

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI
BAŞKAN: PROF. DR. NİYAZİ AŞKAR

**OVER KANSERLERİNDE TÜMÖR DOKUSUNDA
T HÜCRE RESEPTÖRÜ YENİDEN DÜZENLENMESİNİN
MULTİPLEKS PCR YÖNTEMİ KULLANILARAK
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
DR. SULTAN ÖZKAN

DANIŞMAN
DOÇ. DR. M. COŞAN TEREK

İZMİR-2015

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca iyi yetişmem için bana her konuda destek veren, bilgi ve deneyimlerini aktaran ana bilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Niyazi AŞKAR'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim ve tezimin her aşamasında desteğini gördüğüm, bu tezin gerek fikir gerekse sürdürülme aşamasında çok büyük pay sahibi olan, her konuda içtenlik ve samimiyetle yardımlarını esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. M. Coşan TEREK'e teşekkür ederim.

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim boyunca bilgi, deneyim ve yardımlarıyla bu alanda yetişmemde katkısı olan tüm değerli hocalarım, başta Sayın Prof. Dr. Teksin ÇIRPAN'a, Doç. Dr. Ahmet Mete ERGENOĞLU ve Doç. Dr. Ahmet Özgür YENİEL'e, Uzm. Dr. Ali AKDEMİR ve Uzm. Dr. Levent AKMAN'a ayrıca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve servis, doğumhane, poliklinik, ameliyathane hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Çalışmanın yürütülmesi sırasındaki katkılarından dolayı Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan, Yard. Doç. Dr. Nur SELVİ'ye ve Dr. Duygu AYGÜNEŞ'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Beni yetiştiren ve bugünlere ulaşmamı sağlayan aileme ve kilometrelerce uzakta da olsa her türlü teknolojik imkanı kullanarak tezimi yazmam konusunda desteğini esirgemeyen hayat arkadaşım Candaş KARATAŞ'a sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Sultan ÖZKAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER.....	2
YÖNTEM ve GEREÇ.....	23
BULGULAR	29
TARTIŞMA	37
SONUÇ	40
KAYNAKLAR.....	42
EKLER	50

ÖZET

Amaç: İmmün sistem over kanseri hastalarında sağkalımda önemli yer almaktadır. Bu çalışmanın amacı over karsinomlarında T hücre reseptör değişikliklerinin ve klonalitenin araştırılmasıdır.

Yöntem: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na Kasım 2010-Kasım 2012 tarihleri arasında başvuran 24 malign ve 23 benign adneksiyal kitlesi olan olgu çalışmaya alınmıştır. Over karsinomu hastalarından (n=24) cerrahi sırasında primer over tümör dokusundan taze doku örnekleri alınmıştır. Uterusa ait nedenlerle cerrahi geçiren ve profilaktik ooforektomi yapılan non-neoplasik overlerden (n=23) alınan taze doku örneklerinden de çalışılan hücre tipine uygun ticari kit kullanılarak beta, gama ve delta genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen genomik DNA örneklerinin miktarı Nano Drop cihazında 260 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Seçilen kaliteli DNA örnekleri T-hücre gen klonalitesini belirlemek için Biomed-2 primerleri kullanılarak multipleks PCR yöntemi ile belirlenmiştir. PCR'ın ardından tüm örnekler yalancı pozitifliği önlemek amacıyla heterodubleks analizi yapılmış ve poliakrilamid jel elektroforezi sistemine yüklenmiştir. Daha önceden optimize edilmiş uygun voltaj ve sürelerde poliakrilamid jel elektroforezinde örneklerin yürütülmesinin ardından, EtBr ile jeli boyama ve distile suda yıkama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra jel görüntüleme sisteminde jel görüntülenmiş ve fotoğrafı çekilmiştir. Çekilen fotoğraftaki bantların büyüklüklerine ve analiz aralıklarına bakılarak her hasta için T hücre klonalitesi değerlendirilmiştir. Hastalardaki yaş, evre, tümör histopatolojik tipi, tümör derecesi, tümör çapı gibi prognostik değişkenler ve sağkalım süreleri ile T hücre yeniden düzenlenmesi arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışma grubunda TCRB-B ve TCR-D reseptör pozitiflik oranı kontrol grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak yüksek bulunmuştur. Çalışma ve kontrol grubunda TCRB-A, TCRB-C, TCRG-A, TCRG-B reseptör pozitiflik oranı anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermemiştir. Çalışma grubundaki hastalar ometum tutulumu, nüks varlığı ve evreye göre alt gruplara ayrılıp incelendiğinde pozitif T reseptör oranları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Çalışma grubu, tümör derecesi düşük ve yüksek olanlar olarak ayrılarak karşılaştırıldığında TCRG-B derece I-II olanlarda, derece III olgulara göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p=0.028$). Genel sağkalım süresi 36 ay altı ve üstü olarak çalışma grubu ikiye ayrıldığında genel sağkalım 36 ay ve üstü olanlarda TCRG-B reseptörü anlamlı olarak yüksek saptanmıştır.

($p=0.029$). TCRB-B ve TCRD reseptörleri genel sağkalımı 36 ay ve altı olan grupta daha yüksek oranda pozitif saptansa da bu oran anlamlı bulunmamıştır (%50 vs %30 , %25 vs %10, sırasıyla) ($p>0,05$).

Sonuç: Over kanseri olgu serisinde T hücre reseptörlerinin alt grupları gösterilmiştir. TCRB-B ve TCR-D alt gruplarında saptanan anlamlı farklılık immün tedavilere yön verebilir. T hücre reseptör yolaklarının anlaşılması over karsinomu olgularında yeni tedavi yaklaşımları sağlayacaktır.

GİRİŞ VE AMAÇ

Adneksiyal kitleler over, tuba uterina ve eklerinden köken alan kitleler olup %90'ı benign karakterdedir (1). İlerleyen yaşla birlikte, malign adneksiyal kitle insidansında belirgin artış izlenmektedir. Bu insidans 40 yaş altında 0,4-8,9/100,000 kadın iken, 60-80 yaş arası 60/100,000 kadın olmaktadır. Yaşam boyu over kanserine yakalanma riski 54 kadında birdir (2). Postmenopozal over neoplazmlarının %30'u malign saptanırken, bu oran premenopozal dönemde yalnızca %7'dir. Bu nedenle yaş önemli bir faktördür. Tümörün histolojik yapısı da yaşa göre değişiklik arz etmektedir.

Over kanseri tüm jinekolojik maligniteler arasında en ölümcül olanıdır ve belirti vermemesi nedeniyle ileri evrelerde tanı konulur. Kesin tanı histopatolojiktir. Olguların büyük bir kısmında karın şişliği, distansiyon, ağrı, konstipasyon yakınması mevcuttur. Bazen vajinal kanama eşlik eder. Nadir de olsa over tümöründen östrojen veya androjen salgılanmasına bağlı olarak puberte prekoks, adet düzensizliği veya kıllanma saptanabilir. Çoğu olguda assit birikimi olmaktadır.

Hastaların küçük bir bölümünde yakınma olmadan jinekolojik muayene ve ultrasonografik inceleme sırasında overde değişik büyüklükte kitle saptanabilir. Hastaların büyük bir kısmında tümör karın içerisine yayılmıştır ve ileri evre olgularından oluşur. Bu hastalarda yapılan muayene, ultrasonografik inceleme veya diğer görüntüleme yöntemlerinde, batın içerisinde kitle ve assit saptanabilir. Serum CA125 düzeyi çoğu ileri evre olguda yüksek saptansa da, serum tümör belirteç düzeyinin düşük olması, olgunun malign olmadığını göstermez. Serum tümör belirteç düzeyi tanıdan çok, hastalığın izlemi için kullanılır.

Bu çalışmada over karsinomlarında T hücre reseptör yeniden düzenlenmesi çalışılarak olgulardaki klonal seleksiyon araştırılmıştır. Biomed-2 Multipleks PCR yöntemi beta, gama ve delta T hücre klonalite sonuçları, klinik durum ve patoloji sonuçlarıyla birleştirilerek ve kısa dönem sağkalım verileri ile karşılaştırılmıştır. İlerideki immünolojik çalışmalarla olgulardaki klonal duruma göre tedaviye yön verilmesi ve her hastaya özgü bir tedavi tipi geliştirilebilmesi sağlanabilecektir. Klonal durum cerrahi ve kemoterapi sonrası kalıntı hastalığın saptanmasında da kullanılabilir.

GENEL BİLGİLER

Adneksiyal alan, lateralde pelvis yan duvarı ile medialde uterus kornları arasında kalan anatomik bölgedir. Anatomik olarak fallop tüpleri, ligamentum rotundum, overler, ligamentum latum, mezosalpinks ile bunlara ait embriyolojik artıkları kapsar. Ancak adneksiyal kitle denildiğinde ilk akla gelen, overe ait kitle lezyonları ve sıklıkla da neoplazileridir. Fakat işlevsel kistler, yarısal kitleler, endometriozis ya da dış gebelik olasılığı daima akılda tutulmalıdır. Fizik muayene sırasında pelviste palpe edilen kitle overlere, uterusu, tubalara, barsaklara ya da üriner sisteme ait olabilir.

Pelvik muayenede kitlenin lokalizasyonu, büyüklüğü, şekli, kistik ya da solid kıvamda oluşu, hareketli ya da fikse oluşu, hassasiyetin tek ya da iki taraflı oluşu ve birlikte assit varlığı gibi özellikler belirlenmelidir. Kitlenin 5 cm'den küçük ya da büyük olması, benign veya malign olma olasılığı açısından önemlidir. Benign lezyonlar daha çok mobil olma eğiliminde olup, çevre dokuyla yapışık değildir. Tek taraflı lezyonların benign, çift taraflı lezyonların ise malign olma olasılığı yüksektir. Assit varlığına sıklıkla malign patolojilerde rastlanır.

Adneksiyal kitleler, hastaneye başvuru nedeni olarak 4'üncü en sık jinekolojik sebep olmaktadır ve %90'ı benign karakterlidir (1). İlerleyen yaşla birlikte, malign adneksiyal kitle sıklığında belirgin artış izlenmektedir. Bu sıklık 40 yaş altında 0,4-8,9/100,000 kadın iken, 60-80 yaş arası 60/100,000 kadın olmaktadır (2).

Jinekolojik olmayan adneksiyal kitlelerin sebeplerini neoplastik ve neoplastik olmayan kitleler olarak ikiye ayırmak olasıdır. Neoplastik olmayan adneksiyal kitleler arasında, apendiks absesi, divertiküloz, barsak-omentum adezyonları, peritoneal kistler, dolu mesane ya da feçes içeren sigmoid kolon, pelvik böbrek, urakal kistler ve anterior sakral meningosel sayılabilir. Neoplastik kitleler arasında da presakral teratom, retroperitoneal tümörler ve bu bölgede bulunan çekum, sigmoid kolon, mesane ve apendiksin malign ve benign tümörleri sayılabilir.

Adneksiyal kitlelerin jinekolojik nedenlerini, köken aldıkları organa göre sınıflandıracak olursak, bunları overe, uterusu, fallop tüplerine ve bunlara ait mezosalpenkslere bağlı olmak üzere üç sınıfta gruplandırmak mümkündür.

Uterusun saplı subseröz ve intraligamenter leiomyomları sıklıkla adneksiyal kitle olarak karşımıza çıkmaktadır. Üreme çağındaki kadınların en az %20'sinde saptanmakta ve rutin muayenelerde tanı koyulabilmektedir. Yine uterustan köken alan karsinom ve sarkom gibi malign tümörler de adneksiyal kitle yapabilme özelliğindedirler. Uterin anomali gibi diğer pelvik kitle nedenleri nadirdir.

Tubal kitleler, enfeksiyon sonucu oluşan ve klinikte karşımıza yangısal kitle; tubo-ovaryan kompleks (yapışık barsak, tuba ve over), tubo-ovaryan abse (over gibi anatomik bir yapı içinde abse kavitesi oluşması), piyosalpenks veya kronik olarak oluşan hidrosalpenks olarak çıkan oluşumları kapsar. Bunlar genellikle doğurganlık döneminde görülürler. Tipik tuboovaryan abseler polimikrobiyaldir; aerobik, anaerobik ve fakültatif organizmaları kapsar. Olguların % 46'sında pelvik yangısal hastalık öyküsü mevcuttur (3).

Tubalarla ligamentum latum'un embriyolojik gelişimleri, kistik oluşumlar yapabilen mezonefrik ve paramezonefrik kaynaklıdır. Bu kistler, paraovaryan kistler adını alırlar. Paraovaryan tümörlerde malignite sıklığı oldukça düşüktür ve bir çalışmada hastaların %2'si olarak bildirilmiştir (4). Tubanın en sık rastlanan primer malign tümörü adenokarsinomdur. Jinekolojik tümörlerin %0,3' ünü oluşturmaktadır.

Ektopik gebelikler üreme çağında sık görülür ve ağrı, pozitif gebelik testi, adneksiyal kitle mevcudiyetinde mutlaka dışlanmalıdır.

Overe ait kitleler, adneksiyal kitleler arasında en çok yer tutan kitlelerdir, bunları daha ayrıntılı incelemek adına overe ait kitleleri neoplastik ve neoplastik olmayan olmak üzere iki ana grupta inceleyebiliriz.

OVARYAN KİTLELER

1- NEOPLASTİK OLMAYAN (BENİGN) OVARYAN KİTLELER

A- Fonksiyonel Kistler

- 1- *Folikül Kisti*: En sık görülen benign ovaryan kitledir, 3 ile 8 cm arasında değişir.
- 2- *Korpus Luteum*: Ovulasyondan sonra ovumun atılmasıyla geriye kalan, temel görevi gebelik esnasında plasenta oluşana kadar progesteron desteğini sağlamak olan işlevsel kisttir.
- 3- *Teka Lutein Kisti*: Aşırı gonadotropin salgısına bağlı trofoblastik hastalıklar, ikiz gebelik, Rh uygunsuzluğu veya ovulasyon indüksiyonu amacı ile gonadotropin kullanımına bağlı ovaryan hiperstimülasyon durumlarında görülür ve hemen daima çift taraflıdır.

B- Hiperplaziler

- 1- *Polikistik Over Sendromu (PKOS)*: Stein-Leventhal Sendromu olarak da bilinen, oligo/amenore, hirsutizm ve polikistik over görünümüyle seyreden, over boyutlarında artış ile birlikte overde pek çok küçük çevresel yerleşimli kistin bulunduğu endokrin bir hastalıktır.
- 2- *Hipertekozis*: Tüm over stromasını kaplayan teka hücrelerinin hiperplazisi sonucu gelişmektedir. Kitleler en fazla 7 cm çapına ulaşır. Genellikle bilateral ve solid yapıdadır ve bu nedenle solid over tümörleri ile ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulmalıdır (5).
- 3- *Gebelik Luteomasi*: Genellikle tek taraflıdır ve solid yapıdadır. Bazen 20 cm çapına kadar ulaşabilir, ancak gebeliğin sona ermesi ile gerileyebilir.

C- Diğer

- 1- *Endometriyozis*
- 2- *Tubo Ovaryan Abse veya Kompleksi*
- 3- *Germinal İnklüzyon Kistleri (Walthard İnklüzyonu)*
- 4- *Ektopik Gebelik*
- 5- *Paraovaryan Kistler*
- 6- *Peritoneal İnklüzyonlar*

2- NEOPLASTİK OVARYAN KİTLELER

Overe ait neoplaziler, köken aldıkları doku tipine göre sınıflandırılır ve her dokunun da davranış türüne göre kendi içinde malign, benign ya da borderline olmak üzere gruplandırılır.

i- Epitelyal Kökenli Over Tümörleri

Over kökenli tümörlerin yaklaşık %90'ı epitel kaynaklıdır (6). Çöломik epitelden ya da mezotelyumdan köken alır. Herhangi bir onkojenik ajan maruziyetinde ya da genetik olarak onkogeneze yatkınlık durumlarında neoplastik transformasyon olur (7).

Epitelyal over kanserleri kadın kanserlerinin %4'ünü, tüm genital kanserlerinse %20-25'ini oluşturur (8). Genel olarak perimenopozal ve postmenopozal kadınların hastalığıdır. %80-90'ı 40 yaş üzerinde görülmektedir. %1'den azı 20 yaş altına görülür. Ortanca yaş 63'tür, yaşın artmasıyla görülme sıklığı artar. İnsidans 40-45 yaş grubunda 15.7/100,000 ile başlar ve 65-85 yaşlarında en yüksek insidansa ulaşır. Hastaların 1/3'ünden fazlası 65 yaş ve üstündedir. İleri evre tümörler yaşlı kadınlarda daha sıktır ve 65 yaş üstü 5 yıllık sağ kalım 65 yaş altındakinin yaklaşık yarısıdır (9).

Epitelyal over tümörler şu şekilde sınıflandırılırlar:

A. Seröz Tümörler

Seröz over tümörleri en sık görülen epitelyal tümör türüdür. Hücreler morfolojik olarak endosalpingeal hücrelere benzerler. Benign, borderline (düşük malign potansiyelli) ve malign türleri vardır.

B. Musinöz Tümörler

Epitelyal over tümörlerinin yaklaşık %8-10'unu oluştururlar (6). Musin salgılayan hücrelerden oluşurlar ve çok büyük boyutlara kadar ulaşabilirler. Pseudomiksoma peritonei tablosu, musin salgılayan tümör varlığında tüm pelvisin ve karın boşluğunun musinle dolu olmasıdır. Morfolojik olarak endoservikal hücrelere benzerler. Benign, borderline (düşük malign potansiyelli) ve malign türleri vardır.

C. Endometrioid Tümörler

Epitelyal over tümörlerinin yaklaşık %8-10'unu oluştururlar. Yapı olarak endometrial hücrelerle benzeşirler. Benign, borderline (düşük malign potansiyelli) ve malign türleri vardır.

D. Brenner Tümörleri

Mesanenin değişici (tranzisyonel) epiteline benzer yapıdadır.

E. Berrak Hücreli Tümörler

Tubulo-kistik, papiller, retiküler ve solid tipleri vardır. Morfolojik olarak müllerian kanal epiteline benzer.

F. Miks Epitelyal Tümör

G. Undiferansiye Tümör (anaplastik)

H. Diğer: Mesotelyoma, vb.

ii- Germ Hücreli Tümörler

Overin primordial germ hücrelerinden kaynaklanan tümörlerdir, tüm over neoplazmlarının %20-25'ini oluşturmakla birlikte, tüm malign over neoplazmlarının %3'ünü oluşturur (6,7). Yaşamın ilk 20 yılındaki over tümörlerinin %70'i germ hücre orijinlidir ve bunların üçte biri maligndir (6, 7, 10). Alt tipleri şunlardır:

A. Disgerminoma

Germ hücreli malign tümörlerin en sık rastlanan tipidir, yaklaşık %30-40'ını oluşturur (6, 7, 11). Plasental alkalen fosfataz ve LDH salgılaması, %10-15 oranında çift taraflı olması ve radyoterapiye duyarlı olması tipik özelliklerindendir.

B. Yolk Sak (Endodermal Sinüs) Tümör

Primitif yolk sak'tan kaynaklanır, çoğunlukla tek taraflıdır, AFP salgılaması tipiktir.

C. Teratom

Birden fazla germ yaprağından köken tümörlerdir. Matür teratom benign olup, immatür teratom malign özellik taşır.

D. Poliembriyoma

Çok nadir görülür, erken embriyonik evredeki yapılardan oluşur. Genç, menarş öncesi kızlarda erken puberte yakınmalarına yol açabilir, hCG ve AFP salgılayabilir (6, 11).

E. Monodermal teratomlar

Tek germ yaprağından kaynaklanan ve bazen işlevsel olabilen dokulardan oluşur (struma ovarii).

F. Embriyonel Karsinom

Çok nadir görülür, overin koryokarsinomundan sito/sinsityotrofoblastların görülmemesi ile ayırt edilir. Erken yaşta görülür ve erken puberte bulgularına yol açabilir (12).

G. Overin Koryokarsinomu

Overin nongestasyonel koryokarsinomudur (13), 20 yaşın altında görülür.

H. Miks Germ Hücreli Tümör

Yukarıda bahsedilen germ hücreli tümörlerin birden fazlasının bir arada görülmesi durumudur. Bir seride, bu tümörde en sık eşlik eden tip %80 disgerminom, %70 EST, %53 immatür teratom, %20 koryokarsinom ve %16 embryonal karsinomdur (14).

iii- Seks Kord Stromal Tümörler

Tüm over malignitelerinin %5-8'ini oluşturur (6, 7).

A. Granulosa-stromal hücre tümörleri

1-Granulosa hücreli tümör

Estrojen ve inhibin salgılar, %5'i prepubertal geri kalan kısmı üreme ve postmenopozal dönemde görülür. Malignite potansiyelleri azdır.

2-Tekoma

3-Fibroma

4-Diğer

B. Sertoli-Leydig Hücreli Tümör, Androblastom

Çoğunlukla 30-40'lı yaşlarda görülür, malignite potansiyelleri düşüktür, nadir olarak az diferansiye tipleri görülür (15). Klinik olarak virilizasyon bulgularının yanı sıra oligo/amenore, meme atrofisi, akne, hirsutismus, kliteromegali, seste kalınlaşma ve saç çizgisinde gerileme (erkek tipi saç dökülmesi) görülebilir (16).

iv-Diğerleri

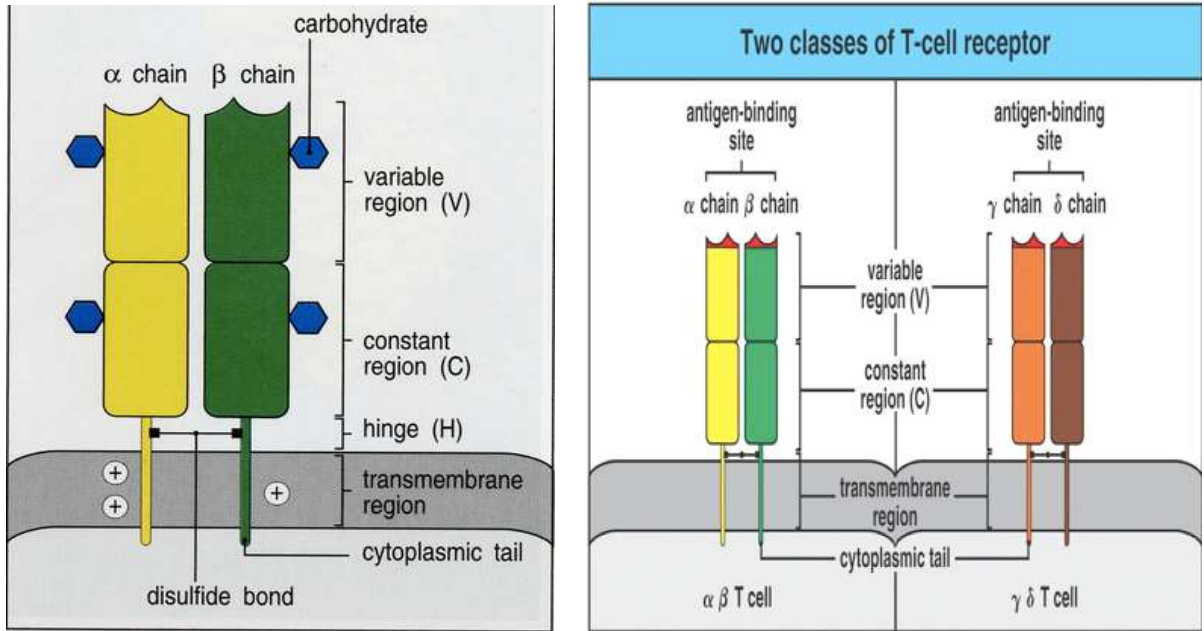
- A. **Lipoid Hücreli Tümör:** Overe komşu adrenal kortikal hücrelerden kaynaklandığı düşünülür. Virilizasyon, obezite, hipertansiyon ve glukoz intoleransı gibi bulgulara yol açar.
- B. **Sarkomlar:** Overin malign miks mezodermal sarkomlarına son derece nadir rastlanılır, çoğu heterotrop olup %80 postmenopozal dönemde görülür.
- C. **Metastatik Tümörler:** Over tümörlerinin %5-6'sı diğer organlardan metastaz yapan tümörlerdir ve en sık kadın genital traktusundan, memeden ve gastrointestinal

sistemden kaynaklanır (17). Metastaz direk yolla, hematojen ya da lenfatik yolla veya transçöломik yolla olabilir.

D. **Karsinoid:** Metastatik tümörlerin %2'den azı karsinoiddir ve bu olguların %4'ünde karsinoid sendrom görülür (18).

E. **Lenfoma ve Lösemi:** Tutulum genellikle bilateraldir (19). Hodgkin hastalığı olanlarda tutulum %5 görülür, Burkitt lenfomada tutulum sıktır (20).

T Hücre Reseptörleri



Şekil 1. T Hücre Reseptörü

Birçok kanser tipinde tümörün immün hücreler ile infiltrasyonu temel immün yanıtı oluşturmaktadır. Over kanserlerinde T hücre infiltrasyonunun varlığı hastalığın ilerlemesinde ve klinik takibinde çok önemli rolü olduğu gösterilmiştir (21, 22, 23, 24). Yüksek sayıda CD3 pozitif hücrelerin infiltrasyonu iyi sağkalım ile ilişkili bulunmuş ve CD3 pozitif hücrelerin CD8 pozitif (sitotoksik) tipi bu etkiden sorumlu tutulmuştur (23, 24). T regülatuar (CD4+CD25+FoxP3+) hücrelerin ise tümör spesifik immüniteyi azalttığı ve kötü sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (21). Raspollini ve ark (23) çalışmasında gamma/delta T

lenfositlerinin kötü sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca CD45RO+ memory T hücreleri ile ilgili çalışma mevcuttur (25).

T lenfositlerinin antijenlere karşı karşı kısıtlı spesifitesi vardır. MHC genleri tarafından kodlanan host proteinlerine bağlı peptid antijenlerinin tanınır. Bu antijenler diğer hücrelerin yüzeyinde bulunur. T hücreleri çözünür antijenleri tanımaz. Antijenik uyarı sonucunda T hücreler sitokin salarlar. Bu sitokinler T hücrelerin, B hücrelerin, makrofajların ve lökositlerin çoğalmasını sağlar. Adaptif bağışıklık sisteminin işleyebilmesi için antijenlerin yakalanıp spesifik lenfositlere sunulması gereklidir. Bu görevi antijen sunan hücreler yapar. Antijen sunan hücrelerin en özelleşmiş olanı dendritik hücrelerdir. Dendritik hücreler dış ortamdan gelen antijenleri yakalar, lenfoid organlara götürür ve naif T lenfositlere sunar. Lenfositler anatomik olarak ayrı lenfoid organlarda bulunur ve immün yanıt için birbirleriyle etkileşirler. Lenfositler kanda da bulunur ve periferik antijen alanlarına giderek antijen eliminasyonu sağlar. Adaptif immün sistemin fazları şunlardır: 1. Antijen tanınması, 2. Lenfositlerin aktivasyonu, 3. Antijen eliminasyonunun efektör fazı, 4. Homeostaza geri dönüş, 5. Hafızanın idamesi. Antijen tanınması klonal olarak çoğalan ve tek bir antijeni tanıyan lenfositler ile gerçekleşir. Bu temel kavrama 'klonal seleksiyon hipotezi' denir. Tüm lenfositler spesifik tek bir reseptör eksprese eder ve bu ekspresyon lenfositler antijen ile karşılaşmadan oluşur. Lenfosit aktivasyonu için iki ayrı sinyal gereklidir. Birincisi antijen ikincisi mikroorganizmalar ya da hasarlı hücrelerden gelen sistem bileşenleridir. Buna iki sinyal hipotezi denir. Sinyal 1 immün yanıtın spesifik olmasını sağlar. Sinyal 2 immün yanıtın gerektiği zaman aktive olmasını ve self-antijenleri etkilememesine neden olur. İmmün yanıtın efektör fazında spesifik antijenler tarafından aktive olan lenfositler antijen eliminasyonu sağlar. İmmün yanıtın sonunda immün sistem bazal durumuna geri döner ve antijen ile uyarılmış lenfositler apoptoz ile ölür. Lenfosit sağkalımı antijen uyarısı ile ortaya çıkan büyüme faktörlerine bağlıdır.

T lenfositler antijen sunan hücrelerdeki protein antijenlerin peptid kısımlarına yanıt verir. Bu yanıt için T hücrelerinin antijen sunan hücreye stabil adezyonu, antijenin T hücre tarafından tanınması ve aktive edici sinyallerin T hücreye geçişi gereklidir. T lenfositlerin dual spesifiteleri vardır. MHC molekülleri ile birlikte sunulan peptid antijenleri tanınır. MHC molekülleri ve peptid antijenler antijen sunan hücreler üzerinde kompleksler oluşturur. Bu peptid-MHC komplekslerini tanıyan reseptöre T hücre reseptörü denir. T hücre klonları farklı T hücre reseptörü eksprese ederler. Antijen tanınması ile ortaya çıkan biyokimyasal sinyaller

CD3 ve epsilon proteinleri ile iletilir. CD3, epsilon proteini ve T hücre reseptörü non-kovalent olarak bağlanarak T hücre reseptör kompleksini oluşturur. T hücrelerde ayrıca antijeni tanımayan ancak antijene yanıtta rol alan aksesuar membran molekülleri vardır. T hücre reseptörlerinin tanınması monoklonal T hücre populasyonlarının sayesinde olmuştur. Aynı T hücre reseptörü eksprese eden T lenfosit tümörlerinde ilk kez tanınmıştır.

T hücre reseptörlerinin iki tipi vardır:

Alfa-beta T hücre reseptörü: Hem CD4 pozitif hem de CD8 pozitif hücrelerde eksprese olur. Alfa ve beta zincirleri variable (v) kısım, antijen bağlayıcı kısım ve sabit (c) kısım içerir. Bu reseptör salgılanan formda değildir ve tek başına işlev görmez. T hücre reseptör kompleksi MHC-peptid antijene bağlanır ve sinyal iletimini başlatır. Alfa ve beta zincirleri tek bir heterodimerik reseptör oluşturarak T hücrenin hem antijen (peptid) spesifitesini hem de MHC restriksiyonunu sağlar.

Gama-delta T hücre reseptörü: Bu reseptörü taşıyan T hücrelerinin çoğu CD4 ya da CD8 eksprese etmez. T hücrelerinin %5'ten azı bu reseptörü eksprese eder. Genelde epitelyal dokularda bulunur. İşlevleri tam olarak bilinmemektedir. MHC restriksiyonu yoktur ve MHC ilişkili antijenleri tanımazlar. Bu reseptörü içeren T hücrelerinden yoksun farelerde belirgin immün yetmezlik ortaya çıkmamaktadır ve bazı intrasellüler bakteriler ile enfeksiyona yatkınlık gelişmektedir (26).

Prognostik olarak yararlı tümör infiltre eden T hücrelerin hedef antijenini saptamak çok güçtür ancak T hücre gen yeniden düzenlenmelerine bakarak T hücre klonalitesi saptanabilir. Klonal T hücre reseptör gen yeniden düzenlenmeleri ile over kanseri prognozu arasında ilişki vardır. Konu ile ilgili bir çalışmada TCR gama gen yeniden düzenlenmeleri ile over kanseri olgularındaki hastalıklı sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (23).

OVER KANSERLERİNDE ETİYOLOJİ

Epitelyal over karsinomunun (EOK) gerçek nedeni bilinmemekle birlikte, etiyojide rol oynayan faktörler genel olarak 3 grupta toplanabilir: genetik faktörler, hormonal faktörler ve çevresel faktörler (27).

Genetik Faktörler: EOK için en önemli risk faktörü aile hikâyesidir. Risk, etkilenmiş olan birinci ve ikinci derece akraba sayısına ve onların tanı alma yaşlarına bağlıdır. Bu orandaki artış hem maternal, hem de paternal akrabalar için geçerlidir. Hastalarının %10’unda ailesel yatkınlık söz konusudur ve bu grup, ailesel over kanseri olarak adlandırılır. Ailesel over kanseri 3 kategoride incelenebilir: Yerleşim spesifik ailesel over kanseri, meme ve over kanserinin birlikte ya da tek tek insidanslarının arttığı “meme-over kanseri sendromu” ve aile bireylerinde kolorektal, endometriyal ve over kanserlerinin görülme sıklığının arttığı “Lynch Sendromu tip II’dir. Gerçek herediter over kanseri, BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonlar sonucu görülmektedir. Değerlendirmeler, BRCA1 mutasyonu taşıyıcılarının %32-84 oranında over kanseri geliştirme riski taşıdıklarını göstermiştir. Bu risk BRCA2 mutasyonu için çok daha düşüktür (17-27).

Hormonal faktörler: Evlenmemiş, doğum yapmamış ya da gebe kalmamış kadınlarda EOK daha fazla görülmektedir. Yaşamı boyunca bir defa gebe kalmış kadınlarda risk %30-60 oranında azalır (27). Oral kontraseptif (OKS) kullanımı ile EOK insidansında düşüş gözlenmekte, kullanım süresince risk yaklaşık olarak her yıl için %11 azalmaktadır (33). Kullanım süresi uzadıkça risk %60’lara varan oranlarda azalır. OKS bu etkilerini olası ovulasyonu baskılamaları ile over epiteli üzerindeki ovulasyona bağlı mekanik hasarı azaltarak yaparlar (34).

Çevresel Faktörler: EOK gelişmiş ülkelerde daha sık görülür. Histerektomi ve/veya tüp ligasyonu uygulanan hastalarda azalmış risk nedeni ile çevresel toksin, virüs gibi karsinojenler araştırılmıştır. Özellikle bariyer kontraseptifler ve genital deodorantlarda kullanılan talk üzerinde durulmuş, ancak talk kullanımı ile EOK ile arasındaki ilişki net olarak aydınlatılamamıştır. Epidemiyolojik çalışmalar sigara içimi, radyasyona maruziyet, psikotrop ilaçlar, kabakulak virüsü, ileri fiziksel aktivite, laktoz veya galaktoz gibi diyet faktörleri ile kanser riski arasında zayıf bir ilişki saptanmıştır (27, 33, 34).

PATOGENEZ

Epitelyal over karsinomunun patogenezi tam olarak açıklanamamakla birlikte çeşitli hipotezler öne sürülmüştür.

Sürekli Ovülasyon Teorisi

Fathalla ovulasyon sırasında over yüzey epitelinin etkilenmesi ve over tümörü gelişimi arasında ilişki olabileceğini öne sürmüştür (35). İnsanlardan farklı olarak diğer memelilerde over kanseri çok nadirdir (bu memelilerde ovulasyon sadece döllenme döneminde görülür). Sık yumurta üretimi olan evcil kümes hayvanlarında overin adenokarsinomu tüm vücutta görülen en sık epitelyal tümördür. Ovulasyon over yüzey epiteline sürekli travmalara yol açar. Sonuç olarak memelilerde over yüzey epiteli proliferasyona uğrayarak kriptler ve papillalar oluşturur, bu değişikliklerin en belirgin olduğu dönem ovülasyondan hemen sonrasındır. Ovulasyon yokluğu nedeniyle puberte öncesinde ve gonadal disgenezli hastalarda epitelyal over neoplazileri çok nadir olarak görülür (35). Her ovulasyonla meydana gelen tekrarlayan travma over kanseri ile sonuçlanabilecek kendiliğinden mutasyonlara yol açabilir. Sonuç olarak ovulatuar siklus sayısı arttıkça over kanseri riski artar. Fathalla'nın ovulasyon teorisini destekleyen faktörler arasında düşük parite, geç menopoza, erken menarş ile over kanseri riskinin artması; gebelik, laktasyon ve oral kontraseptif kullanımı ile riskin azalması yer alır (36). Ovulasyonu baskılayan faktörler over kanseri riskini azaltır, fakat sürekli devam eden ovulasyon riski artırır. Over yüzey epitelinin over içinde kalmasının kistadenomların ve kistadenokarsinomların gelişiminde bir mekanizma olduğu öne sürülmüştür. Yüzeyden ayrı inklüzyon kistlerinin oluşması sonrasında proliferasyon, diferansiasyon ve metaplazi gibi olaylar sonucunda malign dönüşüm meydana gelebilir (37). Over yüzey epiteli mezotelyumun bir parçasıdır, karsinogenez sırasında fallop tüpü, endoserviks, endometrium, gebelik sırasındaki endometrial bezler ve uterusa benzer özellikleri kazanır. Epitelin şekli ve karakteristik özellikleri E-cadherin (hücreler arası adhezyon molekülü) ekspresyonu ile koreledir, epitelyal hücrelerin şekli ve yapısı eksprese olan E-cadherin miktarına göre değişmektedir. Over epitelindeki metaplastik olaylarda E-cadherin seviyeleri değişim gösterir. Bu değişimin mi yoksa metaplazinin mi bu değişime yol açtığı belli değildir (38). Overde diğer patolojilerle ilişkili olarak düz kas metaplazisi gibi değişik metaplazi tipleri de görülebilir (39). Daha öncede belirtildiği gibi endometriosis, endosalpingiosis (tubal tip epitel varlığı), endoservikosis (kolumnar müköz epitel varlığı) benign değişiklikler olmasına rağmen

malign lezyonlara zemin hazırlayabilirler (40). Endosalpingiosis, endoservikozis ve endometriosis değişik bölgelerde birlikte görülebilirler. Bu lezyonların birarada olması ya da kendilerinin mesane ve üretra gibi beklenilmeyen yerlerde olmasına “müllerianosis” denir, lenf düğümlerinde dahi görülebilir (41,42). Batt ve arkadaşları (43) müllerianosis’in endometriosisin farklı bir formu olduğunu düşünmektedirler.

Pelvik Kontaminasyon Teorisi

Epidemiyolojik çalışmalara göre asbestos ve talk gibi over kanseri ile ilişkili birçok risk faktörü bulunmuştur. Bu çevresel faktörler overlere asendan bir yolla ulaşırlar (vajen-serviks-uterus-fallop tüpleri). Asbestos varlığı kadın asbest işçilerinde ve erkek işçilerin eşlerinde gösterilmiştir (44). Bunlar over yüzey epitelinde ve diğer mezotelde histopatolojik değişikliklere yol açabilir. Üstelik menstrüel prodakların transtubal geçişi endometriois ve ondan da şeffaf hücreli kanserin gelişimine neden olduğu ileri sürülmektedir. Asbestos, talk ve menstrüel ürünlerin maruziyeti sonucu over kanseri riskinin artması, tüp ligasyonu ve histerektomi ile riskin azalması bu hipotezi desteklemektedir (45).

Gonadotropin Teorisi

Fathalla’nın sürekli ovülasyon teorisi hipoovülasyon veya anovülasyon görülen infertilite hastalarındaki over kanseri riski artışını açıklayamaz. Gonadotropinlerde yüzey epitelinde duyarlılık arttığı gibi, aşırı artmış gonodotropin seviyeleri aynı zamanda intraovarian hormon seviyelerinde artışa yol açar. Sonrasında proliferasyon ve malign dönüşüm meydana gelir. Yüzey epitelinin inklüzyon kisti oluşumundan sonra gelişen proliferasyon-metaplazi-progresyon, östrojen ve östrojen prekürsörlerine bağlı olabilir. Geribildirim inhibisyonun bozulduğu ve gonadotropin seviyelerinin arttığı durumlarda over stroması uyarılır ve sonucunda epitelin üzerinde etki yaratan steroid üretimi meydana gelir. Fakat Helzlsouer’in çalışmasında (46) artmış kanser riski düşük gonadotropin düzeyleri veya yüksek androjen (androstenedion, DHEA) seviyeleri ile ilişkili bulunmuştur; bu teoriye aykırıdır. Normal over yüzey epiteli FSH ve LH reseptörlerini eksprese eder ve bunlar epitelin proliferasyonu ve büyümesini düzenler; bu reseptörlerin uyarılması epitelyal over kanseri gelişiminde ve ilerlemesinde rol alabilir (47).

Tablo 1. Adneksiyal kitlelerin yaşlara göre sınıflaması

Dönem	Adneksiyal Kitle (Sıklık sırasına göre)
Çocuk (0-10 yaş)	1. İşlevsel Over Kisti 2. Germ Hücreli Tümör
Puberte (11-15 yaş)	1. Germ Hücreli Tümör
Adölesan (16-20 yaş)	1. İşlevsel Over Kisti 2. Gebelik 3. Matür Kistik teratom 4. Obstrüktif vajinal ve/ya uterin anomaliler 5. Epiteiyal Over Tümörleri
Üreme Dönemi	1. İşlevsel Over Kisti 2. Gebelik 3. Uterin / İntraligamenter Leiomyom 4. Epiteiyal Over Tümörleri
Premenopozal	1. Uterin / İntraligamenter Leiomyom 2. Epiteiyal Over Tümörleri 3. İşlevsel Over Kisti
Postmenopozal	1. Ovaryan Tümörler (Malign / Benign) 2. Kolon / İntestinal Tümörü veya Enf. Hast. 3. Metastazlar

OVER KANSERLERİNDE PROGNOZ VE EVRELEME

Primer peritoneal kanseri ve primer tuba kanseri nadir görülen kanserlerdir, ancak over kanserleri ile birçok benzerlikleri oldukları için aynı evreleme kullanılır. Evreleme sisteminin iki amacı vardır. Birincisi merkezler arasında hastaların karşılaştırılabilirliğini sağlayan standard terminoloji oluşturulması; ikincisi hastalık ve tümörlerin özel tedaviler gerektiren prognostik gruplara yerleştirilmesidir (48). Over kanseri cerrahi ve patolojik olarak evrelendirilmektedir.

Yakın zamanda birçok çalışma over kanserindeki kavramları değiştirmiştir. Over kanserlerinin %90'ı karsinomdur (malign epitelyal tümör) ve en az 5 alt gruba ayrılır: Yüksek dereceli seröz karsinom (%70), endometrioid karsinom (%10), berrak hücreli karsinom (%10), müsinöz karsinom (%3) ve düşük dereceli seröz karsinom (%3). Bu tümör tipleri ışık

mikroskobu ile tanınabilir ve epidemiyolojik ve genetik risk faktörleri, öncü lezyonları, yayılım tarzı, onkogenezdaki moleküler olaylar, kemoterapiye yanıt ve prognoz açısından farklı hastalıklardır (49). Tedavi planlamasında histopatolojik tanının büyük önemi vardır. Evrelemede mutlaka histolojik tip belirtilmelidir (48). BRCA mutasyonu olan olgularda risk azaltıcı salpingo-ooforektomi yapılması sonucu ortaya çıkan seröz tubal intraepitelyal karsinom tanısı da yeni evrelemeyi etkilemiştir. Seröz tubal intraepitelyal karsinomun metastaz yapabilme kapasitesi vardır ve gerçek karsinom in situ değildir. Yüksek dereceli seröz karsinomlarda inklüzyon kistlerinde oluşan müllerian neometaplazi, tubal epitelyumun overe implantasyonu (endosalpingiosis) sonucu ve pelvik periton kaynaklı çok odaklı tümör başlangıcı ortaya çıkabilir. Yüksek dereceli seröz karsinomlar ileri evrede tanı alır; kromozomal instabilite oluşturan TP53 mutasyonları ve BRCA anormallikleri vardır. Düşük dereceli seröz karsinomlar daha az görülür, sıklıkla seröz borderline bileşen içerirler ve KRAS ve BRAF mutasyonları taşırlar (41).

Evre I: Tümör overlere ya da tubalara sınırlıdır.

IA: Tümör 1 overe (kapsül salim) ya da tubaya sınırlıdır; over ya da tuba yüzeyinde tümör yoktur; peritoneal yıkama ya da assit sıvısında malign hücreler bulunmaz.

IB: Tümör her iki overe (kapsüller salim) ya da tubalara sınırlıdır; over ya da tuba yüzeyinde tümör yoktur; peritoneal yıkama ya da assit sıvısında malign hücreler bulunmaz.

IC: Aşağıdakilerden herhangi biri ile birlikte tümör 1 ya da her iki overe ya da tubaya sınırlıdır:

IC1: Cerrahi dökülme

IC2: Cerrahiden önce kapsülün rüptüre olması ya da over ya da tuba yüzeyinde tümör

IC3: Peritoneal yıkama ya da assit sıvısında malign hücreler

Evre I over kanserinde hastalık overlere ve peritoneal sıvı/yıkamaya sınırlıdır. Tümör rüptürü ya da tümör hücreleri tarafından yüzey tutulumu varsa IC olur. Over yüzey tutulumunda over yüzeyinde ekzofitik papiller tümör vardır. Nadiren düzgün over yüzeyinde bir tabaka neoplastik epitelyum olabilir. Keskin diseksiyon gerektiren ya da diseksiyonda

tümör rüptürüne neden olan dens adezyonlar evre artışına neden olmaz (50). Dens adezyonlarda histolojik olarak tümör hücreleri gösterilirse olgu Evre II'ye yükselir. Evre I tümörlerde histolojik derece prognozu etkiler; diferansiasyon derecesi hastalıksız sağkalımın en önemli göstergesidir (51). Cerrahi işlem sonrasındaki over tümörü rüptürünün prognoza etkisi tartışmalı olmakla birlikte overlere sınırlı malign over tümörü primer cerrahisinde rüptürden kaçınılmalıdır. Berrak hücreli over karsinomlarında artmış rüptür riskinden dolayı daha çok evre IC ile karşılaşılmaktadır (50). Kapsül rüptürü ve pozitif sitolojik yıkamalar birbirlerinden bağımsız kötü hastalıksız sağkalım gösteren faktörlerdir (52).

Evre II: Tümör 1 ya da her iki overi ya da tubaları pelvik yayılım (pelvik kenar altında) tutar ya da primer peritoneal kanser

IIA: Yayılım ve/veya uterus, overler, tubalar üzerinde implantlar

IIB: Diğer pelvis içi intraperitoneal dokulara yayılım

Evre II over kanseri tüm over kanserleri içinde %10 olan, heterojen ve tanımlanması zor olan bir grubu içerir. Over ve tuba dışı pelvik organlara yayılım ya da metastaz olarak tanımlanır. Pelvis içi organlara yayılmış ancak metastaz yapmamış tümörleri ve pelvik peritona metastaz yapmış tümörleri içerir. Sigmoid kolon pelviste olduğu için tutulumu evre II kabul edilir. Tüm evre II olgularda adjuvan kemoterapi gereklidir. Evre II'de direkt yayılım ve metastaz ayrımı yapılmalıdır.

Evre III: Tümör 1 ya da her iki overi, tubayı tutar ya da primer peritoneal kanserdir. Sitolojik ya da histolojik olarak pelvis dışındaki peritonda tutulum vardır ve/veya retroperitoneal lenf düğümlerine metastaz vardır.

Evre IIIA1: Sadece retroperitoneal lenf düğümlerinde tutulum (sitolojik ya da histolojik olarak kanıtlanmış)

IIIA1(i) En büyük çapı 10 mm'e kadar olan metastaz

IIIA1(ii) En büyük çapı 10 mm'den büyük olan metastaz

IIIA2: Pozitif retroperitoneal lenf düğümleri ile birlikte olan ya da olmayan mikroskopik pelvis dışı (pelvik kenar üzerinde) peritoneal tutulum

- IIIB: Pozitif retroperitoneal lenf düğümleri ile birlikte olan ya da olmayan pelvis dışında en geniş çapı 2 cm'e kadar olan makroskopik peritoneal metastaz
- IIIC: Pozitif retroperitoneal lenf düğümleri ile birlikte olan ya da olmayan pelvis dışına en geniş çapı 2 cm'den büyük olan peritoneal metastaz (tümörün karaciğer ya da dalak kapsülüne her iki organın parankimal tutulumu olmadan yayılmasını içerir).

Yüksek dereceli seröz over kanserlerinin çoğu (%84) evre IIIC olarak karşımıza çıkar. Bu tümörler karakteristik olarak omentum, ince ve kalın bağırsak yüzeyleri, mezenter, parakolik boşluklar, diafragma, karaciğer ve dalak'ın peritoneal yüzeylerini içeren pelvik ve abdominal peritonu tutar. Olguların 2/3'ünde assit eşlik eder. Lenf düğümü örneklemesi ya da diseksiyonu yapılan ileri evre olguların çoğunda (%78) lenf düğümü metastazları bulunur (53). Evre I görünen olguların %9'unda lenf düğümü metastazı ortaya çıkmaktadır (54). Over kanserlerinin %10'nundan azı pelvis dışına sadece retroperitoneal lenf düğümü tutulumu ile ilerler; bu olgularda karın içi peritoneal tutulumu göre sağkalım daha iyidir (55).

Evre IV: Peritoneal metastazlar dışındaki uzak metastaz

Evre IVA: Pozitif sitolojisi olan plevral efüzyon

Evre IVB: Parankimal metastazlar ve karın dışı organlara metastazlar (inguinal lenf düğümleri ve karın boşluğu dışındaki lenf düğümleri)

Evre IV karın dışı metastazı olan ve parankimal karaciğer/dalak metastazı olan olguları içerir. Over kanserlerinin %12-%21'i evre IV olarak başvurmaktadır. Transmural bağırsak infiltrasyonu ve umbilikal deposit evre IVB kabul edilir. Renal damarlar üzerindeki makroskopik ve pozitif lenf düğümlerinin evre III ya da evre IV kabul edilmesi konusu tartışmalıdır (48). Tümörün omentumdan dalak ya da karaciğere yayılımı (evre III), izole parankimal karaciğer ve dalak metastazlarından (evre IV) ayrılmalıdır.

OVER KANSERLERİNDE TANI

Tüm hastalıklarda olduğu gibi over kanserlerinde tanıya belirli bir algoritma ile gidilir. Tanıda ilk yapılması gereken ayrıntılı bir öykü, sonrasında da ayrıntılı bir sistemik ve pelvik muayenedir. Daha sonra laboratuvar incelemelerine geçilir.

a. Tümör Belirteçleri: Belirli bir tümör veya çevresindeki dokular tarafından salgılanan ve dolaşımda ölçülebilir miktarda bulunan biyolojik maddelerdir. İdeal bir tümör belirtecinden sadece tümör tarafından üretilmesi, ölçülebilir seviyelerde salgılanması, tümör kitlesi ile değersel bağlantı göstermesi ve düşük maliyetli olması beklenmektedir. Ancak günümüzde tüm bu özellikleri içeren bir tümör belirteci henüz yoktur.

Adneksiyal kitlelerde, özellikle overe ait patolojilerde en sık kullanılan tümör belirteci glikoprotein yapıda bir antijen olan, OC 125 monoklonal antikoruyla bağlanan CA 125'tir. Çölomik epitel, amnion sıvısı, periton, plevra, perikarda ve bronşial ve servikal salgılarda bulunur. Malign durumlarda artış daha belirgin olurken diğer bazı fizyolojik ya da patolojik durumlarda da artış görülebilir. Normal değeri 35 U/ml'nin altı olup, sağlıklı yetişkinlerin %1'inde, enfeksiyon durumlarının %6'sında, jinekoloji dışı nedenlerin %28'inde, epitelyal over tümörlerinin ise %80'inde yüksek bulunur (62). CA125 tümör belirtecinin klinikte 4 önemli rolü; pelvik/adneksiyal kitlenin değerlendirilmesi, epitelyal over tümörü olduğu bilinen bir hastanın sitoredüktif cerrahi sonrası tedavinin izlemi, negatif "ikincil bakış" laparotomi yönünden öngöründe bulunulması ve tedavi sonrası yinelemenin belirlenmesidir. CA125'i yükselten malign jinekolojik durumlar epitelyal over kanseri, disgerminom, tuba kanseri, sertoli-leydig hücreli tümör, granulosa hücreli tümör ve endometrium kanseri; jinekolojik olmayan malign durumlar pankreas, akciğer, meme, karaciğer ve kolon kanseri ile plevra ve periton metastazlarıdır. CA125 benign durumlarda da yükselebilir. Bunlar arasında jinekolojik olarak endometriosis, adenomyozis, myoma uteri, gebelik, ektopik gebelik, pelvik yangısal hastalık ve menstruasyon sayılabilir. Diğer sebepler ise pankreatit, siroz, peritonit, periton tüberkülozu, radyasyon maruziyeti ve geçirilmiş laparotomi sayılabilir.

AFP, normalde fetal dolaşımda bulunan polipeptid yapıda bir onkofetal antijendir. Normal erişkinlerde gebelik dışında AFP'nin artması beklenmez. Jinekolojik onkolojide germ hücreli over tümörlerinin izleminde kullanılmaktadır. Adneksiyal kitle nedeniyle laparotomi planlanan genç hastaların tümünde AFP ölçülmelidir. Endodermal sinüs tümörü olgularının tümünde ve embriyonel karsinom olgularının %90'nının fazlasında yüksek saptanmaktadır (63). Endodermal sinüs tümörü olan hastalarda AFP seviyesi ile tümör evresi arasında ilişki vardır. Cerrahi öncesi ve sonrasında AFP düzeylerinin izlemi cerrahi tedavinin yeterliliğini, tıbbi tedavinin etkinliğini, metastazların var olup olmadığını ve yineleme varlığını göstermektedir. Bu iki nadir tümör dışında AFP seviyeleri primer hepatoma, hepatit, siroz ve

metastatik karaciğer hastalığı ile endoderm kaynaklı gastrointestinal, pankreas, akciğer ve meme kanserlerinde de artabilir (50).

hCG trofoblastik ve bazı germ hücreli tümörlerin tanı ve izleminde yararlıdır.

CEA over, mide ya da kolonun musinöz kanserlerinde yüksek bulunur.

Lizofosfatidik asit (LPA) fosfolipid yapıda basit bir moleküldür. Epitelyal over kanserli olgularda overe sınırlı hastalığı olanların %90'ında, ileri evre (evre II ve üstü) olanların ise tümünde kan seviyeleri artmıştır (64). LPA seviyelerindeki bu artış, overin epitelyal kanserleri ile sınırlı gözükmemektedir. Ayrıca, over kanserli olguların asit sıvılarında da saptanmaktadır. Over kanseri patofizyolojisinde LPA metabolizmasında değişiklikler olduğu ve bu nedenle düzeylerinin arttığına inanılmaktadır. LPA reseptörlerinin de over kanseri tedavisinde hedefe yönelik geliştirilecek ilaçlar açısından önemli olabileceği belirtilmektedir (65).

Laktat dehidrogenaz izoenzim-1 (LDH-1) diğer 5 izoenzim arasında en özgül tümör belirteçidir, overin germ hücreli tümörlerinde, özellikle de disgerminomda %95 pozitiflik görülür (66).

Tablo 2. Overin germ hücreli tümörlerinde tümör belirteçleri

Tümör	AFP	hCG	LDH
Koryokarsinom	-	+	±
Disgerminom	-	±	+
Endodermal sinüs tümörü	+	-	±
Embriyonel karsinom	+	+	±
İmmatür teratom	-	±	±
Mikst germ hücreli tümör	±	±	±

b. Görüntüleme Yöntemleri: Adneksiyal kitlelerde, tanı koymadaki etkinliği, kullanım kolaylığı ve maliyeti nedeniyle ilk seçilen yöntem ultrasonografidir. Daha yüksek duyarlılığa sahip olması nedeniyle de transvajinal sonografi, transabdominal sonografiye göre daha üstündür. Ultrasonografi, adneksiyal kitlenin varlığının saptanmasında önemlidir. Boyut,

kıvam ve kontürü hakkında bilgi verir. Diğer pelvik yapılarla ilişkiyi belirler. Biyopsi ya da aspirasyon için yardımcı olabilir. Ultrasonografi, over boyutlarının belirlenmesi, kist cidarı ve septaları hakkında önemli ipuçları vermektedir. Malign tümörlerin daha çok solid olduğu, düzensiz ve papiller yapıların oluşumuna yol açtığı bilinmektedir. Bu yüzden, over kistlerinin ve tümörlerinin ultrasonografi (USG) görüntülerindeki bazı özellikler overdeki lezyonun malign olma olasılığının yüksek olduğunu gösterebilir.

Sassone ve ark'ı (67) 1991 yılında, malign ve benign tümörlerinin ayırıcı tanısında yardımcı olması amacı ile geleneksel “gri skala” transvajinal USG ile morfolojik skorlama sistemlerini bildirmişlerdir. Bu skorlama sistemi, lezyonun ekojenitesi, duvar kalınlığı, iç duvar yapıları ve septanın özellikleri temeline dayanmaktadır. Skorlama sisteminin duyarlılığı %100, özgüllüğü %83, pozitif prediktif değeri %37, negatif prediktif değeri %100 olarak bulunmuştur. Tek başına morfolojik skorlama sisteminin etkinliği, malign ve benign tümörlerin birbirleri ile ortak özellikler gösterdiği durumlarda ise belirgin olarak azalmaktadır. Daha sonra DePriest ve ark (68) bu skorlama sistemini modifiye etmiştir; burada septanın özellikleri değerlendirmeye alınmamış olup tümörün volüm ve morfolojisi birlikte değerlendirilmiştir. Bu skorlama sisteminde %89, pozitif prediktif değer %49 bulunmuştur.

Son yıllarda overlerin renkli doppler ile incelenmesi, over kanserinin erken tanısında yeni bir ufuk açmıştır. Tümör nedeniyle oluşan yeni damarların tunica mediasi yoktur. Yeni oluşan damarlar tümörün merkezindedir. Ancak tümörün periferinde mikroskopik arteriovenöz şantlar vardır. Tüm bu değişiklikler düşük dirençli akımın oluşmasına yol açar. Tümör damarlarındaki akım yüksektir (> 20 cm/sn). Rezistans indeksi (RI) ve pulsatilite indeksi (PI) ise düşüktür. Yapılan çalışmalar RI'nin 0,4 ve/veya PI'nın 1 den küçük olması halinde malignite riskinin çok yüksek olduğunu göstermektedir (69). Ayrıca diyastol akım paterninde normalde olan çentiğin kaybolması da malignite lehine bir bulgudur. Transvajinal renkli doppler USG ile malign over lezyonlarını saptayabilmenin duyarlılığı % 80-94 arasında değişmektedir (70).

Bilgisayarlı tomografi (BT), over kanserinin evrelemesi, ilerlemiş endometriyal adenokarsinom, patolojik lenf bezi taraması, abdominal ve toraks metastazlarının saptanması için seçilen yöntemdir (71). İzlem amaçlı kullanılabilir.

Manyetik rezonans incelemenin (MRI) yüksek yumuşak doku kontrastı, direkt multiplanar inceleme imkanı, damarların kontrast kullanmadan görüntülenebilmesi ve gebelerde kullanılabilmesi gibi üstünlükleri vardır. Ayrıca evreleme ve izlem amaçlı kullanılabilir.

Metabolik görüntüleme, tekrarlayan hastalığı saptamada BT'ye göre daha başarılı olup primer hastalığı saptamada başarısı diğer yöntemlerle benzer bulunmuş, ancak üstünlüğü gösterilememiştir (72).

YÖNTEM VE GEREÇ

Bu çalışma ileriye dönük olarak Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne Kasım 2010-Kasım 2012 tarihleri arasında başvuran hastaların verileri toplanarak oluşturulmuştur. Çalışma grubunda 24 over kanseri tanısı alan hasta; kontrol grubunda ise 23 benign adneksiyal kitlesi olan hasta yer almaktadır. Çalışma için Ege Üniversitesi Araştırma Etik Kurulu'ndan gerekli izin alındı (23.02.2011 tarih ve 10-11.1/55 karar numarası) ve tüm hastalar, çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onamları bilgilendirilmiş gönüllü onam belgesine alındı.

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda over karsinomu tanısı konmuş hastalarda (n=24) cerrahi sırasında primer over tümör dokusundan taze doku örnekleri alınmıştır (Şekil 2). Neoplastik olmayan overlerden (n=23) alınan taze doku örneklerinden çalışılan hücre tipine uygun ticari kit kullanılarak (Qiagen marka DNA izolasyon kiti -QIAamp DNA Mini Kit) beta, gama ve delta genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen genomik DNA örneklerinin miktarı Nano Drop cihazında 260 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Seçilen kaliteli DNA örnekleri T-hücre gen klonalitesini belirlemek için Biomed-2 primerleri kullanılarak multipleks PCR yöntemi (Corbett PCR cihazı) ile belirlenmiştir (Şekil 3). PCR'ın ardından tüm örnekler yalancı pozitifliği önlemek amacıyla heterodubleks analizi yapılmıştır ve ardından poliakrilamid jel elektroforezi sistemine (Bio-Rad PAGE jel sistemi) yüklenmiştir. Daha önceden optimize edilmiş uygun voltaj ve sürelerde poliakrilamid jel elektroforezinde örneklerin yürütülmesinin ardından, EtBr ile jeli boyama ve distile suda yıkama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra jel görüntüleme sisteminde jel görüntülenmiş ve fotoğrafı çekilmiştir. Çekilen fotoğraftaki bantların büyüklüklerine ve analiz aralıklarına bakılarak her hasta için T hücre klonalitesi değerlendirilmiştir. Hastalardaki yaş, evre, tümör histopatolojik tipi, tümör derecesi, tümör çapı, optimum cerrahi gibi progrostik değişkenler ve kısa dönem sağkalım verileri ile T hücre yeniden düzenlenmesi arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.



Şekil 2. Tümör dokusundan örnek alınması



Şekil 3. Corbett PCR Cihazı

Total DNA İzolasyonu Kiti

Çalışmaya dahil edilen olguların T hücre reseptör gen klonalitelerini belirlemek amacıyla taze doku örneklerinden total DNA izolasyonu için kullanılan (DNA Mini Kit) yöntemi aşağıda verilmiştir:

- 1- Sıvı azotda dondurulmuş ve -80°C de bekletilmiş olan dokular alınarak sıvı azot içerisine aktarılır.
- 2- Sıvı azot içerisine alınan dokular hızlı bir şekilde ufak darbelerle küçük parçalara ayrılması sağlanır ve hemen ependorf tüpe aktarılır.

- 3- Örnek üzerine 180 µl ATL tamponu ve 20 µl proteinaz K ilave edilir ve 10 sn vorteklesleme yapılır.
- 4- Örnekler 56⁰ C de 500 rpm de thermomixer' a konulur. Minimum 30 dk olmak üzere bekletilir. Dokular tamamen çözününceye kadar süre uzatılır.
- 5- Dokular tamamen çözüldükten sonra tüplere 200 µl kit içerisinde bulunan AL tamponu ilave edilir ve vortekslenir.
- 6- Örnekler 70⁰ C de 500 rpm de 10 dk thermomixer' inkübasyona bırakılır ve 200 µl ethanol ilave edilir.
- 7- Örnekler içerisinde bulunan collection tüplere aktarılır ve üzerine 500 µl AW1 tamponu ilave edilir ve ardından 8000 rpm de 60 sn santrifüleme yapılır.
- 8- Filtreli tüler yeni collection tüplere aktarılır ve üzerine 500 µl AW2 tamponu ilave edilir.
- 9- Örnekler 13.000 rmp de 1 dk santrifüjlenir.
- 10- Fitreli tüpler yeni ependorflara aktarılır ve üzerine 50 µl elution tamponu ilave edilir.
- 11- 1 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır ve ardından 8000 rpm' de 1 dk santrifüleme yapılır. Son iki adım tekrar edilir.
- 12- Elde ettiğimiz genomik DNA'lar yeni tüplere aktarılır ve -80⁰ C de saklanır.

Genomik DNA İzolasyonu Yapılan Örneklerin Kontrolü

Genomik DNA izolasyonları yapılmış örneklerin DNA izolasyonlarının başarılı olup olmadığını kontrol etmek amacıyla “Specimen Control Size Ladder, InVivo Scribe Technologies” kiti kullanılarak örneklerde PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiş ve ardından örnekler poliakrilamid jelde yürütülmüş ve jel görüntüleme sisteminde görüntülenerek örneklerin DNA izolasyonu kontrol edilmiştir. Ayrıca örneklerin DNA miktarı nanodrop cihazında (ng/µl) olarak ölçülmüştür. DNA izolasyonu başarılı olmayan örnekler çalışmadan elimine edilmiştir.

T Hücre Reseptör Gen Klonalitesi Multipleks PCR Reaksiyonu

T hücre reseptör gen klonalitesi tespit etmek amacıyla multipleks PCR yöntemi kullanılmıştır. Çünkü multipleks PCR yönteminde tek reaksiyon ortamında birden fazla primer çifti kullanılarak birçok hedef bölgenin aynı anda çoğaltılması mümkün olmaktadır. Multipleks PCR Yöntemi ile 97 primer ve 14 multipleks PCR reaksiyonu kullanılarak örneklerde PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) gerçekleştirilmiştir.

T hücre reseptörü beta için A,B ve C olmak üzere 3 reaksiyon, T hücre reseptör gamma için 2 reaksiyon ve T Hücre reseptörü delta için 1 reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Her bir multipleks PCR reaksiyonunda PCR' ı kontrol etmek için kitin içerisinde yer alan pozitif kontrol örneği ve PCR reaksiyonun kontaminasyon riskini kontrol etmek amacıyla kitin içerisinde bulunan poliklonal DNA örneği negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) protokolü (Tablo 3) ve "Biomed PCR Master Mix: (Invivoscribe Technologies)" içeriği (Tablo 4) aşağıda özetlenmiştir. Multipleks PCR sonrası tüm örneklerde heterodubleks analizi yapılmış ve ardından polyacrilamid jelde (%6-8) (acrilamid/bisacrilamid) (19:1) jelde) (0.5 x TBE;110 V 2-3 saat) yürütülmüştür. Elektroforez cihazından uzaklaştırılan jeller ethidium bromür boyası ile 15 dakika muamele edilmiştir ve ardından distile su yıkanmıştır. Son adımda ise jeller jel görüntüleme sisteminde değerlendirilmiştir.

Multiplex PCR için Çalışma Protokolü

Tablo 3. Multiplex PCR için Çalışma Protokolü

<u>Multiplex PCR için Çalışma Protokolü</u>		
95°C de 15 dk		Denatürasyon
95 °C de 45 sn	}	Amplifikasyon (35 döngü)
60 °C de 45 sn		
72 °C de 1,3 dk		
72°C de 10 dk		Son Uzama
15°C de ∞		Soğuma

Tablo 4. Biomed PCR Master Mix (Invivoscribe Technologies)

T HÜCRE RESEPTÖR GEN KLONALİTESİ
TCRB için 3 reaksiyon ile: (TCRBA: Vb-Jb1/2.2/2.6/2.7; TCRBB: Vb-Jb2.1/2.3/2.4/2.5; TCRBC: Db-Jb)
TCRG için 2 reaksiyon ile: (TCRGA: VcI/c10-Jc; TCRGB: Vc9/c11-Jc)
TCRD için bir reaksiyon ile (Vd-Jd) bölgesi hedeflenmiştir

HETERODUPLEKS ANALİZİ

PCR sonrası örneklerde yanlış bağlanmayı ve yanlış pozitifliği önlemek amacıyla tüm örneklerle multipleks PCR sonrası heterodupleks analizi yapılmış ve bu işlem için Thermomixer cihazı kullanılmıştır. Heterodupleks analizi işlem basamakları aşağıda tablo 5'te özetlenmiştir.

Tablo 5. Heterodublex Analizi

Heterodupleks Analizi:
1. 10-20 µl PCR ürününün denatürasyonu için örnekler Thermomixer cihazında 95° C de 5 dk inkübe edilmiş ve örneklerin denatürasyonu yapılmıştır.
2. Denatürasyonu yapılan tüm örnekler 60 dk 4° C de en az 1 saat bekletilerek, tek DNA zincirlerinin tekrar birbirine bağlanması sağlanmıştır.

Multipleks PCR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Poliakrilamid jel görüntüleri analiz aralıklarında değerlendirilmiştir. Poliakrilamid jelde simir görüntüsü poliklonal PCR ürünleri, analiz aralığında izlenen tek bant klonal PCR ürünleri, aynı analiz aralığında izlenen iki bant: bi allelik farklı analiz aralığında izlenen çoklu bantlar oligoklonal olarak değerlendirilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6

Poliakrilamid jelde simir görüntüsü	Poliakrilamid jelde aynı analiz aralığında iki bant görüntüsü	Poliakrilamid jelde farklı analiz aralığında birden fazla bant görüntüsü
Poliklonal	Biklonal	Oligoklonal

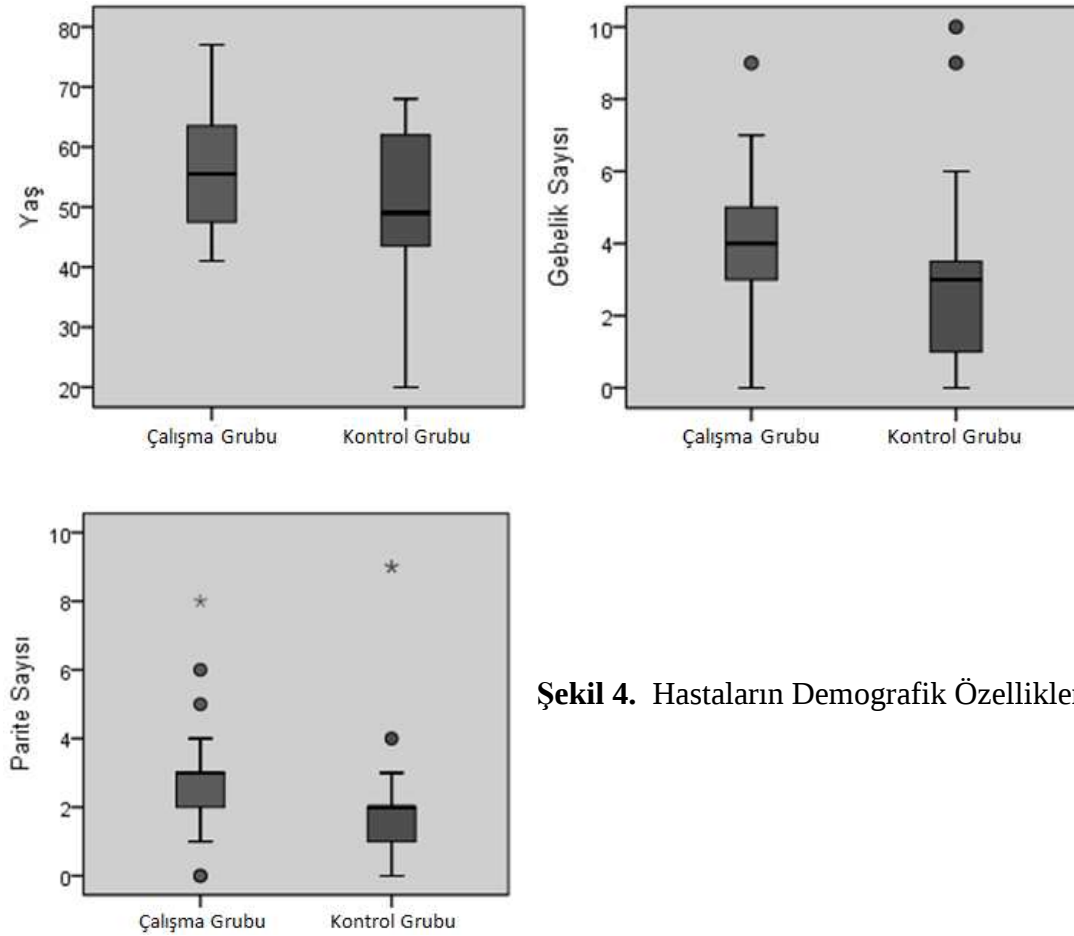
Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanılmıştır. Nitel verilerin analizinde ki-kare test, ki-kare koşulları sağlanmadığında fischer test kullanıldı. Değişkenlerin dağılımı kolmogorv simirnov test ile ölçüldü. Nicel verilerin analizinde bağımsız örneklem t test ve mann-whitney u test kullanıldı. Analizlerde SPSS 22.0 programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızda malign adneksiyal kitlesi olan 24 (çalışma grubu) ve benign adneksiyal kitlesi olan 23 hasta (kontrol grubu) olmak üzere toplam 47 hasta değerlendirilmiştir. Hastaların demografik özellikleri Tablo 7’de özetlenmiş ve Şekil 4’te gösterilmiştir. Çalışma grubunda ortalama yaş 56.2 ± 10.6 yıl, kontrol grubunda ise 49.4 ± 14 yıldır. Çalışma grubunda gebelik ve parite sayısı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı (4 vs 3; 3 vs 2; $p=0.04$ ve $p= 0.03$; sırasıyla).

Tablo 7. Olguların demografik özellikleri

	Çalışma Grubu						Kontrol Grubu						P		
	Ortalama ±			Ortanca (Min-Mak)			Ortalama ±			Ortanca (Min-Mak)			değeri		
	standart sapma						standart sapma								
Yaş	56,2	±	10,6	55,5	41,0	-	77,0	49,4	±	14,0	49,0	20,0	-	68,0	0,065
Gebelik	4,0	±	2,3	4,0	0,0	-	9,0	2,9	±	2,7	3,0	0,0	-	10,0	0,044
Parite	2,8	±	1,8	3,0	0,0	-	8,0	2,2	±	2,4	2,0	0,0	-	9,0	0,030

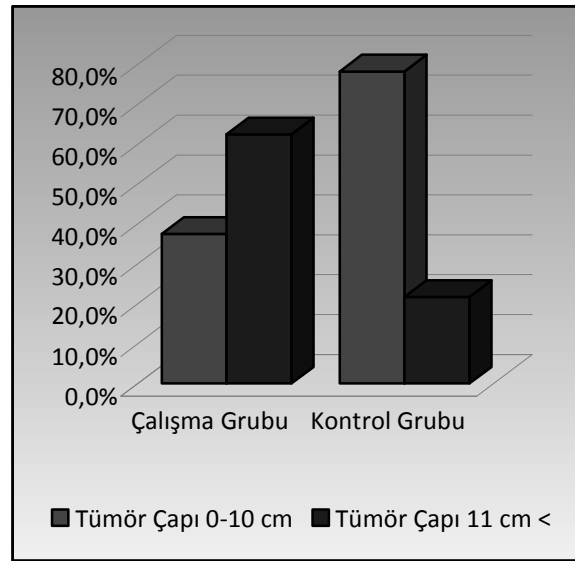


Şekil 4. Hastaların Demografik Özellikleri

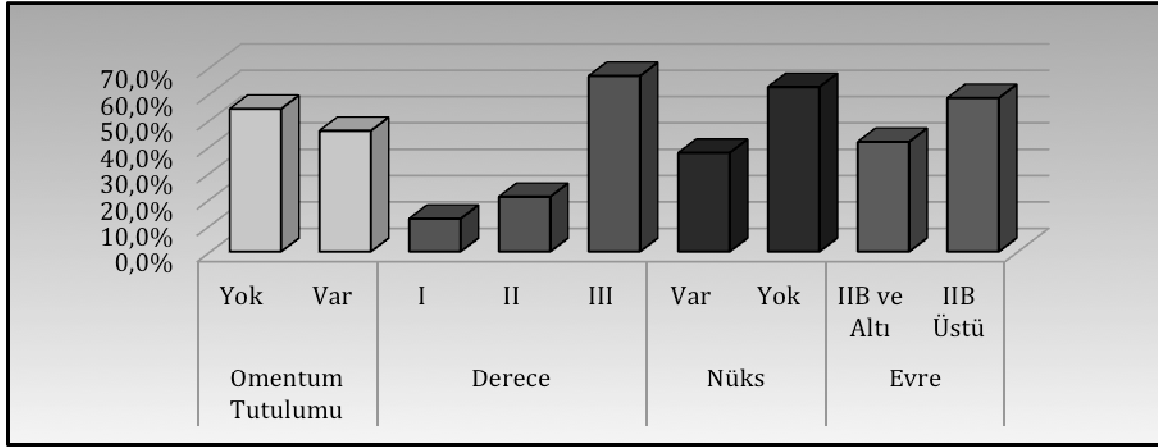
Hastaların klinik özellikleri Tablo 8’de gösterilmiştir. Çalışma grubunda tümör çapı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak büyük saptanmıştır ($P<0.005$). Çalışma grubundaki hastaların büyük kısmını derece III hastalar (%67) oluşturmaktadır. 10 hasta (%42) Evre IIB ve altı iken, 15 hastada (%63) nüks saptandı. Şekil 5’te çalışma ve kontrol grubunun tümör çapına göre dağılımı; Şekil 6’da çalışma grubunun omentum tutulumu, tümör derecesi, nüks ve evre açısından dağılımı gösterilmiştir.

Tablo 8. Hastaların klinik özellikleri

		Çalışma Grubu		Kontrol Grubu		P
		N	%	N	%	
Tümör Çapı	0-10 cm	9	38	18	%78	0,005
	11 cm <	15	62	5	%22	
Omentum Tutulumu	Yok	13	54			
	Var	11	46			
Derece	I	3	12			
	II	5	21			
	III	16	67			
Nüks	Var	9	37			
	Yok	15	63			
Evre	IIB ve Altı	10	42			
	IIB Üstü	14	58			



Şekil 5. Çalışma ve kontrol grubunun tümör çapına göre dağılımı

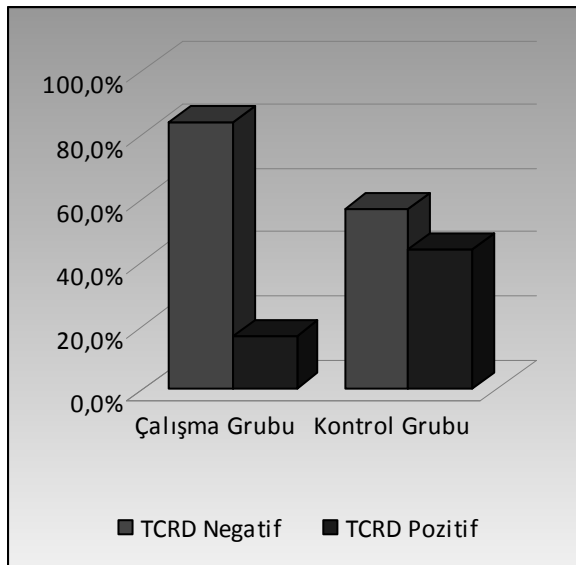
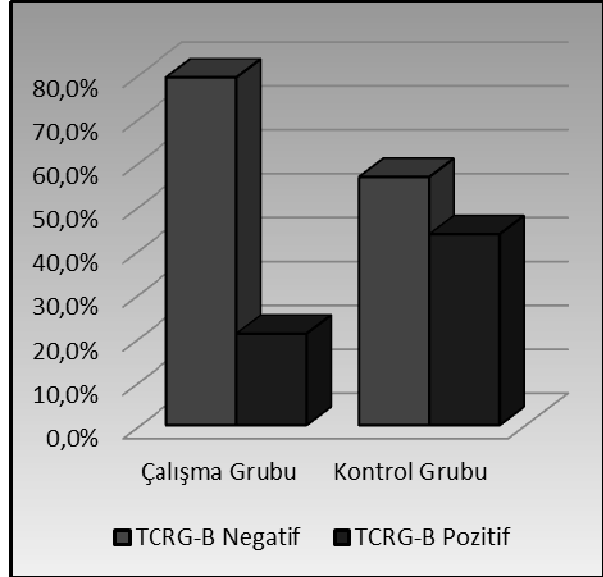
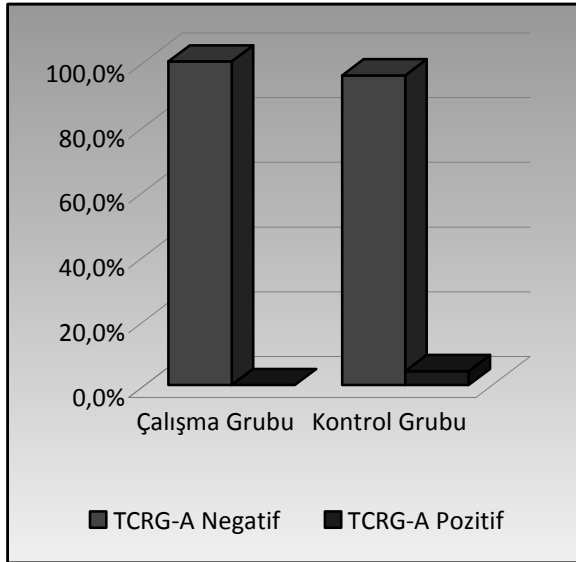
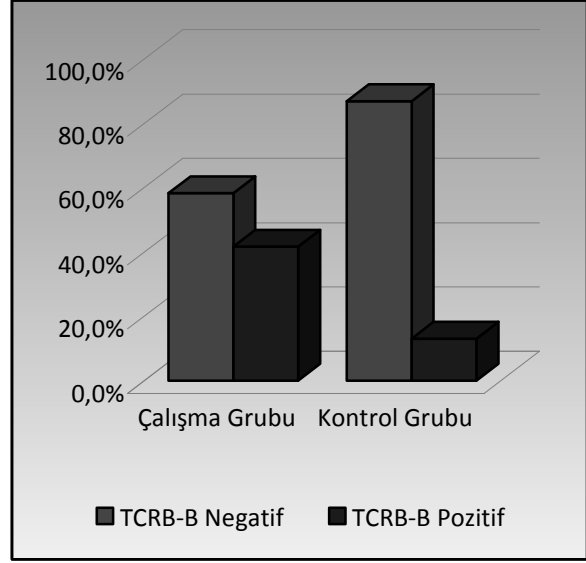
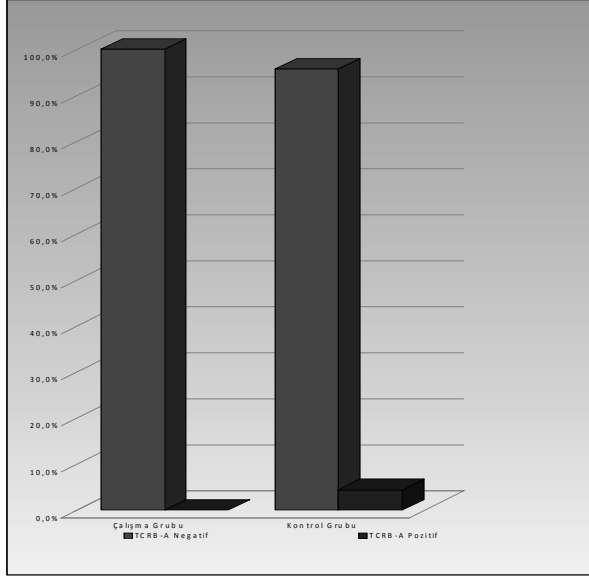


Şekil 6. Çalışma grubunun omentum tutulumu, tümör derecesi, nüks ve evre açısından dağılımı

Her iki gruba ait T reseptör saptanmaları Tablo 9’da gösterilmiştir. TCRB-A reseptörü çalışma grubunda saptanmazken sadece 1 hastada kontrol grubunda saptanmıştır ($p>0,05$). TCRB-B reseptörü çalışma grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (10 hastaya karşılık 3 hasta, $p=0,028$). TCRB-C reseptörü her iki grupta da saptanmamıştır. TCRG-A reseptörü sadece 1 hastada kontrol grubunda saptanmıştır. TCRG-B reseptörü çalışma grubunda 5 hastada kontrol grubunda 10 hastada pozitif saptanmıştır ($p>0,05$). TCRD reseptörü çalışma grubunda 4 hastada saptanırken kontrol grubunda 10 hastada pozitif saptanmıştır ($p=0,045$) (Şekil 7).

Tablo 9. Çalışma ve kontrol grubundaki T hücre reseptörü ve alt gruplarının dağılımı

		Çalışma Grubu		Kontrol Grubu		P
		N	%	N	%	
TCRB-A	Negatif	24	100	22	95	0,489
	Pozitif	0	0	1	5	
TCRB-B	Negatif	14	58	20	87	0,028
	Pozitif	10	42	3	13	
TCRB-C	Negatif	24	100	23	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRG-A	Negatif	24	100	22	95	0,489
	Pozitif	0	0	1	5	
TCRG-B	Negatif	19	79	13	56	0,096
	Pozitif	5	21	10	44	
TCRD	Negatif	20	83	13	56	0,045
	Pozitif	4	17	10	44	



Şekil 7. Çalışma ve kontrol grubunda T hücre reseptörleri ve alt grupların oranları

Çalışma grubundaki hastalar omentum tutulumu, nüks varlığı ve evreye göre alt gruplara ayrılıp tekrar incelendiğinde pozitif T reseptör oranları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgular Tablo 10, 11 ve 12’de gösterilmiştir.

Tablo 10. Çalışma grubundaki hastalarda omentum tutulumuna göre T hücre reseptörü ve alt gruplarının değerlendirilmesi

		Omentum Tutulumu		Omentum Tutulumu		P
		Yok		Var		
		N	%	N	%	
TCRB-A	Negatif	13	100	11	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRB-B	Negatif	7	53	7	63	0,628
	Pozitif	6	46	4	36	
TCRB-C	Negatif	13	100	11	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRG-A	Negatif	13	100	11	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRG-B	Negatif	11	84	8	72	0,475
	Pozitif	2	15	3	27	
TCRD	Negatif	9	69	11	100	0,098
	Pozitif	4	30	0	0	

Tablo 11. Çalışma grubundaki hastalarda nüks varlığına göre T hücre reseptörü ve alt gruplarının değerlendirilmesi

		Nüks Yok		Nüks Var		P
		N	%	N	%	
TCRB-A	Negatif	9	100	15	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRB-B	Negatif	4	44	10	66	0,285
	Pozitif	5	55	5	33	
TCRB-C	Negatif	9	100	15	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRG-A	Negatif	9	100	15	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRG-B	Negatif	7	77	12	80	1
	Pozitif	2	22	3	20	
TCRD	Negatif	8	88	12	80	1
	Pozitif	1	11	3	20	

Tablo 12. Çalışma grubundaki hastalarda evreye göre T hücre reseptörü ve alt gruplarının değerlendirilmesi

		Evre IIB ve Altı		Evre IIB Üstü		P
		N	%	N	%	
TCRB-A	Negatif	10	100	14	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRB-B	Negatif	5	50	9	65	0,484
	Pozitif	5	50	5	35	
TCRB-C	Negatif	10	100	14	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRG-A	Negatif	10	100	14	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRG-B	Negatif	9	90	10	72	0,269
	Pozitif	1	10	4	28	
TCRD	Negatif	7	70	13	93	0,272
	Pozitif	3	30	1	7	

Çalışma grubu, tümör derecesi düşük ve yüksek olanlar olarak ayrılarak karşılaştırıldığında TCRG-B derece I-II olanlarda, derece III olgulara göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (p=0.028) (Tablo 13).

Tablo 13. Çalışma grubundaki hastalarda dereceye göre TCR ve alt gruplarının değerlendirilmesi

		Derece I-II		Derece III		P
		N	%	n	%	
TCRB-A	Negatif	8	100	16	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRB-B	Negatif	4	50	10	62	0,558
	Pozitif	4	50	6	38	
TCRB-C	Negatif	8	100	16	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRG-A	Negatif	8	100	16	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRG-B	Negatif	4	50	15	94	0,028
	Pozitif	4	50	1	6	
TCRD	Negatif	7	87	13	81	1
	Pozitif	1	13	3	19	

T reseptör saptanma oranları çalışma grubunda genel sağkalım (Tablo 14) ve hastalıksız sağkalıma göre (Tablo 15) incelenmiştir. Genel sağkalım süresi 36 ay altı ve üstü olarak çalışma grubu ikiye ayrıldığında; genel sağkalım 36 ay ve üstü olanlarda TCRG-B anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (p=0.029). TCRB-B ve TCRD genel sağkalımı 36 ay ve altı olan grupta daha yüksek oranda pozitif saptansa da bu oran anlamlı bulunmamıştır (%50 vs %30 , %25 vs %10, sırasıyla) (P>0.05).

Tablo 14. Çalışma grubundaki hastalarda sağkalım süresine göre TCR ve alt gruplarının değerlendirilmesi

		Sağkalım Süresi		Sağkalım Süresi		P
		≤ 36 Ay		> 36 Ay		
		N	%	n	%	
TCRB-A	Negatif	12	100	10	%100	-
	Pozitif	0	0	0	%0	
TCRB-B	Negatif	6	50	7	%70	0,342
	Pozitif	6	50	3	%30	
TCRB-C	Negatif	12	100	10	%100	-
	Pozitif	0	0	0	%0	
TCRG-A	Negatif	12	100	10	%100	-
	Pozitif	0	0	0	%0	
TCRG-B	Negatif	12	100	6	%60	0,029
	Pozitif	0	0	4	%40	
TCRD	Negatif	9	75	9	%90	0,594
	Pozitif	3	25	1	%10	

Hastalıksız sağkalım süresi ≤ 31 ay ve > 31 ay olarak 2 gruba ayrıldığında TCRB-B ve TRCD reseptörleri yönünden iki grup arasında benzer oranlar izlenmektedir. TCRG-B reseptörü hastalıksız sağ kalımı > 31 ay olan hastalarda daha yüksek oranda saptansa da bu oran anlamlı değildir (Tablo 15).

Tablo 15. Çalışma grubundaki hastalarda nüks olmadan geçen süreye göre T hücre reseptörleri alt gruplarının değerlendirilmesi

		Nüks Olmadan Geçen		Nüks Olmadan Geçen		P
		Süre ≤ 31 Ay		Süre > 31 Ay		
		N	%	n	%	
TCRB-A	Negatif	11	100	11	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRB-B	Negatif	6	54	7	64	0,665
	Pozitif	5	46	4	36	
TCRB-C	Negatif	11	100	11	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRG-A	Negatif	11	100	11	100	-
	Pozitif	0	0	0	0	
TCRG-B	Negatif	10	91	8	73	0,269
	Pozitif	1	9	3	27	
TCRD	Negatif	9	82	9	82	1
	Pozitif	2	18	2	18	

TARTIŞMA

Cerrahi ve kemoterapi alanındaki tüm gelişmelere karşın, over kanserleri jinekolojik maligniteler arasında ölüme en çok sebebiyet veren kanser türüdür. Erken dönemde bulgu vermemesi nedeniyle birçok hasta ileri evrede tanı almakta, bu da hastaların sağkalımını etkilemektedir. Over kanserli hastalarda en sık belirti abdominal distansiyon ve ağrıdır. Daha az bir kısmında vajinal kanama, hastanın yaşına ve tümörün histolojik tipine bağlı olarak da erken puberte, virilizasyon gibi belirtiler mevcut olabilir. Hastalığın kesin tanısı histopatolojik olarak konulmaktadır. Ancak operasyon öncesi tanıya yaklaştıran bazı laboratuvar yöntemleri mevcuttur. Bunlardan en önemlisi transvajinal ultrasonografidir (TVUSG). TVUSG’de saptanan adneksiyal kitle, hastanın yaşına ve eşlik eden sonografik özelliklere göre hekime maligniteyi düşündürebilir. Hastanın ileri yaşta olması; kitlenin büyük olması; sonografide kitlenin düzensiz sınırlı, septasyonlu, papiller projeksiyonlar içermesi; Doppler sonografide yüksek debili, düşük dirençli akım saptanması maligniteyi düşündüren klinik bulgulardır.

Bunlara ek olarak abdominal kitlenin köken aldığı dokuyu saptamada, kitlenin türünü ve malign karakterde olup olmadığını saptamaya yardımcı tümör belirteçleri de kullanılmaktadır. Epitelyal over tümörleri için klinikte en yaygın kullanılan tümör belirteci CA125’tir. Seçilen kritik değere bağlı olarak adneksiyal kitlenin benign-malign ayırımında CA125 ölçümünün duyarlılığı %56-100 ve özgüllüğü % 60-92 arasındadır (73). Postmenopozal pelvik kitle saptanan 228 kadının dahil edildiği ileriye dönük bir çalışmada, benign-malign ayırımında; pelvik muayene %76, TVUSG %74, CA125 ise %77 (kritik değer 35 U/ml) doğruluk oranına sahip olarak bulunmuştur (74). Bu üç testin negatif olduğu olguların hiçbirinde over kanseri saptanmamıştır. Postmenopozal dönemde pelvik kitlesi bulunan kadınlarda CA125 serum seviyesinin belirlenmesi tanıda değerlidir (75).

Chi ve arkadaşlarının yaptığı (56) bir çalışmada, tanı anındaki yaş ile prognoz arasında anlamlı bir ilişkinin bulunduğu saptanmıştır. Schildkraut ve ark (76) yaptığı bir çalışmada, 46-54 yaş arası hasta popülasyonunda over karsinomu görülme riski 45 yaş altı popülasyona göre iki kat fazla saptanmıştır. Bu çalışmada, benign ve malign gruplar arasında hasta yaşı açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Bunun en önemli nedeni hasta sayısının yeterli olmamasıdır. Buna paralel olarak hastaların menopoz durumlarıyla, malignite arasında da anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Gebelik ve doğum yapmış olma durumunun, over kanserine karşı koruyucu etkisi bilinmektedir. Altta yatan mekanizmanın, ovulasyonun baskılanması olduğu düşünülmektedir. Zhang ve ark yaptığı (77) 254 over kanseri olgusu ile 652 kontrolün karşılaştırıldığı bir çalışmada, term olsun ya da olmasın tüm gebeliklerin over kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir. Ness ve arkadaşlarının (78) konu ile ilgili olgu-kontrol çalışmalarını derlediği bir çalışma, 5207 hasta ve 7705 kontrolü karşılaştırmıştır (78). Bu çalışmada nulliparitenin, over kanseri için anlamlı bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, gravida ve parite ile malignite arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bunun nedeni kontrol grubundaki hasta sayısının yetersiz olmasından kaynaklanmaktadır.

Over kanserleri, kemosensitif tümörlerdir ve çoğu olguda platin bazlı kemoterapi ile anlamlı iyileşme sağlanır. Bazı hastalarda benzer klinik ve patolojik özelliklere karşılık daha uzun sağkalımlar olabilmektedir. Over kanserinin moleküler biyolojisinin anlaşılması ile ilgili önemli ilerlemeler kaydedilmektedir ve tümör ilerlemesi ve karsinogenezde onkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin rolünün önemi belirlenmektedir.

Tümörün moleküler karakteristikleri ve hastanın buna cevabı ile uzun ya da kısa sağkalıma katkıda bulunmaktadır. Özellikle tümör gelişim ve ilerlemesinde immün sistemin etkisi kanser hastalarında genel sağkalımda önemli bir role sahiptir. İmmün sistem kanser hücrelerini erken evrede ortadan kaldırabilir. Gözlemsel çalışmalar göstermiştir ki, immün sistemi baskılayıcı tedavi alan hastalarda normal polpülasyona göre malignite riski anlamlı olarak artmıştır (79). Over kanserinde klinik sonuç tümör özellikleri (evre, kalıntı hastalık, histolojik tip ve derece) ve kansere konak tarafından verilen immün yanıtı bağlıdır. İmmün mekanizmaların manipülasyonu over kanser olgularında terapötik yarar sağlayabilir.

Deneyisel çalışmalarda over kanserinin ilerlemesi immün sistem ile ilişkili bulunmuştur. Over kanseri hastalarında tümörü infiltre eden T lenfositlerin bulunması bu hastalarda genel sağkalımda pozitif etkisi göstermiştir (80). Over kanseri dışındaki tümörlerde de T lenfosit infiltrasyonu daha iyi sağkalım sonuçları ile ilişkili bulunmuştur.

Raspollini ve arkadaşları (23) 95 ileri evre seröz over kanseri hastasında tümör dokusunda T hücre reseptörlerini çalışmışlardır. Gama/delta T hücrelerini 27 olguda (%31.3) saptamışlardır. Gama/ delta T hücrelerinin seröz ileri over kanseri hastalarında bulunmasının kısa hastalıklı sağkalım ile ilişkili bulunmuşlardır. Gama/delta T hücreleri genel sağkalım ve ilk hat kemoterapiye klinik yanıt ile ilişkili bulunmamıştır.

Deniger ve arkadaşları (81) tümör hücre hatlarında poliklonal gama/delta T hücrelerin akut ve kronik lösemi, kolon, pankreas ve over kanser hücrelerini yok ettiğini göstermiştir. Çalışmanın sonucunda, poliklonal gama/delta T hücrelerinin aktive edilebileceği ya da çoğaltılabileceğini ve geniş bir anti tümör etki gösterdiğini belirtmişlerdir. İnsanlarda da gama/delta T hücre kanser immün terapisinin uygulanabilirliğini ortaya koymuşlardır.

Bizim çalışmamızda %41 hastada TCRB-B, %20.8 hastada TCRG-B ve %16.7 hastada TCRD pozitif olarak saptanmıştır. TCRB ve TCRD pozitiflik oranları ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım sürelerinde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır. TCRG-D ise genel sağkalım >36 ay olan hastalarda anlamlı olarak yüksektir, hastalıksız sağkalım >31 ay olan hastalarda ise oran yüksek olmakla beraber istatistiksel anlamlılık gözlenmemiştir.

Sonuç olarak, over kanseri olgu serisinde T hücre reseptörlerimim alt grupları gösterilmiştir. TCRB-B ve TCR-D alt gruplarında saptanan anlamlı farklılık immün tedavilere yön verebilir. T hücre reseptör yolaklarının anlaşılması over karsinomu olgularında yeni tedavi yaklaşımları sağlayacaktır.

SONUÇ

Over kanseri tüm jinekolojik maligniteler arasında en ölümcül olanıdır ve belirti vermemesi nedeniyle ileri evrelerde tanı konulur. Erken dönemde tanı konulması amacıyla ortaya konulmuş uygun bir tarama yöntemi yoktur. Tanı histopatolojik olarak konulabilmektedir.

Over kanserleri, kemosensitif tümörlerdir ve çoğu olguda platin bazlı kemoterapi ile anlamlı iyileşme sağlanır. Bazı hastalarda benzer klinik ve patolojik özelliklere karşılık daha uzun sağkalımlar olabilmektedir. Over kanserinde klinik sonuç tümör özellikleri (evre, kalıntı hastalık, histolojik tip ve derece) ve kansere konak tarafından verilen immün yanıtı bağlıdır. İmmün mekanizmaların manipülasyonu over kanser olgularında terapötik yarar sağlayabilir.

Tümörün moleküler karakteristikleri ve hastanın buna cevabı ile uzun ya da kısa sağkalıma katkıda bulunmaktadır. Özellikle tümör gelişim ve ilerlemesinde immün sistemin etkisi kanser hastalarında genel sağkalımda önemli bir role sahiptir.

Bu çalışmada over karsinomlarında T hücre reseptör yeniden düzenlenmesi çalışılarak olgulardaki klonal seleksiyon araştırılmıştır. Biomed-2 Multiplex PCR yöntemi beta, gama ve delta T hücre klonalite sonuçları, klinik durum ve patoloji sonuçlarıyla birleştirilmiş ve kısa dönem sağkalım verileri ile karşılaştırılmıştır.

Çalışma grubunda TCRB-B ve TCR-D reseptör pozitiflik oranı kontrol grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak yüksek bulunmuştur.

Çalışma ve kontrol grubunda TCRB-A, TCRB-C, TCRG-A, TCRG-B reseptör pozitiflik oranı anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermemiştir.

Çalışma grubundaki hastalar ometum tutulumu, nüks varlığı ve evreye göre alt gruplara ayrılıp incelendiğinde pozitif T reseptör oranları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Çalışma grubu, tümör derecesi düşük ve yüksek olanlar olarak ayrılarak karşılaştırıldığında TCRG-B derece I-II olanlarda, derece III olgulara göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p=0.028$).

Genel sağkalım süresi 36 ay altı ve üstü olarak çalışma grubu ikiye ayrıldığında; genel sağkalım 36 ay ve üstü olanlarda TCRG-B anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p=0.029$). TCRB-B ve TCRD genel sağkalımı 36 ay ve altı olan grupta daha yüksek oranda pozitif saptansa da bu oran anlamlı bulunmamıştır (%50 vs %30 , %25 vs %10, sırasıyla) ($p>0,05$).

Over kanseri serisinde T hücre reseptörlerinin alt grupları gösterilmiştir. Daha fazla sayıda klinik çalışmalarla, tümörü infiltre eden bu T hücre reseptörlerinin alt grupları daha ayrıntılı olarak belirlenebilir. Bu sonuçlar ileride immün terapilere ışık tutacaktır ve prognostik değişkenlerin belirlenmesini sağlayacaktır. Over kanserlerinde T hücre klonalitesinin belirlenmesi tedavi sonrası kalıntı hastalığın saptanmasında ve tedaviye yanıtın belirlenmesinde kullanılabilir.

KAYNAKLAR

- 1- Grimes DA, Hughes JM. Use of multiphasic oral contraceptives and hospitalizations of women with functional ovarian cysts in the United States. *Obstet Gynecol* 1989; 73: 1037-42.
- 2- Cancer incidence in Sweden. Annual report 1996. Stockholm: Swedish Cancer Registry, Centre for Epidemiology, National Board of Health and Welfare; 1996.
- 3- Bulas DI, Ahlstrom PA, Sivit CJ, Blask AR, O'Donnell RM. Pelvic inflammatory disease in the adolescent: comparison of transabdominal and transvaginal sonographic evaluation. *Radiology* 1992; 183: 435-9.
- 4- Kolstad P(ed). Carcinoma of ovary. In: *Clinical Gynecologic Oncology The Norwegian Experience*. Oslo: Norwegian University; 1986. 183-99.
- 5- Sassone AM, et al. Hyperthecosis of the ovary: Clinicopathologic study of 19 cases with immunohistochemical analysis of steroidogenic enzymes. *Int J Gynecol Pathol* 1989; 8: 311-20.
- 6- Scully RE, Young RH, Tumors of the ovary, maldeveloped gonads, fallopian tube and broad ligament, *Atlas of Tumor Pathology*, 1998; 23, 3rd series
- 7- Berek JS, Hacker NF, *Practical Gynecologic Oncology*, 4th ed, Philadelphia, PA, Lippincott Williams&Wilkins, 2005, 443-541
- 8- Disaia PJ, Creasman WT (Çeviri: A. Ayhan) *Klinik Jinekolojik Onkoloji*. Güneş Kitabevi 2003: 289-350
- 9- Runnebaum IB, Stickeler E. Epidemiological and molecular aspects of ovarian cancer risk. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127 (2): 73-79
- 10- Chen LM, Berek JS, ovarian and fallopian tubes, In: Haskell CM, ed, *Cancer treatment*, 5th ed, Philadelphia, PA, WB Saunders 2001, 55:900-932
- 11- Kurman RJ, Scardino PT, Malignant germ cell tumors of the ovary and the testis: an immunohistologic study of 69 cases, *Ann Clin Lab Sci*, 1979, 9: 462-466

- 12- Ueda G, Abe Y, Embryonal carcinoma of the ovary: a six year survival, *Gynecol Oncol*, 1990;31:287-292
- 13- Simosek T, Trak B, Primary pure choriocarcinoma of the ovary in reproductive ages: a case report: *Eur J Gynecol Oncol* 1998, 19:284-286
- 14- Gershenson DM, Del Junco G, Mixes germ cells of the ovary, *Obstet Gynecol*, 1984, 64:200-206
- 15- Roth LM, Anderson MC, Sertoli-Leydig cell tumors: a clinicopathologic study of 34 cases; *Cancer* 1981, 48; 187-197
- 16- Slayton RE, Management of germ cell and stromal tumors of the ovary, *Semin Oncol* 1984, 11:299-313
- 17- Fox H, Langley FA, Tumors of the ovary; Chicago, Mosby Year Book, 1976
- 18- Robboy SJ, Scully RE, Carcinoid metastatic to the ovary: factors influencing survival, *Obstet Gynecol* 1960;33:798-811
- 19- Woodruff JD, Muthy Ys, Metastatic ovarian tumors, *Am J Obstet Gynecol*, 1970;107:202-209
- 20- Arseneau JC, Canellos GP, American Burkitt's Lymphoma: a clinicopathologic study of 30 cases, I Clinical factors relating to prolonged survival, *Am J Med*, 1975; 58: 314-321
- 21- Curiel TJ, Coukos G. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival *Nat Med* 2004;10:942-949
- 22- Sato E, Olson SH. Intraepithelial CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8⁺/regulatory T cell ratios are associated with favorable prognosis in ovarian cancer *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;105:18538,18540
- 23- Raspollini MR. Tumor-infiltrating gamma/delta T-lymphocytes are correlated with a brief disease-free interval in advanced ovarian serous carcinoma *Ann Oncol* 2005;16:590

- 24- Stumpf M. Intraepithelial T lymphocytes predict survival for patients with serous stage III ovarian carcinoma: relevance of clonal selection of T lymphocytes *Br J Cancer* 2009;101:1513-1515
- 25- Leffers N, Gooden MJM, deJong RA. Prognostic significance of tumor-infiltrating T-lymphocytes in primary and metastatic lesions of advanced stage ovarian cancer *Cancer Immunol Immunother* 2009;58:449-459
- 26- Cellular and Molecular Immunology Abbas AK, Lichtman AH eds. 2005
- 27- Ayhan A, Başaran M. Epitelyal over kanserleri (Güner H. editor) *Jinekolojik Onkoloji*. Ankara: Çağdaş Medikal Kitapevleri. 2002: 198-243
- 28- Runnebaum IB, Stickeler E. Epidemiological and molecular aspects of ovarian cancer risk. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127(2):73-9.
- 29- Frank TS, Manley SA, Olopade OI, Cummings S, Garber JE, Bernhardt B et al. Sequence analysis of BRCA1 and BRCA2: correlation of mutations with family history and ovarian cancer risk. *J Clin Oncol* 1998; 16(7):2417-25.
- 30- Rubin SC, Blackwood MA, Bandera C, Behbakht K, Benjamin I, Rebbeck TR et al. BRCA1, BRCA2, and hereditary nonpolyposis colorectal cancer gene mutations in an unselected ovarian cancer population: relationship to family history and implications for genetic testing. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178(4):670-77.
- 31- Stoppa-Lyonnet D, Laurent-Puig P, Essioux L, Pages S, Ithier G, Ligot L et al. BRCA1 sequence variations in 160 individuals referred to a breast/ovarian family cancer clinic. Institut Curie Breast Cancer Group. *Am J Hum Genet* 1997; 60(5):1021-30.
- 32- Whittemore AS, Gong G, Itnyre J. Prevalence and contribution of BRCA1 mutations in breast cancer and ovarian cancer: results from three U.S. population-based case-control studies of ovarian cancer. *Am J Hum Genet* 1997; 60(3):496-504.
- 33- Atasü T, Şahmay S. *Jinekoloji (Kadın Hastalıkları)*. 2. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2001:349-84.

- 34- Ayhan A. Malign over tümörleri. Kişnişçi HA, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu LS (Editörler). Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ankara: Güneş kitabevi; 1996:981-97.
- 35- Fathalla MF. Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia? Lancet 1971; 2:163
- 36- Fiorca JV, Roberts WS. Screening for ovarian cancer. Cancer Control 1996; 3:120-129.
- 37- Cramer DW, Welch WR. Determinants of ovarian cancer risk. II. Inferences regarding pathogenesis. J Natl Cancer Inst 1983; 71:717-721.
- 38- Maines-Bandiera SL, Auersperg N. Increased Ecadherin expression in ovarian surface epithelium: an early step in metaplasia and dysplasia? Int J Gynecol Pathol 1997; 16:250-255.
- 39- Doss Bi, Wanek SM, Jacques SM, Qureshi F. Ramirez NC, Lawrence WD. Ovarian leiomyomas: clinicopathologic features in fifteen cases. int J Gynecol Pathol 1999; 18:63-68.
- 40- Lauchlan SC. Metaplasias and neoplasias of Mullerian epithelium. Histopathology 1984; 8:543-557.
- 41- Sinkre P. Hoang MP, Albores-Saavedra J. Mullerianosis of inguinal lymph nodes: report of a case. Int 1 Gynecol Pathol 2002; 2 1:60-64.
- 42- Young RH, Clement PB. Endocervicosis involving the uterine cervix: a report of four cases of a benign process that may be confused with deeply invasive endocervical adenocarcinoma. Int J Gynecol Pathol 2000; 19:322-328.
- 43- Batt RE, Smith RA, Buck GM, Severino MF, Naples JD. Mullerianosis. Prog Clin Biol Res 1990; 323:4 13-26.
- 44- Heller DS, Gordon RE, WesthoffC, Gerber S. Asbestos exposure and ovarian fiber burden. Am .1 Ind Med 1996; 29:435-439.
- 45- Holschneider CH,Berek JS. Ovarian cancer: epidemiyology,biology,and prognostic factors. Semin Surg Oncol 2000;19:3-10

- 46- Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Gordon GB, Longcope C, Bush TL, Hoffman SC, Comstock GW. Serum gonadotropins and steroid hormones and the development of ovarian cancer. JAMA 1995; 274:1926-1930.
- 47- Parrott JA, Doraiswamy V, Kim O, Mosher R, Skinner MK. Expression and actions of both the follicle stimulating hormone receptor and the luteinizing hormone receptor in normal ovarian surface epithelium and ovarian cancer. Mol Cell Endocrinol 2001; 172(2): 13-22.
- 48- Benedet JL, Hacker NF; Staging classifications and practice guidelines of gynecologic cancers, Int J Gynecol Obstet 2000, 70:207-212
- 49- Le T, Krepner GV, Does debulking surgery improve survival in biologically aggressive ovarian carcinoma ?, Gynecol Oncol 1997, 67: 208-14
- 50- Van Der Burg MEL, Van Lent M, The effect of debulking surgery after induction chemotherapy on the prognosis in advanced epithelial ovarian cancer, N Eng J Med 1995, 332: 629-34
- 51- Bamberger ES, Perrett CW. Angiogenesis in epithelial ovarian cancer. Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynecol. 2000; 14(6): 901-918
- 52- Bertelsen K, Holund B, Andersen E. Reproducibility and prognostic value of histologic type and grade in early epithelial ovarian cancer. Int J Gynecol Cancer 1993; 3(2):72-9.
- 53- Barnhill DR, Kurman RJ, Brady MF, Omura GA, Yordan E, Given FT et al. Preliminary analysis of the behavior of stage I ovarian serous tumors of low malignant potential: a Gynecologic Oncology Group study. J Clin Oncol 1995; 13(11):2752-6.
- 54- Heintz AP, Odicino F, Maisonneuve P, Beller U, Benedet JL, Creasman WT et al. Carcinoma of the ovary. Int J Gynaecol Obstet 2003; 83 Suppl 1:135-66: 135-66.
- 55- Omura GA, Brady MF, Homesley HD, Yordan E, Major FJ, Buchsbaum HJ et al. Long term follow-up and prognostic factor analysis in advanced ovarian carcinoma: the Gynecologic Oncology Group Experience. J Clin Oncol 1991; 9(7):1138-50.

- 56- Chi DS, Liao JB, Leon LF, Venkatraman ES, Hensley ML, Bhaskaran D et al. Identification of prognostic factors in advanced epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2001; 82(3):532-7.
- 57- Thigpen T, Brady MF, Omura GA, Creasman WT, McGuire WP, Hoskins WJ et al. Age as a prognostic factor in ovarian carcinoma. The Gynecologic Oncology Group Experience. *Cancer* 1993; 71(2 Suppl):606-14.
- 58- Hoskins WJ, McGuire WP, Brady MF, Homesley HD, Creasman WT, Berman M et al. The effect of diameter of largest residual disease on survival after primary cytoreductive surgery in patients with suboptimal residual epithelial ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170(4):974-79.
- 59- Vergote IB, Kaern J, Abeler VM, Pettersen EO, De Vos LN, Trope CG. Analysis of prognostic factors in stage I epithelial ovarian carcinoma: importance of degree of differentiation and deoxyribonucleic acid ploidy in predicting relapse. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169(1):40-52.
- 60- Silvestrini R, Daidone MG, Veneroni S, Benini E, Scarfone G, Zanaboni F et al. The clinical predictivity of biomarkers of stage III-IV epithelial ovarian cancer in a prospective randomized treatment protocol. *Cancer* 1998; 82(1):159-67.
- 61- Eisenkop SM, Friedman RL, Wang HJ. Complete cytoreductive surgery is feasible and maximizes survival in patients with advanced epithelial ovarian cancer: a prospective study. *Gynecol Oncol* 1998; 69(2):103-8.
- 62- Yüce K. Jinekolojik kanserlerde tümör belirleyicileri (Tümör Marker). In: Güner H (ed), *Jinekolojik Onkoloji*, 3.Baskı. Ankara: Çağdaş Medikal Kitabevi, 2002; 16: 383-93.
- 63- Dini MM, Miller M. Biological markers in gynecologic cancer. *IMJ* 1984;166:166-71
- 64- Xu Y, Shen Z, Lysophosphatidic acid as a potential biomarker for ovarian and other gynaecologic cancers. *JAMA* 1998;280: 719-23
- 65- Mills GB, Eder A, Critical role of lysophospholipids in the pathophysiology, diagnosis and management of ovarian cancer. *Cancer Treat Res* 2002;107: 259-83

- 66- Özbaşar D, Sezik M. Jinekolojide tümör belirteçleri. In: Çiçek MN, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A (eds), Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti. 2004;75: 829-36
- 67- Sassone AM, Timor-Tritsch IE, Transvaginal sonographic characterization of ovarian disease: evaluation of a new scoring system to predict ovarian malignancy. *Obstet Gynecol* 1991;78:70-6
- 68- DePriest PD, Varner E. The efficacy of a sonographic morphology index in identifying ovarian cancer: a multi-institutional investigation. *Gynecol Oncol* 1994; 55: 174–8.
- 69- Fleischer AC, Cullinan JA, Color Doppler Sonography of Pelvic Masses In: Fleischer AC, Manning F, Jeanty P, Romero R (eds). *Sonography in Obstetrics and Gynecology*. 5th ed. Nashville: Appleton and Lange; 791-813
- 70- Aydınlı K, Kaleli S, Jinekolojik Kanserlerin Erken Tanısı. In: Atasü T, Aydın K (eds). *Jinekolojik Onkoloji*. 2nd ed. İstanbul: Logos Yayıncılık; 1999: 133-146
- 71- Walsh JW. Computed tomography of gynecologic neoplasms. *Radiol Clin North Am* 1992;30: 817-30
- 72- Howard K, Simes J. Positron Emission Tomography [Part 2(i)] May 2001
- 73- Soper JT, Hunter VJ, Daly L ve ark. Preoperative serum tumor-associated antigen levels in women with pelvic masses. *Obstet Gynecol* 1990;75:249-54
- 74- Schutter EM, Kenemans P, Sohn C ve ark. Diagnostic value of pelvic examination, ultrasound, and serum CA–125 in postmenopausal women with a pelvic mass. An international multicenter study. *Cancer* 1994;74:1398-406
- 75- ACOG Committee on Gynecologic Practice. The role of the generalist obstetrician-gynecologist in the early detection of ovarian cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 2003;80:235-8.
- 76- Schildkraut JM, Halabi S, Bastos E, Marchbanks PA, McDonald JA, Berchuck A. Prognostic factors in early-onset epithelial ovarian cancer: a population-based study. *Obstet Gynecol* 2000;95:119 –27.

- 77- Zhang M, Lee AH, Binns CW. Reproductive and dietary risk factors for epithelial ovarian cancer in China. *Gynecol Oncol*. 2004 Jan;92(1):320-6.
- 78- Ness RB, Cramer DW, Goodman MT, Kjaer SK, Mallin K, Mosgaard BJ, Purdie DM, Risch HA, Vergona R, Wu AH. Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Am J Epidemiol*. 2002 Feb;155(3):217-24.
- 79- Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H et al. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002; 3: 91–998.
- 80- Negus RP, Stamp GW, Hadley J, Balkwill FR. Quantitative assessment of the leukocyte infiltrate in ovarian cancer and its relationship to the expression of C-C chemokines. *Am J Pathol* 1997; 150: 1723–1734)
- 81- Deniger DC, Maiti SN, Mi T, Switzer KC, Ramachandran V, Hurton LV, Ang S, Olivares S, Rabinovich BA, Huls MH, Lee DA, Bast RC Jr, Champlin RE, Cooper LJ. Activating and propagating polyclonal gamma delta T cells with broad specificity for malignancies. *Clin Cancer Res*. 2014 Nov 15;20(22):5708-19

EKLER

Ek 1. Hasta protokol numaraları

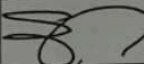
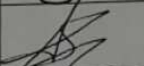
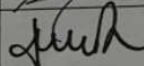
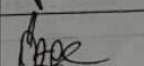
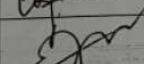
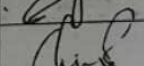
AÇ 2010110063	SŞ 2012080156	YNÇ 2012078510	SP 1993172130
HÇ 2012092327	EE 1993174523	EE 2012067854	AT 2012050056
HÜ 1995181466	ŞK 2011118012	KT 2006023744	HK 2011052121
EC 2011105262	NT 2011136520	AY 2012062500	YY 2012094603
MŞ 2011106169	ŞM 2009119174	NU 2011129572	SÇ 2012071394
GÖ 2012107259	DÖ 2012112118	HE 2012082852	İK 2011108138
ZV 2011105903	NY 2011101348	BAS 2011121546	RGS 2011128693
FT 2011033522	BNÖK 2011136529	GE 2011140118	AY 2011129401
GK 2012006571	MD 2012010756	OÇ 2012054497	AÖ 2005076211
ZE 2012077607	ST 2012044048	SS 1993211301	AD 2010039613
NÖ 2011048658	AH 2011051830	TM 1999003489	GC 2011041092
SK 2011047025	FP 2011041478	ZC 2004029940	

Ek 2. Etik kurul onayı

T.C. EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cadd. 35100 Bornova / İZMİR Tel: 0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34 e-mail: aetikk@mail.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr						
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ						
BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	Over Kanserlerinde Tümör Dokusunda T Hücre Reseptörü Yeniden Düzenlenmesinin Multipleks PCR Yöntemi Kullanılarak Araştırılması				
	PROTOKOL ADI	Doç. Dr. Coşan TEREK				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI/ ADI	-				
	KOORDİNATORÜN UNVANI/ADI/SOYADI	-				
	KOORDİNATORÜN UZMANLIK ALANI	-				
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	EÜTF. Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı				
	DESTEKLEYİCİ FIRMA	-				
FAZİ	-					
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarih / Değişiklik No. Su	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	25.02.2011	Türkçe			
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLURU	-	Türkçe			
	OLGU RAPOR FORMU	-	Türkçe			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 10-11.1/55	Tarih : 01.03.2011				
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda adı geçen araştırmaya başlanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU					
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Kaan KAVAKLI Başkan	Çocuk Sağlığı Hst. ve Çocuk Kan Hst	E.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hst. AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Aytül ÖNAL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Suna TOKSAVUL Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Hayriye ELBİ Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Bülent SEMERCI Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Zeliha KERRY Üye	Eczacı	EÜ Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Sühayla ALTUĞ ÖZSOY Üye	Hemşirelik	EÜ Hemşirelik Yüksek Okulu Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Zeki KARASU Üye	İç Hastalıkları ve Gastroenteroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Osman ZEKİOĞLU Üye	Patoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Yasemin AKÇAY Üye	Tıbbi Biyokimya	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Araştırma Başvurusu Onay Belgesi				Belge Kodu 15	Rev. Tarihi / No.su: 03.11.2010/04	Sayfa 105/134



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ		Karar No : 10-11.1/55					TOPLANTIYA KATILMADI
Doç. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H		
Doç. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E.Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H		
Doç. Dr. Ayşe EROL Üye	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H		
Yrd. Doç. Dr. Timur KÖSE Üye	Biyoistatistik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H		
Av. Özge TÜRKOĞLU Üye	Avukat	EÜ. Döner Sermaye İşletme Müdürlüğü Hukuk Bürosu	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H		
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Raporör	Eczacı	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H		
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H		

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

Araştırma Başvurusu Onay Belgesi

Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
15	03.11.2010/04	106/134