olarak normal böbrek medülla dokusu boyanmıştır. Olgulara ait parafin bloklardan hazırlanan kesitler PINCH için aşağıdaki prosedüre göre boyanmıştır.

İmmunhistokimyasal Streptavidin-Biotin Boyama Yöntemi:

1- Parafine gömülü dokulardan 4-5 µ kalınlığında kesitler polilizinli lam üzerine alınıp 56 santigratlık etüvde 12 saat bekletilerek deparafinize edilmiştir.

2- Kesitler 30 dakika ksilende bekletilip berraklaştırılmıştır.

3- Her birinde beş dakika bekletilmek üzere; sırasıyla %100,% 95 ve % 90'lık alkollerden geçirilerek dokuların hidrasyonu sağlanmıştır.

4- Alkollerden arındırmak (dehidratasyon) için pH 7,2-7,4 PBS'le (0,01 M Phosphate Buffer Saline) üç kez çalkalanmıştır.

5- Lamalar mikrodalgaya dayanıklı özel şalelerde pH 9.0 Tris-EDTA buffer solüsyonu içerisine sıralanarak mikrodalga fırında, yüksek derecede (1. 85°C 10 dk ve 2. 70°C 10 dk) inkübe edilmiştir. Daha sonra oda ısısında 30 dakika soğumaya bırakılmıştır.

- 6- Kesitler 3 kez distile sudan geçirilmiş;
- 7- Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için, kesitlere %3'lük hidrojen peroksit çözeltisi damlatılıp 10 dakika bekletilmiştir.
- 8- Kesitlerin etrafı dikkatlice kurulanmış ve kesitin üzerini kaplayacak şekilde primer antikor damlatılarak +4 santigrad derecede 1 gece bekletilmiştir.
- 9- PBS'de 3-5 dakika yıkanmış;
- 10- Kesit çevresi silindikten sonra sekonder (bağlayıcı) antikor (Multi-species ultra streptavidin detection system-HRP; Signet, Massachusetts, USA) damlatılarak 20 dakika oda ısısında inkübe edilmiştir.
- 11- PBS'de 3-5 dakika yıkanmış;
- 12- Kesit çevresi silindikten sonra Streptavidin-biotin damlatılarak 20 dakika oda ısısında inkübe edilmiştir.
- 13- PBS'de 3-5 dakika yıkanmış ve kesit çevresi silinmiştir.
- 14- AEC (3-amino 9-ethycarbazole) kromojen damlatılmış, 5-20 dakika sonra mikroskop altında boyanma olup olmadığı kontrol edilerek dokular distile suya alınmıştır.
- 15- Mayer Hematoksilen'de 1-3 dakika zemin boyaması yapılmış ve musluk suyunda 3-5 dakika yıkanmıştır.
- 16- Dehidratasyon için kesitler sırasıyla %90, %95 ve %100'lük alkollerde 5'er dakika tutulmuş ve Ksilolde şeffaflaştırılmıştır.
- 17- Doku kesitleri Entellan (DAKO Cytomation Faramount Aqueous Mounting Medium) ile kapatılmıştır.

3.4 İmmunhistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi

Seçilen bloklardan hazırlanan kesitler streptovidin-peroksidaz yöntemiyle boyandıktan sonra ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir. PINCH için sitoplazmik ve membranöz boyanmapozitif kabul edilmiştir. PINCH ile tümör ve peritümöral stromadaki hücrelerde sitoplazmik ve membranöz boyanma değerlendirilmiştir.

PINCH-1 antikorunun değerlendirilmesinde tümör ve peritümöral stromada boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti dikkatte alınmıştır. Boyanma yaygınlığına 0-3 arası derece verilmiştir. Buna göre: derece 0 ($\leq 5\%$), derece 1 (6% ile $< 35\%$), derece 2 ($\geq 35\%$ ve 50% arasında), derece 3 ($\geq 50\%$) boyanma yüzdeleri-ne göre skorlandı. Boyanma şiddeti ise: negatif (0), zayıf (+1), orta (+2) ve kuvvetli boyanma (+3) olarak değerlendirildi(2, 52)(53, 54).

3.5 İstatistiksel Değerlendirme

Araştırma verisi “SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL)” aracılığıyla bilgisayar ortamına yüklenmiş ve değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler ortalama($\pm$)standart sapma, ortanca (minimum-maksimum), frekans dağılımı ve yüzde olarak sunulmuştur. Kategorik değişkenlerin değerlendirmesinde niteliksel veriler için Pearson Ki-Kare testi uygulanmıştır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk Testleri) kullanılarak incelenmiştir. Normal dağılıma uymadığı saptanan değişkenler için; üç ve daha fazla bağımsız grup arasında istatistiksel anlamlılıklarda niceliksel

veriler için Kruskal Wallis Testi istatistiksel yöntem olarak kullanılmış, fark saptanarlarda farkın kaynağını bulmaya yönelik post-hoc ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U Testi kullanılarak yapılmıştır. Normal dağılıma uymayan değişkenler arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman Korelasyon Testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Seçilen Hastaların Tümör, Demografik ve Parametrik Özellikleri

Çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 110 olgu değerlendirilmiştir.

Tablo 4.1 Tümör Tipi ve Tümör Derecesi

		Tümör Derecesi		Total
		Düşük	Yüksek	
Tümör tipi	Borderline	21	0	21
	Seröz karsinom	7	82	89
Total		28	82	110

Olguları 21'i (%19,1) seröz borderline tümör, 89'u (%80,9) yüksek (82 adet) ve düşük (7 adet) dereceli seröz karsinomdur (Tablo 4.1). Seröz borderline tümör olguları için ortalama yaş 40,7 ($\pm 17,8$) iken, seröz karsinom olgularında ortalama yaş 57,1 ($\pm 9,9$) olarak bulundu. Her iki grup için median yaş 54,5 olarak saptandı ($\pm 13,4$, min: 10- max: 82 yaş).

Tüm olguların hastane bilgi sisteminden ulaşılan patoloji raporları ve klinik epikrizlerinden FIGO'ya göre cerrahi evrelendirmesi yeniden yapıldı. 89 seröz karsinom olgusunun 76'sına debulking cerrahi ve pelvik paraaortik lenf nodu diseksiyonu (PPLND) yapılmış olup, kalan 13'üne cerrahi öncesi neoadjuvan KT ve sonra interval debulking cerrahi ve PPLND yapılmıştı. Ayrıca 21 borderline seröz tümör olgusuna cerrahi yöntemler uygulanmış (TAH+BSO, kist ekstirpasyonu, salpingooforektomi vb. cerrahi girişimler), 8 olguya ek olarak PPLND yapılmış-

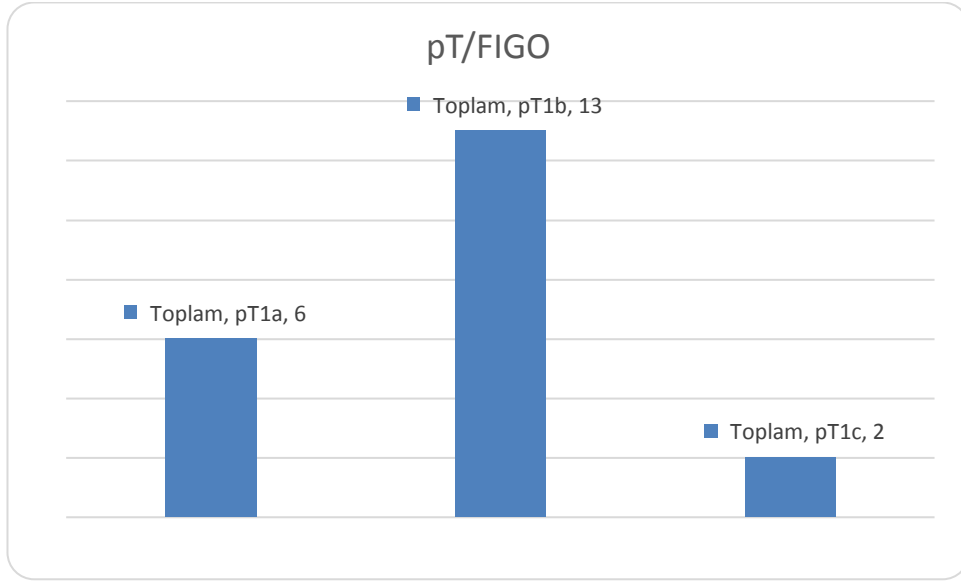
tır. Olguların hiçbirine KT verilmemiştir. Tüm seröz karsinom olgularına cerrahi işlem sonrası adjuvan KT (paklitaksel+karboplati) tedavisi uygulandı. Bir olgunun beyin metastazı nedeniyle palyatif radyoterapi (RT) aldığı öğrenildi. KT bilgisine ulaşılmış 97 olgunun; 35'i (%36,1) 6 kür ve altında, 13'ü (%13,4) 7 ile 11 kür arası KT almış, 28 olgu da (%28,9) 12 kür ve üzerinde KT almıştı. Median (ortanca) KT kür sayısı 6'dır.

Seröz kanser olgularında en büyük tümör çapı 21 cm olup, en küçük tümör çapı 0,1cm'dir. Ortalama tümör çapı 8,25 cm, ortanca 7 cm'dir. Seröz borderline tümör olgularında ise en büyük tümör çapı 34 cm olup, en küçük tümör çapı 1 cm'dir Ortalama tümör çapı 9,35 cm, ortanca 7 cm'dir.

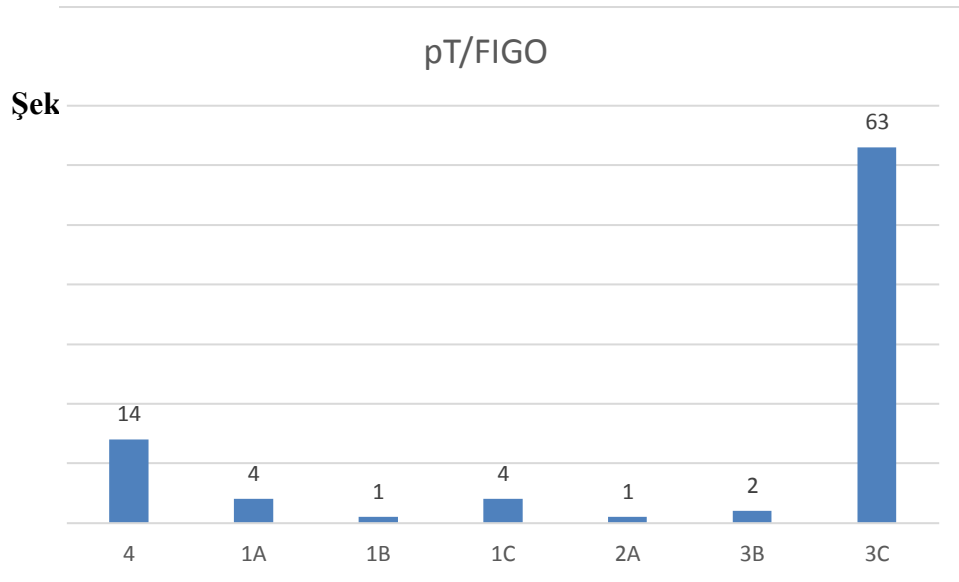
Çalışmamızda yirmi bir SBT olgusunun on üçü pT1b ve IB, altısı pT1a ve evre IA, ikisi pT1c ve evre IC'dir (Şekil 12).

Seksen dokuz seröz karsinom olgusunun on dördü pM1 evre IV, altmış üçü pT3c evre IIIC, kalan olguların ikisi pT3b evre IIIB (%1,8), birisi pT2a evre IIA, dördü pT1c evre IC, birisi pT1b evre IB ve dördü de pT1a evre IA'dır (Şekil 13).

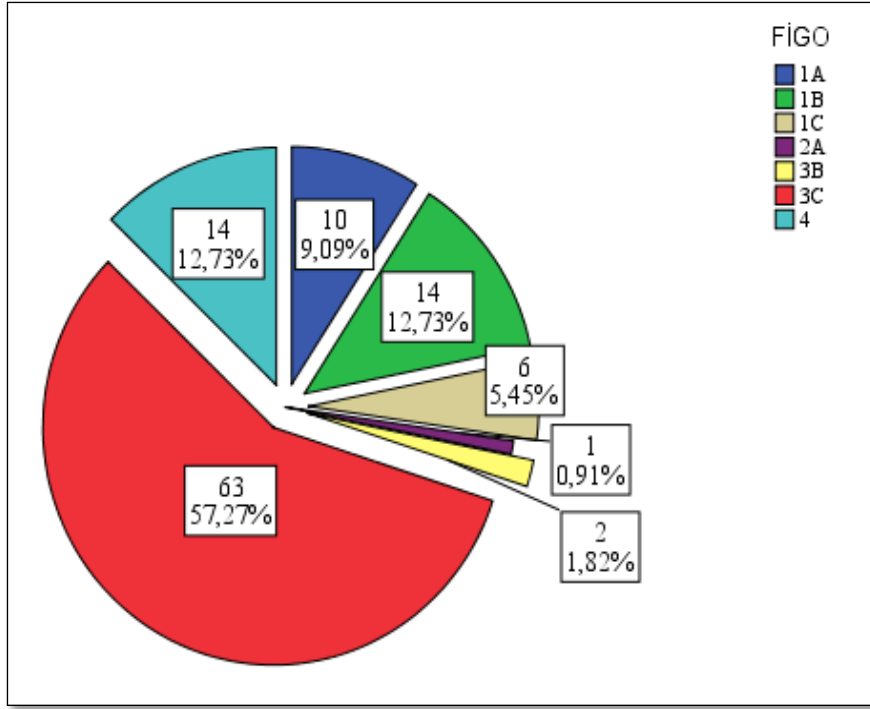
Tüm olgular bir arada değerlendirildiğinde 10'u evre IA (%9,1), 14'ü evre IB (%12,7), 6'sı evre IC (%5,5), 1'i evre IIA (%0,9), 2'si evre IIIB (%1,8), 63'ü evre 3C (%57,3), 14 olguda evre IV (%12,7)'dür (Şekil 14).



Şekil 12. SBT pT/FIGO dağılımı



Şek



Şekil 14. Olguların FIGO evresi

Tüm olguların hastane sisteminden CA 125 laboratuvar sonuçları araştırıldı. Beş olgunun laboratuvar sonuçlarına ulaşamadı. Kalan 105 olgunun 37'sinde CA 125 normal değer (0-35 U/ml) üzerinde olup 36-499 aralığındaydı. 55 olguda ise 500 ve üzerindiydi. Kalan 13 olguda ise normal sınırlarda olduğu görüldü. Seröz karsinom için ortalama CA 125 değeri 614 olup, borderline olgular için ortalama değer 33 olarak bulunmuştur.

Tüm olguların 37 sinde (%33,6) nüks izlenmiş olup, seröz karsinom olgularıdır. Borderline olgularda nüks izlenmemiştir. Over kapsül invazyonu 57 olguda (2 si SBT) (%51,8) görülmüş olup, 26 olguda (%23,6) kapsül invazyonu görülmemiştir. 27 olgunun raporlarında kapsül invazyonu ile ilgili veri bulunamamıştır.

Çıkarılan over kitlelerinin 68'i (%61,8) bilateral kitle şeklinde, 28'i (%25,5) sağ unilateral, 14'ü de (%12,7) sol unilateral yerleşim göstermektedir.

Lenf nodu diseksiyonu yapılan 97 olgunun 57'sinde (%51,8) lenf nodunda metastazsaptanmıştır. Lenf nodu diseksiyonu yapılan 89 seröz karsinom olgusunun 7'sinin (%6,4) lenf nodunda metastaz olup olmadığı bilgisine ulaşılammıştır. Lenf nodu metastazı olmayan 32 olgunun 8'i borderline olgulardır. Düşük dereceli seröz karsinom olgularından 4'ünde lenf nodumetastazı saptanırken, yüksek dereceli seröz karsinom olgularının 53'ünde lenf nodu metastazı saptanmıştır. Yüksek dereceli seröz karsinom olgularından 14 tanesine ise lenf nodu diseksiyonu uygulanmamıştır. Lenf nodu metastazı sayısı en düşük 1, en yüksek 55'tir ($\text{std}\pm 11,353$), ortanca lenf nodu metastazı sayısı 6'dır.

İntraoperatif batın yıkama sitolojisi bilinen 96 olgunun 63'ünde tümör pozitif olup (%65,6) (5 adet tümör açısından şüpheli olgu istatistiksel olarak fark yaratmadığı için tümör pozitif olgulara dahil edilmiştir), 33 olguda (%34,4) tümör negatiftir.

Tümörün batın içi ve uzak organ yayılımları dikkate alındığında yakın yayılım gösterdiği bölgeler genelde tümöre komşu bölgeler olup; tuba, uterus, kolon ve ince barsak segmentleri, appendiks, omentum ve periton olarak izlenmiştir. Uzak yayılım gösterdiği bölgeler; beyin, karaciğer, dalak, safra kesesi, mide, mesane, diafragma, plevra, perikard, akciğer, cilt-cilt altı, abdomen ön duvarı (rektus kası), abdomen arka duvarı (psoas kası) ve vajen cuff'ıdır. 8 seröz karsinom olgusunda sitoredüktif cerrahi sonrası uzak ve yakın yayılımrapor edilmemiştir. 1 seröz borderline tümör olgusunda omentuma non-invaziv implant şeklinde infiltrasyon gözlenmiştir. 52 seröz karsinom olgusunda (%47,3) uzak yayılım bölgelerine infiltrasyon mevcuttur.

Prognostik parametreler içinde korelasyonu değerlendirilebilen parametreler açısından; FIGO ile kür sayısı arasında orta düzeyde ($r_s:0,62$; $p<0,01$), FIGO ile yaş arasında zayıf düzeyde ($r_s:0,23$; $p=0,01$), FIGO ile CA 125 düzeyi arasında orta düzeyde ($r_s:0,45$; $p<0,01$), metastatik lenf nodu sayısı ile CA 125 düzeyi arasında orta düzeyde ($r_s:0,36$; $p=0,005$), CA 125 ile kür sayısı arasında orta düzeyde ($r_s:0,44$; $p<0,01$) pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 Yaş, Tümör Boyutu, Kür Sayısı, FIGO Sınıflaması, Metastatik Lenf Nodu Sayısı ve CA125 Değerleri Arasındaki İlişki Durumu

		Yaş	Tümör Boyutu	Kür Sa- yısı	FİGO Sımf- ları	Met. LN Sayısı	CA 125
Yaş	r _s	1,000					
	p	.					
	n	110					
Tümör Boyutu	r _s	- 0,127	1,000				
	p	0,189	.				
	n	109	109				
Kür Sayısı	r _s	0,192	-0,168	1,000			
	p	0,060	0,102	.			
	n	97	96	97			
FİGO	r _s	0,230	-0,053	0,629	1,000		
	p	0,016	0,582	<0,001	.		
	n	110	109	97	110		
Met. LN Sayısı	r _s	- 0,122	-0,042	0,051	0,064	1,000	
	p	0,363	0,754	0,726	0,631	.	
	n	58	57	49	58	58	
CA 125	r _s	0,095	0,057	0,440	0,454	0,369	1,000
	p	0,336	0,563	<0,001	<0,001	0,005	.
	n	105	104	93	105	57	105

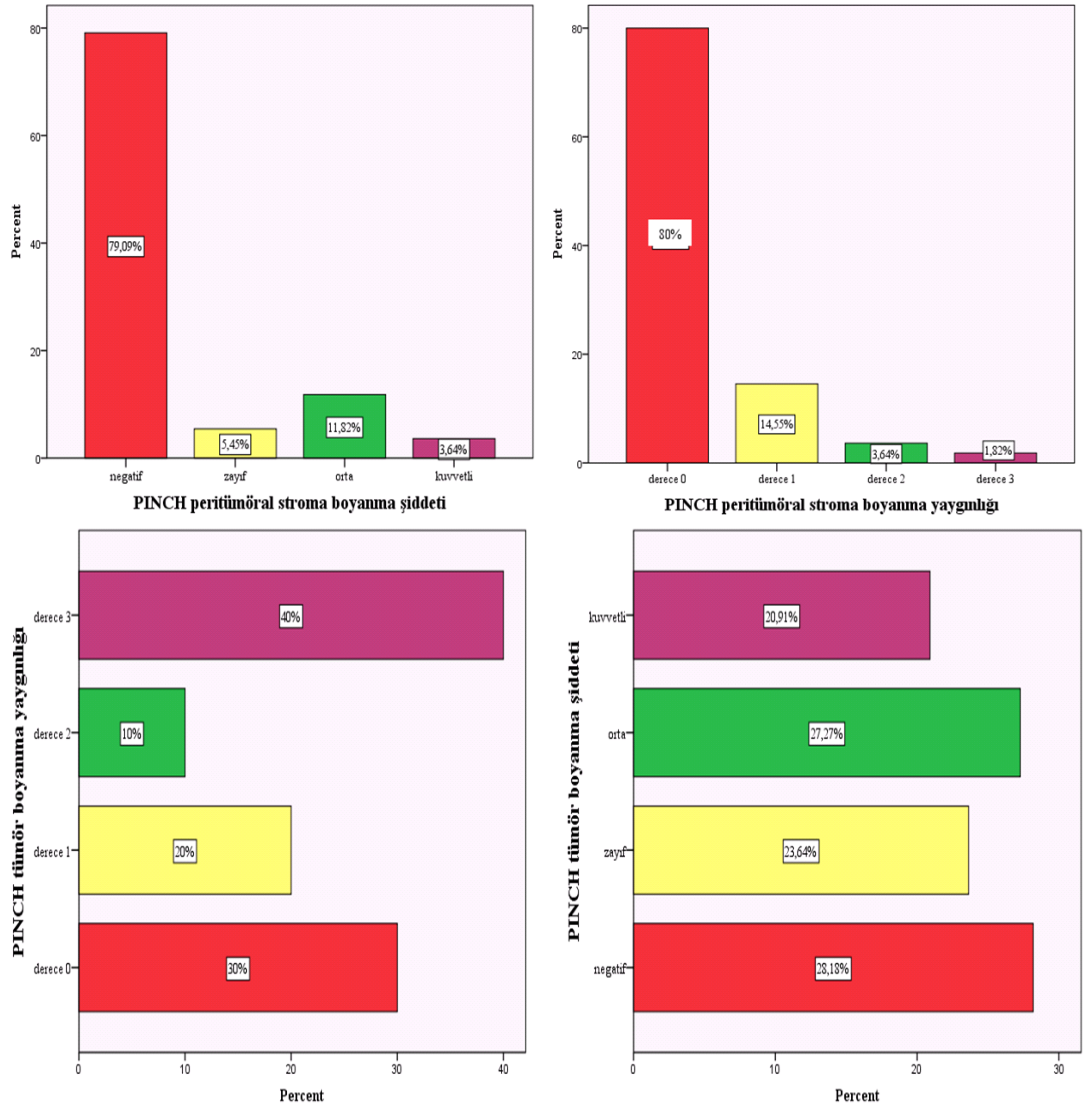
4.2 İmmünohistokimyasal Bulgular

4.2.1 PINCH Ekspresyon Patterni

PINCH ekspresyonu tüm olgularda tümör epitelyal hücrelerinde ve tümör çevresi stromadaki fibroblast/myofibroblast hücrelerinin membran ve sitoplazmalarında boyanmaya göre değerlendirildi. Değerlendirmede PINCH ekspresyonunun tümör ve peritümöral stromada boyanma yaygınlığı ile boyanma şiddeti ayrı ayrı skorlandı. Boyanma yaygınlığına derece 0-3 arası değer verildi. Buna göre negatif (tümörün $\leq$ %5'si boyanmışsa), derece 1 (tümörün %6-%35'i boyanmışsa), derece 2 (tümörün %35- %50'si boyanmışsa) ve derece 3 (tümörün %50'si boyanmışsa) olarak boyanma yüzdelerine göre skorlandı (Şekil 15).

Boyanma şiddeti ise: negatif (0), zayıf (+1), orta (+2) ve kuvvetli boyanma (+3) olarak skorlandı (Şekil 16, Şekil 18, Şekil 20).

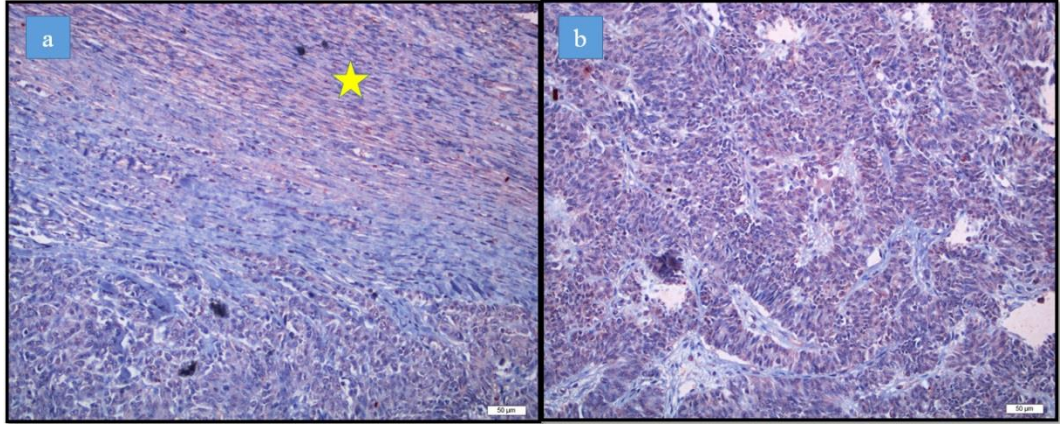
PINCH tümör boyanma yaygınlığı, PINCH tümör boyanma şiddeti, PINCH peritümöral stroma boyanma yaygınlığı ve PINCH peritümöral stroma boyanma şiddeti prognostik parametreler olan FIGO evresi, nüks, tümör histopatolojik derecesi, tümör boyutu, over kapsül invazyonu, batın yıkama sitolojisinde tümör varlığı, uzak ve yakın visseral yayılım, lenf nodu metastazı, yaş, CA 125 düzeyi ve tümör tipi gibi parametrelerle karşılaştırıldı.



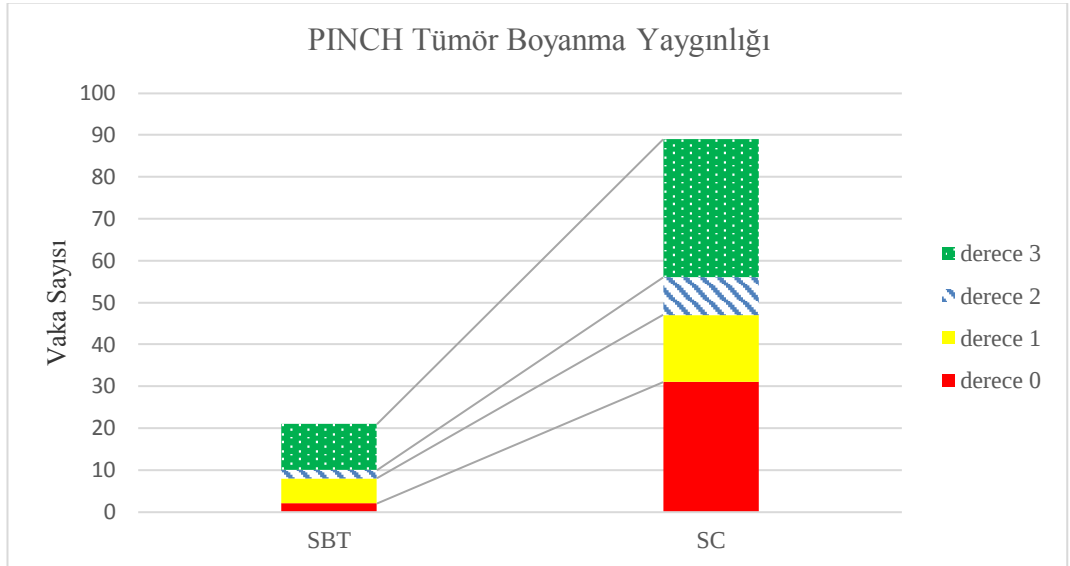
Şekil 15. PINCH ekspresyonunun 110 olgudaki yüzde olarak sıklığı.

PINCH tümör boyanma yaygınlığına göre tümör tipleri ile karşılaştırıldığında da, seröz borderline tümörlerin 2'sinde negatif olup (%9,5), 6'sında derece 1 (%28,6), 2'sinde derece 2 (%9,5), 11 olguda da derece 3 (%52,4); seröz karsinom olgularının ise 31'i negatif olup (%34,8), 16'sında derece 1 (%18), 9'unda derece 2 (%10,1), 33'ünde derece 3 (%37,1) boyanma izlenmiştir (Şekil 17). Hem PINCH tümör boyanma yaygınlığı ile tümör tipi arasında hem de seröz karsinom

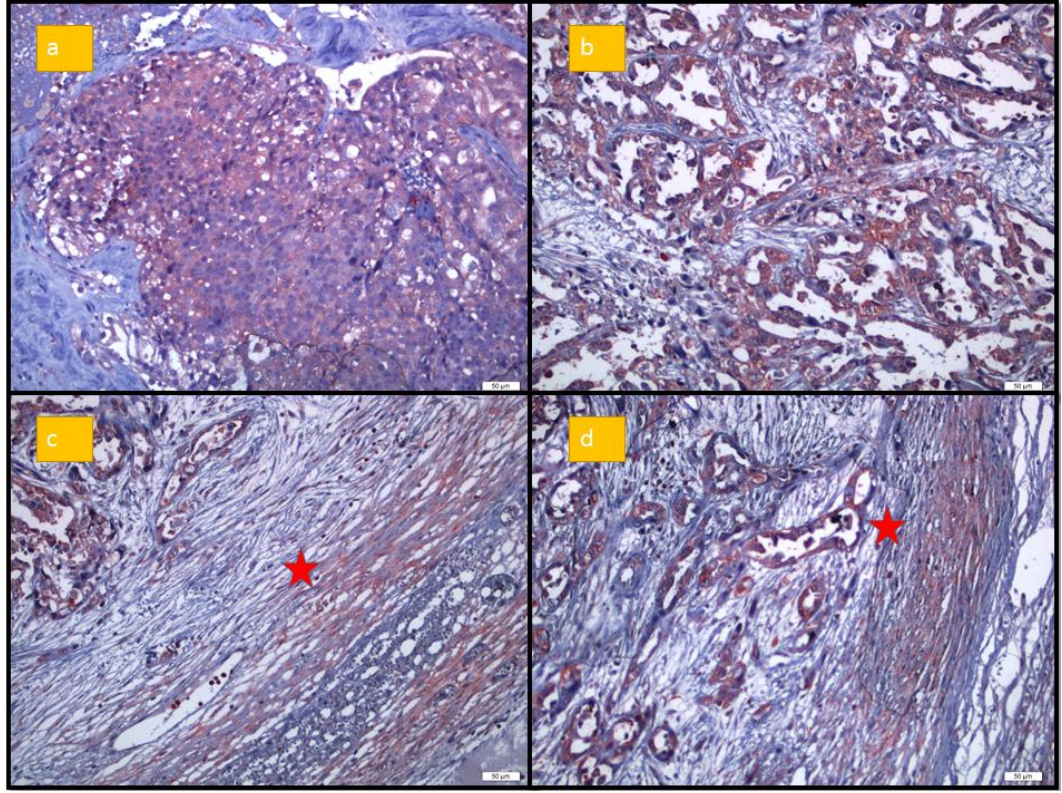
histolojik gradeleri göz önüne alınarak kendi içinde PINCH tümör boyanması açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. X^2 , $p>0,05$ (sırasıyla $p=0,13$ ve $p=0,92$).



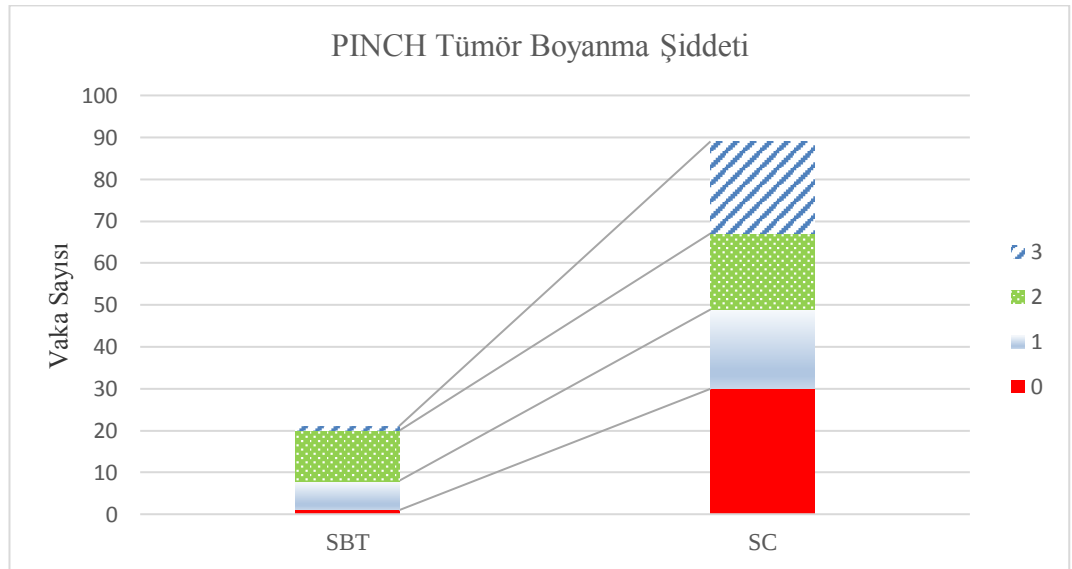
Şekil 16. Streptavidin-biotin peroksidaz x200 büyütme, peritümöral stromada +1 şiddetinde (zayıf) PINCH pozitifliği (yıldız, a); tümörde +1 şiddetinde (zayıf) PINCH pozitifliği



Şekil 17. PINCH tümör boyanma yaygınlığının seröz borderline ve seröz karsinom olgularındaki dağılımı.



Şekil 18. Streptavidin-biotin peroksidaz x200 büyütme, tümörde +2 şiddetinde (orta) PINCH pozitifliği (a ve b); peritümöral stromada +2 şiddetinde (orta) PINCH pozitifliği (yıldız, c ve d).



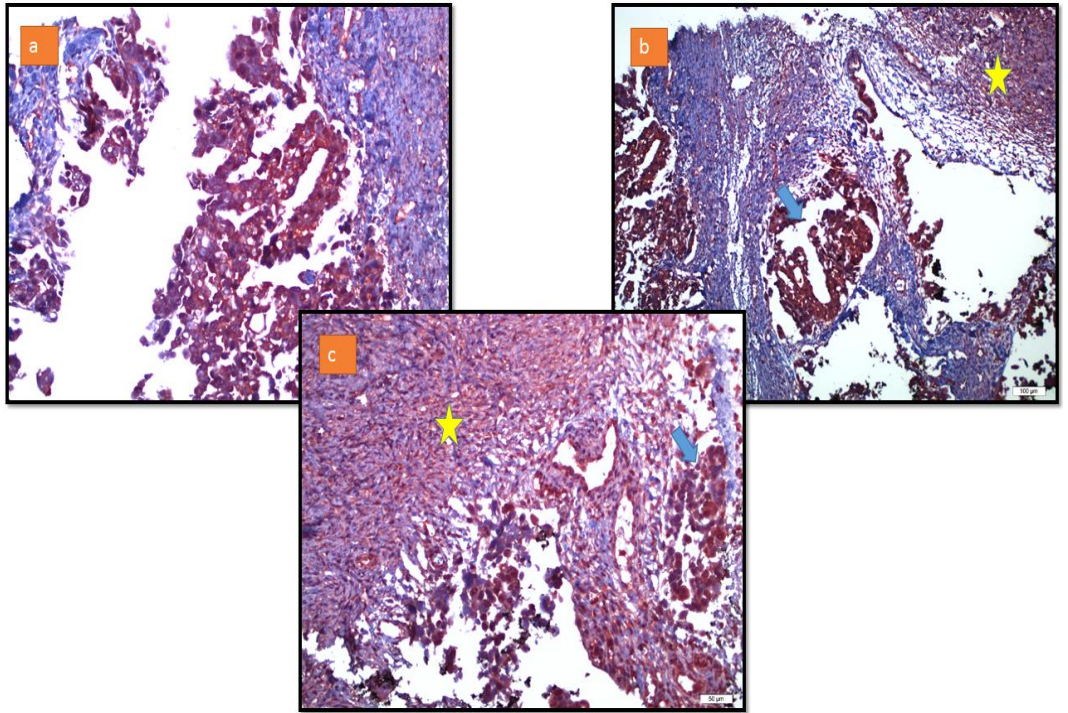
Şekil 19. PINCH tümör boyanma şiddetinin seröz borderline ve seröz karsinom olgularındaki dağılımı.

PINCH tümör boyanma şiddetine göre tümör tipleri ile karşılaştırıldığında, seröz borderline tümörlerin 1'i negatif olup (%4,8), 7'sinde zayıf(+1) (%33,6), 12'sinde orta(+2) (%57,1), 1'inde kuvvetli(+3) (%4,8) şiddette boyanma izlenmiş olup; seröz karsinomların ise 30'u negatif olup (%33,7), 19'unda zayıf(+1) (%21,3), 18'inde orta(+2) (%20,2), 22'sinde kuvvetli(+3) (%24,7) şiddetinde boyanma izlenmiştir (*Şekil 19*). SBT ve SC olguları arasında PINCH tümör boyanma şiddetine göre karşılaştırma yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (X^2 , $p<0,05$) (**Tablo 4.4**). Seröz karsinomlar histopatolojik grade'e göre PINCH boyanma şiddeti ile karşılaştırıldığında ise anlamlı fark görülmemiştir (X^2 , $p=0,84$).

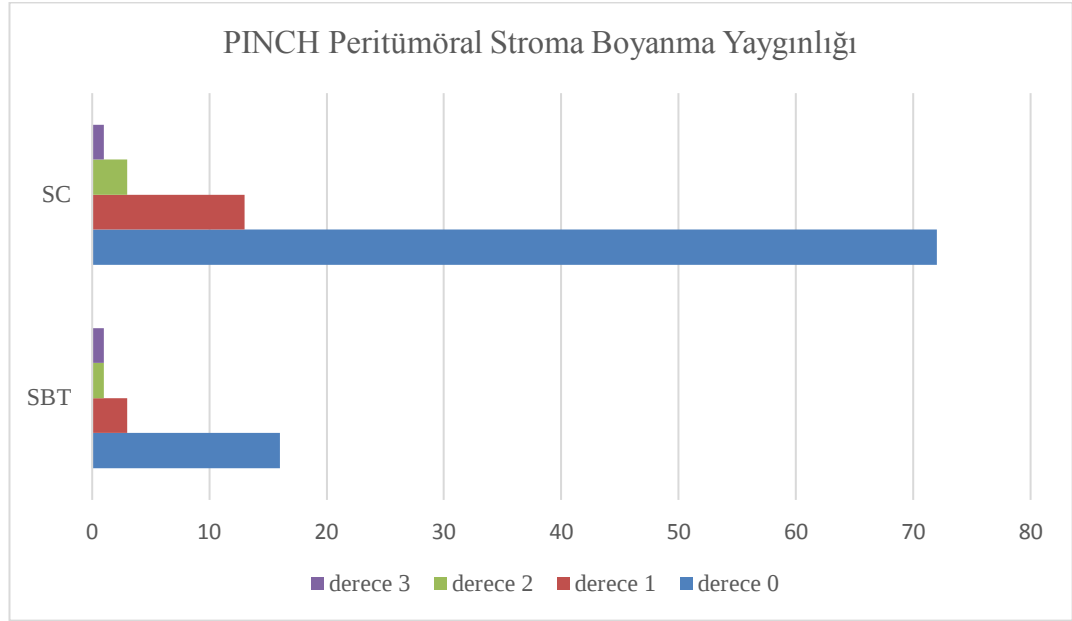
PINCH peritümöral stromal boyanma yaygınlığına göre tümör tipleri ile karşılaştırıldığında, seröz borderline tümörlerin 16'sı negatif olup (%76,2), 3'ü derece 1 (%14,3), 1'i derece 2 (%4,8), yine 1 olguda derece 3'tü (%4,8); seröz karsinom olgularının ise 72'si negatif olup (%80,9), 13'ü derece 1 (%14,6), 3'ü derece 2 (%3,4), 1'i derece 3'tür (%1,1) (*Şekil 21*). PINCH peritümöral stroma boyanma yaygınlığı tümör tipleri ile karşılaştırıldığında ilişki saptanmamıştır, (X^2 , $p=0,71$). Seröz karsinomlar gradelerine göre PINCH peritümöral stroma boyanma yaygınlığına bakıldığında yine istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır, (X^2 , $p=0,94$).

PINCH peritümöral stroma boyanma şiddetine göre tümör tipleri ile karşılaştırıldığında, seröz borderline tümörlerin 16'sı negatif (%76,2), 3'ü orta(+2) (%14,3), 2'si kuvvetli(+3) (%9,5) olup; seröz karsinom olgularının 71'i negatif (%79,8), 6'sı zayıf(+1) (%6,7), 10'u orta(+2) (%11,2), 2'si kuvvetli(+3) (%2,2)

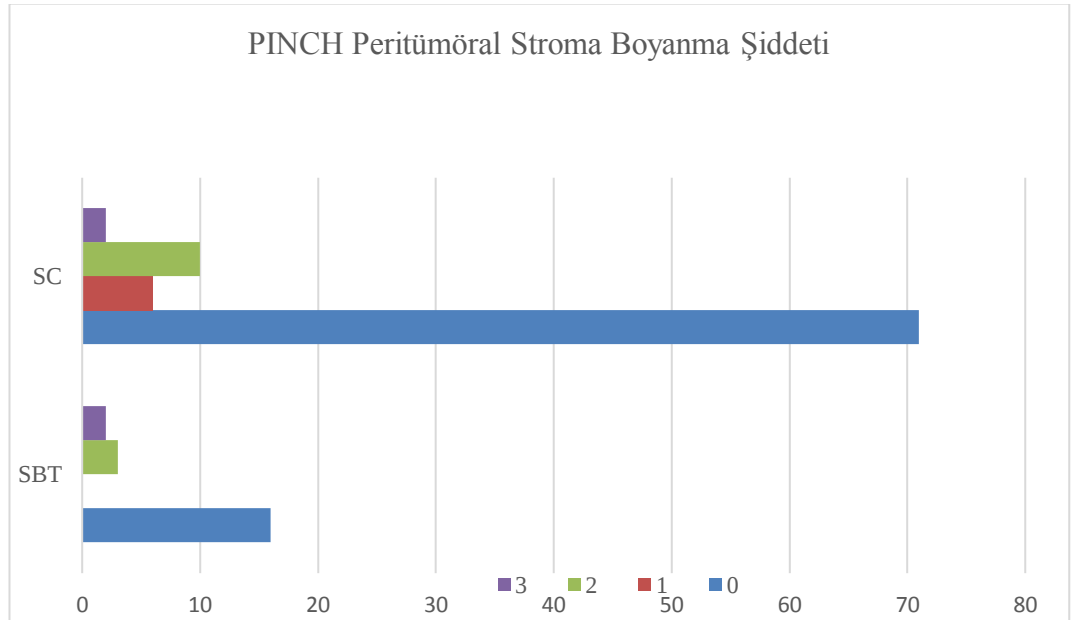
şiddetinde boyanma izlenmiştir (Şekil 22). PINCH peritümöral stroma boyanma şiddetine göre gerek tümör tipi açısından (SC ve SBT), gerekse SC kendi içinde histopatolojik grade açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (X^2 , sırasıyla $p=0,25$ ve $p=0,94$).



Şekil 20. Streptavidin-biotin peroksidaz (a ve c)x200 büyütme, (b)x100 büyütme tümörde +3 şiddetinde (kuvvetli) PINCH pozitifliği (ok,a,b,c); peritümöral stromada +3 şiddetinde (kuvvetli) PINCH pozitifliği (yıldız, b ve c).



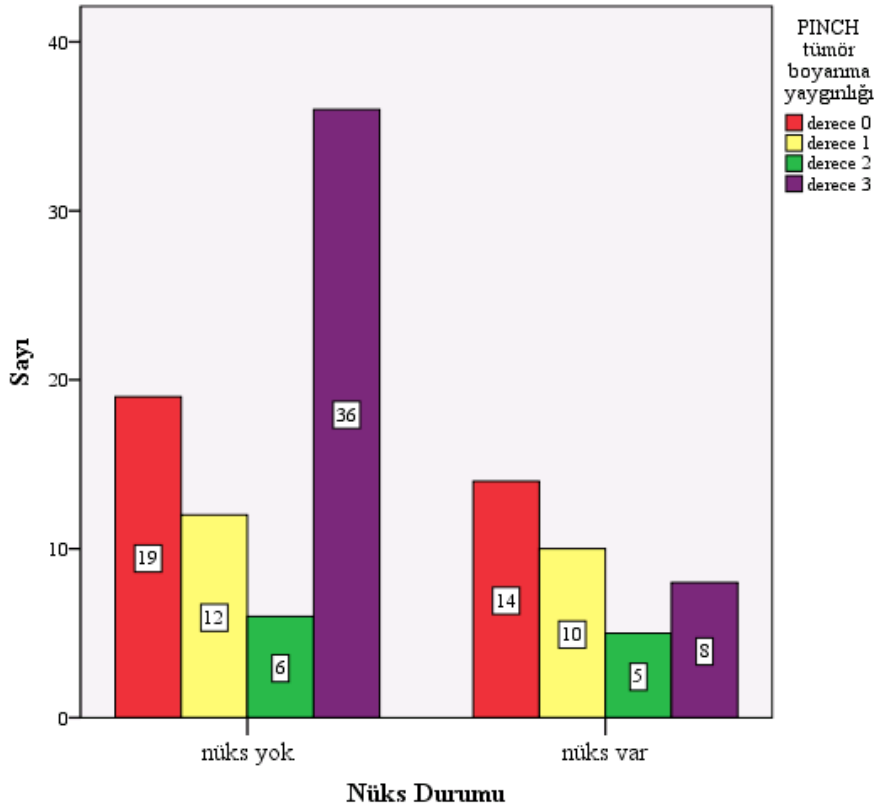
Şekil 21. PINCH peritümöral stroma boyanma yaygınlığının seröz borderline ve seröz karsinom olgularındaki dağılımı.



Şekil 22. PINCH peritümöral stroma boyanma şiddeti seröz borderline ve seröz karsinom olgularındaki dağılımı.

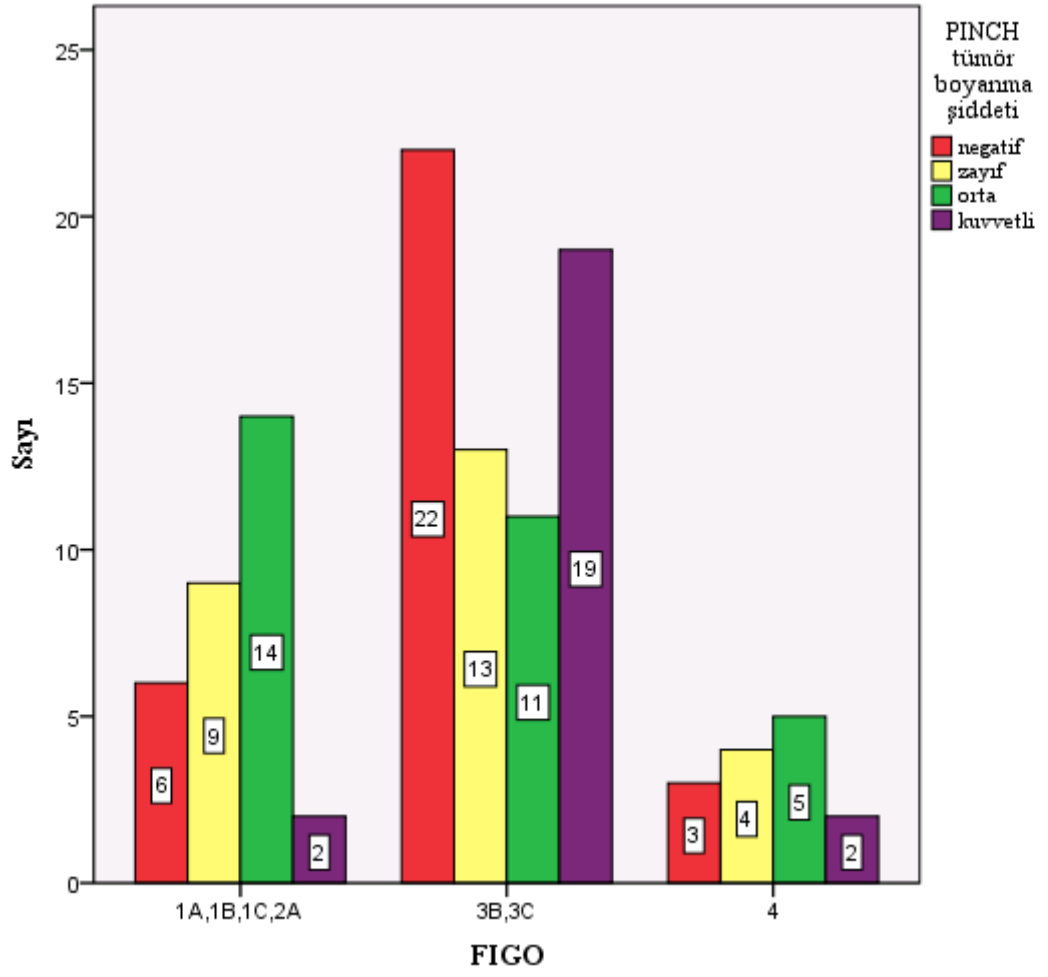
PINCH tümör boyanma şiddetiyle tümör tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olması (Tablo 4.4) dışında; PINCH tümör boyanma yaygınlığı ile nüks ($p=0,04$, Şekil 23, Tablo 4.3); PINCH tümör boyanma şiddeti ile FIGO evresi ($p=0,03$, Şekil 24, Tablo 4.5), uzak ve yakın visseral yayılım ($p=0,03$, Tablo 4.6) ve tümör derecesi arasında ($p=0,001$ Tablo 4.8) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür. PINCH peritümöral stroma boyanma şiddeti ile de tümör boyutu ($p=0,04$) ve over kapsül invazyonu ($p=0,049$, Tablo 4.7) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkili olduğu izlenmiştir.

Sadece seröz karsinomlar içinde PINCH tümör boyanma yaygınlığına göre nüks varlığı ve yokluğu kıyaslandığında, tüm olgular içinden SBT'ler çıkarılma-
dan yapılandan farklı olmadığı, ilişkinin devam ettiği görülmüştür ($p=0,04$) (tüm olgularda nüks varlığı ve yokluğunun PINCH ekspresyonu ile ilişkisi tablo 4.3'de incelenmiştir

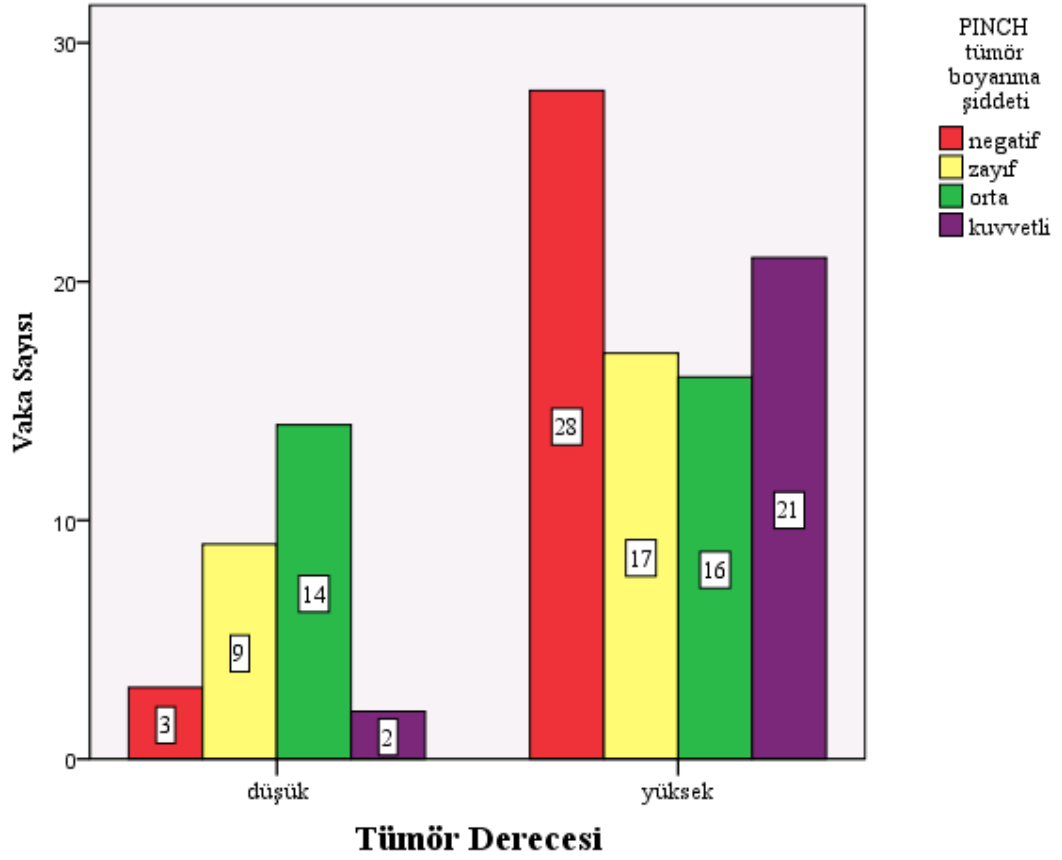


Şekil 23. SBT ve SC olgularında nüks varlığı ve yokluğunun PINCH tümör boyanma yaygınlığına göre grafiği.

FIGO evresine göre PINCH tümör boyanma şiddetine bakıldığında; olgu sayılarının az olması nedeni ile tüm evre I ve evre IIA olgular bir arada değerlendirilip, evre IIIB de evre IIIC'ye dahil edilerek ki-kare testi tekrar uygulanmıştır. Buna göre PINCH ekspresyonu ve FIGO evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark korunmuştur ($p=0,02$) (şekil 24) (Evre IIA'lar Evre I'e; Evre IIIB'ler Evre IIIC'ye dahil edilmeden $p=0,03$ 'tür).



Şekil 24. PINCH tümör boyanma şiddetine göre FIGO'daki olgu dağılımı



Şekil 25. PINCH tümör boyanma şiddetine göre tümör derecesi olgu dağılımı

Tablo 4.3. PINCH Tümör Boyanma Yaygınlığına Göre Nüks İlişkisi (Şekil 23)

X ² p=0,048		PINCH tümör boyanma yaygınlığı				Total
		Derece 0	Derece 1	Derece 2	Derece 3	
Nüks	Yok n *% PINCH tümör boyanma yaygınlığı	19 57,6	12 54,5	6 54,5	36 81,8	73 66,4
	Var n *% PINCH tümör boyanma yaygınlığı	14 42,4	10 45,5	5 45,5	8 18,2	37 33,6
Total		33	22	11	44	110
		30	20	10	40	100

*kolon (sütun) yüzdesi, PINCH: Özellikle İlginç Cys-His Açısından Zengin Bir Protein

**sıra yüzdesi

PINCH tümör boyanma yaygınlığı ile nüks ilişkisine bakıldığında; negatif olan 33 olgunun 14'ünde (%42,4), boyanma derecesi 1 olan 22 olgunun 10'unda (%45,5), boyanma derecesi 2 olan 11 olgunun 5'inde (%45,5) ve boyanma derecesi 3 olan 44 olgunun 8'inde (%18,2) nüks olduğu saptanmıştır. PINCH tümör boyanma yaygınlığına göre nüks durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,05$). Verilerin anlamlandırılması için KT kür sayısı ile ağırlıklandırılmasından sonra nüks varlığı ile PINCH boyanma yaygınlığının arttığı saptanmıştır ($p=0,0001$). Tablo 4.3'de PINCH tümör boyanma yaygınlığına göre nüks ilişkisi sunulmuştur.

Tablo 4.4. PINCH Tümör Boyanma Şiddetine Göre Tümör Tipi ile İlişkisi

X ² p=0,0001			PINCH tümör boyanma şiddeti				Total
			negatif	zayıf	orta	kuvvetli	
Tümör tipi	S.Borderline	n	1	7	12	1	21
		*% PINCH tümör boyanma şiddeti	3,2	26,9	40	4,3	19,1
	Seröz karsinom	n	30	19	18	22	89
		*% PINCH tümör boyanma şiddeti	96,8	73,1	60	95,7	80,9
Total		n	31	26	30	23	110
		**	28,2	23,6	27,3	20,9	100

*kolon (sütun) yüzdesi, PINCH: Özellikle İlginc Cys-His Açısından Zengin Bir Protein

**sıra yüzdesi,

PINCH tümör boyanma şiddetine ile tümör tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcuttur ($p<0,05$). Verilerin anlamlandırılması için CA 125 değerleri ile ağırlıklandırılmasından sonra seröz karsinom olgularında PINCH

tümör boyanma şiddetinin arttığı saptanmıştır (p=0,0001). Tablo 4.4'te PINCH tümör boyanma şiddetine göre tümör tipinin dağılımı incelenmiştir.

Tablo 4.5. PINCH Tümör Boyanma Şiddetine Göre FIGO İlişkisi (Şekil 24)

X ² p=0,022		PINCH tümör boyanma şiddeti				Total
		negatif	zayıf	orta	kuvvetli	
*FIGO	1A,1B,1C, N	6	9	14	2	31
	2A *% PINCH tümör boyanma şiddeti	19,4	34,6	46,7	8,7	28,2
	3B,3C N	22	13	11	19	65
	*% PINCH tümör boyanma şiddeti	71	50	36,7	82,6	59,1
	4 N	3	4	5	2	14
	*% PINCH tümör boyanma şiddeti	9,7	15,4	16,7	8,7	12,7
Total	N	31	26	30	23	110
	**	28,2	23,6	27,3	20,9	100

*kolon (sütun) yüzdesi, PINCH: Özellikle İlginç Cys-His Açısından Zengin Bir Protein

**satır yüzdesi, *FIGO: Uluslararası Jinekoloji ve Onkoloji Federasyonu

Tümör boyanma şiddetine göre; negatif olan 31 olgunun 6'sı (%19,4) evre IA-IIA iken, 22'si (%71) evre IIIB-IIIC, 3'ü (%9,7) evre IV'tür. Şiddeti zayıf(+1) olan 26 olgunun 9'u (%34,6) evre IA-IIA iken, 13'ü (%50) evre IIIB-IIIC, 4'ü (%15,4) evre IV'tür. Şiddeti orta(+2) olan 30 olgunun 14'ü (%46,7) evre IA-IIA iken, 11'i (%36,7) evre IIIB-IIIC, 5'i (%16,7) evre IV'tür. Şiddeti kuvvetli(+3) olan 23 olgunun 2'si (%8,7) evre 1A-2A iken, 19'u (%82,6) evre 3B-3C, 2'si (%8,7) evre 4'tür. PINCH tümör boyanma şiddeti açısından FIGO evresi bakımından istatistiksel olarak fark saptanmıştır (p<0,05). Verilerin anlamlandırılması

için CA 125 değerleri ile ağırlıklandırılmasından sonra evre arttıkça PINCH tümör boyanma şiddetini de arttığı saptanmıştır (p=0,0001).Tablo 4.5'te PINCH tümör boyanma şiddetine göre FIGO evresi dağılımı gösterilmiştir.

Tablo 4.6. PINCH Tümör Boyanma Şiddetine Göre Uzak ve Yakın Visseral Yayılım ile İlişkisi

X ² p=0,038			PINCH tümör boyanma şiddeti				Total	
			negatif	zayıf	orta	kuvvetli		
Uzak ve yakın yayılım	Yakın	n	9	4	4	13	30	
		*% PINCH tümör boyanma şiddeti	33,3	22,2	25	61,9	36,6	
	Uzak	n	18	14	12	8	52	
		*% PINCH tümör boyanma şiddeti	66,7	77,8	75	38,1	63,4	
Total			n	27	18	16	21	82
			**	32,9	22	19,5	25,6	100

*kolon (sütun) yüzdesi PINCH: Özellikle İlginç Cys-His Açısından Zengin Bir Protein

**sattır yüzdesi

PINCH tümör boyanma şiddeti açısından uzak ve yakın yayılım bölgeleri bakımından istatistiksel olarak fark vardır (p<0,05). Verilerin anlamlandırılması için CA 125 değerleri ile ağırlıklandırılmasından sonra uzak yayılımla birlikte PINCH tümör boyanma şiddetini de arttığı saptanmıştır (p=0,0001).Tablo 4.6'da PINCH tümör boyanma şiddetine göre uzak ve yakın yayılım bölgelerine dağılımı gösterilmiştir.

Tablo 4.7. PINCH Peritümöral Stroma Boyanma Şiddetine Göre Over Kapsül İnvazyonu ile İlişkisi

			PINCH peritümöral stroma boyanma şiddeti				Total
			negatif	zayıf	orta	kuvvetli	
X^2 p=0,049							
over kapsül invazyonu	Negatif	n	20	0	4	2	26
		*% PINCH peritümöral stroma boyanma şiddeti	30,3	0	44,4	100	31,3
	Pozitif	n	46	6	5	0	57
		*% PINCH peritümöral stroma boyanma şiddeti	69,7	100,0	55,6	0	68,7
Total	n		66	6	9	2	83
	**		79,5	7,2	10,8	2,4	100

*kolon (sütun) yüzdesi PINCH: Özellikle İlginç Cys-His Açısından Zengin Bir Protein

**sətir yüzdesi

Peritümöral stroma boyanma şiddeti negatif olan 66 olgunun 46'sında over kapsül invazyonu (%69,7) pozitifdir. Şiddeti zayıf(+1) olan 6 olgunun 6'sı da (%100) over kapsül invazyonu pozitifdir. Şiddeti orta(+2) olan 9 olgunun 5'inde (%55,6) kapsül invazyonu pozitifdir. Şiddeti kuvvetli(+3) olan 2 olgunun 2'sinde de (%100) over kapsül invazyonu negatifdir.

PINCH peritümöral stroma boyanma şiddeti açısından over kapsül invazyonu bakımından fark vardır ($p < 0,05$). Bu fark yorumlanmaya çalışıldığında over kapsül invazyonu olan olguların daha fazla oranda PINCH boyandığı dikkatimizi çekmekle birlikte anlamlı bir korelasyon veya lineer bir artış istatistiksel olarak gösterilememiştir. Tablo 4.7'de PINCH peritümöral stroma boyanma şiddeti ile over kapsül invazyonu ilişkisi gösterilmiştir.

Tablo 4.8. PINCH Tümör Boyanma Şiddetine Göre Tümör Derecesi ile İlişkisi (Şekil 25)

X ² p=0,001			PINCH tümör boyanma şiddeti				Total
			negatif	Zayıf	orta	kuvvetli	
Tümör derecesi	Düşük	n	3	9	14	2	28
		*% PINCH tümör boyanma şiddeti	9,7	34,6	46,7	8,7	25,5
	Yüksek	n	28	17	16	21	82
		*% PINCH tümör boyanma şiddeti	90,3	65,4	53,3	91,3	74,5
Total	n		31	26	30	23	110
	**		28,2	23,6	27,3	20,9	100

*kolon (sütun) yüzdesi PINCH: Özellikle İlginç Cys-His Açısından Zengin Bir Protein

**sattır yüzdesi

Tümör boyanma şiddeti negatif olan 31 olgunun, 28'inde (%69,7) tümör derecesi yüksektir. Şiddeti zayıf(+1) olan 26 olgunun 17'sinin (%65,4) tümör derecesi yüksektir. Şiddeti orta(+2) olan 30 olgunun 16'sında (%53,3) tümör derecesi yüksektir. Şiddeti kuvvetli(+3) olan 23 olgunun ise 21'inin (%91,3) tümör derecesi yüksektir.

PINCH tümör boyanma şiddeti ile tümör histopatolojik derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p<0,05). Bu fark incelendiğinde yaş ile veriler ağırlaştırıldığında tümör derecesi arttığında PINCH şiddetinde de artma izlenmektedir (p=0,0001). Tablo 4.8'de PINCH tümör boyanma şiddetine göre tümör derecesi arasındaki ilişkili gösterilmiştir.

PINCH tümör ve peritümöral stroma ekspresyonu ile prognozla direk ve indirekt ilişkili olabilecek 12 farklı parametre karşılaştırıldı. Bu parametrelerden yaş grupları, tümör unilateral/bilateral lokalizasyonu (*), batın yıkama sitolojisi

+/-(**), lenf nodu metastazı varlığı yokluğu(***), CA 125 değeri ile PINCH ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

*Tümör lokalizasyonu (unilateral/bilateral over tutulumu) PINCH ekspresyonları açısından karşılaştırıldığında lenf nodu metastazı yapan olgulardaki gibi PINCH ekspresyonunun bilateral over tutulumu olan olgularda daha fazla olduğu dikkati çekmiştir. Özellikle PINCH peritümöral stroma boyanma şiddetiyle bilateral over tutulumu arasında istatistiksel anlamlı olabilecek fark ve artmış lineer ilişki dikkati çekmektedir ($p=0,055$ $r_s=0,024$).

**İstatistiksel olarak anlamlılıkları gösterilemeyen batın yıkamada tümör saptanan olgularda PINCH kuvvetli boyanmasının, batın yıkama sitolojisi negatiflerden fazla olduğu dikkati çekmektedir.

***Lenf nodu metastazı yapan olgularda istatistiksel olarak PINCH ekspresyonu artışı ile istatistiksel anlamlılıkları izlenemese de bu olgularda PINCH kuvvetli boyanmasının lenf nodu metastazı yapmamış olgulardan fazla olduğu dikkati çekmektedir.

5. TARTIŞMA

Over karsinomları jinekolojik malignensiler arasında en yüksek mortaliteye sahiptir. Her yıl dünya çapında ortalama 225.000 yeni olgu tanı almakta ve bunların 140.000 kadarı ölmektedir (6). Over maligniteleri kadın genital sistem malignitelerinin %30'unu oluştururlar. Jinekolojik kanserler içinde endometrium kanserlerinden sonra 2. en sık görülen kanserlerdir. Erken tanı ve tedavi yöntemleri sınırlı olup, birçok olgu ileri evrelerde yakalanabilmektedir.

USA'da her yıl yaklaşık 21,980 kişi primer over, tuba ve peritoneal karsinom tanısı almakta olup, bunların büyük bir kısmı ileri evre hastalardır. Hastalara standart olarak primer sitoredüksiyon / debulking cerrahiyi takiben platin ve taxen bazlı kemoterapi protokolü uygulanmaktadır (55). Bizim olgularımızın da büyük kısmına debulking cerrahiyi takiben standart olarak en az 6 kür platin ve taxen KT planı yapılmıştır.

PINCH geni kromozomu 2q12.2 üzerinde olup, ilk kez 1994 yılında tanımlanmıştır. LIM ailesine ait, 5 LIM domaini içeren, protein etkileşimlerini yönlendiren iki adet çinko çıkıntısı içeren 3 adet protein bağlayan ünitelerden oluşur, organ gelişiminde ve hücre-hücre interaksiyonlarında rol oynar (56)(57). PINCH ekspresyonu ilk olarak tümör stromasında fibroblastoid hücrelerin sitoplazmasında gösterilmiştir. PINCH'in tümörle ilişkili stromada, fibroblastlarda, myofibroblastlarda ve endotel hücrelerinde eksprese olduğu gözlenmiştir (46)(52).

Yapılan son çalışmalarda tümör ve tümör ilişkili stromanın interaksiyonunda hücre-hücre adezyonu nun önemli rol oynadığı görülmüştür (58). Hücre-ECM adezyonu hücrenin migrasyonunda, bölünmesinde, hücre sinyallerinin ile-

timinde, kısacası hücre homeostazında rol oynar. Çevre doku ve tümörün etkileşimindeki değişiklikler dolayısıyla surviye, tümörün malign progresyonuna ve invazyonuna etki etmektedir. Bilindiği gibi hücrenin çevresiyle olan ilişkisini kontrol eden hücre dışı sinyalleri ve uyarıları hücre içine taşıyan ana protein integrinlerdir. PINCH’de integrin bağlayıcı bir protein olarak ECM ile iletişimi sağlayan önemli bir fokal adezyon proteinidir. Bu nedenle de birçok memeli hücresinden ekspresyonu olur.

PINCH ekspresyonu meme, kolon, prostat, akciğer, skuamöz hücreli karinom ve birçok malign tümörde yüksek seviyelerde tespit edilmiştir. Özellikle literatürde kolon, pankreas ve oral epitelyal kanserlerde kötü prognozla PINCH ekspresyonunun ilişkili olduğu görülmüştür (5)(51)(59).

Tümör ilişkili stromanın kanser gelişiminde ve invazyonunda önemli kolaylaştırıcı etkisinin olduğu ve bazı tümörlerde PINCH ekspresyonu özellikle invaziv marjinlerde gösterildiği bilinmektedir (51)(59)(60).

Bu konuda literatürde ki ilk çalışma Wang-Rodriguez ve arkadaşlarının yaptığı, istatistiksel veri kullanılmamış olan bir çalışma olup; 33’ü meme kanseri, 22’si prostat kanseri, 5’i kolon kanseri, 6’sı akciğer kanseri ve 8’i deri kanseri olmak üzere 74 olguda PINCH ekspresyonu incelenmiştir. Özellikle meme karsinomları olmak üzere tümörlerde invaziv marjinlerde, tümör ilişkili stromal hücrelerde PINCH ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle PINCH’in invazyonu teşvik eden bir marker olabileceği düşünülmüştür. PINCH fonksiyonunun sinyal iletiminde moleküler bir switch olması nedeniyle de yeni keşfedilecek ilaçların hedefi olabileceği dile getirilmiştir (51).

Lööf ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 251 primer kolorektal adenokarsinom olgusunda tümör ilişkili yakın ve uzak normal mukozada, tümör ve invaziv cerrahi sınırlar ile lenf nodu metastazlarında PINCH ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. PINCH boyanma şiddeti negatif, zayıf ve orta olan olguları tek bir grup altında, zayıf grup olarak adlandırmış ve kuvvetli boyanan olguları da ikinci bir grup olarak kabul etmişlerdir. Buna göre 149 yakın normal mukoza örneğinin % 71'i zayıf ve %29'u kuvvetli boyanmıştır. 57 uzak normal mukozanın %61'i zayıf, %39'u kuvvetli boyanmıştır. 251 primer tümör olgusunun %46'sı zayıf, % 54'ü kuvvetli boyanmış olup, 75 lenf nodu metastazının %20'si zayıf, % 80'i kuvvetli boyanmıştır. Buna göre araştırmada tümör ilişkili yakın normal mukozada kuvvetli stromal boyanma, cinsiyet, yaş, tümör lokalizasyonu, diferansiasyon ve evreden bağımsız olarak kötü prognozla ilişkili bulunmuştur ($p=0,0008$). Yine primer tümör invaziv cerrahi sınırındaki kuvvetli PINCH boyanması bir önceki kadar önemli olmasa da kötü prognozla ilişkili bulunmuştur ($p=0,051$). Bunun dışında iyi-orta differansiye tümörlerde PINCH boyanmasının survi ile ilişkisi yokken ($p=0,40$), az differansiye tümörlerdeki invaziv cerrahi sınırlardaki PINCH kuvvetli boyanması kötü survi ile ilişkili bulunmuştur ($p=0,001$) (2).

Gao ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada da tümör ve onunla ilişkili stromanın tümör gelişimine katkısı PINCH ekspresyonu incelenerek değerlendirilmiştir. 174 primer kolorektal adenokarsinom ile birlikte 39 tümöre uzak normal mukoza ve 26 lenf nodu metastazının incelendiği bu çalışmada stromada PINCH protein ekspresyonunun normal mukozadan, primer tümör ve en son metastaza doğru arttığı ($p<0,05$) ve invaziv cerrahi sınırlarda tümöre nazaran daha

şiddetli boyanma olduğu görülmüş. Ek olarak invaziv cerrahi sınırlarda kuvvetli PINCH boyanması görülen olguların zayıf boyanan olgulara göre daha kötü prognozlu olduğu izlenmiştir ($p=0,049$). Yaş, cinsiyet, evre, tümör lokalizasyonu, tümör diferansiasyonu ve inflamasyondan bağımsız olarak çok değişkenli analizlerde survi ile PINCH ekspresyonu ilişkisi devam etmiştir ($p=0,01$) (59).

Scaife ve arkadaşlarının yaptığı pankreatik duktal adenokarsinomlarda PINCH ekspresyonunun prognozu belirlemede doğru prediktif bir değer olup olmadığını araştırdıkları çalışmalarında murine kobay farelerinde primer ve metastatik tümörler PINCH ekspresyonu karşılaştırılmıştır. Ayrıca insan örneklerinde de PINCH ekspresyonunun evre, lenf nodu tutulumu, cerrahi sınır durumu ve overall survi ile ilişkisine bakılmıştır. Murine kobay farelerinde metastatik tümörlerin primer tümörlerden daha fazla PINCH eksprese ettiği saptanmıştır. Primer tümör gelişimi izlenen 10 deney hayvanının 9 unda 19 uzak metastaz izlenmiştir. İnsan ve murine deney hayvanlarına ait pankreas duktal adenokarsinom örneklerinde özellikle pankreas asiner hücrelerindeki kuvvetli PINCH boyanması dikkati çekmiştir. Metastatik tümör ve primer tümör alanlarında tümör stroması ile tümör hücreleri karşılaştırıldığında PINCH boyanması ve şiddetinin önemli oranda stromada daha fazla olduğu izlenmiştir ($p<0,05$). İnsan örneklerinde yüksek T durumu ve kötü prognozla PINCH ekspresyonunun arttığı izlenmiş ve PINCH ekspresyonunun hem kobaylarda hem insanda invaziv ve agresif tümör fenotipiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (5).

Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 82 gliom olgusu incelenmiş, bunların 26'sında tümör komşuluğundaki normal beyin dokusunda değerlendiril-

rildiği bir grup; 10 olgu da rekürrensini izlendiği ikinci bir grup olarak incelenmiş. İki grupta da yer alan 2 olgu bulunmaktaymış. Değerlendirilen primer tümör olgularının 51'i glioblastom, 3'ü oligodendrogliom, 26 mikst gliom (çoğu oligoastrocitom) ve 2'si de medulloblastommuş. Olgular PINCH boyanmasına ve şiddetine verilen skorlar toplandıktan sonra zayıf ekspresyon ve kuvvetli ekspresyon şeklinde, cutoff skor 4 alınarak iki gruba ayrılmış. Normal beyin dokusunda zayıf PINCH ekspresyonu izlenirken, 32 (%39) primer tümör olgusunda ve 4 (%40) rekürrens gösteren tümör olgusunda kuvvetli PINCH ekspresyonu saptanmıştır. Primer tümör ve rekürrens gösteren tümör ile normal beyin dokusunda PINCH boyanması karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,004$). Ancak primer ile rekürrens gösteren olgular arasında PINCH boyanması açısından istatistiksel fark görülmemiştir ($p=1,0$). Yüksek gradeli olgular düşük gradeli olgularla karşılaştırıldığında yüksek gradelilerde %55 oranında daha fazla kuvvetli PINCH boyanması saptanmıştır ($p=0,04$) (53).

141 primer kolorektal adenokarsinom olgusu ve bu hastalardaki 92 normal kolorektal mukozayı değerlendiren Zhao ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada ise 135 olgunun 86'sında (%64) peritümöral PINCH ekspresyonunun intratümöral ekspresyondan daha kuvvetli olduğu izlenmiştir. Normal mukozaya ile karşılaştırıldığında tümöral dokuda normal mukozaya göre PINCH ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı saptanmıştır ($p<0,0001$). Negatif, zayıf ve orta gruplar toplanıp zayıf diye adlandırılan bir grup yapıldığında ve kuvvetli grupla istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, kuvvetli PINCH ekspresyonunun yüksek gradeli müsinöz/taşlı yüzük hücreli karsinomlarda non-müsinöz karsinomlara göre

sıklığının arttığı izlenmiştir ($p=0,02$). Çalışmada yaş, cinsiyet, lokalizasyon, tümör büyüklüğü, histolojik tip, differansiasyon, invazyon derinliği, lenf nodu tutulumu ile PINCH ekspresyonunun ilişkisi saptanamamıştır ($p>0,05$). Çalışmada anlamlı çıkmasada lenf nodu metastazı olan olgularda metastaz olmayanlara göre daha yüksek PINCH ekspresyonu izlenmiş (61).

Zhang, Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da PINCH ekspresyonu normal endometriumda, atipik endometrial hiperplazide ve endometrioid karsinomdaki ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. Bunun için 23 normal endometrium, 18 atipik endometrial hiperplazi ve 48 endometrioid karsinom olgusunda

PINCH ekspresyon gruplarını skorlayıp, skor toplamaları 3'ün altı ve 3 dahil üzeri olmak üzere PINCH (+) ve (-) şeklinde olguları iki grupta incelemiştir. Buna göre 48 endometrioid karsinom olgusunun 34'ünde (%71) PINCH(+) izlenmiş bu oran atipik endometrium ve normal endometrium ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ($p<0,0001$ ve $p=0,017$) anlamlı bulunmuştur. 9 kanser olgusunda invaziv sınırlarda tümör içine göre daha kuvvetli PINCH ekspresyonu olduğu görülmüştür. Ayrıca bu çalışmada hipertansiyonu ve 30 yıldan fazla östrojen maruziyeti olan tümör olgularında PINCH ekspresyonunun arttığı izlenmiştir ($p=0,041$ ve $p=0,021$). Hastaların yaşları, gravidaları, kan şekeri, kan lipid profili, ailesel kalıtım, histolojik grade, miyometrial invazyon, serviks tutulumu, östrojen ve progesteron reseptörleri ile büyüme patterni açısından PINCH ekspresyonuyla ilişkisi saptanamamıştır ($p>0,05$). PINCH ekspresyonunun tümör gelişiminde şimdilik bilinmeyen bir role sahip olduğu vurgulanmıştır(52).

Andreasson ve arkadaşları da PINCH in pseudomiksoma peritoneide stromal ekspresyonunu ve prognostik önemini araştırmıştır. Bunun için pseudomiksoma peritoneili 81 hastanın örneklerini değerlendirilmiştir. PINCH ekspresyonu açısından peritoneal kanser indeksi gruplarıyla korelasyon izlenmiş olup ($p=0,002$), stromal PINCH ekspresyonu yüksek tümör derecesi ve kötü prognozla ilişkili bulunmuş ($p=0,002$ ve $p=0,04$) (62).

Zhu ve arkadaşları da özefagus skuamöz hücreli karsinomunda PINCH ekspresyonunun klinikopatolojik önemini incelemişler. Bunun için 20 normal özefagus mukozası ve 64 özefagus skuamöz hücreli karsinom olgusu değerlendirilmiştir. 20 normal mukozaya ait örnekten sadece birisinde PINCH boyanması izlenmiş. 64 kanser olgusunun 36'sında (%56) tümör ilişkili stromada PINCH pozitifdir. Tümörlü olgularla normal mukoza karşılaştırıldığında PINCH boyanmasının istatistiksel olarak anlamlı olduğu izlenmiş ($p<0,0001$). PINCH pozitifliği izlenen olgularda heterojen şiddette boyanma dikkati çekmiş olup, bu olgularda invaziv alanlarda daha içerdeki tümör ilişkili stromaya oranla boyanmanın arttığını gözlemlemişlerdir. PINCH ekspresyonu lenf nodu metastazı olan olgularda daha fazla izlenmiştir ($p<0,0001$). Bu araştırmada da PINCH boyanması cinsiyet, yaş, tümör lokalizasyonu, boyutu ve differansiasyonundan bağımsız bulunmuş ($p>0,05$). Tümör içi stromada ve invaziv alanlarda artmış kuvvetli PINCH ekspresyonu PINCH'in tümör gelişimi, invazyon ya da metastazda rol oynayabileceğini ek olarak fibroblast ve miyofibroblastlarında invazyon ve metastazda köprü vazifesi görebileceğini düşünmüşlerdir (60).

Gastrik adenokarsinomlarda PINCH ekspresyonunu değerlendiren bir başka çalışmada ise 30 normal gastrik mukoza ve 73 gastrik adenokarsinom olgusu incelenmiştir. PINCH boyanması negatif (negatif, zayıf, orta) ve kuvvetli olmak üzere iki grupta değerlendirmişler. Buna göre 30 normal mukozadan 13'ünde (%43) PINCH pozitif olarak bulunmuştur. 73 kanser olgusununda 55'i pozitif olup (%75) 38'i (%52) kuvvetli PINCH ekspresyonu göstermiştir. Tümör ilişkili stromadaki boyanma heterojen özellikte olup özellikle 24 olguda invaziv tümör alanlarında tümör ii stromaya nazaran daha fazla boyanma izlenmiştir. Buna göre PINCH pozitif kanser olgularında normal mukozaya göre önemli ölçüde daha fazla boyanma sağtanmıştır ($p=0,002$). Ayrıca lenf nodu metastazı gösteren olgularda istatistiksel olarak anlamlı olmak üzere daha yüksek oranda PINCH pozitifliği izlenmiştir ($p=0,001$). Gastrik adenokarsinomlarda da tümör gelişimi ve metastaz açısından PINCH proteinin önemli rol oynadığı düşünülmektedir (54).

Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışamada da Kolorektal adenokarsinomlarda PINCH mRNA ekspresyonunun klinikopatolojik özelliklerle, proliferasyon hücre nükleer antijeniyle (PCNA), vasküler endotelial büyüme faktörüyle (VEGF) ve FAS ile ilişkisi incelenmiş. 81 kolorektal karsinom olgusunda, primer kanser dokuları, tümöre yakın normal mukoza, proksimal ve distal cerrahi sınırlar çalışılmış. PINCH, PCNA, VEGF ve FAS mRNA ekspresyonları RT-PCR ile incelenmiş. Olguların 51'i non-müsinöz adenokarsinom, 24' müsinöz-taşlı yüzük hücreli karsinom şeklindeymiş ve bunların 5'i iyi differansiye, 53' orta derecede differansiye olup, 20'si de az differansiye tümörlerden oluşuyormuş.

Çalışmada PINCH mRNA ekspresyonu primer tümörde, tümöre yakın normal mukozaya, proksimal ve distal cerrahi sınır normal mukozasına göre artışı anlamlıymış ($p<0,0001$). Bununla birlikte PINCH mRNA ekspresyonu kolon kanserinde rektum kanserine oranla daha yüksekmiş ($p=0,051$). Bunun nedeni olarak iki tümörün gelişim yolağı ile ilişkili farklı moleküler yollar olabileceğini (adenomatöz polipozis coli/katenin yolağı) düşünmüşler. Primer tümör PINCH mRNA ekspresyonu PCNA mRNA ekspresyonu ($r=0,534$ $p=0,010$), VEGF mRNA ($r=0,431$ $p=0,022$) ve FAS mRNA ($r=0,542$ $p=0,012$) pozitif korelasyon göstermiş. Bu çalışmada da PINCH'in tümör gelişiminde, anjiogenez, proliferasyon ve apoptozis basamaklarında etkili olabileceğini göstermişler (63).

Sun ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada da oral skuamöz hücreli karsinomlarda (OSCC) klinikopatolojik önemi araştırılmış. Bu çalışmada 20 normal oral mukoza ve 57 OSCC olgusu değerlendirilmiş. Çalışma diğer çalışmalarda gösterdiğine benzer sonuçlar vermiş. Yine tümör ilişkili stromada OSCC olguların %37'sinde kuvvetli PINCH boyanması izlenirken karşılaştırılan normal mukozada oran %10'lar seviyesinde kalmış. Kuvvetli PINCH boyanmasının lenf nodu metastazını öngörmedeki başarısı ise nodal metastaz olan OSCC'ların 19/26 (%73) kuvvetli PINCH boyanması izlenmiş olup, nodal metastaz olmayan OSCC'lerde ise kuvvetli PINCH boyanması 9/31 (%29) oranında kalmıştır ($p=0,02$). Yine invaziv alanlarda intratumöral stromadan daha fazla PINCH ekspresyonu izlenmiştir. Araştırmacılar PINCH proteini artışının OSCC invazyon ve metastazında destekleyici bir rolü olduğu sonucuna varmışlardır (64).

Bütün bu çalışmalarda ve toplanan verilerde tümör ve tümör ilişkili stromada yüksek PINCH ekspresyonunun kanser progresyonunda önemli bir komponent olabileceğini dolayısıyla da surviye etkili olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca PINCH ekspresyonunun kanser gelişiminde ve tedavisinde araştırmacıların henüz odaklanmadığı; ama ileride hedef tedavi seçenekleri oluşturabilecek yollar ve mekanizmalarla ilişkili olduğunu vurgulayan araştırmalarda mevcuttur(65).

Bu çalışmada seröz borderline tümörler ve seröz karsinomlardan oluşan 110 olguda tümör ve tümör çevresi peritümöral stromada PINCH ekspresyonu incelendi. PINCH ekspresyonu boyanma şiddeti ve boyanma yaygınlığına göre ayrı ayrı değerlendirildi ve prognoza etki eden klinikopatolojik parametreler ile istatistiksel karşılaştırılma yapıldı.

Buna göre FIGO evresi arttıkça PINCH tümör boyanma şiddetinin arttığı görüldü ($p<0,05$). Yine nüks olan olgularda PINCH tümör boyanma oranında artış olduğu dikkati çekti ($p<0,05$). Olguların klinik takipleri bilinmemekle birlikte, PINCH ekspresyonunun FIGO evresi ve nüks gibi 2 önemli prognosik parametre ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki göstermesi, PINCH ekspresyonunun yaşam süresini etkileyebilecek bir belirleyici olabileceğini düşündürmüştür. PINCH ekspresyonu tümör tiplerine göre değerlendirildiğinde, SC olgularında PINCH tümör boyanma şiddeti istatistiksel olarak anlamlı olarak artmış saptanmıştır ($p<0,05$). Ek olarak PINCH tümör boyanma şiddetinin uzak visseral yayılımının izlendiği olgularda arttığı görülmüştür ($p<0,05$).

Ayrıca PINCH peritümöral stroma boyanma şiddeti ve boyanma yaygınlığıyla tümör boyutu arasında zayıf düzeyde negatif yönde bir ilişki söz konusu

olup ($p<0,05$), PINCH peritümöral stroma boyanma şiddetiyle over kapsül invazyonu arasında istatistiksel fark anlamlıdır. Bu fark ilişkisi net ortaya konulamamıştır. Over kapsül invazyonu olan çok daha fazla sayıda olgunun zayıf ve orta şiddette boyandığı izlenmiştir. Farkın net olarak ortaya çıkarılamamasında PINCH negatif olgu sayısının çok oluşunun etkisi olduğu düşünülmektedir.

Bir başka en önemli prognostik belirteç olan lenf nodu metastazı varlığıyla PINCH ekspresyonu arasında çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ($p>0,05$). Bunun nedeni lenf nodu diseksiyonu yapılmayan hastalarla, lenf nodu diseksiyonu sonucu metastaz izlenmeyen hastaların toplam sayısının, lenf nodu metastazı saptanan hasta grubuna yakın sayıda olmasının olabileceği düşünülmektedir. İstatistiksel anlamlılık olmasa da lenf nodu metastazı olan olgularda PINCH kuvvetli ekspresyonunun metastaz olmayanlardan fazla oluşu dikkati çekmektedir. Aynı şekilde istatistiksel olarak anlamlılıkları gösterilemeyen batin yıkamada tümör varlığı ve bilateral over tutulumunda da PINCH kuvvetli ekspresyonu izlenmektedir.

Bu çalışmada ayrıca PINCH tümör boyanma şiddetiyle tümör histopatolojik gradei arasında istatistiksel olarak fark vardır ($p<0,05$). Bu fark yüksek gradeli olgularda PINCH ekspresyonu artışı şeklinde kendini göstermektedir.

İncelenen 12 parametreden 5'i (yaş, CA 125, batin yıkama sitolojisi +/-, lenf nodu metastazı +/-, tümör unilateral/bilateral lokalizasyonu) istatistiksel olarak PINCH ekspresyonuyla bağımsız değişkenler olarak saptanmıştır ($p>0,05$).

Tüm bulgular içerisinde incelendiğinde çalışmamız literatürle birçok açıdan uyumlu gözükmektedir. Değişik tümör tiplerinde değerlendirilen PINCH

ekspresyonu nun kötü prognozla ilişkili olduğu belirtilmektedir (5)(51)(59)(65)Olguların net survilerine ait bilgi elde edilememiş olsa da prognoza etki eden en önemli üç parametre ile (FIGO, nüks ve yüksek grade) PINCH ekspresyonu arasında anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda olduğu gibi indirekt olarak lenf nodu metastazı ile olgularda PINCH ekspresyonlarını korele eden çalışmaların bazılarında lenf nodu metastazı ile istatistiksel anlamlı fark çıkmamasına rağmen, PINCH ekspresyonunun metastaz saptanan olgularda yüksek ve kuvvetli oluşu belirtilmektedir.

Yine bazı çalışmalarda tümör invaziv marjinlerindeki ve tümör ilişkili stromadaki PINCH ekspresyonunun ana tümöre göre daha kuvvetli boyandığına dikkat çekilmektedir (54). Bu çalışmada farklı olarak, genel olarak tümör ve peritümöral stromadaki PINCH ekspresyonları göz önüne alındığında, tümörü oluşturan epitelyal hücrelerde PINCH ekspresyonunun daha yoğun olduğu izlenmiştir. Tümörle net ilişkisi gözlenemeyen ve over parankiminde tümöre görece uzak stroma ve stroma içindeki damar yapılarında, bazı olgularda en az tümör epitelyal hücreleri kadar çok PINCH ekspresyonu göstermesi ve hatta bazı PINCH negatif olgularda da bahsedilen tümöre uzak stromanın komponentlerinde PINCH ekspresyonunun görülmesi dikkatimizi çekmiştir. Bunun nedeninin tümör ilişkili stroma ve mikroçevre ECM içeriği ya da bir takım mediatörler olabileceği düşünülmektedir. Scaife ve arkadaşlarının makalelerinde bahsettiği gibi ekstrasellüler matriks artışı tümör gelişimine, metastaza yol açıyor olabilir (58). PINCH'in ECM ile hücre içi iletişimi integrinler vasıtasıyla sağlanmaktadır ve büyüme faktörü (PDGF, EGF, İGF vb.) bağımlı ligand-reseptör ilişkileri ile regüle olduğu

bilinmektedir. Tümör ilişkili stromada ECM elemanları ve büyüme faktörü konsantrasyonu artmıştır. Dolayısıyla buna bağlı PINCH sinyal kompleksleride artmaktadır. Stromadan birçok mekanizma ile artan uyarıcı faktörlerin degradasyonu daha hızlı olmakla birlikte, hücre içi sinyal komplekslerinin degradasyonu çok daha yavaş olmaktadır. Bir kez ligand bağlandıktan sonra oluşan sinyal kompleksleri birçok dinamik yolağı aktive ya da inhibe eder. Sonuçta uyarı ne kadar düşük olursa olsun bir kez uyarı oluştuğunda PINCH proteini ve ilişkili olduğu sinyal yolağı (RTK ve MAPK) etkileşimleri artmaktadır (66). Sonuçta PINCH proteini integrinlerle ECM'e bağlı hücre adhezyon molekülü olup, literatürde PINCH ilişkili karsinogeneze atıfta bulunan ve PINCH yolağını hedef alabilecek ilaç çalışmalarının olması gerektiğine vurgulayan çalışmalar mevcuttur (51)(65)

Bu çalışmada overin borderline ve seröz karsinomlarında PINCH ekspresyonu araştırılmıştır. PINCH ekspresyonunun önemli prognostik parametrelerle ilişkili olduğunun görülmesi karsinogenezde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ

- 1) Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2008-2014 yılları arasında, seröz borderline tümör ve seröz karsinom tanısı almış olgulardan cerrahi evreleme yapılmış, salpingooforektomi, histerektomi ve debulking cerrahi uygulanmış toplam 110 olgu dahil edildi. İncelenen olgular SBT, SC olmak üzere iki gruba ayrıldı. Olgulara ait klinik bilgiler hastane otomasyon sistemi ve hasta dosyalarından elde edildi.
- 2) 89 olgu seröz karsinom (7'si düşük dereceli 82 olgu yüksek derecelidir.), 21 olgu seröz borderline tümördür.
- 3) Sadece 13 olgu cerrahi öncesi neoadjuvan kemoterapi almış olup, 76 olguya sitoredüktif cerrahi sonrası KT uygulanmıştır.
- 4) Seröz karsinomların 24'ünde lenf nodu metastazı izlenmemiş olup, 57 olguda lenf nodu metastazı izlenmiştir. 14 olguya lenf nodu diseksiyonu hiç uygulanmamıştır (1'si seröz karsinom kalan 13 olgu seröz borderline tümör).
- 5) Çalışmada 12 adet prognostik parametre değerlendirildi, bunların 7 tanesinde PINCH ekspresyonu ile ilişki izlendi.
- 6) PINCH ekspresyonu ile ilişkisi izlenen parametreler; FIGO, nüks, tümör tipi, tümör derecesi, tümör boyutu, uzak ve yakın yayılım ile over kapsül invazyonudur ($p<0,05$).
- 7) PINCH ekspresyonu ile tümör boyutu arasında negatif yönde bir korelasyon söz konusudur ($p<0,05$).

- 8) PINCH ekspresyonu ile ilişkisi istatistiksel olarak saptanamayan prognostik parametreler; yaş, CA125 değeri, lenf nodu metastazı +/-, batın yıkama sitolojisi +/- ve tümör unilateral/bilateral lokalizasyonu($p>0,05$).

7. ÖZET

Over karsinomları jinekolojik malignansiler arasında en yüksek mortaliteye sahip tümörlerdir. Over maligniteleri kadın genital sistem malignitelerinin %30'unu oluştururlar. Jinekolojik kanserler içinde endometrium kanserlerinden sonra 2. en sık antitedir. Erken tanı ve tedavi yöntemleri sınırlı olup, birçok olgu ileri evrelerde tanı almaktadır.

PINCH proteini 1994 yılında keşfedilmiş olup, ilişkide olduğu hücre içi birçok mekanizmayı ilgilendiren moleküler basamaklar günümüzde hala araştırılmaktadır. Biz elimizdeki 110 olguda, bunları 21'i SBT, 89'u SC olmak üzere, PINCH ekspresyonlarını prognostik parametrelerle karşılaştırdık.

PINCH proteini 1994 yılında keşfedilmiş olup, ilişkide olduğu hücre içi birçok mekanizmayı ilgilendiren moleküler basamaklar günümüzde hala araştırılmaktadır. Anti apoptotik, angiojenik, tümörojenik gelişimi destekleyen yollarla ilişkisi bilinmektedir. Bu çalışmada 21'i SBT, 89'u SC olmak üzere 110 olguda, PINCH ekspresyonu bilinen prognostik parametrelerle karşılaştırıldı. Bilinen önemli prognostik parametrelerle ilişkili olması nedeni ile PINCH'in over seröz kanserinde prognostik bir parametre olarak kullanılabileceğini düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: PINCH 1, over seröz karsinomunda PINCH ekspresyonu, prognozistik parametreler, LIMS-1

8. SUMMARY

Ovarian carcinomas are tumors with the highest mortality among gynecological malignancies. Over malignancies create %30 of the female genital tract malignancies. It is the most common entity of gynecologic cancers after endometrial cancers. Currently, early diagnosis and treatment is limited, in many cases, can be captured in advanced stages.

PINCH protein has been discovered in 1994, concerning the molecular steps that many intracellular mechanisms of the relationship is still being investigated today. In our study, we examine 110 cases, 21 of them SBT, 89 of them SC and we compared the expression of the PINCH with prognostic parameters.

Comparison results were consistent with the existing literature. Our study in ovarian cancer PINCH expression in terms of the previously presented in the literature, breast, colorectal adenocarcinoma and pancreatic ductal adenocarcinoma meaningful results in cases such as overlapping with prognostic parameters were observed. In this sense, we have proved the PINCH of the ovary can be used as a prognostic parameter in serous cancer. In this respect, the literature has also been our contribution.

Ultimately In this study, PINCH support development that many anti-apoptotic, angiogenic, tumorigenic pathways are associated. PINCH expression in ovarian serous tumors we watched significantly associated with prognostic parameters of FIGO, recurrence, tumor type and tumor grade. Mentioned parameters

are the most important supporting presence or absence of poor prognosis, although in our hand nine patients we reached the survival.

From this point of our cases, we could not compared PINCH expression in clear relationship with survival. But our study PINCH meaningful expression with poor prognostic parameters show us that PINCH may be an indicator of prognostic in ovarian serous carcinoma.

Key Word: PINCH 1, PINCH expression in ovarian serous carcinoma, prognostic parameters, LIMS-1

9. KAYNAKLAR

1. Wu C. Integrin-linked kinase and PINCH: partners in regulation of cell-extracellular matrix interaction and signal transduction. *J Cell Sci.* 1999 Dec;112 (Pt 24):4485-9.
2. Loof J, Rosell J, Bratthall C, Dore S, Starkhammar H, Zhang H, et al. Impact of PINCH expression on survival in colorectal cancer patients. *BMC Cancer.* 2011;11:103.
3. Montanez E, Karakose E, Tischner D, Villunger A, Fassler R. PINCH-1 promotes Bcl-2-dependent survival signalling and inhibits JNK-mediated apoptosis in the primitive endoderm. *J Cell Sci.* 2012 Nov 1;125(Pt 21):5233-40.
4. Davidson B. The diagnostic and molecular characteristics of malignant mesothelioma and ovarian/peritoneal serous carcinoma. *Cytopathology.* 2011 Feb;22(1):5-21.
5. Scaife CL, Shea J, Emerson L, Boucher K, Firpo MA, Beckerle MC, et al. Prognostic significance of PINCH signalling in human pancreatic ductal adenocarcinoma. *HPB (Oxford).* 2010 Jun;12(5):352-8.
6. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer.* 2010 Dec 15;127(12):2893-917.
7. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin.* 2014 Jan-Feb;64(1):9-29.
8. Boyle P LBe. World cancer report 2008. World Health Organization, Lyon. 2008 2008.
9. Robert J. Kurman LHEaBMR, editor. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. Sixth Edition ed: Springer; 2011.
10. Prat J. Pathology of cancers of the female genital tract. *Int J Gynaecol Obstet.* 2012 Oct;119 Suppl 2:S137-50.

11. WHO iafroc. World Cancer Report 2008. 2008.
12. Prat J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Arch*. 2012 Mar;460(3):237-49.
13. Surveillance E, and End Results Program (SEER). Contents of the SEER Cancer Statistics Review (CSR),. 1975-2011.
14. Rosai J, editor. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 10th ed2011.
15. Vinay Kumar AKA, Jon C. Aster, editor. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Ninth edition ed: Saunders, an imprint of Elsevier Inc; 2015.
16. Kurman RJ, Carcangiu, M.L., Herrington, C.S., Young, R.H. , editor. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. Fourth Edition: WHO; 2014.
17. Kurman RJ, Shih Ie M. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol*. 2010 Mar;34(3):433-43.
18. Lee S, Nelson G, Duan Q, Magliocco AM, Duggan MA. Precursor lesions and prognostic factors in primary peritoneal serous carcinoma. *Int J Gynecol Pathol*. 2013 Nov;32(6):547-55.
19. Singer G, Stohr R, Cope L, Dehari R, Hartmann A, Cao DF, et al. Patterns of p53 mutations separate ovarian serous borderline tumors and low- and high-grade carcinomas and provide support for a new model of ovarian carcinogenesis: a mutational analysis with immunohistochemical correlation. *Am J Surg Pathol*. 2005 Feb;29(2):218-24.
20. Perets R, Wyant GA, Muto KW, Bijron JG, Poole BB, Chin KT, et al. Transformation of the fallopian tube secretory epithelium leads to high-grade serous ovarian cancer in Brca;Tp53;Pten models. *Cancer Cell*. 2013 Dec 9;24(6):751-65.

21. Dehari R, Kurman RJ, Logani S, Shih Ie M. The development of high-grade serous carcinoma from atypical proliferative (borderline) serous tumors and low-grade micropapillary serous carcinoma: a morphologic and molecular genetic analysis. *Am J Surg Pathol*. 2007 Jul;31(7):1007-12.
22. Kurman RJ, Shih Ie M. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer--shifting the paradigm. *Hum Pathol*. 2011 Jul;42(7):918-31.
23. Lynch HT, Casey MJ, Snyder CL, Bewtra C, Lynch JF, Butts M, et al. Hereditary ovarian carcinoma: heterogeneity, molecular genetics, pathology, and management. *Mol Oncol*. 2009 Apr;3(2):97-137.
24. Peralta Soler A, Knudsen KA, Tecson-Miguel A, McBrearty FX, Han AC, Salazar H. Expression of E-cadherin and N-cadherin in surface epithelial-stromal tumors of the ovary distinguishes mucinous from serous and endometrioid tumors. *Hum Pathol*. 1997 Jun;28(6):734-9.
25. Malpica A, Deavers MT, Lu K, Bodurka DC, Atkinson EN, Gershenson DM, et al. Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system. *Am J Surg Pathol*. 2004 Apr;28(4):496-504.
26. Philip B. Clement RHY. *Atlas of Gynecologic Surgical Pathology*. third edition ed: SAUNDERS an imprint of Elsevier Inc; 2014.
27. Prat J. Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet*. 2014 Jan;124(1):1-5.
28. Raminder Kumar AA, Ann DeLancey, Erin Malone, editor. *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*. 8.th ed: SAUNDERS ELSEVIER; 2010.
29. L. Maximilian Buja GRFK. *Netter's Illustrated Human Pathology*. second edition ed: Saunders, an imprint of Elsevier Inc.; 2014.
30. Prat J, De Nictolis M. Serous borderline tumors of the ovary: a long-term follow-up study of 137 cases, including 18 with a micropapillary pattern and 20 with microinvasion. *Am J Surg Pathol*. 2002 Sep;26(9):1111-28.

31. Sangoi AR, McKenney JK, Dadras SS, Longacre TA. Lymphatic vascular invasion in ovarian serous tumors of low malignant potential with stromal microinvasion: a case control study. *Am J Surg Pathol*. 2008 Feb;32(2):261-8.
32. Seidman JD, Kurman RJ. Ovarian serous borderline tumors: a critical review of the literature with emphasis on prognostic indicators. *Hum Pathol*. 2000 May;31(5):539-57.
33. Przybycin CG, Soslow RA. Typing of ovarian carcinomas: an update. *Diagnostic Histopathology*. 2011;17(4):165-77.
34. Smith Sehdev AE, Sehdev PS, Kurman RJ. Noninvasive and invasive micropapillary (low-grade) serous carcinoma of the ovary: a clinicopathologic analysis of 135 cases. *Am J Surg Pathol*. 2003 Jun;27(6):725-36.
35. Garg R, Zahurak ML, Trimble EL, Armstrong DK, Bristow RE. Abdominal carcinomatosis in women with a history of breast cancer. *Gynecol Oncol*. 2005 Oct;99(1):65-70.
36. Nofech-Mozes S, Khalifa MA, Ismiil N, Saad RS, Hanna WM, Covens A, et al. Immunophenotyping of serous carcinoma of the female genital tract. *Mod Pathol*. 2008 Sep;21(9):1147-55.
37. Comin CE, Saieva C, Messerini L. h-caldesmon, calretinin, estrogen receptor, and Ber-EP4: a useful combination of immunohistochemical markers for differentiating epithelioid peritoneal mesothelioma from serous papillary carcinoma of the ovary. *Am J Surg Pathol*. 2007 Aug;31(8):1139-48.
38. Foulkes WD, Ragoussis J, Stamp GW, Allan GJ, Trowsdale J. Frequent loss of heterozygosity on chromosome 6 in human ovarian carcinoma. *Br J Cancer*. 1993 Mar;67(3):551-9.
39. Brown MR, Chuaqui R, Vocke CD, Berchuck A, Middleton LP, Emmert-Buck MR, et al. Allelic loss on chromosome arm 8p: analysis of sporadic epithelial ovarian tumors. *Gynecol Oncol*. 1999 Jul;74(1):98-102.

40. Bandera CA, Takahashi H, Behbakht K, Liu PC, LiVolsi VA, Benjamin I, et al. Deletion mapping of two potential chromosome 14 tumor suppressor gene loci in ovarian carcinoma. *Cancer Res.* 1997 Feb 1;57(3):513-5.
41. Jacobs IJ, Smith SA, Wiseman RW, Futreal PA, Harrington T, Osborne RJ, et al. A deletion unit on chromosome 17q in epithelial ovarian tumors distal to the familial breast/ovarian cancer locus. *Cancer Res.* 1993 Mar 15;53(6):1218-21.
42. Tingulstad S, Skjeldestad FE, Halvorsen TB, Hagen B. Survival and prognostic factors in patients with ovarian cancer. *Obstet Gynecol.* 2003 May;101(5 Pt 1):885-91.
43. Gilks CB, Ionescu DN, Kalloger SE, Köbel M, Irving J, Clarke B, et al. Tumor cell type can be reproducibly diagnosed and is of independent prognostic significance in patients with maximally debulked ovarian carcinoma. *Human Pathology.* 2008;39(8):1239-51.
44. Anglesio MS, Carey MS, Kobel M, Mackay H, Huntsman DG. Clear cell carcinoma of the ovary: a report from the first Ovarian Clear Cell Symposium, June 24th, 2010. *Gynecol Oncol.* 2011 May 1;121(2):407-15.
45. Fu Y, Wang X, Pan Z, Xie X. Clinical outcomes and prognostic factors of patients with epithelial ovarian cancer subjected to first-line treatment: a retrospective study of 251 cases. *Front Med.* 2014 Mar;8(1):91-5.
46. Yang Y, Wang X, Hawkins CA, Chen K, Vaynberg J, Mao X, et al. Structural Basis of Focal Adhesion Localization of LIM-only Adaptor PINCH by Integrin-linked Kinase. *Journal of Biological Chemistry.* 2008;284(9):5836-44.
47. Wu C. PINCH, N(i)ck and the ILK: network wiring at cell-matrix adhesions. *Trends Cell Biol.* 2005 Sep;15(9):460-6.
48. Velyvis A, Yang Y, Wu C, Qin J. Solution structure of the focal adhesion adaptor PINCH LIM1 domain and characterization of its interaction with the

- integrin-linked kinase ankyrin repeat domain. *J Biol Chem*. 2001 Feb 16;276(7):4932-9.
49. Legate KR, Montanez E, Kudlacek O, Fassler R. ILK, PINCH and parvin: the tIPP of integrin signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006 Jan;7(1):20-31.
 50. Leslie NR, Downes CP. PTEN: The down side of PI 3-kinase signalling. *Cell Signal*. 2002 Apr;14(4):285-95.
 51. Wang-Rodriguez J, Dreilinger AD, Alsharabi GM, Rearden A. The signaling adapter protein PINCH is up-regulated in the stroma of common cancers, notably at invasive edges. *Cancer*. 2002 Sep 15;95(6):1387-95.
 52. Zhang HZ, Li XH, Zhang X, Zhang ZY, Meng YL, Xu SW, et al. PINCH protein expression in normal endometrium, atypical endometrial hyperplasia and endometrioid endometrial carcinoma. *Chemotherapy*. 2010;56(4):291-7.
 53. Wang MW, Gu P, Zhang ZY, Zhu ZL, Li YM, Zhao HX, et al. Expression of PINCH protein in gliomas and its clinicopathological significance. *Oncology*. 2007;72(5-6):343-6.
 54. Zhu ZL, Yan BY, Zhang Y, Yang YH, Wang ZM, Zhang HZ, et al. PINCH expression and its clinicopathological significance in gastric adenocarcinoma. *Dis Markers*. 2012;33(4):171-8.
 55. Suidan RS, Ramirez PT, Sarasohn DM, Teitcher JB, Mironov S, Iyer RB, et al. A multicenter prospective trial evaluating the ability of preoperative computed tomography scan and serum CA-125 to predict suboptimal cytoreduction at primary debulking surgery for advanced ovarian, fallopian tube, and peritoneal cancer. *Gynecol Oncol*. 2014 Sep;134(3):455-61.
 56. Rearden A. A new LIM protein containing an autoepitope homologous to "senescent cell antigen". *Biochem Biophys Res Commun*. 1994 Jun 30;201(3):1124-31.

57. Dawid IB, Breen JJ, Toyama R. LIM domains: multiple roles as adapters and functional modifiers in protein interactions. *Trends Genet.* 1998 Apr;14(4):156-62.
58. Scaife CL, Shea JE, Dai Q, Firpo MA, Prestwich GD, Mulvihill SJ. Synthetic Extracellular Matrix Enhances Tumor Growth and Metastasis in an Orthotopic Mouse Model of Pancreatic Adenocarcinoma. *Journal of Gastrointestinal Surgery.* 2007;12(6):1074-80.
59. Gao J, Arbman G, Rearden A, Sun XF. Stromal staining for PINCH is an independent prognostic indicator in colorectal cancer. *Neoplasia.* 2004 Nov-Dec;6(6):796-801.
60. Zhu Z, Yang Y, Zhang Y, Wang Z, Cui D, Zhang J, et al. PINCH expression and its significance in esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Markers.* 2008;25(2):75-80.
61. Zhao ZR, Zhang ZY, Cui DS, Jiang L, Zhang HJ, Wang MW, et al. Particularly interesting new cysteine-histidine rich protein expression in colorectal adenocarcinomas. *World J Gastroenterol.* 2006 Jan 14;12(2):298-301.
62. Andreasson H, Wanders A, Sun XF, Willen R, Graf W, Nygren P, et al. Histopathological classification of pseudomyxoma peritonei and the prognostic importance of PINCH protein. *Anticancer Res.* 2012 Apr;32(4):1443-8.
63. Zhang ZY, Tian YF, Wang YY, Zhang LJ, Zhao ZR, Sun XF. PINCH mRNA overexpression in colorectal carcinomas correlated with VEGF and FAS mRNA expression. *Anticancer Res.* 2011 Dec;31(12):4127-33.
64. Zhang JT, Li QX, Wang D, Zhu ZL, Yang YH, Cui DS, et al. Up-regulation of PINCH in the stroma of oral squamous cell carcinoma predicts nodal metastasis. *Oncol Rep.* 2005 Dec;14(6):1519-22.

65. Sun XF, Zhang H. Clinicopathological significance of stromal variables: angiogenesis, lymphangiogenesis, inflammatory infiltration, MMP and PINCH in colorectal carcinomas. *Mol Cancer*. 2006;5:43.
66. Kholodenko BN, Hoek JB, Westerhoff HV. Why cytoplasmic signalling proteins should be recruited to cell membranes. *Trends Cell Biol*. 2000 May;10(5):173-8.