



**T. C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE
DOKUDA VE PERİFERİK LENFOSİTLERDE GNRH-II
GEN EKSPRESYONU İLE KİST SIVISI VE SERUMDA
sİL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. CEREN DİNÇER ATA

KAYSERİ – 2007



**T. C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE
DOKUDA VE PERİFERİK LENFOSİTLERDE GNRH-II
GEN EKSPRESYONU İLE KİST SIVISI VE SERUMDA
sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. CEREN DİNÇER ATA

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. İ. SERDAR SERİN**

KAYSERİ – 2007

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMALAR.....	iii
TABLO LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. OVER KANSERİ VE PATOGENEZİ	3
2.2. GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE-II	10
2.3. SOLUBLE İNTERLÖKİN - 2 RESEPTÖRÜ	12
2.4. FSH, LH ve ÖSTRADİOL	14
2.5. GnRH-II, sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL VE OVER KANSERİ.....	14
3. GEREÇ (HASTALAR) VE YÖNTEM.....	15
3.1. PERİFERİK LENFOSİTLER VE DOKUNUN EKSTRAKİYONU, REAL- TIME RT-PCR İLE GNRH-II mRNA EKSPRESYONUNUN TESPİTİ.....	17
3.2. SERUM VE KİST SIVISINDA sIL-2R ÖLÇÜMÜ	19
3.3. SERUM VE KİST SIVISINDA FSH, LH VE ÖSTRADİOL ÖLÇÜMÜ.....	19
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	20
4. BULGULAR.....	21
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇLAR	37
7. KAYNAKLAR	39
KABUL ONAY SAYFASI.....	53

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan değerli hocalarımdan Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mustafa Başbuğ başta olmak üzere değerli hocalarım Prof.Dr.Yılmaz Şahin'e, Prof.Dr. Mehmet Tayyar'a, Prof.Dr.Ercan Aygen'e, Prof.Dr.İpek Müderris hocama, jinekolojik onkoloji alanında bizi yüreklendiren ve tezimin yürütülmesinde emek sarf eden Doç. Dr. Serdar Serin ve Doç.Dr.Bülent Özçelik'e, geldiği günden itibaren tıbbi ve sosyal açıdan ufkumuzu genişleten ve her zaman yanımda olan Yard.Doç.Dr Cem Batukan ve Yard.Doç.Dr.Tuncay Özgün'e, tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren Endokrin Anabilim Dalı hocalarına ve Yard.Doç.Dr.Fatih Tanrıverdi'ye, rotasyonlarım sırasında bana destek olan tüm hocalarıma, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sevgili hocam Prof.Dr.Nedret Koç'a, Genetik Anabilim Dalı hocaları ve asistanlarına, özellikle Hilal Hanım'a, İstatistik AD'dan Yard.Doç.Dr.Ahmet Öztürk ve Uzm.Dr.Ferhan Elmalı'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İyi ve kötü günleri paylaştığım hayat boyu sevgiyle hatırlayacağım doktor arkadaşlarıma, tüm hemşire ve sağlık personeline en içten teşekkürlerimi sunarım.

Her koşulda yanımda olan ve bana sonsuz destek veren sevgili anneme ve babama, tanıdığım günden itibaren sevgi ve sabırla bana destek olan sevgili eşime sonsuz teşekkürler.

Dr. Ceren Dinçer ATA

KISALTMALAR

BRAF	: B-raf protein
BRCA	: Meme Kanseri Geni
EFO-21	: Human, Caucasion, Ovary, Cystadenocarcinoma
E2	: Östradiol
ERα	: Östrojen reseptör alfa
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FSH	: Follikül Stimülize edici Hormon
GnRH	: Gonadotropin-Releasing Hormon
GnRH-II mRNA	: GNRH-II messenger Ribonükleik Asit
GM-CSF	: Granülosit makrofaj koloni stimülan faktör
HERS II	: Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study
HRT	: Hormon Replasman Tedavisi
HBOC	: Herediter meme over kanser
INF	: İnterferon
IL-2R$\alpha/\beta/\gamma$	: İnterlökin 2 reseptör alfa/beta/gamma
IL-1, 2, 6, 8, 10	: İnterlökin 1, 2, 6, 8, 10
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IGFBP	: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcıprotein
kA	: Kilo dalton
KRAS	: c-Kirsten ras protein

LAK	: Lenfokin Aktived Killer
LH	: Lüteinizan Hormon
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinaz
mIU/mL	: mili International Unit/mililitre
NK	: Natural Killer
OKS	: Oral kontraseptif
OVCAR-3	: Human, Caucasion, Ovary, Carcinoma
OYE	: Over yüzey epiteli
pg/mL	: pikogram/mililitre
p53	: Tümör protein 53
RT-PCR	: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
sIL-2R	: soluble İnterlökin 2 reseptör
SKOV-3	: Human, Ovary, Caucasion, Adenocarcinoma
TGF�	: Transforme eden büyüme faktörü alfa
TGF�	: Transforme eden büyüme faktörü beta
TNF�	: Tümör nekrozis faktör alfa
VEGF	: Vaskuler endotelyal büyüme faktörü
VKİ	: Vücut kitle indeksi

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. GnRH-II'nin dokulardaki dağılımı ve olası fizyolojik fonksiyonları	10
Tablo 2. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların postmenopozal (Post) ve premenopozal (Pre) durumlarına göre demografik ve klinik özellikleri	22
Tablo 3. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign hasta gruplarında kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri.....	23
Tablo 4. Malign ve benign hasta gruplarında serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 değerlerinin Ortalama $\pm$ SS,Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	24
Tablo 5. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu, serum sIL-2R düzeyi ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	25
Tablo 6. Postmenopozal hastalarda benign ve malign grupta serum ve kist sıvısı FSH, LH ve E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri	26
Tablo 7. Premenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda doku ve lenfosit GNRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	27
Tablo 8. Premenopozal malign ve benign hastaların serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	28

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 1.** GnRH-II'ye ait genin 20.kromozom kısa kolundaki genomik lokalizasyonu. 11
- Şekil 2.** İnterlökin 2 Reseptörün yapısı..... 13
- Şekil 3.** Beta-aktin ve GnRH-II PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü. 18

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE DOKUDA VE
PERİFERİK LENFOSİTLERDE GnRH-II GEN EKSPRESYONU İLE
KİST SIVISI VE SERUMDA sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADIOL
DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı benign ve malign over tümörü olan hastalarda tümör dokusunda ve periferik kanda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve östradiol seviyeleri arasındaki ilişkiyi belirlemek ve böylece invivo ortamda over tümör patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktır.

Materyal ve Metod: Mart 2006 ile Mart 2007 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde pelvik kitle ön tanısıyla opere edilen 46 hasta çalışmaya alındı. Aynı tarihler arasında aynı merkezde tümör dışı nedenlerle opere olan 20 hasta kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubunda serum sIL-2R düzeyi çalışılırken diğer tüm hastaların serum örneklerinde ve ameliyat sırasında aspire edilen kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve estradiol düzeyleri ölçüldü. Ameliyat sırasında kist duvarından alınan dokuda, kontrol grubunun morfolojik olarak normal olan overinden alınan dokuda ve tüm hastaların periferik kanında GnRH-II mRNA ekspresyonu çalışıldı. Postoperatif histopatoloji sonuçlarına ve menapozal durumlarına göre tüm gruplar değerlendirildi.

Bulgular: Hastalar histopatoloji sonuçlarına göre üç gruba ayrıldı: 24 malign over tümörü olan hasta, 22 benign over tümörü olan hasta ve 20 kontrol hastası mevcuttu. Ayrıca premenopoz ve postmenopoz olarak alt gruplar oluşturularak değerlendirme yapıldı. Malign, benign ve kontrol gruplarında doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından istatistiksel olarak

anlamli fark bulunmadı ($p>0,05$). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksekti ($p<0,05$). Malign ve benign gruplar arasında kist sıvısı sIL-2R düzeyleri açısından fark yoktu ($p>0,05$). Serum FSH, LH ve östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında istatistiksel fark göstermedi ($p>0,05$). Kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$).

Postmenopozal dönemdeki malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu kontrol grubu ve benign gruba göre anlamli olarak yüksekti ($p<0,05$). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamli fark göstermedi ($p>0,05$). Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi üç grup arasında farklı değildi ($p>0,05$). Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksekti. ($p<0,05$). Serum östradiol düzeyi her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamli değildi ($p>0,05$). Postmenopozal hastalarda kist sıvısı FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermezken ($p>0,05$), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek saptandı ($p<0,05$).

Premenopozal hasta grubunda ise dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamli fark göstermedi ($p>0,05$). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Kist sıvısı sIL-2R, serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign ve benign gruplar arasında farklı değildi ($p>0,05$). Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamli değilken ($p>0,05$), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$).

Sonuç: Bu çalışma sonucunda özellikle postmenopozal malign over tümörlü hastalarda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeyi arasında düzenleyici mekanizmaların olabileceği ve GnRH-II'nin lokal düzeyde hormon yapımına katılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: GnRH-II, Over tümörü, sIL-2R, FSH, LH, Estradiol

**COMPARISON OF GNRH-II GENE EXPRESSION IN TUMOR TISSUE
AND PERIPHERAL LYMPHOCYTES WITH
SERUM AND CYST FLUID LEVELS OF sIL-2R, FSH, LH, ESTRADIOL
IN MALIGNANT AND BENIGN OVARIAN TUMORS**

SUMMARY

Aim : The aim of this study was to determine the relationship between the levels of GnRH-II mRNA expression in peripheral lymphocytes and tumoral tissue and sIL-2R, FSH, LH and estradiol levels in serum and cyst fluids of patients with benign and malignant ovarian tumors. Thus we decided to contribute the pathogenesis of ovarian tumor in vivo.

Materials and Methods: The study group comprised 46 patients operated for pelvic mass between March 2006 and March 2007 at the Department of Obstetrics and Gynecology, Erciyes University School of Medicine. Control group included 20 patients operated for non-tumoural causes between the same date, at the same department. sIL-2R, FSH, LH and estradiol levels were measured from serum collected preoperatively and cyst fluid obtained intraoperatively in all patients while in the control group serum sIL-2R was measured. GnRH-II mRNA expression was measured in tissue derived from cyst wall , control groups' morphologically normal ovarian tissue and peripheral lymphocytes of all patients. All groups were evaluated according to the postoperative histopathological results and menopausal status.

Results: Patients were divided into three groups according to the histopathological report : 24 patients with malignant ovarian tumor, 22 patients with benign ovarian tumor and 20 control patients. Besides premenapousal and postmenapousal subgroups were also evaluated in each group. GnRH-II mRNA expression was found statistically insignificant in tissue sample and in peripheral lymphocytes in malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$). Cyst fluid sIL-2R levels and serum FSH, LH, estradiol levels were not

significantly different between malignant and benign groups ($p>0,05$). Cyst fluid sIL-2R FSH, LH and estradiol levels found significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$).

In postmenopausal patients with malignant ovarian tumor GnRH-II mRNA expression in tissue sample was significantly higher than benign and control groups ($p<0,05$). GnRH-II mRNA expression in peripheral lymphocytes of the postmenopausal patients was not significantly different between malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were not significantly different between three groups in postmenopausal patients ($p>0,05$). sIL-2R levels in cyst fluid was significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$). Serum estradiol levels were not different in two groups ($p>0,05$). FSH levels in cyst fluid were not significantly different between malignant and benign groups ($p>0,05$) but cyst fluid LH and estradiol levels were significantly higher in malignant groups than in benign groups of postmenopausal patients ($p<0,05$).

In premenopausal patients, GnRH-II mRNA expression in tissue sample and lymphocytes were not significantly different between malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were significantly higher in malignant group than benign group ($p<0,05$). sIL-2R in cyst fluid and serum FSH, LH, estradiol levels were not different between two groups ($p>0,05$) but serum sIL-2R and cyst fluid LH levels were significantly higher in malignant group than in benign one ($p<0,05$).

Conclusion: Our results indicate that regulator mechanisms between GnRH-II mRNA expression and sIL-2R levels could play a role in the pathogenesis of malignant ovarian tumors particularly in postmenapousal patients and GnRH-II could participate in local hormone production.

Key Words: GnRH-II, Ovarian tumor, sIL-2R, FSH, LH, Estradiol

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Over kanseri kadınlarda görülen kanserlerin %4'ünü, kadın genital kanserlerinin ise %25'ini oluşturur (1). Jinekolojik kanserler arasında en yüksek mortaliteye sahip olması nedeniyle jinekolojik onkolojide önemli bir yere sahiptir. Erken dönemde tanı konulursa %90 sağ kalım elde edilebilirken hastalık genelde çok geç evrede tanımlanabildiği için 5 yıllık sağ kalım oranı %25-30'a gerilemektedir (2).

Malign over tümörlerinin patogeneğinde gonadotropinler, GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon) sistemi, insülin sistemi, sex steroidleri ve sitokinler gibi immünolojik faktörler araştırılmıştır (3-5). Özellikle immün sistem elemanları ve bunlar üzerindeki düzenleyici mekanizmalar yeni araştırmaların konusu olmuştur (6).

Yaygın solid tümörlerde azalmış IL-2 (interlökin-2) yapımı en önemli immün disfonksiyonlardan biri olarak kabul edilmektedir (7). IL-2 antineoplastik immüniteyi regüle eden en önemli sitokindir. IL-2 IL-2R (interlökin 2 reseptör)'e bağlanarak etki gösterir. Serum sIL-2R (soluble IL-2R) düzeyi aktif lenfositlerin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R düzeyi ile korelasyon gösterdiğinden sIL-2R düzeyi immünolojik aktivasyonun belirteci olarak birçok yayında çalışılmıştır (8-10).

GnRH-II ilk defa tavuk beyininden izole edilmiş ve 1990'lı yılların ortalarında insan beyinde ve bazı periferik dokularda gen ekspresyonu gösterilmiştir (11,12). Son yıllarda yapılan çalışmalarda üreme sisteminin tümöral dokularında GnRH-II mRNA ekspresyonu gösterilmiş olup, GnRH-II'nin over kanser hücreleri üzerine

antiproliferatif etkisinin klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'e göre daha fazla olduğu rapor edilmiştir (13,14). GnRH sisteminin immün fonksiyonlarla ilişkisini araştıran bir çalışmada ise GnRH-II'nin lenfositlerde IL-2R ekspresyonunda düzenleyici etkisinin olduğu belirtilmiştir (15).

Gonadotropin hipotezine göre FSH ve/veya LH'nın direk yollarla veya indirek olarak östradiol sentezini uyararak over tümöründe malign transformasyonu artırdığı görüşü savunulmaktadır (16). Yapılan invitro çalışmada gonadotropinlerin GnRH-I ve GnRH-II gen ekspresyonunu normal hücre ve kanser hücre dizilerinde farklı etkilediği rapor edilmiştir (17). Ancak in vivo düzeydeki etkiler halen bilinmemektedir.

İleri evre over kanser tedavisinde GnRH analogları ve deneysel olarak IL-2 immünoterapi kullanılırken GnRH-II'nin ve IL-2R'ün over tümöründe birbirleri üzerindeki etkileri bilinmemektedir.

Over kanserinde kist sıvısındaki hücrelerin büyük çoğunluğunu makrofaj ve lenfositlerin oluşturduğu immünohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir (18). Ancak bu hücrelerin immün cevap ile oluşan tümör ile ilişkili mononükleer hücreler mi yoksa bizzat tümör büyümesi ile ilişkili hücreler mi olduğu halen net değildir (18). Çalışmanın kist sıvısı ve kanda birlikte yapılması konak hücre ile tümör hücreleri arasındaki kompleks ilişkinin daha iyi anlaşılmasına yöneliktir.

Bu çalışmanın amacı benign ve malign over tümörü olan hastalarda tümör dokusunda ve periferik kanda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve östradiol düzeyleri arasındaki ilişkiyi belirlemek ve böylece invivo ortamda over tümör patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktır. Ayrıca GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeylerini değerlendirerek klinikte benign-malign ayırımında kullanılabilirliğini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. OVER KANSERİ VE PATOGENEZİ

Over kanseri jinekolojik kanserler arasında en yüksek mortaliteye sahip olan kanserdir. Gelişmiş ülkelerde kadınlarda görülen kanserler arasında 6.sırada yer alırken kansere bağlı ölümlerde 5.sırada yer almaktadır (2). Kanıtlanabilmiş erken tanı yönteminin olmaması nedeniyle ancak hastaların $\frac{1}{4}$ 'ü tanı anında erken evredir (2). Over kanser patogenezinin hala net olarak anlaşılamaması erken tanı ve tedavi olanağını güçleştirmektedir.

Over kanseri genetik veya kritik hedef genlerin somatik mutasyonu zemininde büyüme faktörleri, sex steroidleri, gonadotropinler, GNRH-I/GNRH-II sistemi (nöroendokrin sistem), insülin sistemi ve immünolojik faktörlerin yardımıyla hücrelerde proliferasyon, apoptozis ve DNA onarımında meydana gelen aksamalar sonucu gelişir (3-5).

Over kanserlerinin %90'ı sporadik, %10'u ise genetik mutasyonlara bağlıdır (19,20). Ailesel over kanserlerinin %85-90'ından herediter meme-over kanser sendromu (HBOC) sorumludur. HBOC sendromunun büyük çoğunluğuna 17.kromozomun kısa koluna yerleşmiş olan BRCA-1 (Meme kanseri geni-1) geninin genetik mutasyonu neden olurken daha az bir kısmından 13.kromozomun kısa koluna lokalize olan BRCA-2 (Meme kanseri geni-2) geni sorumludur (21). p53 mutasyonu insan kanserlerinin %50'sinden fazlasında tespit edilmiştir (22). Değişik çalışmalar,

yüksek dereceli olanlarda daha yoğun olmak üzere seröz over karsinomlarında yüksek oranlarda p53 mutasyonu ve immünohistokimyasal olarak p53 pozitifliği olduğunu göstermiştir (22).

Son yayınlar over kanser histolojik subtiplerinin farklı morfolojik ve moleküler genetik değişimlerden kaynaklandığını rapor etmektedir. Buna göre yüksek grade'li seröz karsinom ve endometrioid karsinomların seröz epitelin ovulasyon ile oluşan inklüzyon kistlerinde p53 mutasyonu ve BRCA-1, BRCA-2 disfonksiyonu ile denovo oluştuğu, düşük grade'li seröz karsinomların ise adenom, borderline tümör, karsinom sırasını izleyerek KRAS ve BRAF gen mutasyonu ile oluştuğu rapor edilmiştir (23).

Over kanser patogenezinin yönelik birçok hipotez ortaya atılmış ve buna yönelik çalışmalar yapılmıştır.

1971 yılında Fathalla'nın ortaya attığı sürekli ovulasyon teorisine göre ovulasyon ile follikül rüptüre olup over yüzeyinde hasar meydana gelmekte ve böylece bu bölgenin östrojenden zengin sıvıya maruziyeti ve over yüzeyinin iyileşmesi sırasında ortaya çıkan inklüzyon kistlerinde meydana gelen DNA hasarı ile tümör gelişmektedir (24). Son yıllarda yapılan çalışmalarda over kanserinin inklüzyon kistlerinden köken aldığı desteklenirken bu kistlerin ovulasyon sonrası değil yüzey epitelinin stromaya invajinasyonu ile oluştuğu görüşü ağırlık kazanmaktadır (25).

Gonadotropin hipotezi over kanser patogenezinin açıklamaya yönelik ortaya atılan ilk hormonal hipotezdir. Buna göre over dokusunun LH ve/veya FSH ile aşırı stimülasyonu direk gonadotropin ile ilişkili genlerin aktivasyonu sonucu veya indirek olarak overden sex steroidlerin yapımını artırarak parakrin veya endokrin mekanizmalar ile malign transformasyonu arttırdığı görüşü savunulmaktadır (16). OYE (Over Yüzey Epitel) hücresi ve over kanser hücrelerinin gonadotropinlere hassas olup olmadıkları net değildir. Çalışmaların büyük bir kısmında proliferasyonu arttırdıkları rapor edilmişse de (16,26), bazı çalışmalarda böyle bir etki gösterilememiştir (27,28). Hayvan çalışmalarında gonadotropinlerin gonadal tümör gelişimini indüklediği gösterilmiştir ancak gelişen tümör epitelyal tümör değil stromal tümördür (29). Yapılan in vitro çalışmalarda FSH ve hCG'nin over kanser

hücre kültürlerinde proliferasyonu artırdığı belirtilmiştir (30). Schiffenbauer ve arkadaşları over kanserinin peritoneal yayılımını araştırdıkları fare modelinde ooferektomi veya FSH/LH tedavisi ile tümörün anjiogenezi artırarak yayıldığını göstermişlerdir (31). Bu çalışma FSH ve LH'nın over tümör hücrelerinde VEGF ekspresyonunu artırdığını rapor eden başka bir çalışma ile desteklenmiştir (32). Osterholzer ve arkadaşlarının yaptığı başka bir invitro çalışmada ise FSH ve LH'nın tavşan OYE hücrelerinde proliferasyonu artırmadığı rapor etmişlerdir (33). Helzlsouer ve arkadaşları serum FSH ve LH düzeyi elde edilip 15 yıl takip edilen 20.305 kadının katıldığı bir çalışmada sonradan over kanseri gelişen 31 kadında serum FSH düzeyinin 62 kontrol hastasına göre anlamlı olarak düşük olduğunu serum LH düzeyinin ise anlamlı fark göstermediğini rapor ettiler (34). Başka bir yayında serum FSH ve LH düzeyi ile over kanser arasında ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır (35). Epidemiyolojik çalışmaların bir kısmı indirek olarak gonadotropin hipotezini desteklemektedir. Örneğin PCOS'lu hastalarda artan LH/FSH oranı ve androstenedion ve testosteron ile risk artarken, artmış parite ve OKS kullanımı ile risk azalmaktadır (36,37). Ancak yayınların birkısmı bu ilişkiyi savunmamaktadır (38).

İn vitro çalışmalarda östrojenin OYE hücrelerini proliferere ettiği ve dışardan verilen östrojenin kobaylarda seröz over kist gelişimi ile sonuçlandığı gösterilmiştir (39,40). Deneysel olarak estrojenin özellikle ER α (östrojen reseptör alfa) aşırı ekspresyonu olan over kanser hücre dizilerinde tümör progresyonunu arttırdığı ve bunu c-myc, fibulin-1, katepsin-D ve birkaç kallikreinin düzeyini arttırarak gerçekleştirdiği saptanmıştır (41). Östrojenin over kanserindeki rolü ile ilişkili epidemiyolojik kanıtlar açık değildir. HRT (Hormon Replasman Tedavisi)'nin hangi tür olursa olsun uzun süreli kullanımı over kanser riskini artırıyor görünmektedir (42). Kombine östrojen-progestin preparatları tek başına östrojen preparatlarına göre daha zayıf etkili gibi görünmektedir. Bu da progestin komponentinin koruyucu etkisine bağlı olabilir. Over kanserinin uzun bir latent periyodu olduğu ve HRT kullanımı ile henüz ortaya çıkmamış ve klinik tanı almamış tümörün gelişimini hızlandığı düşünülmektedir (37). Ancak HERS II (Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study) çalışmasına göre HRT ve plasebo kullananlar arasında over kanser insidansı açısından fark gözlenmemiştir (43). İki prospektif çalışmada postmenopozal hastalarda over kanser tanısı öncesi östrojen düzeyi ile over kanseri arasında ilişki

saptanmamıştır (34,44). OKS kullanımı östrojen düzeyini azaltarak östrojen hipotezini destekler görünse de gebelikte 100 kat artan östrojen düzeyi olmasına rağmen gebelik over kanserinden koruyucudur. Gebelikte artan progesteron düzeyi ve ovulasyonun baskılanması tahmin edilen koruyucu etkilidir (45). Endometriosisli hastalarda endometrioid ve berrak hücreli kanser gelişimi açısından artmış risk saptanması östrojenin bu tümörlerin etyolojisinde rol alabileceği görüşünü desteklemektedir (46). Endometriotik lezyonlar yüksek aromataz aktivitesi ve 17-OH steroid dehidrogenaz tip II enzim (östradiolü estrona çevirir) eksikliği nedeniyle lokal östradiol üretimi gerçekleştirir (47). Menopoz sonrası endometrioid ve berrak hücreli over tümör insidansının plato yapması östrojenin bu tip tümörlerde etyolojik rolü olduğunu destekler (48). Artmış östrojen düzeyinin over kanser gelişiminde ve progresyonundaki rolünü daha iyi anlayabilmek için daha fazla veriye ihtiyaç vardır.

Progesteron over kanser gelişimine karşı koruyucu etkilidir. Progesteron eksikliği olan infertil hastalarda over kanser insidansı daha yüksek bulunmuştur (49). Meme kanserinin tersine geç yaşta gerçekleşen gebelik over kanserine karşı koruyucudur. Soyulma teorisine göre gebelik seviyesindeki progesteron düzeyi genetik olarak hasarlı, premalign OYE hücrelerini temizler ve böylece sonraki yıllarda ortaya çıkabilecek tümör gelişimini azaltır (50).

Risch ve arkadaşları over epitel hücrelerinin androjen ile aşırı stimülasyonu sonucu over kanser riskinin artabileceğini ortaya atmışlardır (37). Yapılan birkaç invitro çalışmada androjen verilmesi ile normal OYE hücrelerinin proliferasyonunun arttığı gösterilmiştir (26,51). İki yayında ise postmenopozal hastalarda over kanseri ile androjen düzeyi arasında ilişki saptanmazken premenopozal over kanserli hastalarda serum androstenedion ve DHEA düzeyleri ile over kanseri açısından artmış risk rapor edilmiştir (34,44). Buna göre over kanser riski bu hormonların dolaşımdaki düzeyinden çok kadının üreme çağı boyunca maruz kaldığı over mikroçevresindeki hormon düzeyi ile ilişkili görünmektedir (52).

İnsülin ve IGF-1 meme, prostat ve over kanserinde mitojenik ve antiapoptotik özellikler gösterir (53). Her ikisi de LH ile ilişkili androjen sentezini artırırken SHBG ve IGFBP sentezini baskılar. Böylece serbest, biyolojik olarak aktif sex steroid hormonlar ve IGF-1 dolaşımda bulunur (53). Ancak Tip2 diabetes mellituslu

hastalarda artmış insülin direnci ve hiperinsülinemiye rağmen bu hastalarda over kanser riskinde artış bulunmamıştır (54). Sonuç olarak insülin ve IGF-1 over kanser riski açısından halen araştırılmaktadır.

Aşırı kilo alımı (ortalama %20-40) over kanser riski açısından hafif bir artışa yol açarken, birçok çalışmada risk artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış, bazı çalışmalarda aralarında hiçbir ilişki gösterilememiş, bazı yayınlarda ise riskte azalma olduğu rapor edilmiştir (55-62).

Bukovsky ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada korpus luteum ve over kanseri arasında benzerlikler olduğunu belirtmiştir (63). Bunlardan bir tanesi korpus luteum ve over tümörünün T hücreleri tarafından infiltre edilmesi ve lokal inflamasyon oluşmasıdır. Düzenli menstruel sikluslar için luteal dokunun T hücreleri tarafından infiltre edilip gerilemesi gereklidir. Over tümöründe ise T hücreleri over tümörünü infiltre eder ancak kanser hücrelerinin gerilemesini sağlayamazlar ve apoptosise uğrayarak ortamdan yok olurlar. Ortamdaki T hücre defekti yani lokal immünsupresyonun korpus luteumun gerilemesini engelleyerek buna yol açan olası tümöral hücrelerin proliferasyonuna zemin hazırladığı düşünülmektedir (63).

Yakın zamanda Ness ve arkadaşları kronik inflamasyonun over tümör patogeneğinde rol oynayabileceğine işaret etmişlerdir (64). Lokal inflamasyonu artıran bazı durumların örneğin ovaryan endometriosis, pelvik inflamatuvar hastalık, talk ve/veya asbest maruziyetinin artmış over kanser riski ile ilişkili olduğunu, bunun yanında lokal inflamasyonu azaltan histerektomi, tüp ligasyonu ve anti-inflamatuvar ilaç kullanımının riskte azalma ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (64).

Anjiogenezis kanser gelişimi ve metastazı için kritik öneme sahiptir. Anjiogenezisin endojen stimülatörlerinden olan VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü), ve FGF (Fibroblast büyüme faktörü) vasküler endotel hücrelerinin büyümesini uyarır. VEGF over tümörü tarafından salgılanmaktadır (65). Bu nedenle son yıllarda birçok çalışma anjiogenez inhibitörleri üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Telomer uzunluğunun korunması devamlı hücre proliferasyonu için gereklidir. Telomer kaybını önleyen temel mekanizma telomerazdır. Telomeraz inhibisyonu telomer kısalması sonucunda kromozom instabilitesi ve hücre ölümüne neden olur. Epitelyal over tümörleri dahil tüm kanserlerin %85-90'ı telomeraz aktivitesine

sahipken normal hücreler düşük düzeyde telomeraz aktivitesi göstermektedir (66). Buradan yola çıkarak telomeraz inhibitörleri ile tedavide selektif olarak kanser hücrelerinin çoğalmasının durdurulması amaçlanır.

Son yıllarda çeşitli sitokinlerin over kanser patogeneğinde rol oynayabileceği gösterilmiştir. Örneğin ileri evre over kanserli hastaların serum ve asit sıvısında immünsupresif sitokinler olan IL-10 (interlökin-10) ve TGF- β (Transforme edici büyüme faktörü-beta) düzeyi yüksek bulunmuştur (67). IL-8 (interlökin-8) over tümörleri tarafından üretilir ve eksprese edilir (68). IL-8 tumor anjiogenesi ve over kanser hücrelerinin stimülasyonunda rol alarak tümörün büyümesine ve metastaz yeteneği kazanmasına yol açar (69). Benzer şekilde IL-6 (interlökin-6) over kanser hücreleri tarafından önemli miktarda üretilir. Yüksek IL-6, IL-1 (interlökin-1), TNF- α (Tümör nekrozis faktör-alfa) düzeyi kötü prognoz ile ilişkilidir (70).

IL-2 ve IL-2R over kanserli hastalarda yaygın araştırma konusu olmuştur. Çalışmalarda over kanserli hastalarda meydana gelen immün disfonksiyonun azalmış IL-2 yapımı ile ilgili olduğu rapor edilmektedir (71). IL-2 bağışıklık sisteminin en önemli anti-tümöral etkili sitokinlerinden birisidir. Tümör hücresine karşı doğrudan sitotoksik etkisi yoktur. Etkisini T-lenfositler, büyük granüler lenfositler ve aktiflenmiş B-lenfositler üzerinden gösterir. İstirahat halindeki hücre yüzeyinde IL-2R az sayıda bulunur. Antijenle uyarı sonrası hücre yüzeyinde eksprese edilen IL-2R'un bir kısmı sIL-2R olarak ortama verilir. sIL-2R immün sistem aktivasyonunun göstergesidir. IL-2'nin biyolojik etki göstermesi için IL-2R'üne bağlanması gereklidir. IL-2'nin reseptörüne bağlanması, T lenfositlerin proliferasyonuna ve sitokin salınımına neden olur (72). Yapılan bir çalışmada artan serum sIL-2R düzeyinin immün sistem supresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (73). Buna göre sIL-2R IL-2'nin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R'e bağlanmasını azaltarak spesifik lenfosit klonlarının proliferasyonunu inhibe eder. Ayrıca hücre membranından ayrılan IL-2R'ler aktif lenfositlerin fonksiyonunu tüketir. Yüksek seviyede sIL-2R B lenfositleri baskılayarak immünglobülin konsantrasyonunu azaltmaktadır (73). Wang ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada over kanser hücre dizileri tarafından üretilen bazı süpernatantların IL-2 ile ilişkili T hücre proliferasyonunu IL-2R β (IL-2Rbeta) ve IL-2R γ (IL-2Rgamma) ekspresyonunu baskılayarak bloke ettiğini rapor etmiştir (74). Maccio ve arkadaşları over kanser hastalarında serumda T hücre

cevabında azalma olduğunu ve bunun da özellikle hücre membranına bağlı olan sIL-2R ekspresyonundaki azalmayla ilişkili olabileceğini göstermişlerdir (75).

GnRH-II GnRH-I ile birlikte overde steroidogenesis, hücre proliferasyonu ve apoptosisi regüle ederek lokal parakrin ve otokrin fonksiyon gösterir (76). Yapılan çalışmalarda GnRH-II'nin overde negatif otokrin büyüme faktörü gibi fonksiyon gördüğü gösterilmiştir (77). RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) ve Southern Blot analizleri ile normal OYE, ölümsüz OYE, primer over kanser kültürleri ve over kanser hücre dizilerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu gösterilmiştir (13). Gründker ve arkadaşları EFO-21, OVCAR-3 ve SKOV-3 kanser hücre dizilerinde proliferasyonun GnRH-II tedavisi ile doz ve zaman bağımlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin eşit dozdaki GnRH-I agonistlerine göre anlamlı olarak daha potent olduğu rapor edilmiştir (14). GnRH-IR (GnRH-I Receptör) bulunmayan SKOV-3 kanser hücre dizilerinde GnRH-I agonist ile tedavinin hücre proliferasyonu üzerine etkisinin olmadığı ancak GnRH-II ile tedavi sonrası hücre büyümesinin büyük oranda baskılandığı belirtilmiştir (77). Bu gözlemden yola çıkarak GnRH-II'nin over kanser hücrelerinde antiproliferatif etkisinin GnRH-I reseptör yoluyla değil GnRH-II/GnRH-II reseptör sistemi yoluyla olduğu ve over kanser hücrelerinde ek bir otokrin regülatör sistemi olduğu rapor edilmiştir. GnRH-II sisteminin hangi mekanizmalar üzerinden etki gösterdiği henüz tam olarak açıklanamamıştır.

Over kanserli hastalarda GnRH-II ile IL-2R arasındaki ilişki henüz bilinmemektedir. Yapılan tek çalışma Tanrıverdi ve arkadaşlarına aittir. Bu çalışmada GnRH-II'nin sağlıklı bireylerin periferik lenfositlerinde IL-2R ekspresyonunu azaltarak lenfosit proliferasyonu üzerinde düzenleyici etkisi olduğu rapor edilmiştir (15).

Over kanserinin primer tedavisi sitoredüktif cerrahi ve Evre 1A, 1B grade 1, 2 hastalar dışında cerrahi sonrası 6 kür platin bazlı kombine kemoterapidir (78,79). İleri evre over kanser hastalarının second-line tedavisinde platin olmayan kemoterapötik ajanlar, EGF inhibitörleri, angiogenez inhibitörleri, gen tedavisi, hormon tedavisi ve immünoterapi araştırılmaktadır (80-89). İntraperitoneal rekombinat IL-2 tedavisi ve

GnRH analog tedavisinin ileri evre veya relapslarda kemoterapi ile karşılaştırılabilir olduğu rapor edilmiştir (90,91).

Tümör biyolojisini daha iyi anlamamız benign-malign over kanseri ayırımında iyi bir belirteç saptamamıza ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine ışık tutacaktır.

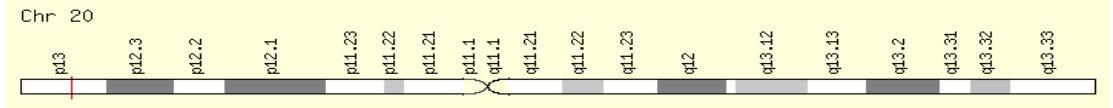
2.2. GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE-II

Hipotalamik bir peptid olan GnRH hipofiz gonadotrop hücrelerinden FSH ve LH salınımını uyarak üreme sisteminin temelini oluşturur (98). GnRH analogları onkolojide prostat kanseri, meme kanseri gibi sex hormon bağımlı tümörlerde, kemoterapiye dirençli over kanserinde kullanılmaktadır (99). 1990'lı yılların ortalarında ikinci GnRH formu olan GnRH-II insan beyninden ve bazı periferik dokulardan izole edilmiştir (100,101). Bu form ilk defa tavuk beyninden izole edildiği için chicken GnRH-II (cGnRH-II) olarak isimlendirilmiştir (102). GnRH-II'nin aminoasit dizisi (pGlu-His-TRP-Ser-His-Gly-Trp-Y-Tyr-Pro-Gly-NH₂) klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'den (pGlu-His-Trp-Ser-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) 5, 7, 8. pozisyonundaki aminoasitlerin farklı olması ile ayrılır (103). cGnRH-II balıktan insana kadar tam olarak ve benzersiz bir şekilde yapısını korumuştur (104). Bu da onun önemli fonksiyonları olduğunu gösterir.

Tablo 1. GnRH-II'nin dokulardaki dağılımı ve olası fizyolojik fonksiyonları

Doku	Fonksiyonu
Santral ve Periferik Sinir Sistemi	Nöromodülasyon
Mediobazal Hipotalamus	Gonodotropin sekresyonunun düzenlenmesi
Limbik yapılar	Üreme davranışının uyarılması
Plasenta/ Endometrium/ Meme/ Over	Endokrin fonksiyonların düzenlenmesi
Kadın üreme sistemi tümörleri	Hücre büyümesinin inhibisyonu
Normal T hücreleri/ Tümöral T hücreleri	Hücre adezyon ve migrasyonunun stimülasyonu

İnsanda GnRH-II'yi kodlayan gen 20.kromozom üzerinde bulunur (Şekil 1). GnRH-II GnRH-I ile %70 oranında benzerlik gösterir (105). GnRH-II beyinde özellikle preoptik ve mediobazal hipotalamik alanlarda ve hipokampus ve amigdala gibi limbik yapılarda bulunur (106). Periferde ise böbrek, prostat ve kemik iliğinde ayrıca kadın üreme sistemiyle ilişkili plasenta, endometrium, meme, OYE hücresi ve granüloza hücrelerinde yüksek konsantrasyonlarda eksprese edilir (13,17,101, 107,108). Üreme sisteminin tümöral dokularında GnRH-II mRNA ekspresyonunun gösterilmesiyle birlikte GnRH-II'nin tümör büyümesini regüle ettiği düşüncesi ortaya atılmıştır (13,75,109). Bu hipotez son yayınlarda GnRH-II'nin over, endometrium ve meme kanser hücrelerinde proliferasyonu azalttığına gösterilmesiyle desteklenmiştir (13,75,109). GnRH-II'nin over kanser hücreleri üzerine antiproliferatif etkisinin klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'e oranla daha fazla olduğu rapor edilmiştir (14). Günümüzde GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Yapılan invitro çalışmada GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin bir bölümünü p38 MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) sinyal yolunun aktivasyonu ile gerçekleştirdiği ve aynı sinyal yolu ile apoptozisi indüklediği tespit edilmiştir (110).



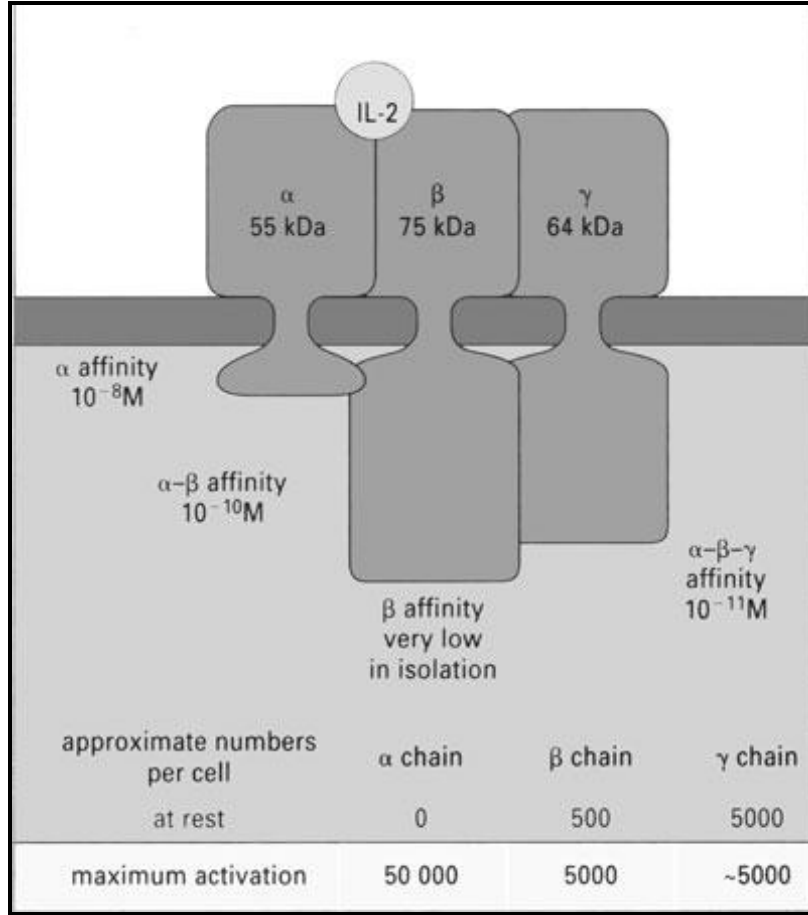
Şekil 1. GnRH-II'ye ait genin 20.kromozom kısa kolunda genomik lokalizasyonu

GnRH-II'nin dokularda yaygın dağılımı çalışmaları reseptörünün araştırılmasına yöneltmiştir. GnRH-IIR (GnRH-II reseptör)'ü balıklarda, amfibiklerde ve Rhesus maymunlarında klonlanmıştır (111-114). Tip I reseptörü gibi Tip II reseptörü de 7TM reseptör ailesine aittir ancak tip I'den farklı olarak hızlı desensitizasyonda önemli birçok threonin ve serin kalıntıları içeren C-terminal kuyruğa sahiptir (115). İnsanda GnRH-II reseptörünü tam olarak gösteren uygun transkriptin bulunması henüz mümkün olmamıştır. Sadece sekansın bir kısmı yayınlanabilmiştir. Bu sekans GnRH Tip I reseptörü ile %40 benzerlik gösterir. Maymunlardaki Tip II GnRH reseptörün aminoasid sekansı ile %90 benzerlik gösterdiğinden insandaki bu reseptörden ' varsayılan Tip II GnRH reseptörü '

(putative tip II GnRH reseptörü) olarak söz edilmektedir (114,116). Tip II GnRH reseptör mRNA'sı hipofizde ve meme dokusu, uterus, testis, prostat, seminal vezikül, tiroid ve adrenal gibi birçok dokuda eksprese edilmiştir (115). RT-PCR ve Southern Blot analiz çalışmalarıyla insan over ve endometrium kanser hücrelerinin GnRH-II'ye spesifik putative GnRH-II reseptör eksprese ettikleri gösterilmiştir (14). Bu hücrelerin proliferasyonu doğal GnRH-II ile doz ve zaman bağımlı yolla azaltılabilir. Bu antiproliferatif etkiler aynı dozdaki GnRH-I agonisti olan triptorelinin etkisinden anlamlı olarak fazladır (14). Ayrıca yapılan bir çalışmada over ve endometrium kanserinde GnRH-I antagonisti olan Cetrorelix ile GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin GnRH-I reseptörü yerine putative GnRH-II reseptör aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmektedir (117). İnsanda GnRH-IIR mRNA'sının tam olarak eksprese edilmesi bu soruların cevaplanmasını sağlayacaktır.

2.3. SOLUBLE İNTERLÖKİN - 2 RESEPTÖRÜ

Yüksek afiniteli IL-2R birbirine nonkovalent bağlarla bağlı üç polipeptid zincirden oluşur; IL-2R α (IL-2Ralfa), IL-2R β , IL-2R γ (Şekil 2). α zinciri tek başına IL-2'yi düşük afinite ile bağlar ise de sinyal iletemez. β zinciri orta derecede afinite ile IL-2'yi bağlar. γ zincirinin kendisi IL-2'yi bağlamaz. Sinyal iletiminde esas önemli olan β ve γ zinciridir. IL-2R β ve IL-2R γ birlikte eksprese edilir, IL-2R kompleksi oluşur, istirahatteki T lenfositlerde bu kompleks bulunur. IL-2R α bulunmaz. Antijenle uyarı sonrası hızla IL-2R α eksprese edilir ve yüksek afiniteli IL-2R α / β / γ heterotrimeri oluşur. IL-2R β ve γ T hücre üzerinde yapısal rol üstlenirken α T hücre aktivasyonundan sonra belirir. Aktif proliferasyon sırasında 55kDa (Kilo Dalton)'luk IL-2R α hücre yüzeyini yararak 45kDa'luk soluble IL-2R α 'yı ortama verir (92,93). sIL-2R α 'nın biyolojik sıvılarda bulunması aktif lenfositleri *invivo* gösteren en sensitif belirteçtir (92). sIL-2R dolaşıma salınan IL-2R α 'dır.



Şekil 2. İnterlökin 2 Reseptörün yapısı

IL-2'nin reseptörüne bağlanması T lenfositlerin proliferasyonuna ve sitokin salınımına neden olur. IL-2 ile uyarılan T lenfositlerin sitotoksiteleri artar, IFN- γ , TNF- β , TGF- β , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, GM-CSF gibi sitokinleri salgılar. B lenfositlerde farklılaşmayı ve antikor yapımını artırır. Yüksek konsantrasyonlarda IL-2 nötrofilleri de aktive edebilir. NK (Natural killer) hücrelerinde INF- γ (İnterferon gamma) salınımına , proliferasyona ve sitolitik aktivitenin artmasına yol açar. Yüksek konsantrasyonda , NK hücrelerinden tümör tedavisinde yeri olan LAK (lenfokin ile aktive killer) hücrelerinin gelişimini sağlar (94). Artmış sIL-2R α düzeyi solid tümörlerde lösemi, lenfomada, inflamasyon (lupus , polimiyozit, skleroderma, romatoid artrit, multipl skleroz), infeksiyon (kronik hepatit, kızamık ve mycobacteria) ve yanıklarda görülmektedir (95,96). Böbrek fonksiyon bozukluğu olanlarda azalmış renal klirense bağlı olarak artmış soluble IL-2R α seviyesi saptanır (93).

Over kanser hücrelerinde IL-2R mRNA bulunmaz, peritoneal lenfositlerde bulunur (97). Over kanser olan hastalarda aktif lenfositler sIL-2R α kaynağıdır. Artmış serum seviyesinin nedeni artmış peritoneal klirens ve dağılmış tümör antijenlerinin periferik lenfositleri aktive etmesi sonucu yüzeydeki IL-2R α 'nın damar içi kompartmana geçmesi ile yorumlanmaktadır (97).

2.4. FSH, LH ve ÖSTRADIOL

FSH ve LH'nın hipofiz bezinde sentez, glikozilasyon ve sekresyonu hipotalamik bir peptid olan GnRH-I tarafından düzenlenir (118). FSH ise granüloza hücrelerini uyararak overden östrojen sentezini sağlar (118). Epidemiyolojik veriler gonadotropinlerin ve östradiolün over kanser gelişimi ile ilişkili olduğunu düşündürse de bazı invivo ve invitro çalışmalarda bu hipotez desteklenmemektedir (27,36). GnRH-II'nin overde steroid üretimine katılması ve over tümör hücrelerinin proliferasyonunu baskılaması GnRH-II ile FSH, LH ve östradiol arasında direk ve/veya indirek bir ilişkinin olabileceğini düşündürür. Maymun hipofiz kültürlerinde yapılan invitro çalışmada GnRH-II'nin FSH ve LH salınımını artırdığı tespit edilmiştir (119). Yine maymunlarda yapılan invivo çalışmada dışardan verilen GnRH-II'nin FSH ve LH yapımını uyardığı bildirilmektedir. Ancak bu tür bir ilişkinin insanda normal ve tümöral over hücrelerinde olup olmadığı net değildir.

2.5. GnRH-II, sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADIOL VE OVER KANSERİ

Over kanserinin optimal tedavisi cerrahidir. Ancak ileri evre veya reküren hastalığın tedavisinde yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulması için kanser biyolojisini daha iyi ortaya koyabilmemiz gereklidir. Şu ana kadar GnRH-II ile IL-2R'nün over tümöründeki rolleri ayrı ayrı araştırılmıştır. Bu iki sistem arasındaki ilişki henüz açık değildir. Over tümör hücrelerinde GnRH-II ile FSH, LH ve östradiol arasındaki ilişkinin ise daha fazla invivo çalışmayla desteklenmesi gerekmektedir.

3. GEREÇ (HASTALAR) VE YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurul onayı alındıktan sonra Mart 2006 ile Mart 2007 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde pelvik kitle ön tanısı ile ameliyat edilen 46 hasta ile yine aynı tarihler arasında kliniğe başvuran yaşı karşılaştırılabilir 20 hasta (kontrol grubu) çalışmaya dahil edildi. Hastalara çalışmanın amacı ve yapılacak olan tahliller ile ilgili bilgi verildi, sözlü olarak katılmaya onay veren hastalar çalışmaya alındı. Çalışma kapsamına alınan her hasta için yaş, ağırlık, boy, vücut kitle indeksi, sIL-2R, FSH, LH, östradiol ve GNRH-II gen ekspresyonunun kaydedileceği formlar oluşturuldu. Bu formlarda histopatolojik tanı, FIGO evre ve grade'in kaydedileceği kısımlara yer verildi. Hastaların menopozal durumu, gebelik sayısı, OKS ve/veya HRT kullanımı, aile öyküsü, tüp ligasyon hikayesi sorgulanarak formlara kaydedildi. Diabetes mellitus, akromegali, konjenital adrenal hiperplazi, Cushing sendromu ve polikistik over sendromu gibi endokrin hastalığı, kronik böbrek yetmezliği ve romatoid artrit gibi romatolojik hastalığı olanlar çalışmadan çıkarıldı. Kontrol grubu, çalışma grubuyla aynı tarihler arasında polikliniğe başvuran, pelvik muayene ve jinekolojik ultrasonografi ile pelvik kitle saptanmayan , endokrin ve romatolojik hastalığı olmayan, benign nedenlerle (örneğin menoraji, endometrial hiperplazi, uterin prolapsus gibi) ameliyat edilen hastalardan oluşturuldu. Çalışma kapsamına alınan pelvik kitleli hastaların her birisinin kişisel bilgileri ameliyat öncesi dönemde kendileri için önceden hazırlanmış formlara kaydedildi. Herbir hastanın boyu 2 metre

mezura ile ölçülerek metre cinsinden kaydedildi. Her hastanın ağırlıkları kilogram cinsinden ölçülerek kaydedildi. Kilogram cinsinden ağırlık ölçüsü, metre cinsinden boy ölçüsünün karesine oranlandı ve her bir hastanın Vücut Kitle İndeks'leri hesaplanarak formlara kaydedildi. Hastaların hormon replasman tedavisi ve/veya doğum kontrol hapı kullanıp kullanmadıkları, menopoz yaşı ve menarş yaşı kaydedildi.

Operasyon öncesi her hastadan 20cc'lik plastik enjektörler kullanılarak 20cc venöz kan alındı. Alınan kanların 4cc'lik kısmı 2'şer adet EDTA'lı tüplere koyularak periferik lenfositlerde GnRH-II gen ekspresyonu çalışılmak üzere Genetik Anabilim Dalı'na götürüldü. Kalan 16cc'lik venöz kan 2500 devirde 20 dakika santrifüj edilerek yaklaşık 8cc serum elde edildi. Bu serumlar çalışılacak güne kadar -71°C derin dondurucularda muhafaza edildi. Ameliyat sırasında onkoloji yöntemlerine uygun olarak çıkarılan kistten steril şartlarda 10cc sıvı aspire edilerek 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra kalan sıvı çalışılacak güne kadar -71°C derin dondurucularda muhafaza edildi. Ayrıca ameliyat sırasında kist çeperinden alınan 1cm'lik tam kat doku epandorf tüpüne steril olarak koyularak dokudan GnRH-II gen ekspresyonu çalışılmak üzere Genetik Anabilim Dalı'na götürüldü. Kontrol grubundan alınan venöz kan hasta grubu ile aynı şekilde çalışılırken, ameliyat sırasında kontrol grubunun morfolojik olarak normal olan tek overinden hilusa kadar 1cm'lik kama şeklinde alınan dokudan Genetik Anabilim Dalı'nda GnRH-II gen ekspresyonu bakıldı.

Serum FSH düzeyi 35mIU/mL olan veya en az 1 yıldır adet görmeyen hastalar postmenopoz olarak değerlendirildi. Premenopozal hastaların serum düzeyi folliküler fazda elde edilerek operasyon bu dönemde gerçekleştirildi.

Çalışmaya alınan hastaların ameliyatı kendi alanında uzman olan cerrahlar tarafından Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapıldı. Ameliyat sırasında alınan spesmenlerin Patoloji Anabilim Dalı tarafından histopatolojik değerlendirmesi yapıldı. Çalışmaya alınan hastalar ameliyat sonrası dönemde materyallerin histopatolojik inceleme sonuçlarına göre benign ve malign olmak üzere iki gruba ayrıldı. Malign hasta grubu FIGO evreleme sistemine göre evrelendirildi ve

gradelemesi yapıldı. Over dışı malignitesi olan ve pelvik tüberküloz, pelvik abse gibi enfeksiyöz hastalığı olanlar çalışmadan çıkarıldı.

Malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositler ve tümör dokusunda GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum sIL-2R düzeyi çalışılırken, malign ve benign grupta serum FSH, LH, östradiol düzeyleri ile kist sıvısı sIL-2R, FSH, LH ve östradiol düzeyleri çalışıldı.

3.1. PERİFERİK LENFOSİTLER VE DOKUNUN EKSTRAKİYONU, REAL-TIME RT-PCR ile GNRH-II mRNA EKSPRESYONUNUN TESPİTİ

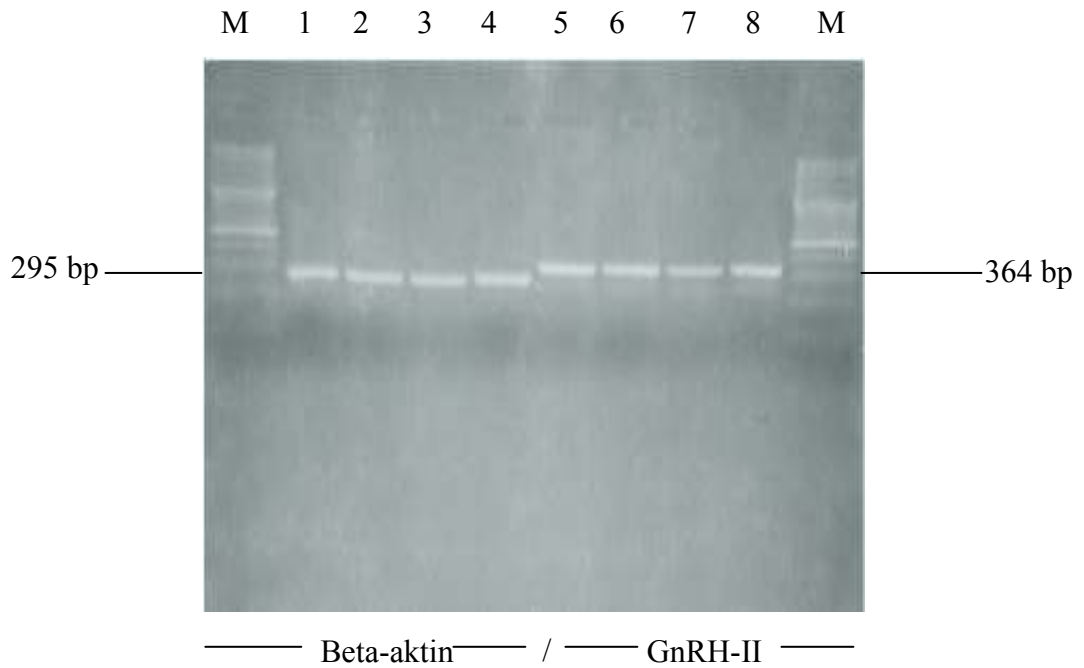
Araştırma için periferik human mononükleer hücrelerin kullanımı etik kurul tarafından onaylandı. Sağlıklı kontrollerden ve hastalardan venöz kan örnekleri elde edildi. Örneklerde HbsAg, HCV, HIV negatifti. Kan örnekleri alındıktan sonraki 1-3.günde işleme alındı. Mononükleer hücrelerin kandan ayrıştırılmasında standart metod olan Ficoll-Hypaque metodu kullanıldı.

Elde edilen PMBC'lerden ve dokudan hazır kit kullanılarak total RNA izole edildi (RNeasy midi kit, Qiagen). Total RNA'dan (2µg) komplementer DNA (cDNA) eldesi için First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, Life Sciences) kullanılarak reverse transkripsiyon (RT) yapıldı.

Quantitative real-time PCR 'Bio-Rad ICycler IQ' sistemi kullanılarak yapıldı. Sağlıklı kontrollerden ve hastalardan elde edilen cDNA'larda intron-spanning primerler kullanılarak GNRH-II (hedef gen) ve beta aktin (referans gen) ekspresyonu analiz edildi. Primer dizeleri: GNRH-II (sense 5'-GCCCCACCTTGG ACCCTCAGAG -3' ve antisense 5'-CCAGGTGTCGCTTCCTGTGAA-3'), beta-aktin (sense 5'-TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA-3' ve antisense 5'-CAG CGGAACCGCTC ATTG CCAATGG-3') olarak seçildi.

Kalıp cDNA'lar (2µl); 25 l IQ SYBR Gren Supermix ve her bir primerden 50 pmol içeren 50µl'lik PCR reaksiyonunda çoğaltıldı. Hedef ve referans genin her ikisine de 35 döngü PCR reaksiyonu uygulandı; Referans gen (B-actin) için denatürasyon 95°C'de 3dk ve 94°C'de 1 dk, annealing 61°C'de 40sn, ekstensiyon 72°C'de 1 dk, ve son siklustan sonra final ekstensiyon için 72°C'de 120 sn florasan data 585nm dalga boyunda ve her siklusun 72°C'lik ekstensiyon fazında Real-Time

PCR optik sistemi tarafından kaydedildi. Hedef gen (GNRH-II) için denatürasyon 95°C’de 3dk ve 94°C’de 45sn, annealing 66,5°C’de 1.10sn, ekstensiyon 72°C’de 1 dk ve final ekstensiyon için 72°C’de 5dk florasan data 585nm dalga boyunda ve her siklusun 72°C’lik ekstensiyon fazında Real-Time PCR optik sistemi tarafından kaydedildi. Ürünlerin spesifitesi ‘melt curve analysis’ ve %1.5 agaroz jel elektroforezde koşturarak test edildi (B-actin için PCR baz bantı 295 bp, GNRH-II için 364 bp) (Şekil 3). Ekspresyon oranları hesaplanırken ‘Bio-Rad İCycler IQ’ tarafından sağlanan özel yazılım programı kullanıldı.



Şekil 3. Beta-aktin ve GNRH-II PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü.

M : 100 baz çiftlik DNA boyut markerı

- 1. Kuyucuk :** 1.hastanın dokusunun beta-aktin PCR ürünü
- 2. Kuyucuk :** 2.hastanın dokusunun beta-aktin PCR ürünü
- 3. Kuyucuk :** 1.hastanın lenfositlerinin beta-aktin PCR ürünü
- 4. Kuyucuk :** 2.hastanın lenfositlerinin beta-aktin PCR ürünü
- 5. Kuyucuk :** 1.hastanın dokusunun GNRH-II PCR ürünü
- 6. Kuyucuk :** 2.hastanın dokusunun GNRH-II PCR ürünü
- 7. Kuyucuk :** 1.hastanın lenfositlerinin GNRH-II PCR ürünü
- 8. Kuyucuk :** 2.hastanın lenfositlerinin GNRH-II PCR ürünü

Premenopozal ve postmenopozal kontrol hastalarından rastgele seçilen birer örnek kullanılarak hem hedef gen hem de referans gen için farklı standart eğri elde edildi. 1 üniteden 1/16 üniteye kadar 5 konsantrasyon kullanıldı. Standart eğriler üzerinden her örneğin eşik siklusu (CT) kullanılarak hedef referans genlerin ünite cinsinden relatif konsantrasyonlar hesaplandı. Örnekler arasındaki RNA kalite ve kantite farklılıklarını düzeltmek için GNRH-II relative konsantrasyonu , beta-aktin relatif konsantrasyonuna bölünerek normalize oranlar elde edildi. Elde edilen normalize oranlar kontrol ve hasta grubunun PMBC ve dokularındaki GNRH-II ekspresyonu olarak değerlendirildi.

3.2. SERUM VE KİST SIVISINDA sIL-2R ÖLÇÜMÜ

Serum ve kist sıvısında soluble interlökin-2 reseptör düzeyleri enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle Human sIL-2R (Biosource, California, USA) kitiyle prospektüsüne uygun olarak çalışıldı. Sonuçlar spektrofotometre (Teca Spectra II, Austria) ile 450nm’de okundu. Standart absorban değerlerine göre grafik çizilerek hasta konsantrasyonları bu eğride belirlendi. Bu kit sIL-2R değerlerini 0-8000 pg/mL arasında ölçebilmekteydi.

3.3. SERUM VE KİST SIVISINDA FSH, LH VE ÖSTRADIOL ÖLÇÜMÜ

Serum ve kist sıvısında östradiol düzeyi otomatik olarak kemiluminesens sistem (ACS : 180, BAYER Corporation, NY, USA) ile çalışıldı. Bu kit ile östradiol değeri 10-1000 pg/mL arasında ölçüldü. 1000 pg/mL üzerindeki serum örnekleri dilüe edildi.

Serum ve kist sıvısında FSH ve LH düzeyi otomatik olarak kemiluminesens sistem (ACS : 180, BAYER Corporation, NY, USA) ile çalışıldı. FSH değeri 0,3-200 mIU/mL , LH değeri 0,07-200 mIU/mL arasında ölçüldü.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Veriler SPSS 13.0 paket programa kaydedildi, istatistiksel analizler bu program kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edildi. Bütün sürekli değişkenlerin normalizasyonu için Kolmogorov-Smirnov metodu kullanılarak değerler ortalama±standart sapma (SS) ve median (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. İki grup karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için bağımsız iki örnek t-testi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Üç grup karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için tek yönlü Varyans Analizi kullanıldı. Bu analizde fark çıkan gruplarda çoklu karşılaştırmalar Holm-Sidak yöntemiyle yapıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Bu analizde fark çıkan gruplar için çoklu karşılaştırmalar Dunn's yöntemi ile yapıldı. Değişkenler arasındaki ilişki için Spearman Rho korelasyon testi kullanıldı. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 46 hasta postoperatif histopatolojik tanılarına göre benign ve malign olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu 20 hastadan oluşmaktaydı. Postoperatif histopatolojik tanılarına göre 13 hasta çalışmadan çıkarıldı. Bu hastaların 5'i pelvik abse, 2'si pelvik tüberküloz, 2'si tuba kanseri, 2'si kolon kanseri overe metastaz, 1'i appendiks tümörü, 1'i dejenere myom tanısı alan hastalardı. Borderline over tümörü olan 7 hasta (3 premenopoz, 4 menopoz) malign gruba dahil edildi

Grup 1: 24 Malign over tümörü olan hasta (10 premenopoz, 14 menopoz)

Grup 2: 22 Benign over tümörü olan hasta (8 premenopoz, 14 menopoz)

Grup 3: 20 Kontrol grubu (8 premenopoz, 12 menopoz)

Çalışmaya dahil edilen 20 kontrol, 22 benign ve 24 malign toplam 66 hastanın yaş, VKİ, aile öyküsü, parite, menopoz yaşı, OKS ve/veya HRT kullanımı, tüp ligasyon hikayesi, histopatolojik sınıflama, FIGO evre ve grade'i Tablo 2'de gösterilmiştir. Buna göre hastaların yaş ortalaması malign hasta grubunda $50,58 \pm 14,04$, benign hasta grubunda $52,55 \pm 11,76$ ve kontrol grubunda $51,50 \pm 10,66$ idi. Gruplar arasında yaş ortalaması istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p=0,891$). Her üç grubun VKİ'leri sırasıyla kontrol grubunda $28,65 \pm 3,71$, benign hasta grubunda $30,68 \pm 4,37$, malign hasta grubunda $30,49 \pm 7,07$ idi. Gruplar arasında VKİ yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,320$). Her üç grup arasında menopoz yaşı ve parite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı

(sırasıyla p=0,769, p=0,991). Hastaların hiçbirinde pozitif aile öyküsü , HRT ve/veya OKS kullanımı ve tüp ligasyon öyküsü yoktu.

Tablo 2. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların postmenopozal(Post) ve premenopozal(Pre) durumlarına göre demografik ve klinik özellikleri

	GRUP 1 (MALİGN) (n=24)			GRUP 2 (BENİGN) (n=22)			GRUP 3 (KONTROL) (n=20)			
	T	Post	Pre	T	Post	Pre	T	Post	Pre	P
Yaş (Ortalama)	50,58	59,50	38,10	52,55	60,14	39,25	51,50	58,33	41,25	0,891
VKİ (Ortalama)	30,49	31,67	28,83	30,68	32,29	27,88	28,65	30,67	25,63	0,320
Menapoz yaşı (Ortalama)	49,29	49,29		50,54	50,54		50,08	50,08		0,769
Parite (Ortalama)	3,50	4,07	2,70	3,95	4,64	2,75	3,50	3,92	2,88	0,991
Pozitif Aile Öyküsü	0			0			0			
HRT ve/veya OKS kullanımı	0			0			0			
Tüp ligasyonu	0			0			0			
Histopatoloji										
Seröz karsinom	8	7	1							
Müsinöz karsinom	3	0	3							
Endometrioid	5	3	2							
İndiferansiye	2	1	1							
Borderline tümör	7	4	3							
Seröz kist				6	3	3				
Müsinöz kist				2	1	1				
Teratom				1	0	1				
Fibrom				3	3	0				
Sex-kord stromal				1	1	0				
Granüloza hc				1	1	0				
Paraovaryan kist				1	1	0				
Folikül kisti				1	1	0				
Endometriosis				1	1	0				
Externa				5	2	3				
FIGO Evrelemesi										
I	10	6	4							
II	5		3							
III	6	5	1							
IV	3	1	2							
Grade										
1	12	5	7							
2	7	4	3							
3	5	3	2							

Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların dokuda ve periferik lenfositlerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R değerleri Tablo 3’te gösterilmiştir.

Tablo 3. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign hasta gruplarında kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	GRUP 1 (MALİGN)	GRUP 2 (BENİGN)	GRUP 3 (KONTROL)	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	P
Doku GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=21 1.48 $\pm$ 0.79 1.25(0.51-3.54)	n=21 1.08 $\pm$ 0.39 1.08(0.15-1.82)	n=16 1.14 $\pm$ 0.35 1.22(0.31-1.63)	0.343
Lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=20 1.64 $\pm$ 1.10 1.20(0.22-4.50)	n=17 1.60 $\pm$ 0.69 1.75(0.58-2.88)	n=17 1.29 $\pm$ 0.74 1.04(0.43-3.55)	0.275
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=24 121.04 $\pm$ 77.63 105.00(40.00- 400.00) ^a	n=20 83.30 $\pm$ 35.95 85.00(20.00- 140.00) ^a	n=18 79.38 $\pm$ 76.84 60.00(15.00- 280.00) ^{ab}	0.025
Kist sIL-2R (pg/mL)	n=23 448.43 $\pm$ 347.67 360.00(60.00- 1460.00)	n=12 274.58 $\pm$ 308.42 150.00(0.00- 1000.00)	—	0.155

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Tüm hastalar incelendiğinde dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu malign hasta grubunda benign hasta grubu ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,343). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise malign ve benign gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi (p=0,275). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,025). Kist sıvısı sIL-2R düzeyine bakıldığında malign hasta grubu ile benign hasta grubu arasında anlamlı fark yoktu. (p=0,155).

Malign ve benign hasta gruplarında serumda ve kist sıvısında FSH, LH, östradiol düzeyleri Tablo 4’te gösterilmiştir.

Tablo 4. Malign ve benign hasta gruplarında serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 değerlerinin Ortalama $\pm$ SS,Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	GRUP 1 (MALİGN)	GRUP 2 (BENİGN)	P
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	
Serum FSH (mIU/mL)	n=20 19.05 $\pm$ 20.15 11.15(1.52-73.35)	n=22 36.51 $\pm$ 29.97 27.14(1.42-108.90)	0.062
Kist FSH (mIU/mL)	n=17 15.19 $\pm$ 17.08 10.04(2.03-60.00)	n=15 8.65 $\pm$ 12.36 2.65(0.68-44.30)	0.040
Serum LH (mIU/mL)	n=20 11.47 $\pm$ 8.16 9.76(0.27-26.92)	n=22 17.16 $\pm$ 11.01 17.02(1.04-35.83)	0.066
Kist LH (mIU/mL)	n=17 2.25 $\pm$ 2.80 1.07(0.15-9.85)	n=15 0.40 $\pm$ 0.55 0.28(0.00-2.12)	0.00001
Serum E2 (pg/mL)	n=20 85.62 $\pm$ 136.00 38.06(0.00-594.68)	n=22 39.49 $\pm$ 40.52 25.32(0.00-158.80)	0.489
Kist E2 (pg/mL)	n=17 540.82 $\pm$ 1163.82 198.00(0.00-4895.81)	n=15 72.44 $\pm$ 121.10 1.39(0.00-434.03)	0.004

Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign ve benign hasta gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermezken (sırasıyla p=0,062, p=0,066, p=0,489), kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p=0,040, p=0,00001, p=0,004).

Postmenopozal malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu benign ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı (sırasıyla p=0,005, p=0,011). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı fark göstermedi (p=0,199). Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,146). Kist sıvısında bakılan

sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,004).

Tablo 5'te postmenopozal malign, benign ve kontrol grubu hastalarında doku ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serumda ve kist sıvısında sIL-2R değerleri gösterilmektedir.

Tablo 5. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu, serum sIL-2R düzeyi ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama±SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri

POSTMENOPOZ				
	Malign	Benign	Kontrol	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Doku GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=12 1.94±0.74 ^a 1.97(0.96-3.54)	n=13 1.09±0.49 ^b 1.16(0.15-1.82)	n=9 1.30±0.24 ^b 1.25(1.02-1.63)	0.011
Lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=11 1.73±1.30 1.22(0.22-4.50)	n=9 1.45±0.82 1.05(0.58-2.88)	n=9 1.01±0.45 0.92(0.43-2.08)	0.199
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=14 131.07±88.74 115.00(40.00-400.00)	n=12 80.58±40.23 79.00(20.00-140.00)	n=11 87.27±66.37 80.00(16.00-220.00)	0.146
Kist sIL2R (pg/mL)	n=13 523.84±399.15 400.00(80.00-1460.00)	n=5 124.00±77.97 120.00(0.00-200.00)	—	0.004

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Postmenopozal hastalarda serum FSH ve LH düzeyi benign grupta malign gruba göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0,040, p=0,007). Serum östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermedi (p=0,851). Aynı grupta kist sıvısı karşılaştırıldığında FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermezken (p=0,206), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p=0,026, p=0,041).

Tablo 6’da postmenopozal hastalarda benign, malign ve kontrol grubunda serumda ve kist sıvısında FSH, LH ve östradiol değerleri gösterilmektedir.

Tablo 6. Postmenopozal hastalarda benign ve malign grupta serum ve kist sıvısı FSH, LH ve E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri

POSTMENOPOZ			
	Malign	Benign	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Serum FSH (mIU/mL)	n=11 30.54 $\pm$ 20.89 25.92(4.68-73.35)	n=14 51.90 $\pm$ 26.60 57.57(4.11-108.90)	0.040
Kist FSH (mIU/mL)	n=11 21.56 $\pm$ 18.43 15.11(3.73-60.00)	n=8 13.56 $\pm$ 15.55 6.85(1.42-44.30)	0.206
Serum LH (mIU/mL)	n=11 14.67 $\pm$ 7.77 12.20(2.68-26.92)	n=14 23.59 $\pm$ 7.37 23.14(12.60-35.83)	0.007
Kist LH (mIU/mL)	n=11 2.93 $\pm$ 3.32 1.40(0.15-9.85)	n=8 0.53 $\pm$ 0.70 0.35(0.00-2.12)	0.026
Serum E2 (pg/mL)	n=11 29.06 $\pm$ 31.21 16.46(0.00-84.93)	n=14 23.63 $\pm$ 24.09 17.53(0.00-99.38)	0.851
Kist E2 (pg/mL)	n=11 334.86 $\pm$ 355.32 254.48(0.00-1216.40)	n=8 90.43 $\pm$ 148.0 27.97(0.00-434.03)	0.041

Premenopozal hastalar arasında aynı karşılaştırmalar yapıldığında dokuda ve periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol hasta grupları arasında anlamlı fark göstermedi (sırasıyla p=0,491, p=0,435). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,049). Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign ve benign grupta farklı değildi (p=0,835).

Tablo 7’de premenopozal malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositlerde ve dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serumda ve kist sıvısında sIL-2R değerleri gösterilmektedir.

Tablo 7. Premenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda doku ve lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	PREMENOPOZ			
	Malign	Benign	Kontrol	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	P
Doku GnRH-II mRNA Ekspresyonu	n=9 0.87 $\pm$ 0.31 0.88(0.51-1.33)	n=8 1.05 $\pm$ 0.18 1.02(0.84-1.32)	n=7 0.94 $\pm$ 0.39 0.85(0.31-1.45)	0.491
Lenfosit GnRH-II mRNA Ekspresyonu	n=9 1.54 $\pm$ 0.86 1.18(0.49-3.30)	n=8 1.77 $\pm$ 0.50 1.90(0.93-2.42)	n=8 1.61 $\pm$ 0.89 1.63(0.61-3.55)	0.435
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=10 107.00 $\pm$ 60.42 97.50(45.00- 250.00) ^a	n=8 87.37 $\pm$ 30.53 85.00(40.00- 124.00) ^a	n=7 67.00 $\pm$ 95.37 40.00(15.00- 280.00) ^{ab}	0.049
Kist sIL-2R (pg/mL)	n=10 350.20 $\pm$ 253.18 310.00(60.00- 700.00)	n=7 382.14 $\pm$ 371.41 260.00(60.00- 1000.00)	—	0.835

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Premenopozal hastalar kendi içerisinde karşılaştırıldığında serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri açısından malign ve benign grupla arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,180, p=0,248, p=0,248). Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri malign ve benign grupta istatistiksel olarak fark göstermezken (p=0,670, p=0,062), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,002).

Tablo 8’de premenopozal hastalarda malign ve benign grupta serum ve kist sıvısında FSH, LH ve östradiol düzeylerinin ortalama değerleri gösterilmektedir.

Tablo 8. Premenopozal malign ve benign hastaların serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS , Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

PREMENOPOZ			
	Malign	Benign	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Serum FSH (mIU/mL)	n=9 5.01 $\pm$ 3.92 3.34(1.52-13.80)	n=8 9.58 $\pm$ 8.84 7.11(1.42-28.08)	0.180
Kist FSH (mIU/mL)	n=6 3.52 $\pm$ 1.30 3.19(2.03-3.54)	n=7 3.04 $\pm$ 2.39 2.65(0.68-7.46)	0.670
Serum LH (mIU/mL)	n=9 7.55 $\pm$ 7.18 4.65(0.27-22.75)	n=8 5.91 $\pm$ 5.99 3.00(1.04-16.24)	0.248
Kist LH (mIU/mL)	n=6 1.02 $\pm$ 0.36 1.05(0.45-1.59)	n=7 0.26 $\pm$ 0.31 0.12(0.00-0.84)	0.002
Serum E2 (pg/mL)	n=9 154.75 $\pm$ 181.49 69.70(18.60-594.68)	n=8 67.25 $\pm$ 49.63 55.76(22.38-158.80)	0.248
Kist E2 (pg/mL)	n=6 918.41 $\pm$ 1953.82 82.53(4.62-4895.81)	n=7 51.88 $\pm$ 87.78 1.02(0.00-181.79)	0.062

Tüm hasta grupları ve premenopozal hastalarda parametreler arasında korelasyon saptanmazken postmenopozol hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı (r=0,719, p=0,003, N=15).

5. TARTIŞMA

Tedavideki pek çok gelişmeye rağmen jinekolojik kanserler arasında mortalitesi en yüksek kanser olarak yerini koruyan over kanserinin %90'ı over yüzey epitelinin (OYE) köken almaktadır (120). Normal ve neoplastik OYE hücrelerinin büyümesini düzenleyen over içi bazı mekanizmaların kanser gelişiminde önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Buradan yola çıkarak yapılan araştırmalarda GnRH'nın normal OYE hücrelerinde otokrin düzenleyici (121) , over kanser hücrelerinde büyümeyi baskılayıcı rolü olduğu gösterilmiştir (122). GnRH'nın ikinci formu beyin dışında yüksek oranda eksprese edilmektedir (101). İlk defa 2001 yılında Choi KC ve arkadaşları normal ve neoplastik OYE hücre kültürlerinde GnRH-II ekspresyonunu göstermişlerdir (13). Over kanserlerinin yaklaşık olarak %80'i GnRH-I ve GnRH-II eksprese etmektedir (123).

Over fizyolojisinin ve over kanser gelişiminin daha iyi anlaşılabilmesi için GnRH-II son on yılda daha fazla araştırma konusu olmuştur. Şimdiye kadar yapılan tüm araştırmalar kanser hücre dizisinde veya hücre kültürlerinde çalışılmıştır.

IL-2 anti tümöral etkisini T lenfosit, B lenfosit ve NK hücrelerin differansiyasyonu ve proliferasyonu ile gerçekleştiren immün sistemin en önemli yapı taşlarından birisidir (94). IL-2 etkisini hücre yüzeyinde bulunan sIL-2R aracılığı ile gerçekleştirir. Serum sIL-2R düzeyi aktif lenfositlerin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R düzeyi ile koreledir. Bundan dolayı serum sIL-2R düzeyi immünolojik aktivasyonun belirteci olarak görülür (92).

GnRH-II'nin over kanserinde antiproliferatif etkisi kanıtlanmış olmasına rağmen GnRH-II ile IL-2R arasındaki ilişki periferik lenfositler üzerinde yapılan çalışmalarla sınırlı kalmıştır (14,15).

Biz de çalışmamızda serumda ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH, östradiol düzeyini, periferik lenfositlerde ve tümör dokusunda GnRH-II mRNA ekspresyonunu değerlendirerek over tümöründe immünolojik ve hormonal aktivasyonun sistemik ve lokal düzeyini incelemeyi ve böylece GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeyinin benign–malign ayırımında belirteç olarak kullanılabilirliğini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmamızda tüm hastalar içerisinde doku GnRH-II mRNA ekspresyonu malign hasta grubunda benign ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Daha önce yapılan çalışmalarda GnRH-II mRNA ekspresyonu over kanser hücre dizilerinde ve over kanser hücre kültürlerinde gösterilmiştir (13,14). Literatürde benign, malign over tümöründe ve kontrol grubunda GnRH-II mRNA ekspresyonunu gösteren in vivo çalışma yoktur. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign ve benign grupta kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Yayınlarda over tümörlü hastaların periferik lenfositlerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile ilgili veri bulunmamaktadır.

Tüm hastalar içerisinde serum sIL-2R düzeyi malign hasta grubunda benign hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Premenopozal malign hasta grubunda da serum sIL-2R düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Bu grup ana grubumuzu etkiliyor görünmektedir. Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Gebauer ve arkadaşları benign ve malign over tümörü olan toplam 249 hastada serum sIL-2R düzeyini araştırmışlar ve malign grupta sIL-2R düzeyini anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir (124). Aynı bulgular Sedlacek ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada desteklenmiştir. Bu çalışmada toplam 98 hasta çalışmaya alınmış, serum ve kist sıvısı sIL-2R düzeyleri malign hastalarda benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (125). 1988 yılında Kikuchi ve arkadaşları malign ve benign over kanserli toplam 70 hastada periferik lenfositlerde IL-2R ekspresyonunu çalışmışlar ancak her iki grupta da anlamlı fark bulamamışlardır (126). Çalışmamızda

serum sIL-2R düzeyinin anlamlı olarak yüksek bulunması bu hasta grubunda serum düzeyinin kist düzeyini yansıtmadığını gösterir.

Tüm hastalar incelendiğinde serum FSH ve LH düzeyleri malign ve benign hasta grupları arasında anlamlı farklılık göstermedi. Ancak kist sıvısı FSH, LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Kramer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada benign ve malign over tümörlü hastalarda serum ve kist sıvısında FSH ve LH düzeylerinin karşılaştırmışlar ve serum FSH ve LH düzeyleri heriki grup arasında anlamlı fark göstermezken kist sıvısı FSH ve LH düzeyini malign grupta anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (127). Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir. Serum FSH ve LH düzeyinin gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısında anlamlı yüksek bulunması olayın lokal olduğunu ve tümör hücrelerinin FSH ve LH yapımında rol alabileceğini düşündürür. Serum östradiol düzeyi gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısı östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. İlk kez Nash ve arkadaşları over kanser hücre dizisinde östrojenin mitojenik etkisini göstermişlerdir (128). Karasık ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada malign over tümörü olan hastalarda kist sıvısı östradiol düzeyi menstruel siklus sırasındaki hormon dalgalanmalarını ortadan kaldırmak için sadece postmenopozal hastalarda değerlendirilmiştir. Bu çalışmada malign hasta grubunda kist sıvısı östradiol düzeyi benign hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir (129). Bizim çalışmamızda da postmenopozal hastalarda kist sıvısı östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksektir.

Tüm hastalara bakıldığında periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark göstermedi. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ilk defa Tanrıverdi ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (130). Bu çalışmada GnRH-II'nin tek başına B lenfosit proliferasyonunu etkilemediği ve IL-2'ye proliferatif cevabı değiştirmediği rapor edilmiştir. Tanrıverdi ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında ise sağlıklı 6 erkekten alınan venöz kan örneklerinde IL-2R ekspresyonu bakılmış, periferik lenfositlerde GnRH-II'nin IL-2R ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir (15). Çalışmamızda serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Maccio ve arkadaşları over kanserli hastalarda yüksek serum sIL-2R

düzeyinin azalmış T hücre cevabı ile ilişkili olduğunu ve IL-2 aracılı immün cevabı baskıladığını rapor etmişlerdir (75). Sonuç olarak malign hasta grubunda serum sIL-2R düzeyinin anlamlı yüksek olması bu hastalarda immünsüpresif etkinin başladığını düşündürür. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından gruplar arasında fark olmaması bu iki sistemin özellikle sistemik dolaşımda birbirinden bağımsız işlediğini düşündürmektedir.

Postmenopozal hastalarda menstruel siklus dalgalanmalarından etkilenebilecek parametreler büyük oranda sabitlendiğinden bu hasta grubunun bazı verileri daha kıymetlidir. Çalışmamızda bu hasta grubunda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu malign grupta benign ve kontrol grubuna göre yaklaşık iki kat yüksek bulunmuştur. Yine aynı hasta grubunda kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksektir. Yapılan korelasyon analizinde doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R düzeyi arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. sIL-2R'ün kist ortamında fazla bulunması IL-2'nin etkisini baskılayarak lokal immünsüpresif bir zemin hazırlamaktadır. Tümörün immünsüpresif ortamdan faydalanarak GnRH-II'nin antiproliferatif etkisine karşı direnç kazandığı ve GnRH-II sistemini lokal hormon yapımı için kullandığı düşünülebilir. GnRH-II ekspresyonunun tümör dokusunda artması bu hipotezi desteklemektedir. Ayrıca Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada normal ve lösemik T hücrelerinin GnRH-II ve GnRH-I ürettiği ve bu nöropeptidlerin laminin reseptör gen ekspresyonunu, adhezyon ve kemotaksisi artırdığı rapor edilmiştir (109). Tümör ortamında otokrin/parakrin GNRH-II üretimi tümörün gelişimine katkıda bulunuyor olabilir.

İn vitro çalışmaların birinde maymun hipofiz kültür hücrelerinde GnRH-II'nin FSH, LH salınımını artırdığı gösterilmiştir (131). Choi ve arkadaşlarının yaptığı invitro çalışmada ise normal OYE hücre dizileri ve over kanser hücre dizilerinde ortama FSH ve LH eklenmesi GnRH-II mRNA ekspresyonunu baskılamaktadır (13). Eğer tümör FSH, LH ve östradiol gibi hormonların yapımını başarırsa proliferasyon ve metastaz yeteneğini artırabilir. Ancak tümörün GnRH-II yoluyla hormon yapımını gerçekleştirdiğini gösteren invivo çalışma henüz yoktur. İn vivo ortamda yapılan tek çalışma Densmore ve arkadaşlarının maymunlar üzerinde yapmış olduğu araştırmadır (132). Bu çalışmaya göre dışardan GNRH-II verildiğinde ön hipofizden LH ve FSH salınımı GNRH-I reseptörleri aracılığı ile artmakta ve bu etkinin GNRH-I kadar

potent olduğu rapor edilmektedir (132). Bizim çalışmamızda postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında LH ve östradiol düzeyi benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Kramer ve arkadaşları postmenopozal hastalarda kist sıvısı FSH ve LH düzeyini malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir (127). Chudecka-Glaz ve arkadaşlarının çalışmasında postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında FSH ve LH düzeyi benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (133). Aynı çalışmada malign over tümörlü hastalarda serum FSH ve LH'nın postmenopozal hastalarda yüksek saptanmaması ise olayın lokal olduğunu ve tümör hücrelerinin gonadotropin yapımına katıldığını düşündürmüştür (133). Bizim çalışmamızda da postmenopozal malign over tümörlü hastalarda serum FSH ve LH düzeyi benign over tümörlü hastalara göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Her iki grup arasında yaş ortalamaları açısından istatistiksel fark yoktur. (benign grup yaş ortalaması $60,14 \pm 6,22$; malign grup yaş ortalaması $59,50 \pm 9,24$, $p=0,831$). Blaakaer ve arkadaşları menopozal malign over tümörlü hastalarda serum FSH düzeyini benign gruba göre anlamlı olarak düşük saptamışlar, LH düzeyini değerlendirmemişlerdir (134). Bizim çalışmamızda serum FSH, LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak düşükken kist sıvısında LH ve östradiol düzeyleri anlamlı olarak yüksektir. Postmenopozal malign hastalarda kist sıvısında LH ile birlikte doku GnRH-II mRNA ekspresyonunun artmış olması GnRH-II'nin lokal hormon yapımına katılabileceğini ve malignite gelişimi açısından tümör mikroçevresinin seruma göre daha iyi yol gösterdiğini düşündürmektedir.

Postmenopozal hastalarda lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi. Aynı hasta grubunda serum sIL-2R düzeyi malign, benign ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Lenfositlerde GnRH-II ekspresyonu, serum sIL-2R, serum FSH ve LH arasında korelasyon saptanmadı. Bu sonuca göre GnRH-II ile sIL-2R arasındaki ilişkinin lokal düzeyde olduğunu ve sistemik olarak tespit edilemeyeceğini söyleyebiliriz.

Karasık ve arkadaşları postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında östradiol düzeyini benign gruba göre anlamlı olarak yüksek tesbit etmişlerdir (129). Jeppsson ve arkadaşları ise postmenopozal malign over tümörlü

hastaların over veninde estradiol düzeyini benign gruba göre yüksek bulmuşlardır (135) . Çalışmamızda postmenopozal malign over tümör olan hastaların kist sıvısında artmış östradiol düzeyi ile birlikte artmış GnRH-II mRNA ekspresyonu tespit ettik. Kang ve arkadaşlarının yaptığı in vitro çalışmada östradiolün GnRH'nın over kanser hücrelerinde büyümeyi inhibe edici etkisini antagonize ettiği gösterilmiştir (121). Buradan yola çıkarak östradiolün GnRH-II için de böyle bir etkisinin olduğu, tümör hücresinde GnRH-II'nin antiproliferaif etkisini antagonize ederek GnRH-II'ye karşı dirençte rol alabileceği ve artan GnRH-II mRNA ekspresyonu ile tümör dokusunda LH ve östradiol yapımını stimüle edebileceği söylenebilir.

Premenopozal hastalarda lenfositlerde veya dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından malign , benign ve kontrol grubu arasında fark bulunmazken serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksektir. Bu sonuca göre olay önce sistemik olarak başlamakta postmenopozal dönemde ise lokal düzeyde yani kist sıvısında tespit edilmektedir. Çalışmamızın sonucunda premenopoz olan daha genç yaş kontrol grubunda serum sIL-2R düzeyi düşükken yaş ilerledikçe serum sIL-2R düzeyinin arttığını tespit ettik (Premenopozal kontrol grubunun yaş ortalaması $41,25 \pm 6,75$; postmenopozal kontrol grubunun yaş ortalaması $58,33 \pm 6,32$). Orson ve arkadaşları yaptıkları in vitro çalışmada sağlıklı genç ve sağlıklı yaşlı hastaların kanlarını kullanmış, bu kanlar in vitro ortamda stimüle edilmiştir (136). Yaşlı hastalarda IL-2R ekspresyonu artmadan sIL-2R salınımının arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucuna göre hücre aracılı immünite yaşlanmayla birlikte azalmaktadır. Bizim çalışmamız da bu çalışmanın sonuçlarıyla benzerdir. Şimdiye kadar yapılan hiçbir çalışmada premenopozal ve postmenopozal hastalar sIL-2R düzeyi açısından kendi içerisinde ayrı olarak değerlendirilmemiştir. O nedenle bu hasta gruplarında gerçekte farkın olup olmadığını eldeki verilerle ortaya koymak zordur. Bu çalışma ilk defa postmenopozal ve premenopozal hastalar arasında serum sIL-2R düzeyi açısından farkın olabileceğini ve premenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyinin malignite gelişimi açısından belirteç olarak kullanılabileceğini vurgulamaktadır.

Premenopozal hasta grubunda serum FSH, LH ve östradiol düzeyi açısından malign ve benign grup arasında fark izlenmedi. Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısı LH düzeyi malign

grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Chudecka-Glaz ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada over tümörü olan hastalarda serumda ve kist sıvısında FSH, LH düzeyini karşılaştırmışlar ancak premenopozal malign hasta grubunda sadece iki hasta olduğu için bu grupta istatistiksel analiz yapmamışlardır (132). Reimer ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada perimenopozal ve postmenopozal hastalarda düşük kist sıvısı FSH ve LH düzeyi ile premenopozal hastalarda yüksek kist sıvısı estradiol düzeyinin fonksiyonel kist ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (137). Aynı çalışmada premenopozal hasta grubunda fonksiyonel kist sıvısı ve neoplastik tümör kist sıvısı arasında FSH ve LH düzeyi açısından fark saptanmamıştır. Çalışmamızın sonucuna göre premenopozal malign hastalarda erken folliküler fazda elde edilen kist sıvısında artan LH düzeyinin malignite gelişimi ile ilişkili olabileceği ancak dokuda GnRH-II mRNA ekspresyon açısından benign, malign ve kontrol grubu arasında fark olmaması ise doku düzeyinde tümör gelişimi ile LH arasında GnRH-II sisteminden bağımsız bir ilişki olduğunu düşündürür. Bu çalışma ile literatürde ilk defa premenopozal malign hasta grubunda kist sıvısı LH düzeyinin benign gruba göre anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir.

Gebauer ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada over kanserli hastalarda serum sIL-2R düzeyi ile FIGO evrelemesi ve prognoz arasında ilişki saptanmış buna göre evre arttıkça serum sIL-2R düzeyinin arttığı en yüksek düzeyin evre 4 hastalarda olduğu tespit edilmiştir (124). Artan sIL-2R düzeyinin immünolojik aktivasyonu gösterdiği ve Evre 4 hastalarda olduğu gibi daha da yüksek değerlerin immünsupresif etkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda incelenen hasta sayısı az olduğu için istatistiksel analiz yapılmamıştır. Ayrıca over kanserinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile evre ve prognoz ilişkisi araştırılmayı beklemektedir. Bu konuda daha yüksek ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamız literatürde ilk defa GnRH-II ile sIL-2R arasında özellikle postmenopozal malign hastalarda doku düzeyinde bir ilişki olabileceğini ve bu hasta grubunda GnRH-II'nin lokal düzeyde hormon yapımına katılabileceğini belirtmektedir. Bu çalışma premenopozal malign over tümörlü hastalarda serum sIL-2R düzeyinin, postmenopozal malign over tümörlü hastalarda ise doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ve kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin klinikte belirteç olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir. Çalışmamızın sonucunda elde edilen bulgular

ilerde yapılacak birçok deneysel ve klinik çalışmalara ışık tutacak ve böylelikle over kanser yönetiminde ve hedefe yönelik tedavilerde yeni gelişmeler sağlanabilecektir.

6. SONUÇLAR

1. Tüm hastalar içerisinde yaş ortalamaları yönünden malign, benign ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,891$). Yaş ortalaması malign grupta $50,58 \pm 14,04$, benign grupta $52,55 \pm 11,76$, kontrol grubunda $51,50 \pm 10,66$ idi.
2. Malign, benign ve kontrol grupları arasında VKİ'leri yönünden anlamlı fark saptanmadı ($p=0,320$). VKİ ortalaması malign grupta $30,49 \pm 7,07$, benign grupta $30,68 \pm 4,37$ ve kontrol grubunda $28,65 \pm 3,71$ idi.
3. Her üç grup arasında menapoz yaşı ve parite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p=0,769$, $p=0,991$).
4. Dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi ($p=0,343$).
5. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından üç grup arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,275$).
6. Serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksekti ($p=0,025$).
7. Kist sıvısı sIL-2R düzeyine bakıldığında malign ve benign gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi ($p=0,155$).
8. Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri açısından her iki grup arasında anlamlı değişiklik saptanmadı (sırasıyla $p=0,062$, $p=0,066$, $p=0,489$).
9. Kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre yüksek bulundu. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,040$, $p=0,00001$, $p=0,004$).
10. Postmenopozal malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ($p=0,011$).

11. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından fark yoktu ($p=0,199$).
12. Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign, benign ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,146$).
13. Aynı hasta grubunda kist sıvısında bakılan sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre istatistiksel olarak yüksek saptandı ($p=0,004$).
14. Serum FSH ve LH düzeyi postmenopozal benign grupta malign gruba göre yüksekti. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,040$, $p=0,007$).
15. Serum östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermedi ($p=0,851$).
16. Postmenopozal hastalarda kist sıvısı karşılaştırıldığında FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında değişiklik göstermezken ($p=0,206$), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,026$, $p=0,041$).
17. Premenopozal hastalarda dokuda ve periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p=0,491$, $p=0,435$).
18. Premenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p=0,049$).
19. Aynı hasta grubunda kist sıvısı sIL-2R düzeyi açısından malign ve benign gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,835$).
20. Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri premenopozal malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermedi ($p=0,180$, $p=0,248$, $p=0,248$).
21. Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri malign ve benign grupta istatistiksel olarak fark göstermezken ($p=0,670$, $p=0,062$), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,002$).
22. Postmenopozal hastalar arasında doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ($r=0,719$, $p=0,003$).

7. KAYNAKLAR

1. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics, 1999. CA Cancer J Clin 1999; 49: 8-31
2. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics, 2000. CA Cancer J Clin 2000; 50:7-33
3. Leung PC, Choi JH. Endocrine signaling in ovarian surface epithelium and cancer. Hum Reprod Update 2007; 13(2): 143-62.
4. Lukanova A, Lundin E, Micheli A et al. Risk of ovarian cancer in relation to prediagnostic levels of C-peptide, insulin-like growth factor binding proteins-1 and -2 (USA, Sweden, Italy). Cancer Causes Control 2003; 14(3): 285-92.
5. Roberta B, Ness CC. Possible role of ovarian epithelial inflammation in ovarian cancer. J Natl Cancer Inst 1999; 91(17): 1459-67.
6. Bukovsky A. Immune system involvement in the regulation of ovarian function and augmentation of cancer. Microsc Res Tech 2006; 69(6): 482-500.
7. Wanebo HJ, Pace R, Hargett S. Production of and response to interleukin-2 in peripheral blood lymphocytes of cancer patients. Cancer 1986; 57: 656-62.
8. Owens OJ, Taggart C, Wilson R et al. Interleukin-2 receptor and ovarian cancer. Br J Cancer 1993; 68: 364-7.
9. Lauria F, Rondelli D, Raspadori D et al. Serum sIL-2R levels in hairy cell leukaemia: Correlation with clinical and haematological parameters and with Alpha-interferon treatment. Leuk-Lymphoma 1992;7: 103-7.
10. Fierro MT, Lisa F, Novelli M. Soluble interleukin-2 receptor, CD4 and CD8 levels in Melanoma: a longitudinal study. Dermatologica 1992; 184: 182-9.

11. King JA, Millar RP. Structure of chicken hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone II. Isolation and characterization. *J Biol Chem* 1982; 257: 10729-32.
12. Lescheid DW, Terasawa E, Abler LA et al. A second form of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) with characteristics of chicken GnRH-II is present in the primate brain. *Endocrinology* 1997; 138(12): 5618-29.
13. Choi KC, Auersperg N, Leung PC. Expression and antiproliferative effect of a second form of gonadotropin-releasing hormone in normal and neoplastic ovarian surface epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(10): 5075-5078.
14. Grundker C, Gunthert AR, Millar RP, Emons G. Expression of gonadotropin-releasing hormone II (GnRH-II) receptor in human endometrial and ovarian cancer cells and effects of GnRH-II on tumor cell proliferation. *Endocrinol Metab* 2002; 87: 1427-30.
15. Tanriverdi F, Gonzalez-Martinez D, Silveira LF et al. GnRH-I and GnRH-II have differential modulatory effects on human peripheral blood mononuclear cell proliferation and interleukin-2 receptor gamma-chain mRNA expression in healthy males. *Clin Exp Immunol* 2005; 142(1): 103-10.
16. Choi KC, Kang SK, Tai CJ, Auersperg N. Follicle-stimulating hormone activates mitogen-activated protein kinase in preneoplastic and neoplastic ovarian surface epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(5): 2245-53.
17. Kang SK, Tai CJ, Nathwani PS, Leung PC. Differential regulation of two forms of gonadotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid in human granulosa-luteal cells. *Endocrinology* 2001; 142(1): 182-92.
18. Robinson E, Segal R, Vesely Z, Mekori T. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood and malignant effusions of cancer patients. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22(2): 191-3.
19. Narod SA, Boyd J. Current understanding of the epidemiology and clinical implications of BRCA-1 and BRCA-2 mutations for ovarian cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002; 14: 19-26.

20. Buller RE, Lallas TA, Shahin MS. The p53 mutational spectrum associated with BRCA1 mutant ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7(4): 831-8.
21. Boyd J, Sonoda Y, Federici MG et al. Clinicopathologic features of BRCA-linked and sporadic ovarian cancer. *JAMA* 2000; 283(17): 2260-5.
22. Lee H, Park G, Jung JH et al. Diagnostic approach using the expression profiling of the P53 tumor suppressor gene and its related proteins in ovarian epithelial tumors. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 453-61.
23. Shih IeM, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol* 2004; 164(5): 1511-8.
24. Fathalla FM. Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia? *Lancet* 1971; 2 (7716): 163.
25. Scully RE. Pathology of ovarian cancer precursors. *J Cell Biochem Suppl* 1995; 23: 208-18
26. Syed V, Ulinski G, Mok SC, Yiu GK, Ho SM. Expression of gonadotropin receptor and growth responses to key reproductive hormones in normal and malignant human ovarian surface epithelial cells. *Cancer Res* 2001; 61(18): 6768-76.
27. Zheng W, Lu JJ, Luo F et al. Ovarian epithelial tumor growth promotion by follicle stimulating hormone and inhibition of the effect by luteinizing hormone. *Gynecol Oncol* 2000; 76(1): 80-8.
28. Ivarsson K, Sundfeldt K, Brannstrom M, Hellberg P, Janson PO. Diverse effects of FSH and LH on proliferation of human ovarian surface epithelial cells. *Hum Reprod* 2001; 16(1): 18-23.
29. Stakleff KD, Von Gruenigen VE. Rodent models for ovarian cancer research. *Int J Gynecol Cancer* 2003; 13(4): 405-12.
30. Simon WE, Albrecht M, Hansel M, Dietel M, Hölzel F. Cell lines derived from human ovarian carcinomas: growth stimulation by gonadotropic and steroid hormones. *J Natl Cancer Inst* 1983; 70: 839-44.

31. Schiffenbauer YS, Abramovitch R, Meir G. Loss of ovarian function promotes angiogenesis in human ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(24): 13203-8.
32. Wang J, Luo F, Lu JJ, Chen PK, Liu P, Zheng W. VEGF expression and enhanced production by gonadotropins in ovarian epithelial tumors. *Int J Cancer* 2002; 97(2): 163-7.
33. Osterholzer HO, Streibel EJ, Nicosia SV. Growth effects of protein hormones on cultured rabbit ovarian surface epithelial cells. *Biol Reprod* 1985; 33(1): 247-58.
34. Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Gordon GB et al. Serum gonadotropins and steroid hormones and the development of ovarian cancer. *JAMA* 1995; 274: 1926-30.
35. Arslan AA, Zeleniuch-Jacquotte A, Lundin E et al. Serum follicle-stimulating hormone and risk of epithelial ovarian cancer in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 1531-5.
36. Schildkraut JM, Schwingl PJ, Bastos E, Evanoff A, Hughes C. Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 554-9.
37. Risch HA. Hormonal etiology of epithelial ovarian cancer, with a hypothesis concerning the role of androgens and progesterone. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90(23): 1774-86.
38. Bohlke K, Cramer DW, Barbieri RL. Relation of luteinizing hormone levels to body mass index in premenopausal women. *Fertil Steril* 1998; 69: 500-4.
39. Cunaat S, Hoffmann P, Pujol P. Estrogens and epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2004; 94(1): 25-32.
40. Silva EG, Tornos C, Deavers M, Kaisman K, Gray K, Gershenson D. Induction of epithelial neoplasms in the ovaries of guinea pigs by estrogenic stimulation. *Gynecol Oncol* 1998; 71: 240-6.

41. Nash JD, Ozols RF, Smyth JF, Hamilton TC. Estrogen and anti-estrogen effects on the growth of human epithelial ovarian cancer in vitro. *Obstet Gynecol* 1989; 73(6): 1009-16.
42. Rodriguez C, Patel AV, Calle EE, Jacob EJ, Thun MJ. Estrogen replacement therapy and ovarian cancer mortality in a large prospective study of US women. *JAMA* 2001; 285: 1460-5.
43. Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E, Cauley J,. Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA* 2002; 288: 58–66.
44. Lukonova A, Lundin E, Akhmedkhanov A et al. Circulating levels of sex steroid hormones and risk of ovarian cancer. *Int J Cancer* 2003; 104(5): 636-42.
45. The endocrinology of pregnancy. In: Speroff L, Glass RH, Kase NG, editors. *Clinical Gynecological Endocrinology and Infertility*. Baltimore (MD): Williams&Wilkins; 1994. p. 251-91.
46. Van Gorp T, Amant F, Neven P, Vergote I, Moerman P. Endometriosis and the development of malignant tumours of the pelvis. A review of literature. *Best Prac Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18: 349-71.
47. Zeitoun KM, Bulun SE. Aromatase: a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Fertil Steril* 1999; 72(6): 961-9.
48. Yancik R. Ovarian cancer. Age contrasts in incidence, histology, disease stage at diagnosis, and mortality. *Cancer* 1993; 71(2 Suppl): 517-23.
49. Modan B, Ron E, Lerner-Geva L, Blumstein T, Cancer incidence in a cohort of infertile women. *Am J Epidemiol* 1998; 147: 1038–1042.
50. Salazar-Martinez E, Lazcano-Ponce EC, Gonzalez Lira-Lira G, Escudero-De los RP. Reproductive factors of ovarian and endometrial cancer risk in a high fertility population in Mexico. *Cancer Res* 1999; 59: 3658–3662.
51. Edmondson RJ, Monaghan JM, Davies BR. The human ovarian surface epithelium is an androgen responsive tissue. *Br J Cancer* 2002; 86: 879-85

52. Lukanova A, Kaaks R. Endogenous hormones and ovarian cancer: epidemiology and current hypotheses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(1): 98-107.
53. Kaaks R, Lukanova A. Energy balance and cancer: the role of insulin and insulin-like growth factor-I. *Proc Nutr Soc* 2001; 60(1): 91-106.
54. Adler AI, Weiss NS, Kamb ML, Lyon JL. Is diabetes mellitus a risk factor for ovarian cancer? A case-control study in Utah and Washington (United States). *Cancer Causes Control* 1996; 7(4): 475-8.
55. Rodriguez C, Calle EE, Fakhrabadi-Shokoochi D, Jacobs EJ, Thun MJ. Body mass index, height, and the risk of ovarian cancer mortality in a prospective cohort of postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 822-8.
56. Purdie DM, Bain CJ, Webb PM, Whiteman DC, Pirozzo S, Gren AC. Body size and ovarian cancer: case-control study and systematic review (Australia). *Cancer Causes Control* 2001; 12(9): 855-63.
57. Fairfield KM, Willett WC, Rosner BA, Manson JE, Speizer FE, Hankinson SE. Obesity, weight gain, and ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 2002; 100(2): 288-96.
58. Kuper H, Cramer DW, Titus-Ernstoff L. Risk of ovarian cancer in the United States in relation to anthropometric measures: does the association depend on menopausal status? *Cancer Causes Control* 2002; 13: 455-63.
59. Anderson JP, Ross JA, Folso AR. Anthropometric variables, physical activity, and incidence of ovarian cancer: The Iowa Women's Health Study. *Cancer* 2004; 100(7): 1515-21.
60. Engeland A, Tretli S, Bjorge T. Height, body mass index, and ovarian cancer: a follow-up of 1.1 million Norwegian women. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1244-8.
61. Parazzini F, Moroni S, La Vecchia C, Negri E, dal Pino D, Bolis G. Ovarian cancer risk and history of selected medical conditions linked with female hormones. *Eur J Cancer* 1997; 33(10): 1634-7.

62. Lukanova A, Toniolo P, Lundin E et al. Body mass index in relation to ovarian cancer: a multi-centre nested case-control study. *Int J Cancer* 2002; 99(4): 603-8.
63. Bukovsky A. Immune system involvement in the regulation of ovarian function and augmentation of cancer. *Microsc Res Tech* 2006; 69(6): 482-500.
64. Ness RB, Modugno F. Endometriosis as a model for inflammation-hormone interactions in ovarian and breast cancers. *Eur J Cancer* 2006; 42(6): 691-703.
65. Pietras RJ. Targeting Angiogenic Factors Contributing to Etiology and Progression of Human Ovarian Cancer. *Med Gen Med*. 2004; 6(4): 21.
66. Counter CM, Hirte HW, Bacchetti S, Harley CB. Telomerase activity in human ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; ;91(8): 2900-4.
67. Santin AD, Bellone S, Ravaggi A et al. Increased levels of interleukin-10 and transforming growth factor-beta in the plasma and ascitic fluid of patients with advanced ovarian cancer. *BJOG* 2001; 108(8): 804-8.
68. Penson RT, Kronish K, Duan Z et al. Cytokines IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, MCP-1, GM-CSF and TNFalpha in patients with epithelial ovarian cancer and their relationship to treatment with paclitaxel. *Int J Gynecol Cancer* 2000; 10: 33-41.
69. Xu L, Fidler IJ. Interleukin 8: an autocrine growth factor for human ovarian cancer. *Oncol Res* 2000; 12(2): 97-106.
70. Berek JS, Chung C, Kaldi K, Watson JM, Knox RM, Martinez-Maza O. Serum interleukin-6 levels correlate with disease status in patients with epithelial ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164(4): 1038-42.
71. Nakayama E, Asano S, Takuwa N, Yokota J, Miawa S. Decreased TCGF activity in the culture medium of PHA stimulated peripheral mononuclear cells from patients with metastatic cancer. *Clin Exp Immunol* 1983; 51(3): 511-6.
72. Nelson DL, Wagner DK, Maron L et al. An analysis os soluble IL-2 receptors in human neoplastic disorders. In: Albertini A, Lentant C, Poeletti R, eds. *Biotechnology in Clinical Medicine*. New York: Raven Pres; 1987: 277-86.

73. Wang S, Cai G, Lu Y. Clinical implication of serum sIL-2R levels in ovarian cancer. *Journal of Tongji Medical University* 1998; 18(2): 126-128.
74. Wang H, Xie X, Lu WG, Ye DF, Chen HZ, Li X, Cheng Q. Ovarian carcinoma cells inhibit T cell proliferation: suppression of IL-2 receptor beta and gamma expression and their JAK-STAT signaling pathway. *Life Sci* 2004; 74(14): 1739-49.
75. Maccio A, Lai P, Santona MC, Pagliara L, Melis GB, Mantovani G. High serum levels of soluble IL-2 receptor, cytokines, and C reactive protein correlate with impairment of T cell response in patients with advanced epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1998; 69: 248-52.
76. Kang SK, Choi KC, Yang HS, Leung PC. Potential role of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH)-I and GnRH-II in the ovary and ovarian cancer. *Endocr Relat Cancer* 2003; 10(2): 169-77.
77. Volker P, Gründker C, Schmidt O, Schulz KD, Emons G. Expression of receptors for luteinizing hormone-releasing hormone in human ovarian and endometrial cancers: frequency, autoregulation, and correlation with direct antiproliferative activity of luteinizing hormone-releasing hormone analogues. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186(2): 171-9.
78. Young RC, Decker DG, Wharton JT et al. Staging laparotomy in early ovarian cancer. *JAMA* 1983; 250: 3072-76.
79. Young RC, Brady MF, Nieberg RK et al. Adjuvant treatment for early ovarian cancer: a randomized phase III trial of intraperitoneal 32P or intravenous cyclophosphamide and cisplatin--a gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol* 2003; 21(23): 4350-5.
80. Muggia FM, Hainsworth JP, Jeffers S et al. Phase II study of liposomal doxorubicin in refractory ovarian cancer: antitumor activity and toxicity modification by liposomal encapsulation. *J Clin Oncol* 1997; 15: 987-93.
81. Rose PG, Blessing JA, Mayer AR et al. Prolonged oral etoposide in recurrent or advanced non-squamous cell carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2003; 89(2): 267-70.

82. Rosano L, Di Castro V, Spinella F et al. Combined targeting of endothelin A receptor and epidermal growth factor receptor in ovarian cancer shows enhanced antitumor activity. *Cancer Res* 2007; 67(13): 6351-9.
83. Rosa DD, Clamp AR, Collinson F, Jayson GC. Antiangiogenic therapy for ovarian cancer. *Curr Opin Oncol* 2007; 19(5): 497-505.
84. Kanerva A, Raki M, Hemminki A. Gene therapy of gynaecological diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2007; 7(9): 1347-61.
85. Zheng H, Kavanagh JJ, Hu W, Liao Q, Fu S. Hormonal therapy in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17(2): 325-38.
86. Sabbatini P, Odunsi K. Immunologic approaches to ovarian cancer treatment. *J Clin Oncol*. 2007 Jul 10;25(20):2884-93.
87. Freedman RS, Edwards CL, Kavanagh JJ et al. Intraperitoneal adoptive immunotherapy of ovarian carcinoma with tumor-infiltrating lymphocytes and low-dose recombinant interleukin-2: a pilot trial. *J Immunother Emphasis Tumor Immunol* 1994; 16(3): 198-210.
88. Hofstra LS, Mourits MJ, de Vries EG, Mulder NH, Willemse PH. Combined treatment with goserelin and tamoxifen in patients with advanced chemotherapy resistant ovarian cancer. *Anticancer Res* 1999; 19(4C): 3627-30.
89. Sevela P, Vavra N, Fitz R et al. Goserelin a GnRH-analogue as third-line therapy of refractory epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 1992; 2(3): 160-2.
90. Edwards RP, Gooding W, Lembersky BC et al. Comparison of toxicity and survival following intraperitoneal recombinant interleukin-2 for persistent ovarian cancer after platinum: twenty-four-hour versus 7-day infusion. *J Clin Oncol* 1997; 15(11): 3399-407
91. Balbi G, Piano LD, Cardone A, Cirelli G. Second-line therapy of advanced ovarian cancer with GnRH analogs. *International Journal of Gynecological Cancer* 2004; 14(5): 799-803.

92. Rubin LA, Nelson D. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function and clinical application. *Ann Intern Med* 1990; 113: 619-45.
93. Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME et al. Soluble IL-2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro. *J Immunol* 1985; 135: 3172-75.
94. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. In: Stites DP, Terr AI (eds) *Basic and Clinical Immunology*. Prentice Hall International, 7th ed, 1991, 86-90.
95. Lissoni P, Barni F, Rovelli F et al. The biological significance of soluble IL-2 receptors in solid tumors. *Eur J Cancer* 1990; 26(1): 33-6.
96. Teodorczyk-Injeyan JA, Sparkes BG, Lalani S, Peters WJ, Mills GB. IL-2 regulation of soluble IL-2 receptor levels following thermal injury. *Clin Exp Immunol* 1992; 90(1): 36-42 .
97. Hurteau JA, Simon HU, Kurman C, Rubin L, Mills GB. Elevated levels of the soluble interleukin 2 receptor alpha are present in ovarian cancer patients: evidence for activation of T lymphocytes and possible use in management of ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 918-28.
98. Conn PM, Crowley WF. Gonadotropin Releasing Hormone and its analogues. *Annu Rev Med* 1994; 45: 391-405.
99. Zidan J, Zohao S, Mijiritzky I, Kral S, Bilenca B. Treating relapsed epithelial ovarian cancer with luteinizing hormone-releasing agonist (goserelin) after failure of chemotherapy. *Isr Med Assoc J* 2002; 4: 597-9.
100. Kasten TL, White SA, Norton TT, Bond CT, Adelman JP, Fernald RD. Characterization of two new preproGnRH mRNAs in the tree shrew: first direct evidence for mesencephalic GnRH gene expression in a placental mammal. *Gen Comp Endocrinol* 1996; 104(1): 7-19.
101. White RB, Eisen JA, Kasten TL, Fernald RD. Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(1): 305-9.
102. King JA, Millar RP. Structure of chicken hypothalamic GnRH II. Isolation and characterization. *J Biol Chem* 1982; 257:10729-32.

103. Miyamoto K, Hasegawa Y, Nomura M, Igarashi M, Kanagawa K, Matsuo H. Identification of the second gonadotropin-releasing hormone in chicken hypothalamus: evidence that gonadotropin secretion is probably controlled by two distinct gonadotropin-releasing hormones in avian species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984; 81(12): 3874-8.
104. Sherwood NM, Lovejoy DA, Coe IR. Origin of mammalian gonadotropin-releasing hormones. *Endocr Rev* 1993; 14(2): 241-54.
105. Neill JD, Musgrove LC, Duck LW. Newly recognized GnRH receptors: function and relative role. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15(8): 383-92.
106. Chen A, Yahalom D, Ben-Aroya N, Kaganovsky E, Okon E, Koch Y. A second isoform of gonadotropin-releasing hormone is present in the brain of human and rodents. *FEBS Lett* 1998; 435: 199-203.
107. Cheon KW, Lee HS, Parhar IS, Hang IS. Expression of the second isoform of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH-II) in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 447-52.
108. Siler-Khodr TM, Grayson M. Action of chicken II GnRH on the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 804-10.
109. Chen A, Ganor Y, Rahimipour S, Ben-Aroya N, Koch Y, Levite M. The neuropeptides GnRH-II and GnRH-I are produced by human T cells and trigger laminin receptor gene expression, adhesion, chemotaxis and homing to specific organs. *Nat Med* 2002; 8: 1421-26.
110. Kim KY, Choi KC, Park SH, Chou CS, Auersperg N, Leung PC. Type II gonadotropin releasing hormone stimulates p38 mitogen-activated protein kinase and apoptosis in ovarian cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6): 3020-6.
111. Illing N, Troskie BE, Nahorniak CS, Hapgood JP, Peter PE, Millar RP. Two gonadotropin-releasing hormone receptor subtypes with distinct ligand selectivity and differential distribution in brain and pituitary in the goldfish (*Carassius auratus*). *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2526-61.

112. Wang L, Bogerd HS, Choi JY et al. Three distinct types of GnRH receptor characterized in the bullfrog. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(1): 361-6.
113. Millar RP, Conklin D, Lofton-Day E et al. A novel human GnRH receptor homolog gene: abundant and wide tissue distribution of the antisense transcript. *J Endocrinol* 1999; 162(1): 117-26 .
114. Millar RP, Lowe S, Conklin D, Pawson A et al. A novel mammalian receptor for the evolutionarily conserved type II GnRH. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(17): 9636-41.
115. Millar RP. GnRH II and type II GnRH receptors, *Trends Endocrinol Metab* 2003;14: 35-43.
116. Neill JD, Duck LW, Sellers JC, Musgove LC. A gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor specific for GnRH II in primates. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 282: 1012-18.
117. Gründker C, Schlotawa L, Viereck V et al. Antiproliferative effects of the GnRH antagonist cetrorelix and of GnRH-II on human endometrial and ovarian cancer cells are not mediated through the GnRH type I receptor. *Eur J Endocrinology* 2004; 151: 141-149.
118. Speroff L, Fritz MA: *Neuroendocrinology*; In *The Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*; 7th Ed. 145-185; Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (PA) 2004.
119. Okada Y, Murota-Kawano A, Kakar SS, Winters SJ. Evidence that gonadotropin-releasing hormone (GnRH) II stimulates luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion from monkey pituitary cultures by activating the GnRH I receptor. *Biol Reprod* 2003; 69(4): 1356-61.
120. Seidman JD, Russel P, Kurman RJ. Surface epithelial tumors of the ovary. In: Kurman RJ, ed. 5th ed. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. New York: Springer-Verlag; 2002. p.791-811.
121. Kang SK, Choi KC, Cheng KW, Nathwani PS, Auersperg N, Leung PCK. Role of gonadotropin-releasing hormone as an autocrine growth factor in human ovarian surface epithelium. *Endocrinology* 2000; 141: 72-80.

122. Yano T, Pinski J, Radulovic S, Schally AV. Inhibition of human epithelial ovarian cancer cell growth in vitro by agonistic and antagonistic analogues of luteinizing hormone-releasing hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; 91(5): 1701-5.
123. Gründker C, Günther AR, Westphalen S, Emons G. Biology of the gonadotropin-releasing hormone system in gynecological cancers. *Eur J Endocrinol* 2002; 146(1): 1-14.
124. Gebauer G, Rieger M, Jager W, Lang N. Prognostic relevance of soluble interleukin-2 receptors in patients with ovarian tumors. *Anticancer Res*. 1999 Jul-Aug;19(4A):2509-11.
125. Sedlaczek P, Frydecka I, Gabrys M, Van Dalen A, Einarsson R, Harlozinska R. Comparative analysis of CA125, tissue polypeptide specific antigen, and soluble interleukin-2 receptor alpha levels in sera, cyst, and ascitic fluids from patients with ovarian carcinoma. *Cancer* 2002; 95(9): 1886-93.
126. Kikuchi Y, Kizawa I, Oomori K et al. Effects of cimetidine on interleukin-2 production by peripheral blood lymphocytes in advanced ovarian carcinoma. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1988 Jul;24(7):1185-90.
127. Kramer S, Leeker M, Jager W. Gonadotropin levels in ovarian cyst fluids: a predictor of malignancy? *Int J Biol Markers* 1998; 13(3): 165-8.
128. Nash JD, Ozols RF, Smyth CF, Hamilton TC. Estrogen and anti-estrogen effects on the growth of human epithelial ovarian cancer in vitro. *Obstet Gynecol*. 1989 Jun; 73(6): 1009-16.
129. Karasik A, Menczer J, Pariente C, Kanety H. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-2 are increased in cyst fluids of epithelial ovarian cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78(2): 271-6.
130. Tanriverdi F, Gonzalez-Martinez D, Silveira RF, Hu Y, Maccoll GS, Travers P, Bouloux PM. Expression of gonadotropin-releasing hormone type-I (GnRH-I) and type-II (GnRH-II) in human peripheral blood mononuclear cells (PMBCs) and regulation of B-lymphoblastoid cell proliferation by GnRH-I and GnRH-II. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004; 112(10): 587-94.

131. Okada Y, Murota-Kawano A, Kakar SS, Winters SJ. Evidence that gonadotropin-releasing hormone (GnRH) II stimulates luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion from monkey pituitary cultures by activating the GnRH I receptor. *Biol Reprod* 2003; 69(4): 1356-61.
132. Densmore VS, Urbanski HF. Relative effect of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-I and GnRH-II on gonadotropin release. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(5): 2126-34.
133. Chudecka-Glaz A, Rzepka-Gorska I, Kosmowska B. Gonadotropin (LH, FSH) levels in serum and cyst fluid in epithelial tumors of the ovary. *Arch Gynecol Obstet* 2004; 270(3): 151-6.
134. Blaakaer J, Micic S, Morris ID et al. Immunoreactive inhibin-production in post-menopausal women with malignant epithelial ovarian tumors. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1993; 52(2): 105-10.
135. Jeppsson S, Kullander S, Rannevik G. Peripheral and ovarian venous concentrations of gonadal steroids and CEA in women with ovarian tumors. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1982; 61(3): 209-12.
136. Orson FM, Saadeh CK, Lewis DE, Nelson DL. Interleukin 2 receptor expression by T cells in human aging. *Cell Immunol* 1989; 124(2): 278-91.
137. Reimer T, Gerber B, Kunkel S, Luettich K. Estradiol, gonadotropins, and tumor markers in ovarian cyst fluid. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997; 76(5): 478-83.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Ceren DİNÇER ATA'ya ait "Malign ve Benign Over Tümörlerinde Dokuda ve Periferik Lenfositlerde GNRH-II Gen Ekspresyonu ile kist sıvısı ve serumda sIL-2R, FSH, LH, Östradiol Düzeylerinin Karşılaştırılması" adlı uzmanlık tezi, jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:...../...../2007

Başkan :...Prof. Dr. Yılmaz...Şahin



Üye : Prof. Dr. Mustafa Zengin



Üye : Doç. Dr. Feride Serin



Üye : Doç. Dr. Bülent Günel



Üye : Doç. Dr. Kürşat Ünüghür





**T. C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE
DOKUDA VE PERİFERİK LENFOSİTLERDE GNRH-II
GEN EKSPRESYONU İLE KİST SIVISI VE SERUMDA
sİL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. CEREN DİNÇER ATA

KAYSERİ – 2007



**T. C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE
DOKUDA VE PERİFERİK LENFOSİTLERDE GNRH-II
GEN EKSPRESYONU İLE KİST SIVISI VE SERUMDA
sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. CEREN DİNÇER ATA

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. İ. SERDAR SERİN**

KAYSERİ – 2007

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMALAR.....	iii
TABLO LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. OVER KANSERİ VE PATOGENEZİ	3
2.2. GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE-II	10
2.3. SOLUBLE İNTERLÖKİN - 2 RESEPTÖRÜ	12
2.4. FSH, LH ve ÖSTRADİOL	14
2.5. GnRH-II, sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL VE OVER KANSERİ.....	14
3. GEREÇ (HASTALAR) VE YÖNTEM.....	15
3.1. PERİFERİK LENFOSİTLER VE DOKUNUN EKSTRAKİYONU, REAL- TIME RT-PCR İLE GNRH-II mRNA EKSPRESYONUNUN TESPİTİ.....	17
3.2. SERUM VE KİST SIVISINDA sIL-2R ÖLÇÜMÜ	19
3.3. SERUM VE KİST SIVISINDA FSH, LH VE ÖSTRADİOL ÖLÇÜMÜ.....	19
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	20
4. BULGULAR.....	21
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇLAR	37
7. KAYNAKLAR	39
KABUL ONAY SAYFASI.....	53

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan değerli hocalarımdan Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mustafa Başbuğ başta olmak üzere değerli hocalarım Prof.Dr.Yılmaz Şahin'e, Prof.Dr. Mehmet Tayyar'a, Prof.Dr.Ercan Aygen'e, Prof.Dr.İpek Müderris hocama, jinekolojik onkoloji alanında bizi yüreklendiren ve tezimin yürütülmesinde emek sarf eden Doç. Dr. Serdar Serin ve Doç.Dr.Bülent Özçelik'e, geldiği günden itibaren tıbbi ve sosyal açıdan ufkumuzu genişleten ve her zaman yanımda olan Yard.Doç.Dr Cem Batukan ve Yard.Doç.Dr.Tuncay Özgün'e, tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren Endokrin Anabilim Dalı hocalarına ve Yard.Doç.Dr.Fatih Tanrıverdi'ye, rotasyonlarım sırasında bana destek olan tüm hocalarıma, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sevgili hocam Prof.Dr.Nedret Koç'a, Genetik Anabilim Dalı hocaları ve asistanlarına, özellikle Hilal Hanım'a, İstatistik AD'dan Yard.Doç.Dr.Ahmet Öztürk ve Uzm.Dr.Ferhan Elmalı'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İyi ve kötü günleri paylaştığım hayat boyu sevgiyle hatırlayacağım doktor arkadaşlarıma, tüm hemşire ve sağlık personeline en içten teşekkürlerimi sunarım.

Her koşulda yanımda olan ve bana sonsuz destek veren sevgili anneme ve babama, tanıdığım günden itibaren sevgi ve sabırla bana destek olan sevgili eşime sonsuz teşekkürler.

Dr. Ceren Dinçer ATA

KISALTMALAR

BRAF	: B-raf protein
BRCA	: Meme Kanseri Geni
EFO-21	: Human, Caucasion, Ovary, Cystadenocarcinoma
E2	: Östradiol
ERα	: Östrojen reseptör alfa
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FSH	: Follikül Stimülize edici Hormon
GnRH	: Gonadotropin-Releasing Hormon
GnRH-II mRNA	: GNRH-II messenger Ribonükleik Asit
GM-CSF	: Granülosit makrofaj koloni stimülan faktör
HERS II	: Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study
HRT	: Hormon Replasman Tedavisi
HBOC	: Herediter meme over kanser
INF	: İnterferon
IL-2R$\alpha/\beta/\gamma$	: İnterlökin 2 reseptör alfa/beta/gamma
IL-1, 2, 6, 8, 10	: İnterlökin 1, 2, 6, 8, 10
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IGFBP	: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcıprotein
kA	: Kilo dalton
KRAS	: c-Kirsten ras protein

LAK	: Lenfokin Aktived Killer
LH	: Lüteinizan Hormon
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinaz
mIU/mL	: mili International Unit/mililitre
NK	: Natural Killer
OKS	: Oral kontraseptif
OVCAR-3	: Human, Caucasion, Ovary, Carcinoma
OYE	: Over yüzey epiteli
pg/mL	: pikogram/mililitre
p53	: Tümör protein 53
RT-PCR	: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
sIL-2R	: soluble İnterlökin 2 reseptör
SKOV-3	: Human, Ovary, Caucasion, Adenocarcinoma
TGF�	: Transforme eden büyüme faktörü alfa
TGF�	: Transforme eden büyüme faktörü beta
TNF�	: Tümör nekrozis faktör alfa
VEGF	: Vaskuler endotelyal büyüme faktörü
VKİ	: Vücut kitle indeksi

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. GnRH-II'nin dokulardaki dağılımı ve olası fizyolojik fonksiyonları	10
Tablo 2. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların postmenopozal (Post) ve premenopozal (Pre) durumlarına göre demografik ve klinik özellikleri	22
Tablo 3. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign hasta gruplarında kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri.....	23
Tablo 4. Malign ve benign hasta gruplarında serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 değerlerinin Ortalama $\pm$ SS,Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	24
Tablo 5. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu, serum sIL-2R düzeyi ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	25
Tablo 6. Postmenopozal hastalarda benign ve malign grupta serum ve kist sıvısı FSH, LH ve E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri	26
Tablo 7. Premenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda doku ve lenfosit GNRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	27
Tablo 8. Premenopozal malign ve benign hastaların serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	28

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 1.** GnRH-II'ye ait genin 20.kromozom kısa kolundaki genomik lokalizasyonu. 11
- Şekil 2.** İnterlökin 2 Reseptörün yapısı..... 13
- Şekil 3.** Beta-aktin ve GnRH-II PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü. 18

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE DOKUDA VE
PERİFERİK LENFOSİTLERDE GnRH-II GEN EKSPRESYONU İLE
KİST SIVISI VE SERUMDA sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADIOL
DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı benign ve malign over tümörü olan hastalarda tümör dokusunda ve periferik kanda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve östradiol seviyeleri arasındaki ilişkiyi belirlemek ve böylece invivo ortamda over tümör patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktır.

Materyal ve Metod: Mart 2006 ile Mart 2007 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde pelvik kitle ön tanısıyla opere edilen 46 hasta çalışmaya alındı. Aynı tarihler arasında aynı merkezde tümör dışı nedenlerle opere olan 20 hasta kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubunda serum sIL-2R düzeyi çalışılırken diğer tüm hastaların serum örneklerinde ve ameliyat sırasında aspire edilen kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve estradiol düzeyleri ölçüldü. Ameliyat sırasında kist duvarından alınan dokuda, kontrol grubunun morfolojik olarak normal olan overinden alınan dokuda ve tüm hastaların periferik kanında GnRH-II mRNA ekspresyonu çalışıldı. Postoperatif histopatoloji sonuçlarına ve menapozal durumlarına göre tüm gruplar değerlendirildi.

Bulgular: Hastalar histopatoloji sonuçlarına göre üç gruba ayrıldı: 24 malign over tümörü olan hasta, 22 benign over tümörü olan hasta ve 20 kontrol hastası mevcuttu. Ayrıca premenopoz ve postmenopoz olarak alt gruplar oluşturularak değerlendirme yapıldı. Malign, benign ve kontrol gruplarında doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından istatistiksel olarak

anlamli fark bulunmadı ($p>0,05$). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksekti ($p<0,05$). Malign ve benign gruplar arasında kist sıvısı sIL-2R düzeyleri açısından fark yoktu ($p>0,05$). Serum FSH, LH ve östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında istatistiksel fark göstermedi ($p>0,05$). Kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$).

Postmenopozal dönemdeki malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu kontrol grubu ve benign gruba göre anlamli olarak yüksekti ($p<0,05$). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamli fark göstermedi ($p>0,05$). Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi üç grup arasında farklı değildi ($p>0,05$). Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksekti. ($p<0,05$). Serum östradiol düzeyi her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamli değildi ($p>0,05$). Postmenopozal hastalarda kist sıvısı FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermezken ($p>0,05$), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek saptandı ($p<0,05$).

Premenopozal hasta grubunda ise dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamli fark göstermedi ($p>0,05$). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Kist sıvısı sIL-2R, serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign ve benign gruplar arasında farklı değildi ($p>0,05$). Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamli değilken ($p>0,05$), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$).

Sonuç: Bu çalışma sonucunda özellikle postmenopozal malign over tümörlü hastalarda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeyi arasında düzenleyici mekanizmaların olabileceği ve GnRH-II'nin lokal düzeyde hormon yapımına katılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: GnRH-II, Over tümörü, sIL-2R, FSH, LH, Estradiol

**COMPARISON OF GNRH-II GENE EXPRESSION IN TUMOR TISSUE
AND PERIPHERAL LYMPHOCYTES WITH
SERUM AND CYST FLUID LEVELS OF sIL-2R, FSH, LH, ESTRADIOL
IN MALIGNANT AND BENIGN OVARIAN TUMORS**

SUMMARY

Aim : The aim of this study was to determine the relationship between the levels of GnRH-II mRNA expression in peripheral lymphocytes and tumoral tissue and sIL-2R, FSH, LH and estradiol levels in serum and cyst fluids of patients with benign and malignant ovarian tumors. Thus we decided to contribute the pathogenesis of ovarian tumor in vivo.

Materials and Methods: The study group comprised 46 patients operated for pelvic mass between March 2006 and March 2007 at the Department of Obstetrics and Gynecology, Erciyes University School of Medicine. Control group included 20 patients operated for non-tumoural causes between the same date, at the same department. sIL-2R, FSH, LH and estradiol levels were measured from serum collected preoperatively and cyst fluid obtained intraoperatively in all patients while in the control group serum sIL-2R was measured. GnRH-II mRNA expression was measured in tissue derived from cyst wall , control groups' morphologically normal ovarian tissue and peripheral lymphocytes of all patients. All groups were evaluated according to the postoperative histopathological results and menopausal status.

Results: Patients were divided into three groups according to the histopathological report : 24 patients with malignant ovarian tumor, 22 patients with benign ovarian tumor and 20 control patients. Besides premenapousal and postmenapousal subgroups were also evaluated in each group. GnRH-II mRNA expression was found statistically insignificant in tissue sample and in peripheral lymphocytes in malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$). Cyst fluid sIL-2R levels and serum FSH, LH, estradiol levels were not

significantly different between malignant and benign groups ($p>0,05$). Cyst fluid sIL-2R FSH, LH and estradiol levels found significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$).

In postmenopausal patients with malignant ovarian tumor GnRH-II mRNA expression in tissue sample was significantly higher than benign and control groups ($p<0,05$). GnRH-II mRNA expression in peripheral lymphocytes of the postmenopausal patients was not significantly different between malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were not significantly different between three groups in postmenopausal patients ($p>0,05$). sIL-2R levels in cyst fluid was significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$). Serum estradiol levels were not different in two groups ($p>0,05$). FSH levels in cyst fluid were not significantly different between malignant and benign groups ($p>0,05$) but cyst fluid LH and estradiol levels were significantly higher in malignant groups than in benign groups of postmenopausal patients ($p<0,05$).

In premenopausal patients, GnRH-II mRNA expression in tissue sample and lymphocytes were not significantly different between malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were significantly higher in malignant group than benign group ($p<0,05$). sIL-2R in cyst fluid and serum FSH, LH, estradiol levels were not different between two groups ($p>0,05$) but serum sIL-2R and cyst fluid LH levels were significantly higher in malignant group than in benign one ($p<0,05$).

Conclusion: Our results indicate that regulator mechanisms between GnRH-II mRNA expression and sIL-2R levels could play a role in the pathogenesis of malignant ovarian tumors particularly in postmenapousal patients and GnRH-II could participate in local hormone production.

Key Words: GnRH-II, Ovarian tumor, sIL-2R, FSH, LH, Estradiol

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Over kanseri kadınlarda görülen kanserlerin %4'ünü, kadın genital kanserlerinin ise %25'ini oluşturur (1). Jinekolojik kanserler arasında en yüksek mortaliteye sahip olması nedeniyle jinekolojik onkolojide önemli bir yere sahiptir. Erken dönemde tanı konulursa %90 sağ kalım elde edilebilirken hastalık genelde çok geç evrede tanımlanabildiği için 5 yıllık sağ kalım oranı %25-30'a gerilemektedir (2).

Malign over tümörlerinin patogeneğinde gonadotropinler, GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon) sistemi, insülin sistemi, sex steroidleri ve sitokinler gibi immünolojik faktörler araştırılmıştır (3-5). Özellikle immün sistem elemanları ve bunlar üzerindeki düzenleyici mekanizmalar yeni araştırmaların konusu olmuştur (6).

Yaygın solid tümörlerde azalmış IL-2 (interlökin-2) yapımı en önemli immün disfonksiyonlardan biri olarak kabul edilmektedir (7). IL-2 antineoplastik immüniteyi regüle eden en önemli sitokindir. IL-2 IL-2R (interlökin 2 reseptör)'e bağlanarak etki gösterir. Serum sIL-2R (soluble IL-2R) düzeyi aktif lenfositlerin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R düzeyi ile korelasyon gösterdiğinden sIL-2R düzeyi immünolojik aktivasyonun belirteci olarak birçok yayında çalışılmıştır (8-10).

GnRH-II ilk defa tavuk beyninden izole edilmiş ve 1990'lı yılların ortalarında insan beyinde ve bazı periferik dokularda gen ekspresyonu gösterilmiştir (11,12). Son yıllarda yapılan çalışmalarda üreme sisteminin tümöral dokularında GnRH-II mRNA ekspresyonu gösterilmiş olup, GnRH-II'nin over kanser hücreleri üzerine

antiproliferatif etkisinin klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'e göre daha fazla olduğu rapor edilmiştir (13,14). GnRH sisteminin immün fonksiyonlarla ilişkisini araştıran bir çalışmada ise GnRH-II'nin lenfositlerde IL-2R ekspresyonunda düzenleyici etkisinin olduğu belirtilmiştir (15).

Gonadotropin hipotezine göre FSH ve/veya LH'nın direk yollarla veya indirek olarak östradiol sentezini uyararak over tümöründe malign transformasyonu artırdığı görüşü savunulmaktadır (16). Yapılan invitro çalışmada gonadotropinlerin GnRH-I ve GnRH-II gen ekspresyonunu normal hücre ve kanser hücre dizilerinde farklı etkilediği rapor edilmiştir (17). Ancak in vivo düzeydeki etkiler halen bilinmemektedir.

İleri evre over kanser tedavisinde GnRH analogları ve deneysel olarak IL-2 immünoterapi kullanılırken GnRH-II'nin ve IL-2R'ün over tümöründe birbirleri üzerindeki etkileri bilinmemektedir.

Over kanserinde kist sıvısındaki hücrelerin büyük çoğunluğunu makrofaj ve lenfositlerin oluşturduğu immünohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir (18). Ancak bu hücrelerin immün cevap ile oluşan tümör ile ilişkili mononükleer hücreler mi yoksa bizzat tümör büyümesi ile ilişkili hücreler mi olduğu halen net değildir (18). Çalışmanın kist sıvısı ve kanda birlikte yapılması konak hücre ile tümör hücreleri arasındaki kompleks ilişkinin daha iyi anlaşılmasına yöneliktir.

Bu çalışmanın amacı benign ve malign over tümörü olan hastalarda tümör dokusunda ve periferik kanda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve östradiol düzeyleri arasındaki ilişkiyi belirlemek ve böylece invivo ortamda over tümör patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktır. Ayrıca GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeylerini değerlendirerek klinikte benign-malign ayırımında kullanılabilirliğini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. OVER KANSERİ VE PATOGENEZİ

Over kanseri jinekolojik kanserler arasında en yüksek mortaliteye sahip olan kanserdir. Gelişmiş ülkelerde kadınlarda görülen kanserler arasında 6.sırada yer alırken kansere bağlı ölümlerde 5.sırada yer almaktadır (2). Kanıtlanabilmiş erken tanı yönteminin olmaması nedeniyle ancak hastaların $\frac{1}{4}$ 'ü tanı anında erken evredir (2). Over kanser patogenezinin hala net olarak anlaşılamaması erken tanı ve tedavi olanağını güçleştirmektedir.

Over kanseri genetik veya kritik hedef genlerin somatik mutasyonu zemininde büyüme faktörleri, sex steroidleri, gonadotropinler, GNRH-I/GNRH-II sistemi (nöroendokrin sistem), insülin sistemi ve immünolojik faktörlerin yardımıyla hücrelerde proliferasyon, apoptozis ve DNA onarımında meydana gelen aksamalar sonucu gelişir (3-5).

Over kanserlerinin %90'ı sporadik, %10'u ise genetik mutasyonlara bağlıdır (19,20). Ailesel over kanserlerinin %85-90'ından herediter meme-over kanser sendromu (HBOC) sorumludur. HBOC sendromunun büyük çoğunluğuna 17.kromozomun kısa koluna yerleşmiş olan BRCA-1 (Meme kanseri geni-1) geninin genetik mutasyonu neden olurken daha az bir kısmından 13.kromozomun kısa koluna lokalize olan BRCA-2 (Meme kanseri geni-2) geni sorumludur (21). p53 mutasyonu insan kanserlerinin %50'sinden fazlasında tespit edilmiştir (22). Değişik çalışmalar,

yüksek dereceli olanlarda daha yoğun olmak üzere seröz over karsinomlarında yüksek oranlarda p53 mutasyonu ve immünohistokimyasal olarak p53 pozitifliği olduğunu göstermiştir (22).

Son yayınlar over kanser histolojik subtiplerinin farklı morfolojik ve moleküler genetik değişimlerden kaynaklandığını rapor etmektedir. Buna göre yüksek grade'li seröz karsinom ve endometrioid karsinomların seröz epitelin ovulasyon ile oluşan inklüzyon kistlerinde p53 mutasyonu ve BRCA-1, BRCA-2 disfonksiyonu ile denovo oluştuğu, düşük grade'li seröz karsinomların ise adenom, borderline tümör, karsinom sırasını izleyerek KRAS ve BRAF gen mutasyonu ile oluştuğu rapor edilmiştir (23).

Over kanser patogenezinin yönelik birçok hipotez ortaya atılmış ve buna yönelik çalışmalar yapılmıştır.

1971 yılında Fathalla'nın ortaya attığı sürekli ovulasyon teorisine göre ovulasyon ile follikül rüptüre olup over yüzeyinde hasar meydana gelmekte ve böylece bu bölgenin östrojenden zengin sıvıya maruziyeti ve over yüzeyinin iyileşmesi sırasında ortaya çıkan inklüzyon kistlerinde meydana gelen DNA hasarı ile tümör gelişmektedir (24). Son yıllarda yapılan çalışmalarda over kanserinin inklüzyon kistlerinden köken aldığı desteklenirken bu kistlerin ovulasyon sonrası değil yüzey epitelinin stromaya invajinasyonu ile oluştuğu görüşü ağırlık kazanmaktadır (25).

Gonadotropin hipotezi over kanser patogenezinin açıklamaya yönelik ortaya atılan ilk hormonal hipotezdir. Buna göre over dokusunun LH ve/veya FSH ile aşırı stimülasyonu direk gonadotropin ile ilişkili genlerin aktivasyonu sonucu veya indirek olarak overden sex steroidlerin yapımını artırarak parakrin veya endokrin mekanizmalar ile malign transformasyonu arttırdığı görüşü savunulmaktadır (16). OYE (Over Yüzey Epitel) hücresi ve over kanser hücrelerinin gonadotropinlere hassas olup olmadıkları net değildir. Çalışmaların büyük bir kısmında proliferasyonu arttırdıkları rapor edilmişse de (16,26), bazı çalışmalarda böyle bir etki gösterilememiştir (27,28). Hayvan çalışmalarında gonadotropinlerin gonadal tümör gelişimini indüklediği gösterilmiştir ancak gelişen tümör epitelyal tümör değil stromal tümördür (29). Yapılan in vitro çalışmalarda FSH ve hCG'nin over kanser

hücre kültürlerinde proliferasyonu artırdığı belirtilmiştir (30). Schiffenbauer ve arkadaşları over kanserinin peritoneal yayılımını araştırdıkları fare modelinde ooferektomi veya FSH/LH tedavisi ile tümörün anjiogenezi artırarak yayıldığını göstermişlerdir (31). Bu çalışma FSH ve LH'nın over tümör hücrelerinde VEGF ekspresyonunu artırdığını rapor eden başka bir çalışma ile desteklenmiştir (32). Osterholzer ve arkadaşlarının yaptığı başka bir invitro çalışmada ise FSH ve LH'nın tavşan OYE hücrelerinde proliferasyonu artırmadığı rapor etmişlerdir (33). Helzlsouer ve arkadaşları serum FSH ve LH düzeyi elde edilip 15 yıl takip edilen 20.305 kadının katıldığı bir çalışmada sonradan over kanseri gelişen 31 kadında serum FSH düzeyinin 62 kontrol hastasına göre anlamlı olarak düşük olduğunu serum LH düzeyinin ise anlamlı fark göstermediğini rapor ettiler (34). Başka bir yayında serum FSH ve LH düzeyi ile over kanser arasında ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır (35). Epidemiyolojik çalışmaların bir kısmı indirek olarak gonadotropin hipotezini desteklemektedir. Örneğin PCOS'lu hastalarda artan LH/FSH oranı ve androstenedion ve testosteron ile risk artarken, artmış parite ve OKS kullanımı ile risk azalmaktadır (36,37). Ancak yayınların birkısmı bu ilişkiyi savunmamaktadır (38).

İn vitro çalışmalarda östrojenin OYE hücrelerini proliferate ettiği ve dışardan verilen östrojenin kobaylarda seröz over kist gelişimi ile sonuçlandığı gösterilmiştir (39,40). Deneysel olarak estrojenin özellikle ER α (östrojen reseptör alfa) aşırı ekspresyonu olan over kanser hücre dizilerinde tümör progresyonunu arttırdığı ve bunu c-myc, fibulin-1, katepsin-D ve birkaç kallikreinin düzeyini arttırarak gerçekleştirdiği saptanmıştır (41). Östrojenin over kanserindeki rolü ile ilişkili epidemiyolojik kanıtlar açık değildir. HRT (Hormon Replasman Tedavisi)'nin hangi tür olursa olsun uzun süreli kullanımı over kanser riskini artırıyor görünmektedir (42). Kombine östrojen-progestin preparatları tek başına östrojen preparatlarına göre daha zayıf etkili gibi görünmektedir. Bu da progestin komponentinin koruyucu etkisine bağlı olabilir. Over kanserinin uzun bir latent periyodu olduğu ve HRT kullanımı ile henüz ortaya çıkmamış ve klinik tanı almamış tümörün gelişimini hızlandığı düşünülmektedir (37). Ancak HERS II (Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study) çalışmasına göre HRT ve plasebo kullananlar arasında over kanser insidansı açısından fark gözlenmemiştir (43). İki prospektif çalışmada postmenopozal hastalarda over kanser tanısı öncesi östrojen düzeyi ile over kanseri arasında ilişki

saptanmamıştır (34,44). OKS kullanımı östrojen düzeyini azaltarak östrojen hipotezini destekler görünse de gebelikte 100 kat artan östrojen düzeyi olmasına rağmen gebelik over kanserinden koruyucudur. Gebelikte artan progesteron düzeyi ve ovulasyonun baskılanması tahmin edilen koruyucu etkilidir (45). Endometriosisli hastalarda endometrioid ve berrak hücreli kanser gelişimi açısından artmış risk saptanması östrojenin bu tümörlerin etyolojisinde rol alabileceği görüşünü desteklemektedir (46). Endometriotik lezyonlar yüksek aromataz aktivitesi ve 17-OH steroid dehidrogenaz tip II enzim (östradiolü estrona çevirir) eksikliği nedeniyle lokal östradiol üretimi gerçekleştirir (47). Menopoz sonrası endometrioid ve berrak hücreli over tümör insidansının plato yapması östrojenin bu tip tümörlerde etyolojik rolü olduğunu destekler (48). Artmış östrojen düzeyinin over kanser gelişiminde ve progresyonundaki rolünü daha iyi anlayabilmek için daha fazla veriye ihtiyaç vardır.

Progesteron over kanser gelişimine karşı koruyucu etkilidir. Progesteron eksikliği olan infertil hastalarda over kanser insidansı daha yüksek bulunmuştur (49). Meme kanserinin tersine geç yaşta gerçekleşen gebelik over kanserine karşı koruyucudur. Soyulma teorisine göre gebelik seviyesindeki progesteron düzeyi genetik olarak hasarlı, premalign OYE hücrelerini temizler ve böylece sonraki yıllarda ortaya çıkabilecek tümör gelişimini azaltır (50).

Risch ve arkadaşları over epitel hücrelerinin androjen ile aşırı stimülasyonu sonucu over kanser riskinin artabileceğini ortaya atmışlardır (37). Yapılan birkaç invitro çalışmada androjen verilmesi ile normal OYE hücrelerinin proliferasyonunun arttığı gösterilmiştir (26,51). İki yayında ise postmenopozal hastalarda over kanseri ile androjen düzeyi arasında ilişki saptanmazken premenopozal over kanserli hastalarda serum androstenedion ve DHEA düzeyleri ile over kanseri açısından artmış risk rapor edilmiştir (34,44). Buna göre over kanser riski bu hormonların dolaşımdaki düzeyinden çok kadının üreme çağı boyunca maruz kaldığı over mikroçevresindeki hormon düzeyi ile ilişkili görünmektedir (52).

İnsülin ve IGF-1 meme, prostat ve over kanserinde mitojenik ve antiapoptotik özellikler gösterir (53). Her ikisi de LH ile ilişkili androjen sentezini artırırken SHBG ve IGFBP sentezini baskılar. Böylece serbest, biyolojik olarak aktif sex steroid hormonlar ve IGF-1 dolaşımda bulunur (53). Ancak Tip2 diabetes mellituslu

hastalarda artmış insülin direnci ve hiperinsülinemiye rağmen bu hastalarda over kanser riskinde artış bulunmamıştır (54). Sonuç olarak insülin ve IGF-1 over kanser riski açısından halen araştırılmaktadır.

Aşırı kilo alımı (ortalama %20-40) over kanser riski açısından hafif bir artışa yol açarken, birçok çalışmada risk artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış, bazı çalışmalarda aralarında hiçbir ilişki gösterilememiş, bazı yayınlarda ise riskte azalma olduğu rapor edilmiştir (55-62).

Bukovsky ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada korpus luteum ve over kanseri arasında benzerlikler olduğunu belirtmiştir (63). Bunlardan bir tanesi korpus luteum ve over tümörünün T hücreleri tarafından infiltre edilmesi ve lokal inflamasyon oluşmasıdır. Düzenli menstruel sikluslar için luteal dokunun T hücreleri tarafından infiltre edilip gerilemesi gereklidir. Over tümöründe ise T hücreleri over tümörünü infiltre eder ancak kanser hücrelerinin gerilemesini sağlayamazlar ve apoptosise uğrayarak ortamdan yok olurlar. Ortamdaki T hücre defekti yani lokal immünsupresyonun korpus luteumun gerilemesini engelleyerek buna yol açan olası tümöral hücrelerin proliferasyonuna zemin hazırladığı düşünülmektedir (63).

Yakın zamanda Ness ve arkadaşları kronik inflamasyonun over tümör patogenezinde rol oynayabileceğine işaret etmişlerdir (64). Lokal inflamasyonu artıran bazı durumların örneğin ovaryan endometriosis, pelvik inflamatuvar hastalık, talk ve/veya asbest maruziyetinin artmış over kanser riski ile ilişkili olduğunu, bunun yanında lokal inflamasyonu azaltan histerektomi, tüp ligasyonu ve anti-inflamatuvar ilaç kullanımının riskte azalma ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (64).

Anjiogenezis kanser gelişimi ve metastazı için kritik öneme sahiptir. Anjiogenezisin endojen stimülatörlerinden olan VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü), ve FGF (Fibroblast büyüme faktörü) vasküler endotel hücrelerinin büyümesini uyarır. VEGF over tümörü tarafından salgılanmaktadır (65). Bu nedenle son yıllarda birçok çalışma anjiogenez inhibitörleri üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Telomer uzunluğunun korunması devamlı hücre proliferasyonu için gereklidir. Telomer kaybını önleyen temel mekanizma telomerazdır. Telomeraz inhibisyonu telomer kısalması sonucunda kromozom instabilitesi ve hücre ölümüne neden olur. Epitelyal over tümörleri dahil tüm kanserlerin %85-90'ı telomeraz aktivitesine

sahipken normal hücreler düşük düzeyde telomeraz aktivitesi göstermektedir (66). Buradan yola çıkarak telomeraz inhibitörleri ile tedavide selektif olarak kanser hücrelerinin çoğalmasının durdurulması amaçlanır.

Son yıllarda çeşitli sitokinlerin over kanser patogeneğinde rol oynayabileceği gösterilmiştir. Örneğin ileri evre over kanserli hastaların serum ve asit sıvısında immünsupresif sitokinler olan IL-10 (interlökin-10) ve TGF- β (Transforme edici büyüme faktörü-beta) düzeyi yüksek bulunmuştur (67). IL-8 (interlökin-8) over tümörleri tarafından üretilir ve eksprese edilir (68). IL-8 tumor anjiogenesi ve over kanser hücrelerinin stimülasyonunda rol alarak tümörün büyümesine ve metastaz yeteneği kazanmasına yol açar (69). Benzer şekilde IL-6 (interlökin-6) over kanser hücreleri tarafından önemli miktarda üretilir. Yüksek IL-6, IL-1 (interlökin-1), TNF- α (Tümör nekrozis faktör-alfa) düzeyi kötü prognoz ile ilişkilidir (70).

IL-2 ve IL-2R over kanserli hastalarda yaygın araştırma konusu olmuştur. Çalışmalarda over kanserli hastalarda meydana gelen immün disfonksiyonun azalmış IL-2 yapımı ile ilgili olduğu rapor edilmektedir (71). IL-2 bağışıklık sisteminin en önemli anti-tümöral etkili sitokinlerinden birisidir. Tümör hücresine karşı doğrudan sitotoksik etkisi yoktur. Etkisini T-lenfositler, büyük granüler lenfositler ve aktiflenmiş B-lenfositler üzerinden gösterir. İstirahat halindeki hücre yüzeyinde IL-2R az sayıda bulunur. Antijenle uyarı sonrası hücre yüzeyinde eksprese edilen IL-2R'un bir kısmı sIL-2R olarak ortama verilir. sIL-2R immün sistem aktivasyonunun göstergesidir. IL-2'nin biyolojik etki göstermesi için IL-2R'üne bağlanması gereklidir. IL-2'nin reseptörüne bağlanması, T lenfositlerin proliferasyonuna ve sitokin salınımına neden olur (72). Yapılan bir çalışmada artan serum sIL-2R düzeyinin immün sistem supresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (73). Buna göre sIL-2R IL-2'nin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R'e bağlanmasını azaltarak spesifik lenfosit klonlarının proliferasyonunu inhibe eder. Ayrıca hücre membranından ayrılan IL-2R'ler aktif lenfositlerin fonksiyonunu tüketir. Yüksek seviyede sIL-2R B lenfositleri baskılayarak immünglobülin konsantrasyonunu azaltmaktadır (73). Wang ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada over kanser hücre dizileri tarafından üretilen bazı süpernatantların IL-2 ile ilişkili T hücre proliferasyonunu IL-2R β (IL-2Rbeta) ve IL-2R γ (IL-2Rgamma) ekspresyonunu baskılayarak bloke ettiğini rapor etmiştir (74). Maccio ve arkadaşları over kanser hastalarında serumda T hücre

cevabında azalma olduğunu ve bunun da özellikle hücre membranına bağlı olan sIL-2R ekspresyonundaki azalmayla ilişkili olabileceğini göstermişlerdir (75).

GnRH-II GnRH-I ile birlikte overde steroidogenesis, hücre proliferasyonu ve apoptosisi regüle ederek lokal parakrin ve otokrin fonksiyon gösterir (76). Yapılan çalışmalarda GnRH-II'nin overde negatif otokrin büyüme faktörü gibi fonksiyon gördüğü gösterilmiştir (77). RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) ve Southern Blot analizleri ile normal OYE, ölümsüz OYE, primer over kanser kültürleri ve over kanser hücre dizilerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu gösterilmiştir (13). Gründker ve arkadaşları EFO-21, OVCAR-3 ve SKOV-3 kanser hücre dizilerinde proliferasyonun GnRH-II tedavisi ile doz ve zaman bağımlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin eşit dozdaki GnRH-I agonistlerine göre anlamlı olarak daha potent olduğu rapor edilmiştir (14). GnRH-IR (GnRH-I Receptör) bulunmayan SKOV-3 kanser hücre dizilerinde GnRH-I agonist ile tedavinin hücre proliferasyonu üzerine etkisinin olmadığı ancak GnRH-II ile tedavi sonrası hücre büyümesinin büyük oranda baskılandığı belirtilmiştir (77). Bu gözlemden yola çıkarak GnRH-II'nin over kanser hücrelerinde antiproliferatif etkisinin GnRH-I reseptör yoluyla değil GnRH-II/GnRH-II reseptör sistemi yoluyla olduğu ve over kanser hücrelerinde ek bir otokrin regülatör sistemi olduğu rapor edilmiştir. GnRH-II sisteminin hangi mekanizmalar üzerinden etki gösterdiği henüz tam olarak açıklanamamıştır.

Over kanserli hastalarda GnRH-II ile IL-2R arasındaki ilişki henüz bilinmemektedir. Yapılan tek çalışma Tanrıverdi ve arkadaşlarına aittir. Bu çalışmada GnRH-II'nin sağlıklı bireylerin periferik lenfositlerinde IL-2R ekspresyonunu azaltarak lenfosit proliferasyonu üzerinde düzenleyici etkisi olduğu rapor edilmiştir (15).

Over kanserinin primer tedavisi sitoredüktif cerrahi ve Evre 1A, 1B grade 1, 2 hastalar dışında cerrahi sonrası 6 kür platin bazlı kombine kemoterapidir (78,79). İleri evre over kanser hastalarının second-line tedavisinde platin olmayan kemoterapötik ajanlar, EGF inhibitörleri, anjiogenez inhibitörleri, gen tedavisi, hormon tedavisi ve immünoterapi araştırılmaktadır (80-89). İntraperitoneal rekombinat IL-2 tedavisi ve

GnRH analog tedavisinin ileri evre veya relapslarda kemoterapi ile karşılaştırılabilir olduğu rapor edilmiştir (90,91).

Tümör biyolojisini daha iyi anlamamız benign-malign over kanseri ayırımında iyi bir belirteç saptamamıza ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine ışık tutacaktır.

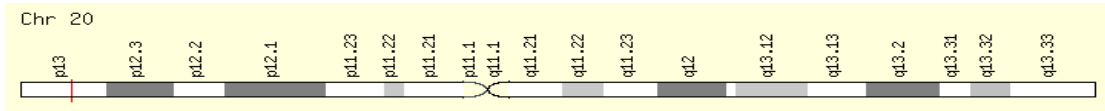
2.2. GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE-II

Hipotalamik bir peptid olan GnRH hipofiz gonadotrop hücrelerinden FSH ve LH salınımını uyarak üreme sisteminin temelini oluşturur (98). GnRH analogları onkolojide prostat kanseri, meme kanseri gibi sex hormon bağımlı tümörlerde, kemoterapiye dirençli over kanserinde kullanılmaktadır (99). 1990'lı yılların ortalarında ikinci GnRH formu olan GnRH-II insan beyninden ve bazı periferik dokulardan izole edilmiştir (100,101). Bu form ilk defa tavuk beyninden izole edildiği için chicken GnRH-II (cGnRH-II) olarak isimlendirilmiştir (102). GnRH-II'nin aminoasit dizisi (pGlu-His-TRP-Ser-His-Gly-Trp-Y-Tyr-Pro-Gly-NH₂) klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'den (pGlu-His-Trp-Ser-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) 5, 7, 8. pozisyonundaki aminoasitlerin farklı olması ile ayrılır (103). cGnRH-II balıktan insana kadar tam olarak ve benzersiz bir şekilde yapısını korumuştur (104). Bu da onun önemli fonksiyonları olduğunu gösterir.

Tablo 1. GnRH-II'nin dokulardaki dağılımı ve olası fizyolojik fonksiyonları

Doku	Fonksiyonu
Santral ve Periferik Sinir Sistemi	Nöromodülasyon
Mediobazal Hipotalamus	Gonodotropin sekresyonunun düzenlenmesi
Limbik yapılar	Üreme davranışının uyarılması
Plasenta/ Endometrium/ Meme/ Over	Endokrin fonksiyonların düzenlenmesi
Kadın üreme sistemi tümörleri	Hücre büyümesinin inhibisyonu
Normal T hücreleri/ Tümöral T hücreleri	Hücre adezyon ve migrasyonunun stimülasyonu

İnsanda GnRH-II'yi kodlayan gen 20.kromozom üzerinde bulunur (Şekil 1). GnRH-II GnRH-I ile %70 oranında benzerlik gösterir (105). GnRH-II beyinde özellikle preoptik ve mediobazal hipotalamik alanlarda ve hipokampus ve amigdala gibi limbik yapılarda bulunur (106). Periferde ise böbrek, prostat ve kemik iliğinde ayrıca kadın üreme sistemiyle ilişkili plasenta, endometrium, meme, OYE hücresi ve granüloza hücrelerinde yüksek konsantrasyonlarda eksprese edilir (13,17,101, 107,108). Üreme sisteminin tümöral dokularında GnRH-II mRNA ekspresyonunun gösterilmesiyle birlikte GnRH-II'nin tümör büyümesini regüle ettiği düşüncesi ortaya atılmıştır (13,75,109). Bu hipotez son yayınlarda GnRH-II'nin over, endometrium ve meme kanser hücrelerinde proliferasyonu azalttığına gösterilmesiyle desteklenmiştir (13,75,109). GnRH-II'nin over kanser hücreleri üzerine antiproliferatif etkisinin klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'e oranla daha fazla olduğu rapor edilmiştir (14). Günümüzde GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Yapılan invitro çalışmada GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin bir bölümünü p38 MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) sinyal yolunun aktivasyonu ile gerçekleştirdiği ve aynı sinyal yolu ile apoptozisi indüklediği tespit edilmiştir (110).



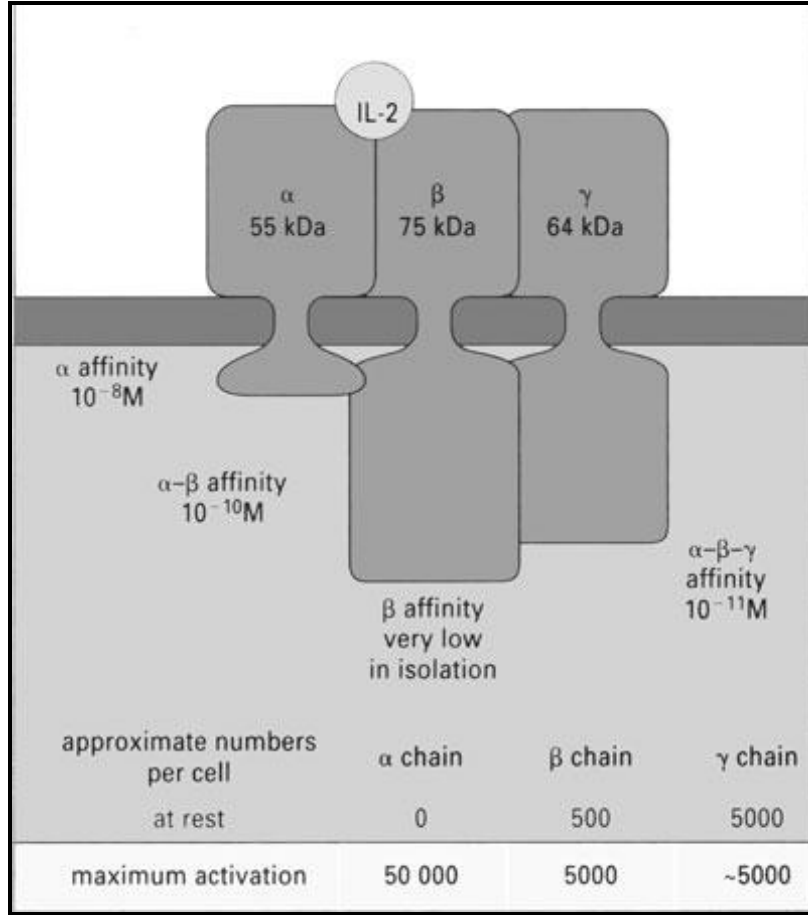
Şekil 1. GnRH-II'ye ait genin 20.kromozom kısa kolunda genomik lokalizasyonu

GnRH-II'nin dokularda yaygın dağılımı çalışmaları reseptörünün araştırılmasına yöneltmiştir. GnRH-IIR (GnRH-II reseptör)'ü balıklarda, amfibiklerde ve Rhesus maymunlarında klonlanmıştır (111-114). Tip I reseptörü gibi Tip II reseptörü de 7TM reseptör ailesine aittir ancak tip I'den farklı olarak hızlı desensitizasyonda önemli birçok threonin ve serin kalıntıları içeren C-terminal kuyruğa sahiptir (115). İnsanda GnRH-II reseptörünü tam olarak gösteren uygun transkriptin bulunması henüz mümkün olmamıştır. Sadece sekansın bir kısmı yayınlanabilmiştir. Bu sekans GnRH Tip I reseptörü ile %40 benzerlik gösterir. Maymunlardaki Tip II GnRH reseptörün aminoasid sekansı ile %90 benzerlik gösterdiğinden insandaki bu reseptörden ' varsayılan Tip II GnRH reseptörü '

(putative tip II GnRH reseptörü) olarak söz edilmektedir (114,116). Tip II GnRH reseptör mRNA'sı hipofizde ve meme dokusu, uterus, testis, prostat, seminal vezikül, tiroid ve adrenal gibi birçok dokuda eksprese edilmiştir (115). RT-PCR ve Southern Blot analiz çalışmalarıyla insan over ve endometrium kanser hücrelerinin GnRH-II'ye spesifik putative GnRH-II reseptör eksprese ettikleri gösterilmiştir (14). Bu hücrelerin proliferasyonu doğal GnRH-II ile doz ve zaman bağımlı yolla azaltılabilir. Bu antiproliferatif etkiler aynı dozdaki GnRH-I agonisti olan triptorelinin etkisinden anlamlı olarak fazladır (14). Ayrıca yapılan bir çalışmada over ve endometrium kanserinde GnRH-I antagonisti olan Cetrorelix ile GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin GnRH-I reseptörü yerine putative GnRH-II reseptör aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmektedir (117). İnsanda GnRH-IIR mRNA'sının tam olarak eksprese edilmesi bu soruların cevaplanmasını sağlayacaktır.

2.3. SOLUBLE İNTERLÖKİN - 2 RESEPTÖRÜ

Yüksek afiniteli IL-2R birbirine nonkovalent bağlarla bağlı üç polipeptid zincirden oluşur; IL-2R α (IL-2Ralfa), IL-2R β , IL-2R γ (Şekil 2). α zinciri tek başına IL-2'yi düşük afinite ile bağlar ise de sinyal iletemez. β zinciri orta derecede afinite ile IL-2'yi bağlar. γ zincirinin kendisi IL-2'yi bağlamaz. Sinyal iletiminde esas önemli olan β ve γ zinciridir. IL-2R β ve IL-2R γ birlikte eksprese edilir, IL-2R kompleksi oluşur, istirahatteki T lenfositlerde bu kompleks bulunur. IL-2R α bulunmaz. Antijenle uyarı sonrası hızla IL-2R α eksprese edilir ve yüksek afiniteli IL-2R α / β / γ heterotrimeri oluşur. IL-2R β ve γ T hücre üzerinde yapısal rol üstlenirken α T hücre aktivasyonundan sonra belirir. Aktif proliferasyon sırasında 55kDa (Kilo Dalton)'luk IL-2R α hücre yüzeyini yararak 45kDa'luk soluble IL-2R α 'yı ortama verir (92,93). sIL-2R α 'nın biyolojik sıvılarda bulunması aktif lenfositleri *invivo* gösteren en sensitif belirteçtir (92). sIL-2R dolaşıma salınan IL-2R α 'dır.



Şekil 2. İnterlökin 2 Reseptörün yapısı

IL-2'nin reseptörüne bağlanması T lenfositlerin proliferasyonuna ve sitokin salınımına neden olur. IL-2 ile uyarılan T lenfositlerin sitotoksiteleri artar, IFN- γ , TNF- β , TGF- β , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, GM-CSF gibi sitokinleri salgılar. B lenfositlerde farklılaşmayı ve antikor yapımını artırır. Yüksek konsantrasyonlarda IL-2 nötrofilleri de aktive edebilir. NK (Natural killer) hücrelerinde INF- γ (İnterferon gamma) salınımına , proliferasyona ve sitolitik aktivitenin artmasına yol açar. Yüksek konsantrasyonda , NK hücrelerinden tümör tedavisinde yeri olan LAK (lenfokin ile aktive killer) hücrelerinin gelişimini sağlar (94). Artmış sIL-2R α düzeyi solid tümörlerde lösemi, lenfomada, inflamasyon (lupus , polimiyozit, skleroderma, romatoid artrit, multipl skleroz), infeksiyon (kronik hepatit, kızamık ve mycobacteria) ve yanıklarda görülmektedir (95,96). Böbrek fonksiyon bozukluğu olanlarda azalmış renal klirense bağlı olarak artmış soluble IL-2R α seviyesi saptanır (93).

Over kanser hücrelerinde IL-2R mRNA bulunmaz, peritoneal lenfositlerde bulunur (97). Over kanser olan hastalarda aktif lenfositler sIL-2R α kaynağıdır. Artmış serum seviyesinin nedeni artmış peritoneal klirens ve dağılmış tümör antijenlerinin periferik lenfositleri aktive etmesi sonucu yüzeydeki IL-2R α 'nın damar içi kompartmana geçmesi ile yorumlanmaktadır (97).

2.4. FSH, LH ve ÖSTRADIOL

FSH ve LH'nın hipofiz bezinde sentez, glikozilasyon ve sekresyonu hipotalamik bir peptid olan GnRH-I tarafından düzenlenir (118). FSH ise granüloza hücrelerini uyararak overden östrojen sentezini sağlar (118). Epidemiyolojik veriler gonadotropinlerin ve östradiolün over kanser gelişimi ile ilişkili olduğunu düşündürse de bazı invivo ve invitro çalışmalarda bu hipotez desteklenmemektedir (27,36). GnRH-II'nin overde steroid üretimine katılması ve over tümör hücrelerinin proliferasyonunu baskılaması GnRH-II ile FSH, LH ve östradiol arasında direk ve/veya indirek bir ilişkinin olabileceğini düşündürür. Maymun hipofiz kültürlerinde yapılan invitro çalışmada GnRH-II'nin FSH ve LH salınımını artırdığı tespit edilmiştir (119). Yine maymunlarda yapılan invivo çalışmada dışardan verilen GnRH-II'nin FSH ve LH yapımını uyardığı bildirilmektedir. Ancak bu tür bir ilişkinin insanda normal ve tümöral over hücrelerinde olup olmadığı net değildir.

2.5. GnRH-II, sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADIOL VE OVER KANSERİ

Over kanserinin optimal tedavisi cerrahidir. Ancak ileri evre veya reküren hastalığın tedavisinde yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulması için kanser biyolojisini daha iyi ortaya koyabilmemiz gereklidir. Şu ana kadar GnRH-II ile IL-2R'nün over tümöründeki rolleri ayrı ayrı araştırılmıştır. Bu iki sistem arasındaki ilişki henüz açık değildir. Over tümör hücrelerinde GnRH-II ile FSH, LH ve östradiol arasındaki ilişkinin ise daha fazla invivo çalışmayla desteklenmesi gerekmektedir.

3. GEREÇ (HASTALAR) VE YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurul onayı alındıktan sonra Mart 2006 ile Mart 2007 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde pelvik kitle ön tanısı ile ameliyat edilen 46 hasta ile yine aynı tarihler arasında kliniğe başvuran yaşı karşılaştırılabilir 20 hasta (kontrol grubu) çalışmaya dahil edildi. Hastalara çalışmanın amacı ve yapılacak olan tahliller ile ilgili bilgi verildi, sözlü olarak katılmaya onay veren hastalar çalışmaya alındı. Çalışma kapsamına alınan her hasta için yaş, ağırlık, boy, vücut kitle indeksi, sIL-2R, FSH, LH, östradiol ve GNRH-II gen ekspresyonunun kaydedileceği formlar oluşturuldu. Bu formlarda histopatolojik tanı, FIGO evre ve grade'in kaydedileceği kısımlara yer verildi. Hastaların menopozal durumu, gebelik sayısı, OKS ve/veya HRT kullanımı, aile öyküsü, tüp ligasyon hikayesi sorgulanarak formlara kaydedildi. Diabetes mellitus, akromegali, konjenital adrenal hiperplazi, Cushing sendromu ve polikistik over sendromu gibi endokrin hastalığı, kronik böbrek yetmezliği ve romatoid artrit gibi romatolojik hastalığı olanlar çalışmadan çıkarıldı. Kontrol grubu, çalışma grubuyla aynı tarihler arasında polikliniğe başvuran, pelvik muayene ve jinekolojik ultrasonografi ile pelvik kitle saptanmayan, endokrin ve romatolojik hastalığı olmayan, benign nedenlerle (örneğin menoraji, endometrial hiperplazi, uterin prolapsus gibi) ameliyat edilen hastalardan oluşturuldu. Çalışma kapsamına alınan pelvik kitleli hastaların her birisinin kişisel bilgileri ameliyat öncesi dönemde kendileri için önceden hazırlanmış formlara kaydedildi. Herbir hastanın boyu 2 metre

mezura ile ölçülerek metre cinsinden kaydedildi. Her hastanın ağırlıkları kilogram cinsinden ölçülerek kaydedildi. Kilogram cinsinden ağırlık ölçüsü, metre cinsinden boy ölçüsünün karesine oranlandı ve her bir hastanın Vücut Kitle İndeks'leri hesaplanarak formlara kaydedildi. Hastaların hormon replasman tedavisi ve/veya doğum kontrol hapı kullanıp kullanmadıkları, menopoz yaşı ve menarş yaşı kaydedildi.

Operasyon öncesi her hastadan 20cc'lik plastik enjektörler kullanılarak 20cc venöz kan alındı. Alınan kanların 4cc'lik kısmı 2'şer adet EDTA'lı tüplere koyularak periferik lenfositlerde GnRH-II gen ekspresyonu çalışılmak üzere Genetik Anabilim Dalı'na götürüldü. Kalan 16cc'lik venöz kan 2500 devirde 20 dakika santrifüj edilerek yaklaşık 8cc serum elde edildi. Bu serumlar çalışılacak güne kadar -71°C derin dondurucularda muhafaza edildi. Ameliyat sırasında onkoloji yöntemlerine uygun olarak çıkarılan kistten steril şartlarda 10cc sıvı aspire edilerek 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra kalan sıvı çalışılacak güne kadar -71°C derin dondurucularda muhafaza edildi. Ayrıca ameliyat sırasında kist çeperinden alınan 1cm'lik tam kat doku epandorf tüpüne steril olarak koyularak dokudan GnRH-II gen ekspresyonu çalışılmak üzere Genetik Anabilim Dalı'na götürüldü. Kontrol grubundan alınan venöz kan hasta grubu ile aynı şekilde çalışılırken, ameliyat sırasında kontrol grubunun morfolojik olarak normal olan tek overinden hilusa kadar 1cm'lik kama şeklinde alınan dokudan Genetik Anabilim Dalı'nda GnRH-II gen ekspresyonu bakıldı.

Serum FSH düzeyi 35mIU/mL olan veya en az 1 yıldır adet görmeyen hastalar postmenopoz olarak değerlendirildi. Premenopozal hastaların serum düzeyi folliküler fazda elde edilerek operasyon bu dönemde gerçekleştirildi.

Çalışmaya alınan hastaların ameliyatı kendi alanında uzman olan cerrahlar tarafından Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapıldı. Ameliyat sırasında alınan spesmenlerin Patoloji Anabilim Dalı tarafından histopatolojik değerlendirmesi yapıldı. Çalışmaya alınan hastalar ameliyat sonrası dönemde materyallerin histopatolojik inceleme sonuçlarına göre benign ve malign olmak üzere iki gruba ayrıldı. Malign hasta grubu FIGO evreleme sistemine göre evrelendirildi ve

gradelemesi yapıldı. Over dışı malignitesi olan ve pelvik tüberküloz, pelvik abse gibi enfeksiyöz hastalığı olanlar çalışmadan çıkarıldı.

Malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositler ve tümör dokusunda GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum sIL-2R düzeyi çalışılırken, malign ve benign grupta serum FSH, LH, östradiol düzeyleri ile kist sıvısı sIL-2R, FSH, LH ve östradiol düzeyleri çalışıldı.

3.1. PERİFERİK LENFOSİTLER VE DOKUNUN EKSTRAKİYONU, REAL-TIME RT-PCR ile GNRH-II mRNA EKSPRESYONUNUN TESPİTİ

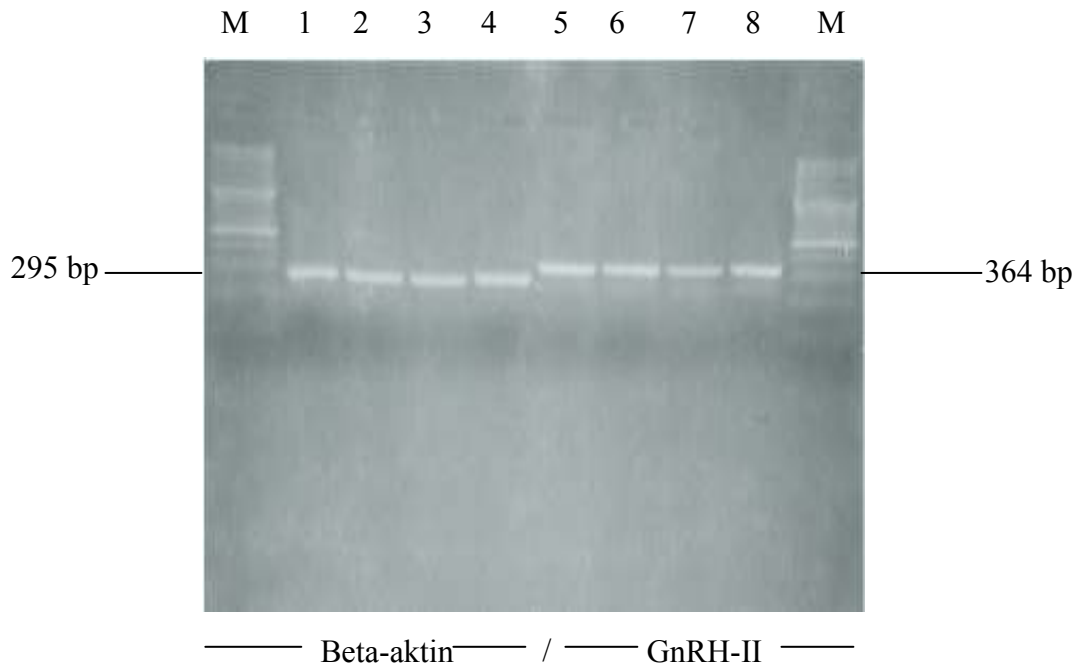
Araştırma için periferik human mononükleer hücrelerin kullanımı etik kurul tarafından onaylandı. Sağlıklı kontrollerden ve hastalardan venöz kan örnekleri elde edildi. Örneklerde HbsAg, HCV, HIV negatifti. Kan örnekleri alındıktan sonraki 1-3.günde işleme alındı. Mononükleer hücrelerin kandan ayrıştırılmasında standart metod olan Ficoll-Hypaque metodu kullanıldı.

Elde edilen PMBC'lerden ve dokudan hazır kit kullanılarak total RNA izole edildi (RNeasy midi kit, Qiagen). Total RNA'dan (2µg) komplementer DNA (cDNA) eldesi için First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, Life Sciences) kullanılarak reverse transkripsiyon (RT) yapıldı.

Quantitative real-time PCR 'Bio-Rad ICycler IQ' sistemi kullanılarak yapıldı. Sağlıklı kontrollerden ve hastalardan elde edilen cDNA'larda intron-spanning primerler kullanılarak GNRH-II (hedef gen) ve beta aktin (referans gen) ekspresyonu analiz edildi. Primer dizeleri: GNRH-II (sense 5'-GCCCCACCTTGG ACCCTCAGAG -3' ve antisense 5'-CCAGGTGTCGCTTCCTGTGAA-3'), beta-aktin (sense 5'-TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA-3' ve antisense 5'-CAG CGGAACCGCTC ATTG CCAATGG-3') olarak seçildi.

Kalıp cDNA'lar (2µl); 25 l IQ SYBR Gren Supermix ve her bir primerden 50 pmol içeren 50µl'lik PCR reaksiyonunda çoğaltıldı. Hedef ve referans genin her ikisine de 35 döngü PCR reaksiyonu uygulandı; Referans gen (B-actin) için denatürasyon 95°C'de 3dk ve 94°C'de 1 dk, annealing 61°C'de 40sn, ekstensiyon 72°C'de 1 dk, ve son siklustan sonra final ekstensiyon için 72°C'de 120 sn florasan data 585nm dalga boyunda ve her siklusun 72°C'lik ekstensiyon fazında Real-Time

PCR optik sistemi tarafından kaydedildi. Hedef gen (GNRH-II) için denatürasyon 95°C’de 3dk ve 94°C’de 45sn, annealing 66,5°C’de 1.10sn, ekstensiyon 72°C’de 1 dk ve final ekstensiyon için 72°C’de 5dk florasan data 585nm dalga boyunda ve her siklusun 72°C’lik ekstensiyon fazında Real-Time PCR optik sistemi tarafından kaydedildi. Ürünlerin spesifitesi ‘melt curve analysis’ ve %1.5 agaroz jel elektroforezde koşturarak test edildi (B-actin için PCR baz bantı 295 bp, GNRH-II için 364 bp) (Şekil 3). Ekspresyon oranları hesaplanırken ‘Bio-Rad İCycler IQ’ tarafından sağlanan özel yazılım programı kullanıldı.



Şekil 3. Beta-aktin ve GNRH-II PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü.

M : 100 baz çiftlik DNA boyut markerı

- 1. Kuyucuk :** 1.hastanın dokusunun beta-aktin PCR ürünü
- 2. Kuyucuk :** 2.hastanın dokusunun beta-aktin PCR ürünü
- 3. Kuyucuk :** 1.hastanın lenfositlerinin beta-aktin PCR ürünü
- 4. Kuyucuk :** 2.hastanın lenfositlerinin beta-aktin PCR ürünü
- 5. Kuyucuk :** 1.hastanın dokusunun GNRH-II PCR ürünü
- 6. Kuyucuk :** 2.hastanın dokusunun GNRH-II PCR ürünü
- 7. Kuyucuk :** 1.hastanın lenfositlerinin GNRH-II PCR ürünü
- 8. Kuyucuk :** 2.hastanın lenfositlerinin GNRH-II PCR ürünü

Premenopozal ve postmenopozal kontrol hastalarından rastgele seçilen birer örnek kullanılarak hem hedef gen hem de referans gen için farklı standart eğri elde edildi. 1 üniteden 1/16 üniteye kadar 5 konsantrasyon kullanıldı. Standart eğriler üzerinden her örneğin eşik siklusu (CT) kullanılarak hedef referans genlerin ünite cinsinden relatif konsantrasyonlar hesaplandı. Örnekler arasındaki RNA kalite ve kantite farklılıklarını düzeltmek için GNRH-II relative konsantrasyonu , beta-aktin relatif konsantrasyonuna bölünerek normalize oranlar elde edildi. Elde edilen normalize oranlar kontrol ve hasta grubunun PMBC ve dokularındaki GNRH-II ekspresyonu olarak değerlendirildi.

3.2. SERUM VE KİST SIVISINDA sIL-2R ÖLÇÜMÜ

Serum ve kist sıvısında soluble interlökin-2 reseptör düzeyleri enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle Human sIL-2R (Biosource, California, USA) kitiyle prospektüsüne uygun olarak çalışıldı. Sonuçlar spektrofotometre (Teca Spectra II, Austria) ile 450nm’de okundu. Standart absorban değerlerine göre grafik çizilerek hasta konsantrasyonları bu eğride belirlendi. Bu kit sIL-2R değerlerini 0-8000 pg/mL arasında ölçebilmekteydi.

3.3. SERUM VE KİST SIVISINDA FSH, LH VE ÖSTRADIOL ÖLÇÜMÜ

Serum ve kist sıvısında östradiol düzeyi otomatik olarak kemiluminesens sistem (ACS : 180, BAYER Corporation, NY, USA) ile çalışıldı. Bu kit ile östradiol değeri 10-1000 pg/mL arasında ölçüldü. 1000 pg/mL üzerindeki serum örnekleri dilüe edildi.

Serum ve kist sıvısında FSH ve LH düzeyi otomatik olarak kemiluminesens sistem (ACS : 180, BAYER Corporation, NY, USA) ile çalışıldı. FSH değeri 0,3-200 mIU/mL , LH değeri 0,07-200 mIU/mL arasında ölçüldü.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Veriler SPSS 13.0 paket programa kaydedildi, istatistiksel analizler bu program kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edildi. Bütün sürekli değişkenlerin normalizasyonu için Kolmogorov-Smirnov metodu kullanılarak değerler ortalama $\pm$ standart sapma (SS) ve median (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. İki grup karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için bağımsız iki örnek t-testi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Üç grup karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için tek yönlü Varyans Analizi kullanıldı. Bu analizde fark çıkan gruplarda çoklu karşılaştırmalar Holm-Sidak yöntemiyle yapıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Bu analizde fark çıkan gruplar için çoklu karşılaştırmalar Dunn's yöntemi ile yapıldı. Değişkenler arasındaki ilişki için Spearman Rho korelasyon testi kullanıldı. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 46 hasta postoperatif histopatolojik tanılarına göre benign ve malign olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu 20 hastadan oluşmaktaydı. Postoperatif histopatolojik tanılarına göre 13 hasta çalışmadan çıkarıldı. Bu hastaların 5'i pelvik abse, 2'si pelvik tüberküloz, 2'si tuba kanseri, 2'si kolon kanseri overe metastaz, 1'i appendiks tümörü, 1'i dejenere myom tanısı alan hastalardı. Borderline over tümörü olan 7 hasta (3 premenopoz, 4 menopoz) malign gruba dahil edildi

Grup 1: 24 Malign over tümörü olan hasta (10 premenopoz, 14 menopoz)

Grup 2: 22 Benign over tümörü olan hasta (8 premenopoz, 14 menopoz)

Grup 3: 20 Kontrol grubu (8 premenopoz, 12 menopoz)

Çalışmaya dahil edilen 20 kontrol, 22 benign ve 24 malign toplam 66 hastanın yaş, VKİ, aile öyküsü, parite, menopoz yaşı, OKS ve/veya HRT kullanımı, tüp ligasyon hikayesi, histopatolojik sınıflama, FIGO evre ve grade'i Tablo 2'de gösterilmiştir. Buna göre hastaların yaş ortalaması malign hasta grubunda $50,58 \pm 14,04$, benign hasta grubunda $52,55 \pm 11,76$ ve kontrol grubunda $51,50 \pm 10,66$ idi. Gruplar arasında yaş ortalaması istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p=0,891$). Her üç grubun VKİ'leri sırasıyla kontrol grubunda $28,65 \pm 3,71$, benign hasta grubunda $30,68 \pm 4,37$, malign hasta grubunda $30,49 \pm 7,07$ idi. Gruplar arasında VKİ yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,320$). Her üç grup arasında menopoz yaşı ve parite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı

(sırasıyla p=0,769, p=0,991). Hastaların hiçbirinde pozitif aile öyküsü , HRT ve/veya OKS kullanımı ve tüp ligasyon öyküsü yoktu.

Tablo 2. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların postmenopozal(Post) ve premenopozal(Pre) durumlarına göre demografik ve klinik özellikleri

	GRUP 1 (MALİGN) (n=24)			GRUP 2 (BENİGN) (n=22)			GRUP 3 (KONTROL) (n=20)			
	T	Post	Pre	T	Post	Pre	T	Post	Pre	P
Yaş (Ortalama)	50,58	59,50	38,10	52,55	60,14	39,25	51,50	58,33	41,25	0,891
VKİ (Ortalama)	30,49	31,67	28,83	30,68	32,29	27,88	28,65	30,67	25,63	0,320
Menapoz yaşı (Ortalama)	49,29	49,29		50,54	50,54		50,08	50,08		0,769
Parite (Ortalama)	3,50	4,07	2,70	3,95	4,64	2,75	3,50	3,92	2,88	0,991
Pozitif Aile Öyküsü	0			0			0			
HRT ve/veya OKS kullanımı	0			0			0			
Tüp ligasyonu	0			0			0			
Histopatoloji										
Seröz karsinom	8	7	1							
Müsinöz karsinom	3	0	3							
Endometrioid	5	3	2							
İndiferansiye	2	1	1							
Borderline tümör	7	4	3							
Seröz kist				6	3	3				
Müsinöz kist				2	1	1				
Teratom				1	0	1				
Fibrom				3	3	0				
Sex-kord stromal				1	1	0				
Granüloza hc				1	1	0				
Paraovaryan kist				1	1	0				
Folikül kisti				1	1	0				
Endometriosis				1	1	0				
Externa				5	2	3				
FIGO Evrelemesi										
I	10	6	4							
II	5		3							
III	6	5	1							
IV	3	1	2							
Grade										
1	12	5	7							
2	7	4	3							
3	5	3	2							

Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların dokuda ve periferik lenfositlerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R değerleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign hasta gruplarında kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	GRUP 1 (MALİGN)	GRUP 2 (BENİGN)	GRUP 3 (KONTROL)	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	P
Doku GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=21 1.48 $\pm$ 0.79 1.25(0.51-3.54)	n=21 1.08 $\pm$ 0.39 1.08(0.15-1.82)	n=16 1.14 $\pm$ 0.35 1.22(0.31-1.63)	0.343
Lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=20 1.64 $\pm$ 1.10 1.20(0.22-4.50)	n=17 1.60 $\pm$ 0.69 1.75(0.58-2.88)	n=17 1.29 $\pm$ 0.74 1.04(0.43-3.55)	0.275
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=24 121.04 $\pm$ 77.63 105.00(40.00- 400.00) ^a	n=20 83.30 $\pm$ 35.95 85.00(20.00- 140.00) ^a	n=18 79.38 $\pm$ 76.84 60.00(15.00- 280.00) ^{ab}	0.025
Kist sIL-2R (pg/mL)	n=23 448.43 $\pm$ 347.67 360.00(60.00- 1460.00)	n=12 274.58 $\pm$ 308.42 150.00(0.00- 1000.00)	—	0.155

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Tüm hastalar incelendiğinde dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu malign hasta grubunda benign hasta grubu ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,343). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise malign ve benign gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi (p=0,275). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,025). Kist sıvısı sIL-2R düzeyine bakıldığında malign hasta grubu ile benign hasta grubu arasında anlamlı fark yoktu. (p=0,155).

Malign ve benign hasta gruplarında serumda ve kist sıvısında FSH, LH, östradiol düzeyleri Tablo 4’te gösterilmiştir.

Tablo 4. Malign ve benign hasta gruplarında serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 değerlerinin Ortalama $\pm$ SS,Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	GRUP 1 (MALİGN)	GRUP 2 (BENİGN)	P
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	
Serum FSH (mIU/mL)	n=20 19.05 $\pm$ 20.15 11.15(1.52-73.35)	n=22 36.51 $\pm$ 29.97 27.14(1.42-108.90)	0.062
Kist FSH (mIU/mL)	n=17 15.19 $\pm$ 17.08 10.04(2.03-60.00)	n=15 8.65 $\pm$ 12.36 2.65(0.68-44.30)	0.040
Serum LH (mIU/mL)	n=20 11.47 $\pm$ 8.16 9.76(0.27-26.92)	n=22 17.16 $\pm$ 11.01 17.02(1.04-35.83)	0.066
Kist LH (mIU/mL)	n=17 2.25 $\pm$ 2.80 1.07(0.15-9.85)	n=15 0.40 $\pm$ 0.55 0.28(0.00-2.12)	0.00001
Serum E2 (pg/mL)	n=20 85.62 $\pm$ 136.00 38.06(0.00-594.68)	n=22 39.49 $\pm$ 40.52 25.32(0.00-158.80)	0.489
Kist E2 (pg/mL)	n=17 540.82 $\pm$ 1163.82 198.00(0.00-4895.81)	n=15 72.44 $\pm$ 121.10 1.39(0.00-434.03)	0.004

Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign ve benign hasta gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermezken (sırasıyla p=0,062, p=0,066, p=0,489), kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p=0,040, p=0,00001, p=0,004).

Postmenopozal malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu benign ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı (sırasıyla p=0,005, p=0,011). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı fark göstermedi (p=0,199). Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,146). Kist sıvısında bakılan

sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,004).

Tablo 5'te postmenopozal malign, benign ve kontrol grubu hastalarında doku ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serumda ve kist sıvısında sIL-2R değerleri gösterilmektedir.

Tablo 5. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu, serum sIL-2R düzeyi ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama±SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri

POSTMENOPOZ				
	Malign	Benign	Kontrol	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Doku GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=12 1.94±0.74 ^a 1.97(0.96-3.54)	n=13 1.09±0.49 ^b 1.16(0.15-1.82)	n=9 1.30±0.24 ^b 1.25(1.02-1.63)	0.011
Lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=11 1.73±1.30 1.22(0.22-4.50)	n=9 1.45±0.82 1.05(0.58-2.88)	n=9 1.01±0.45 0.92(0.43-2.08)	0.199
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=14 131.07±88.74 115.00(40.00-400.00)	n=12 80.58±40.23 79.00(20.00-140.00)	n=11 87.27±66.37 80.00(16.00-220.00)	0.146
Kist sIL2R (pg/mL)	n=13 523.84±399.15 400.00(80.00-1460.00)	n=5 124.00±77.97 120.00(0.00-200.00)	—	0.004

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Postmenopozal hastalarda serum FSH ve LH düzeyi benign grupta malign gruba göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0,040, p=0,007). Serum östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermedi (p=0,851). Aynı grupta kist sıvısı karşılaştırıldığında FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermezken (p=0,206), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p=0,026, p=0,041).

Tablo 6’da postmenopozal hastalarda benign, malign ve kontrol grubunda serumda ve kist sıvısında FSH, LH ve östradiol değerleri gösterilmektedir.

Tablo 6. Postmenopozal hastalarda benign ve malign grupta serum ve kist sıvısı FSH, LH ve E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri

POSTMENOPOZ			
	Malign	Benign	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Serum FSH (mIU/mL)	n=11 30.54 $\pm$ 20.89 25.92(4.68-73.35)	n=14 51.90 $\pm$ 26.60 57.57(4.11-108.90)	0.040
Kist FSH (mIU/mL)	n=11 21.56 $\pm$ 18.43 15.11(3.73-60.00)	n=8 13.56 $\pm$ 15.55 6.85(1.42-44.30)	0.206
Serum LH (mIU/mL)	n=11 14.67 $\pm$ 7.77 12.20(2.68-26.92)	n=14 23.59 $\pm$ 7.37 23.14(12.60-35.83)	0.007
Kist LH (mIU/mL)	n=11 2.93 $\pm$ 3.32 1.40(0.15-9.85)	n=8 0.53 $\pm$ 0.70 0.35(0.00-2.12)	0.026
Serum E2 (pg/mL)	n=11 29.06 $\pm$ 31.21 16.46(0.00-84.93)	n=14 23.63 $\pm$ 24.09 17.53(0.00-99.38)	0.851
Kist E2 (pg/mL)	n=11 334.86 $\pm$ 355.32 254.48(0.00-1216.40)	n=8 90.43 $\pm$ 148.0 27.97(0.00-434.03)	0.041

Premenopozal hastalar arasında aynı karşılaştırmalar yapıldığında dokuda ve periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol hasta grupları arasında anlamlı fark göstermedi (sırasıyla p=0,491, p=0,435). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,049). Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign ve benign grupta farklı değildi (p=0,835).

Tablo 7’de premenopozal malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositlerde ve dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serumda ve kist sıvısında sIL-2R değerleri gösterilmektedir.

Tablo 7. Premenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda doku ve lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	PREMENOPOZ			
	Malign	Benign	Kontrol	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	P
Doku GnRH-II mRNA Ekspresyonu	n=9 0.87 $\pm$ 0.31 0.88(0.51-1.33)	n=8 1.05 $\pm$ 0.18 1.02(0.84-1.32)	n=7 0.94 $\pm$ 0.39 0.85(0.31-1.45)	0.491
Lenfosit GnRH-II mRNA Ekspresyonu	n=9 1.54 $\pm$ 0.86 1.18(0.49-3.30)	n=8 1.77 $\pm$ 0.50 1.90(0.93-2.42)	n=8 1.61 $\pm$ 0.89 1.63(0.61-3.55)	0.435
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=10 107.00 $\pm$ 60.42 97.50(45.00- 250.00) ^a	n=8 87.37 $\pm$ 30.53 85.00(40.00- 124.00) ^a	n=7 67.00 $\pm$ 95.37 40.00(15.00- 280.00) ^{ab}	0.049
Kist sIL-2R (pg/mL)	n=10 350.20 $\pm$ 253.18 310.00(60.00- 700.00)	n=7 382.14 $\pm$ 371.41 260.00(60.00- 1000.00)	—	0.835

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Premenopozal hastalar kendi içerisinde karşılaştırıldığında serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri açısından malign ve benign grupla arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,180, p=0,248, p=0,248). Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri malign ve benign grupta istatistiksel olarak fark göstermezken (p=0,670, p=0,062), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,002).

Tablo 8’de premenopozal hastalarda malign ve benign grupta serum ve kist sıvısında FSH, LH ve östradiol düzeylerinin ortalama değerleri gösterilmektedir.

Tablo 8. Premenopozal malign ve benign hastaların serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS , Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

PREMENOPOZ			
	Malign	Benign	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Serum FSH (mIU/mL)	n=9 5.01 $\pm$ 3.92 3.34(1.52-13.80)	n=8 9.58 $\pm$ 8.84 7.11(1.42-28.08)	0.180
Kist FSH (mIU/mL)	n=6 3.52 $\pm$ 1.30 3.19(2.03-3.54)	n=7 3.04 $\pm$ 2.39 2.65(0.68-7.46)	0.670
Serum LH (mIU/mL)	n=9 7.55 $\pm$ 7.18 4.65(0.27-22.75)	n=8 5.91 $\pm$ 5.99 3.00(1.04-16.24)	0.248
Kist LH (mIU/mL)	n=6 1.02 $\pm$ 0.36 1.05(0.45-1.59)	n=7 0.26 $\pm$ 0.31 0.12(0.00-0.84)	0.002
Serum E2 (pg/mL)	n=9 154.75 $\pm$ 181.49 69.70(18.60-594.68)	n=8 67.25 $\pm$ 49.63 55.76(22.38-158.80)	0.248
Kist E2 (pg/mL)	n=6 918.41 $\pm$ 1953.82 82.53(4.62-4895.81)	n=7 51.88 $\pm$ 87.78 1.02(0.00-181.79)	0.062

Tüm hasta grupları ve premenopozal hastalarda parametreler arasında korelasyon saptanmazken postmenopozol hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı (r=0,719, p=0,003, N=15).

5. TARTIŞMA

Tedavideki pek çok gelişmeye rağmen jinekolojik kanserler arasında mortalitesi en yüksek kanser olarak yerini koruyan over kanserinin %90'ı over yüzey epitelinin (OYE) köken almaktadır (120). Normal ve neoplastik OYE hücrelerinin büyümesini düzenleyen over içi bazı mekanizmaların kanser gelişiminde önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Buradan yola çıkarak yapılan araştırmalarda GnRH'nın normal OYE hücrelerinde otokrin düzenleyici (121) , over kanser hücrelerinde büyümeyi baskılayıcı rolü olduğu gösterilmiştir (122). GnRH'nın ikinci formu beyin dışında yüksek oranda eksprese edilmektedir (101). İlk defa 2001 yılında Choi KC ve arkadaşları normal ve neoplastik OYE hücre kültürlerinde GnRH-II ekspresyonunu göstermişlerdir (13). Over kanserlerinin yaklaşık olarak %80'i GnRH-I ve GnRH-II eksprese etmektedir (123).

Over fizyolojisinin ve over kanser gelişiminin daha iyi anlaşılabilmesi için GnRH-II son on yılda daha fazla araştırma konusu olmuştur. Şimdiye kadar yapılan tüm araştırmalar kanser hücre dizisinde veya hücre kültürlerinde çalışılmıştır.

IL-2 anti tümöral etkisini T lenfosit, B lenfosit ve NK hücrelerin differansiyasyonu ve proliferasyonu ile gerçekleştiren immün sistemin en önemli yapı taşlarından birisidir (94). IL-2 etkisini hücre yüzeyinde bulunan sIL-2R aracılığı ile gerçekleştirir. Serum sIL-2R düzeyi aktif lenfositlerin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R düzeyi ile koreledir. Bundan dolayı serum sIL-2R düzeyi immünolojik aktivasyonun belirteci olarak görülür (92).

GnRH-II'nin over kanserinde antiproliferatif etkisi kanıtlanmış olmasına rağmen GnRH-II ile IL-2R arasındaki ilişki periferik lenfositler üzerinde yapılan çalışmalarla sınırlı kalmıştır (14,15).

Biz de çalışmamızda serumda ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH, östradiol düzeyini, periferik lenfositlerde ve tümör dokusunda GnRH-II mRNA ekspresyonunu değerlendirerek over tümöründe immünolojik ve hormonal aktivasyonun sistemik ve lokal düzeyini incelemeyi ve böylece GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeyinin benign-malign ayırımında belirteç olarak kullanılabilirliğini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmamızda tüm hastalar içerisinde doku GnRH-II mRNA ekspresyonu malign hasta grubunda benign ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Daha önce yapılan çalışmalarda GnRH-II mRNA ekspresyonu over kanser hücre dizilerinde ve over kanser hücre kültürlerinde gösterilmiştir (13,14). Literatürde benign, malign over tümöründe ve kontrol grubunda GnRH-II mRNA ekspresyonunu gösteren in vivo çalışma yoktur. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign ve benign grupta kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Yayınlarda over tümörlü hastaların periferik lenfositlerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile ilgili veri bulunmamaktadır.

Tüm hastalar içerisinde serum sIL-2R düzeyi malign hasta grubunda benign hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Premenopozal malign hasta grubunda da serum sIL-2R düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Bu grup ana grubumuzu etkiliyor görünmektedir. Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Gebauer ve arkadaşları benign ve malign over tümörü olan toplam 249 hastada serum sIL-2R düzeyini araştırmışlar ve malign grupta sIL-2R düzeyini anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir (124). Aynı bulgular Sedlacek ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada desteklenmiştir. Bu çalışmada toplam 98 hasta çalışmaya alınmış, serum ve kist sıvısı sIL-2R düzeyleri malign hastalarda benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (125). 1988 yılında Kikuchi ve arkadaşları malign ve benign over kanserli toplam 70 hastada periferik lenfositlerde IL-2R ekspresyonunu çalışmışlar ancak her iki grupta da anlamlı fark bulamamışlardır (126). Çalışmamızda

serum sIL-2R düzeyinin anlamlı olarak yüksek bulunması bu hasta grubunda serum düzeyinin kist düzeyini yansıtmadığını gösterir.

Tüm hastalar incelendiğinde serum FSH ve LH düzeyleri malign ve benign hasta grupları arasında anlamlı farklılık göstermedi. Ancak kist sıvısı FSH, LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Kramer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada benign ve malign over tümörlü hastalarda serum ve kist sıvısında FSH ve LH düzeylerinin karşılaştırmışlar ve serum FSH ve LH düzeyleri heriki grup arasında anlamlı fark göstermezken kist sıvısı FSH ve LH düzeyini malign grupta anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (127). Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir. Serum FSH ve LH düzeyinin gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısında anlamlı yüksek bulunması olayın lokal olduğunu ve tümör hücrelerinin FSH ve LH yapımında rol alabileceğini düşündürür. Serum östradiol düzeyi gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısı östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. İlk kez Nash ve arkadaşları over kanser hücre dizisinde östrojenin mitojenik etkisini göstermişlerdir (128). Karasık ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada malign over tümörü olan hastalarda kist sıvısı östradiol düzeyi menstrual siklus sırasındaki hormon dalgalanmalarını ortadan kaldırmak için sadece postmenopozal hastalarda değerlendirilmiştir. Bu çalışmada malign hasta grubunda kist sıvısı östradiol düzeyi benign hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir (129). Bizim çalışmamızda da postmenopozal hastalarda kist sıvısı östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksektir.

Tüm hastalara bakıldığında periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark göstermedi. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ilk defa Tanrıverdi ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (130). Bu çalışmada GnRH-II'nin tek başına B lenfosit proliferasyonunu etkilemediği ve IL-2'ye proliferatif cevabı değiştirmediği rapor edilmiştir. Tanrıverdi ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında ise sağlıklı 6 erkekten alınan venöz kan örneklerinde IL-2R ekspresyonu bakılmış, periferik lenfositlerde GnRH-II'nin IL-2R ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir (15). Çalışmamızda serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Maccio ve arkadaşları over kanserli hastalarda yüksek serum sIL-2R

düzeyinin azalmış T hücre cevabı ile ilişkili olduğunu ve IL-2 aracılı immün cevabı baskıladığını rapor etmişlerdir (75). Sonuç olarak malign hasta grubunda serum sIL-2R düzeyinin anlamlı yüksek olması bu hastalarda immünsüpresif etkinin başladığını düşündürür. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından gruplar arasında fark olmaması bu iki sistemin özellikle sistemik dolaşımda birbirinden bağımsız işlediğini düşündürmektedir.

Postmenopozal hastalarda menstruel siklus dalgalanmalarından etkilenebilecek parametreler büyük oranda sabitlendiğinden bu hasta grubunun bazı verileri daha kıymetlidir. Çalışmamızda bu hasta grubunda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu malign grupta benign ve kontrol grubuna göre yaklaşık iki kat yüksek bulunmuştur. Yine aynı hasta grubunda kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksektir. Yapılan korelasyon analizinde doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R düzeyi arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. sIL-2R'ün kist ortamında fazla bulunması IL-2'nin etkisini baskılayarak lokal immünsüpresif bir zemin hazırlamaktadır. Tümörün immünsüpresif ortamdan faydalanarak GnRH-II'nin antiproliferatif etkisine karşı direnç kazandığı ve GnRH-II sistemini lokal hormon yapımı için kullandığı düşünülebilir. GnRH-II ekspresyonunun tümör dokusunda artması bu hipotezi desteklemektedir. Ayrıca Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada normal ve lösemik T hücrelerinin GnRH-II ve GnRH-I ürettiği ve bu nöropeptidlerin laminin reseptör gen ekspresyonunu, adhezyon ve kemotaksisi artırdığı rapor edilmiştir (109). Tümör ortamında otokrin/parakrin GNRH-II üretimi tümörün gelişimine katkıda bulunuyor olabilir.

İn vitro çalışmaların birinde maymun hipofiz kültür hücrelerinde GnRH-II'nin FSH, LH salınımını artırdığı gösterilmiştir (131). Choi ve arkadaşlarının yaptığı invitro çalışmada ise normal OYE hücre dizileri ve over kanser hücre dizilerinde ortama FSH ve LH eklenmesi GnRH-II mRNA ekspresyonunu baskılamaktadır (13). Eğer tümör FSH, LH ve östradiol gibi hormonların yapımını başarırsa proliferasyon ve metastaz yeteneğini artırabilir. Ancak tümörün GnRH-II yoluyla hormon yapımını gerçekleştirdiğini gösteren invivo çalışma henüz yoktur. İn vivo ortamda yapılan tek çalışma Densmore ve arkadaşlarının maymunlar üzerinde yapmış olduğu araştırmadır (132). Bu çalışmaya göre dışardan GNRH-II verildiğinde ön hipofizden LH ve FSH salınımı GNRH-I reseptörleri aracılığı ile artmakta ve bu etkinin GNRH-I kadar

potent olduğu rapor edilmektedir (132). Bizim çalışmamızda postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında LH ve östradiol düzeyi benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Kramer ve arkadaşları postmenopozal hastalarda kist sıvısı FSH ve LH düzeyini malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir (127). Chudecka-Glaz ve arkadaşlarının çalışmasında postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında FSH ve LH düzeyi benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (133). Aynı çalışmada malign over tümörlü hastalarda serum FSH ve LH'nın postmenopozal hastalarda yüksek saptanmaması ise olayın lokal olduğunu ve tümör hücrelerinin gonadotropin yapımına katıldığını düşündürmüştür (133). Bizim çalışmamızda da postmenopozal malign over tümörlü hastalarda serum FSH ve LH düzeyi benign over tümörlü hastalara göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Her iki grup arasında yaş ortalamaları açısından istatistiksel fark yoktur. (benign grup yaş ortalaması $60,14 \pm 6,22$; malign grup yaş ortalaması $59,50 \pm 9,24$, $p=0,831$). Blaakaer ve arkadaşları menopozal malign over tümörlü hastalarda serum FSH düzeyini benign gruba göre anlamlı olarak düşük saptamışlar, LH düzeyini değerlendirmemişlerdir (134). Bizim çalışmamızda serum FSH, LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak düşükken kist sıvısında LH ve östradiol düzeyleri anlamlı olarak yüksektir. Postmenopozal malign hastalarda kist sıvısında LH ile birlikte doku GnRH-II mRNA ekspresyonunun artmış olması GnRH-II'nin lokal hormon yapımına katılabileceğini ve malignite gelişimi açısından tümör mikroçevresinin seruma göre daha iyi yol gösterdiğini düşündürmektedir.

Postmenopozal hastalarda lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi. Aynı hasta grubunda serum sIL-2R düzeyi malign, benign ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Lenfositlerde GnRH-II ekspresyonu, serum sIL-2R, serum FSH ve LH arasında korelasyon saptanmadı. Bu sonuca göre GnRH-II ile sIL-2R arasındaki ilişkinin lokal düzeyde olduğunu ve sistemik olarak tespit edilemeyeceğini söyleyebiliriz.

Karasık ve arkadaşları postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında östradiol düzeyini benign gruba göre anlamlı olarak yüksek tesbit etmişlerdir (129). Jeppsson ve arkadaşları ise postmenopozal malign over tümörlü

hastaların over veninde estradiol düzeyini benign gruba göre yüksek bulmuşlardır (135) . Çalışmamızda postmenopozal malign over tümör olan hastaların kist sıvısında artmış östradiol düzeyi ile birlikte artmış GnRH-II mRNA ekspresyonu tespit ettik. Kang ve arkadaşlarının yaptığı in vitro çalışmada östradiolün GnRH'nın over kanser hücrelerinde büyümeyi inhibe edici etkisini antagonize ettiği gösterilmiştir (121). Buradan yola çıkarak östradiolün GnRH-II için de böyle bir etkisinin olduğu, tümör hücresinde GnRH-II'nin antiproliferaif etkisini antagonize ederek GnRH-II'ye karşı dirençte rol alabileceği ve artan GnRH-II mRNA ekspresyonu ile tümör dokusunda LH ve östradiol yapımını stimüle edebileceği söylenebilir.

Premenopozal hastalarda lenfositlerde veya dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından malign , benign ve kontrol grubu arasında fark bulunmazken serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksektir. Bu sonuca göre olay önce sistemik olarak başlamakta postmenopozal dönemde ise lokal düzeyde yani kist sıvısında tespit edilmektedir. Çalışmamızın sonucunda premenopoz olan daha genç yaş kontrol grubunda serum sIL-2R düzeyi düşüken yaş ilerledikçe serum sIL-2R düzeyinin arttığını tespit ettik (Premenopozal kontrol grubunun yaş ortalaması $41,25 \pm 6,75$; postmenopozal kontrol grubunun yaş ortalaması $58,33 \pm 6,32$). Orson ve arkadaşları yaptıkları in vitro çalışmada sağlıklı genç ve sağlıklı yaşlı hastaların kanlarını kullanmış, bu kanlar in vitro ortamda stimüle edilmiştir (136). Yaşlı hastalarda IL-2R ekspresyonu artmadan sIL-2R salınımının arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucuna göre hücre aracılı immünite yaşlanmayla birlikte azalmaktadır. Bizim çalışmamız da bu çalışmanın sonuçlarıyla benzerdir. Şimdiye kadar yapılan hiçbir çalışmada premenopozal ve postmenopozal hastalar sIL-2R düzeyi açısından kendi içerisinde ayrı olarak değerlendirilmemiştir. O nedenle bu hasta gruplarında gerçekte farkın olup olmadığını eldeki verilerle ortaya koymak zordur. Bu çalışma ilk defa postmenopozal ve premenopozal hastalar arasında serum sIL-2R düzeyi açısından farkın olabileceğini ve premenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyinin malignite gelişimi açısından belirteç olarak kullanılabileceğini vurgulamaktadır.

Premenopozal hasta grubunda serum FSH, LH ve östradiol düzeyi açısından malign ve benign grup arasında fark izlenmedi. Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısı LH düzeyi malign

grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Chudecka-Glaz ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada over tümörü olan hastalarda serumda ve kist sıvısında FSH, LH düzeyini karşılaştırmışlar ancak premenopozal malign hasta grubunda sadece iki hasta olduğu için bu grupta istatistiksel analiz yapmamışlardır (132). Reimer ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada perimenopozal ve postmenopozal hastalarda düşük kist sıvısı FSH ve LH düzeyi ile premenopozal hastalarda yüksek kist sıvısı estradiol düzeyinin fonksiyonel kist ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (137). Aynı çalışmada premenopozal hasta grubunda fonksiyonel kist sıvısı ve neoplastik tümör kist sıvısı arasında FSH ve LH düzeyi açısından fark saptanmamıştır. Çalışmamızın sonucuna göre premenopozal malign hastalarda erken folliküler fazda elde edilen kist sıvısında artan LH düzeyinin malignite gelişimi ile ilişkili olabileceği ancak dokuda GnRH-II mRNA ekspresyon açısından benign, malign ve kontrol grubu arasında fark olmaması ise doku düzeyinde tümör gelişimi ile LH arasında GnRH-II sisteminden bağımsız bir ilişki olduğunu düşündürür. Bu çalışma ile literatürde ilk defa premenopozal malign hasta grubunda kist sıvısı LH düzeyinin benign gruba göre anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir.

Gebauer ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada over kanserli hastalarda serum sIL-2R düzeyi ile FIGO evrelemesi ve prognoz arasında ilişki saptanmış buna göre evre arttıkça serum sIL-2R düzeyinin arttığı en yüksek düzeyin evre 4 hastalarda olduğu tespit edilmiştir (124). Artan sIL-2R düzeyinin immünolojik aktivasyonu gösterdiği ve Evre 4 hastalarda olduğu gibi daha da yüksek değerlerin immünsupresif etkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda incelenen hasta sayısı az olduğu için istatistiksel analiz yapılmamıştır. Ayrıca over kanserinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile evre ve prognoz ilişkisi araştırılmayı beklemektedir. Bu konuda daha yüksek ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamız literatürde ilk defa GnRH-II ile sIL-2R arasında özellikle postmenopozal malign hastalarda doku düzeyinde bir ilişki olabileceğini ve bu hasta grubunda GnRH-II'nin lokal düzeyde hormon yapımına katılabileceğini belirtmektedir. Bu çalışma premenopozal malign over tümörlü hastalarda serum sIL-2R düzeyinin, postmenopozal malign over tümörlü hastalarda ise doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ve kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin klinikte belirteç olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir. Çalışmamızın sonucunda elde edilen bulgular

ilerde yapılacak birçok deneysel ve klinik çalışmalara ışık tutacak ve böylelikle over kanser yönetiminde ve hedefe yönelik tedavilerde yeni gelişmeler sağlanabilecektir.

6. SONUÇLAR

1. Tüm hastalar içerisinde yaş ortalamaları yönünden malign, benign ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,891$). Yaş ortalaması malign grupta $50,58 \pm 14,04$, benign grupta $52,55 \pm 11,76$, kontrol grubunda $51,50 \pm 10,66$ idi.
2. Malign, benign ve kontrol grupları arasında VKİ'leri yönünden anlamlı fark saptanmadı ($p=0,320$). VKİ ortalaması malign grupta $30,49 \pm 7,07$, benign grupta $30,68 \pm 4,37$ ve kontrol grubunda $28,65 \pm 3,71$ idi.
3. Her üç grup arasında menapoz yaşı ve parite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p=0,769$, $p=0,991$).
4. Dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi ($p=0,343$).
5. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından üç grup arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,275$).
6. Serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksekti ($p=0,025$).
7. Kist sıvısı sIL-2R düzeyine bakıldığında malign ve benign gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi ($p=0,155$).
8. Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri açısından her iki grup arasında anlamlı değişiklik saptanmadı (sırasıyla $p=0,062$, $p=0,066$, $p=0,489$).
9. Kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre yüksek bulundu. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,040$, $p=0,00001$, $p=0,004$).
10. Postmenopozal malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ($p=0,011$).

11. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından fark yoktu ($p=0,199$).
12. Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign, benign ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,146$).
13. Aynı hasta grubunda kist sıvısında bakılan sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre istatistiksel olarak yüksek saptandı ($p=0,004$).
14. Serum FSH ve LH düzeyi postmenopozal benign grupta malign gruba göre yüksekti. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,040$, $p=0,007$).
15. Serum östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermedi ($p=0,851$).
16. Postmenopozal hastalarda kist sıvısı karşılaştırıldığında FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında değişiklik göstermezken ($p=0,206$), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,026$, $p=0,041$).
17. Premenopozal hastalarda dokuda ve periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p=0,491$, $p=0,435$).
18. Premenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p=0,049$).
19. Aynı hasta grubunda kist sıvısı sIL-2R düzeyi açısından malign ve benign gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,835$).
20. Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri premenopozal malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermedi ($p=0,180$, $p=0,248$, $p=0,248$).
21. Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri malign ve benign grupta istatistiksel olarak fark göstermezken ($p=0,670$, $p=0,062$), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,002$).
22. Postmenopozal hastalar arasında doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ($r=0,719$, $p=0,003$).

7. KAYNAKLAR

1. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics, 1999. CA Cancer J Clin 1999; 49: 8-31
2. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics, 2000. CA Cancer J Clin 2000; 50:7-33
3. Leung PC, Choi JH. Endocrine signaling in ovarian surface epithelium and cancer. Hum Reprod Update 2007; 13(2): 143-62.
4. Lukanova A, Lundin E, Micheli A et al. Risk of ovarian cancer in relation to prediagnostic levels of C-peptide, insulin-like growth factor binding proteins-1 and -2 (USA, Sweden, Italy). Cancer Causes Control 2003; 14(3): 285-92.
5. Roberta B, Ness CC. Possible role of ovarian epithelial inflammation in ovarian cancer. J Natl Cancer Inst 1999; 91(17): 1459-67.
6. Bukovsky A. Immune system involvement in the regulation of ovarian function and augmentation of cancer. Microsc Res Tech 2006; 69(6): 482-500.
7. Wanebo HJ, Pace R, Hargett S. Production of and response to interleukin-2 in peripheral blood lymphocytes of cancer patients. Cancer 1986; 57: 656-62.
8. Owens OJ, Taggart C, Wilson R et al. Interleukin-2 receptor and ovarian cancer. Br J Cancer 1993; 68: 364-7.
9. Lauria F, Rondelli D, Raspadori D et al. Serum sIL-2R levels in hairy cell leukaemia: Correlation with clinical and haematological parameters and with Alpha-interferon treatment. Leuk-Lymphoma 1992;7: 103-7.
10. Fierro MT, Lisa F, Novelli M. Soluble interleukin-2 receptor, CD4 and CD8 levels in Melanoma: a longitudinal study. Dermatologica 1992; 184: 182-9.

11. King JA, Millar RP. Structure of chicken hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone II. Isolation and characterization. *J Biol Chem* 1982; 257: 10729-32.
12. Lescheid DW, Terasawa E, Abler LA et al. A second form of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) with characteristics of chicken GnRH-II is present in the primate brain. *Endocrinology* 1997; 138(12): 5618-29.
13. Choi KC, Auersperg N, Leung PC. Expression and antiproliferative effect of a second form of gonadotropin-releasing hormone in normal and neoplastic ovarian surface epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(10): 5075-5078.
14. Grundker C, Gunthert AR, Millar RP, Emons G. Expression of gonadotropin-releasing hormone II (GnRH-II) receptor in human endometrial and ovarian cancer cells and effects of GnRH-II on tumor cell proliferation. *Endocrinol Metab* 2002; 87: 1427-30.
15. Tanriverdi F, Gonzalez-Martinez D, Silveira LF et al. GnRH-I and GnRH-II have differential modulatory effects on human peripheral blood mononuclear cell proliferation and interleukin-2 receptor gamma-chain mRNA expression in healthy males. *Clin Exp Immunol* 2005; 142(1): 103-10.
16. Choi KC, Kang SK, Tai CJ, Auersperg N. Follicle-stimulating hormone activates mitogen-activated protein kinase in preneoplastic and neoplastic ovarian surface epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(5): 2245-53.
17. Kang SK, Tai CJ, Nathwani PS, Leung PC. Differential regulation of two forms of gonadotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid in human granulosa-luteal cells. *Endocrinology* 2001; 142(1): 182-92.
18. Robinson E, Segal R, Vesely Z, Mekori T. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood and malignant effusions of cancer patients. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22(2): 191-3.
19. Narod SA, Boyd J. Current understanding of the epidemiology and clinical implications of BRCA-1 and BRCA-2 mutations for ovarian cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002; 14: 19-26.

20. Buller RE, Lallas TA, Shahin MS. The p53 mutational spectrum associated with BRCA1 mutant ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7(4): 831-8.
21. Boyd J, Sonoda Y, Federici MG et al. Clinicopathologic features of BRCA-linked and sporadic ovarian cancer. *JAMA* 2000; 283(17): 2260-5.
22. Lee H, Park G, Jung JH et al. Diagnostic approach using the expression profiling of the P53 tumor suppressor gene and its related proteins in ovarian epithelial tumors. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 453-61.
23. Shih IeM, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol* 2004; 164(5): 1511-8.
24. Fathalla FM. Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia? *Lancet* 1971; 2 (7716): 163.
25. Scully RE. Pathology of ovarian cancer precursors. *J Cell Biochem Suppl* 1995; 23: 208-18
26. Syed V, Ulinski G, Mok SC, Yiu GK, Ho SM. Expression of gonadotropin receptor and growth responses to key reproductive hormones in normal and malignant human ovarian surface epithelial cells. *Cancer Res* 2001; 61(18): 6768-76.
27. Zheng W, Lu JJ, Luo F et al. Ovarian epithelial tumor growth promotion by follicle stimulating hormone and inhibition of the effect by luteinizing hormone. *Gynecol Oncol* 2000; 76(1): 80-8.
28. Ivarsson K, Sundfeldt K, Brannstrom M, Hellberg P, Janson PO. Diverse effects of FSH and LH on proliferation of human ovarian surface epithelial cells. *Hum Reprod* 2001; 16(1): 18-23.
29. Stakleff KD, Von Gruenigen VE. Rodent models for ovarian cancer research. *Int J Gynecol Cancer* 2003; 13(4): 405-12.
30. Simon WE, Albrecht M, Hansel M, Dietel M, Hözel F. Cell lines derived from human ovarian carcinomas: growth stimulation by gonadotropic and steroid hormones. *J Natl Cancer Inst* 1983; 70: 839-44.

31. Schiffenbauer YS, Abramovitch R, Meir G. Loss of ovarian function promotes angiogenesis in human ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(24): 13203-8.
32. Wang J, Luo F, Lu JJ, Chen PK, Liu P, Zheng W. VEGF expression and enhanced production by gonadotropins in ovarian epithelial tumors. *Int J Cancer* 2002; 97(2): 163-7.
33. Osterholzer HO, Streibel EJ, Nicosia SV. Growth effects of protein hormones on cultured rabbit ovarian surface epithelial cells. *Biol Reprod* 1985; 33(1): 247-58.
34. Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Gordon GB et al. Serum gonadotropins and steroid hormones and the development of ovarian cancer. *JAMA* 1995; 274: 1926-30.
35. Arslan AA, Zeleniuch-Jacquotte A, Lundin E et al. Serum follicle-stimulating hormone and risk of epithelial ovarian cancer in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 1531-5.
36. Schildkraut JM, Schwingl PJ, Bastos E, Evanoff A, Hughes C. Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 554-9.
37. Risch HA. Hormonal etiology of epithelial ovarian cancer, with a hypothesis concerning the role of androgens and progesterone. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90(23): 1774-86.
38. Bohlke K, Cramer DW, Barbieri RL. Relation of luteinizing hormone levels to body mass index in premenopausal women. *Fertil Steril* 1998; 69: 500-4.
39. Cunaat S, Hoffmann P, Pujol P. Estrogens and epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2004; 94(1): 25-32.
40. Silva EG, Tornos C, Deavers M, Kaisman K, Gray K, Gershenson D. Induction of epithelial neoplasms in the ovaries of guinea pigs by estrogenic stimulation. *Gynecol Oncol* 1998; 71: 240-6.

41. Nash JD, Ozols RF, Smyth JF, Hamilton TC. Estrogen and anti-estrogen effects on the growth of human epithelial ovarian cancer in vitro. *Obstet Gynecol* 1989; 73(6): 1009-16.
42. Rodriguez C, Patel AV, Calle EE, Jacob EJ, Thun MJ. Estrogen replacement therapy and ovarian cancer mortality in a large prospective study of US women. *JAMA* 2001; 285: 1460-5.
43. Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E, Cauley J,. Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA* 2002; 288: 58–66.
44. Lukonova A, Lundin E, Akhmedkhanov A et al. Circulating levels of sex steroid hormones and risk of ovarian cancer. *Int J Cancer* 2003; 104(5): 636-42.
45. The endocrinology of pregnancy. In: Speroff L, Glass RH, Kase NG, editors. *Clinical Gynecological Endocrinology and Infertility*. Baltimore (MD): Williams&Wilkins; 1994. p. 251-91.
46. Van Gorp T, Amant F, Neven P, Vergote I, Moerman P. Endometriosis and the development of malignant tumours of the pelvis. A review of literature. *Best Prac Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18: 349-71.
47. Zeitoun KM, Bulun SE. Aromatase: a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Fertil Steril* 1999; 72(6): 961-9.
48. Yancik R. Ovarian cancer. Age contrasts in incidence, histology, disease stage at diagnosis, and mortality. *Cancer* 1993; 71(2 Suppl): 517-23.
49. Modan B, Ron E, Lerner-Geva L, Blumstein T, Cancer incidence in a cohort of infertile women. *Am J Epidemiol* 1998; 147: 1038–1042.
50. Salazar-Martinez E, Lazcano-Ponce EC, Gonzalez Lira-Lira G, Escudero-De los RP. Reproductive factors of ovarian and endometrial cancer risk in a high fertility population in Mexico. *Cancer Res* 1999; 59: 3658–3662.
51. Edmondson RJ, Monaghan JM, Davies BR. The human ovarian surface epithelium is an androgen responsive tissue. *Br J Cancer* 2002; 86: 879-85

52. Lukanova A, Kaaks R. Endogenous hormones and ovarian cancer: epidemiology and current hypotheses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(1): 98-107.
53. Kaaks R, Lukanova A. Energy balance and cancer: the role of insulin and insulin-like growth factor-I. *Proc Nutr Soc* 2001; 60(1): 91-106.
54. Adler AI, Weiss NS, Kamb ML, Lyon JL. Is diabetes mellitus a risk factor for ovarian cancer? A case-control study in Utah and Washington (United States). *Cancer Causes Control* 1996; 7(4): 475-8.
55. Rodriguez C, Calle EE, Fakhrabadi-Shokoochi D, Jacobs EJ, Thun MJ. Body mass index, height, and the risk of ovarian cancer mortality in a prospective cohort of postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 822-8.
56. Purdie DM, Bain CJ, Webb PM, Whiteman DC, Pirozzo S, Gren AC. Body size and ovarian cancer: case-control study and systematic review (Australia). *Cancer Causes Control* 2001; 12(9): 855-63.
57. Fairfield KM, Willett WC, Rosner BA, Manson JE, Speizer FE, Hankinson SE. Obesity, weight gain, and ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 2002; 100(2): 288-96.
58. Kuper H, Cramer DW, Titus-Ernstoff L. Risk of ovarian cancer in the United States in relation to anthropometric measures: does the association depend on menopausal status? *Cancer Causes Control* 2002; 13: 455-63.
59. Anderson JP, Ross JA, Folso AR. Anthropometric variables, physical activity, and incidence of ovarian cancer: The Iowa Women's Health Study. *Cancer* 2004; 100(7): 1515-21.
60. Engeland A, Tretli S, Bjorge T. Height, body mass index, and ovarian cancer: a follow-up of 1.1 million Norwegian women. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1244-8.
61. Parazzini F, Moroni S, La Vecchia C, Negri E, dal Pino D, Bolis G. Ovarian cancer risk and history of selected medical conditions linked with female hormones. *Eur J Cancer* 1997; 33(10): 1634-7.

62. Lukanova A, Toniolo P, Lundin E et al. Body mass index in relation to ovarian cancer: a multi-centre nested case-control study. *Int J Cancer* 2002; 99(4): 603-8.
63. Bukovsky A. Immune system involvement in the regulation of ovarian function and augmentation of cancer. *Microsc Res Tech* 2006; 69(6): 482-500.
64. Ness RB, Modugno F. Endometriosis as a model for inflammation-hormone interactions in ovarian and breast cancers. *Eur J Cancer* 2006; 42(6): 691-703.
65. Pietras RJ. Targeting Angiogenic Factors Contributing to Etiology and Progression of Human Ovarian Cancer. *Med Gen Med*. 2004; 6(4): 21.
66. Counter CM, Hirte HW, Bacchetti S, Harley CB. Telomerase activity in human ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; ;91(8): 2900-4.
67. Santin AD, Bellone S, Ravaggi A et al. Increased levels of interleukin-10 and transforming growth factor-beta in the plasma and ascitic fluid of patients with advanced ovarian cancer. *BJOG* 2001; 108(8): 804-8.
68. Penson RT, Kronish K, Duan Z et al. Cytokines IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, MCP-1, GM-CSF and TNFalpha in patients with epithelial ovarian cancer and their relationship to treatment with paclitaxel. *Int J Gynecol Cancer* 2000; 10: 33-41.
69. Xu L, Fidler IJ. Interleukin 8: an autocrine growth factor for human ovarian cancer. *Oncol Res* 2000; 12(2): 97-106.
70. Berek JS, Chung C, Kaldi K, Watson JM, Knox RM, Martinez-Maza O. Serum interleukin-6 levels correlate with disease status in patients with epithelial ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164(4): 1038-42.
71. Nakayama E, Asano S, Takuwa N, Yokota J, Miawa S. Decreased TCGF activity in the culture medium of PHA stimulated peripheral mononuclear cells from patients with metastatic cancer. *Clin Exp Immunol* 1983; 51(3): 511-6.
72. Nelson DL, Wagner DK, Maron L et al. An analysis os soluble IL-2 receptors in human neoplastic disorders. In: Albertini A, Lentant C, Poeletti R, eds. *Biotechnology in Clinical Medicine*. New York: Raven Pres; 1987: 277-86.

73. Wang S, Cai G, Lu Y. Clinical implication of serum sIL-2R levels in ovarian cancer. *Journal of Tongji Medical University* 1998; 18(2): 126-128.
74. Wang H, Xie X, Lu WG, Ye DF, Chen HZ, Li X, Cheng Q. Ovarian carcinoma cells inhibit T cell proliferation: suppression of IL-2 receptor beta and gamma expression and their JAK-STAT signaling pathway. *Life Sci* 2004; 74(14): 1739-49.
75. Maccio A, Lai P, Santona MC, Pagliara L, Melis GB, Mantovani G. High serum levels of soluble IL-2 receptor, cytokines, and C reactive protein correlate with impairment of T cell response in patients with advanced epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1998; 69: 248-52.
76. Kang SK, Choi KC, Yang HS, Leung PC. Potential role of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH)-I and GnRH-II in the ovary and ovarian cancer. *Endocr Relat Cancer* 2003; 10(2): 169-77.
77. Volker P, Gründker C, Schmidt O, Schulz KD, Emons G. Expression of receptors for luteinizing hormone-releasing hormone in human ovarian and endometrial cancers: frequency, autoregulation, and correlation with direct antiproliferative activity of luteinizing hormone-releasing hormone analogues. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186(2): 171-9.
78. Young RC, Decker DG, Wharton JT et al. Staging laparotomy in early ovarian cancer. *JAMA* 1983; 250: 3072-76.
79. Young RC, Brady MF, Nieberg RK et al. Adjuvant treatment for early ovarian cancer: a randomized phase III trial of intraperitoneal 32P or intravenous cyclophosphamide and cisplatin--a gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol* 2003; 21(23): 4350-5.
80. Muggia FM, Hainsworth JP, Jeffers S et al. Phase II study of liposomal doxorubicin in refractory ovarian cancer: antitumor activity and toxicity modification by liposomal encapsulation. *J Clin Oncol* 1997; 15: 987-93.
81. Rose PG, Blessing JA, Mayer AR et al. Prolonged oral etoposide in recurrent or advanced non-squamous cell carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2003; 89(2): 267-70.

82. Rosano L, Di Castro V, Spinella F et al. Combined targeting of endothelin A receptor and epidermal growth factor receptor in ovarian cancer shows enhanced antitumor activity. *Cancer Res* 2007; 67(13): 6351-9.
83. Rosa DD, Clamp AR, Collinson F, Jayson GC. Antiangiogenic therapy for ovarian cancer. *Curr Opin Oncol* 2007; 19(5): 497-505.
84. Kanerva A, Raki M, Hemminki A. Gene therapy of gynaecological diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2007; 7(9): 1347-61.
85. Zheng H, Kavanagh JJ, Hu W, Liao Q, Fu S. Hormonal therapy in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17(2): 325-38.
86. Sabbatini P, Odunsi K. Immunologic approaches to ovarian cancer treatment. *J Clin Oncol*. 2007 Jul 10;25(20):2884-93.
87. Freedman RS, Edwards CL, Kavanagh JJ et al. Intraperitoneal adoptive immunotherapy of ovarian carcinoma with tumor-infiltrating lymphocytes and low-dose recombinant interleukin-2: a pilot trial. *J Immunother Emphasis Tumor Immunol* 1994; 16(3): 198-210.
88. Hofstra LS, Mourits MJ, de Vries EG, Mulder NH, Willemse PH. Combined treatment with goserelin and tamoxifen in patients with advanced chemotherapy resistant ovarian cancer. *Anticancer Res* 1999; 19(4C): 3627-30.
89. Sevela P, Vavra N, Fitz R et al. Goserelin a GnRH-analogue as third-line therapy of refractory epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 1992; 2(3): 160-2.
90. Edwards RP, Gooding W, Lembersky BC et al. Comparison of toxicity and survival following intraperitoneal recombinant interleukin-2 for persistent ovarian cancer after platinum: twenty-four-hour versus 7-day infusion. *J Clin Oncol* 1997; 15(11): 3399-407
91. Balbi G, Piano LD, Cardone A, Cirelli G. Second-line therapy of advanced ovarian cancer with GnRH analogs. *International Journal of Gynecological Cancer* 2004; 14(5): 799-803.

92. Rubin LA, Nelson D. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function and clinical application. *Ann Intern Med* 1990; 113: 619-45.
93. Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME et al. Soluble IL-2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro. *J Immunol* 1985; 135: 3172-75.
94. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. In: Stites DP, Terr AI (eds) *Basic and Clinical Immunology*. Prentice Hall International, 7th ed, 1991, 86-90.
95. Lissoni P, Barni F, Rovelli F et al. The biological significance of soluble IL-2 receptors in solid tumors. *Eur J Cancer* 1990; 26(1): 33-6.
96. Teodorczyk-Injeyan JA, Sparkes BG, Lalani S, Peters WJ, Mills GB. IL-2 regulation of soluble IL-2 receptor levels following thermal injury. *Clin Exp Immunol* 1992; 90(1): 36-42 .
97. Hurteau JA, Simon HU, Kurman C, Rubin L, Mills GB. Elevated levels of the soluble interleukin 2 receptor alpha are present in ovarian cancer patients: evidence for activation of T lymphocytes and possible use in management of ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 918-28.
98. Conn PM, Crowley WF. Gonadotropin Releasing Hormone and its analogues. *Annu Rev Med* 1994; 45: 391-405.
99. Zidan J, Zohao S, Mijiritzky I, Kral S, Bilencia B. Treating relapsed epithelial ovarian cancer with luteinizing hormone-releasing agonist (goserelin) after failure of chemotherapy. *Isr Med Assoc J* 2002; 4: 597-9.
100. Kasten TL, White SA, Norton TT, Bond CT, Adelman JP, Fernald RD. Characterization of two new preproGnRH mRNAs in the tree shrew: first direct evidence for mesencephalic GnRH gene expression in a placental mammal. *Gen Comp Endocrinol* 1996; 104(1): 7-19.
101. White RB, Eisen JA, Kasten TL, Fernald RD. Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(1): 305-9.
102. King JA, Millar RP. Structure of chicken hypothalamic GnRH II. Isolation and characterization. *J Biol Chem* 1982; 257:10729-32.

103. Miyamoto K, Hasegawa Y, Nomura M, Igarashi M, Kanagawa K, Matsuo H. Identification of the second gonadotropin-releasing hormone in chicken hypothalamus: evidence that gonadotropin secretion is probably controlled by two distinct gonadotropin-releasing hormones in avian species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984; 81(12): 3874-8.
104. Sherwood NM, Lovejoy DA, Coe IR. Origin of mammalian gonadotropin-releasing hormones. *Endocr Rev* 1993; 14(2): 241-54.
105. Neill JD, Musgrove LC, Duck LW. Newly recognized GnRH receptors: function and relative role. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15(8): 383-92.
106. Chen A, Yahalom D, Ben-Aroya N, Kaganovsky E, Okon E, Koch Y. A second isoform of gonadotropin-releasing hormone is present in the brain of human and rodents. *FEBS Lett* 1998; 435: 199-203.
107. Cheon KW, Lee HS, Parhar IS, Hang IS. Expression of the second isoform of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH-II) in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 447-52.
108. Siler-Khodr TM, Grayson M. Action of chicken II GnRH on the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 804-10.
109. Chen A, Ganor Y, Rahimipour S, Ben-Aroya N, Koch Y, Levite M. The neuropeptides GnRH-II and GnRH-I are produced by human T cells and trigger laminin receptor gene expression, adhesion, chemotaxis and homing to specific organs. *Nat Med* 2002; 8: 1421-26.
110. Kim KY, Choi KC, Park SH, Chou CS, Auersperg N, Leung PC. Type II gonadotropin releasing hormone stimulates p38 mitogen-activated protein kinase and apoptosis in ovarian cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6): 3020-6.
111. Illing N, Troskie BE, Nahorniak CS, Hapgood JP, Peter PE, Millar RP. Two gonadotropin-releasing hormone receptor subtypes with distinct ligand selectivity and differential distribution in brain and pituitary in the goldfish (*Carassius auratus*). *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2526-61.

112. Wang L, Bogerd HS, Choi JY et al. Three distinct types of GnRH receptor characterized in the bullfrog. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(1): 361-6.
113. Millar RP, Conklin D, Lofton-Day E et al. A novel human GnRH receptor homolog gene: abundant and wide tissue distribution of the antisense transcript. *J Endocrinol* 1999; 162(1): 117-26 .
114. Millar RP, Lowe S, Conklin D, Pawson A et al. A novel mammalian receptor for the evolutionarily conserved type II GnRH. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(17): 9636-41.
115. Millar RP. GnRH II and type II GnRH receptors, *Trends Endocrinol Metab* 2003;14: 35-43.
116. Neill JD, Duck LW, Sellers JC, Musgove LC. A gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor specific for GnRH II in primates. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 282: 1012-18.
117. Gründker C, Schlotawa L, Viereck V et al. Antiproliferative effects of the GnRH antagonist cetrorelix and of GnRH-II on human endometrial and ovarian cancer cells are not mediated through the GnRH type I receptor. *Eur J Endocrinology* 2004; 151: 141-149.
118. Speroff L, Fritz MA: *Neuroendocrinology*; In *The Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*; 7th Ed. 145-185; Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (PA) 2004.
119. Okada Y, Murota-Kawano A, Kakar SS, Winters SJ. Evidence that gonadotropin-releasing hormone (GnRH) II stimulates luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion from monkey pituitary cultures by activating the GnRH I receptor. *Biol Reprod* 2003; 69(4): 1356-61.
120. Seidman JD, Russel P, Kurman RJ. Surface epithelial tumors of the ovary. In: Kurman RJ, ed. 5th ed. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. New York: Springer-Verlag; 2002. p.791-811.
121. Kang SK, Choi KC, Cheng KW, Nathwani PS, Auersperg N, Leung PCK. Role of gonadotropin-releasing hormone as an autocrine growth factor in human ovarian surface epithelium. *Endocrinology* 2000; 141: 72-80.

122. Yano T, Pinski J, Radulovic S, Schally AV. Inhibition of human epithelial ovarian cancer cell growth in vitro by agonistic and antagonistic analogues of luteinizing hormone-releasing hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; 91(5): 1701-5.
123. Gründker C, Günther AR, Westphalen S, Emons G. Biology of the gonadotropin-releasing hormone system in gynecological cancers. *Eur J Endocrinol* 2002; 146(1): 1-14.
124. Gebauer G, Rieger M, Jager W, Lang N. Prognostic relevance of soluble interleukin-2 receptors in patients with ovarian tumors. *Anticancer Res*. 1999 Jul-Aug;19(4A):2509-11.
125. Sedlacek P, Frydecka I, Gabrys M, Van Dalen A, Einarsson R, Harlozinska R. Comparative analysis of CA125, tissue polypeptide specific antigen, and soluble interleukin-2 receptor alpha levels in sera, cyst, and ascitic fluids from patients with ovarian carcinoma. *Cancer* 2002; 95(9): 1886-93.
126. Kikuchi Y, Kizawa I, Oomori K et al. Effects of cimetidine on interleukin-2 production by peripheral blood lymphocytes in advanced ovarian carcinoma. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1988 Jul;24(7):1185-90.
127. Kramer S, Leeker M, Jager W. Gonadotropin levels in ovarian cyst fluids: a predictor of malignancy? *Int J Biol Markers* 1998; 13(3): 165-8.
128. Nash JD, Ozols RF, Smyth CF, Hamilton TC. Estrogen and anti-estrogen effects on the growth of human epithelial ovarian cancer in vitro. *Obstet Gynecol*. 1989 Jun; 73(6): 1009-16.
129. Karasik A, Menczer J, Pariente C, Kanety H. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-2 are increased in cyst fluids of epithelial ovarian cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78(2): 271-6.
130. Tanriverdi F, Gonzalez-Martinez D, Silveira RF, Hu Y, Maccoll GS, Travers P, Bouloux PM. Expression of gonadotropin-releasing hormone type-I (GnRH-I) and type-II (GnRH-II) in human peripheral blood mononuclear cells (PMBCs) and regulation of B-lymphoblastoid cell proliferation by GnRH-I and GnRH-II. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004; 112(10): 587-94.

131. Okada Y, Murota-Kawano A, Kakar SS, Winters SJ. Evidence that gonadotropin-releasing hormone (GnRH) II stimulates luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion from monkey pituitary cultures by activating the GnRH I receptor. *Biol Reprod* 2003; 69(4): 1356-61.
132. Densmore VS, Urbanski HF. Relative effect of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-I and GnRH-II on gonadotropin release. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(5): 2126-34.
133. Chudecka-Glaz A, Rzepka-Gorska I, Kosmowska B. Gonadotropin (LH, FSH) levels in serum and cyst fluid in epithelial tumors of the ovary. *Arch Gynecol Obstet* 2004; 270(3): 151-6.
134. Blaakaer J, Micic S, Morris ID et al. Immunoreactive inhibin-production in post-menopausal women with malignant epithelial ovarian tumors. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1993; 52(2): 105-10.
135. Jeppsson S, Kullander S, Rannevik G. Peripheral and ovarian venous concentrations of gonadal steroids and CEA in women with ovarian tumors. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1982; 61(3): 209-12.
136. Orson FM, Saadeh CK, Lewis DE, Nelson DL. Interleukin 2 receptor expression by T cells in human aging. *Cell Immunol* 1989; 124(2): 278-91.
137. Reimer T, Gerber B, Kunkel S, Luettich K. Estradiol, gonadotropins, and tumor markers in ovarian cyst fluid. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997; 76(5): 478-83.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Ceren DİNÇER ATA'ya ait "Malign ve Benign Over Tümörlerinde Dokuda ve Periferik Lenfositlerde GNRH-II Gen Ekspresyonu ile kist sıvısı ve serumda sIL-2R, FSH, LH, Östradiol Düzeylerinin Karşılaştırılması" adlı uzmanlık tezi, jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:...../...../2007

Başkan :...Prof. Dr. Yılmaz...Şahin

Üye : Prof. Dr. Mustafa Zengin

Üye : Doç. Dr. Feride Serin

Üye : Doç. Dr. Bülent Günel

Üye : Doç. Dr. Kürat Ünüghür



**T. C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE
DOKUDA VE PERİFERİK LENFOSİTLERDE GNRH-II
GEN EKSPRESYONU İLE KİST SIVISI VE SERUMDA
sİL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. CEREN DİNÇER ATA

KAYSERİ – 2007



**T. C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE
DOKUDA VE PERİFERİK LENFOSİTLERDE GNRH-II
GEN EKSPRESYONU İLE KİST SIVISI VE SERUMDA
sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. CEREN DİNÇER ATA

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. İ. SERDAR SERİN**

KAYSERİ – 2007

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMALAR.....	iii
TABLO LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. OVER KANSERİ VE PATOGENEZİ	3
2.2. GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE-II	10
2.3. SOLUBLE İNTERLÖKİN - 2 RESEPTÖRÜ	12
2.4. FSH, LH ve ÖSTRADİOL	14
2.5. GnRH-II, sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL VE OVER KANSERİ.....	14
3. GEREÇ (HASTALAR) VE YÖNTEM.....	15
3.1. PERİFERİK LENFOSİTLER VE DOKUNUN EKSTRAKİYONU, REAL- TIME RT-PCR İLE GNRH-II mRNA EKSPRESYONUNUN TESPİTİ.....	17
3.2. SERUM VE KİST SIVISINDA sIL-2R ÖLÇÜMÜ	19
3.3. SERUM VE KİST SIVISINDA FSH, LH VE ÖSTRADİOL ÖLÇÜMÜ.....	19
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	20
4. BULGULAR.....	21
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇLAR	37
7. KAYNAKLAR	39
KABUL ONAY SAYFASI.....	53

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan değerli hocalarımdan Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mustafa Başbuğ başta olmak üzere değerli hocalarım Prof.Dr.Yılmaz Şahin'e, Prof.Dr. Mehmet Tayyar'a, Prof.Dr.Ercan Aygen'e, Prof.Dr.İpek Müderris hocama, jinekolojik onkoloji alanında bizi yüreklendiren ve tezimin yürütülmesinde emek sarf eden Doç. Dr. Serdar Serin ve Doç.Dr.Bülent Özçelik'e, geldiği günden itibaren tıbbi ve sosyal açıdan ufkumuzu genişleten ve her zaman yanımda olan Yard.Doç.Dr Cem Batukan ve Yard.Doç.Dr.Tuncay Özgün'e, tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren Endokrin Anabilim Dalı hocalarına ve Yard.Doç.Dr.Fatih Tanrıverdi'ye, rotasyonlarım sırasında bana destek olan tüm hocalarıma, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sevgili hocam Prof.Dr.Nedret Koç'a, Genetik Anabilim Dalı hocaları ve asistanlarına, özellikle Hilal Hanım'a, İstatistik AD'dan Yard.Doç.Dr.Ahmet Öztürk ve Uzm.Dr.Ferhan Elmalı'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İyi ve kötü günleri paylaştığım hayat boyu sevgiyle hatırlayacağım doktor arkadaşlarıma, tüm hemşire ve sağlık personeline en içten teşekkürlerimi sunarım.

Her koşulda yanımda olan ve bana sonsuz destek veren sevgili anneme ve babama, tanıdığım günden itibaren sevgi ve sabırla bana destek olan sevgili eşime sonsuz teşekkürler.

Dr. Ceren Dinçer ATA

KISALTMALAR

BRAF	: B-raf protein
BRCA	: Meme Kanseri Geni
EFO-21	: Human, Caucasion, Ovary, Cystadenocarcinoma
E2	: Östradiol
ERα	: Östrojen reseptör alfa
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FSH	: Follikül Stimülize edici Hormon
GnRH	: Gonadotropin-Releasing Hormon
GnRH-II mRNA	: GNRH-II messenger Ribonükleik Asit
GM-CSF	: Granülosit makrofaj koloni stimülan faktör
HERS II	: Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study
HRT	: Hormon Replasman Tedavisi
HBOC	: Herediter meme over kanser
INF	: İnterferon
IL-2R$\alpha/\beta/\gamma$	: İnterlökin 2 reseptör alfa/beta/gamma
IL-1, 2, 6, 8, 10	: İnterlökin 1, 2, 6, 8, 10
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IGFBP	: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcıprotein
kA	: Kilo dalton
KRAS	: c-Kirsten ras protein

LAK	: Lenfokin Aktived Killer
LH	: L�teinizan Hormon
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinaz
mIU/mL	: mili International Unit/mililitre
NK	: Natural Killer
OKS	: Oral kontraseptif
OVCAR-3	: Human, Caucasion, Ovary, Carcinoma
OYE	: Over yüzey epiteli
pg/mL	: pikogram/mililitre
p53	: Tümör protein 53
RT-PCR	: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
sIL-2R	: soluble İnterlökin 2 reseptör
SKOV-3	: Human, Ovary, Caucasion, Adenocarcinoma
TGF�	: Transforme eden büyüme faktörü alfa
TGF�	: Transforme eden büyüme faktörü beta
TNF�	: Tümör nekrozis faktör alfa
VEGF	: Vaskuler endotelyal büyüme faktörü
VKİ	: Vücut kitle indeksi

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. GnRH-II'nin dokulardaki dağılımı ve olası fizyolojik fonksiyonları	10
Tablo 2. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların postmenopozal (Post) ve premenopozal (Pre) durumlarına göre demografik ve klinik özellikleri	22
Tablo 3. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign hasta gruplarında kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri.....	23
Tablo 4. Malign ve benign hasta gruplarında serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 değerlerinin Ortalama $\pm$ SS,Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	24
Tablo 5. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu, serum sIL-2R düzeyi ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	25
Tablo 6. Postmenopozal hastalarda benign ve malign grupta serum ve kist sıvısı FSH, LH ve E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri	26
Tablo 7. Premenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda doku ve lenfosit GNRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	27
Tablo 8. Premenopozal malign ve benign hastaların serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	28

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 1.** GnRH-II'ye ait genin 20.kromozom kısa kolundaki genomik lokalizasyonu. 11
- Şekil 2.** İnterlökin 2 Reseptörün yapısı..... 13
- Şekil 3.** Beta-aktin ve GnRH-II PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü. 18

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE DOKUDA VE
PERİFERİK LENFOSİTLERDE GnRH-II GEN EKSPRESYONU İLE
KİST SIVISI VE SERUMDA sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADIOL
DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı benign ve malign over tümörü olan hastalarda tümör dokusunda ve periferik kanda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve östradiol seviyeleri arasındaki ilişkiyi belirlemek ve böylece invivo ortamda over tümör patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktır.

Materyal ve Metod: Mart 2006 ile Mart 2007 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde pelvik kitle ön tanısıyla opere edilen 46 hasta çalışmaya alındı. Aynı tarihler arasında aynı merkezde tümör dışı nedenlerle opere olan 20 hasta kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubunda serum sIL-2R düzeyi çalışılırken diğer tüm hastaların serum örneklerinde ve ameliyat sırasında aspire edilen kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve estradiol düzeyleri ölçüldü. Ameliyat sırasında kist duvarından alınan dokuda, kontrol grubunun morfolojik olarak normal olan overinden alınan dokuda ve tüm hastaların periferik kanında GnRH-II mRNA ekspresyonu çalışıldı. Postoperatif histopatoloji sonuçlarına ve menapozal durumlarına göre tüm gruplar değerlendirildi.

Bulgular: Hastalar histopatoloji sonuçlarına göre üç gruba ayrıldı: 24 malign over tümörü olan hasta, 22 benign over tümörü olan hasta ve 20 kontrol hastası mevcuttu. Ayrıca premenopoz ve postmenopoz olarak alt gruplar oluşturularak değerlendirme yapıldı. Malign, benign ve kontrol gruplarında doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından istatistiksel olarak

anlamli fark bulunmadı ($p>0,05$). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksekti ($p<0,05$). Malign ve benign gruplar arasında kist sıvısı sIL-2R düzeyleri açısından fark yoktu ($p>0,05$). Serum FSH, LH ve östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında istatistiksel fark göstermedi ($p>0,05$). Kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$).

Postmenopozal dönemdeki malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu kontrol grubu ve benign gruba göre anlamli olarak yüksekti ($p<0,05$). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamli fark göstermedi ($p>0,05$). Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi üç grup arasında farklı değildi ($p>0,05$). Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksekti. ($p<0,05$). Serum östradiol düzeyi her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamli değildi ($p>0,05$). Postmenopozal hastalarda kist sıvısı FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermezken ($p>0,05$), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek saptandı ($p<0,05$).

Premenopozal hasta grubunda ise dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamli fark göstermedi ($p>0,05$). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Kist sıvısı sIL-2R, serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign ve benign gruplar arasında farklı değildi ($p>0,05$). Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamli değilken ($p>0,05$), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$).

Sonuç: Bu çalışma sonucunda özellikle postmenopozal malign over tümörlü hastalarda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeyi arasında düzenleyici mekanizmaların olabileceği ve GnRH-II'nin lokal düzeyde hormon yapımına katılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: GnRH-II, Over tümörü, sIL-2R, FSH, LH, Estradiol

**COMPARISON OF GNRH-II GENE EXPRESSION IN TUMOR TISSUE
AND PERIPHERAL LYMPHOCYTES WITH
SERUM AND CYST FLUID LEVELS OF sIL-2R, FSH, LH, ESTRADIOL
IN MALIGNANT AND BENIGN OVARIAN TUMORS**

SUMMARY

Aim : The aim of this study was to determine the relationship between the levels of GnRH-II mRNA expression in peripheral lymphocytes and tumoral tissue and sIL-2R, FSH, LH and estradiol levels in serum and cyst fluids of patients with benign and malignant ovarian tumors. Thus we decided to contribute the pathogenesis of ovarian tumor in vivo.

Materials and Methods: The study group comprised 46 patients operated for pelvic mass between March 2006 and March 2007 at the Department of Obstetrics and Gynecology, Erciyes University School of Medicine. Control group included 20 patients operated for non-tumoural causes between the same date, at the same department. sIL-2R, FSH, LH and estradiol levels were measured from serum collected preoperatively and cyst fluid obtained intraoperatively in all patients while in the control group serum sIL-2R was measured. GnRH-II mRNA expression was measured in tissue derived from cyst wall , control groups' morphologically normal ovarian tissue and peripheral lymphocytes of all patients. All groups were evaluated according to the postoperative histopathological results and menopausal status.

Results: Patients were divided into three groups according to the histopathological report : 24 patients with malignant ovarian tumor, 22 patients with benign ovarian tumor and 20 control patients. Besides premenapousal and postmenapousal subgroups were also evaluated in each group. GnRH-II mRNA expression was found statistically insignificant in tissue sample and in peripheral lymphocytes in malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$). Cyst fluid sIL-2R levels and serum FSH, LH, estradiol levels were not

significantly different between malignant and benign groups ($p>0,05$). Cyst fluid sIL-2R FSH, LH and estradiol levels found significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$).

In postmenopausal patients with malignant ovarian tumor GnRH-II mRNA expression in tissue sample was significantly higher than benign and control groups ($p<0,05$). GnRH-II mRNA expression in peripheral lymphocytes of the postmenopausal patients was not significantly different between malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were not significantly different between three groups in postmenopausal patients ($p>0,05$). sIL-2R levels in cyst fluid was significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$). Serum estradiol levels were not different in two groups ($p>0,05$). FSH levels in cyst fluid were not significantly different between malignant and benign groups ($p>0,05$) but cyst fluid LH and estradiol levels were significantly higher in malignant groups than in benign groups of postmenopausal patients ($p<0,05$).

In premenopausal patients, GnRH-II mRNA expression in tissue sample and lymphocytes were not significantly different between malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were significantly higher in malignant group than benign group ($p<0,05$). sIL-2R in cyst fluid and serum FSH, LH, estradiol levels were not different between two groups ($p>0,05$) but serum sIL-2R and cyst fluid LH levels were significantly higher in malignant group than in benign one ($p<0,05$).

Conclusion: Our results indicate that regulator mechanisms between GnRH-II mRNA expression and sIL-2R levels could play a role in the pathogenesis of malignant ovarian tumors particularly in postmenapousal patients and GnRH-II could participate in local hormone production.

Key Words: GnRH-II, Ovarian tumor, sIL-2R, FSH, LH, Estradiol

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Over kanseri kadınlarda görülen kanserlerin %4'ünü, kadın genital kanserlerinin ise %25'ini oluşturur (1). Jinekolojik kanserler arasında en yüksek mortaliteye sahip olması nedeniyle jinekolojik onkolojide önemli bir yere sahiptir. Erken dönemde tanı konulursa %90 sağ kalım elde edilebilirken hastalık genelde çok geç evrede tanımlanabildiği için 5 yıllık sağ kalım oranı %25-30'a gerilemektedir (2).

Malign over tümörlerinin patogeneğinde gonadotropinler, GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon) sistemi, insülin sistemi, sex steroidleri ve sitokinler gibi immünolojik faktörler araştırılmıştır (3-5). Özellikle immün sistem elemanları ve bunlar üzerindeki düzenleyici mekanizmalar yeni araştırmaların konusu olmuştur (6).

Yaygın solid tümörlerde azalmış IL-2 (interlökin-2) yapımı en önemli immün disfonksiyonlardan biri olarak kabul edilmektedir (7). IL-2 antineoplastik immüniteyi regüle eden en önemli sitokindir. IL-2 IL-2R (interlökin 2 reseptör)'e bağlanarak etki gösterir. Serum sIL-2R (soluble IL-2R) düzeyi aktif lenfositlerin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R düzeyi ile korelasyon gösterdiğinden sIL-2R düzeyi immünolojik aktivasyonun belirteci olarak birçok yayında çalışılmıştır (8-10).

GnRH-II ilk defa tavuk beyininden izole edilmiş ve 1990'lı yılların ortalarında insan beyinde ve bazı periferik dokularda gen ekspresyonu gösterilmiştir (11,12). Son yıllarda yapılan çalışmalarda üreme sisteminin tümöral dokularında GnRH-II mRNA ekspresyonu gösterilmiş olup, GnRH-II'nin over kanser hücreleri üzerine

antiproliferatif etkisinin klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'e göre daha fazla olduğu rapor edilmiştir (13,14). GnRH sisteminin immün fonksiyonlarla ilişkisini araştıran bir çalışmada ise GnRH-II'nin lenfositlerde IL-2R ekspresyonunda düzenleyici etkisinin olduğu belirtilmiştir (15).

Gonadotropin hipotezine göre FSH ve/veya LH'nın direk yollarla veya indirek olarak östradiol sentezini uyararak over tümöründe malign transformasyonu artırdığı görüşü savunulmaktadır (16). Yapılan invitro çalışmada gonadotropinlerin GnRH-I ve GnRH-II gen ekspresyonunu normal hücre ve kanser hücre dizilerinde farklı etkilediği rapor edilmiştir (17). Ancak in vivo düzeydeki etkiler halen bilinmemektedir.

İleri evre over kanser tedavisinde GnRH analogları ve deneysel olarak IL-2 immünoterapi kullanılırken GnRH-II'nin ve IL-2R'ün over tümöründe birbirleri üzerindeki etkileri bilinmemektedir.

Over kanserinde kist sıvısındaki hücrelerin büyük çoğunluğunu makrofaj ve lenfositlerin oluşturduğu immünohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir (18). Ancak bu hücrelerin immün cevap ile oluşan tümör ile ilişkili mononükleer hücreler mi yoksa bizzat tümör büyümesi ile ilişkili hücreler mi olduğu halen net değildir (18). Çalışmanın kist sıvısı ve kanda birlikte yapılması konak hücre ile tümör hücreleri arasındaki kompleks ilişkinin daha iyi anlaşılmasına yöneliktir.

Bu çalışmanın amacı benign ve malign over tümörü olan hastalarda tümör dokusunda ve periferik kanda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve östradiol düzeyleri arasındaki ilişkiyi belirlemek ve böylece invivo ortamda over tümör patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktır. Ayrıca GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeylerini değerlendirerek klinikte benign-malign ayırımında kullanılabilirliğini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. OVER KANSERİ VE PATOGENEZİ

Over kanseri jinekolojik kanserler arasında en yüksek mortaliteye sahip olan kanserdir. Gelişmiş ülkelerde kadınlarda görülen kanserler arasında 6.sırada yer alırken kansere bağlı ölümlerde 5.sırada yer almaktadır (2). Kanıtlanabilmiş erken tanı yönteminin olmaması nedeniyle ancak hastaların $\frac{1}{4}$ 'ü tanı anında erken evredir (2). Over kanser patogenezinin hala net olarak anlaşılamaması erken tanı ve tedavi olanağını güçleştirmektedir.

Over kanseri genetik veya kritik hedef genlerin somatik mutasyonu zemininde büyüme faktörleri, sex steroidleri, gonadotropinler, GNRH-I/GNRH-II sistemi (nöroendokrin sistem), insülin sistemi ve immünolojik faktörlerin yardımıyla hücrelerde proliferasyon, apoptozis ve DNA onarımında meydana gelen aksamalar sonucu gelişir (3-5).

Over kanserlerinin %90'ı sporadik, %10'u ise genetik mutasyonlara bağlıdır (19,20). Ailesel over kanserlerinin %85-90'ından herediter meme-over kanser sendromu (HBOC) sorumludur. HBOC sendromunun büyük çoğunluğuna 17.kromozomun kısa koluna yerleşmiş olan BRCA-1 (Meme kanseri geni-1) geninin genetik mutasyonu neden olurken daha az bir kısmından 13.kromozomun kısa koluna lokalize olan BRCA-2 (Meme kanseri geni-2) geni sorumludur (21). p53 mutasyonu insan kanserlerinin %50'sinden fazlasında tespit edilmiştir (22). Değişik çalışmalar,

yüksek dereceli olanlarda daha yoğun olmak üzere seröz over karsinomlarında yüksek oranlarda p53 mutasyonu ve immünohistokimyasal olarak p53 pozitifliği olduğunu göstermiştir (22).

Son yayınlar over kanser histolojik subtiplerinin farklı morfolojik ve moleküler genetik değişimlerden kaynaklandığını rapor etmektedir. Buna göre yüksek grade'li seröz karsinom ve endometrioid karsinomların seröz epitelin ovulasyon ile oluşan inklüzyon kistlerinde p53 mutasyonu ve BRCA-1, BRCA-2 disfonksiyonu ile denovo oluştuğu, düşük grade'li seröz karsinomların ise adenom, borderline tümör, karsinom sırasını izleyerek KRAS ve BRAF gen mutasyonu ile oluştuğu rapor edilmiştir (23).

Over kanser patogenezinin yönelik birçok hipotez ortaya atılmış ve buna yönelik çalışmalar yapılmıştır.

1971 yılında Fathalla'nın ortaya attığı sürekli ovulasyon teorisine göre ovulasyon ile follikül rüptüre olup over yüzeyinde hasar meydana gelmekte ve böylece bu bölgenin östrojenden zengin sıvıya maruziyeti ve over yüzeyinin iyileşmesi sırasında ortaya çıkan inklüzyon kistlerinde meydana gelen DNA hasarı ile tümör gelişmektedir (24). Son yıllarda yapılan çalışmalarda over kanserinin inklüzyon kistlerinden köken aldığı desteklenirken bu kistlerin ovulasyon sonrası değil yüzey epitelinin stromaya invajinasyonu ile oluştuğu görüşü ağırlık kazanmaktadır (25).

Gonadotropin hipotezi over kanser patogenezinin açıklamaya yönelik ortaya atılan ilk hormonal hipotezdir. Buna göre over dokusunun LH ve/veya FSH ile aşırı stimülasyonu direk gonadotropin ile ilişkili genlerin aktivasyonu sonucu veya indirek olarak overden sex steroidlerin yapımını artırarak parakrin veya endokrin mekanizmalar ile malign transformasyonu arttırdığı görüşü savunulmaktadır (16). OYE (Over Yüzey Epitel) hücresi ve over kanser hücrelerinin gonadotropinlere hassas olup olmadıkları net değildir. Çalışmaların büyük bir kısmında proliferasyonu arttırdıkları rapor edilmişse de (16,26), bazı çalışmalarda böyle bir etki gösterilememiştir (27,28). Hayvan çalışmalarında gonadotropinlerin gonadal tümör gelişimini indüklediği gösterilmiştir ancak gelişen tümör epitelyal tümör değil stromal tümördür (29). Yapılan in vitro çalışmalarda FSH ve hCG'nin over kanser

hücre kültürlerinde proliferasyonu artırdığı belirtilmiştir (30). Schiffenbauer ve arkadaşları over kanserinin peritoneal yayılımını araştırdıkları fare modelinde ooferektomi veya FSH/LH tedavisi ile tümörün anjiogenezi artırarak yayıldığını göstermişlerdir (31). Bu çalışma FSH ve LH'nın over tümör hücrelerinde VEGF ekspresyonunu artırdığını rapor eden başka bir çalışma ile desteklenmiştir (32). Osterholzer ve arkadaşlarının yaptığı başka bir invitro çalışmada ise FSH ve LH'nın tavşan OYE hücrelerinde proliferasyonu artırmadığı rapor etmişlerdir (33). Helzlsouer ve arkadaşları serum FSH ve LH düzeyi elde edilip 15 yıl takip edilen 20.305 kadının katıldığı bir çalışmada sonradan over kanseri gelişen 31 kadında serum FSH düzeyinin 62 kontrol hastasına göre anlamlı olarak düşük olduğunu serum LH düzeyinin ise anlamlı fark göstermediğini rapor ettiler (34). Başka bir yayında serum FSH ve LH düzeyi ile over kanser arasında ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır (35). Epidemiyolojik çalışmaların bir kısmı indirek olarak gonadotropin hipotezini desteklemektedir. Örneğin PCOS'lu hastalarda artan LH/FSH oranı ve androstenedion ve testosteron ile risk artarken, artmış parite ve OKS kullanımı ile risk azalmaktadır (36,37). Ancak yayınların birkısmı bu ilişkiyi savunmamaktadır (38).

İn vitro çalışmalarda östrojenin OYE hücrelerini proliferate ettiği ve dışardan verilen östrojenin kobaylarda seröz over kist gelişimi ile sonuçlandığı gösterilmiştir (39,40). Deneysel olarak estrojenin özellikle ER α (östrojen reseptör alfa) aşırı ekspresyonu olan over kanser hücre dizilerinde tümör progresyonunu arttırdığı ve bunu c-myc, fibulin-1, katepsin-D ve birkaç kallikreinin düzeyini arttırarak gerçekleştirdiği saptanmıştır (41). Östrojenin over kanserindeki rolü ile ilişkili epidemiyolojik kanıtlar açık değildir. HRT (Hormon Replasman Tedavisi)'nin hangi tür olursa olsun uzun süreli kullanımı over kanser riskini artırıyor görünmektedir (42). Kombine östrojen-progestin preparatları tek başına östrojen preparatlarına göre daha zayıf etkili gibi görünmektedir. Bu da progestin komponentinin koruyucu etkisine bağlı olabilir. Over kanserinin uzun bir latent periyodu olduğu ve HRT kullanımı ile henüz ortaya çıkmamış ve klinik tanı almamış tümörün gelişimini hızlandığı düşünülmektedir (37). Ancak HERS II (Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study) çalışmasına göre HRT ve plasebo kullananlar arasında over kanser insidansı açısından fark gözlenmemiştir (43). İki prospektif çalışmada postmenopozal hastalarda over kanser tanısı öncesi östrojen düzeyi ile over kanseri arasında ilişki

saptanmamıştır (34,44). OKS kullanımı östrojen düzeyini azaltarak östrojen hipotezini destekler görünse de gebelikte 100 kat artan östrojen düzeyi olmasına rağmen gebelik over kanserinden koruyucudur. Gebelikte artan progesteron düzeyi ve ovulasyonun baskılanması tahmin edilen koruyucu etkilidir (45). Endometriosisli hastalarda endometrioid ve berrak hücreli kanser gelişimi açısından artmış risk saptanması östrojenin bu tümörlerin etyolojisinde rol alabileceği görüşünü desteklemektedir (46). Endometriotik lezyonlar yüksek aromataz aktivitesi ve 17-OH steroid dehidrogenaz tip II enzim (östradiolü estrona çevirir) eksikliği nedeniyle lokal östradiol üretimi gerçekleştirir (47). Menopoz sonrası endometrioid ve berrak hücreli over tümör insidansının plato yapması östrojenin bu tip tümörlerde etyolojik rolü olduğunu destekler (48). Artmış östrojen düzeyinin over kanser gelişiminde ve progresyonundaki rolünü daha iyi anlayabilmek için daha fazla veriye ihtiyaç vardır.

Progesteron over kanser gelişimine karşı koruyucu etkilidir. Progesteron eksikliği olan infertil hastalarda over kanser insidansı daha yüksek bulunmuştur (49). Meme kanserinin tersine geç yaşta gerçekleşen gebelik over kanserine karşı koruyucudur. Soyulma teorisine göre gebelik seviyesindeki progesteron düzeyi genetik olarak hasarlı, premalign OYE hücrelerini temizler ve böylece sonraki yıllarda ortaya çıkabilecek tümör gelişimini azaltır (50).

Risch ve arkadaşları over epitel hücrelerinin androjen ile aşırı stimülasyonu sonucu over kanser riskinin artabileceğini ortaya atmışlardır (37). Yapılan birkaç invitro çalışmada androjen verilmesi ile normal OYE hücrelerinin proliferasyonunun arttığı gösterilmiştir (26,51). İki yayında ise postmenopozal hastalarda over kanseri ile androjen düzeyi arasında ilişki saptanmazken premenopozal over kanserli hastalarda serum androstenedion ve DHEA düzeyleri ile over kanseri açısından artmış risk rapor edilmiştir (34,44). Buna göre over kanser riski bu hormonların dolaşımdaki düzeyinden çok kadının üreme çağı boyunca maruz kaldığı over mikroçevresindeki hormon düzeyi ile ilişkili görünmektedir (52).

İnsülin ve IGF-1 meme, prostat ve over kanserinde mitojenik ve antiapoptotik özellikler gösterir (53). Her ikisi de LH ile ilişkili androjen sentezini artırırken SHBG ve IGFBP sentezini baskılar. Böylece serbest, biyolojik olarak aktif sex steroid hormonlar ve IGF-1 dolaşımda bulunur (53). Ancak Tip2 diabetes mellituslu

hastalarda artmış insülin direnci ve hiperinsülinemiye rağmen bu hastalarda over kanser riskinde artış bulunmamıştır (54). Sonuç olarak insülin ve IGF-1 over kanser riski açısından halen araştırılmaktadır.

Aşırı kilo alımı (ortalama %20-40) over kanser riski açısından hafif bir artışa yol açarken, birçok çalışmada risk artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış, bazı çalışmalarda aralarında hiçbir ilişki gösterilememiş, bazı yayınlarda ise riskte azalma olduğu rapor edilmiştir (55-62).

Bukovsky ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada korpus luteum ve over kanseri arasında benzerlikler olduğunu belirtmiştir (63). Bunlardan bir tanesi korpus luteum ve over tümörünün T hücreleri tarafından infiltre edilmesi ve lokal inflamasyon oluşmasıdır. Düzenli menstruel sikluslar için luteal dokunun T hücreleri tarafından infiltre edilip gerilemesi gereklidir. Over tümöründe ise T hücreleri over tümörünü infiltre eder ancak kanser hücrelerinin gerilemesini sağlayamazlar ve apoptosise uğrayarak ortamdan yok olurlar. Ortamdaki T hücre defekti yani lokal immünsupresyonun korpus luteumun gerilemesini engelleyerek buna yol açan olası tümöral hücrelerin proliferasyonuna zemin hazırladığı düşünülmektedir (63).

Yakın zamanda Ness ve arkadaşları kronik inflamasyonun over tümör patogenezinde rol oynayabileceğine işaret etmişlerdir (64). Lokal inflamasyonu artıran bazı durumların örneğin ovaryan endometriosis, pelvik inflamatuvar hastalık, talk ve/veya asbest maruziyetinin artmış over kanser riski ile ilişkili olduğunu, bunun yanında lokal inflamasyonu azaltan histerektomi, tüp ligasyonu ve anti-inflamatuvar ilaç kullanımının riskte azalma ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (64).

Anjiogenezis kanser gelişimi ve metastazı için kritik öneme sahiptir. Anjiogenezisin endojen stimülatörlerinden olan VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü), ve FGF (Fibroblast büyüme faktörü) vasküler endotel hücrelerinin büyümesini uyarır. VEGF over tümörü tarafından salgılanmaktadır (65). Bu nedenle son yıllarda birçok çalışma anjiogenez inhibitörleri üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Telomer uzunluğunun korunması devamlı hücre proliferasyonu için gereklidir. Telomer kaybını önleyen temel mekanizma telomerazdır. Telomeraz inhibisyonu telomer kısalması sonucunda kromozom instabilitesi ve hücre ölümüne neden olur. Epitelyal over tümörleri dahil tüm kanserlerin %85-90'ı telomeraz aktivitesine

sahipken normal hücreler düşük düzeyde telomeraz aktivitesi göstermektedir (66). Buradan yola çıkarak telomeraz inhibitörleri ile tedavide selektif olarak kanser hücrelerinin çoğalmasının durdurulması amaçlanır.

Son yıllarda çeşitli sitokinlerin over kanser patogeneğinde rol oynayabileceği gösterilmiştir. Örneğin ileri evre over kanserli hastaların serum ve asit sıvısında immünsupresif sitokinler olan IL-10 (interlökin-10) ve TGF- β (Transforme edici büyüme faktörü-beta) düzeyi yüksek bulunmuştur (67). IL-8 (interlökin-8) over tümörleri tarafından üretilir ve eksprese edilir (68). IL-8 tumor anjiogenesi ve over kanser hücrelerinin stimülasyonunda rol alarak tümörün büyümesine ve metastaz yeteneği kazanmasına yol açar (69). Benzer şekilde IL-6 (interlökin-6) over kanser hücreleri tarafından önemli miktarda üretilir. Yüksek IL-6, IL-1 (interlökin-1), TNF- α (Tümör nekrozis faktör-alfa) düzeyi kötü prognoz ile ilişkilidir (70).

IL-2 ve IL-2R over kanserli hastalarda yaygın araştırma konusu olmuştur. Çalışmalarda over kanserli hastalarda meydana gelen immün disfonksiyonun azalmış IL-2 yapımı ile ilgili olduğu rapor edilmektedir (71). IL-2 bağışıklık sisteminin en önemli anti-tümöral etkili sitokinlerinden birisidir. Tümör hücresine karşı doğrudan sitotoksik etkisi yoktur. Etkisini T-lenfositler, büyük granüler lenfositler ve aktiflenmiş B-lenfositler üzerinden gösterir. İstirahat halindeki hücre yüzeyinde IL-2R az sayıda bulunur. Antijenle uyarı sonrası hücre yüzeyinde eksprese edilen IL-2R'un bir kısmı sIL-2R olarak ortama verilir. sIL-2R immün sistem aktivasyonunun göstergesidir. IL-2'nin biyolojik etki göstermesi için IL-2R'üne bağlanması gereklidir. IL-2'nin reseptörüne bağlanması, T lenfositlerin proliferasyonuna ve sitokin salınımına neden olur (72). Yapılan bir çalışmada artan serum sIL-2R düzeyinin immün sistem supresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (73). Buna göre sIL-2R IL-2'nin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R'e bağlanmasını azaltarak spesifik lenfosit klonlarının proliferasyonunu inhibe eder. Ayrıca hücre membranından ayrılan IL-2R'ler aktif lenfositlerin fonksiyonunu tüketir. Yüksek seviyede sIL-2R B lenfositleri baskılayarak immünglobülin konsantrasyonunu azaltmaktadır (73). Wang ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada over kanser hücre dizileri tarafından üretilen bazı süpernatantların IL-2 ile ilişkili T hücre proliferasyonunu IL-2R β (IL-2Rbeta) ve IL-2R γ (IL-2Rgamma) ekspresyonunu baskılayarak bloke ettiğini rapor etmiştir (74). Maccio ve arkadaşları over kanser hastalarında serumda T hücre

cevabında azalma olduğunu ve bunun da özellikle hücre membranına bağlı olan sIL-2R ekspresyonundaki azalmayla ilişkili olabileceğini göstermişlerdir (75).

GnRH-II GnRH-I ile birlikte overde steroidogenesis, hücre proliferasyonu ve apoptosisi regüle ederek lokal parakrin ve otokrin fonksiyon gösterir (76). Yapılan çalışmalarda GnRH-II'nin overde negatif otokrin büyüme faktörü gibi fonksiyon gördüğü gösterilmiştir (77). RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) ve Southern Blot analizleri ile normal OYE, ölümsüz OYE, primer over kanser kültürleri ve over kanser hücre dizilerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu gösterilmiştir (13). Gründker ve arkadaşları EFO-21, OVCAR-3 ve SKOV-3 kanser hücre dizilerinde proliferasyonun GnRH-II tedavisi ile doz ve zaman bağımlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin eşit dozdaki GnRH-I agonistlerine göre anlamlı olarak daha potent olduğu rapor edilmiştir (14). GnRH-IR (GnRH-I Receptör) bulunmayan SKOV-3 kanser hücre dizilerinde GnRH-I agonist ile tedavinin hücre proliferasyonu üzerine etkisinin olmadığı ancak GnRH-II ile tedavi sonrası hücre büyümesinin büyük oranda baskılandığı belirtilmiştir (77). Bu gözlemden yola çıkarak GnRH-II'nin over kanser hücrelerinde antiproliferatif etkisinin GnRH-I reseptör yoluyla değil GnRH-II/GnRH-II reseptör sistemi yoluyla olduğu ve over kanser hücrelerinde ek bir otokrin regülatör sistemi olduğu rapor edilmiştir. GnRH-II sisteminin hangi mekanizmalar üzerinden etki gösterdiği henüz tam olarak açıklanamamıştır.

Over kanserli hastalarda GnRH-II ile IL-2R arasındaki ilişki henüz bilinmemektedir. Yapılan tek çalışma Tanrıverdi ve arkadaşlarına aittir. Bu çalışmada GnRH-II'nin sağlıklı bireylerin periferik lenfositlerinde IL-2R ekspresyonunu azaltarak lenfosit proliferasyonu üzerinde düzenleyici etkisi olduğu rapor edilmiştir (15).

Over kanserinin primer tedavisi sitoredüktif cerrahi ve Evre 1A, 1B grade 1, 2 hastalar dışında cerrahi sonrası 6 kür platin bazlı kombine kemoterapidir (78,79). İleri evre over kanser hastalarının second-line tedavisinde platin olmayan kemoterapötik ajanlar, EGF inhibitörleri, anjiogenez inhibitörleri, gen tedavisi, hormon tedavisi ve immünoterapi araştırılmaktadır (80-89). İntraperitoneal rekombinat IL-2 tedavisi ve

GnRH analog tedavisinin ileri evre veya relapslarda kemoterapi ile karşılaştırılabilir olduğu rapor edilmiştir (90,91).

Tümör biyolojisini daha iyi anlamamız benign-malign over kanseri ayırımında iyi bir belirteç saptamamıza ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine ışık tutacaktır.

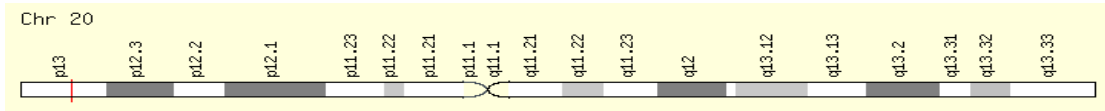
2.2. GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE-II

Hipotalamik bir peptid olan GnRH hipofiz gonadotrop hücrelerinden FSH ve LH salınımını uyarak üreme sisteminin temelini oluşturur (98). GnRH analogları onkolojide prostat kanseri, meme kanseri gibi sex hormon bağımlı tümörlerde, kemoterapiye dirençli over kanserinde kullanılmaktadır (99). 1990'lı yılların ortalarında ikinci GnRH formu olan GnRH-II insan beyninden ve bazı periferik dokulardan izole edilmiştir (100,101). Bu form ilk defa tavuk beyninden izole edildiği için chicken GnRH-II (cGnRH-II) olarak isimlendirilmiştir (102). GnRH-II'nin aminoasit dizisi (pGlu-His-TRP-Ser-His-Gly-Trp-Y-Tyr-Pro-Gly-NH₂) klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'den (pGlu-His-Trp-Ser-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) 5, 7, 8. pozisyonundaki aminoasitlerin farklı olması ile ayrılır (103). cGnRH-II balıktan insana kadar tam olarak ve benzersiz bir şekilde yapısını korumuştur (104). Bu da onun önemli fonksiyonları olduğunu gösterir.

Tablo 1. GnRH-II'nin dokulardaki dağılımı ve olası fizyolojik fonksiyonları

Doku	Fonksiyonu
Santral ve Periferik Sinir Sistemi	Nöromodülasyon
Mediobazal Hipotalamus	Gonodotropin sekresyonunun düzenlenmesi
Limbik yapılar	Üreme davranışının uyarılması
Plasenta/ Endometrium/ Meme/ Over	Endokrin fonksiyonların düzenlenmesi
Kadın üreme sistemi tümörleri	Hücre büyümesinin inhibisyonu
Normal T hücreleri/ Tümöral T hücreleri	Hücre adezyon ve migrasyonunun stimülasyonu

İnsanda GnRH-II'yi kodlayan gen 20.kromozom üzerinde bulunur (Şekil 1). GnRH-II GnRH-I ile %70 oranında benzerlik gösterir (105). GnRH-II beyinde özellikle preoptik ve mediobazal hipotalamik alanlarda ve hipokampus ve amigdala gibi limbik yapılarda bulunur (106). Periferde ise böbrek, prostat ve kemik iliğinde ayrıca kadın üreme sistemiyle ilişkili plasenta, endometrium, meme, OYE hücresi ve granüloza hücrelerinde yüksek konsantrasyonlarda eksprese edilir (13,17,101, 107,108). Üreme sisteminin tümöral dokularında GnRH-II mRNA ekspresyonunun gösterilmesiyle birlikte GnRH-II'nin tümör büyümesini regüle ettiği düşüncesi ortaya atılmıştır (13,75,109). Bu hipotez son yayınlarda GnRH-II'nin over, endometrium ve meme kanser hücrelerinde proliferasyonu azalttığına gösterilmesiyle desteklenmiştir (13,75,109). GnRH-II'nin over kanser hücreleri üzerine antiproliferatif etkisinin klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'e oranla daha fazla olduğu rapor edilmiştir (14). Günümüzde GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Yapılan invitro çalışmada GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin bir bölümünü p38 MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) sinyal yolunun aktivasyonu ile gerçekleştirdiği ve aynı sinyal yolu ile apoptozisi indüklediği tespit edilmiştir (110).



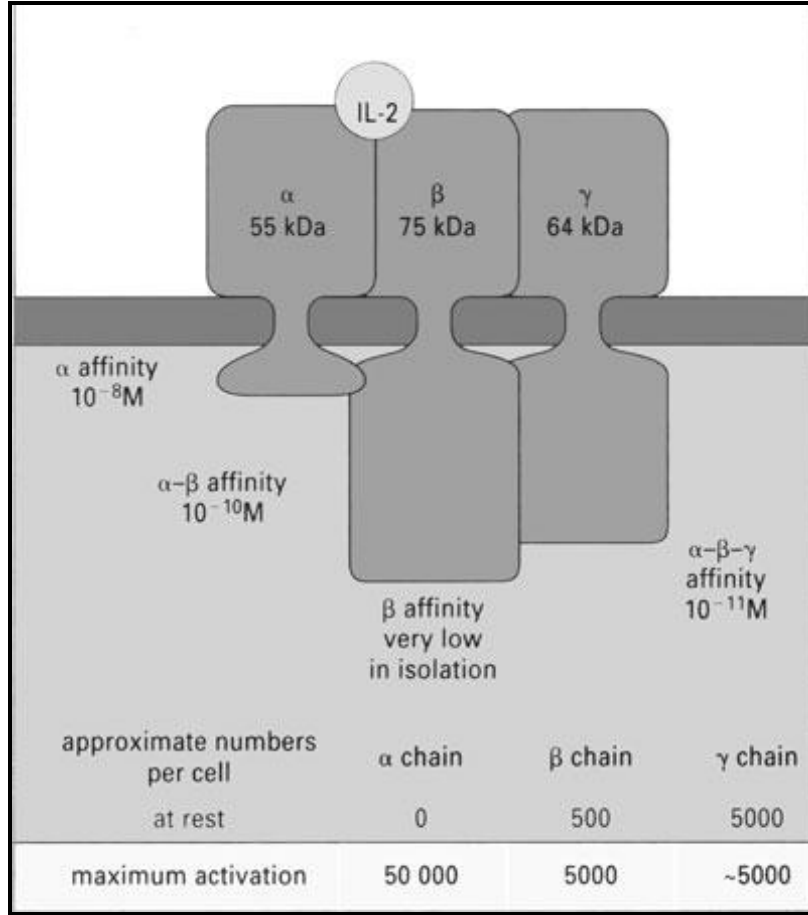
Şekil 1. GnRH-II'ye ait genin 20.kromozom kısa kolunda genomik lokalizasyonu

GnRH-II'nin dokularda yaygın dağılımı çalışmaları reseptörünün araştırılmasına yöneltmiştir. GnRH-IIR (GnRH-II reseptör)'ü balıklarda, amfibiklerde ve Rhesus maymunlarında klonlanmıştır (111-114). Tip I reseptörü gibi Tip II reseptörü de 7TM reseptör ailesine aittir ancak tip I'den farklı olarak hızlı desensitizasyonda önemli birçok threonin ve serin kalıntıları içeren C-terminal kuyruğa sahiptir (115). İnsanda GnRH-II reseptörünü tam olarak gösteren uygun transkriptin bulunması henüz mümkün olmamıştır. Sadece sekansın bir kısmı yayınlanabilmiştir. Bu sekans GnRH Tip I reseptörü ile %40 benzerlik gösterir. Maymunlardaki Tip II GnRH reseptörün aminoasid sekansı ile %90 benzerlik gösterdiğinden insandaki bu reseptörden ' varsayılan Tip II GnRH reseptörü '

(putative tip II GnRH reseptörü) olarak söz edilmektedir (114,116). Tip II GnRH reseptör mRNA'sı hipofizde ve meme dokusu, uterus, testis, prostat, seminal vezikül, tiroid ve adrenal gibi birçok dokuda eksprese edilmiştir (115). RT-PCR ve Southern Blot analiz çalışmalarıyla insan over ve endometrium kanser hücrelerinin GnRH-II'ye spesifik putative GnRH-II reseptör eksprese ettikleri gösterilmiştir (14). Bu hücrelerin proliferasyonu doğal GnRH-II ile doz ve zaman bağımlı yolla azaltılabilir. Bu antiproliferatif etkiler aynı dozdaki GnRH-I agonisti olan triptorelinin etkisinden anlamlı olarak fazladır (14). Ayrıca yapılan bir çalışmada over ve endometrium kanserinde GnRH-I antagonisti olan Cetrorelix ile GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin GnRH-I reseptörü yerine putative GnRH-II reseptör aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmektedir (117). İnsanda GnRH-IIR mRNA'sının tam olarak eksprese edilmesi bu soruların cevaplanmasını sağlayacaktır.

2.3. SOLUBLE İNTERLÖKİN - 2 RESEPTÖRÜ

Yüksek afiniteli IL-2R birbirine nonkovalent bağlarla bağlı üç polipeptid zincirden oluşur; IL-2R α (IL-2R α), IL-2R β , IL-2R γ (Şekil 2). α zinciri tek başına IL-2'yi düşük afinite ile bağlar ise de sinyal iletemez. β zinciri orta derecede afinite ile IL-2'yi bağlar. γ zincirinin kendisi IL-2'yi bağlamaz. Sinyal iletiminde esas önemli olan β ve γ zinciridir. IL-2R β ve IL-2R γ birlikte eksprese edilir, IL-2R kompleksi oluşur, istirahatteki T lenfositlerde bu kompleks bulunur. IL-2R α bulunmaz. Antijenle uyarı sonrası hızla IL-2R α eksprese edilir ve yüksek afiniteli IL-2R α / β / γ heterotrimeri oluşur. IL-2R β ve γ T hücre üzerinde yapısal rol üstlenirken α T hücre aktivasyonundan sonra belirir. Aktif proliferasyon sırasında 55kDa (Kilo Dalton)'luk IL-2R α hücre yüzeyini yararak 45kDa'luk soluble IL-2R α 'yı ortama verir (92,93). sIL-2R α 'nın biyolojik sıvılarda bulunması aktif lenfositleri *invivo* gösteren en sensitif belirteçtir (92). sIL-2R dolaşıma salınan IL-2R α 'dır.



Şekil 2. İnterlökin 2 Reseptörün yapısı

IL-2'nin reseptörüne bağlanması T lenfositlerin proliferasyonuna ve sitokin salınımına neden olur. IL-2 ile uyarılan T lenfositlerin sitotoksiteleri artar, IFN- γ , TNF- β , TGF- β , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, GM-CSF gibi sitokinleri salgılar. B lenfositlerde farklılaşmayı ve antikor yapımını artırır. Yüksek konsantrasyonlarda IL-2 nötrofilleri de aktive edebilir. NK (Natural killer) hücrelerinde INF- γ (İnterferon gamma) salınımına , proliferasyona ve sitolitik aktivitenin artmasına yol açar. Yüksek konsantrasyonda , NK hücrelerinden tümör tedavisinde yeri olan LAK (lenfokin ile aktive killer) hücrelerinin gelişimini sağlar (94). Artmış sIL-2R α düzeyi solid tümörlerde lösemi, lenfomada, inflamasyon (lupus , polimiyozit, skleroderma, romatoid artrit, multipl skleroz), infeksiyon (kronik hepatit, kızamık ve mycobacteria) ve yanıklarda görülmektedir (95,96). Böbrek fonksiyon bozukluğu olanlarda azalmış renal klirense bağlı olarak artmış soluble IL-2R α seviyesi saptanır (93).

Over kanser hücrelerinde IL-2R mRNA bulunmaz, peritoneal lenfositlerde bulunur (97). Over kanser olan hastalarda aktif lenfositler sIL-2R α kaynağıdır. Artmış serum seviyesinin nedeni artmış peritoneal klirens ve dağılmış tümör antijenlerinin periferik lenfositleri aktive etmesi sonucu yüzeydeki IL-2R α 'nın damar içi kompartmana geçmesi ile yorumlanmaktadır (97).

2.4. FSH, LH ve ÖSTRADIOL

FSH ve LH'nın hipofiz bezinde sentez, glikozilasyon ve sekresyonu hipotalamik bir peptid olan GnRH-I tarafından düzenlenir (118). FSH ise granüloza hücrelerini uyararak overden östrojen sentezini sağlar (118). Epidemiyolojik veriler gonadotropinlerin ve östradiolün over kanser gelişimi ile ilişkili olduğunu düşündürse de bazı invivo ve invitro çalışmalarda bu hipotez desteklenmemektedir (27,36). GnRH-II'nin overde steroid üretimine katılması ve over tümör hücrelerinin proliferasyonunu baskılaması GnRH-II ile FSH, LH ve östradiol arasında direk ve/veya indirek bir ilişkinin olabileceğini düşündürür. Maymun hipofiz kültürlerinde yapılan invitro çalışmada GnRH-II'nin FSH ve LH salınımını artırdığı tespit edilmiştir (119). Yine maymunlarda yapılan invivo çalışmada dışardan verilen GnRH-II'nin FSH ve LH yapımını uyardığı bildirilmektedir. Ancak bu tür bir ilişkinin insanda normal ve tümöral over hücrelerinde olup olmadığı net değildir.

2.5. GnRH-II, sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADIOL VE OVER KANSERİ

Over kanserinin optimal tedavisi cerrahidir. Ancak ileri evre veya reküren hastalığın tedavisinde yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulması için kanser biyolojisini daha iyi ortaya koyabilmemiz gereklidir. Şu ana kadar GnRH-II ile IL-2R'nün over tümöründeki rolleri ayrı ayrı araştırılmıştır. Bu iki sistem arasındaki ilişki henüz açık değildir. Over tümör hücrelerinde GnRH-II ile FSH, LH ve östradiol arasındaki ilişkinin ise daha fazla invivo çalışmayla desteklenmesi gerekmektedir.

3. GEREÇ (HASTALAR) VE YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurul onayı alındıktan sonra Mart 2006 ile Mart 2007 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde pelvik kitle ön tanısı ile ameliyat edilen 46 hasta ile yine aynı tarihler arasında kliniğe başvuran yaşı karşılaştırılabilir 20 hasta (kontrol grubu) çalışmaya dahil edildi. Hastalara çalışmanın amacı ve yapılacak olan tahliller ile ilgili bilgi verildi, sözlü olarak katılmaya onay veren hastalar çalışmaya alındı. Çalışma kapsamına alınan her hasta için yaş, ağırlık, boy, vücut kitle indeksi, sIL-2R, FSH, LH, östradiol ve GNRH-II gen ekspresyonunun kaydedileceği formlar oluşturuldu. Bu formlarda histopatolojik tanı, FIGO evre ve grade'in kaydedileceği kısımlara yer verildi. Hastaların menopozal durumu, gebelik sayısı, OKS ve/veya HRT kullanımı, aile öyküsü, tüp ligasyon hikayesi sorgulanarak formlara kaydedildi. Diabetes mellitus, akromegali, konjenital adrenal hiperplazi, Cushing sendromu ve polikistik over sendromu gibi endokrin hastalığı, kronik böbrek yetmezliği ve romatoid artrit gibi romatolojik hastalığı olanlar çalışmadan çıkarıldı. Kontrol grubu, çalışma grubuyla aynı tarihler arasında polikliniğe başvuran, pelvik muayene ve jinekolojik ultrasonografi ile pelvik kitle saptanmayan , endokrin ve romatolojik hastalığı olmayan, benign nedenlerle (örneğin menoraji, endometrial hiperplazi, uterin prolapsus gibi) ameliyat edilen hastalardan oluşturuldu. Çalışma kapsamına alınan pelvik kitleli hastaların her birisinin kişisel bilgileri ameliyat öncesi dönemde kendileri için önceden hazırlanmış formlara kaydedildi. Herbir hastanın boyu 2 metre

mezura ile ölçülerek metre cinsinden kaydedildi. Her hastanın ağırlıkları kilogram cinsinden ölçülerek kaydedildi. Kilogram cinsinden ağırlık ölçüsü, metre cinsinden boy ölçüsünün karesine oranlandı ve her bir hastanın Vücut Kitle İndeks'leri hesaplanarak formlara kaydedildi. Hastaların hormon replasman tedavisi ve/veya doğum kontrol hapı kullanıp kullanmadıkları, menopoz yaşı ve menarş yaşı kaydedildi.

Operasyon öncesi her hastadan 20cc'lik plastik enjektörler kullanılarak 20cc venöz kan alındı. Alınan kanların 4cc'lik kısmı 2'şer adet EDTA'lı tüplere koyularak periferik lenfositlerde GnRH-II gen ekspresyonu çalışılmak üzere Genetik Anabilim Dalı'na götürüldü. Kalan 16cc'lik venöz kan 2500 devirde 20 dakika santrifüj edilerek yaklaşık 8cc serum elde edildi. Bu serumlar çalışılacak güne kadar -71°C derin dondurucularda muhafaza edildi. Ameliyat sırasında onkoloji yöntemlerine uygun olarak çıkarılan kistten steril şartlarda 10cc sıvı aspire edilerek 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra kalan sıvı çalışılacak güne kadar -71°C derin dondurucularda muhafaza edildi. Ayrıca ameliyat sırasında kist çeperinden alınan 1cm'lik tam kat doku epandorf tüpüne steril olarak koyularak dokudan GnRH-II gen ekspresyonu çalışılmak üzere Genetik Anabilim Dalı'na götürüldü. Kontrol grubundan alınan venöz kan hasta grubu ile aynı şekilde çalışılırken, ameliyat sırasında kontrol grubunun morfolojik olarak normal olan tek overinden hilusa kadar 1cm'lik kama şeklinde alınan dokudan Genetik Anabilim Dalı'nda GnRH-II gen ekspresyonu bakıldı.

Serum FSH düzeyi 35mIU/mL olan veya en az 1 yıldır adet görmeyen hastalar postmenopoz olarak değerlendirildi. Premenopozal hastaların serum düzeyi folliküler fazda elde edilerek operasyon bu dönemde gerçekleştirildi.

Çalışmaya alınan hastaların ameliyatı kendi alanında uzman olan cerrahlar tarafından Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapıldı. Ameliyat sırasında alınan spesmenlerin Patoloji Anabilim Dalı tarafından histopatolojik değerlendirmesi yapıldı. Çalışmaya alınan hastalar ameliyat sonrası dönemde materyallerin histopatolojik inceleme sonuçlarına göre benign ve malign olmak üzere iki gruba ayrıldı. Malign hasta grubu FIGO evreleme sistemine göre evrelendirildi ve

gradelemesi yapıldı. Over dışı malignitesi olan ve pelvik tüberküloz, pelvik abse gibi enfeksiyöz hastalığı olanlar çalışmadan çıkarıldı.

Malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositler ve tümör dokusunda GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum sIL-2R düzeyi çalışılırken, malign ve benign grupta serum FSH, LH, östradiol düzeyleri ile kist sıvısı sIL-2R, FSH, LH ve östradiol düzeyleri çalışıldı.

3.1. PERİFERİK LENFOSİTLER VE DOKUNUN EKSTRAKİYONU, REAL-TIME RT-PCR ile GNRH-II mRNA EKSPRESYONUNUN TESPİTİ

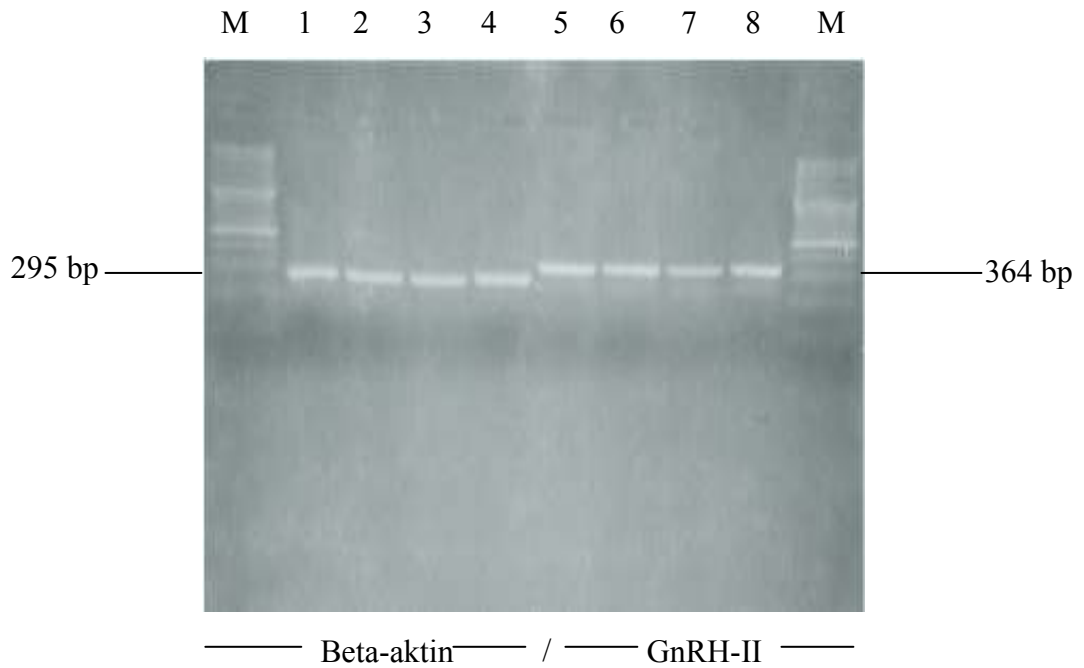
Araştırma için periferik human mononükleer hücrelerin kullanımı etik kurul tarafından onaylandı. Sağlıklı kontrollerden ve hastalardan venöz kan örnekleri elde edildi. Örneklerde HbsAg, HCV, HIV negatifti. Kan örnekleri alındıktan sonraki 1-3.günde işleme alındı. Mononükleer hücrelerin kandan ayrıştırılmasında standart metod olan Ficoll-Hypaque metodu kullanıldı.

Elde edilen PMBC'lerden ve dokudan hazır kit kullanılarak total RNA izole edildi (RNeasy midi kit, Qiagen). Total RNA'dan (2µg) komplementer DNA (cDNA) eldesi için First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, Life Sciences) kullanılarak reverse transkripsiyon (RT) yapıldı.

Quantitative real-time PCR 'Bio-Rad ICycler IQ' sistemi kullanılarak yapıldı. Sağlıklı kontrollerden ve hastalardan elde edilen cDNA'larda intron-spanning primerler kullanılarak GNRH-II (hedef gen) ve beta aktin (referans gen) ekspresyonu analiz edildi. Primer dizeleri: GNRH-II (sense 5'-GCCCCACCTTGG ACCCTCAGAG -3' ve antisense 5'-CCAGGTGTCGCTTCCTGTGAA-3'), beta-aktin (sense 5'-TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA-3' ve antisense 5'-CAG CGGAACCGCTC ATTG CCAATGG-3') olarak seçildi.

Kalıp cDNA'lar (2µl); 25 l IQ SYBR Gren Supermix ve her bir primerden 50 pmol içeren 50µl'lik PCR reaksiyonunda çoğaltıldı. Hedef ve referans genin her ikisine de 35 döngü PCR reaksiyonu uygulandı; Referans gen (B-actin) için denatürasyon 95°C'de 3dk ve 94°C'de 1 dk, annealing 61°C'de 40sn, ekstensiyon 72°C'de 1 dk, ve son siklustan sonra final ekstensiyon için 72°C'de 120 sn florasan data 585nm dalga boyunda ve her siklusun 72°C'lik ekstensiyon fazında Real-Time

PCR optik sistemi tarafından kaydedildi. Hedef gen (GNRH-II) için denatürasyon 95°C’de 3dk ve 94°C’de 45sn, annealing 66,5°C’de 1.10sn, ekstensiyon 72°C’de 1 dk ve final ekstensiyon için 72°C’de 5dk florasan data 585nm dalga boyunda ve her siklusun 72°C’lik ekstensiyon fazında Real-Time PCR optik sistemi tarafından kaydedildi. Ürünlerin spesifitesi ‘melt curve analysis’ ve %1.5 agaroz jel elektroforezde koşturarak test edildi (B-actin için PCR baz bantı 295 bp, GNRH-II için 364 bp) (Şekil 3). Ekspresyon oranları hesaplanırken ‘Bio-Rad İCycler IQ’ tarafından sağlanan özel yazılım programı kullanıldı.



Şekil 3. Beta-aktin ve GNRH-II PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü.

M : 100 baz çiftlik DNA boyut markerı

- 1. Kuyucuk :** 1.hastanın dokusunun beta-aktin PCR ürünü
- 2. Kuyucuk :** 2.hastanın dokusunun beta-aktin PCR ürünü
- 3. Kuyucuk :** 1.hastanın lenfositlerinin beta-aktin PCR ürünü
- 4. Kuyucuk :** 2.hastanın lenfositlerinin beta-aktin PCR ürünü
- 5. Kuyucuk :** 1.hastanın dokusunun GNRH-II PCR ürünü
- 6. Kuyucuk :** 2.hastanın dokusunun GNRH-II PCR ürünü
- 7. Kuyucuk :** 1.hastanın lenfositlerinin GNRH-II PCR ürünü
- 8. Kuyucuk :** 2.hastanın lenfositlerinin GNRH-II PCR ürünü

Premenopozal ve postmenopozal kontrol hastalarından rastgele seçilen birer örnek kullanılarak hem hedef gen hem de referans gen için farklı standart eğri elde edildi. 1 üniteden 1/16 üniteye kadar 5 konsantrasyon kullanıldı. Standart eğriler üzerinden her örneğin eşik siklusu (CT) kullanılarak hedef referans genlerin ünite cinsinden relatif konsantrasyonlar hesaplandı. Örnekler arasındaki RNA kalite ve kantite farklılıklarını düzeltmek için GNRH-II relative konsantrasyonu , beta-aktin relatif konsantrasyonuna bölünerek normalize oranlar elde edildi. Elde edilen normalize oranlar kontrol ve hasta grubunun PMBC ve dokularındaki GNRH-II ekspresyonu olarak değerlendirildi.

3.2. SERUM VE KİST SIVISINDA sIL-2R ÖLÇÜMÜ

Serum ve kist sıvısında soluble interlökin-2 reseptör düzeyleri enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle Human sIL-2R (Biosource, California, USA) kitiyle prospektüsüne uygun olarak çalışıldı. Sonuçlar spektrofotometre (Teca Spectra II, Austria) ile 450nm’de okundu. Standart absorban değerlerine göre grafik çizilerek hasta konsantrasyonları bu eğride belirlendi. Bu kit sIL-2R değerlerini 0-8000 pg/mL arasında ölçebilmekteydi.

3.3. SERUM VE KİST SIVISINDA FSH, LH VE ÖSTRADIOL ÖLÇÜMÜ

Serum ve kist sıvısında östradiol düzeyi otomatik olarak kemiluminesens sistem (ACS : 180, BAYER Corporation, NY, USA) ile çalışıldı. Bu kit ile östradiol değeri 10-1000 pg/mL arasında ölçüldü. 1000 pg/mL üzerindeki serum örnekleri dilüe edildi.

Serum ve kist sıvısında FSH ve LH düzeyi otomatik olarak kemiluminesens sistem (ACS : 180, BAYER Corporation, NY, USA) ile çalışıldı. FSH değeri 0,3-200 mIU/mL , LH değeri 0,07-200 mIU/mL arasında ölçüldü.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Veriler SPSS 13.0 paket programa kaydedildi, istatistiksel analizler bu program kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edildi. Bütün sürekli değişkenlerin normalizasyonu için Kolmogorov-Smirnov metodu kullanılarak değerler ortalama $\pm$ standart sapma (SS) ve median (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. İki grup karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için bağımsız iki örnek t-testi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Üç grup karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için tek yönlü Varyans Analizi kullanıldı. Bu analizde fark çıkan gruplarda çoklu karşılaştırmalar Holm-Sidak yöntemiyle yapıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Bu analizde fark çıkan gruplar için çoklu karşılaştırmalar Dunn's yöntemi ile yapıldı. Değişkenler arasındaki ilişki için Spearman Rho korelasyon testi kullanıldı. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 46 hasta postoperatif histopatolojik tanılarına göre benign ve malign olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu 20 hastadan oluşmaktaydı. Postoperatif histopatolojik tanılarına göre 13 hasta çalışmadan çıkarıldı. Bu hastaların 5'i pelvik abse, 2'si pelvik tüberküloz, 2'si tuba kanseri, 2'si kolon kanseri overe metastaz, 1'i appendiks tümörü, 1'i dejenere myom tanısı alan hastalardı. Borderline over tümörü olan 7 hasta (3 premenopoz, 4 menopoz) malign gruba dahil edildi

Grup 1: 24 Malign over tümörü olan hasta (10 premenopoz, 14 menopoz)

Grup 2: 22 Benign over tümörü olan hasta (8 premenopoz, 14 menopoz)

Grup 3: 20 Kontrol grubu (8 premenopoz, 12 menopoz)

Çalışmaya dahil edilen 20 kontrol, 22 benign ve 24 malign toplam 66 hastanın yaş, VKİ, aile öyküsü, parite, menopoz yaşı, OKS ve/veya HRT kullanımı, tüp ligasyon hikayesi, histopatolojik sınıflama, FIGO evre ve grade'i Tablo 2'de gösterilmiştir. Buna göre hastaların yaş ortalaması malign hasta grubunda $50,58 \pm 14,04$, benign hasta grubunda $52,55 \pm 11,76$ ve kontrol grubunda $51,50 \pm 10,66$ idi. Gruplar arasında yaş ortalaması istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p=0,891$). Her üç grubun VKİ'leri sırasıyla kontrol grubunda $28,65 \pm 3,71$, benign hasta grubunda $30,68 \pm 4,37$, malign hasta grubunda $30,49 \pm 7,07$ idi. Gruplar arasında VKİ yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,320$). Her üç grup arasında menopoz yaşı ve parite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı

(sırasıyla p=0,769, p=0,991). Hastaların hiçbirinde pozitif aile öyküsü , HRT ve/veya OKS kullanımı ve tüp ligasyon öyküsü yoktu.

Tablo 2. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların postmenopozal(Post) ve premenopozal(Pre) durumlarına göre demografik ve klinik özellikleri

	GRUP 1 (MALİGN) (n=24)			GRUP 2 (BENİGN) (n=22)			GRUP 3 (KONTROL) (n=20)			
	T	Post	Pre	T	Post	Pre	T	Post	Pre	P
Yaş (Ortalama)	50,58	59,50	38,10	52,55	60,14	39,25	51,50	58,33	41,25	0,891
VKI (Ortalama)	30,49	31,67	28,83	30,68	32,29	27,88	28,65	30,67	25,63	0,320
Menapoz yaşı (Ortalama)	49,29	49,29		50,54	50,54		50,08	50,08		0,769
Parite (Ortalama)	3,50	4,07	2,70	3,95	4,64	2,75	3,50	3,92	2,88	0,991
Pozitif Aile Öyküsü	0			0			0			
HRT ve/veya OKS kullanımı	0			0			0			
Tüp ligasyonu	0			0			0			
Histopatoloji										
Seröz karsinom	8	7	1							
Müsinöz karsinom	3	0	3							
Endometrioid	5	3	2							
İndiferansiye	2	1	1							
Borderline tümör	7	4	3							
Seröz kist				6	3	3				
Müsinöz kist				2	1	1				
Teratom				1	0	1				
Fibrom				3	3	0				
Sex-kord stromal				1	1	0				
Granüloza hc				1	1	0				
Paraovaryan kist				1	1	0				
Folikül kisti				1	1	0				
Endometriosis				1	1	0				
Externa				5	2	3				
FIGO Evrelemesi										
I	10	6	4							
II	5		3							
III	6	5	1							
IV	3	1	2							
Grade										
1	12	5	7							
2	7	4	3							
3	5	3	2							

Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların dokuda ve periferik lenfositlerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R değerleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign hasta gruplarında kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	GRUP 1 (MALİGN)	GRUP 2 (BENİGN)	GRUP 3 (KONTROL)	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	P
Doku GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=21 1.48 $\pm$ 0.79 1.25(0.51-3.54)	n=21 1.08 $\pm$ 0.39 1.08(0.15-1.82)	n=16 1.14 $\pm$ 0.35 1.22(0.31-1.63)	0.343
Lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=20 1.64 $\pm$ 1.10 1.20(0.22-4.50)	n=17 1.60 $\pm$ 0.69 1.75(0.58-2.88)	n=17 1.29 $\pm$ 0.74 1.04(0.43-3.55)	0.275
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=24 121.04 $\pm$ 77.63 105.00(40.00- 400.00) ^a	n=20 83.30 $\pm$ 35.95 85.00(20.00- 140.00) ^a	n=18 79.38 $\pm$ 76.84 60.00(15.00- 280.00) ^{ab}	0.025
Kist sIL-2R (pg/mL)	n=23 448.43 $\pm$ 347.67 360.00(60.00- 1460.00)	n=12 274.58 $\pm$ 308.42 150.00(0.00- 1000.00)	—	0.155

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Tüm hastalar incelendiğinde dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu malign hasta grubunda benign hasta grubu ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,343). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise malign ve benign gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi (p=0,275). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,025). Kist sıvısı sIL-2R düzeyine bakıldığında malign hasta grubu ile benign hasta grubu arasında anlamlı fark yoktu. (p=0,155).

Malign ve benign hasta gruplarında serumda ve kist sıvısında FSH, LH, östradiol düzeyleri Tablo 4’te gösterilmiştir.

Tablo 4. Malign ve benign hasta gruplarında serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 değerlerinin Ortalama $\pm$ SS,Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	GRUP 1 (MALİGN)	GRUP 2 (BENİGN)	P
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	
Serum FSH (mIU/mL)	n=20 19.05 $\pm$ 20.15 11.15(1.52-73.35)	n=22 36.51 $\pm$ 29.97 27.14(1.42-108.90)	0.062
Kist FSH (mIU/mL)	n=17 15.19 $\pm$ 17.08 10.04(2.03-60.00)	n=15 8.65 $\pm$ 12.36 2.65(0.68-44.30)	0.040
Serum LH (mIU/mL)	n=20 11.47 $\pm$ 8.16 9.76(0.27-26.92)	n=22 17.16 $\pm$ 11.01 17.02(1.04-35.83)	0.066
Kist LH (mIU/mL)	n=17 2.25 $\pm$ 2.80 1.07(0.15-9.85)	n=15 0.40 $\pm$ 0.55 0.28(0.00-2.12)	0.00001
Serum E2 (pg/mL)	n=20 85.62 $\pm$ 136.00 38.06(0.00-594.68)	n=22 39.49 $\pm$ 40.52 25.32(0.00-158.80)	0.489
Kist E2 (pg/mL)	n=17 540.82 $\pm$ 1163.82 198.00(0.00-4895.81)	n=15 72.44 $\pm$ 121.10 1.39(0.00-434.03)	0.004

Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign ve benign hasta gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermezken (sırasıyla p=0,062, p=0,066, p=0,489), kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p=0,040, p=0,00001, p=0,004).

Postmenopozal malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu benign ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı (sırasıyla p=0,005, p=0,011). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı fark göstermedi (p=0,199). Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,146). Kist sıvısında bakılan

sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,004).

Tablo 5'te postmenopozal malign, benign ve kontrol grubu hastalarında doku ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serumda ve kist sıvısında sIL-2R değerleri gösterilmektedir.

Tablo 5. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu, serum sIL-2R düzeyi ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama±SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri

POSTMENOPOZ				
	Malign	Benign	Kontrol	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Doku GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=12 1.94±0.74 ^a 1.97(0.96-3.54)	n=13 1.09±0.49 ^b 1.16(0.15-1.82)	n=9 1.30±0.24 ^b 1.25(1.02-1.63)	0.011
Lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=11 1.73±1.30 1.22(0.22-4.50)	n=9 1.45±0.82 1.05(0.58-2.88)	n=9 1.01±0.45 0.92(0.43-2.08)	0.199
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=14 131.07±88.74 115.00(40.00-400.00)	n=12 80.58±40.23 79.00(20.00-140.00)	n=11 87.27±66.37 80.00(16.00-220.00)	0.146
Kist sIL2R (pg/mL)	n=13 523.84±399.15 400.00(80.00-1460.00)	n=5 124.00±77.97 120.00(0.00-200.00)	—	0.004

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Postmenopozal hastalarda serum FSH ve LH düzeyi benign grupta malign gruba göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0,040, p=0,007). Serum östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermedi (p=0,851). Aynı grupta kist sıvısı karşılaştırıldığında FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermezken (p=0,206), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p=0,026, p=0,041).

Tablo 6’da postmenopozal hastalarda benign, malign ve kontrol grubunda serumda ve kist sıvısında FSH, LH ve östradiol değerleri gösterilmektedir.

Tablo 6. Postmenopozal hastalarda benign ve malign grupta serum ve kist sıvısı FSH, LH ve E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri

POSTMENOPOZ			
	Malign	Benign	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Serum FSH (mIU/mL)	n=11 30.54 $\pm$ 20.89 25.92(4.68-73.35)	n=14 51.90 $\pm$ 26.60 57.57(4.11-108.90)	0.040
Kist FSH (mIU/mL)	n=11 21.56 $\pm$ 18.43 15.11(3.73-60.00)	n=8 13.56 $\pm$ 15.55 6.85(1.42-44.30)	0.206
Serum LH (mIU/mL)	n=11 14.67 $\pm$ 7.77 12.20(2.68-26.92)	n=14 23.59 $\pm$ 7.37 23.14(12.60-35.83)	0.007
Kist LH (mIU/mL)	n=11 2.93 $\pm$ 3.32 1.40(0.15-9.85)	n=8 0.53 $\pm$ 0.70 0.35(0.00-2.12)	0.026
Serum E2 (pg/mL)	n=11 29.06 $\pm$ 31.21 16.46(0.00-84.93)	n=14 23.63 $\pm$ 24.09 17.53(0.00-99.38)	0.851
Kist E2 (pg/mL)	n=11 334.86 $\pm$ 355.32 254.48(0.00-1216.40)	n=8 90.43 $\pm$ 148.0 27.97(0.00-434.03)	0.041

Premenopozal hastalar arasında aynı karşılaştırmalar yapıldığında dokuda ve periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol hasta grupları arasında anlamlı fark göstermedi (sırasıyla p=0,491, p=0,435). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,049). Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign ve benign grupta farklı değildi (p=0,835).

Tablo 7’de premenopozal malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositlerde ve dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serumda ve kist sıvısında sIL-2R değerleri gösterilmektedir.

Tablo 7. Premenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda doku ve lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	PREMENOPOZ			
	Malign	Benign	Kontrol	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	P
Doku GnRH-II mRNA Ekspresyonu	n=9 0.87 $\pm$ 0.31 0.88(0.51-1.33)	n=8 1.05 $\pm$ 0.18 1.02(0.84-1.32)	n=7 0.94 $\pm$ 0.39 0.85(0.31-1.45)	0.491
Lenfosit GnRH-II mRNA Ekspresyonu	n=9 1.54 $\pm$ 0.86 1.18(0.49-3.30)	n=8 1.77 $\pm$ 0.50 1.90(0.93-2.42)	n=8 1.61 $\pm$ 0.89 1.63(0.61-3.55)	0.435
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=10 107.00 $\pm$ 60.42 97.50(45.00- 250.00) ^a	n=8 87.37 $\pm$ 30.53 85.00(40.00- 124.00) ^a	n=7 67.00 $\pm$ 95.37 40.00(15.00- 280.00) ^{ab}	0.049
Kist sIL-2R (pg/mL)	n=10 350.20 $\pm$ 253.18 310.00(60.00- 700.00)	n=7 382.14 $\pm$ 371.41 260.00(60.00- 1000.00)	—	0.835

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Premenopozal hastalar kendi içerisinde karşılaştırıldığında serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri açısından malign ve benign grupla arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,180, p=0,248, p=0,248). Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri malign ve benign grupta istatistiksel olarak fark göstermezken (p=0,670, p=0,062), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,002).

Tablo 8’de premenopozal hastalarda malign ve benign grupta serum ve kist sıvısında FSH, LH ve östradiol düzeylerinin ortalama değerleri gösterilmektedir.

Tablo 8. Premenopozal malign ve benign hastaların serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS , Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

PREMENOPOZ			
	Malign	Benign	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Serum FSH (mIU/mL)	n=9 5.01 $\pm$ 3.92 3.34(1.52-13.80)	n=8 9.58 $\pm$ 8.84 7.11(1.42-28.08)	0.180
Kist FSH (mIU/mL)	n=6 3.52 $\pm$ 1.30 3.19(2.03-3.54)	n=7 3.04 $\pm$ 2.39 2.65(0.68-7.46)	0.670
Serum LH (mIU/mL)	n=9 7.55 $\pm$ 7.18 4.65(0.27-22.75)	n=8 5.91 $\pm$ 5.99 3.00(1.04-16.24)	0.248
Kist LH (mIU/mL)	n=6 1.02 $\pm$ 0.36 1.05(0.45-1.59)	n=7 0.26 $\pm$ 0.31 0.12(0.00-0.84)	0.002
Serum E2 (pg/mL)	n=9 154.75 $\pm$ 181.49 69.70(18.60-594.68)	n=8 67.25 $\pm$ 49.63 55.76(22.38-158.80)	0.248
Kist E2 (pg/mL)	n=6 918.41 $\pm$ 1953.82 82.53(4.62-4895.81)	n=7 51.88 $\pm$ 87.78 1.02(0.00-181.79)	0.062

Tüm hasta grupları ve premenopozal hastalarda parametreler arasında korelasyon saptanmazken postmenopozol hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı (r=0,719, p=0,003, N=15).

5. TARTIŞMA

Tedavideki pek çok gelişmeye rağmen jinekolojik kanserler arasında mortalitesi en yüksek kanser olarak yerini koruyan over kanserinin %90'ı over yüzey epitelinin (OYE) köken almaktadır (120). Normal ve neoplastik OYE hücrelerinin büyümesini düzenleyen over içi bazı mekanizmaların kanser gelişiminde önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Buradan yola çıkarak yapılan araştırmalarda GnRH'nın normal OYE hücrelerinde otokrin düzenleyici (121) , over kanser hücrelerinde büyüme baskılayıcı rolü olduğu gösterilmiştir (122). GnRH'nın ikinci formu beyin dışında yüksek oranda eksprese edilmektedir (101). İlk defa 2001 yılında Choi KC ve arkadaşları normal ve neoplastik OYE hücre kültürlerinde GnRH-II ekspresyonunu göstermişlerdir (13). Over kanserlerinin yaklaşık olarak %80'i GnRH-I ve GnRH-II eksprese etmektedir (123).

Over fizyolojisinin ve over kanser gelişiminin daha iyi anlaşılabilmesi için GnRH-II son on yılda daha fazla araştırma konusu olmuştur. Şimdiye kadar yapılan tüm araştırmalar kanser hücre dizisinde veya hücre kültürlerinde çalışılmıştır.

IL-2 anti tümöral etkisini T lenfosit, B lenfosit ve NK hücrelerin differansiyasyonu ve proliferasyonu ile gerçekleştiren immün sistemin en önemli yapı taşlarından birisidir (94). IL-2 etkisini hücre yüzeyinde bulunan sIL-2R aracılığı ile gerçekleştirir. Serum sIL-2R düzeyi aktif lenfositlerin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R düzeyi ile koreledir. Bundan dolayı serum sIL-2R düzeyi immünolojik aktivasyonun belirteci olarak görülür (92).

GnRH-II'nin over kanserinde antiproliferatif etkisi kanıtlanmış olmasına rağmen GnRH-II ile IL-2R arasındaki ilişki periferik lenfositler üzerinde yapılan çalışmalarla sınırlı kalmıştır (14,15).

Biz de çalışmamızda serumda ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH, östradiol düzeyini, periferik lenfositlerde ve tümör dokusunda GnRH-II mRNA ekspresyonunu değerlendirerek over tümöründe immünolojik ve hormonal aktivasyonun sistemik ve lokal düzeyini incelemeyi ve böylece GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeyinin benign-malign ayırımında belirteç olarak kullanılabilirliğini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmamızda tüm hastalar içerisinde doku GnRH-II mRNA ekspresyonu malign hasta grubunda benign ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Daha önce yapılan çalışmalarda GnRH-II mRNA ekspresyonu over kanser hücre dizilerinde ve over kanser hücre kültürlerinde gösterilmiştir (13,14). Literatürde benign, malign over tümöründe ve kontrol grubunda GnRH-II mRNA ekspresyonunu gösteren in vivo çalışma yoktur. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign ve benign grupta kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Yayınlarda over tümörlü hastaların periferik lenfositlerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile ilgili veri bulunmamaktadır.

Tüm hastalar içerisinde serum sIL-2R düzeyi malign hasta grubunda benign hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Premenopozal malign hasta grubunda da serum sIL-2R düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Bu grup ana grubumuzu etkiliyor görünmektedir. Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Gebauer ve arkadaşları benign ve malign over tümörü olan toplam 249 hastada serum sIL-2R düzeyini araştırmışlar ve malign grupta sIL-2R düzeyini anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir (124). Aynı bulgular Sedlacek ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada desteklenmiştir. Bu çalışmada toplam 98 hasta çalışmaya alınmış, serum ve kist sıvısı sIL-2R düzeyleri malign hastalarda benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (125). 1988 yılında Kikuchi ve arkadaşları malign ve benign over kanserli toplam 70 hastada periferik lenfositlerde IL-2R ekspresyonunu çalışmışlar ancak her iki grupta da anlamlı fark bulamamışlardır (126). Çalışmamızda

serum sIL-2R düzeyinin anlamlı olarak yüksek bulunması bu hasta grubunda serum düzeyinin kist düzeyini yansıtmadığını gösterir.

Tüm hastalar incelendiğinde serum FSH ve LH düzeyleri malign ve benign hasta grupları arasında anlamlı farklılık göstermedi. Ancak kist sıvısı FSH, LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Kramer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada benign ve malign over tümörlü hastalarda serum ve kist sıvısında FSH ve LH düzeylerinin karşılaştırmışlar ve serum FSH ve LH düzeyleri heriki grup arasında anlamlı fark göstermezken kist sıvısı FSH ve LH düzeyini malign grupta anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (127). Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir. Serum FSH ve LH düzeyinin gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısında anlamlı yüksek bulunması olayın lokal olduğunu ve tümör hücrelerinin FSH ve LH yapımında rol alabileceğini düşündürür. Serum östradiol düzeyi gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısı östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. İlk kez Nash ve arkadaşları over kanser hücre dizisinde östrojenin mitojenik etkisini göstermişlerdir (128). Karasık ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada malign over tümörü olan hastalarda kist sıvısı östradiol düzeyi menstruel siklus sırasındaki hormon dalgalanmalarını ortadan kaldırmak için sadece postmenopozal hastalarda değerlendirilmiştir. Bu çalışmada malign hasta grubunda kist sıvısı östradiol düzeyi benign hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir (129). Bizim çalışmamızda da postmenopozal hastalarda kist sıvısı östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksektir.

Tüm hastalara bakıldığında periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark göstermedi. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ilk defa Tanrıverdi ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (130). Bu çalışmada GnRH-II'nin tek başına B lenfosit proliferasyonunu etkilemediği ve IL-2'ye proliferatif cevabı değiştirmediği rapor edilmiştir. Tanrıverdi ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında ise sağlıklı 6 erkekten alınan venöz kan örneklerinde IL-2R ekspresyonu bakılmış, periferik lenfositlerde GnRH-II'nin IL-2R ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir (15). Çalışmamızda serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Maccio ve arkadaşları over kanserli hastalarda yüksek serum sIL-2R

düzeyinin azalmış T hücre cevabı ile ilişkili olduğunu ve IL-2 aracılı immün cevabı baskıladığını rapor etmişlerdir (75). Sonuç olarak malign hasta grubunda serum sIL-2R düzeyinin anlamlı yüksek olması bu hastalarda immünsüpresif etkinin başladığını düşündürür. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından gruplar arasında fark olmaması bu iki sistemin özellikle sistemik dolaşımda birbirinden bağımsız işlediğini düşündürmektedir.

Postmenopozal hastalarda menstruel siklus dalgalanmalarından etkilenebilecek parametreler büyük oranda sabitlendiğinden bu hasta grubunun bazı verileri daha kıymetlidir. Çalışmamızda bu hasta grubunda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu malign grupta benign ve kontrol grubuna göre yaklaşık iki kat yüksek bulunmuştur. Yine aynı hasta grubunda kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksektir. Yapılan korelasyon analizinde doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R düzeyi arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. sIL-2R'ün kist ortamında fazla bulunması IL-2'nin etkisini baskılayarak lokal immünsüpresif bir zemin hazırlamaktadır. Tümörün immünsüpresif ortamdan faydalanarak GnRH-II'nin antiproliferatif etkisine karşı direnç kazandığı ve GnRH-II sistemini lokal hormon yapımı için kullandığı düşünülebilir. GnRH-II ekspresyonunun tümör dokusunda artması bu hipotezi desteklemektedir. Ayrıca Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada normal ve lösemik T hücrelerinin GnRH-II ve GnRH-I ürettiği ve bu nöropeptidlerin laminin reseptör gen ekspresyonunu, adhezyon ve kemotaksisi artırdığı rapor edilmiştir (109). Tümör ortamında otokrin/parakrin GNRH-II üretimi tümörün gelişimine katkıda bulunuyor olabilir.

İn vitro çalışmaların birinde maymun hipofiz kültür hücrelerinde GnRH-II'nin FSH, LH salınımını artırdığı gösterilmiştir (131). Choi ve arkadaşlarının yaptığı invitro çalışmada ise normal OYE hücre dizileri ve over kanser hücre dizilerinde ortama FSH ve LH eklenmesi GnRH-II mRNA ekspresyonunu baskılamaktadır (13). Eğer tümör FSH, LH ve östradiol gibi hormonların yapımını başarırsa proliferasyon ve metastaz yeteneğini artırabilir. Ancak tümörün GnRH-II yoluyla hormon yapımını gerçekleştirdiğini gösteren invivo çalışma henüz yoktur. İn vivo ortamda yapılan tek çalışma Densmore ve arkadaşlarının maymunlar üzerinde yapmış olduğu araştırmadır (132). Bu çalışmaya göre dışardan GNRH-II verildiğinde ön hipofizden LH ve FSH salınımı GNRH-I reseptörleri aracılığı ile artmakta ve bu etkinin GNRH-I kadar

potent olduğu rapor edilmektedir (132). Bizim çalışmamızda postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında LH ve östradiol düzeyi benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Kramer ve arkadaşları postmenopozal hastalarda kist sıvısı FSH ve LH düzeyini malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir (127). Chudecka-Glaz ve arkadaşlarının çalışmasında postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında FSH ve LH düzeyi benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (133). Aynı çalışmada malign over tümörlü hastalarda serum FSH ve LH'nın postmenopozal hastalarda yüksek saptanmaması ise olayın lokal olduğunu ve tümör hücrelerinin gonadotropin yapımına katıldığını düşündürmüştür (133). Bizim çalışmamızda da postmenopozal malign over tümörlü hastalarda serum FSH ve LH düzeyi benign over tümörlü hastalara göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Her iki grup arasında yaş ortalamaları açısından istatistiksel fark yoktur. (benign grup yaş ortalaması $60,14 \pm 6,22$; malign grup yaş ortalaması $59,50 \pm 9,24$, $p=0,831$). Blaakaer ve arkadaşları menopozal malign over tümörlü hastalarda serum FSH düzeyini benign gruba göre anlamlı olarak düşük saptamışlar, LH düzeyini değerlendirmemişlerdir (134). Bizim çalışmamızda serum FSH, LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak düşükken kist sıvısında LH ve östradiol düzeyleri anlamlı olarak yüksektir. Postmenopozal malign hastalarda kist sıvısında LH ile birlikte doku GnRH-II mRNA ekspresyonunun artmış olması GnRH-II'nin lokal hormon yapımına katılabileceğini ve malignite gelişimi açısından tümör mikroçevresinin seruma göre daha iyi yol gösterdiğini düşündürmektedir.

Postmenopozal hastalarda lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi. Aynı hasta grubunda serum sIL-2R düzeyi malign, benign ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Lenfositlerde GnRH-II ekspresyonu, serum sIL-2R, serum FSH ve LH arasında korelasyon saptanmadı. Bu sonuca göre GnRH-II ile sIL-2R arasındaki ilişkinin lokal düzeyde olduğunu ve sistemik olarak tespit edilemeyeceğini söyleyebiliriz.

Karasık ve arkadaşları postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında östradiol düzeyini benign gruba göre anlamlı olarak yüksek tesbit etmişlerdir (129). Jeppsson ve arkadaşları ise postmenopozal malign over tümörlü

hastaların over veninde estradiol düzeyini benign gruba göre yüksek bulmuşlardır (135) . Çalışmamızda postmenopozal malign over tümör olan hastaların kist sıvısında artmış östradiol düzeyi ile birlikte artmış GnRH-II mRNA ekspresyonu tespit ettik. Kang ve arkadaşlarının yaptığı in vitro çalışmada östradiolün GnRH'nın over kanser hücrelerinde büyümeyi inhibe edici etkisini antagonize ettiği gösterilmiştir (121). Buradan yola çıkarak östradiolün GnRH-II için de böyle bir etkisinin olduğu, tümör hücresinde GnRH-II'nin antiproliferaif etkisini antagonize ederek GnRH-II'ye karşı dirençte rol alabileceği ve artan GnRH-II mRNA ekspresyonu ile tümör dokusunda LH ve östradiol yapımını stimüle edebileceği söylenebilir.

Premenopozal hastalarda lenfositlerde veya dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından malign , benign ve kontrol grubu arasında fark bulunmazken serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksektir. Bu sonuca göre olay önce sistemik olarak başlamakta postmenopozal dönemde ise lokal düzeyde yani kist sıvısında tespit edilmektedir. Çalışmamızın sonucunda premenopoz olan daha genç yaş kontrol grubunda serum sIL-2R düzeyi düşüken yaş ilerledikçe serum sIL-2R düzeyinin arttığını tespit ettik (Premenopozal kontrol grubunun yaş ortalaması $41,25 \pm 6,75$; postmenopozal kontrol grubunun yaş ortalaması $58,33 \pm 6,32$). Orson ve arkadaşları yaptıkları in vitro çalışmada sağlıklı genç ve sağlıklı yaşlı hastaların kanlarını kullanmış, bu kanlar in vitro ortamda stimüle edilmiştir (136). Yaşlı hastalarda IL-2R ekspresyonu artmadan sIL-2R salınımının arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucuna göre hücre aracılı immünite yaşlanmayla birlikte azalmaktadır. Bizim çalışmamız da bu çalışmanın sonuçlarıyla benzerdir. Şimdiye kadar yapılan hiçbir çalışmada premenopozal ve postmenopozal hastalar sIL-2R düzeyi açısından kendi içerisinde ayrı olarak değerlendirilmemiştir. O nedenle bu hasta gruplarında gerçekte farkın olup olmadığını eldeki verilerle ortaya koymak zordur. Bu çalışma ilk defa postmenopozal ve premenopozal hastalar arasında serum sIL-2R düzeyi açısından farkın olabileceğini ve premenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyinin malignite gelişimi açısından belirteç olarak kullanılabileceğini vurgulamaktadır.

Premenopozal hasta grubunda serum FSH, LH ve östradiol düzeyi açısından malign ve benign grup arasında fark izlenmedi. Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısı LH düzeyi malign

grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Chudecka-Glaz ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada over tümörü olan hastalarda serumda ve kist sıvısında FSH, LH düzeyini karşılaştırmışlar ancak premenopozal malign hasta grubunda sadece iki hasta olduğu için bu grupta istatistiksel analiz yapmamışlardır (132). Reimer ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada perimenopozal ve postmenopozal hastalarda düşük kist sıvısı FSH ve LH düzeyi ile premenopozal hastalarda yüksek kist sıvısı estradiol düzeyinin fonksiyonel kist ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (137). Aynı çalışmada premenopozal hasta grubunda fonksiyonel kist sıvısı ve neoplastik tümör kist sıvısı arasında FSH ve LH düzeyi açısından fark saptanmamıştır. Çalışmamızın sonucuna göre premenopozal malign hastalarda erken folliküler fazda elde edilen kist sıvısında artan LH düzeyinin malignite gelişimi ile ilişkili olabileceği ancak dokuda GnRH-II mRNA ekspresyon açısından benign, malign ve kontrol grubu arasında fark olmaması ise doku düzeyinde tümör gelişimi ile LH arasında GnRH-II sisteminden bağımsız bir ilişki olduğunu düşündürür. Bu çalışma ile literatürde ilk defa premenopozal malign hasta grubunda kist sıvısı LH düzeyinin benign gruba göre anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir.

Gebauer ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada over kanserli hastalarda serum sIL-2R düzeyi ile FIGO evrelemesi ve prognoz arasında ilişki saptanmış buna göre evre arttıkça serum sIL-2R düzeyinin arttığı en yüksek düzeyin evre 4 hastalarda olduğu tespit edilmiştir (124). Artan sIL-2R düzeyinin immünolojik aktivasyonu gösterdiği ve Evre 4 hastalarda olduğu gibi daha da yüksek değerlerin immünsupresif etkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda incelenen hasta sayısı az olduğu için istatistiksel analiz yapılmamıştır. Ayrıca over kanserinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile evre ve prognoz ilişkisi araştırılmayı beklemektedir. Bu konuda daha yüksek ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamız literatürde ilk defa GnRH-II ile sIL-2R arasında özellikle postmenopozal malign hastalarda doku düzeyinde bir ilişki olabileceğini ve bu hasta grubunda GnRH-II'nin lokal düzeyde hormon yapımına katılabileceğini belirtmektedir. Bu çalışma premenopozal malign over tümörlü hastalarda serum sIL-2R düzeyinin, postmenopozal malign over tümörlü hastalarda ise doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ve kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin klinikte belirteç olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir. Çalışmamızın sonucunda elde edilen bulgular

ilerde yapılacak birçok deneysel ve klinik çalışmalara ışık tutacak ve böylelikle over kanser yönetiminde ve hedefe yönelik tedavilerde yeni gelişmeler sağlanabilecektir.

6. SONUÇLAR

1. Tüm hastalar içerisinde yaş ortalamaları yönünden malign, benign ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,891$). Yaş ortalaması malign grupta $50,58 \pm 14,04$, benign grupta $52,55 \pm 11,76$, kontrol grubunda $51,50 \pm 10,66$ idi.
2. Malign, benign ve kontrol grupları arasında VKİ'leri yönünden anlamlı fark saptanmadı ($p=0,320$). VKİ ortalaması malign grupta $30,49 \pm 7,07$, benign grupta $30,68 \pm 4,37$ ve kontrol grubunda $28,65 \pm 3,71$ idi.
3. Her üç grup arasında menapoz yaşı ve parite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p=0,769$, $p=0,991$).
4. Dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi ($p=0,343$).
5. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından üç grup arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,275$).
6. Serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksekti ($p=0,025$).
7. Kist sıvısı sIL-2R düzeyine bakıldığında malign ve benign gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi ($p=0,155$).
8. Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri açısından her iki grup arasında anlamlı değişiklik saptanmadı (sırasıyla $p=0,062$, $p=0,066$, $p=0,489$).
9. Kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre yüksek bulundu. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,040$, $p=0,00001$, $p=0,004$).
10. Postmenopozal malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ($p=0,011$).

11. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından fark yoktu ($p=0,199$).
12. Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign, benign ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,146$).
13. Aynı hasta grubunda kist sıvısında bakılan sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre istatistiksel olarak yüksek saptandı ($p=0,004$).
14. Serum FSH ve LH düzeyi postmenopozal benign grupta malign gruba göre yüksekti. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,040$, $p=0,007$).
15. Serum östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermedi ($p=0,851$).
16. Postmenopozal hastalarda kist sıvısı karşılaştırıldığında FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında değişiklik göstermezken ($p=0,206$), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,026$, $p=0,041$).
17. Premenopozal hastalarda dokuda ve periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p=0,491$, $p=0,435$).
18. Premenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p=0,049$).
19. Aynı hasta grubunda kist sıvısı sIL-2R düzeyi açısından malign ve benign gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,835$).
20. Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri premenopozal malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermedi ($p=0,180$, $p=0,248$, $p=0,248$).
21. Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri malign ve benign grupta istatistiksel olarak fark göstermezken ($p=0,670$, $p=0,062$), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,002$).
22. Postmenopozal hastalar arasında doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ($r=0,719$, $p=0,003$).

7. KAYNAKLAR

1. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics, 1999. CA Cancer J Clin 1999; 49: 8-31
2. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics, 2000. CA Cancer J Clin 2000; 50:7-33
3. Leung PC, Choi JH. Endocrine signaling in ovarian surface epithelium and cancer. Hum Reprod Update 2007; 13(2): 143-62.
4. Lukanova A, Lundin E, Micheli A et al. Risk of ovarian cancer in relation to prediagnostic levels of C-peptide, insulin-like growth factor binding proteins-1 and -2 (USA, Sweden, Italy). Cancer Causes Control 2003; 14(3): 285-92.
5. Roberta B, Ness CC. Possible role of ovarian epithelial inflammation in ovarian cancer. J Natl Cancer Inst 1999; 91(17): 1459-67.
6. Bukovsky A. Immune system involvement in the regulation of ovarian function and augmentation of cancer. Microsc Res Tech 2006; 69(6): 482-500.
7. Wanebo HJ, Pace R, Hargett S. Production of and response to interleukin-2 in peripheral blood lymphocytes of cancer patients. Cancer 1986; 57: 656-62.
8. Owens OJ, Taggart C, Wilson R et al. Interleukin-2 receptor and ovarian cancer. Br J Cancer 1993; 68: 364-7.
9. Lauria F, Rondelli D, Raspadori D et al. Serum sIL-2R levels in hairy cell leukaemia: Correlation with clinical and haematological parameters and with Alpha-interferon treatment. Leuk-Lymphoma 1992;7: 103-7.
10. Fierro MT, Lisa F, Novelli M. Soluble interleukin-2 receptor, CD4 and CD8 levels in Melanoma: a longitudinal study. Dermatologica 1992; 184: 182-9.

11. King JA, Millar RP. Structure of chicken hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone II. Isolation and characterization. *J Biol Chem* 1982; 257: 10729-32.
12. Lescheid DW, Terasawa E, Abler LA et al. A second form of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) with characteristics of chicken GnRH-II is present in the primate brain. *Endocrinology* 1997; 138(12): 5618-29.
13. Choi KC, Auersperg N, Leung PC. Expression and antiproliferative effect of a second form of gonadotropin-releasing hormone in normal and neoplastic ovarian surface epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(10): 5075-5078.
14. Grundker C, Gunthert AR, Millar RP, Emons G. Expression of gonadotropin-releasing hormone II (GnRH-II) receptor in human endometrial and ovarian cancer cells and effects of GnRH-II on tumor cell proliferation. *Endocrinol Metab* 2002; 87: 1427-30.
15. Tanriverdi F, Gonzalez-Martinez D, Silveira LF et al. GnRH-I and GnRH-II have differential modulatory effects on human peripheral blood mononuclear cell proliferation and interleukin-2 receptor gamma-chain mRNA expression in healthy males. *Clin Exp Immunol* 2005; 142(1): 103-10.
16. Choi KC, Kang SK, Tai CJ, Auersperg N. Follicle-stimulating hormone activates mitogen-activated protein kinase in preneoplastic and neoplastic ovarian surface epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(5): 2245-53.
17. Kang SK, Tai CJ, Nathwani PS, Leung PC. Differential regulation of two forms of gonadotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid in human granulosa-luteal cells. *Endocrinology* 2001; 142(1): 182-92.
18. Robinson E, Segal R, Vesely Z, Mekori T. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood and malignant effusions of cancer patients. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22(2): 191-3.
19. Narod SA, Boyd J. Current understanding of the epidemiology and clinical implications of BRCA-1 and BRCA-2 mutations for ovarian cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002; 14: 19-26.

20. Buller RE, Lallas TA, Shahin MS. The p53 mutational spectrum associated with BRCA1 mutant ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7(4): 831-8.
21. Boyd J, Sonoda Y, Federici MG et al. Clinicopathologic features of BRCA-linked and sporadic ovarian cancer. *JAMA* 2000; 283(17): 2260-5.
22. Lee H, Park G, Jung JH et al. Diagnostic approach using the expression profiling of the P53 tumor suppressor gene and its related proteins in ovarian epithelial tumors. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 453-61.
23. Shih IeM, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol* 2004; 164(5): 1511-8.
24. Fathalla FM. Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia? *Lancet* 1971; 2 (7716): 163.
25. Scully RE. Pathology of ovarian cancer precursors. *J Cell Biochem Suppl* 1995; 23: 208-18
26. Syed V, Ulinski G, Mok SC, Yiu GK, Ho SM. Expression of gonadotropin receptor and growth responses to key reproductive hormones in normal and malignant human ovarian surface epithelial cells. *Cancer Res* 2001; 61(18): 6768-76.
27. Zheng W, Lu JJ, Luo F et al. Ovarian epithelial tumor growth promotion by follicle stimulating hormone and inhibition of the effect by luteinizing hormone. *Gynecol Oncol* 2000; 76(1): 80-8.
28. Ivarsson K, Sundfeldt K, Brannstrom M, Hellberg P, Janson PO. Diverse effects of FSH and LH on proliferation of human ovarian surface epithelial cells. *Hum Reprod* 2001; 16(1): 18-23.
29. Stakleff KD, Von Gruenigen VE. Rodent models for ovarian cancer research. *Int J Gynecol Cancer* 2003; 13(4): 405-12.
30. Simon WE, Albrecht M, Hansel M, Dietel M, Hözel F. Cell lines derived from human ovarian carcinomas: growth stimulation by gonadotropic and steroid hormones. *J Natl Cancer Inst* 1983; 70: 839-44.

31. Schiffenbauer YS, Abramovitch R, Meir G. Loss of ovarian function promotes angiogenesis in human ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(24): 13203-8.
32. Wang J, Luo F, Lu JJ, Chen PK, Liu P, Zheng W. VEGF expression and enhanced production by gonadotropins in ovarian epithelial tumors. *Int J Cancer* 2002; 97(2): 163-7.
33. Osterholzer HO, Streibel EJ, Nicosia SV. Growth effects of protein hormones on cultured rabbit ovarian surface epithelial cells. *Biol Reprod* 1985; 33(1): 247-58.
34. Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Gordon GB et al. Serum gonadotropins and steroid hormones and the development of ovarian cancer. *JAMA* 1995; 274: 1926-30.
35. Arslan AA, Zeleniuch-Jacquotte A, Lundin E et al. Serum follicle-stimulating hormone and risk of epithelial ovarian cancer in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 1531-5.
36. Schildkraut JM, Schwingl PJ, Bastos E, Evanoff A, Hughes C. Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 554-9.
37. Risch HA. Hormonal etiology of epithelial ovarian cancer, with a hypothesis concerning the role of androgens and progesterone. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90(23): 1774-86.
38. Bohlke K, Cramer DW, Barbieri RL. Relation of luteinizing hormone levels to body mass index in premenopausal women. *Fertil Steril* 1998; 69: 500-4.
39. Cunaat S, Hoffmann P, Pujol P. Estrogens and epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2004; 94(1): 25-32.
40. Silva EG, Tornos C, Deavers M, Kaisman K, Gray K, Gershenson D. Induction of epithelial neoplasms in the ovaries of guinea pigs by estrogenic stimulation. *Gynecol Oncol* 1998; 71: 240-6.

41. Nash JD, Ozols RF, Smyth JF, Hamilton TC. Estrogen and anti-estrogen effects on the growth of human epithelial ovarian cancer in vitro. *Obstet Gynecol* 1989; 73(6): 1009-16.
42. Rodriguez C, Patel AV, Calle EE, Jacob EJ, Thun MJ. Estrogen replacement therapy and ovarian cancer mortality in a large prospective study of US women. *JAMA* 2001; 285: 1460-5.
43. Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E, Cauley J,. Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA* 2002; 288: 58–66.
44. Lukonova A, Lundin E, Akhmedkhanov A et al. Circulating levels of sex steroid hormones and risk of ovarian cancer. *Int J Cancer* 2003; 104(5): 636-42.
45. The endocrinology of pregnancy. In: Speroff L, Glass RH, Kase NG, editors. *Clinical Gynecological Endocrinology and Infertility*. Baltimore (MD): Williams&Wilkins; 1994. p. 251-91.
46. Van Gorp T, Amant F, Neven P, Vergote I, Moerman P. Endometriosis and the development of malignant tumours of the pelvis. A review of literature. *Best Prac Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18: 349-71.
47. Zeitoun KM, Bulun SE. Aromatase: a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Fertil Steril* 1999; 72(6): 961-9.
48. Yancik R. Ovarian cancer. Age contrasts in incidence, histology, disease stage at diagnosis, and mortality. *Cancer* 1993; 71(2 Suppl): 517-23.
49. Modan B, Ron E, Lerner-Geva L, Blumstein T, Cancer incidence in a cohort of infertile women. *Am J Epidemiol* 1998; 147: 1038–1042.
50. Salazar-Martinez E, Lazcano-Ponce EC, Gonzalez Lira-Lira G, Escudero-De los RP. Reproductive factors of ovarian and endometrial cancer risk in a high fertility population in Mexico. *Cancer Res* 1999; 59: 3658–3662.
51. Edmondson RJ, Monaghan JM, Davies BR. The human ovarian surface epithelium is an androgen responsive tissue. *Br J Cancer* 2002; 86: 879-85

52. Lukanova A, Kaaks R. Endogenous hormones and ovarian cancer: epidemiology and current hypotheses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(1): 98-107.
53. Kaaks R, Lukanova A. Energy balance and cancer: the role of insulin and insulin-like growth factor-I. *Proc Nutr Soc* 2001; 60(1): 91-106.
54. Adler AI, Weiss NS, Kamb ML, Lyon JL. Is diabetes mellitus a risk factor for ovarian cancer? A case-control study in Utah and Washington (United States). *Cancer Causes Control* 1996; 7(4): 475-8.
55. Rodriguez C, Calle EE, Fakhrabadi-Shokoochi D, Jacobs EJ, Thun MJ. Body mass index, height, and the risk of ovarian cancer mortality in a prospective cohort of postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 822-8.
56. Purdie DM, Bain CJ, Webb PM, Whiteman DC, Pirozzo S, Gren AC. Body size and ovarian cancer: case-control study and systematic review (Australia). *Cancer Causes Control* 2001; 12(9): 855-63.
57. Fairfield KM, Willett WC, Rosner BA, Manson JE, Speizer FE, Hankinson SE. Obesity, weight gain, and ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 2002; 100(2): 288-96.
58. Kuper H, Cramer DW, Titus-Ernstoff L. Risk of ovarian cancer in the United States in relation to anthropometric measures: does the association depend on menopausal status? *Cancer Causes Control* 2002; 13: 455-63.
59. Anderson JP, Ross JA, Folso AR. Anthropometric variables, physical activity, and incidence of ovarian cancer: The Iowa Women's Health Study. *Cancer* 2004; 100(7): 1515-21.
60. Engeland A, Tretli S, Bjorge T. Height, body mass index, and ovarian cancer: a follow-up of 1.1 million Norwegian women. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1244-8.
61. Parazzini F, Moroni S, La Vecchia C, Negri E, dal Pino D, Bolis G. Ovarian cancer risk and history of selected medical conditions linked with female hormones. *Eur J Cancer* 1997; 33(10): 1634-7.

62. Lukanova A, Toniolo P, Lundin E et al. Body mass index in relation to ovarian cancer: a multi-centre nested case-control study. *Int J Cancer* 2002; 99(4): 603-8.
63. Bukovsky A. Immune system involvement in the regulation of ovarian function and augmentation of cancer. *Microsc Res Tech* 2006; 69(6): 482-500.
64. Ness RB, Modugno F. Endometriosis as a model for inflammation-hormone interactions in ovarian and breast cancers. *Eur J Cancer* 2006; 42(6): 691-703.
65. Pietras RJ. Targeting Angiogenic Factors Contributing to Etiology and Progression of Human Ovarian Cancer. *Med Gen Med*. 2004; 6(4): 21.
66. Counter CM, Hirte HW, Bacchetti S, Harley CB. Telomerase activity in human ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; ;91(8): 2900-4.
67. Santin AD, Bellone S, Ravaggi A et al. Increased levels of interleukin-10 and transforming growth factor-beta in the plasma and ascitic fluid of patients with advanced ovarian cancer. *BJOG* 2001; 108(8): 804-8.
68. Penson RT, Kronish K, Duan Z et al. Cytokines IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, MCP-1, GM-CSF and TNFalpha in patients with epithelial ovarian cancer and their relationship to treatment with paclitaxel. *Int J Gynecol Cancer* 2000; 10: 33-41.
69. Xu L, Fidler IJ. Interleukin 8: an autocrine growth factor for human ovarian cancer. *Oncol Res* 2000; 12(2): 97-106.
70. Berek JS, Chung C, Kaldi K, Watson JM, Knox RM, Martinez-Maza O. Serum interleukin-6 levels correlate with disease status in patients with epithelial ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164(4): 1038-42.
71. Nakayama E, Asano S, Takuwa N, Yokota J, Miawa S. Decreased TCGF activity in the culture medium of PHA stimulated peripheral mononuclear cells from patients with metastatic cancer. *Clin Exp Immunol* 1983; 51(3): 511-6.
72. Nelson DL, Wagner DK, Maron L et al. An analysis os soluble IL-2 receptors in human neoplastic disorders. In: Albertini A, Lentant C, Poeletti R, eds. *Biotechnology in Clinical Medicine*. New York: Raven Pres; 1987: 277-86.

73. Wang S, Cai G, Lu Y. Clinical implication of serum sIL-2R levels in ovarian cancer. *Journal of Tongji Medical University* 1998; 18(2): 126-128.
74. Wang H, Xie X, Lu WG, Ye DF, Chen HZ, Li X, Cheng Q. Ovarian carcinoma cells inhibit T cell proliferation: suppression of IL-2 receptor beta and gamma expression and their JAK-STAT signaling pathway. *Life Sci* 2004; 74(14): 1739-49.
75. Maccio A, Lai P, Santona MC, Pagliara L, Melis GB, Mantovani G. High serum levels of soluble IL-2 receptor, cytokines, and C reactive protein correlate with impairment of T cell response in patients with advanced epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1998; 69: 248-52.
76. Kang SK, Choi KC, Yang HS, Leung PC. Potential role of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH)-I and GnRH-II in the ovary and ovarian cancer. *Endocr Relat Cancer* 2003; 10(2): 169-77.
77. Volker P, Gründker C, Schmidt O, Schulz KD, Emons G. Expression of receptors for luteinizing hormone-releasing hormone in human ovarian and endometrial cancers: frequency, autoregulation, and correlation with direct antiproliferative activity of luteinizing hormone-releasing hormone analogues. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186(2): 171-9.
78. Young RC, Decker DG, Wharton JT et al. Staging laparotomy in early ovarian cancer. *JAMA* 1983; 250: 3072-76.
79. Young RC, Brady MF, Nieberg RK et al. Adjuvant treatment for early ovarian cancer: a randomized phase III trial of intraperitoneal 32P or intravenous cyclophosphamide and cisplatin--a gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol* 2003; 21(23): 4350-5.
80. Muggia FM, Hainsworth JP, Jeffers S et al. Phase II study of liposomal doxorubicin in refractory ovarian cancer: antitumor activity and toxicity modification by liposomal encapsulation. *J Clin Oncol* 1997; 15: 987-93.
81. Rose PG, Blessing JA, Mayer AR et al. Prolonged oral etoposide in recurrent or advanced non-squamous cell carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2003; 89(2): 267-70.

82. Rosano L, Di Castro V, Spinella F et al. Combined targeting of endothelin A receptor and epidermal growth factor receptor in ovarian cancer shows enhanced antitumor activity. *Cancer Res* 2007; 67(13): 6351-9.
83. Rosa DD, Clamp AR, Collinson F, Jayson GC. Antiangiogenic therapy for ovarian cancer. *Curr Opin Oncol* 2007; 19(5): 497-505.
84. Kanerva A, Raki M, Hemminki A. Gene therapy of gynaecological diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2007; 7(9): 1347-61.
85. Zheng H, Kavanagh JJ, Hu W, Liao Q, Fu S. Hormonal therapy in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17(2): 325-38.
86. Sabbatini P, Odunsi K. Immunologic approaches to ovarian cancer treatment. *J Clin Oncol*. 2007 Jul 10;25(20):2884-93.
87. Freedman RS, Edwards CL, Kavanagh JJ et al. Intraperitoneal adoptive immunotherapy of ovarian carcinoma with tumor-infiltrating lymphocytes and low-dose recombinant interleukin-2: a pilot trial. *J Immunother Emphasis Tumor Immunol* 1994; 16(3): 198-210.
88. Hofstra LS, Mourits MJ, de Vries EG, Mulder NH, Willemse PH. Combined treatment with goserelin and tamoxifen in patients with advanced chemotherapy resistant ovarian cancer. *Anticancer Res* 1999; 19(4C): 3627-30.
89. Sevela P, Vavra N, Fitz R et al. Goserelin a GnRH-analogue as third-line therapy of refractory epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 1992; 2(3): 160-2.
90. Edwards RP, Gooding W, Lembersky BC et al. Comparison of toxicity and survival following intraperitoneal recombinant interleukin-2 for persistent ovarian cancer after platinum: twenty-four-hour versus 7-day infusion. *J Clin Oncol* 1997; 15(11): 3399-407
91. Balbi G, Piano LD, Cardone A, Cirelli G. Second-line therapy of advanced ovarian cancer with GnRH analogs. *International Journal of Gynecological Cancer* 2004; 14(5): 799-803.

92. Rubin LA, Nelson D. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function and clinical application. *Ann Intern Med* 1990; 113: 619-45.
93. Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME et al. Soluble IL-2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro. *J Immunol* 1985; 135: 3172-75.
94. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. In: Stites DP, Terr AI (eds) *Basic and Clinical Immunology*. Prentice Hall International, 7th ed, 1991, 86-90.
95. Lissoni P, Barni F, Rovelli F et al. The biological significance of soluble IL-2 receptors in solid tumors. *Eur J Cancer* 1990; 26(1): 33-6.
96. Teodorczyk-Injeyan JA, Sparkes BG, Lalani S, Peters WJ, Mills GB. IL-2 regulation of soluble IL-2 receptor levels following thermal injury. *Clin Exp Immunol* 1992; 90(1): 36-42 .
97. Hurteau JA, Simon HU, Kurman C, Rubin L, Mills GB. Elevated levels of the soluble interleukin 2 receptor alpha are present in ovarian cancer patients: evidence for activation of T lymphocytes and possible use in management of ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 918-28.
98. Conn PM, Crowley WF. Gonadotropin Releasing Hormone and its analogues. *Annu Rev Med* 1994; 45: 391-405.
99. Zidan J, Zohao S, Mijiritzky I, Kral S, Bilencia B. Treating relapsed epithelial ovarian cancer with luteinizing hormone-releasing agonist (goserelin) after failure of chemotherapy. *Isr Med Assoc J* 2002; 4: 597-9.
100. Kasten TL, White SA, Norton TT, Bond CT, Adelman JP, Fernald RD. Characterization of two new preproGnRH mRNAs in the tree shrew: first direct evidence for mesencephalic GnRH gene expression in a placental mammal. *Gen Comp Endocrinol* 1996; 104(1): 7-19.
101. White RB, Eisen JA, Kasten TL, Fernald RD. Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(1): 305-9.
102. King JA, Millar RP. Structure of chicken hypothalamic GnRH II. Isolation and characterization. *J Biol Chem* 1982; 257:10729-32.

103. Miyamoto K, Hasegawa Y, Nomura M, Igarashi M, Kanagawa K, Matsuo H. Identification of the second gonadotropin-releasing hormone in chicken hypothalamus: evidence that gonadotropin secretion is probably controlled by two distinct gonadotropin-releasing hormones in avian species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984; 81(12): 3874-8.
104. Sherwood NM, Lovejoy DA, Coe IR. Origin of mammalian gonadotropin-releasing hormones. *Endocr Rev* 1993; 14(2): 241-54.
105. Neill JD, Musgrove LC, Duck LW. Newly recognized GnRH receptors: function and relative role. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15(8): 383-92.
106. Chen A, Yahalom D, Ben-Aroya N, Kaganovsky E, Okon E, Koch Y. A second isoform of gonadotropin-releasing hormone is present in the brain of human and rodents. *FEBS Lett* 1998; 435: 199-203.
107. Cheon KW, Lee HS, Parhar IS, Hang IS. Expression of the second isoform of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH-II) in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 447-52.
108. Siler-Khodr TM, Grayson M. Action of chicken II GnRH on the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 804-10.
109. Chen A, Ganor Y, Rahimipour S, Ben-Aroya N, Koch Y, Levite M. The neuropeptides GnRH-II and GnRH-I are produced by human T cells and trigger laminin receptor gene expression, adhesion, chemotaxis and homing to specific organs. *Nat Med* 2002; 8: 1421-26.
110. Kim KY, Choi KC, Park SH, Chou CS, Auersperg N, Leung PC. Type II gonadotropin releasing hormone stimulates p38 mitogen-activated protein kinase and apoptosis in ovarian cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6): 3020-6.
111. Illing N, Troskie BE, Nahorniak CS, Hapgood JP, Peter PE, Millar RP. Two gonadotropin-releasing hormone receptor subtypes with distinct ligand selectivity and differential distribution in brain and pituitary in the goldfish (*Carassius auratus*). *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2526-61.

112. Wang L, Bogerd HS, Choi JY et al. Three distinct types of GnRH receptor characterized in the bullfrog. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(1): 361-6.
113. Millar RP, Conklin D, Lofton-Day E et al. A novel human GnRH receptor homolog gene: abundant and wide tissue distribution of the antisense transcript. *J Endocrinol* 1999; 162(1): 117-26 .
114. Millar RP, Lowe S, Conklin D, Pawson A et al. A novel mammalian receptor for the evolutionarily conserved type II GnRH. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(17): 9636-41.
115. Millar RP. GnRH II and type II GnRH receptors, *Trends Endocrinol Metab* 2003;14: 35-43.
116. Neill JD, Duck LW, Sellers JC, Musgove LC. A gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor specific for GnRH II in primates. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 282: 1012-18.
117. Gründker C, Schlotawa L, Viereck V et al. Antiproliferative effects of the GnRH antagonist cetrorelix and of GnRH-II on human endometrial and ovarian cancer cells are not mediated through the GnRH type I receptor. *Eur J Endocrinology* 2004; 151: 141-149.
118. Speroff L, Fritz MA: *Neuroendocrinology*; In *The Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*; 7th Ed. 145-185; Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (PA) 2004.
119. Okada Y, Murota-Kawano A, Kakar SS, Winters SJ. Evidence that gonadotropin-releasing hormone (GnRH) II stimulates luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion from monkey pituitary cultures by activating the GnRH I receptor. *Biol Reprod* 2003; 69(4): 1356-61.
120. Seidman JD, Russel P, Kurman RJ. Surface epithelial tumors of the ovary. In: Kurman RJ, ed. 5th ed. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. New York: Springer-Verlag; 2002. p.791-811.
121. Kang SK, Choi KC, Cheng KW, Nathwani PS, Auersperg N, Leung PCK. Role of gonadotropin-releasing hormone as an autocrine growth factor in human ovarian surface epithelium. *Endocrinology* 2000; 141: 72-80.

122. Yano T, Pinski J, Radulovic S, Schally AV. Inhibition of human epithelial ovarian cancer cell growth in vitro by agonistic and antagonistic analogues of luteinizing hormone-releasing hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; 91(5): 1701-5.
123. Gründker C, Günther AR, Westphalen S, Emons G. Biology of the gonadotropin-releasing hormone system in gynecological cancers. *Eur J Endocrinol* 2002; 146(1): 1-14.
124. Gebauer G, Rieger M, Jager W, Lang N. Prognostic relevance of soluble interleukin-2 receptors in patients with ovarian tumors. *Anticancer Res*. 1999 Jul-Aug;19(4A):2509-11.
125. Sedlacek P, Frydecka I, Gabrys M, Van Dalen A, Einarsson R, Harlozinska R. Comparative analysis of CA125, tissue polypeptide specific antigen, and soluble interleukin-2 receptor alpha levels in sera, cyst, and ascitic fluids from patients with ovarian carcinoma. *Cancer* 2002; 95(9): 1886-93.
126. Kikuchi Y, Kizawa I, Oomori K et al. Effects of cimetidine on interleukin-2 production by peripheral blood lymphocytes in advanced ovarian carcinoma. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1988 Jul;24(7):1185-90.
127. Kramer S, Leeker M, Jager W. Gonadotropin levels in ovarian cyst fluids: a predictor of malignancy? *Int J Biol Markers* 1998; 13(3): 165-8.
128. Nash JD, Ozols RF, Smyth CF, Hamilton TC. Estrogen and anti-estrogen effects on the growth of human epithelial ovarian cancer in vitro. *Obstet Gynecol*. 1989 Jun; 73(6): 1009-16.
129. Karasik A, Menczer J, Pariente C, Kanety H. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-2 are increased in cyst fluids of epithelial ovarian cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78(2): 271-6.
130. Tanriverdi F, Gonzalez-Martinez D, Silveira RF, Hu Y, Maccoll GS, Travers P, Bouloux PM. Expression of gonadotropin-releasing hormone type-I (GnRH-I) and type-II (GnRH-II) in human peripheral blood mononuclear cells (PMBCs) and regulation of B-lymphoblastoid cell proliferation by GnRH-I and GnRH-II. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004; 112(10): 587-94.

131. Okada Y, Murota-Kawano A, Kakar SS, Winters SJ. Evidence that gonadotropin-releasing hormone (GnRH) II stimulates luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion from monkey pituitary cultures by activating the GnRH I receptor. *Biol Reprod* 2003; 69(4): 1356-61.
132. Densmore VS, Urbanski HF. Relative effect of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-I and GnRH-II on gonadotropin release. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(5): 2126-34.
133. Chudecka-Glaz A, Rzepka-Gorska I, Kosmowska B. Gonadotropin (LH, FSH) levels in serum and cyst fluid in epithelial tumors of the ovary. *Arch Gynecol Obstet* 2004; 270(3): 151-6.
134. Blaakaer J, Micic S, Morris ID et al. Immunoreactive inhibin-production in post-menopausal women with malignant epithelial ovarian tumors. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1993; 52(2): 105-10.
135. Jeppsson S, Kullander S, Rannevik G. Peripheral and ovarian venous concentrations of gonadal steroids and CEA in women with ovarian tumors. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1982; 61(3): 209-12.
136. Orson FM, Saadeh CK, Lewis DE, Nelson DL. Interleukin 2 receptor expression by T cells in human aging. *Cell Immunol* 1989; 124(2): 278-91.
137. Reimer T, Gerber B, Kunkel S, Luettich K. Estradiol, gonadotropins, and tumor markers in ovarian cyst fluid. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997; 76(5): 478-83.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Ceren DİNÇER ATA'ya ait "Malign ve Benign Over Tümörlerinde Dokuda ve Periferik Lenfositlerde GNRH-II Gen Ekspresyonu ile kist sıvısı ve serumda sIL-2R, FSH, LH, Östradiol Düzeylerinin Karşılaştırılması" adlı uzmanlık tezi, jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:...../...../2007

Başkan : ..Prof. Dr. ..Yılmaz.. Şahin



Üye : ..Prof. Dr. Mustafa Zengin



Üye : ..Doç. Dr. Ceren Serin



Üye : ..Doç. Dr. Bülent Günel



Üye : ..Doç. Dr. Kürşat Ünüghür





**T. C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE
DOKUDA VE PERİFERİK LENFOSİTLERDE GNRH-II
GEN EKSPRESYONU İLE KİST SIVISI VE SERUMDA
sİL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. CEREN DİNÇER ATA

KAYSERİ – 2007



**T. C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE
DOKUDA VE PERİFERİK LENFOSİTLERDE GNRH-II
GEN EKSPRESYONU İLE KİST SIVISI VE SERUMDA
sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. CEREN DİNÇER ATA

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. İ. SERDAR SERİN**

KAYSERİ – 2007

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMALAR.....	iii
TABLO LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. OVER KANSERİ VE PATOGENEZİ	3
2.2. GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE-II	10
2.3. SOLUBLE İNTERLÖKİN - 2 RESEPTÖRÜ	12
2.4. FSH, LH ve ÖSTRADİOL	14
2.5. GnRH-II, sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADİOL VE OVER KANSERİ.....	14
3. GEREÇ (HASTALAR) VE YÖNTEM.....	15
3.1. PERİFERİK LENFOSİTLER VE DOKUNUN EKSTRAKİYONU, REAL- TIME RT-PCR İLE GNRH-II mRNA EKSPRESYONUNUN TESPİTİ.....	17
3.2. SERUM VE KİST SIVISINDA sIL-2R ÖLÇÜMÜ	19
3.3. SERUM VE KİST SIVISINDA FSH, LH VE ÖSTRADİOL ÖLÇÜMÜ.....	19
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	20
4. BULGULAR.....	21
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇLAR	37
7. KAYNAKLAR	39
KABUL ONAY SAYFASI.....	53

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan değerli hocalarımdan Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mustafa Başbuğ başta olmak üzere değerli hocalarım Prof.Dr.Yılmaz Şahin'e, Prof.Dr. Mehmet Tayyar'a, Prof.Dr.Ercan Aygen'e, Prof.Dr.İpek Müderris hocama, jinekolojik onkoloji alanında bizi yüreklendiren ve tezimin yürütülmesinde emek sarf eden Doç. Dr. Serdar Serin ve Doç.Dr.Bülent Özçelik'e, geldiği günden itibaren tıbbi ve sosyal açıdan ufkumuzu genişleten ve her zaman yanımda olan Yard.Doç.Dr Cem Batukan ve Yard.Doç.Dr.Tuncay Özgün'e, tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren Endokrin Anabilim Dalı hocalarına ve Yard.Doç.Dr.Fatih Tanrıverdi'ye, rotasyonlarım sırasında bana destek olan tüm hocalarıma, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sevgili hocam Prof.Dr.Nedret Koç'a, Genetik Anabilim Dalı hocaları ve asistanlarına, özellikle Hilal Hanım'a, İstatistik AD'dan Yard.Doç.Dr.Ahmet Öztürk ve Uzm.Dr.Ferhan Elmalı'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İyi ve kötü günleri paylaştığım hayat boyu sevgiyle hatırlayacağım doktor arkadaşlarıma, tüm hemşire ve sağlık personeline en içten teşekkürlerimi sunarım.

Her koşulda yanımda olan ve bana sonsuz destek veren sevgili anneme ve babama, tanıdığım günden itibaren sevgi ve sabırla bana destek olan sevgili eşime sonsuz teşekkürler.

Dr. Ceren Dinçer ATA

KISALTMALAR

BRAF	: B-raf protein
BRCA	: Meme Kanseri Geni
EFO-21	: Human, Caucasion, Ovary, Cystadenocarcinoma
E2	: Östradiol
ERα	: Östrojen reseptör alfa
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FSH	: Follikül Stimülize edici Hormon
GnRH	: Gonadotropin-Releasing Hormon
GnRH-II mRNA	: GNRH-II messenger Ribonükleik Asit
GM-CSF	: Granülosit makrofaj koloni stimülan faktör
HERS II	: Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study
HRT	: Hormon Replasman Tedavisi
HBOC	: Herediter meme over kanser
INF	: İnterferon
IL-2R$\alpha/\beta/\gamma$	: İnterlökin 2 reseptör alfa/beta/gamma
IL-1, 2, 6, 8, 10	: İnterlökin 1, 2, 6, 8, 10
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IGFBP	: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcıprotein
kA	: Kilo dalton
KRAS	: c-Kirsten ras protein

LAK	: Lenfokin Aktived Killer
LH	: L�teinizan Hormon
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinaz
mIU/mL	: mili International Unit/mililitre
NK	: Natural Killer
OKS	: Oral kontraseptif
OVCAR-3	: Human, Caucasion, Ovary, Carcinoma
OYE	: Over yüzey epiteli
pg/mL	: pikogram/mililitre
p53	: Tümör protein 53
RT-PCR	: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
sIL-2R	: soluble İnterlökin 2 reseptör
SKOV-3	: Human, Ovary, Caucasion, Adenocarcinoma
TGF�	: Transforme eden büyüme faktörü alfa
TGF�	: Transforme eden büyüme faktörü beta
TNF�	: Tümör nekrozis faktör alfa
VEGF	: Vaskuler endotelyal büyüme faktörü
VKİ	: Vücut kitle indeksi

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. GnRH-II'nin dokulardaki dağılımı ve olası fizyolojik fonksiyonları	10
Tablo 2. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların postmenopozal (Post) ve premenopozal (Pre) durumlarına göre demografik ve klinik özellikleri	22
Tablo 3. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign hasta gruplarında kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin Ortalama±SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri.....	23
Tablo 4. Malign ve benign hasta gruplarında serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 değerlerinin Ortalama±SS,Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	24
Tablo 5. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu, serum sIL-2R düzeyi ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama±SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	25
Tablo 6. Postmenopozal hastalarda benign ve malign grupta serum ve kist sıvısı FSH, LH ve E2 düzeylerinin Ortalama±SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri	26
Tablo 7. Premenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda doku ve lenfosit GNRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama±SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	27
Tablo 8. Premenopozal malign ve benign hastaların serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 düzeylerinin Ortalama±SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri	28

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 1.** GnRH-II'ye ait genin 20.kromozom kısa kolundaki genomik lokalizasyonu. 11
- Şekil 2.** İnterlökin 2 Reseptörün yapısı..... 13
- Şekil 3.** Beta-aktin ve GnRH-II PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü. 18

**MALİGN VE BENİGN OVER TÜMÖRLERİNDE DOKUDA VE
PERİFERİK LENFOSİTLERDE GnRH-II GEN EKSPRESYONU İLE
KİST SIVISI VE SERUMDA sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADIOL
DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı benign ve malign over tümörü olan hastalarda tümör dokusunda ve periferik kanda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve östradiol seviyeleri arasındaki ilişkiyi belirlemek ve böylece invivo ortamda over tümör patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktır.

Materyal ve Metod: Mart 2006 ile Mart 2007 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde pelvik kitle ön tanısıyla opere edilen 46 hasta çalışmaya alındı. Aynı tarihler arasında aynı merkezde tümör dışı nedenlerle opere olan 20 hasta kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubunda serum sIL-2R düzeyi çalışılırken diğer tüm hastaların serum örneklerinde ve ameliyat sırasında aspire edilen kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve estradiol düzeyleri ölçüldü. Ameliyat sırasında kist duvarından alınan dokuda, kontrol grubunun morfolojik olarak normal olan overinden alınan dokuda ve tüm hastaların periferik kanında GnRH-II mRNA ekspresyonu çalışıldı. Postoperatif histopatoloji sonuçlarına ve menapozal durumlarına göre tüm gruplar değerlendirildi.

Bulgular: Hastalar histopatoloji sonuçlarına göre üç gruba ayrıldı: 24 malign over tümörü olan hasta, 22 benign over tümörü olan hasta ve 20 kontrol hastası mevcuttu. Ayrıca premenopoz ve postmenopoz olarak alt gruplar oluşturularak değerlendirme yapıldı. Malign, benign ve kontrol gruplarında doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından istatistiksel olarak

anlamli fark bulunmadı ($p>0,05$). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksekti ($p<0,05$). Malign ve benign gruplar arasında kist sıvısı sIL-2R düzeyleri açısından fark yoktu ($p>0,05$). Serum FSH, LH ve östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında istatistiksel fark göstermedi ($p>0,05$). Kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$).

Postmenopozal dönemdeki malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu kontrol grubu ve benign gruba göre anlamli olarak yüksekti ($p<0,05$). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamli fark göstermedi ($p>0,05$). Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi üç grup arasında farklı değildi ($p>0,05$). Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksekti. ($p<0,05$). Serum östradiol düzeyi her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamli değildi ($p>0,05$). Postmenopozal hastalarda kist sıvısı FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermezken ($p>0,05$), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek saptandı ($p<0,05$).

Premenopozal hasta grubunda ise dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamli fark göstermedi ($p>0,05$). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Kist sıvısı sIL-2R, serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign ve benign gruplar arasında farklı değildi ($p>0,05$). Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamli değilken ($p>0,05$), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamli olarak yüksek bulundu ($p<0,05$).

Sonuç: Bu çalışma sonucunda özellikle postmenopozal malign over tümörlü hastalarda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeyi arasında düzenleyici mekanizmaların olabileceği ve GnRH-II'nin lokal düzeyde hormon yapımına katılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: GnRH-II, Over tümörü, sIL-2R, FSH, LH, Estradiol

**COMPARISON OF GNRH-II GENE EXPRESSION IN TUMOR TISSUE
AND PERIPHERAL LYMPHOCYTES WITH
SERUM AND CYST FLUID LEVELS OF sIL-2R, FSH, LH, ESTRADIOL
IN MALIGNANT AND BENIGN OVARIAN TUMORS**

SUMMARY

Aim : The aim of this study was to determine the relationship between the levels of GnRH-II mRNA expression in peripheral lymphocytes and tumoral tissue and sIL-2R, FSH, LH and estradiol levels in serum and cyst fluids of patients with benign and malignant ovarian tumors. Thus we decided to contribute the pathogenesis of ovarian tumor in vivo.

Materials and Methods: The study group comprised 46 patients operated for pelvic mass between March 2006 and March 2007 at the Department of Obstetrics and Gynecology, Erciyes University School of Medicine. Control group included 20 patients operated for non-tumoural causes between the same date, at the same department. sIL-2R, FSH, LH and estradiol levels were measured from serum collected preoperatively and cyst fluid obtained intraoperatively in all patients while in the control group serum sIL-2R was measured. GnRH-II mRNA expression was measured in tissue derived from cyst wall , control groups' morphologically normal ovarian tissue and peripheral lymphocytes of all patients. All groups were evaluated according to the postoperative histopathological results and menopausal status.

Results: Patients were divided into three groups according to the histopathological report : 24 patients with malignant ovarian tumor, 22 patients with benign ovarian tumor and 20 control patients. Besides premenapousal and postmenapousal subgroups were also evaluated in each group. GnRH-II mRNA expression was found statistically insignificant in tissue sample and in peripheral lymphocytes in malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$). Cyst fluid sIL-2R levels and serum FSH, LH, estradiol levels were not

significantly different between malignant and benign groups ($p>0,05$). Cyst fluid sIL-2R FSH, LH and estradiol levels found significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$).

In postmenopausal patients with malignant ovarian tumor GnRH-II mRNA expression in tissue sample was significantly higher than benign and control groups ($p<0,05$). GnRH-II mRNA expression in peripheral lymphocytes of the postmenopausal patients was not significantly different between malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were not significantly different between three groups in postmenopausal patients ($p>0,05$). sIL-2R levels in cyst fluid was significantly higher in malignant group than in benign group ($p<0,05$). Serum estradiol levels were not different in two groups ($p>0,05$). FSH levels in cyst fluid were not significantly different between malignant and benign groups ($p>0,05$) but cyst fluid LH and estradiol levels were significantly higher in malignant groups than in benign groups of postmenopausal patients ($p<0,05$).

In premenopausal patients, GnRH-II mRNA expression in tissue sample and lymphocytes were not significantly different between malignant, benign and control groups ($p>0,05$). Serum sIL-2R levels were significantly higher in malignant group than benign group ($p<0,05$). sIL-2R in cyst fluid and serum FSH, LH, estradiol levels were not different between two groups ($p>0,05$) but serum sIL-2R and cyst fluid LH levels were significantly higher in malignant group than in benign one ($p<0,05$).

Conclusion: Our results indicate that regulator mechanisms between GnRH-II mRNA expression and sIL-2R levels could play a role in the pathogenesis of malignant ovarian tumors particularly in postmenapousal patients and GnRH-II could participate in local hormone production.

Key Words: GnRH-II, Ovarian tumor, sIL-2R, FSH, LH, Estradiol

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Over kanseri kadınlarda görülen kanserlerin %4'ünü, kadın genital kanserlerinin ise %25'ini oluşturur (1). Jinekolojik kanserler arasında en yüksek mortaliteye sahip olması nedeniyle jinekolojik onkolojide önemli bir yere sahiptir. Erken dönemde tanı konulursa %90 sağ kalım elde edilebilirken hastalık genelde çok geç evrede tanımlanabildiği için 5 yıllık sağ kalım oranı %25-30'a gerilemektedir (2).

Malign over tümörlerinin patogeneğinde gonadotropinler, GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon) sistemi, insülin sistemi, sex steroidleri ve sitokinler gibi immünolojik faktörler araştırılmıştır (3-5). Özellikle immün sistem elemanları ve bunlar üzerindeki düzenleyici mekanizmalar yeni araştırmaların konusu olmuştur (6).

Yaygın solid tümörlerde azalmış IL-2 (interlökin-2) yapımı en önemli immün disfonksiyonlardan biri olarak kabul edilmektedir (7). IL-2 antineoplastik immüniteyi regüle eden en önemli sitokindir. IL-2 IL-2R (interlökin 2 reseptör)'e bağlanarak etki gösterir. Serum sIL-2R (soluble IL-2R) düzeyi aktif lenfositlerin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R düzeyi ile korelasyon gösterdiğinden sIL-2R düzeyi immünolojik aktivasyonun belirteci olarak birçok yayında çalışılmıştır (8-10).

GnRH-II ilk defa tavuk beyininden izole edilmiş ve 1990'lı yılların ortalarında insan beyinde ve bazı periferik dokularda gen ekspresyonu gösterilmiştir (11,12). Son yıllarda yapılan çalışmalarda üreme sisteminin tümöral dokularında GnRH-II mRNA ekspresyonu gösterilmiş olup, GnRH-II'nin over kanser hücreleri üzerine

antiproliferatif etkisinin klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'e göre daha fazla olduğu rapor edilmiştir (13,14). GnRH sisteminin immün fonksiyonlarla ilişkisini araştıran bir çalışmada ise GnRH-II'nin lenfositlerde IL-2R ekspresyonunda düzenleyici etkisinin olduğu belirtilmiştir (15).

Gonadotropin hipotezine göre FSH ve/veya LH'nın direk yollarla veya indirek olarak östradiol sentezini uyararak over tümöründe malign transformasyonu artırdığı görüşü savunulmaktadır (16). Yapılan invitro çalışmada gonadotropinlerin GnRH-I ve GnRH-II gen ekspresyonunu normal hücre ve kanser hücre dizilerinde farklı etkilediği rapor edilmiştir (17). Ancak in vivo düzeydeki etkiler halen bilinmemektedir.

İleri evre over kanser tedavisinde GnRH analogları ve deneysel olarak IL-2 immünoterapi kullanılırken GnRH-II'nin ve IL-2R'ün over tümöründe birbirleri üzerindeki etkileri bilinmemektedir.

Over kanserinde kist sıvısındaki hücrelerin büyük çoğunluğunu makrofaj ve lenfositlerin oluşturduğu immünohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir (18). Ancak bu hücrelerin immün cevap ile oluşan tümör ile ilişkili mononükleer hücreler mi yoksa bizzat tümör büyümesi ile ilişkili hücreler mi olduğu halen net değildir (18). Çalışmanın kist sıvısı ve kanda birlikte yapılması konak hücre ile tümör hücreleri arasındaki kompleks ilişkinin daha iyi anlaşılmasına yöneliktir.

Bu çalışmanın amacı benign ve malign over tümörü olan hastalarda tümör dokusunda ve periferik kanda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH ve östradiol düzeyleri arasındaki ilişkiyi belirlemek ve böylece invivo ortamda over tümör patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktır. Ayrıca GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeylerini değerlendirerek klinikte benign-malign ayırımında kullanılabilirliğini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. OVER KANSERİ VE PATOGENEZİ

Over kanseri jinekolojik kanserler arasında en yüksek mortaliteye sahip olan kanserdir. Gelişmiş ülkelerde kadınlarda görülen kanserler arasında 6.sırada yer alırken kansere bağlı ölümlerde 5.sırada yer almaktadır (2). Kanıtlanabilmiş erken tanı yönteminin olmaması nedeniyle ancak hastaların $\frac{1}{4}$ 'ü tanı anında erken evredir (2). Over kanser patogenezinin hala net olarak anlaşılamaması erken tanı ve tedavi olanağını güçleştirmektedir.

Over kanseri genetik veya kritik hedef genlerin somatik mutasyonu zemininde büyüme faktörleri, sex steroidleri, gonadotropinler, GNRH-I/GNRH-II sistemi (nöroendokrin sistem), insülin sistemi ve immünolojik faktörlerin yardımıyla hücrelerde proliferasyon, apoptozis ve DNA onarımında meydana gelen aksamalar sonucu gelişir (3-5).

Over kanserlerinin %90'ı sporadik, %10'u ise genetik mutasyonlara bağlıdır (19,20). Ailesel over kanserlerinin %85-90'ından herediter meme-over kanser sendromu (HBOC) sorumludur. HBOC sendromunun büyük çoğunluğuna 17.kromozomun kısa koluna yerleşmiş olan BRCA-1 (Meme kanseri geni-1) geninin genetik mutasyonu neden olurken daha az bir kısmından 13.kromozomun kısa koluna lokalize olan BRCA-2 (Meme kanseri geni-2) geni sorumludur (21). p53 mutasyonu insan kanserlerinin %50'sinden fazlasında tespit edilmiştir (22). Değişik çalışmalar,

yüksek dereceli olanlarda daha yoğun olmak üzere seröz over karsinomlarında yüksek oranlarda p53 mutasyonu ve immünohistokimyasal olarak p53 pozitifliği olduğunu göstermiştir (22).

Son yayınlar over kanser histolojik subtiplerinin farklı morfolojik ve moleküler genetik değişimlerden kaynaklandığını rapor etmektedir. Buna göre yüksek grade'li seröz karsinom ve endometrioid karsinomların seröz epitelin ovulasyon ile oluşan inklüzyon kistlerinde p53 mutasyonu ve BRCA-1, BRCA-2 disfonksiyonu ile denovo oluştuğu, düşük grade'li seröz karsinomların ise adenom, borderline tümör, karsinom sırasını izleyerek KRAS ve BRAF gen mutasyonu ile oluştuğu rapor edilmiştir (23).

Over kanser patogenezinin yönelik birçok hipotez ortaya atılmış ve buna yönelik çalışmalar yapılmıştır.

1971 yılında Fathalla'nın ortaya attığı sürekli ovulasyon teorisine göre ovulasyon ile follikül rüptüre olup over yüzeyinde hasar meydana gelmekte ve böylece bu bölgenin östrojenden zengin sıvıya maruziyeti ve over yüzeyinin iyileşmesi sırasında ortaya çıkan inklüzyon kistlerinde meydana gelen DNA hasarı ile tümör gelişmektedir (24). Son yıllarda yapılan çalışmalarda over kanserinin inklüzyon kistlerinden köken aldığı desteklenirken bu kistlerin ovulasyon sonrası değil yüzey epitelinin stromaya invajinasyonu ile oluştuğu görüşü ağırlık kazanmaktadır (25).

Gonadotropin hipotezi over kanser patogenezinin açıklamaya yönelik ortaya atılan ilk hormonal hipotezdir. Buna göre over dokusunun LH ve/veya FSH ile aşırı stimülasyonu direk gonadotropin ile ilişkili genlerin aktivasyonu sonucu veya indirek olarak overden sex steroidlerin yapımını artırarak parakrin veya endokrin mekanizmalar ile malign transformasyonu arttırdığı görüşü savunulmaktadır (16). OYE (Over Yüzey Epitel) hücresi ve over kanser hücrelerinin gonadotropinlere hassas olup olmadıkları net değildir. Çalışmaların büyük bir kısmında proliferasyonu arttırdıkları rapor edilmişse de (16,26), bazı çalışmalarda böyle bir etki gösterilememiştir (27,28). Hayvan çalışmalarında gonadotropinlerin gonadal tümör gelişimini indüklediği gösterilmiştir ancak gelişen tümör epitelyal tümör değil stromal tümördür (29). Yapılan in vitro çalışmalarda FSH ve hCG'nin over kanser

hücre kültürlerinde proliferasyonu artırdığı belirtilmiştir (30). Schiffenbauer ve arkadaşları over kanserinin peritoneal yayılımını araştırdıkları fare modelinde ooferektomi veya FSH/LH tedavisi ile tümörün anjiogenezi artırarak yayıldığını göstermişlerdir (31). Bu çalışma FSH ve LH'nın over tümör hücrelerinde VEGF ekspresyonunu artırdığını rapor eden başka bir çalışma ile desteklenmiştir (32). Osterholzer ve arkadaşlarının yaptığı başka bir invitro çalışmada ise FSH ve LH'nın tavşan OYE hücrelerinde proliferasyonu artırmadığı rapor etmişlerdir (33). Helzlsouer ve arkadaşları serum FSH ve LH düzeyi elde edilip 15 yıl takip edilen 20.305 kadının katıldığı bir çalışmada sonradan over kanseri gelişen 31 kadında serum FSH düzeyinin 62 kontrol hastasına göre anlamlı olarak düşük olduğunu serum LH düzeyinin ise anlamlı fark göstermediğini rapor ettiler (34). Başka bir yayında serum FSH ve LH düzeyi ile over kanser arasında ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır (35). Epidemiyolojik çalışmaların bir kısmı indirek olarak gonadotropin hipotezini desteklemektedir. Örneğin PCOS'lu hastalarda artan LH/FSH oranı ve androstenedion ve testosteron ile risk artarken, artmış parite ve OKS kullanımı ile risk azalmaktadır (36,37). Ancak yayınların birkısmı bu ilişkiyi savunmamaktadır (38).

İn vitro çalışmalarda östrojenin OYE hücrelerini proliferere ettiği ve dışardan verilen östrojenin kobaylarda seröz over kist gelişimi ile sonuçlandığı gösterilmiştir (39,40). Deneysel olarak estrojenin özellikle ER α (östrojen reseptör alfa) aşırı ekspresyonu olan over kanser hücre dizilerinde tümör progresyonunu arttırdığı ve bunu c-myc, fibulin-1, katepsin-D ve birkaç kallikreinin düzeyini arttırarak gerçekleştirdiği saptanmıştır (41). Östrojenin over kanserindeki rolü ile ilişkili epidemiyolojik kanıtlar açık değildir. HRT (Hormon Replasman Tedavisi)'nin hangi tür olursa olsun uzun süreli kullanımı over kanser riskini artırıyor görünmektedir (42). Kombine östrojen-progestin preparatları tek başına östrojen preparatlarına göre daha zayıf etkili gibi görünmektedir. Bu da progestin komponentinin koruyucu etkisine bağlı olabilir. Over kanserinin uzun bir latent periyodu olduğu ve HRT kullanımı ile henüz ortaya çıkmamış ve klinik tanı almamış tümörün gelişimini hızlandığı düşünülmektedir (37). Ancak HERS II (Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study) çalışmasına göre HRT ve plasebo kullananlar arasında over kanser insidansı açısından fark gözlenmemiştir (43). İki prospektif çalışmada postmenopozal hastalarda over kanser tanısı öncesi östrojen düzeyi ile over kanseri arasında ilişki

saptanmamıştır (34,44). OKS kullanımı östrojen düzeyini azaltarak östrojen hipotezini destekler görünse de gebelikte 100 kat artan östrojen düzeyi olmasına rağmen gebelik over kanserinden koruyucudur. Gebelikte artan progesteron düzeyi ve ovulasyonun baskılanması tahmin edilen koruyucu etkilidir (45). Endometriosisli hastalarda endometrioid ve berrak hücreli kanser gelişimi açısından artmış risk saptanması östrojenin bu tümörlerin etyolojisinde rol alabileceği görüşünü desteklemektedir (46). Endometriotik lezyonlar yüksek aromataz aktivitesi ve 17-OH steroid dehidrogenaz tip II enzim (östradiolü estrona çevirir) eksikliği nedeniyle lokal östradiol üretimi gerçekleştirir (47). Menopoz sonrası endometrioid ve berrak hücreli over tümör insidansının plato yapması östrojenin bu tip tümörlerde etyolojik rolü olduğunu destekler (48). Artmış östrojen düzeyinin over kanser gelişiminde ve progresyonundaki rolünü daha iyi anlayabilmek için daha fazla veriye ihtiyaç vardır.

Progesteron over kanser gelişimine karşı koruyucu etkilidir. Progesteron eksikliği olan infertil hastalarda over kanser insidansı daha yüksek bulunmuştur (49). Meme kanserinin tersine geç yaşta gerçekleşen gebelik over kanserine karşı koruyucudur. Soyulma teorisine göre gebelik seviyesindeki progesteron düzeyi genetik olarak hasarlı, premalign OYE hücrelerini temizler ve böylece sonraki yıllarda ortaya çıkabilecek tümör gelişimini azaltır (50).

Risch ve arkadaşları over epitel hücrelerinin androjen ile aşırı stimülasyonu sonucu over kanser riskinin artabileceğini ortaya atmışlardır (37). Yapılan birkaç invitro çalışmada androjen verilmesi ile normal OYE hücrelerinin proliferasyonunun arttığı gösterilmiştir (26,51). İki yayında ise postmenopozal hastalarda over kanseri ile androjen düzeyi arasında ilişki saptanmazken premenopozal over kanserli hastalarda serum androstenedion ve DHEA düzeyleri ile over kanseri açısından artmış risk rapor edilmiştir (34,44). Buna göre over kanser riski bu hormonların dolaşımdaki düzeyinden çok kadının üreme çağı boyunca maruz kaldığı over mikroçevresindeki hormon düzeyi ile ilişkili görünmektedir (52).

İnsülin ve IGF-1 meme, prostat ve over kanserinde mitojenik ve antiapoptotik özellikler gösterir (53). Her ikisi de LH ile ilişkili androjen sentezini artırırken SHBG ve IGFBP sentezini baskılar. Böylece serbest, biyolojik olarak aktif sex steroid hormonlar ve IGF-1 dolaşımda bulunur (53). Ancak Tip2 diabetes mellituslu

hastalarda artmış insülin direnci ve hiperinsülinemiye rağmen bu hastalarda over kanser riskinde artış bulunmamıştır (54). Sonuç olarak insülin ve IGF-1 over kanser riski açısından halen araştırılmaktadır.

Aşırı kilo alımı (ortalama %20-40) over kanser riski açısından hafif bir artışa yol açarken, birçok çalışmada risk artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış, bazı çalışmalarda aralarında hiçbir ilişki gösterilememiş, bazı yayınlarda ise riskte azalma olduğu rapor edilmiştir (55-62).

Bukovsky ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada korpus luteum ve over kanseri arasında benzerlikler olduğunu belirtmiştir (63). Bunlardan bir tanesi korpus luteum ve over tümörünün T hücreleri tarafından infiltre edilmesi ve lokal inflamasyon oluşmasıdır. Düzenli menstruel sikluslar için luteal dokunun T hücreleri tarafından infiltre edilip gerilemesi gereklidir. Over tümöründe ise T hücreleri over tümörünü infiltre eder ancak kanser hücrelerinin gerilemesini sağlayamazlar ve apoptosise uğrayarak ortamdan yok olurlar. Ortamdaki T hücre defekti yani lokal immünsupresyonun korpus luteumun gerilemesini engelleyerek buna yol açan olası tümöral hücrelerin proliferasyonuna zemin hazırladığı düşünülmektedir (63).

Yakın zamanda Ness ve arkadaşları kronik inflamasyonun over tümör patogeneğinde rol oynayabileceğine işaret etmişlerdir (64). Lokal inflamasyonu artıran bazı durumların örneğin ovaryan endometriosis, pelvik inflamatuvar hastalık, talk ve/veya asbest maruziyetinin artmış over kanser riski ile ilişkili olduğunu, bunun yanında lokal inflamasyonu azaltan histerektomi, tüp ligasyonu ve anti-inflamatuvar ilaç kullanımının riskte azalma ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (64).

Anjiogenezis kanser gelişimi ve metastazı için kritik öneme sahiptir. Anjiogenezisin endojen stimülatörlerinden olan VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü), ve FGF (Fibroblast büyüme faktörü) vasküler endotel hücrelerinin büyümesini uyarır. VEGF over tümörü tarafından salgılanmaktadır (65). Bu nedenle son yıllarda birçok çalışma anjiogenez inhibitörleri üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Telomer uzunluğunun korunması devamlı hücre proliferasyonu için gereklidir. Telomer kaybını önleyen temel mekanizma telomerazdır. Telomeraz inhibisyonu telomer kısalması sonucunda kromozom instabilitesi ve hücre ölümüne neden olur. Epitelyal over tümörleri dahil tüm kanserlerin %85-90'ı telomeraz aktivitesine

sahipken normal hücreler düşük düzeyde telomeraz aktivitesi göstermektedir (66). Buradan yola çıkarak telomeraz inhibitörleri ile tedavide selektif olarak kanser hücrelerinin çoğalmasının durdurulması amaçlanır.

Son yıllarda çeşitli sitokinlerin over kanser patogeneğinde rol oynayabileceği gösterilmiştir. Örneğin ileri evre over kanserli hastaların serum ve asit sıvısında immünsupresif sitokinler olan IL-10 (interlökin-10) ve TGF- β (Transforme edici büyüme faktörü-beta) düzeyi yüksek bulunmuştur (67). IL-8 (interlökin-8) over tümörleri tarafından üretilir ve eksprese edilir (68). IL-8 tumor anjiogenesi ve over kanser hücrelerinin stimülasyonunda rol alarak tümörün büyümesine ve metastaz yeteneği kazanmasına yol açar (69). Benzer şekilde IL-6 (interlökin-6) over kanser hücreleri tarafından önemli miktarda üretilir. Yüksek IL-6, IL-1 (interlökin-1), TNF- α (Tümör nekrozis faktör-alfa) düzeyi kötü prognoz ile ilişkilidir (70).

IL-2 ve IL-2R over kanserli hastalarda yaygın araştırma konusu olmuştur. Çalışmalarda over kanserli hastalarda meydana gelen immün disfonksiyonun azalmış IL-2 yapımı ile ilgili olduğu rapor edilmektedir (71). IL-2 bağışıklık sisteminin en önemli anti-tümöral etkili sitokinlerinden birisidir. Tümör hücresine karşı doğrudan sitotoksik etkisi yoktur. Etkisini T-lenfositler, büyük granüler lenfositler ve aktiflenmiş B-lenfositler üzerinden gösterir. İstirahat halindeki hücre yüzeyinde IL-2R az sayıda bulunur. Antijenle uyarı sonrası hücre yüzeyinde eksprese edilen IL-2R'un bir kısmı sIL-2R olarak ortama verilir. sIL-2R immün sistem aktivasyonunun göstergesidir. IL-2'nin biyolojik etki göstermesi için IL-2R'üne bağlanması gereklidir. IL-2'nin reseptörüne bağlanması, T lenfositlerin proliferasyonuna ve sitokin salınımına neden olur (72). Yapılan bir çalışmada artan serum sIL-2R düzeyinin immün sistem supresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (73). Buna göre sIL-2R IL-2'nin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R'e bağlanmasını azaltarak spesifik lenfosit klonlarının proliferasyonunu inhibe eder. Ayrıca hücre membranından ayrılan IL-2R'ler aktif lenfositlerin fonksiyonunu tüketir. Yüksek seviyede sIL-2R B lenfositleri baskılayarak immünglobülin konsantrasyonunu azaltmaktadır (73). Wang ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada over kanser hücre dizileri tarafından üretilen bazı süpernatantların IL-2 ile ilişkili T hücre proliferasyonunu IL-2R β (IL-2Rbeta) ve IL-2R γ (IL-2Rgamma) ekspresyonunu baskılayarak bloke ettiğini rapor etmiştir (74). Maccio ve arkadaşları over kanser hastalarında serumda T hücre

cevabında azalma olduğunu ve bunun da özellikle hücre membranına bağlı olan sIL-2R ekspresyonundaki azalmayla ilişkili olabileceğini göstermişlerdir (75).

GnRH-II GnRH-I ile birlikte overde steroidogenesis, hücre proliferasyonu ve apoptosisi regüle ederek lokal parakrin ve otokrin fonksiyon gösterir (76). Yapılan çalışmalarda GnRH-II'nin overde negatif otokrin büyüme faktörü gibi fonksiyon gördüğü gösterilmiştir (77). RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) ve Southern Blot analizleri ile normal OYE, ölümsüz OYE, primer over kanser kültürleri ve over kanser hücre dizilerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu gösterilmiştir (13). Gründker ve arkadaşları EFO-21, OVCAR-3 ve SKOV-3 kanser hücre dizilerinde proliferasyonun GnRH-II tedavisi ile doz ve zaman bağımlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin eşit dozdaki GnRH-I agonistlerine göre anlamlı olarak daha potent olduğu rapor edilmiştir (14). GnRH-IR (GnRH-I Receptör) bulunmayan SKOV-3 kanser hücre dizilerinde GnRH-I agonist ile tedavinin hücre proliferasyonu üzerine etkisinin olmadığı ancak GnRH-II ile tedavi sonrası hücre büyümesinin büyük oranda baskılandığı belirtilmiştir (77). Bu gözlemden yola çıkarak GnRH-II'nin over kanser hücrelerinde antiproliferatif etkisinin GnRH-I reseptör yoluyla değil GnRH-II/GnRH-II reseptör sistemi yoluyla olduğu ve over kanser hücrelerinde ek bir otokrin regülatör sistemi olduğu rapor edilmiştir. GnRH-II sisteminin hangi mekanizmalar üzerinden etki gösterdiği henüz tam olarak açıklanamamıştır.

Over kanserli hastalarda GnRH-II ile IL-2R arasındaki ilişki henüz bilinmemektedir. Yapılan tek çalışma Tanrıverdi ve arkadaşlarına aittir. Bu çalışmada GnRH-II'nin sağlıklı bireylerin periferik lenfositlerinde IL-2R ekspresyonunu azaltarak lenfosit proliferasyonu üzerinde düzenleyici etkisi olduğu rapor edilmiştir (15).

Over kanserinin primer tedavisi sitoredüktif cerrahi ve Evre 1A, 1B grade 1, 2 hastalar dışında cerrahi sonrası 6 kür platin bazlı kombine kemoterapidir (78,79). İleri evre over kanser hastalarının second-line tedavisinde platin olmayan kemoterapötik ajanlar, EGF inhibitörleri, anjiogenez inhibitörleri, gen tedavisi, hormon tedavisi ve immünoterapi araştırılmaktadır (80-89). İntraperitoneal rekombinat IL-2 tedavisi ve

GnRH analog tedavisinin ileri evre veya relapslarda kemoterapi ile karşılaştırılabilir olduğu rapor edilmiştir (90,91).

Tümör biyolojisini daha iyi anlamamız benign-malign over kanseri ayırımında iyi bir belirteç saptamamıza ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine ışık tutacaktır.

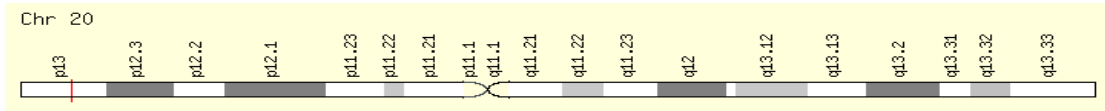
2.2. GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE-II

Hipotalamik bir peptid olan GnRH hipofiz gonadotrop hücrelerinden FSH ve LH salınımını uyarak üreme sisteminin temelini oluşturur (98). GnRH analogları onkolojide prostat kanseri, meme kanseri gibi sex hormon bağımlı tümörlerde, kemoterapiye dirençli over kanserinde kullanılmaktadır (99). 1990'lı yılların ortalarında ikinci GnRH formu olan GnRH-II insan beyninden ve bazı periferik dokulardan izole edilmiştir (100,101). Bu form ilk defa tavuk beyninden izole edildiği için chicken GnRH-II (cGnRH-II) olarak isimlendirilmiştir (102). GnRH-II'nin aminoasit dizisi (pGlu-His-TRP-Ser-His-Gly-Trp-Y-Tyr-Pro-Gly-NH₂) klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'den (pGlu-His-Trp-Ser-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) 5, 7, 8. pozisyonundaki aminoasitlerin farklı olması ile ayrılır (103). cGnRH-II balıktan insana kadar tam olarak ve benzersiz bir şekilde yapısını korumuştur (104). Bu da onun önemli fonksiyonları olduğunu gösterir.

Tablo 1. GnRH-II'nin dokulardaki dağılımı ve olası fizyolojik fonksiyonları

Doku	Fonksiyonu
Santral ve Periferik Sinir Sistemi	Nöromodülasyon
Mediobazal Hipotalamus	Gonodotropin sekresyonunun düzenlenmesi
Limbik yapılar	Üreme davranışının uyarılması
Plasenta/ Endometrium/ Meme/ Over	Endokrin fonksiyonların düzenlenmesi
Kadın üreme sistemi tümörleri	Hücre büyümesinin inhibisyonu
Normal T hücreleri/ Tümöral T hücreleri	Hücre adezyon ve migrasyonunun stimülasyonu

İnsanda GnRH-II'yi kodlayan gen 20.kromozom üzerinde bulunur (Şekil 1). GnRH-II GnRH-I ile %70 oranında benzerlik gösterir (105). GnRH-II beyinde özellikle preoptik ve mediobazal hipotalamik alanlarda ve hipokampus ve amigdala gibi limbik yapılarda bulunur (106). Periferde ise böbrek, prostat ve kemik iliğinde ayrıca kadın üreme sistemiyle ilişkili plasenta, endometrium, meme, OYE hücresi ve granüloza hücrelerinde yüksek konsantrasyonlarda eksprese edilir (13,17,101, 107,108). Üreme sisteminin tümöral dokularında GnRH-II mRNA ekspresyonunun gösterilmesiyle birlikte GnRH-II'nin tümör büyümesini regüle ettiği düşüncesi ortaya atılmıştır (13,75,109). Bu hipotez son yayınlarda GnRH-II'nin over, endometrium ve meme kanser hücrelerinde proliferasyonu azalttığına gösterilmesiyle desteklenmiştir (13,75,109). GnRH-II'nin over kanser hücreleri üzerine antiproliferatif etkisinin klasik memeli GnRH'sı olan GnRH-I'e oranla daha fazla olduğu rapor edilmiştir (14). Günümüzde GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Yapılan invitro çalışmada GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin bir bölümünü p38 MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) sinyal yolunun aktivasyonu ile gerçekleştirdiği ve aynı sinyal yolu ile apoptozisi indüklediği tespit edilmiştir (110).



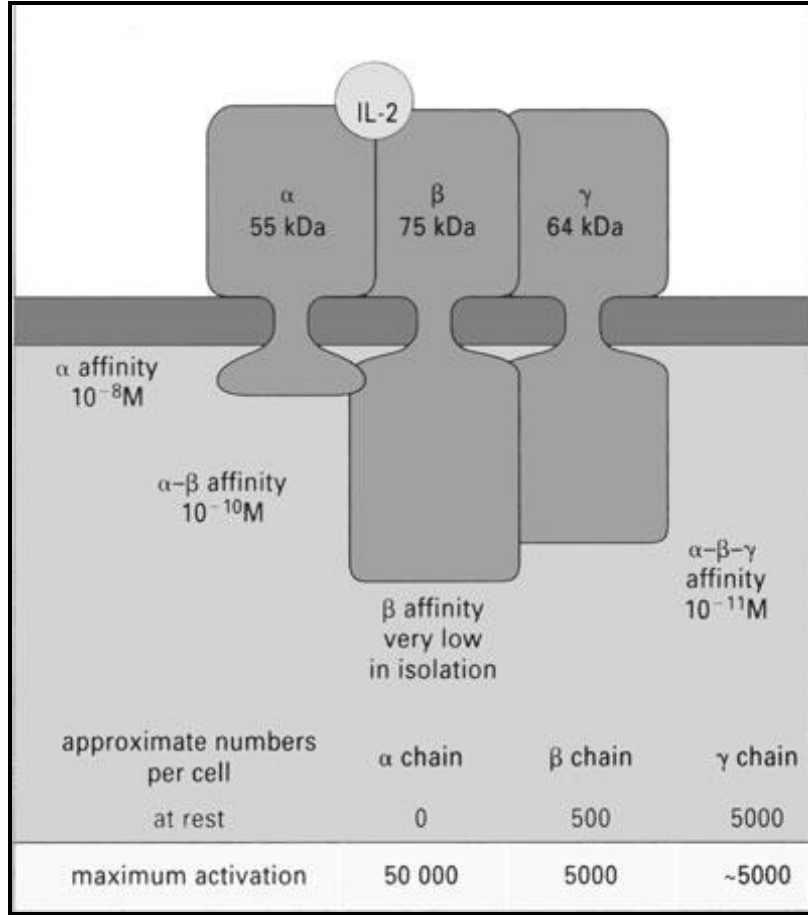
Şekil 1. GnRH-II'ye ait genin 20.kromozom kısa kolunda genomik lokalizasyonu

GnRH-II'nin dokularda yaygın dağılımı çalışmaları reseptörünün araştırılmasına yöneltmiştir. GnRH-IIR (GnRH-II reseptör)'ü balıklarda, amfibiklerde ve Rhesus maymunlarında klonlanmıştır (111-114). Tip I reseptörü gibi Tip II reseptörü de 7TM reseptör ailesine aittir ancak tip I'den farklı olarak hızlı desensitizasyonda önemli birçok threonin ve serin kalıntıları içeren C-terminal kuyruğa sahiptir (115). İnsanda GnRH-II reseptörünü tam olarak gösteren uygun transkriptin bulunması henüz mümkün olmamıştır. Sadece sekansın bir kısmı yayınlanabilmiştir. Bu sekans GnRH Tip I reseptörü ile %40 benzerlik gösterir. Maymunlardaki Tip II GnRH reseptörün aminoasid sekansı ile %90 benzerlik gösterdiğinden insandaki bu reseptörden ' varsayılan Tip II GnRH reseptörü '

(putative tip II GnRH reseptörü) olarak söz edilmektedir (114,116). Tip II GnRH reseptör mRNA'sı hipofizde ve meme dokusu, uterus, testis, prostat, seminal vezikül, tiroid ve adrenal gibi birçok dokuda eksprese edilmiştir (115). RT-PCR ve Southern Blot analiz çalışmalarıyla insan over ve endometrium kanser hücrelerinin GnRH-II'ye spesifik putative GnRH-II reseptör eksprese ettikleri gösterilmiştir (14). Bu hücrelerin proliferasyonu doğal GnRH-II ile doz ve zaman bağımlı yolla azaltılabilir. Bu antiproliferatif etkiler aynı dozdaki GnRH-I agonisti olan triptorelinin etkisinden anlamlı olarak fazladır (14). Ayrıca yapılan bir çalışmada over ve endometrium kanserinde GnRH-I antagonisti olan Cetrorelix ile GnRH-II'nin antiproliferatif etkisinin GnRH-I reseptörü yerine putative GnRH-II reseptör aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmektedir (117). İnsanda GnRH-IIR mRNA'sının tam olarak eksprese edilmesi bu soruların cevaplanmasını sağlayacaktır.

2.3. SOLUBLE İNTERLÖKİN - 2 RESEPTÖRÜ

Yüksek afiniteli IL-2R birbirine nonkovalent bağlarla bağlı üç polipeptid zincirden oluşur; IL-2R α (IL-2Ralfa), IL-2R β , IL-2R γ (Şekil 2). α zinciri tek başına IL-2'yi düşük afinite ile bağlar ise de sinyal iletemez. β zinciri orta derecede afinite ile IL-2'yi bağlar. γ zincirinin kendisi IL-2'yi bağlamaz. Sinyal iletiminde esas önemli olan β ve γ zinciridir. IL-2R β ve IL-2R γ birlikte eksprese edilir, IL-2R kompleksi oluşur, istirahatteki T lenfositlerde bu kompleks bulunur. IL-2R α bulunmaz. Antijenle uyarı sonrası hızla IL-2R α eksprese edilir ve yüksek afiniteli IL-2R α / β / γ heterotrimeri oluşur. IL-2R β ve γ T hücre üzerinde yapısal rol üstlenirken α T hücre aktivasyonundan sonra belirir. Aktif proliferasyon sırasında 55kDa (Kilo Dalton)'luk IL-2R α hücre yüzeyini yararak 45kDa'luk soluble IL-2R α 'yı ortama verir (92,93). sIL-2R α 'nın biyolojik sıvılarda bulunması aktif lenfositleri *invivo* gösteren en sensitif belirteçtir (92). sIL-2R dolaşıma salınan IL-2R α 'dır.



Şekil 2. İnterlökin 2 Reseptörün yapısı

IL-2'nin reseptörüne bağlanması T lenfositlerin proliferasyonuna ve sitokin salınımına neden olur. IL-2 ile uyarılan T lenfositlerin sitotoksiteleri artar, IFN- γ , TNF- β , TGF- β , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, GM-CSF gibi sitokinleri salgılar. B lenfositlerde farklılaşmayı ve antikor yapımını artırır. Yüksek konsantrasyonlarda IL-2 nötrofilleri de aktive edebilir. NK (Natural killer) hücrelerinde INF- γ (İnterferon gamma) salınımına , proliferasyona ve sitolitik aktivitenin artmasına yol açar. Yüksek konsantrasyonda , NK hücrelerinden tümör tedavisinde yeri olan LAK (lenfokin ile aktive killer) hücrelerinin gelişimini sağlar (94). Artmış sIL-2R α düzeyi solid tümörlerde lösemi, lenfomada, inflamasyon (lupus , polimiyozit, skleroderma, romatoid artrit, multipl skleroz), infeksiyon (kronik hepatit, kızamık ve mycobacteria) ve yanıklarda görülmektedir (95,96). Böbrek fonksiyon bozukluğu olanlarda azalmış renal klirense bağlı olarak artmış soluble IL-2R α seviyesi saptanır (93).

Over kanser hücrelerinde IL-2R mRNA bulunmaz, peritoneal lenfositlerde bulunur (97). Over kanser olan hastalarda aktif lenfositler sIL-2R α kaynağıdır. Artmış serum seviyesinin nedeni artmış peritoneal klirens ve dağılmış tümör antijenlerinin periferik lenfositleri aktive etmesi sonucu yüzeydeki IL-2R α 'nın damar içi kompartmana geçmesi ile yorumlanmaktadır (97).

2.4. FSH, LH ve ÖSTRADIOL

FSH ve LH'nın hipofiz bezinde sentez, glikozilasyon ve sekresyonu hipotalamik bir peptid olan GnRH-I tarafından düzenlenir (118). FSH ise granüloza hücrelerini uyararak overden östrojen sentezini sağlar (118). Epidemiyolojik veriler gonadotropinlerin ve östradiolün over kanser gelişimi ile ilişkili olduğunu düşündürse de bazı invivo ve invitro çalışmalarda bu hipotez desteklenmemektedir (27,36). GnRH-II'nin overde steroid üretimine katılması ve over tümör hücrelerinin proliferasyonunu baskılaması GnRH-II ile FSH, LH ve östradiol arasında direk ve/veya indirek bir ilişkinin olabileceğini düşündürür. Maymun hipofiz kültürlerinde yapılan invitro çalışmada GnRH-II'nin FSH ve LH salınımını artırdığı tespit edilmiştir (119). Yine maymunlarda yapılan invivo çalışmada dışardan verilen GnRH-II'nin FSH ve LH yapımını uyardığı bildirilmektedir. Ancak bu tür bir ilişkinin insanda normal ve tümöral over hücrelerinde olup olmadığı net değildir.

2.5. GnRH-II, sIL-2R, FSH, LH, ÖSTRADIOL VE OVER KANSERİ

Over kanserinin optimal tedavisi cerrahidir. Ancak ileri evre veya reküren hastalığın tedavisinde yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulması için kanser biyolojisini daha iyi ortaya koyabilmemiz gereklidir. Şu ana kadar GnRH-II ile IL-2R'nün over tümöründeki rolleri ayrı ayrı araştırılmıştır. Bu iki sistem arasındaki ilişki henüz açık değildir. Over tümör hücrelerinde GnRH-II ile FSH, LH ve östradiol arasındaki ilişkinin ise daha fazla invivo çalışmayla desteklenmesi gerekmektedir.

3. GEREÇ (HASTALAR) VE YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurul onayı alındıktan sonra Mart 2006 ile Mart 2007 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde pelvik kitle ön tanısı ile ameliyat edilen 46 hasta ile yine aynı tarihler arasında kliniğe başvuran yaşı karşılaştırılabilir 20 hasta (kontrol grubu) çalışmaya dahil edildi. Hastalara çalışmanın amacı ve yapılacak olan tahliller ile ilgili bilgi verildi, sözlü olarak katılmaya onay veren hastalar çalışmaya alındı. Çalışma kapsamına alınan her hasta için yaş, ağırlık, boy, vücut kitle indeksi, sIL-2R, FSH, LH, östradiol ve GNRH-II gen ekspresyonunun kaydedileceği formlar oluşturuldu. Bu formlarda histopatolojik tanı, FIGO evre ve grade'in kaydedileceği kısımlara yer verildi. Hastaların menopozal durumu, gebelik sayısı, OKS ve/veya HRT kullanımı, aile öyküsü, tüp ligasyon hikayesi sorgulanarak formlara kaydedildi. Diabetes mellitus, akromegali, konjenital adrenal hiperplazi, Cushing sendromu ve polikistik over sendromu gibi endokrin hastalığı, kronik böbrek yetmezliği ve romatoid artrit gibi romatolojik hastalığı olanlar çalışmadan çıkarıldı. Kontrol grubu, çalışma grubuyla aynı tarihler arasında polikliniğe başvuran, pelvik muayene ve jinekolojik ultrasonografi ile pelvik kitle saptanmayan, endokrin ve romatolojik hastalığı olmayan, benign nedenlerle (örneğin menoraji, endometrial hiperplazi, uterin prolapsus gibi) ameliyat edilen hastalardan oluşturuldu. Çalışma kapsamına alınan pelvik kitleli hastaların her birisinin kişisel bilgileri ameliyat öncesi dönemde kendileri için önceden hazırlanmış formlara kaydedildi. Herbir hastanın boyu 2 metre

mezura ile ölçülerek metre cinsinden kaydedildi. Her hastanın ağırlıkları kilogram cinsinden ölçülerek kaydedildi. Kilogram cinsinden ağırlık ölçüsü, metre cinsinden boy ölçüsünün karesine oranlandı ve her bir hastanın Vücut Kitle İndeks'leri hesaplanarak formlara kaydedildi. Hastaların hormon replasman tedavisi ve/veya doğum kontrol hapı kullanıp kullanmadıkları, menopoz yaşı ve menarş yaşı kaydedildi.

Operasyon öncesi her hastadan 20cc'lik plastik enjektörler kullanılarak 20cc venöz kan alındı. Alınan kanların 4cc'lik kısmı 2'şer adet EDTA'lı tüplere koyularak periferik lenfositlerde GnRH-II gen ekspresyonu çalışılmak üzere Genetik Anabilim Dalı'na götürüldü. Kalan 16cc'lik venöz kan 2500 devirde 20 dakika santrifüj edilerek yaklaşık 8cc serum elde edildi. Bu serumlar çalışılacak güne kadar -71°C derin dondurucularda muhafaza edildi. Ameliyat sırasında onkoloji yöntemlerine uygun olarak çıkarılan kistten steril şartlarda 10cc sıvı aspire edilerek 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra kalan sıvı çalışılacak güne kadar -71°C derin dondurucularda muhafaza edildi. Ayrıca ameliyat sırasında kist çeperinden alınan 1cm'lik tam kat doku epandorf tüpüne steril olarak koyularak dokudan GnRH-II gen ekspresyonu çalışılmak üzere Genetik Anabilim Dalı'na götürüldü. Kontrol grubundan alınan venöz kan hasta grubu ile aynı şekilde çalışılırken, ameliyat sırasında kontrol grubunun morfolojik olarak normal olan tek overinden hilusa kadar 1cm'lik kama şeklinde alınan dokudan Genetik Anabilim Dalı'nda GnRH-II gen ekspresyonu bakıldı.

Serum FSH düzeyi 35mIU/mL olan veya en az 1 yıldır adet görmeyen hastalar postmenopoz olarak değerlendirildi. Premenopozal hastaların serum düzeyi folliküler fazda elde edilerek operasyon bu dönemde gerçekleştirildi.

Çalışmaya alınan hastaların ameliyatı kendi alanında uzman olan cerrahlar tarafından Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapıldı. Ameliyat sırasında alınan spesmenlerin Patoloji Anabilim Dalı tarafından histopatolojik değerlendirmesi yapıldı. Çalışmaya alınan hastalar ameliyat sonrası dönemde materyallerin histopatolojik inceleme sonuçlarına göre benign ve malign olmak üzere iki gruba ayrıldı. Malign hasta grubu FIGO evreleme sistemine göre evrelendirildi ve

gradelemesi yapıldı. Over dışı malignitesi olan ve pelvik tüberküloz, pelvik abse gibi enfeksiyöz hastalığı olanlar çalışmadan çıkarıldı.

Malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositler ve tümör dokusunda GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum sIL-2R düzeyi çalışılırken, malign ve benign grupta serum FSH, LH, östradiol düzeyleri ile kist sıvısı sIL-2R, FSH, LH ve östradiol düzeyleri çalışıldı.

3.1. PERİFERİK LENFOSİTLER VE DOKUNUN EKSTRAKİYONU, REAL-TIME RT-PCR ile GNRH-II mRNA EKSPRESYONUNUN TESPİTİ

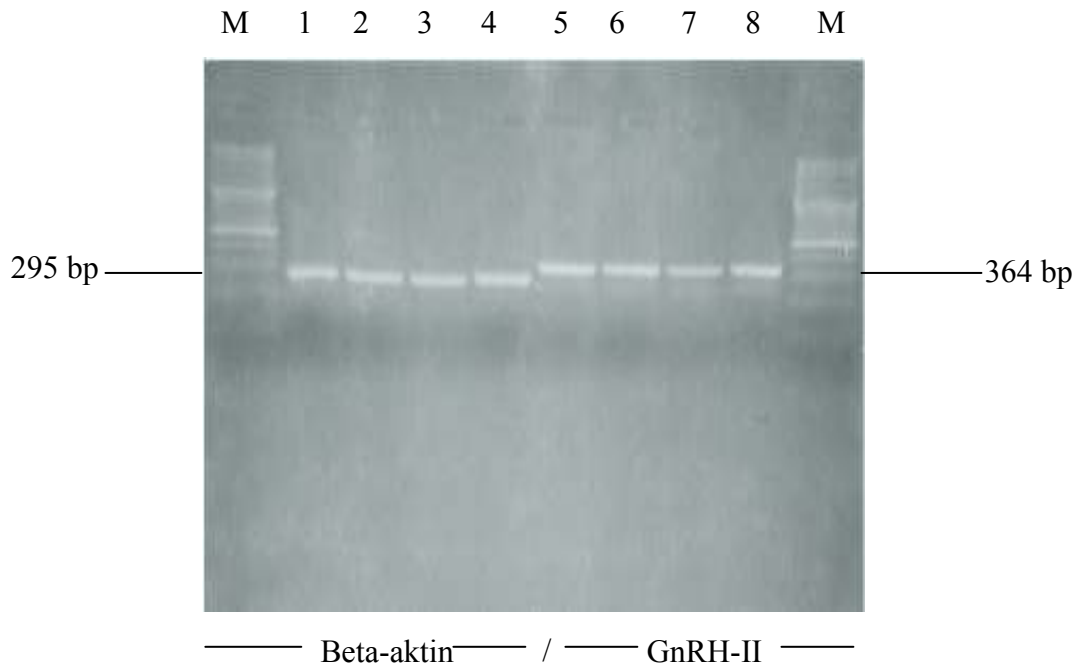
Araştırma için periferik human mononükleer hücrelerin kullanımı etik kurul tarafından onaylandı. Sağlıklı kontrollerden ve hastalardan venöz kan örnekleri elde edildi. Örneklerde HbsAg, HCV, HIV negatifti. Kan örnekleri alındıktan sonraki 1-3.günde işleme alındı. Mononükleer hücrelerin kandan ayrıştırılmasında standart metod olan Ficoll-Hypaque metodu kullanıldı.

Elde edilen PMBC'lerden ve dokudan hazır kit kullanılarak total RNA izole edildi (RNeasy midi kit, Qiagen). Total RNA'dan (2µg) komplementer DNA (cDNA) eldesi için First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, Life Sciences) kullanılarak reverse transkripsiyon (RT) yapıldı.

Quantitative real-time PCR 'Bio-Rad ICycler IQ' sistemi kullanılarak yapıldı. Sağlıklı kontrollerden ve hastalardan elde edilen cDNA'larda intron-spanning primerler kullanılarak GNRH-II (hedef gen) ve beta aktin (referans gen) ekspresyonu analiz edildi. Primer dizeleri: GNRH-II (sense 5'-GCCCCACCTTGG ACCCTCAGAG -3' ve antisense 5'-CCAGGTGTCGCTTCCTGTGAA-3'), beta-aktin (sense 5'-TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA-3' ve antisense 5'-CAG CGGAACCGCTC ATTG CCAATGG-3') olarak seçildi.

Kalıp cDNA'lar (2µl); 25 l IQ SYBR Gren Supermix ve her bir primerden 50 pmol içeren 50µl'lik PCR reaksiyonunda çoğaltıldı. Hedef ve referans genin her ikisine de 35 döngü PCR reaksiyonu uygulandı; Referans gen (B-actin) için denatürasyon 95°C'de 3dk ve 94°C'de 1 dk, annealing 61°C'de 40sn, ekstensiyon 72°C'de 1 dk, ve son siklustan sonra final ekstensiyon için 72°C'de 120 sn florasan data 585nm dalga boyunda ve her siklusun 72°C'lik ekstensiyon fazında Real-Time

PCR optik sistemi tarafından kaydedildi. Hedef gen (GNRH-II) için denatürasyon 95°C’de 3dk ve 94°C’de 45sn, annealing 66,5°C’de 1.10sn, ekstensiyon 72°C’de 1 dk ve final ekstensiyon için 72°C’de 5dk florasan data 585nm dalga boyunda ve her siklusun 72°C’lik ekstensiyon fazında Real-Time PCR optik sistemi tarafından kaydedildi. Ürünlerin spesifitesi ‘melt curve analysis’ ve %1.5 agaroz jel elektroforezde koşturarak test edildi (B-actin için PCR baz bantı 295 bp, GNRH-II için 364 bp) (Şekil 3). Ekspresyon oranları hesaplanırken ‘Bio-Rad ICycler IQ’ tarafından sağlanan özel yazılım programı kullanıldı.



Şekil 3. Beta-aktin ve GNRH-II PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü.

M : 100 baz çiftlik DNA boyut markerı

- 1. Kuyucuk :** 1.hastanın dokusunun beta-aktin PCR ürünü
- 2. Kuyucuk :** 2.hastanın dokusunun beta-aktin PCR ürünü
- 3. Kuyucuk :** 1.hastanın lenfositlerinin beta-aktin PCR ürünü
- 4. Kuyucuk :** 2.hastanın lenfositlerinin beta-aktin PCR ürünü
- 5. Kuyucuk :** 1.hastanın dokusunun GNRH-II PCR ürünü
- 6. Kuyucuk :** 2.hastanın dokusunun GNRH-II PCR ürünü
- 7. Kuyucuk :** 1.hastanın lenfositlerinin GNRH-II PCR ürünü
- 8. Kuyucuk :** 2.hastanın lenfositlerinin GNRH-II PCR ürünü

Premenopozal ve postmenopozal kontrol hastalarından rastgele seçilen birer örnek kullanılarak hem hedef gen hem de referans gen için farklı standart eğri elde edildi. 1 üniteden 1/16 üniteye kadar 5 konsantrasyon kullanıldı. Standart eğriler üzerinden her örneğin eşik siklusu (CT) kullanılarak hedef referans genlerin ünite cinsinden relatif konsantrasyonlar hesaplandı. Örnekler arasındaki RNA kalite ve kantite farklılıklarını düzeltmek için GNRH-II relative konsantrasyonu , beta-aktin relatif konsantrasyonuna bölünerek normalize oranlar elde edildi. Elde edilen normalize oranlar kontrol ve hasta grubunun PMBC ve dokularındaki GNRH-II ekspresyonu olarak değerlendirildi.

3.2. SERUM VE KİST SIVISINDA sIL-2R ÖLÇÜMÜ

Serum ve kist sıvısında soluble interlökin-2 reseptör düzeyleri enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle Human sIL-2R (Biosource, California, USA) kitiyle prospektüsüne uygun olarak çalışıldı. Sonuçlar spektrofotometre (Teca Spectra II, Austria) ile 450nm’de okundu. Standart absorban değerlerine göre grafik çizilerek hasta konsantrasyonları bu eğride belirlendi. Bu kit sIL-2R değerlerini 0-8000 pg/mL arasında ölçebilmekteydi.

3.3. SERUM VE KİST SIVISINDA FSH, LH VE ÖSTRADIOL ÖLÇÜMÜ

Serum ve kist sıvısında östradiol düzeyi otomatik olarak kemiluminesens sistem (ACS : 180, BAYER Corporation, NY, USA) ile çalışıldı. Bu kit ile östradiol değeri 10-1000 pg/mL arasında ölçüldü. 1000 pg/mL üzerindeki serum örnekleri dilüe edildi.

Serum ve kist sıvısında FSH ve LH düzeyi otomatik olarak kemiluminesens sistem (ACS : 180, BAYER Corporation, NY, USA) ile çalışıldı. FSH değeri 0,3-200 mIU/mL , LH değeri 0,07-200 mIU/mL arasında ölçüldü.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Veriler SPSS 13.0 paket programa kaydedildi, istatistiksel analizler bu program kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edildi. Bütün sürekli değişkenlerin normalizasyonu için Kolmogorov-Smirnov metodu kullanılarak değerler ortalama $\pm$ standart sapma (SS) ve median (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. İki grup karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için bağımsız iki örnek t-testi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Üç grup karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için tek yönlü Varyans Analizi kullanıldı. Bu analizde fark çıkan gruplarda çoklu karşılaştırmalar Holm-Sidak yöntemiyle yapıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Bu analizde fark çıkan gruplar için çoklu karşılaştırmalar Dunn's yöntemi ile yapıldı. Değişkenler arasındaki ilişki için Spearman Rho korelasyon testi kullanıldı. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 46 hasta postoperatif histopatolojik tanılarına göre benign ve malign olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu 20 hastadan oluşmaktaydı. Postoperatif histopatolojik tanılarına göre 13 hasta çalışmadan çıkarıldı. Bu hastaların 5'i pelvik abse, 2'si pelvik tüberküloz, 2'si tuba kanseri, 2'si kolon kanseri overe metastaz, 1'i appendiks tümörü, 1'i dejenere myom tanısı alan hastalardı. Borderline over tümörü olan 7 hasta (3 premenopoz, 4 menopoz) malign gruba dahil edildi

Grup 1: 24 Malign over tümörü olan hasta (10 premenopoz, 14 menopoz)

Grup 2: 22 Benign over tümörü olan hasta (8 premenopoz, 14 menopoz)

Grup 3: 20 Kontrol grubu (8 premenopoz, 12 menopoz)

Çalışmaya dahil edilen 20 kontrol, 22 benign ve 24 malign toplam 66 hastanın yaş, VKİ, aile öyküsü, parite, menopoz yaşı, OKS ve/veya HRT kullanımı, tüp ligasyon hikayesi, histopatolojik sınıflama, FIGO evre ve grade'i Tablo 2'de gösterilmiştir. Buna göre hastaların yaş ortalaması malign hasta grubunda $50,58 \pm 14,04$, benign hasta grubunda $52,55 \pm 11,76$ ve kontrol grubunda $51,50 \pm 10,66$ idi. Gruplar arasında yaş ortalaması istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p=0,891$). Her üç grubun VKİ'leri sırasıyla kontrol grubunda $28,65 \pm 3,71$, benign hasta grubunda $30,68 \pm 4,37$, malign hasta grubunda $30,49 \pm 7,07$ idi. Gruplar arasında VKİ yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,320$). Her üç grup arasında menopoz yaşı ve parite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı

(sırasıyla p=0,769, p=0,991). Hastaların hiçbirinde pozitif aile öyküsü , HRT ve/veya OKS kullanımı ve tüp ligasyon öyküsü yoktu.

Tablo 2. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların postmenopozal(Post) ve premenopozal(Pre) durumlarına göre demografik ve klinik özellikleri

	GRUP 1 (MALİGN) (n=24)			GRUP 2 (BENİGN) (n=22)			GRUP 3 (KONTROL) (n=20)			
	T	Post	Pre	T	Post	Pre	T	Post	Pre	P
Yaş (Ortalama)	50,58	59,50	38,10	52,55	60,14	39,25	51,50	58,33	41,25	0,891
VKI (Ortalama)	30,49	31,67	28,83	30,68	32,29	27,88	28,65	30,67	25,63	0,320
Menapoz yaşı (Ortalama)	49,29	49,29		50,54	50,54		50,08	50,08		0,769
Parite (Ortalama)	3,50	4,07	2,70	3,95	4,64	2,75	3,50	3,92	2,88	0,991
Pozitif Aile Öyküsü	0			0			0			
HRT ve/veya OKS kullanımı	0			0			0			
Tüp ligasyonu	0			0			0			
Histopatoloji										
Seröz karsinom	8	7	1							
Müsinöz karsinom	3	0	3							
Endometrioid	5	3	2							
İndiferansiye	2	1	1							
Borderline tümör	7	4	3							
Seröz kist				6	3	3				
Müsinöz kist				2	1	1				
Teratom				1	0	1				
Fibrom				3	3	0				
Sex-kord stromal				1	1	0				
Granüloza hc				1	1	0				
Paraovaryan kist				1	1	0				
Folikül kisti				1	1	0				
Endometriosis				1	1	0				
Externa				5	2	3				
FIGO Evrelemesi										
I	10	6	4							
II	5		3							
III	6	5	1							
IV	3	1	2							
Grade										
1	12	5	7							
2	7	4	3							
3	5	3	2							

Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların dokuda ve periferik lenfositlerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serum ve kist sıvısında sIL-2R değerleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Malign, benign ve kontrol grubunda bulunan hastaların doku ve periferik lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign hasta gruplarında kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	GRUP 1 (MALİGN)	GRUP 2 (BENİGN)	GRUP 3 (KONTROL)	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min- Max)	P
Doku GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=21 1.48 $\pm$ 0.79 1.25(0.51-3.54)	n=21 1.08 $\pm$ 0.39 1.08(0.15-1.82)	n=16 1.14 $\pm$ 0.35 1.22(0.31-1.63)	0.343
Lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=20 1.64 $\pm$ 1.10 1.20(0.22-4.50)	n=17 1.60 $\pm$ 0.69 1.75(0.58-2.88)	n=17 1.29 $\pm$ 0.74 1.04(0.43-3.55)	0.275
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=24 121.04 $\pm$ 77.63 105.00(40.00- 400.00) ^a	n=20 83.30 $\pm$ 35.95 85.00(20.00- 140.00) ^a	n=18 79.38 $\pm$ 76.84 60.00(15.00- 280.00) ^{ab}	0.025
Kist sIL-2R (pg/mL)	n=23 448.43 $\pm$ 347.67 360.00(60.00- 1460.00)	n=12 274.58 $\pm$ 308.42 150.00(0.00- 1000.00)	—	0.155

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Tüm hastalar incelendiğinde dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu malign hasta grubunda benign hasta grubu ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,343). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise malign ve benign gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi (p=0,275). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,025). Kist sıvısı sIL-2R düzeyine bakıldığında malign hasta grubu ile benign hasta grubu arasında anlamlı fark yoktu. (p=0,155).

Malign ve benign hasta gruplarında serumda ve kist sıvısında FSH, LH, östradiol düzeyleri Tablo 4’te gösterilmiştir.

Tablo 4. Malign ve benign hasta gruplarında serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 değerlerinin Ortalama $\pm$ SS,Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	GRUP 1 (MALİGN)	GRUP 2 (BENİGN)	P
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	
Serum FSH (mIU/mL)	n=20 19.05 $\pm$ 20.15 11.15(1.52-73.35)	n=22 36.51 $\pm$ 29.97 27.14(1.42-108.90)	0.062
Kist FSH (mIU/mL)	n=17 15.19 $\pm$ 17.08 10.04(2.03-60.00)	n=15 8.65 $\pm$ 12.36 2.65(0.68-44.30)	0.040
Serum LH (mIU/mL)	n=20 11.47 $\pm$ 8.16 9.76(0.27-26.92)	n=22 17.16 $\pm$ 11.01 17.02(1.04-35.83)	0.066
Kist LH (mIU/mL)	n=17 2.25 $\pm$ 2.80 1.07(0.15-9.85)	n=15 0.40 $\pm$ 0.55 0.28(0.00-2.12)	0.00001
Serum E2 (pg/mL)	n=20 85.62 $\pm$ 136.00 38.06(0.00-594.68)	n=22 39.49 $\pm$ 40.52 25.32(0.00-158.80)	0.489
Kist E2 (pg/mL)	n=17 540.82 $\pm$ 1163.82 198.00(0.00-4895.81)	n=15 72.44 $\pm$ 121.10 1.39(0.00-434.03)	0.004

Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign ve benign hasta gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermezken (sırasıyla p=0,062, p=0,066, p=0,489), kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p=0,040, p=0,00001, p=0,004).

Postmenopozal malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu benign ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı (sırasıyla p=0,005, p=0,011). Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ise malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı fark göstermedi (p=0,199). Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,146). Kist sıvısında bakılan

sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,004).

Tablo 5'te postmenopozal malign, benign ve kontrol grubu hastalarında doku ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serumda ve kist sıvısında sIL-2R değerleri gösterilmektedir.

Tablo 5. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda dokuda ve lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu, serum sIL-2R düzeyi ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama±SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri

POSTMENOPOZ				
	Malign	Benign	Kontrol	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Doku GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=12 1.94±0.74 ^a 1.97(0.96-3.54)	n=13 1.09±0.49 ^b 1.16(0.15-1.82)	n=9 1.30±0.24 ^b 1.25(1.02-1.63)	0.011
Lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu	n=11 1.73±1.30 1.22(0.22-4.50)	n=9 1.45±0.82 1.05(0.58-2.88)	n=9 1.01±0.45 0.92(0.43-2.08)	0.199
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=14 131.07±88.74 115.00(40.00-400.00)	n=12 80.58±40.23 79.00(20.00-140.00)	n=11 87.27±66.37 80.00(16.00-220.00)	0.146
Kist sIL2R (pg/mL)	n=13 523.84±399.15 400.00(80.00-1460.00)	n=5 124.00±77.97 120.00(0.00-200.00)	—	0.004

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Postmenopozal hastalarda serum FSH ve LH düzeyi benign grupta malign gruba göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0,040, p=0,007). Serum östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermedi (p=0,851). Aynı grupta kist sıvısı karşılaştırıldığında FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermezken (p=0,206), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p=0,026, p=0,041).

Tablo 6’da postmenopozal hastalarda benign, malign ve kontrol grubunda serumda ve kist sıvısında FSH, LH ve östradiol değerleri gösterilmektedir.

Tablo 6. Postmenopozal hastalarda benign ve malign grupta serum ve kist sıvısı FSH, LH ve E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca(Minimum-Maximum) ve P değerleri

POSTMENOPOZ			
	Malign	Benign	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Serum FSH (mIU/mL)	n=11 30.54 $\pm$ 20.89 25.92(4.68-73.35)	n=14 51.90 $\pm$ 26.60 57.57(4.11-108.90)	0.040
Kist FSH (mIU/mL)	n=11 21.56 $\pm$ 18.43 15.11(3.73-60.00)	n=8 13.56 $\pm$ 15.55 6.85(1.42-44.30)	0.206
Serum LH (mIU/mL)	n=11 14.67 $\pm$ 7.77 12.20(2.68-26.92)	n=14 23.59 $\pm$ 7.37 23.14(12.60-35.83)	0.007
Kist LH (mIU/mL)	n=11 2.93 $\pm$ 3.32 1.40(0.15-9.85)	n=8 0.53 $\pm$ 0.70 0.35(0.00-2.12)	0.026
Serum E2 (pg/mL)	n=11 29.06 $\pm$ 31.21 16.46(0.00-84.93)	n=14 23.63 $\pm$ 24.09 17.53(0.00-99.38)	0.851
Kist E2 (pg/mL)	n=11 334.86 $\pm$ 355.32 254.48(0.00-1216.40)	n=8 90.43 $\pm$ 148.0 27.97(0.00-434.03)	0.041

Premenopozal hastalar arasında aynı karşılaştırmalar yapıldığında dokuda ve periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol hasta grupları arasında anlamlı fark göstermedi (sırasıyla p=0,491, p=0,435). Serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,049). Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign ve benign grupta farklı değildi (p=0,835).

Tablo 7’de premenopozal malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositlerde ve dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu ile serumda ve kist sıvısında sIL-2R değerleri gösterilmektedir.

Tablo 7. Premenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda doku ve lenfosit GnRH-II mRNA ekspresyonu ve serum IL-2R düzeyleri ile malign ve benign grupta kist sıvısı sIL-2R düzeyinin Ortalama $\pm$ SS, Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

	PREMENOPOZ			
	Malign	Benign	Kontrol	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Doku GnRH-II mRNA Ekspresyonu	n=9 0.87 $\pm$ 0.31 0.88(0.51-1.33)	n=8 1.05 $\pm$ 0.18 1.02(0.84-1.32)	n=7 0.94 $\pm$ 0.39 0.85(0.31-1.45)	0.491
Lenfosit GnRH-II mRNA Ekspresyonu	n=9 1.54 $\pm$ 0.86 1.18(0.49-3.30)	n=8 1.77 $\pm$ 0.50 1.90(0.93-2.42)	n=8 1.61 $\pm$ 0.89 1.63(0.61-3.55)	0.435
Serum sIL-2R (pg/mL)	n=10 107.00 $\pm$ 60.42 97.50(45.00-250.00) ^a	n=8 87.37 $\pm$ 30.53 85.00(40.00-124.00) ^a	n=7 67.00 $\pm$ 95.37 40.00(15.00-280.00) ^{ab}	0.049
Kist sIL-2R (pg/mL)	n=10 350.20 $\pm$ 253.18 310.00(60.00-700.00)	n=7 382.14 $\pm$ 371.41 260.00(60.00-1000.00)	—	0.835

a-a: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok

a-b: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var

Premenopozal hastalar kendi içerisinde karşılaştırıldığında serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri açısından malign ve benign grupla arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,180, p=0,248, p=0,248). Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri malign ve benign grupta istatistiksel olarak fark göstermezken (p=0,670, p=0,062), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,002).

Tablo 8’de premenopozal hastalarda malign ve benign grupta serum ve kist sıvısında FSH, LH ve östradiol düzeylerinin ortalama değerleri gösterilmektedir.

Tablo 8. Premenopozal malign ve benign hastaların serum ve kist sıvısı FSH, LH, E2 düzeylerinin Ortalama $\pm$ SS , Ortanca (Minimum-Maximum) ve P değerleri

PREMENOPOZ			
	Malign	Benign	
	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	$\bar{X} \pm SS$ Ortanca(Min-Max)	P
Serum FSH (mIU/mL)	n=9 5.01 $\pm$ 3.92 3.34(1.52-13.80)	n=8 9.58 $\pm$ 8.84 7.11(1.42-28.08)	0.180
Kist FSH (mIU/mL)	n=6 3.52 $\pm$ 1.30 3.19(2.03-3.54)	n=7 3.04 $\pm$ 2.39 2.65(0.68-7.46)	0.670
Serum LH (mIU/mL)	n=9 7.55 $\pm$ 7.18 4.65(0.27-22.75)	n=8 5.91 $\pm$ 5.99 3.00(1.04-16.24)	0.248
Kist LH (mIU/mL)	n=6 1.02 $\pm$ 0.36 1.05(0.45-1.59)	n=7 0.26 $\pm$ 0.31 0.12(0.00-0.84)	0.002
Serum E2 (pg/mL)	n=9 154.75 $\pm$ 181.49 69.70(18.60-594.68)	n=8 67.25 $\pm$ 49.63 55.76(22.38-158.80)	0.248
Kist E2 (pg/mL)	n=6 918.41 $\pm$ 1953.82 82.53(4.62-4895.81)	n=7 51.88 $\pm$ 87.78 1.02(0.00-181.79)	0.062

Tüm hasta grupları ve premenopozal hastalarda parametreler arasında korelasyon saptanmazken postmenopozol hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı (r=0,719, p=0,003, N=15).

5. TARTIŞMA

Tedavideki pek çok gelişmeye rağmen jinekolojik kanserler arasında mortalitesi en yüksek kanser olarak yerini koruyan over kanserinin %90'ı over yüzey epitelinin (OYE) köken almaktadır (120). Normal ve neoplastik OYE hücrelerinin büyümesini düzenleyen over içi bazı mekanizmaların kanser gelişiminde önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Buradan yola çıkarak yapılan araştırmalarda GnRH'nın normal OYE hücrelerinde otokrin düzenleyici (121) , over kanser hücrelerinde büyümeyi baskılayıcı rolü olduğu gösterilmiştir (122). GnRH'nın ikinci formu beyin dışında yüksek oranda eksprese edilmektedir (101). İlk defa 2001 yılında Choi KC ve arkadaşları normal ve neoplastik OYE hücre kültürlerinde GnRH-II ekspresyonunu göstermişlerdir (13). Over kanserlerinin yaklaşık olarak %80'i GnRH-I ve GnRH-II eksprese etmektedir (123).

Over fizyolojisinin ve over kanser gelişiminin daha iyi anlaşılabilmesi için GnRH-II son on yılda daha fazla araştırma konusu olmuştur. Şimdiye kadar yapılan tüm araştırmalar kanser hücre dizisinde veya hücre kültürlerinde çalışılmıştır.

IL-2 anti tümöral etkisini T lenfosit, B lenfosit ve NK hücrelerin differansiyasyonu ve proliferasyonu ile gerçekleştiren immün sistemin en önemli yapı taşlarından birisidir (94). IL-2 etkisini hücre yüzeyinde bulunan sIL-2R aracılığı ile gerçekleştirir. Serum sIL-2R düzeyi aktif lenfositlerin hücre yüzeyinde bulunan IL-2R düzeyi ile koreledir. Bundan dolayı serum sIL-2R düzeyi immünolojik aktivasyonun belirteci olarak görülür (92).

GnRH-II'nin over kanserinde antiproliferatif etkisi kanıtlanmış olmasına rağmen GnRH-II ile IL-2R arasındaki ilişki periferik lenfositler üzerinde yapılan çalışmalarla sınırlı kalmıştır (14,15).

Biz de çalışmamızda serumda ve kist sıvısında sIL-2R, FSH, LH, östradiol düzeyini, periferik lenfositlerde ve tümör dokusunda GnRH-II mRNA ekspresyonunu değerlendirerek over tümöründe immünolojik ve hormonal aktivasyonun sistemik ve lokal düzeyini incelemeyi ve böylece GnRH-II mRNA ekspresyonu ile sIL-2R düzeyinin benign-malign ayırımında belirteç olarak kullanılabilirliğini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmamızda tüm hastalar içerisinde doku GnRH-II mRNA ekspresyonu malign hasta grubunda benign ve kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Daha önce yapılan çalışmalarda GnRH-II mRNA ekspresyonu over kanser hücre dizilerinde ve over kanser hücre kültürlerinde gösterilmiştir (13,14). Literatürde benign, malign over tümöründe ve kontrol grubunda GnRH-II mRNA ekspresyonunu gösteren in vivo çalışma yoktur. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign ve benign grupta kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Yayınlarda over tümörlü hastaların periferik lenfositlerinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile ilgili veri bulunmamaktadır.

Tüm hastalar içerisinde serum sIL-2R düzeyi malign hasta grubunda benign hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Premenopozal malign hasta grubunda da serum sIL-2R düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Bu grup ana grubumuzu etkiliyor görünmektedir. Kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Gebauer ve arkadaşları benign ve malign over tümörü olan toplam 249 hastada serum sIL-2R düzeyini araştırmışlar ve malign grupta sIL-2R düzeyini anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir (124). Aynı bulgular Sedlacek ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada desteklenmiştir. Bu çalışmada toplam 98 hasta çalışmaya alınmış, serum ve kist sıvısı sIL-2R düzeyleri malign hastalarda benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (125). 1988 yılında Kikuchi ve arkadaşları malign ve benign over kanserli toplam 70 hastada periferik lenfositlerde IL-2R ekspresyonunu çalışmışlar ancak her iki grupta da anlamlı fark bulamamışlardır (126). Çalışmamızda

serum sIL-2R düzeyinin anlamlı olarak yüksek bulunması bu hasta grubunda serum düzeyinin kist düzeyini yansıtmadığını gösterir.

Tüm hastalar incelendiğinde serum FSH ve LH düzeyleri malign ve benign hasta grupları arasında anlamlı farklılık göstermedi. Ancak kist sıvısı FSH, LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Kramer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada benign ve malign over tümörlü hastalarda serum ve kist sıvısında FSH ve LH düzeylerinin karşılaştırmışlar ve serum FSH ve LH düzeyleri heriki grup arasında anlamlı fark göstermezken kist sıvısı FSH ve LH düzeyini malign grupta anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (127). Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir. Serum FSH ve LH düzeyinin gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısında anlamlı yüksek bulunması olayın lokal olduğunu ve tümör hücrelerinin FSH ve LH yapımında rol alabileceğini düşündürür. Serum östradiol düzeyi gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısı östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. İlk kez Nash ve arkadaşları over kanser hücre dizisinde östrojenin mitojenik etkisini göstermişlerdir (128). Karasık ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada malign over tümörü olan hastalarda kist sıvısı östradiol düzeyi menstruel siklus sırasındaki hormon dalgalanmalarını ortadan kaldırmak için sadece postmenopozal hastalarda değerlendirilmiştir. Bu çalışmada malign hasta grubunda kist sıvısı östradiol düzeyi benign hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir (129). Bizim çalışmamızda da postmenopozal hastalarda kist sıvısı östradiol düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksektir.

Tüm hastalara bakıldığında periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark göstermedi. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu ilk defa Tanrıverdi ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (130). Bu çalışmada GnRH-II'nin tek başına B lenfosit proliferasyonunu etkilemediği ve IL-2'ye proliferatif cevabı değiştirmediği rapor edilmiştir. Tanrıverdi ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında ise sağlıklı 6 erkekten alınan venöz kan örneklerinde IL-2R ekspresyonu bakılmış, periferik lenfositlerde GnRH-II'nin IL-2R ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir (15). Çalışmamızda serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Maccio ve arkadaşları over kanserli hastalarda yüksek serum sIL-2R

düzeyinin azalmış T hücre cevabı ile ilişkili olduğunu ve IL-2 aracılı immün cevabı baskıladığını rapor etmişlerdir (75). Sonuç olarak malign hasta grubunda serum sIL-2R düzeyinin anlamlı yüksek olması bu hastalarda immünsüpresif etkinin başladığını düşündürür. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından gruplar arasında fark olmaması bu iki sistemin özellikle sistemik dolaşımda birbirinden bağımsız işlediğini düşündürmektedir.

Postmenopozal hastalarda menstruel siklus dalgalanmalarından etkilenebilecek parametreler büyük oranda sabitlendiğinden bu hasta grubunun bazı verileri daha kıymetlidir. Çalışmamızda bu hasta grubunda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu malign grupta benign ve kontrol grubuna göre yaklaşık iki kat yüksek bulunmuştur. Yine aynı hasta grubunda kist sıvısı sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksektir. Yapılan korelasyon analizinde doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R düzeyi arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. sIL-2R'ün kist ortamında fazla bulunması IL-2'nin etkisini baskılayarak lokal immünsüpresif bir zemin hazırlamaktadır. Tümörün immünsüpresif ortamdan faydalanarak GnRH-II'nin antiproliferatif etkisine karşı direnç kazandığı ve GnRH-II sistemini lokal hormon yapımı için kullandığı düşünülebilir. GnRH-II ekspresyonunun tümör dokusunda artması bu hipotezi desteklemektedir. Ayrıca Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada normal ve lösemik T hücrelerinin GnRH-II ve GnRH-I ürettiği ve bu nöropeptidlerin laminin reseptör gen ekspresyonunu, adhezyon ve kemotaksisi artırdığı rapor edilmiştir (109). Tümör ortamında otokrin/parakrin GNRH-II üretimi tümörün gelişimine katkıda bulunuyor olabilir.

İn vitro çalışmaların birinde maymun hipofiz kültür hücrelerinde GnRH-II'nin FSH, LH salınımını artırdığı gösterilmiştir (131). Choi ve arkadaşlarının yaptığı invitro çalışmada ise normal OYE hücre dizileri ve over kanser hücre dizilerinde ortama FSH ve LH eklenmesi GnRH-II mRNA ekspresyonunu baskılamaktadır (13). Eğer tümör FSH, LH ve östradiol gibi hormonların yapımını başarırsa proliferasyon ve metastaz yeteneğini artırabilir. Ancak tümörün GnRH-II yoluyla hormon yapımını gerçekleştirdiğini gösteren invivo çalışma henüz yoktur. İn vivo ortamda yapılan tek çalışma Densmore ve arkadaşlarının maymunlar üzerinde yapmış olduğu araştırmadır (132). Bu çalışmaya göre dışardan GNRH-II verildiğinde ön hipofizden LH ve FSH salınımı GNRH-I reseptörleri aracılığı ile artmakta ve bu etkinin GNRH-I kadar

potent olduğu rapor edilmektedir (132). Bizim çalışmamızda postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında LH ve östradiol düzeyi benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Kramer ve arkadaşları postmenopozal hastalarda kist sıvısı FSH ve LH düzeyini malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir (127). Chudecka-Glaz ve arkadaşlarının çalışmasında postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında FSH ve LH düzeyi benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (133). Aynı çalışmada malign over tümörlü hastalarda serum FSH ve LH'nın postmenopozal hastalarda yüksek saptanmaması ise olayın lokal olduğunu ve tümör hücrelerinin gonadotropin yapımına katıldığını düşündürmüştür (133). Bizim çalışmamızda da postmenopozal malign over tümörlü hastalarda serum FSH ve LH düzeyi benign over tümörlü hastalara göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Her iki grup arasında yaş ortalamaları açısından istatistiksel fark yoktur. (benign grup yaş ortalaması $60,14 \pm 6,22$; malign grup yaş ortalaması $59,50 \pm 9,24$, $p=0,831$). Blaakaer ve arkadaşları menopozal malign over tümörlü hastalarda serum FSH düzeyini benign gruba göre anlamlı olarak düşük saptamışlar, LH düzeyini değerlendirmemişlerdir (134). Bizim çalışmamızda serum FSH, LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak düşükken kist sıvısında LH ve östradiol düzeyleri anlamlı olarak yüksektir. Postmenopozal malign hastalarda kist sıvısında LH ile birlikte doku GnRH-II mRNA ekspresyonunun artmış olması GnRH-II'nin lokal hormon yapımına katılabileceğini ve malignite gelişimi açısından tümör mikroçevresinin seruma göre daha iyi yol gösterdiğini düşündürmektedir.

Postmenopozal hastalarda lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi. Aynı hasta grubunda serum sIL-2R düzeyi malign, benign ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Lenfositlerde GnRH-II ekspresyonu, serum sIL-2R, serum FSH ve LH arasında korelasyon saptanmadı. Bu sonuca göre GnRH-II ile sIL-2R arasındaki ilişkinin lokal düzeyde olduğunu ve sistemik olarak tespit edilemeyeceğini söyleyebiliriz.

Karasık ve arkadaşları postmenopozal malign over tümörlü hastaların kist sıvısında östradiol düzeyini benign gruba göre anlamlı olarak yüksek tesbit etmişlerdir (129). Jeppsson ve arkadaşları ise postmenopozal malign over tümörlü

hastaların over veninde estradiol düzeyini benign gruba göre yüksek bulmuşlardır (135). Çalışmamızda postmenopozal malign over tümör olan hastaların kist sıvısında artmış östradiol düzeyi ile birlikte artmış GnRH-II mRNA ekspresyonu tespit ettik. Kang ve arkadaşlarının yaptığı in vitro çalışmada östradiolün GnRH'nın over kanser hücrelerinde büyümeyi inhibe edici etkisini antagonize ettiği gösterilmiştir (121). Buradan yola çıkarak östradiolün GnRH-II için de böyle bir etkisinin olduğu, tümör hücresinde GnRH-II'nin antiproliferaif etkisini antagonize ederek GnRH-II'ye karşı dirençte rol alabileceği ve artan GnRH-II mRNA ekspresyonu ile tümör dokusunda LH ve östradiol yapımını stimüle edebileceği söylenebilir.

Premenopozal hastalarda lenfositlerde veya dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından malign, benign ve kontrol grubu arasında fark bulunmazken serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksektir. Bu sonuca göre olay önce sistemik olarak başlamakta postmenopozal dönemde ise lokal düzeyde yani kist sıvısında tespit edilmektedir. Çalışmamızın sonucunda premenopoz olan daha genç yaş kontrol grubunda serum sIL-2R düzeyi düşüken yaş ilerledikçe serum sIL-2R düzeyinin arttığını tespit ettik (Premenopozal kontrol grubunun yaş ortalaması $41,25 \pm 6,75$; postmenopozal kontrol grubunun yaş ortalaması $58,33 \pm 6,32$). Orson ve arkadaşları yaptıkları in vitro çalışmada sağlıklı genç ve sağlıklı yaşlı hastaların kanlarını kullanmış, bu kanlar in vitro ortamda stimüle edilmiştir (136). Yaşlı hastalarda IL-2R ekspresyonu artmadan sIL-2R salınımının arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucuna göre hücre aracılı immünite yaşlanmayla birlikte azalmaktadır. Bizim çalışmamız da bu çalışmanın sonuçlarıyla benzerdir. Şimdiye kadar yapılan hiçbir çalışmada premenopozal ve postmenopozal hastalar sIL-2R düzeyi açısından kendi içerisinde ayrı olarak değerlendirilmemiştir. O nedenle bu hasta gruplarında gerçekte farkın olup olmadığını eldeki verilerle ortaya koymak zordur. Bu çalışma ilk defa postmenopozal ve premenopozal hastalar arasında serum sIL-2R düzeyi açısından farkın olabileceğini ve premenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyinin malignite gelişimi açısından belirteç olarak kullanılabileceğini vurgulamaktadır.

Premenopozal hasta grubunda serum FSH, LH ve östradiol düzeyi açısından malign ve benign grup arasında fark izlenmedi. Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermezken kist sıvısı LH düzeyi malign

grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Chudecka-Glaz ve arkadaşları yayınladıkları bir çalışmada over tümörü olan hastalarda serumda ve kist sıvısında FSH, LH düzeyini karşılaştırmışlar ancak premenopozal malign hasta grubunda sadece iki hasta olduğu için bu grupta istatistiksel analiz yapmamışlardır (132). Reimer ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada perimenopozal ve postmenopozal hastalarda düşük kist sıvısı FSH ve LH düzeyi ile premenopozal hastalarda yüksek kist sıvısı estradiol düzeyinin fonksiyonel kist ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (137). Aynı çalışmada premenopozal hasta grubunda fonksiyonel kist sıvısı ve neoplastik tümör kist sıvısı arasında FSH ve LH düzeyi açısından fark saptanmamıştır. Çalışmamızın sonucuna göre premenopozal malign hastalarda erken folliküler fazda elde edilen kist sıvısında artan LH düzeyinin malignite gelişimi ile ilişkili olabileceği ancak dokuda GnRH-II mRNA ekspresyon açısından benign, malign ve kontrol grubu arasında fark olmaması ise doku düzeyinde tümör gelişimi ile LH arasında GnRH-II sisteminden bağımsız bir ilişki olduğunu düşündürür. Bu çalışma ile literatürde ilk defa premenopozal malign hasta grubunda kist sıvısı LH düzeyinin benign gruba göre anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir.

Gebauer ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada over kanserli hastalarda serum sIL-2R düzeyi ile FIGO evrelemesi ve prognoz arasında ilişki saptanmış buna göre evre arttıkça serum sIL-2R düzeyinin arttığı en yüksek düzeyin evre 4 hastalarda olduğu tespit edilmiştir (124). Artan sIL-2R düzeyinin immünolojik aktivasyonu gösterdiği ve Evre 4 hastalarda olduğu gibi daha da yüksek değerlerin immünsupresif etkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda incelenen hasta sayısı az olduğu için istatistiksel analiz yapılmamıştır. Ayrıca over kanserinde GnRH-II mRNA ekspresyonu ile evre ve prognoz ilişkisi araştırılmayı beklemektedir. Bu konuda daha yüksek ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamız literatürde ilk defa GnRH-II ile sIL-2R arasında özellikle postmenopozal malign hastalarda doku düzeyinde bir ilişki olabileceğini ve bu hasta grubunda GnRH-II'nin lokal düzeyde hormon yapımına katılabileceğini belirtmektedir. Bu çalışma premenopozal malign over tümörlü hastalarda serum sIL-2R düzeyinin, postmenopozal malign over tümörlü hastalarda ise doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ve kist sıvısı sIL-2R düzeylerinin klinikte belirteç olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir. Çalışmamızın sonucunda elde edilen bulgular

ilerde yapılacak birçok deneysel ve klinik çalışmalara ışık tutacak ve böylelikle over kanser yönetiminde ve hedefe yönelik tedavilerde yeni gelişmeler sağlanabilecektir.

6. SONUÇLAR

1. Tüm hastalar içerisinde yaş ortalamaları yönünden malign, benign ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,891$). Yaş ortalaması malign grupta $50,58 \pm 14,04$, benign grupta $52,55 \pm 11,76$, kontrol grubunda $51,50 \pm 10,66$ idi.
2. Malign, benign ve kontrol grupları arasında VKİ'leri yönünden anlamlı fark saptanmadı ($p=0,320$). VKİ ortalaması malign grupta $30,49 \pm 7,07$, benign grupta $30,68 \pm 4,37$ ve kontrol grubunda $28,65 \pm 3,71$ idi.
3. Her üç grup arasında menapoz yaşı ve parite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p=0,769$, $p=0,991$).
4. Dokuda GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi ($p=0,343$).
5. Periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından üç grup arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,275$).
6. Serum sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksekti ($p=0,025$).
7. Kist sıvısı sIL-2R düzeyine bakıldığında malign ve benign gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi ($p=0,155$).
8. Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri açısından her iki grup arasında anlamlı değişiklik saptanmadı (sırasıyla $p=0,062$, $p=0,066$, $p=0,489$).
9. Kist sıvısı FSH, LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre yüksek bulundu. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,040$, $p=0,00001$, $p=0,004$).
10. Postmenopozal malign over tümörlü hastalarda doku GnRH-II mRNA ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ($p=0,011$).

11. Postmenopozal hastalarda malign, benign ve kontrol grubunda periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu açısından fark yoktu ($p=0,199$).
12. Postmenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign, benign ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,146$).
13. Aynı hasta grubunda kist sıvısında bakılan sIL-2R düzeyi malign grupta benign gruba göre istatistiksel olarak yüksek saptandı ($p=0,004$).
14. Serum FSH ve LH düzeyi postmenopozal benign grupta malign gruba göre yüksekti. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,040$, $p=0,007$).
15. Serum östradiol düzeyi malign ve benign gruplar arasında fark göstermedi ($p=0,851$).
16. Postmenopozal hastalarda kist sıvısı karşılaştırıldığında FSH düzeyi malign ve benign gruplar arasında değişiklik göstermezken ($p=0,206$), kist sıvısı LH ve östradiol düzeyleri malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,026$, $p=0,041$).
17. Premenopozal hastalarda dokuda ve periferik lenfositlerde GnRH-II mRNA ekspresyonu malign, benign ve kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p=0,491$, $p=0,435$).
18. Premenopozal hastalarda serum sIL-2R düzeyi malign grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p=0,049$).
19. Aynı hasta grubunda kist sıvısı sIL-2R düzeyi açısından malign ve benign gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,835$).
20. Serum FSH, LH ve östradiol düzeyleri premenopozal malign ve benign gruplar arasında anlamlı fark göstermedi ($p=0,180$, $p=0,248$, $p=0,248$).
21. Kist sıvısı FSH ve östradiol düzeyleri malign ve benign grupta istatistiksel olarak fark göstermezken ($p=0,670$, $p=0,062$), kist sıvısı LH düzeyi malign grupta benign gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,002$).
22. Postmenopozal hastalar arasında doku GnRH-II mRNA ekspresyonu ile kist sıvısı sIL-2R arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ($r=0,719$, $p=0,003$).

7. KAYNAKLAR

1. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics, 1999. CA Cancer J Clin 1999; 49: 8-31
2. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics, 2000. CA Cancer J Clin 2000; 50:7-33
3. Leung PC, Choi JH. Endocrine signaling in ovarian surface epithelium and cancer. Hum Reprod Update 2007; 13(2): 143-62.
4. Lukanova A, Lundin E, Micheli A et al. Risk of ovarian cancer in relation to prediagnostic levels of C-peptide, insulin-like growth factor binding proteins-1 and -2 (USA, Sweden, Italy). Cancer Causes Control 2003; 14(3): 285-92.
5. Roberta B, Ness CC. Possible role of ovarian epithelial inflammation in ovarian cancer. J Natl Cancer Inst 1999; 91(17): 1459-67.
6. Bukovsky A. Immune system involvement in the regulation of ovarian function and augmentation of cancer. Microsc Res Tech 2006; 69(6): 482-500.
7. Wanebo HJ, Pace R, Hargett S. Production of and response to interleukin-2 in peripheral blood lymphocytes of cancer patients. Cancer 1986; 57: 656-62.
8. Owens OJ, Taggart C, Wilson R et al. Interleukin-2 receptor and ovarian cancer. Br J Cancer 1993; 68: 364-7.
9. Lauria F, Rondelli D, Raspadori D et al. Serum sIL-2R levels in hairy cell leukaemia: Correlation with clinical and haematological parameters and with Alpha-interferon treatment. Leuk-Lymphoma 1992;7: 103-7.
10. Fierro MT, Lisa F, Novelli M. Soluble interleukin-2 receptor, CD4 and CD8 levels in Melanoma: a longitudinal study. Dermatologica 1992; 184: 182-9.

11. King JA, Millar RP. Structure of chicken hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone II. Isolation and characterization. *J Biol Chem* 1982; 257: 10729-32.
12. Lescheid DW, Terasawa E, Abler LA et al. A second form of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) with characteristics of chicken GnRH-II is present in the primate brain. *Endocrinology* 1997; 138(12): 5618-29.
13. Choi KC, Auersperg N, Leung PC. Expression and antiproliferative effect of a second form of gonadotropin-releasing hormone in normal and neoplastic ovarian surface epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(10): 5075-5078.
14. Grundker C, Gunthert AR, Millar RP, Emons G. Expression of gonadotropin-releasing hormone II (GnRH-II) receptor in human endometrial and ovarian cancer cells and effects of GnRH-II on tumor cell proliferation. *Endocrinol Metab* 2002; 87: 1427-30.
15. Tanriverdi F, Gonzalez-Martinez D, Silveira LF et al. GnRH-I and GnRH-II have differential modulatory effects on human peripheral blood mononuclear cell proliferation and interleukin-2 receptor gamma-chain mRNA expression in healthy males. *Clin Exp Immunol* 2005; 142(1): 103-10.
16. Choi KC, Kang SK, Tai CJ, Auersperg N. Follicle-stimulating hormone activates mitogen-activated protein kinase in preneoplastic and neoplastic ovarian surface epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(5): 2245-53.
17. Kang SK, Tai CJ, Nathwani PS, Leung PC. Differential regulation of two forms of gonadotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid in human granulosa-luteal cells. *Endocrinology* 2001; 142(1): 182-92.
18. Robinson E, Segal R, Vesely Z, Mekori T. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood and malignant effusions of cancer patients. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22(2): 191-3.
19. Narod SA, Boyd J. Current understanding of the epidemiology and clinical implications of BRCA-1 and BRCA-2 mutations for ovarian cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002; 14: 19-26.

20. Buller RE, Lallas TA, Shahin MS. The p53 mutational spectrum associated with BRCA1 mutant ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7(4): 831-8.
21. Boyd J, Sonoda Y, Federici MG et al. Clinicopathologic features of BRCA-linked and sporadic ovarian cancer. *JAMA* 2000; 283(17): 2260-5.
22. Lee H, Park G, Jung JH et al. Diagnostic approach using the expression profiling of the P53 tumor suppressor gene and its related proteins in ovarian epithelial tumors. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 453-61.
23. Shih IeM, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol* 2004; 164(5): 1511-8.
24. Fathalla FM. Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia? *Lancet* 1971; 2 (7716): 163.
25. Scully RE. Pathology of ovarian cancer precursors. *J Cell Biochem Suppl* 1995; 23: 208-18
26. Syed V, Ulinski G, Mok SC, Yiu GK, Ho SM. Expression of gonadotropin receptor and growth responses to key reproductive hormones in normal and malignant human ovarian surface epithelial cells. *Cancer Res* 2001; 61(18): 6768-76.
27. Zheng W, Lu JJ, Luo F et al. Ovarian epithelial tumor growth promotion by follicle stimulating hormone and inhibition of the effect by luteinizing hormone. *Gynecol Oncol* 2000; 76(1): 80-8.
28. Ivarsson K, Sundfeldt K, Brannstrom M, Hellberg P, Janson PO. Diverse effects of FSH and LH on proliferation of human ovarian surface epithelial cells. *Hum Reprod* 2001; 16(1): 18-23.
29. Stakleff KD, Von Gruenigen VE. Rodent models for ovarian cancer research. *Int J Gynecol Cancer* 2003; 13(4): 405-12.
30. Simon WE, Albrecht M, Hansel M, Dietel M, Hözel F. Cell lines derived from human ovarian carcinomas: growth stimulation by gonadotropic and steroid hormones. *J Natl Cancer Inst* 1983; 70: 839-44.

31. Schiffenbauer YS, Abramovitch R, Meir G. Loss of ovarian function promotes angiogenesis in human ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(24): 13203-8.
32. Wang J, Luo F, Lu JJ, Chen PK, Liu P, Zheng W. VEGF expression and enhanced production by gonadotropins in ovarian epithelial tumors. *Int J Cancer* 2002; 97(2): 163-7.
33. Osterholzer HO, Streibel EJ, Nicosia SV. Growth effects of protein hormones on cultured rabbit ovarian surface epithelial cells. *Biol Reprod* 1985; 33(1): 247-58.
34. Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Gordon GB et al. Serum gonadotropins and steroid hormones and the development of ovarian cancer. *JAMA* 1995; 274: 1926-30.
35. Arslan AA, Zeleniuch-Jacquotte A, Lundin E et al. Serum follicle-stimulating hormone and risk of epithelial ovarian cancer in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 1531-5.
36. Schildkraut JM, Schwingl PJ, Bastos E, Evanoff A, Hughes C. Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 554-9.
37. Risch HA. Hormonal etiology of epithelial ovarian cancer, with a hypothesis concerning the role of androgens and progesterone. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90(23): 1774-86.
38. Bohlke K, Cramer DW, Barbieri RL. Relation of luteinizing hormone levels to body mass index in premenopausal women. *Fertil Steril* 1998; 69: 500-4.
39. Cunaat S, Hoffmann P, Pujol P. Estrogens and epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2004; 94(1): 25-32.
40. Silva EG, Tornos C, Deavers M, Kaisman K, Gray K, Gershenson D. Induction of epithelial neoplasms in the ovaries of guinea pigs by estrogenic stimulation. *Gynecol Oncol* 1998; 71: 240-6.

41. Nash JD, Ozols RF, Smyth JF, Hamilton TC. Estrogen and anti-estrogen effects on the growth of human epithelial ovarian cancer in vitro. *Obstet Gynecol* 1989; 73(6): 1009-16.
42. Rodriguez C, Patel AV, Calle EE, Jacob EJ, Thun MJ. Estrogen replacement therapy and ovarian cancer mortality in a large prospective study of US women. *JAMA* 2001; 285: 1460-5.
43. Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E, Cauley J,. Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA* 2002; 288: 58–66.
44. Lukonova A, Lundin E, Akhmedkhanov A et al. Circulating levels of sex steroid hormones and risk of ovarian cancer. *Int J Cancer* 2003; 104(5): 636-42.
45. The endocrinology of pregnancy. In: Speroff L, Glass RH, Kase NG, editors. *Clinical Gynecological Endocrinology and Infertility*. Baltimore (MD): Williams&Wilkins; 1994. p. 251-91.
46. Van Gorp T, Amant F, Neven P, Vergote I, Moerman P. Endometriosis and the development of malignant tumours of the pelvis. A review of literature. *Best Prac Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18: 349-71.
47. Zeitoun KM, Bulun SE. Aromatase: a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Fertil Steril* 1999; 72(6): 961-9.
48. Yancik R. Ovarian cancer. Age contrasts in incidence, histology, disease stage at diagnosis, and mortality. *Cancer* 1993; 71(2 Suppl): 517-23.
49. Modan B, Ron E, Lerner-Geva L, Blumstein T, Cancer incidence in a cohort of infertile women. *Am J Epidemiol* 1998; 147: 1038–1042.
50. Salazar-Martinez E, Lazcano-Ponce EC, Gonzalez Lira-Lira G, Escudero-De los RP. Reproductive factors of ovarian and endometrial cancer risk in a high fertility population in Mexico. *Cancer Res* 1999; 59: 3658–3662.
51. Edmondson RJ, Monaghan JM, Davies BR. The human ovarian surface epithelium is an androgen responsive tissue. *Br J Cancer* 2002; 86: 879-85

52. Lukanova A, Kaaks R. Endogenous hormones and ovarian cancer: epidemiology and current hypotheses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(1): 98-107.
53. Kaaks R, Lukanova A. Energy balance and cancer: the role of insulin and insulin-like growth factor-I. *Proc Nutr Soc* 2001; 60(1): 91-106.
54. Adler AI, Weiss NS, Kamb ML, Lyon JL. Is diabetes mellitus a risk factor for ovarian cancer? A case-control study in Utah and Washington (United States). *Cancer Causes Control* 1996; 7(4): 475-8.
55. Rodriguez C, Calle EE, Fakhrabadi-Shokoochi D, Jacobs EJ, Thun MJ. Body mass index, height, and the risk of ovarian cancer mortality in a prospective cohort of postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 822-8.
56. Purdie DM, Bain CJ, Webb PM, Whiteman DC, Pirozzo S, Gren AC. Body size and ovarian cancer: case-control study and systematic review (Australia). *Cancer Causes Control* 2001; 12(9): 855-63.
57. Fairfield KM, Willett WC, Rosner BA, Manson JE, Speizer FE, Hankinson SE. Obesity, weight gain, and ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 2002; 100(2): 288-96.
58. Kuper H, Cramer DW, Titus-Ernstoff L. Risk of ovarian cancer in the United States in relation to anthropometric measures: does the association depend on menopausal status? *Cancer Causes Control* 2002; 13: 455-63.
59. Anderson JP, Ross JA, Folso AR. Anthropometric variables, physical activity, and incidence of ovarian cancer: The Iowa Women's Health Study. *Cancer* 2004; 100(7): 1515-21.
60. Engeland A, Tretli S, Bjorge T. Height, body mass index, and ovarian cancer: a follow-up of 1.1 million Norwegian women. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1244-8.
61. Parazzini F, Moroni S, La Vecchia C, Negri E, dal Pino D, Bolis G. Ovarian cancer risk and history of selected medical conditions linked with female hormones. *Eur J Cancer* 1997; 33(10): 1634-7.

62. Lukanova A, Toniolo P, Lundin E et al. Body mass index in relation to ovarian cancer: a multi-centre nested case-control study. *Int J Cancer* 2002; 99(4): 603-8.
63. Bukovsky A. Immune system involvement in the regulation of ovarian function and augmentation of cancer. *Microsc Res Tech* 2006; 69(6): 482-500.
64. Ness RB, Modugno F. Endometriosis as a model for inflammation-hormone interactions in ovarian and breast cancers. *Eur J Cancer* 2006; 42(6): 691-703.
65. Pietras RJ. Targeting Angiogenic Factors Contributing to Etiology and Progression of Human Ovarian Cancer. *Med Gen Med*. 2004; 6(4): 21.
66. Counter CM, Hirte HW, Bacchetti S, Harley CB. Telomerase activity in human ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; ;91(8): 2900-4.
67. Santin AD, Bellone S, Ravaggi A et al. Increased levels of interleukin-10 and transforming growth factor-beta in the plasma and ascitic fluid of patients with advanced ovarian cancer. *BJOG* 2001; 108(8): 804-8.
68. Penson RT, Kronish K, Duan Z et al. Cytokines IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, MCP-1, GM-CSF and TNFalpha in patients with epithelial ovarian cancer and their relationship to treatment with paclitaxel. *Int J Gynecol Cancer* 2000; 10: 33-41.
69. Xu L, Fidler IJ. Interleukin 8: an autocrine growth factor for human ovarian cancer. *Oncol Res* 2000; 12(2): 97-106.
70. Berek JS, Chung C, Kaldi K, Watson JM, Knox RM, Martinez-Maza O. Serum interleukin-6 levels correlate with disease status in patients with epithelial ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164(4): 1038-42.
71. Nakayama E, Asano S, Takuwa N, Yokota J, Miawa S. Decreased TCGF activity in the culture medium of PHA stimulated peripheral mononuclear cells from patients with metastatic cancer. *Clin Exp Immunol* 1983; 51(3): 511-6.
72. Nelson DL, Wagner DK, Maron L et al. An analysis os soluble IL-2 receptors in human neoplastic disorders. In: Albertini A, Lentant C, Poeletti R, eds. *Biotechnology in Clinical Medicine*. New York: Raven Pres; 1987: 277-86.

73. Wang S, Cai G, Lu Y. Clinical implication of serum sIL-2R levels in ovarian cancer. *Journal of Tongji Medical University* 1998; 18(2): 126-128.
74. Wang H, Xie X, Lu WG, Ye DF, Chen HZ, Li X, Cheng Q. Ovarian carcinoma cells inhibit T cell proliferation: suppression of IL-2 receptor beta and gamma expression and their JAK-STAT signaling pathway. *Life Sci* 2004; 74(14): 1739-49.
75. Maccio A, Lai P, Santona MC, Pagliara L, Melis GB, Mantovani G. High serum levels of soluble IL-2 receptor, cytokines, and C reactive protein correlate with impairment of T cell response in patients with advanced epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1998; 69: 248-52.
76. Kang SK, Choi KC, Yang HS, Leung PC. Potential role of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH)-I and GnRH-II in the ovary and ovarian cancer. *Endocr Relat Cancer* 2003; 10(2): 169-77.
77. Volker P, Gründker C, Schmidt O, Schulz KD, Emons G. Expression of receptors for luteinizing hormone-releasing hormone in human ovarian and endometrial cancers: frequency, autoregulation, and correlation with direct antiproliferative activity of luteinizing hormone-releasing hormone analogues. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186(2): 171-9.
78. Young RC, Decker DG, Wharton JT et al. Staging laparotomy in early ovarian cancer. *JAMA* 1983; 250: 3072-76.
79. Young RC, Brady MF, Nieberg RK et al. Adjuvant treatment for early ovarian cancer: a randomized phase III trial of intraperitoneal 32P or intravenous cyclophosphamide and cisplatin--a gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol* 2003; 21(23): 4350-5.
80. Muggia FM, Hainsworth JP, Jeffers S et al. Phase II study of liposomal doxorubicin in refractory ovarian cancer: antitumor activity and toxicity modification by liposomal encapsulation. *J Clin Oncol* 1997; 15: 987-93.
81. Rose PG, Blessing JA, Mayer AR et al. Prolonged oral etoposide in recurrent or advanced non-squamous cell carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2003; 89(2): 267-70.

82. Rosano L, Di Castro V, Spinella F et al. Combined targeting of endothelin A receptor and epidermal growth factor receptor in ovarian cancer shows enhanced antitumor activity. *Cancer Res* 2007; 67(13): 6351-9.
83. Rosa DD, Clamp AR, Collinson F, Jayson GC. Antiangiogenic therapy for ovarian cancer. *Curr Opin Oncol* 2007; 19(5): 497-505.
84. Kanerva A, Raki M, Hemminki A. Gene therapy of gynaecological diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2007; 7(9): 1347-61.
85. Zheng H, Kavanagh JJ, Hu W, Liao Q, Fu S. Hormonal therapy in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17(2): 325-38.
86. Sabbatini P, Odunsi K. Immunologic approaches to ovarian cancer treatment. *J Clin Oncol*. 2007 Jul 10;25(20):2884-93.
87. Freedman RS, Edwards CL, Kavanagh JJ et al. Intraperitoneal adoptive immunotherapy of ovarian carcinoma with tumor-infiltrating lymphocytes and low-dose recombinant interleukin-2: a pilot trial. *J Immunother Emphasis Tumor Immunol* 1994; 16(3): 198-210.
88. Hofstra LS, Mourits MJ, de Vries EG, Mulder NH, Willemse PH. Combined treatment with goserelin and tamoxifen in patients with advanced chemotherapy resistant ovarian cancer. *Anticancer Res* 1999; 19(4C): 3627-30.
89. Sevela P, Vavra N, Fitz R et al. Goserelin a GnRH-analogue as third-line therapy of refractory epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 1992; 2(3): 160-2.
90. Edwards RP, Gooding W, Lembersky BC et al. Comparison of toxicity and survival following intraperitoneal recombinant interleukin-2 for persistent ovarian cancer after platinum: twenty-four-hour versus 7-day infusion. *J Clin Oncol* 1997; 15(11): 3399-407
91. Balbi G, Piano LD, Cardone A, Cirelli G. Second-line therapy of advanced ovarian cancer with GnRH analogs. *International Journal of Gynecological Cancer* 2004; 14(5): 799-803.

92. Rubin LA, Nelson D. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function and clinical application. *Ann Intern Med* 1990; 113: 619-45.
93. Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME et al. Soluble IL-2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro. *J Immunol* 1985; 135: 3172-75.
94. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. In: Stites DP, Terr AI (eds) *Basic and Clinical Immunology*. Prentice Hall International, 7th ed, 1991, 86-90.
95. Lissoni P, Barni F, Rovelli F et al. The biological significance of soluble IL-2 receptors in solid tumors. *Eur J Cancer* 1990; 26(1): 33-6.
96. Teodorczyk-Injeyan JA, Sparkes BG, Lalani S, Peters WJ, Mills GB. IL-2 regulation of soluble IL-2 receptor levels following thermal injury. *Clin Exp Immunol* 1992; 90(1): 36-42 .
97. Hurteau JA, Simon HU, Kurman C, Rubin L, Mills GB. Elevated levels of the soluble interleukin 2 receptor alpha are present in ovarian cancer patients: evidence for activation of T lymphocytes and possible use in management of ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 918-28.
98. Conn PM, Crowley WF. Gonadotropin Releasing Hormone and its analogues. *Annu Rev Med* 1994; 45: 391-405.
99. Zidan J, Zohao S, Mijiritzky I, Kral S, Bilencia B. Treating relapsed epithelial ovarian cancer with luteinizing hormone-releasing agonist (goserelin) after failure of chemotherapy. *Isr Med Assoc J* 2002; 4: 597-9.
100. Kasten TL, White SA, Norton TT, Bond CT, Adelman JP, Fernald RD. Characterization of two new preproGnRH mRNAs in the tree shrew: first direct evidence for mesencephalic GnRH gene expression in a placental mammal. *Gen Comp Endocrinol* 1996; 104(1): 7-19.
101. White RB, Eisen JA, Kasten TL, Fernald RD. Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(1): 305-9.
102. King JA, Millar RP. Structure of chicken hypothalamic GnRH II. Isolation and characterization. *J Biol Chem* 1982; 257:10729-32.

103. Miyamoto K, Hasegawa Y, Nomura M, Igarashi M, Kanagawa K, Matsuo H. Identification of the second gonadotropin-releasing hormone in chicken hypothalamus: evidence that gonadotropin secretion is probably controlled by two distinct gonadotropin-releasing hormones in avian species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984; 81(12): 3874-8.
104. Sherwood NM, Lovejoy DA, Coe IR. Origin of mammalian gonadotropin-releasing hormones. *Endocr Rev* 1993; 14(2): 241-54.
105. Neill JD, Musgrove LC, Duck LW. Newly recognized GnRH receptors: function and relative role. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15(8): 383-92.
106. Chen A, Yahalom D, Ben-Aroya N, Kaganovsky E, Okon E, Koch Y. A second isoform of gonadotropin-releasing hormone is present in the brain of human and rodents. *FEBS Lett* 1998; 435: 199-203.
107. Cheon KW, Lee HS, Parhar IS, Hang IS. Expression of the second isoform of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH-II) in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 447-52.
108. Siler-Khodr TM, Grayson M. Action of chicken II GnRH on the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 804-10.
109. Chen A, Ganor Y, Rahimipour S, Ben-Aroya N, Koch Y, Levite M. The neuropeptides GnRH-II and GnRH-I are produced by human T cells and trigger laminin receptor gene expression, adhesion, chemotaxis and homing to specific organs. *Nat Med* 2002; 8: 1421-26.
110. Kim KY, Choi KC, Park SH, Chou CS, Auersperg N, Leung PC. Type II gonadotropin releasing hormone stimulates p38 mitogen-activated protein kinase and apoptosis in ovarian cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6): 3020-6.
111. Illing N, Troskie BE, Nahorniak CS, Hapgood JP, Peter PE, Millar RP. Two gonadotropin-releasing hormone receptor subtypes with distinct ligand selectivity and differential distribution in brain and pituitary in the goldfish (*Carassius auratus*). *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2526-61.

112. Wang L, Bogerd HS, Choi JY et al. Three distinct types of GnRH receptor characterized in the bullfrog. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(1): 361-6.
113. Millar RP, Conklin D, Lofton-Day E et al. A novel human GnRH receptor homolog gene: abundant and wide tissue distribution of the antisense transcript. *J Endocrinol* 1999; 162(1): 117-26 .
114. Millar RP, Lowe S, Conklin D, Pawson A et al. A novel mammalian receptor for the evolutionarily conserved type II GnRH. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(17): 9636-41.
115. Millar RP. GnRH II and type II GnRH receptors, *Trends Endocrinol Metab* 2003;14: 35-43.
116. Neill JD, Duck LW, Sellers JC, Musgove LC. A gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor specific for GnRH II in primates. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 282: 1012-18.
117. Gründker C, Schlotawa L, Viereck V et al. Antiproliferative effects of the GnRH antagonist cetrorelix and of GnRH-II on human endometrial and ovarian cancer cells are not mediated through the GnRH type I receptor. *Eur J Endocrinology* 2004; 151: 141-149.
118. Speroff L, Fritz MA: *Neuroendocrinology*; In *The Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*; 7th Ed. 145-185; Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (PA) 2004.
119. Okada Y, Murota-Kawano A, Kakar SS, Winters SJ. Evidence that gonadotropin-releasing hormone (GnRH) II stimulates luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion from monkey pituitary cultures by activating the GnRH I receptor. *Biol Reprod* 2003; 69(4): 1356-61.
120. Seidman JD, Russel P, Kurman RJ. Surface epithelial tumors of the ovary. In: Kurman RJ, ed. 5th ed. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. New York: Springer-Verlag; 2002. p.791-811.
121. Kang SK, Choi KC, Cheng KW, Nathwani PS, Auersperg N, Leung PCK. Role of gonadotropin-releasing hormone as an autocrine growth factor in human ovarian surface epithelium. *Endocrinology* 2000; 141: 72-80.

122. Yano T, Pinski J, Radulovic S, Schally AV. Inhibition of human epithelial ovarian cancer cell growth in vitro by agonistic and antagonistic analogues of luteinizing hormone-releasing hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; 91(5): 1701-5.
123. Gründker C, Günther AR, Westphalen S, Emons G. Biology of the gonadotropin-releasing hormone system in gynecological cancers. *Eur J Endocrinol* 2002; 146(1): 1-14.
124. Gebauer G, Rieger M, Jager W, Lang N. Prognostic relevance of soluble interleukin-2 receptors in patients with ovarian tumors. *Anticancer Res*. 1999 Jul-Aug;19(4A):2509-11.
125. Sedlaczek P, Frydecka I, Gabrys M, Van Dalen A, Einarsson R, Harlozinska R. Comparative analysis of CA125, tissue polypeptide specific antigen, and soluble interleukin-2 receptor alpha levels in sera, cyst, and ascitic fluids from patients with ovarian carcinoma. *Cancer* 2002; 95(9): 1886-93.
126. Kikuchi Y, Kizawa I, Oomori K et al. Effects of cimetidine on interleukin-2 production by peripheral blood lymphocytes in advanced ovarian carcinoma. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1988 Jul;24(7):1185-90.
127. Kramer S, Leeker M, Jager W. Gonadotropin levels in ovarian cyst fluids: a predictor of malignancy? *Int J Biol Markers* 1998; 13(3): 165-8.
128. Nash JD, Ozols RF, Smyth CF, Hamilton TC. Estrogen and anti-estrogen effects on the growth of human epithelial ovarian cancer in vitro. *Obstet Gynecol*. 1989 Jun; 73(6): 1009-16.
129. Karasik A, Menczer J, Pariente C, Kanety H. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-2 are increased in cyst fluids of epithelial ovarian cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78(2): 271-6.
130. Tanriverdi F, Gonzalez-Martinez D, Silveira RF, Hu Y, Maccoll GS, Travers P, Bouloux PM. Expression of gonadotropin-releasing hormone type-I (GnRH-I) and type-II (GnRH-II) in human peripheral blood mononuclear cells (PMBCs) and regulation of B-lymphoblastoid cell proliferation by GnRH-I and GnRH-II. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004; 112(10): 587-94.

131. Okada Y, Murota-Kawano A, Kakar SS, Winters SJ. Evidence that gonadotropin-releasing hormone (GnRH) II stimulates luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion from monkey pituitary cultures by activating the GnRH I receptor. *Biol Reprod* 2003; 69(4): 1356-61.
132. Densmore VS, Urbanski HF. Relative effect of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-I and GnRH-II on gonadotropin release. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(5): 2126-34.
133. Chudecka-Glaz A, Rzepka-Gorska I, Kosmowska B. Gonadotropin (LH, FSH) levels in serum and cyst fluid in epithelial tumors of the ovary. *Arch Gynecol Obstet* 2004; 270(3): 151-6.
134. Blaakaer J, Micic S, Morris ID et al. Immunoreactive inhibin-production in post-menopausal women with malignant epithelial ovarian tumors. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1993; 52(2): 105-10.
135. Jeppsson S, Kullander S, Rannevik G. Peripheral and ovarian venous concentrations of gonadal steroids and CEA in women with ovarian tumors. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1982; 61(3): 209-12.
136. Orson FM, Saadeh CK, Lewis DE, Nelson DL. Interleukin 2 receptor expression by T cells in human aging. *Cell Immunol* 1989; 124(2): 278-91.
137. Reimer T, Gerber B, Kunkel S, Luettich K. Estradiol, gonadotropins, and tumor markers in ovarian cyst fluid. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997; 76(5): 478-83.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Ceren DİNÇER ATA'ya ait "Malign ve Benign Over Tümörlerinde Dokuda ve Periferik Lenfositlerde GNRH-II Gen Ekspresyonu ile kist sıvısı ve serumda sIL-2R, FSH, LH, Östradiol Düzeylerinin Karşılaştırılması" adlı uzmanlık tezi, jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:...../...../2007

Başkan :...Prof. Dr. Yılmaz...Şahin

Üye : Prof. Dr. Mustafa Zengin

Üye : Doç. Dr. Feride Serin

Üye : Doç. Dr. Bülent Günel

Üye : Doç. Dr. Kürşat Ünüghür