

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI

**OVER KANSERİ TANISINDA ADAY
GÖSTERİLEN YENİ SERUM
BELİRTEÇLERİNİN PANEL OLARAK
KULLANIM ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. BANU DEVECİ

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2013

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI

**OVER KANSERİ TANISINDA ADAY
GÖSTERİLEN YENİ SERUM
BELİRTEÇLERİNİN PANEL OLARAK
KULLANIM ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. BANU DEVECİ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
Prof. Dr. Semra KOÇTÜRK

Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 2011118 sayılı proje desteği ile gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
Tablo Listesi.....	i
Şekil Listesi.....	ii
Kısaltmalar.....	iii
Teşekkür.....	v
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	3
<u>1.GİRİŞ ve AMAC</u>	5
<u>2.GENEL BİLGİLER</u>	7
2.1. OVER KANSERİ	7
2.1.1. Over Kanseri Epidemiyolojisi.....	8
2.1.2. Epitelyal Over Kanseri Patogenezi.....	8
2.1.3. Epitelyal Over Kanseri Gelişimini Etkileyen Faktörler.....	10
2.1.4. Epitelyal Over Kanserin Histolojik Sınıflaması.....	13
2.1.5. Epitelyal Over Kanserde Evreleme.....	16
2.1.6. Epitelyal Over Kanserde Kullanılan Rutin Tanı Yöntemleri.....	17
2.1.7. Epitelyal Over Kanserde Erken Tanı İçin Önerilen Yöntemler.....	19
2.1.8. Adneksiyel Kitlelerde Benign/Malign Ayrımı İçin Önerilen Yöntemler.....	21
2.2. EPİTELYAL OVER KANSERİ TANISINDA ÖNE ÇIKAN BAZI BELİRTEÇLERİN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİ	23
2.2.1. Kansere Antijen 125 (CA125).....	23
2.2.2. Human Epididimis Protein 4 (HE4).....	24
2.2.3. Tirozin-Lizin-Lösin-40 (YKL-40).....	26
2.2.4. Mezotelin.....	28
2.2.5. Rho GDP Disosiyasyon İnhibitör β (LyGDI)	31

<u>3. GEREÇ ve YÖNTEMLER</u>	33
3.1. ARAÇ ve GEREÇLER	33
3.2. OLGULARIN SEÇİMİ, ÖRNEKLERİN TOPLANMASI ve SAKLANMASI...	34
3.3. BİYOKİMYASAL ANALİZLER	35
3.3.1. CA125 Ölçüm Yöntemi.....	35
3.3.2. HE4 Ölçüm Yöntemi.....	35
3.3.3. YKL-40 Ölçüm Yöntemi.....	38
3.3.4. Mezotelin Ölçüm Yöntemi.....	40
3.3.5. LyGDI Ölçüm Yöntemi.....	42
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	44
 <u>4. BULGULAR</u>	 46
4.1. ÇALIŞMA GRUBUNU TANIMLAYICI BULGULAR	46
4.1.1. Yaş	46
4.1.2. Menapoz Etkeni.....	46
4.1.3. Patolojik Tanı.....	47
4.2. SERUM LyGDI, MEZOTELİN, YKL-40, HE4 ve CA125 DÜZEYLERİ	49
4.2.1. Sağlıklı, Benign ve Malign Gruplarda Belirteç Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	49
4.2.2. Erken, Geç Evre Tümörlerdeki Belirteç Düzeyleri ve Benign Grup ile Karşılaştırılması.....	52
4.2.3. Malign Grup Histolojik Alt Tiplerindeki Belirteç Düzeyleri ve Benign Grup ile Karşılaştırılması.....	55
4.3. MENAPOZ ETKENİ ile SERUM LyGDI, MEZOTELİN, YKL-40, HE4 ve CA125 DÜZEYLERİNİN İLİŞKİSİ	57
4.3.1. Sağlıklı, Benign ve Malign Gruplarda Menapoz Etkenine Göre Belirteçlerin Karşılaştırılması.....	57

4.3.2. Premenapozal Sağlıklı, Benign, Malign ve Postmenapozal Sağlıklı, Benign, Malign Gruplarda Belirteçlerin Karşılaştırılması.....	59
---	----

4.4. LyGDI, MEZOTELİN, YKL-40, HE4 ve CA125'İN TANISAL

PERFORMANSI.....	62
4.4.1. Benign ve Sağlıklı Grubun Ayrımında Belirteçlerin Tanısal Performansı.....	62
4.4.2. Malign ve Sağlıklı Grubun Ayrımında Belirteçlerin Tanısal Performansı.....	63
4.4.3. Malign ve Benign Grubun Ayrımında Belirteçlerin Tanısal Performansı.....	65
4.4.4. Malign ve Benign Grubun Ayrımında Belirteç/Belirteç Kombinasyonlarının Tanısal Performansı.....	67

5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....

70

6. KAYNAKLAR ve EKLER.....

85

6.1. KAYNAKLAR.....

85

6.2. EKLER.....

97

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: Epitelyal over kanseri FIGO (<i>International Federation of Obstetrics and Gynecology</i>) evrelemesi.....	16
Tablo 2: Çalışmada kullanılan cihazlar.....	33
Tablo 3: Çalışmada kullanılan kitler.....	33
Tablo 4: Çalışma gruplarının yaş özellikleri.....	46
Tablo 5: Çalışma gruplarında menapoz etkeninin karşılaştırılması.....	47
Tablo 6: Sağlıklı, benign ve malign gruplarda LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 düzeylerinin karşılaştırılması.....	50
Tablo 7: Benign, erken evre ve geç evre gruplarda LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 düzeylerinin karşılaştırılması.....	53
Tablo 8: Benign grup ile malign grup histolojik alt tiplerindeki LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 düzeylerinin karşılaştırılması.....	56
Tablo 9: Sağlıklı, benign ve malign gruplarda yer alan premenapozal ve postmenapozal bireylerin LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 düzeylerinin karşılaştırılması....	58
Tablo 10: Premenapozal sağlıklı, benign, malign ve postmenapozal sağlıklı, benign, malign gruplarda LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 düzeylerinin karşılaştırılması....	61
Tablo 11: Benign ve sağlıklı grubun ayırımında belirteçlerin ROC-AUC değerleri.....	62
Tablo 12: Malign ve sağlıklı grubun ayırımında belirteçlerin ROC-AUC değerleri.....	64
Tablo 13: Belirteçlerin %80, %90 ve %95 özgüllük düzeylerindeki duyarlılıkları.....	65
Tablo 14: Malign ve benign grubun ayırımında belirteçlerin ROC-AUC değerleri.....	66
Tablo 15: Belirlenen eşik değerlerinde belirteçlerin tanısal performansı.....	67
Tablo 16: Belirteç/belirteç kombinasyonlarının %80, %90 ve %95 özgüllük düzeylerindeki duyarlılıkları.....	69

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: Over tümörlerinin üç ana sınıfının kökeni.....	7
Şekil 2: Epitelyal over kanserinin hücre kaynağı için öngörülen hipotezler.....	9
Şekil 3: Mezotelin proteininin maturasyonu.....	28
Şekil 4: Mezotelin varyantları.....	29
Şekil 5: Mezotelin-CA125 etkileşimi ve tümör metastazındaki rolü.....	30
Şekil 6: RhoGTPaz siklusu.....	32
Şekil 7: Serum HE4 standart eğrisi.....	37
Şekil 8: Serum YKL-40 standart eğrisi.....	39
Şekil 9: Serum Mezotelin standart eğrisi.....	42
Şekil 10: Serum LyGDI standart eğrisi.....	44
Şekil 11: Benign over hastalıklarının histolojik tiplere göre dağılımı.....	47
Şekil 12: Epitelyal over kanserinin histolojik tiplere göre dağılımı.....	48
Şekil 13: Sağlıklı, benign ve malign gruplarda LyGDI (A), Mezotelin (B), YKL-40 (C), HE4 (D) ve CA125 (E) düzeylerinin karşılaştırılması.....	51
Şekil 14: Benign, erken evre ve geç evre gruplarda LyGDI (A), Mezotelin (B), YKL-40 (C), HE4 (D) ve CA125 (E) düzeylerinin karşılaştırılması.....	54
Şekil 15: Benign ve sağlıklı grup arasındaki ROC eğrileri.....	62
Şekil 16: Malign ve sağlıklı grup arasındaki ROC eğrileri.....	63
Şekil 17: Malign ve benign grup arasındaki ROC eğrileri.....	65

KISALTMALAR

EOC: Epitelyal over kanseri

USG: Ultrasonografi

CA125: *Cancer antigen 125*

HE4: *Human epididymis protein 4*

LyGDI: RhoGDP disosiyasyon inhibitör β

YKL-40: Tirozin-Lizin-Lösin-40

FSH: Folikül Stimüle Edici Hormon

LH: Luteinize Edici Hormon

GnRH: Gonadotropin Serbestleştirici Hormon

BRCA: *Breast Cancer*

MLH1: *MutL homologue 1*

MSH2: *MutS homologue 2*

PCOS: Polikistik Over Sendromu

FIGO: *International Federation of Obstetrics and Gynecology*

TVS: Transvajinal Sonografi

PPV: *Positive Predictive Value*

NPV: *Negative Predictive Value*

ROCA: *Risk of Ovarian Cancer Algorithm*

RMI : *Risk of Malignancy Index*

ROMA: *Risk of Ovarian Malignancy Algorithm*

IL: İnterlökin

WAP: *Whey Acidic Protein*

WFDC2: *WAP 4-disulphide core domain 2*

KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

MAPK: *Mitogen-Activated Protein Kinase*

PI3K: *Phosphatidylinositol-3 Kinase*

ERK: *Ekstracellular Signal Regulated Kinase*

GPI : Glikozil-Fosfatidil-İnositol

JNK: *c-Jun N-Terminal Kinase*

NF- κ B: Nükleer Faktör-Kappa B

TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü- α
GEF: *Guanine Nucleotide Exchange Factor*
GAF: *GTPase Activating Protein*
ELISA: *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*
HRP: *Horseradish Peroxidase*
TMB: Tetrametilbenzidin
ROC: *Receiver Operator Characteristic*
ROC-AUC: ROC Eğrisi Altında Kalan Alan
SS: Standart Sapma
SH: Standart Hata
%95 CI: %95 Güven Aralığı
FDA: *Food and Drug Administration*

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilimsel birikimlerini, manevi desteklerini esirgemeyen ve eğitimimde emeği geçen, başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Canan ÇOKER olmak üzere Anabilim Dalı'mızın değerli öğretim üyelerine,

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, bilimsel birikimleriyle bana destek olan tez danışmanım, değerli hocam Prof.Dr. Semra KOÇTÜRK'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca eşsiz deneyim ve bilgilerinden yararlandığım, yardımlarıyla bu alanda yetişmeme büyük katkı sağlayan değerli hocalarım Prof.Dr. Sezer UYSAL, Doç.Dr. Ali Rıza ŞİŞMAN ve Yrd.Doç.Dr. Tuncay KÜME'ye,

Çalışma örneklerinin toplanmasında bana destek olan Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan Dr. Pınar KARABACAKOĞLU, Prof.Dr. Uğur SAYGILI, Patoloji Anabilim Dalı'ndan Prof.Dr. Meral KOYUNCUOĞLU ile Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan Dr. Nuri YILDIRIM, değerli hocam Doç. Dr. Mustafa Coşan TEREK ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan Çağdaş AKTAN'a,

Laboratuvar çalışmaları sırasında bilgi ve deneyimini benimle paylaşan, yardımlarını esirgemeyen Güneş ÖZEN'e,

Araştırma planlaması ve verilerin istatistiksel analizinde bana yardımcı olan Halk Sağlığı Anabilim Dalı'ndan Dr. Hatice ŞİMŞEK ve Celal Bayar Üniversitesi'nden Yrd.Doç.Dr. Hakan BAYDUR'a

Uzmanlık eğitimim boyunca arkadaşlık ve desteklerini esirgemeyen asistan arkadaşlarım Dr. Deniz KOÇER KALKANDELEN, Dr. Yasin KENESARI, Dr. Emre DEMİRAY, Dr. Ali YILDIRIM, Dr. Ayşegül KESER, Dr. Burcu ÇİNKOOĞLU, Dr. Ferhat DEMİRCİ, Dr. Esra DOĞAN ve Dr. Barış SAĞLAM'a,

Eğitimimiz süresince tüm işlerimizi kolaylaştıran Anabilim Dalı sekreterimiz Eda OLUM'a,

Beni yetiştiren ve bugünlere getiren sevgili annem ve babama,

Bu yoğun süreç boyunca gösterdikleri sabır ve anlayış için sevgili eşim Süleyman DEVECİ ve oğlum Fatih Efe DEVECİ'ye en içten dileklerle teşekkür ederim.

ÖZET

Tedavideki ilerlemelere rağmen gelişmiş ülkelerde over kanseri jinekolojik kanserler içinde halen en ölümcül olanıdır. Over kanserlerinin %90'ı epitelyal kökenli tümörlerden oluşmaktadır. Over kanseri erken evrede tanı aldığı durumda 5 yıllık sağkalım %90'ı geçmektedir. Ancak hastalığa ait spesifik semptomlar ve erken tanı imkanı sağlayacak güvenilir bir yöntemin olmaması nedeniyle vakaların çoğu geç evrelerde tanı almaktadır. Erken tanı kadar önemli olan bir diğer konu; adneksiyel kitlenli hastalarda benign ve malign over tümörlerinin ayrımının yapılabilmesi, malignite açısından yüksek riskli hastaların over kanseri tedavisinde uzmanlaşmış 3. basamak sağlık kurumlarına sevkini sağlanmasıdır. Günümüzde epitelyal over kanserinin tespiti ve adneksiyel kitlenlerin ayrımında en sık kullanılan yöntemler ultrasonografi ve serum CA125 düzeyinin ölçümüdür. Ancak bu yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüğü over kanseri tanısı koymak için sınırlıdır. Bu nedenle çalışmalar merkezler arasında tekrarlanabilirlik ve tutarlılığı sağlayacak, kantitatif ölçümler yoluyla belirlenen, noninvaziv ve göreceli olarak ucuz olan belirteçler üzerine yoğunlaşmıştır. Bunun sonucu olarak da pek çok potansiyel belirteç tanımlanmıştır.

Bu çalışmanın amacı HE4, YKL-40, Mezotelin, LyGDI ve CA125'ten oluşan bir belirteç panelinin epitelyal over kanseri tanısında ve benign over tümörlerinden ayrımında kullanılabilirliğini ortaya koymaktır. Her bir belirteç ve değişik belirteç kombinasyonlarının patolojik tanıya göre geçerliliğinin değerlendirilmesi ve CA125 ile karşılaştırılması, menapoz etkeni, histolojik tip, evre ile söz konusu belirteçler arasındaki ilişkinin araştırılması hedeflenmiştir.

Çalışmada epitelyal over kanserli 31 hasta, benign over tümörü olan 30 hasta ve 32 sağlıklı kadın yer almıştır. Preoperatif olarak alınan serum örneklerinde HE4, YKL-40, Mezotelin ve LyGDI düzeyleri ELISA ile, CA125 düzeyleri elektrokemiluminesans immünassay ile belirlenmiştir. Her bir belirteç ve değişik belirteç kombinasyonları için lojistik regresyon modelleri tahmin edilerek tanılal performansları değerlendirilmiştir.

Benign-malign ve sağlıklı-malign gruplar arasında, tüm belirteçlerin ortanca değerleri anlamlı farklılık göstermiştir. CA125 ve HE4 dışındaki belirteçler sağlıklı-benign gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. LyGDI dışındaki tüm belirteçlerin benign-malign ve sağlıklı-malign ayrımını yapma kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Benign-malign ayrımında CA125, HE4, Mezotelin ve YKL-40'dan oluşan belirteç paneli %95 özgüllük

düzeyinde, tüm diğer belirteç ve belirteç kombinasyonlarından yüksek duyarlılık (%93,6) göstermiştir.

CA125, HE4, Mezotelin, YKL-40'dan oluşan belirteç paneli benign-malign ayrımında ilk kez denenmiş başarılı bir paneldir ve daha ileri araştırmayı hak etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Epitelyal over kanseri, tümör belirteçleri, CA125, HE4, Mezotelin, YKL-40, LyGDI, adneksiyel kitle

SUMMARY

Despite improvements in treatments, ovarian cancer is still the most fatal one among the gynecologic cancers in developed countries. 90% of ovarian cancers consist of epithelium-originated tumors. When the ovarian cancer is early diagnosed, 5-year survival is more than 90%. However, the most cases are diagnosed as advanced stages, since there is no disease-specific symptoms and no reliable method that will allow an early diagnosis. Another issue which is important as much as early diagnosis is to be able to differentiate benign from malignant ovarian tumors in patients with adnexial mass, and to ensure the referral of patients with high-risk of malignity to the tertiary care centers which have been specialized in the treatment of ovarian cancer. Currently, methods which are most frequently used for detection of epithelial ovarian cancer and for differentiation of adnexial masses are ultrasonography and measurement of serum CA125 level. However, the sensitivity and specificity of these methods are limited for the diagnosis of ovarian cancer. Therefore, the studies have been focused on non-invasive and relatively inexpensive markers which are established through quantitative measurements and which will ensure repeatability and consistency between the centers. As a result, a great number of potential markers have been defined.

The objective of this study is to elucidate the utility of a panel of markers which consists of HE4, YKL-40, Mesothelin, LyGDI and CA125 in diagnosis of epithelial ovarian cancer and in differentiation of benign ovarian tumors from epithelial ovarian cancers. It was aimed to evaluate the validity of each marker and several combinations of markers according to pathological diagnosis, to compare them with CA125, and to investigate the association of these markers with menopausal status, histological type and stage.

In present study, 31 patients with epithelial ovarian cancer, 30 patients with benign ovarian tumors and 32 healthy women were included. In serum samples which were obtained preoperatively, the levels of HE4, YKL-40, Mesothelin and LyGDI were determined by ELISA, while the levels of CA125 were determined by electrochemiluminescence immunoassay. Regarding each marker and several marker combinations, the diagnostic performances were evaluated by estimating the logistic regression models.

The median values of all markers showed significant differences between benign vs. malignant and healthy vs. malignant groups. Markers, except CA125 and HE4, showed no significant differences between healthy vs. benign groups. All markers, except LyGDI, were determined to have ability to differentiate between benign and malignant cases, as well as

between healthy and malignant cases. Regarding the differentiation between benign and malignant cases, the panel of markers including CA125, HE4, Mesothelin and YKL-40 showed a sensitivity of 93,6% which is higher than all other markers and combinations of markers, at the specificity level of 95%.

The panel of markers including CA125, HE4, Mesothelin, YKL-40 is a successful panel which has been tested for the first time, and deserves to be further investigated.

Key Words: Epithelial ovarian cancer, tumor markers, CA125, HE4, Mesothelin, YKL-40, LyGDI, adnexial mass

1. GİRİŞ ve AMAC

Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Kanseri Araştırmaları Kurumu'nun verilerine göre over kanseri kadınlarda görülen tüm kanserlerin ve kanser ilişkili ölümlerin %4'ünü oluşturmaktadır. Gelişmiş ülkelerde jinekolojik maligniteler arasında en ölümcül olanıdır (1). Malign over tümörleri germ hücrelerinden, seks kord-stromal hücrelerden veya epitelyal hücrelerden gelişmektedir (2). Epitelyal over kanserleri (EOC) malign over tümörlerinin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır (3). Nonspesifik semptomlar, güvenilir belirteçlerin olmayışı, hastalığın sıklıkla ileri evrede tanı alması ve ilaca dirençli histolojik tiplerin varlığı uzun dönem kür oranlarını ve prognozu sınırlamakta böylece over kanserlerinin büyük çoğunluğunu oluşturan EOC'ni en ölümcül jinekolojik malignite haline getirmektedir (4). EOC erken evrede tanı aldığı ve organ sınırlı olduğu durumda 5 yıllık sağkalım %90'ı geçmektedir. Ne yazık ki over malignitelerinin sadece %20'si bu evrede tanı almakta, çoğu vaka 5 yıllık sağkalımın %20'den az olduğu geç evrelerde tespit edilmektedir (5,6). Günümüzde EOC'nin tespiti için semptomların değerlendirilmesi ve fizik muayenenin yanı sıra en sık kullanılan yöntemler ultrasonografi (USG) ve serum Kanseri Antijen 125 (CA125) düzeyinin ölçümüdür (7). USG'nin duyarlılık ve özgüllüğü over kanseri tanısı koymak için sınırlıdır (8). CA125 EOC'nin tespiti, yönetimi için kullanılan ve en iyi bilinen serum belirteçidir (7). CA125 düzeyleri EOC'li hastaların %80'inde yükselirken, hastalığın erken evresinde yalnızca hastaların %50-60'ında yüksek bulunmaktadır. EOC'lerinin %20'sinin CA125'i anlamlı düzeyde eksprese edemediği ayrıca pek çok benign durumun da CA125'in serum düzeyinin artmasına neden olduğu belirtilmektedir (9,10). Sonuç olarak erken evre over kanserinin belirlenmesinde, tek başına CA125'in duyarlılık ve özgüllüğü klinik değer açısından oldukça düşüktür.

Çalışmalar başlangıçta jinekolojik onkologlar tarafından opere edilen over kanserli hastalara tam bir cerrahi evreleme veya optimum sitoredüktif yöntem uygulanma olasılığının daha fazla olduğunu ve bu hastalarda, daha az komplikasyon ve daha iyi sağkalım oranları gözlemlendiğini belirtmektedir (11). Bu nedenle adneksiyel kitlesi hastaları over kanseri açısından yüksek ve düşük riskli gruplara ayıracak bir risk değerlendirme aracının olmasının, bu hastaların uzmanlaşmış merkezlere sevkini yapılabilmesi için kritik bir önem taşıdığı vurgulanmaktadır (12). Düşük duyarlılık ve özgüllüğü nedeniyle CA125'in bu konudaki yararlılığı sınırlıdır ve over kanseri tanısı genellikle USG sonucuna dayandırılmaktadır. Ancak USG'nin performansı, uygulayıcının deneyimine ve becerisine oldukça bağlıdır (13).

Bu nedenle merkezler arasında tekrarlanabilirlik ve tutarlılık sağlanması için kantitatif ölçümler yoluyla belirlenen bir objektif risk değerlendirme aracına gereksinim duyulmaktadır (14). Ayrıca idrar veya serum örneklerine dayanan testler invaziv olmadığı ve göreceli olarak daha ucuz olduğu için yeterli duyarlılığa ve özgüllüğe sahip bir belirteç veya belirteç paneline sahip olmak ideal olacaktır (6). Over kanserinin kompleksliği ve heterojenitesi nedeniyle tek bir belirtecin hastalığın tüm subtiplerini ve evrelerini yüksek duyarlılık ve özgüllük ile saptayabilmesinin pek mümkün olmadığı, çok sayıda belirtecin birlikte kullanımının over kanseri tanısında daha büyük bir potansiyel sağlayabileceği belirtilmektedir (5). Bu nedenle birçok araştırmacı EOC tanısı için yeni belirteç veya belirteç panellerinin tanımlanması ve validasyonu üzerine yoğunlaşmıştır. Bunun sonucu olarak da son yıllarda pek çok potansiyel belirteç tanımlanmış ve over kanserinin belirlenmesinde tek başına veya CA125 ile ve/veya diğer belirteçlerle kombinasyonu değerlendirilmiştir.

Yapmış olduğumuz literatür araştırması sonucunda normal over dokusuna oranla EOC'de ekspresyonu artan, serumda ELISA yöntemiyle saptanabilen, EOC tanısında ve benign over hastalıklarından ayırımında yararlı olabileceği öngörülen 4 belirteç seçildi ve rutin olarak kullanılmakta olan CA125 ile birlikte çalışmamıza dahil edildi. Amacımız Human Epididimis Protein 4 (HE4), Tirozin-Lizin-Lösin-40 (YKL-40), Mezotelin, Rho GDP Disosiyasyon İnhibitör β (LyGDI) ve CA125'ten oluşan bir belirteç panelinin EOC tanısında ve benign over hastalıklarından ayırımında kullanılabilirliğini ortaya koymaktır.

Hedeflerimiz;

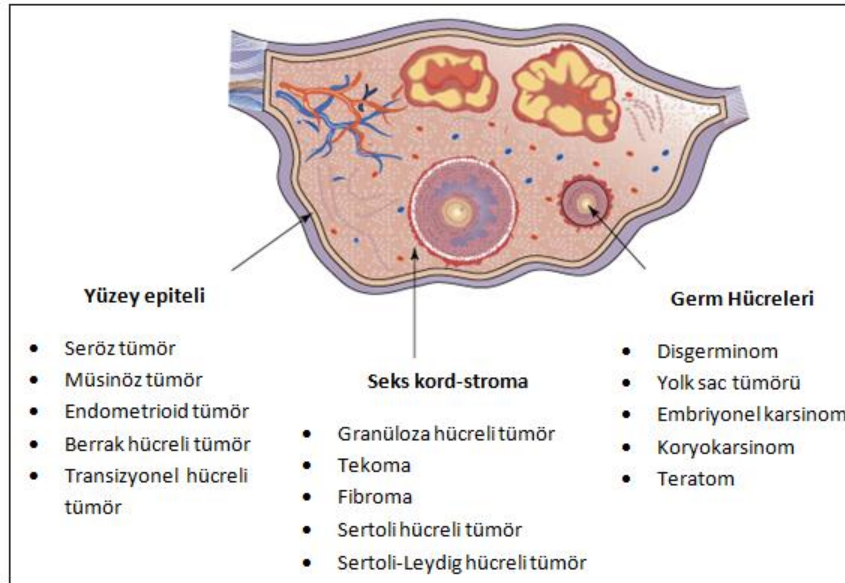
- Her bir belirtecin ve değişik belirteç kombinasyonlarının patolojik tanıya göre geçerliliğini değerlendirmek ve CA125 ile karşılaştırmak,
- Over kanserinin klinikopatolojik değişkenleri ile (menapoz etkeni, histolojik tip, evre) söz konusu belirteçler arasındaki ilişkiyi araştırmak,
- Elde edilecek veriler ile EOC tanısı için bir panel oluşturulmasının gerekli olup olmadığını tartışmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. OVER KANSERİ

Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu'nun 2008 yılı verilerine göre, her yıl 225.000 kadın over kanseri tanısı almakta ve 140.000 kadın bu hastalık nedeniyle ölmektedir (1). Yeni geliştirilen tedaviler 5 yıllık sağkalım oranını arttırmasına rağmen, gelişmiş ülkelerde over kanseri halen jinekolojik maligniteler içerisinde en ölümcül olanıdır ve bu nedenle de jinekolojik onkolojide çok önemli bir yer tutmaktadır (15).

Malign over tümörleri, tümörün köken aldığı anatomik yapılar temel alındığında 3 ana sınıfa (germ hücreli tümörler, seks kord-stromal tümörler, epitelyal tümörler) ayrılmaktadır (Şekil 1). Overin primordiyal germ hücrelerinden köken alan germ hücreli tümörler malign over tümörlerinin %3-7'sini oluşturmaktadır. Tipik olarak malign germ hücreli tümörleri EOC'den ayıran 3 özellik; hastaların erken yaşta olması (genelde adolesan dönem veya erken 20'li yaşlar), çoğu vakanın tanı sırasında evre I hastalığa sahip olması ve bu tümörlerin kemoterapiye duyarlılığından dolayı çok ilerlemiş hastalığı olanlarda bile prognozun mükemmel olmasıdır. Seks kordlarından veya overin stromasından köken alan seks kord-stromal tümörler malign over tümörlerinin yaklaşık %7'sini oluşturmaktadır. Bu tümörler genellikle hormon üretme potansiyeline sahiptir ve olgular östrojen veya androjen fazlalığı semptom ve bulgularıyla başvurumaktadırlar. Malign over tümörlerinin yaklaşık %90'ını ise overin yüzey epiteliinden köken alan EOC'leri oluşturmaktadır (2,3).



Şekil 1: Over tümörlerinin üç ana sınıfının kökeni (3)

2.1.1. Over Kanseri Epidemiyolojisi

Amerikan Kanser Derneği'nin verilerine göre Birleşik Devletler'de kadınlarda görülen tüm kanserlerin %3'ü ve kanserle ilişkili ölümlerin %6'sı over kanseri nedeniyle gerçekleşmektedir. Over kanseri Birleşik Devletler'deki kadınlarda akciğer, meme, kolorektal ve pankreas kanserinden sonra 5. en sık ölüme neden olan kanserdir. Jinekolojik maligniteler içinde endometrium kanserinden sonra en sık görülen 2. kanserdir (16). Ancak tüm jinekolojik malignitelerin toplamından daha fazla sayıda ölüme neden olmaktadır (2). Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu'nun verilerine göre over kanserinin yaşa standardize edilmiş insidans hızı, dünyada 6,3/100.000'tür. Gelişmiş bölgelerdeki insidans hızı 9,4/100.000 iken gelişmekte olan bölgelerde 5/100.000'dir (1). Birleşik Devletler'deki bir kadında yaşamı boyunca over kanseri gelişme riski 1/78 (%1,3) dir (2). Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde over kanserinin yaşa standardize edilmiş insidans hızı 6,9/100.000'dur (17).

2.1.2. Epitelyal Over Kanseri Patogenezi

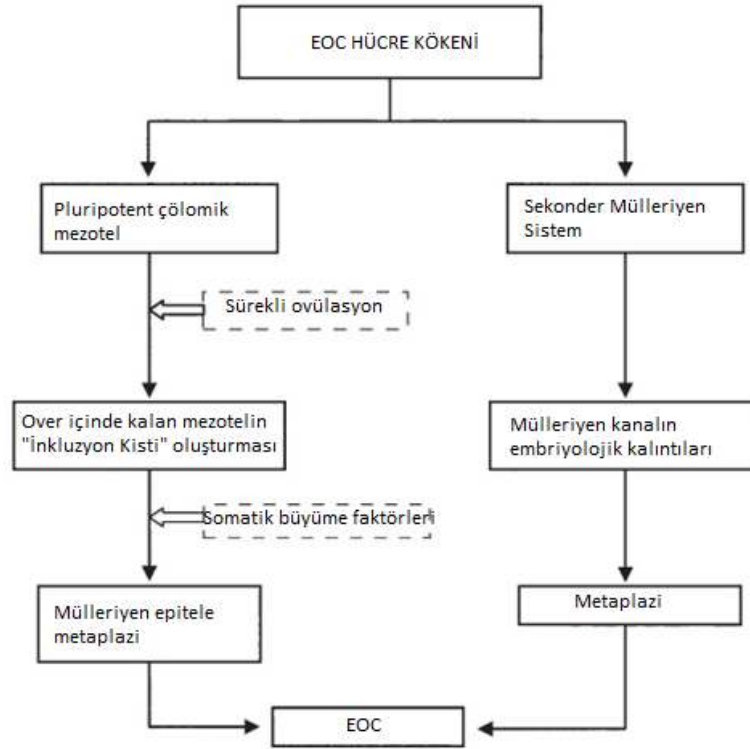
EOC'nin hücre kaynağı ve patogenezi tam olarak açıklanamamakla birlikte çeşitli hipotezler öne sürülmüştür. EOC'nin hücre kaynağı ve patogeneziyi açıklayan hipotezler günümüzde de tartışma konusudur.

Hücre Kaynağı Hipotezleri:

Günümüzde tercih edilen varsayıma göre EOC over yüzey epitelinin (çölomik epiteli-mezotel) kaynaklanmakta ve sonraki metaplazik değişiklikler farklı hücre tiplerinin gelişmesine yol açmaktadır (18). Pluripotent yüzey epitelinin değişik histolojik alt tiplere farklılaşması ile ilgili görüş; yineleyen ovülasyonun, yüzey epitelinin over içinde kalarak inklüzyon kistleri oluşturmaya yol açtığını öne süren "Aralıksız Ovülasyon Hipotezi" tarafından da desteklenmektedir. Inklüzyon kistlerini kaplayan epitel hücrelerinin EOC gelişimine yol açan somatik büyüme faktörlerini salgıladığı belirtilmektedir (Şekil 2) (4).

EOC'nin en yaygın subtipleri olan seröz, endometrioid ve müsinöz karsinomların morfolojik olarak sırasıyla fallop tüpü, endometrium ve endoserviks epiteline benzediği bilinmektedir (Müller fenotipi) (3). Embriyogenez sırasında fallop tüpü, uterus, serviks ve vajina (2/3 üst kısım) müller kanalından gelişmektedir. Buna bağlı olarak diğer varsayılan mekanizma, müller fenotipine sahip tümörlerin sekonder müller sistemi denilen, proksimal

müller kanalının embriyolojik kalıntılarından oluşan ve over hilusunda, adnekte, pelviste bulunan bir sistemden oluştuğunu öne sürmektedir (Şekil 2) (19).



Şekil 2: EOC'nin hücre kaynağı için öngörülen hipotezler (4)

Patogenez Hipotezleri:

Aralıksız (Sürekli) Ovulasyon Hipotezi: Fathalla ve ark.'nın 1971 yılında öne sürmüş oldukları hipoteze göre nullipar kadınlarda meydana gelen sık ve sürekli ovülasyon over kanseri gelişme riskini arttırmaktadır. Her ovulatuvar siklus sonucunda over yüzey epiteli hücrelerinde hasar meydana gelmekte ve yüzey epitelinin invaginasyonu ile stroma içinde kalan kortikal inklüzyon kistleri oluşmaktadır. Yüzey epitelinde meydana gelen hasarın onarılması için artan hücresel proliferasyon daha yüksek DNA sentez hızını gerektirmekte ve daha sonra premalign veya malign fenotiplere yol açabilecek mutasyon şansını arttırmaktadır (20,21).

Gonadotropin Hipotezi: Bu hipoteze göre over yüzey epitelinin Folikül Stimüle Edici Hormon (FSH) ve Luteinize Edici Hormon (LH) tarafından uyarılması EOC gelişme riskini arttırmaktadır. 1983 yılında Cramer ve Welch over stromasındaki inklüzyon kistlerinin, aşırı

bir gonadotropin uyarısı olduğunda yüksek konsantrasyonda lokal östrojen etkisi altında kaldığı kuramını ileri sürmüşlerdir. Kortikal inklüzyon kisti oluşumundan sonra gelişen diferansiyasyon, proliferasyon ve malign transformasyonun östrojen veya prekürsörlerine bağlı olabileceği belirtilmektedir (22).

Androjen/progesteron hipotezi: 1998 yılında Risch, androjen/progesteron kuramını ortaya koymuştur. Over kanseri riskinin, over epitel hücrelerinin güçlü androjenik stimülasyonu ile arttığı ve artmış progesteron stimülasyonu ile azaldığı varsayımında bulunmuştur (23). EOC hücrelerinin %80'inden fazlasında androjen reseptörü ekspresyon artışı ve androstenedion, dehidroepiandrostenedion düzeylerinde anlamlı yükselmeler görülmektedir (24,25). Progesteronun EOC'ne karşı koruyucu bir role sahip olduğunu gösteren veriler, gebelik sırasında yüksek düzeyde olması ve yalnızca progestinden oluşan oral kontraseptiflerin EOC riskini düşürmesidir (26). Ayrıca in vitro çalışmalar, yüksek progesteron dozları ile tedavi sonrasında EOC hücrelerinde, bir büyüme supresyonu ve apoptoz indüksiyonu meydana geldiğini göstermektedir (27).

İnflamasyon hipotezi: Her ovulatuvar siklusta inflamatuvar hücrelerin kemotaksisi ve sitokinlerin etkisi ile inflamasyon oluşmakta ve bu da doku onarımında önemli bir rol oynamaktadır. İnflamasyonun; her biri mutajenik olabilecek oksidatif stres, hücre ve DNA hasarı, proinflamatuvar sitokin ve prostoglandinlerde artışa neden olduğu belirtilmektedir (28).

2.1.3 Epitelyal Over Kanseri Gelişimini Etkileyen Faktörler

EOC'nin kesin nedeni bilinmemekle birlikte pek çok reproduktif, çevresel ve genetik risk faktörleriyle ilişkilidir (2,9).

Aile Öyküsü: Over kanseri için en büyük risk faktörü aile öyküsü ve ilişkili genetik sendromlardır. EOC olgularının yaklaşık %5-10'unda kalıtsal bir genetik yatkınlık vardır. Ailesel Over Kanseri Sendromları; *BRCA1* veya *BRCA2* genlerindeki germline mutasyonlar nedeniyle meydana gelen Hereditör Meme-Over Kanseri Sendromu'nu ve DNA *mismatch* tamir genleri olan *MLH1* ve *MSH2*'deki germline mutasyonlar nedeniyle meydana gelen Hereditör Nonpolipozis Kolorektal Kanseri Sendromunu içermektedir. Hereditör over kanserlerinin %90'dan fazlası *BRCA1* veya *BRCA2* gen mutasyonları ile ilişkilidir. Bu iki gen tümör supresör genlerdir ve otozomal dominant geçiş göstermektedir. *BRCA* ilişkili over kanserleri tipik olarak yüksek dereceli seröz kanserlerdir. Hereditör Nonpolipozis Kolorektal

Kanser Sendromu (Lynch2 Sendromu) da otozomal dominant olarak kalıtılmaktadır. Bu sendromda hastaların kolon, endometrium ve over kanserine yakalanma riski yüksektir. Herediter over kanserli hastalarda hastalık daha erken yaşlarda gelişmektedir (2,4).

Yaş: EOC insidansı yaşla birlikte artmakta, 50 yaş üzerinde en belirgin hale gelmektedir. Kademeli artış 70'li yaşlara kadar devam ederken 80 yaşın üzerinde bir düşüş göstermektedir (9).

İrk: Beyaz ırktan kadınlar tüm ırk ve etnik gruplar arasında en yüksek over kanseri sıklığına sahiptir (29). Kesin nedenleri bilinmese de, doğum sayısı ve jinekolojik operasyon oranlarındaki değişikliklerin irksal farklılığa katkıda bulunabileceği belirtilmektedir (2).

Doğum Sayısı: EOC'ne karşı güçlü bir koruyucu faktördür ve bu korumanın düzeyi doğum sayısı ile birlikte artış göstermektedir (30). Doğum yapmamış kadınlarda EOC gelişme riski artmaktadır. Bu nedenle infertilite öyküsü olan kadınlar daha fazla risk altındadır (2). Ancak infertil hastalarda risk artışının gebeliğin sağladığı koruyucu etkilerin yokluğuna mı, yoksa infertilite ile ilişkili patolojik koşullara mı bağlı olduğu tartışmalıdır (26). Ayrıca bazı çalışmalarda infertil hastalarda artmış bir EOC riski olmadığı da belirtilmektedir (31) Gebeliğin EOC'ni riskini azaltıcı etkisi anovulasyona neden olması, gonadotropin salgılanmasını baskılaması ve progesteron düzeyini arttırması ile açıklanabilmektedir (26).

Menarş ve Menapoz yaşı: Erken menarş ve geç menopoz EOC riskini arttırmaktadır (2). Bu durum daha fazla menstrüasyon döngüsü sayısının daha fazla ovulasyonla ilişkili olması ile açıklanabilmektedir (26).

Laktasyon: Birçok çalışma emzirmenin EOC'ne karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (32). İlk aylarda emzirme; pulsatil Gonadotropin Serbestleştirici Hormon (GnRH) ve LH salgılanmasını tamamen inhibe ederek ovulasyonu baskılamakta ve böylece östradiol üretiminin azalmasına yol açmaktadır (33). Birkaç ay sonra ise, emzirme dönemi sonlanmasa bile ovulatuar aktivite geri dönebilmektedir. Risk azaltıcı etkinin esas olarak ovulatuar sessizliğe bağlı olduğunu destekleyecek şekilde, uzun süreli emzirmenin ek bir koruyuculuk sağlamadığı gösterilmiştir (30).

Polikistik Over Sendromu (PCOS): Düşük sayıda ovulatuar döngüye sahip olmalarına rağmen PCOS olan kadınlarda EOC riskinin arttığı saptanmıştır (34). Bu hastalar, gonadotropin salgılanması ile ilgili anormal bir hipotalamik-pituitar düzenleme sergilemektedir. Artmış LH salınım frekansının, overlerin sürekli olarak LH tarafından

uyarılmasına ve böylece, artmış androjen sekresyonuna ve bozulmuş folliküler olgunlaşmaya yol açabileceği belirtilmektedir. PCOS'lu hastalardaki artmış EOC riski gonadotropin hipotezi ve androjen/progesteron hipotezi ile açıklanabilmektedir (26).

Oral Kontrasepsiyon: Oral kontraseptif kullanımı EOC'ne karşı koruyucu bir etkiye sahiptir. 5 yıl oral kontraseptif kullanımından sonra risk yaklaşık %50 azalmaktadır (her yıl yaklaşık %10-12). Kanserden koruyucu etki 10 yıla kadar kullanım süresiyle artmakta ve kullanım kesildikten sonra yaklaşık 15 yıl sürmektedir (9). Oral kontraseptiflerin EOC riskini azaltıcı etkisi ovulasyonu inhibe etmesine bağlı olabilir (26). Ancak ovulasyonu inhibe etmeyen, yalnızca progestin içeren oral kontraseptiflerin de EOC riskini azaltmada ovulasyonu inhibe eden kontraseptifler kadar etkili oldukları konusunda çalışmalar bulunmaktadır (35). Oral kontraseptiflerin EOC'ne karşı koruyucu etkisinin; GnRH'nin serbestleşmesi ve FSH, LH düzeylerinin baskılanmasına bağlı olabileceği belirtilmektedir (26).

Menapozal Hormon Tedavisi: Birçok çalışma menopozal hormon tedavisi kullanımı ile ilişkili artmış bir EOC riskini işaret etmektedir. Östrojen tedavisi yanı sıra östrojen/progesteron tedavisinin de EOC için risk faktörü olduğu belirtilmektedir (36). Morch ve ark. (37) da kullanım süresi, formülasyonu, östrojen dozu, progestin tipi ve uygulama yolu ne olursa olsun hormon tedavisinin EOC riski ile ilişkili olduğunu belirtmektedir.

Fertilite Tedavisi: Bu tedavi, gonadotropin konsantrasyonunu arttırarak, overlerin uyarılmasına neden olan ilaçların kullanılmasını içermektedir (26). EOC gelişimi ile ilgili olarak, hormonal fertilite tedavilerinin risk arttırıcı etkiye sahip olduğu bildirilse de (38) yapılan son çalışmalar bunu doğrulamamaktadır (31). Fertilite tedavisi sırasında, progesteron düzeyleri genellikle yüksek kalmaktadır, bu nedenle progesteron kuramının artmış bir EOC riski karşısında durabileceği belirtilmektedir (26).

Coğrafik Dağılım ve Çevresel Faktörler: EOC riski Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ve İsrail gibi sanayileşmiş batı ülkesinde yaşayan kadınlarda artmış, gelişmekte olan ülkelerde ve Japonya'da ise en düşük düzeydedir (2). Bu durumun bölgesel beslenme alışkanlıkları ile kısmen ilişkili olduğu düşünülmektedir. Obezite, yüksek nişasta veya yüksek yağlı diyet, sigara kullanımı, sedanter yaşam tarzı gibi çeşitli faktörler EOC riskinde artış ile ilişkiliyken; günlük lif alımının artması, karoten, C ve E vitamini, doymamış yağ asitlerinin kullanımı ve fiziksel aktivite artışı kısmen over kanseri riskinde azalma ile ilişkilidir (39). Asbestos over kanseri gelişiminde etkili olabileceği bildirilen bir çevresel faktördür (40). Tüp ligasyonu ve

histerektominin alt genital sistemden yukarı doğru yükselen iritanların overlere ulaşmasını engelleyerek koruyucu etki oluşturduğu düşünülmektedir (28).

Endometriozis: Endometrial dokunun uterus dışında bulunmasıdır ve ektopik endometrial dokunun implantasyonu; makrofaj aktivasyonu, sitokinlerde ve büyüme faktörlerinde artışı da içeren lokal inflamatuvar reaksiyon ile ilişkilidir (28). Endometriozisin retrograt menstruasyon yoluyla geliştiği, altta yatan inflamasyona katkıda bulunan, demir, hem gibi oldukça pro-oxidan faktörlerin pelvik kavite veya overyan endometrioma içine taşınmasına neden olduğu düşünülmektedir (41,42). EOC subtiplerinden berrak hücreli ve endometrioid karsinomun sıklıkla endometriozis ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (2). Bu görüş, tüp ligasyonu ve histerektominin EOC'ne karşı koruyucu etkisinin, özellikle endometrioid ve berrak hücreli karsinom için ortaya çıktığını gösteren çalışmalar tarafından desteklenmektedir (43).

2.1.4. Epitelyal Over Kanserinin Histolojik Sınıflaması

Dünya Sağlık Örgütüne göre EOC'nin histolojik sınıflaması aşağıdaki gibidir (2).

- Seröz adenokarsinom
- Müsinöz tümörler
 - Adenokarsinom
 - Psödomiksoma peritonei
- Endometrioid tümörler
 - Adenokarsinom
 - Malign miks mülleriyen tümör (karsinosarkom)
- Berrak hücreli adenokarsinom
- Transizyonel hücreli tümörler
 - Malign Brenner tümörü
 - Transizyonel hücreli karsinom
- Skuamöz hücreli karsinom
- Miks karsinom
- Andiferansiye karsinom
- Küçük hücreli karsinom

Seröz Adenokarsinom: En sık görülen histolojik tiptir. EOC'lerinin yarısı seröz histolojidedir. Olguların %60'ında tümörün bilateral olması nedeniyle en sık bilateral olan EOC'dir. Mikroskobik olarak hücreler; iyi diferansiye tümörlerde fallop tüpü epiteli ya da kötü diferansiye tümörlerde şiddetli nükleer atipisi olan anaplastik hücrelerle benzerlik gösterirler (2,44).

Endometrioid Adenokarsinom: EOC'lerinin yaklaşık %15-20'sini oluşturur ve en yaygın ikinci histolojik tiptir. Ancak daha düşük oranda saptanmaktadır. Bunun nedeni kötü diferansiye endometrioid ve seröz tümörlerin birbirinden kolaylıkla ayırt edilememesi ve bu olguların genellikle seröz olarak sınıflandırılmasıdır (2). Hastaların 1/3'ünde tümör bilateraldir. Bu tümörler endometriumu andıran epitelyal hücrelerden oluşur. Histolojik olarak endometrial adenokarsinoma büyük benzerlik gösterirler (9,44).

Malign Miks Müllerien Tümör (Karsinosarkom): Bu nadir tümörler over kanserlerinin %1'inden daha azını oluşturmaktadır. Histolojik olarak malign epitelyal ve mezenkimal bileşenler içermektedir. Epitelyal komponent her hangi bir EOC olabileceği gibi seröz, endometrioid ve andiferansiye karsinomlar en sık karşılaşılan epitelyal komponenttir (2,45).

Müsinöz Adenokarsinom: Gerçek EOC'lerinin yaklaşık %5-10'u müsinöz adenokarsinomlardır. Appendiks ya da kolon gibi barsaktaki primerinin saptanamaması nedeniyle görülme sıklığı genellikle olduğundan fazla hesaplanmaktadır (2). Bilateralite oranı %8-10'dur. Bu tümörler endoservikal epitel veya daha sıklıkla intestinal epitele benzeyen hücreleri içermektedir. Bu nedenle overin iyi diferansiye müsinöz tümörleri barsak veya endoservikal kaynaklı müsinöz adenokarsinoma çok benzerlik gösterirler. Klinik ilişki olmaksızın histolojik ayırımı yapmak çok mümkün olmamaktadır (2,3,44).

Psödomiksoma Peritonei: Neoplastik hücrelerin intra-abdominal implantlarla birlikte abdominal kaviteye çok fazla miktarda müsinöz materyal salgılamasıyla oluşan bir durumdur (44). Psödomiksoma peritonei ile ilişkili müsinöz over tümörlerinin primer olmaktan çok metastatik olduğu, doğru tanı için appendiks ya da barsağa ait diğer başlangıç bölgelerinin dışlanması gerektiği belirtilmektedir (46).

Berrak Hücreli Adenokarsinom: EOC'lerinin %5-10'unu oluşturmaktadır. Sıklıkla tek taraflı yerleşim gösterirler. Bu tümörlerin görünümüleri sporodik olarak uterus, vajina veya servikte gelişen berrak hücreli kanserlere benzerdir. Mikroskobik olarak hem berrak

hücrelerin görülmesi hem de peg-like (gebelik sırasındaki endometrial bezlere benzeyen) veya hobnail (kabara çivisi) hücrelerinin görülmesi karakteristiktir (2,3,44).

Malign Brenner Tümörü: Bu nadir görülen over kanserleri, kötü diferansiye transizyonel hücreli karsinom ve benign ya da *borderline* Brenner tümörlerin serpiştirilmiş odaklarının bir arada bulunması ile karakterizedir. Mikroskopik olarak transizyonel hücre komponenti, sıklıkla skuamöz diferansiyasyon göstererek üriner sistemden kaynaklanan karsinomlara benzemektedir. Brenner tümörleri yoğun ve alışılmadık şekilde fazla fibröz stroma ile bu stroma içindeki transizyonel epitel kümeleri ile karakterizedir (2).

Transizyonel Hücreli Karsinom: Over kanserlerinin %5'inden daha azını oluşturan bu tümörler, histolojik olarak gösterilebilir bir Brenner komponentinin olmaması ile karakterizedir. Mikroskopik olarak primer mesane transizyonel hücreli karsinomuna benzerler (2).

Skuamöz Hücreli Karsinom: Tümörler nadir olarak primer skuamöz hücreli karsinom olarak sınıflandırılırlar. Skuamöz hücreli karsinomlar çoğunlukla matür kistik teratomların (dermoid kist) malign transformasyonundan kaynaklanmakta ve germ hücreli malign over tümörü olarak sınıflandırılmaktadır. Ayrıca overin endometrioid adenokarsinomlarında yaygın skuamöz diferansiyasyon olabilir ya da primer serviks kanserinin metastazları da görülebilir (2).

Miks Karsinom: Over kanser dokusunun %10'undan fazlasında 2. bir hücre tipi bulunursa, miks tümör olarak sınıflandırılmaktadır. Yaygın kombinasyonlar; berrak hücreli-endometrioid veya seröz-endometrioid adenokarsinomlardır (2).

Andiferansiye Karsinom: EOC'leri nadir olarak, histolojik tiplerden hiç birisi ile sınıflandırılmayacak kadar kötü diferansiyedir. Mikroskopik olarak belirgin hücresel atipi, biçimsiz dev hücreler ve atipik mitoz sıktır. Tipik olarak tümörün içinde bir mülleriyen karsinom odağı (genellikle seröz karsinom) bulunmaktadır (2,45).

Küçük Hücreli Karsinom: Nadir görülen, aşırı derecede malign tümörlerdir. Hastaların büyük çoğunluğunda, tipik olarak genç kadınlarda (20'li yaşlarda) gelişen hiperkalsemik tip bulunur. Bu tümörlerin hemen hepsi tek taraflıdır ve 2/3'si ameliyattan sonra düzelen yüksek serum kalsiyum düzeyleri ile ilişkilidir (47). Pulmoner tip ise akciğer küçük hücreli karsinomuna benzer, yaşlı kadınlarda gelişir ve olguların yarısında hastalık bilateraldir (48).

2.1.5. Epitelyal Over Kanserinde Evreleme

EOC cerrahi olarak evrenilmektedir. En sık kullanılan evreleme sistemi FIGO (*International Federation of Obstetrics and Gynecology*) evreleme sistemidir (9).

Tablo 1: EOC FIGO evrelemesi

Evre	Özellikleri
I	Overlerde sınırlı tümör.
Ia	Tümör tek overde sınırlı; malign hücre içeren asit yok. Eksternal yüzeyde tümör yok; kapsül sağlam.
Ib	Tümör her iki overde sınırlı; malign hücre içeren asit yok. Eksternal yüzeylerde tümör yok; kapsüller sağlam.
Ic	Tümör Evre Ia veya Ib, ancak bir veya iki overin yüzeyinde tümör var; veya kapsül bütünlüğü bozulmuş; veya malign hücre içeren asit var veya pozitif peritoneal yıkama sıvısı var.
II	Bir ya da iki overi içeren tümör ile birlikte pelvik yayılım var.
IIa	Uterus ve/veya tubalara yayılım ve/veya metastaz.
IIb	Diğer pelvik dokulara yayılım
IIc	Tümör Evre IIa veya IIb, ancak bir veya iki overin yüzeyinde tümör var; veya kapsül (ler) bütünlüğü bozulmuş; veya malign hücre içeren asit var; veya pozitif peritoneal yıkama sıvısı var.
III	Bir ya da iki overi içeren tümör ile birlikte pelvis dışında peritoneal implantlar ve/veya pozitif retroperitoneal veya inguinal lenf düğümleri var. Süperfisyal karaciğer metastazları Evre III'tür. Tümör gerçek pelviste sınırlı ancak ince barsak veya omentumda histolojik olarak kanıtlanmış yayılım var.
IIIa	Tümör büyük ölçüde gerçek pelviste sınırlı, negatif lenf düğümleri, ancak abdominal peritoneal yüzeylerde histolojik olarak kanıtlanmış mikroskobik yayılım var.
IIIb	Abdominal peritoneal yüzeylerde histolojik olarak kanıtlanmış, hiçbirisi 2 cm'yi geçmeyen implantlar var. Lenf düğümleri negatif.
IIIc	2 cm üzerinde abdominal implantlar ve/veya pozitif retroperitoneal veya inguinal lenf düğümleri var
IV	Bir ya da iki overi içeren tümörle birlikte uzak metastaz var. Plevral effüzyonda malign sitolojinin gösterilmesi, karaciğer parankim metastazlarının varlığı Evre IV'tür.

2.1.6. Epitelyal Over Kanserinde Kullanılan Rutin Tanı Yöntemleri

Günümüzde EOC'nin tespiti için kullanılan yöntemler; semptomların değerlendirilmesini, fizik muayeneyi, çeşitli görüntüleme yaklaşımlarını (USG, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme ve pozitron emisyon tomografisi) ve CA125'in serum düzeylerinin ölçülmesini içermektedir (7).

Semptomlar: Over kanseri, ileri evre hastalık klinik olarak belirginleşene kadar kayda değer semptom ve bulgu vermediği için genellikle “sessiz katil” olarak tanımlanmaktadır (2). Aslında hastaların %90'ından fazlası tanıdan önce semptomatiktir. Ne yazık ki bu semptomlar belirsizdir ve erken evre hastalık veya over kanserine spesifik değildir (9). Hastalık ile ilişkili semptomlar pelvik/abdominal ağrı, idrara sıkışma/sık idrar yapma, abdominal boyutlarda artma/şişkinlik, yeme güçlüğü/erken doymayı içerir (49). Anormal vajinal kanama nadir olarak meydana gelir. Bazen bulantı, kusma ve özellikle karsinomatozis yaygınsa parsiyel barsak obstrüksiyonu görülebilir. Pek çok kadın ve klinisyen bu semptomları menapoz, yaşlanma, beslenme değişiklikleri, stres, depresyon ya da fonksiyonel barsak sorunlarına bağlamakta, tıbbi olasılıklar aranmadan ya da tanısal çalışmalar yapılmaya başlanmadan önce aradan haftalar, aylar geçmektedir (2). Goff ve ark.'nın (49) yaptığı bir vaka kontrol çalışmasında; 1 yıldan az süredir ve ayda 12 günden fazla olmak üzere pelvik/abdominal ağrı, abdominal boyutlarda artma/şişkinlik, yeme güçlüğü/erken doyma semptomlarından birinin varlığı pozitif semptom indeksi olarak kabul edilmiştir ve indeksin duyarlılığı erken evre hastalık için %56,7 ve geç evre hastalık için %79,5 olarak saptanmıştır. Özgüllük 50 yaş üzerindeki kadınlarda %90, 50 yaş altındaki kadınlarda %86,7'dir.

Fizik Muayene: Over kanseri olan hastalarda pelvik ya da abdomino-pelvik bir kitle palpe edilebilir. Genelde malign tümörler solid, nodüler ve fiske olma eğilimi gösterirler, fakat bu lezyonları benign olanlardan ayıran, maligniteye özgü tanısal bulguları yoktur. Cerrahi planlamaya yardımcı olmak amacıyla rektovajinal muayene de yapılmalıdır. Sıvı dalgalanması veya daha az sıklıkla göğüs bölgesinde şişlik varlığı anlamlı düzeyde asit varlığını gösterir. Pelvik kitle ve asiti olan bir kadında tanı, aksi kanıtlanmadığı sürece over kanseridir (2).

Serum CA125 Ölçümü: CA125; EOC'nin tespiti, izleminde kullanılan ve en iyi bilinen serum belirteçidir (7). CA125'in over kanserinin tespiti ile ilgili bir moleküler belirteç olarak başarısı, normal over epitelinde düşük ekspresyon düzeyinde iken; müsinöz tümörlerde daha az sıklıkta olmak üzere EOC'lerinin %80'inin CA125 ekspresyonu göstermesine bağlıdır. Klinik uygulamada 35 U/mL'lik bir eşik değeri yaygın olarak kullanılmaktadır (9). CA125 düzeyleri EOC'li hastaların %80'inde yükselirken, hastalığın erken evresinde yalnızca hastaların %50-60'ında yüksek bulunmaktadır. Ayrıca EOC'lerinin %20'sinin CA125'i anlamlı düzeyde eksprese edemediği belirtilmektedir (9,10). CA125 düzeyi EOC'nin yanı sıra endometrial, tubal karsinom, akciğer, meme ve pankreas kanseri gibi diğer organ kaynaklı kanserlerde de yükselebilmektedir. Endometriozis, pelvik inflamatuvar hastalığı da içeren peritoneal inflamasyon, leiomyom, gebelik, hemorajik over kisti, karaciğer hastalığı gibi pek çok benign durum da CA125'in serum düzeyinin artmasına neden olmaktadır (9).

Görüntüleme Yöntemleri:

Ultrasonografi: Transvajinal sonografi (TVS) overleri görüntülemek ve değerlendirmek için en sık kullanılan görüntüleme yöntemidir. Malign tümörler çoğunlukla multiloküle, solid veya ekojenik, büyük (>5cm) görünümündedir ve nodülerite alanlarında kalın septalara sahiptir. Diğer özellikleri ise papiller çıkıntılar ya da Doppler akımı ile gösterilen neovaskülarizasyonlardır. Sonografi ileri evre hastalığı olanlarda daha az yararlıdır. Pelvik sonografinin yorumlanmasının; uterus, adneksler ve çevreleyen yapılar büyük bir kitle oluşturduğunda oldukça zor olduğu belirtilmektedir (2).

Bilgisayarlı Tomografi: Başlıca avantajı ileri evre over kanseri olan kadınlardaki tedavi planlamasıdır. Ameliyattan önce karaciğer, retroperiton, omentum ya da batında herhangi bir yerdeki hastalığı saptayabilmekte ve böylece cerrahi sitoreduksiyona kılavuzluk yapmaktadır (2).

2.1.7. Epitelyal Over Kanserinde Erken Tanı İçin Önerilen Yöntemler

EOC nispeten az sayıda vakada görülmesine rağmen yüksek ölüm oranlarının en büyük sebebi hastalığın sıklıkla metastatik yayılım sonrasında tanı almasıdır (9). Over kanserinin tedavi edilebilir erken evrelerde tespit edilmesinin bir yolu hastalığın tarama yoluyla belirlenmesidir. Genel popülasyonda etkili ve uygun maliyetli bir over kanseri tarama programının uygulanması oldukça zordur. Çünkü; over kanserinin doğal öyküsü büyük ölçüde bilinmemektedir, göreceli olarak yaygın olmayan bir hastalıktır, çoğu kanser tanımlanabilir risk faktörlerine sahip olmayan kadınlarda ortaya çıkmaktadır ve pozitif bir tarama sonucu ile ilgili kesin tanımlayıcı inceleme hem maliyetli hem de riskli olan bir cerrahi girişimi içermektedir (50). Amerika veya Avrupa'daki postmenapozal kadınlarda over kanserinin prevalansı 1/2500'dir. Böyle bir toplumda %10 pozitif öngörü değerine (*positive predictive value*, PPV) erişebilmek için tarama testinin duyarlılığının erken evre hastalık için %75'ten büyük ve özgüllüğünün en az %99,6 olması gerektiği belirtilmektedir (51). Günümüzde over kanseri taramasında kullanılan standart yöntemler fizik muayene, serum CA125 düzeyi ölçümü ve USG'dir. Bu yöntemler içinde en az duyarlı ve özgül olan fizik muayenedir. 10.000 fizik muayene ile sadece 1 erken evre over kanserinin saptanacağı tahmin edilmektedir (9). Daha önce belirtildiği gibi CA125 düşük duyarlılık ve özgüllüğü nedeniyle over kanserini saptamada tek başına yararlı bir belirteç değildir. CA125 düzeylerini yorumlamak için istatistiksel bir algoritma geliştirilerek (*Risk of Ovarian Cancer Algorithm*, ROCA) duyarlılık arttırılmıştır. Bu durum, over kanseri olmayan kadınlardaki CA125 düzeylerinin sabit kalırken veya azalırken, malignite ile ilişkili düzeylerin yükselme eğiliminde olmasıyla ilgili bulgulara dayandırılmaktadır. Algoritma, bireyin her yeni CA125 ölçümünden sonra güncellenmekte ve hesaplanan riske göre tarama işlemlerini önermektedir. Normal riskli kadınlar için yıllık CA125 ölçümü önerilirken, yüksek riskli kadınlar USG'ye yönlendirilmekte, orta riskli kadınlar birkaç ay içinde tekrar CA125 ölçümü için yönlendirilmektedir. 50 yaş üzeri 13.582 postmenapozal kadında yapılan randomize kontrollü bir çalışmada primer invaziv EOC için ROCA ile %99,8'lik bir özgüllük ve %19'luk bir PPV değer elde edilmiştir (52).

TVS adnekslerin değerlendirilmesi için ilk tercih edilen yöntem olmakla birlikte duyarlılık ve özgüllüğü over kanseri tanısı koymak için sınırlıdır (8). Çeşitli skorlama sistemleri veya over hacmini, sınır özelliklerini, papiller uzantıların varlığını ve kistlerin kompleksliğini temel alan morfolojik indeksler taramada yanlış pozitiflikleri azaltmak amacıyla kullanılmaktadır. İlk tespitten 4-6 hafta sonra tekrarlanan görüntülemeye

anormalliklerin devam etmesi, yanlış pozitiflik oranlarını azaltmaktadır. Postmenapozal kadınlarda over hacminde fizyolojik değişikliklerin olmaması, premenapozal kadınlar ile karşılaştırıldığında, bu grupta görülen yanlış pozitiflik sayısını azaltmaktadır. Bununla birlikte, yaşlı kadınlarda bile yüksek bir benign over lezyonu prevalansı bulunmaktadır ve USG'nin tek başına taramada kullanılması ileri araştırma ve gereksiz cerrahi ile sonuçlanmaktadır (53,54). Bütün bunların yanı sıra USG'nin yaygın kullanımını engelleyen birçok kısıtlılık bulunmaktadır. En önemli sınırlama tüm postmenapozal kadınların yıllık olarak taranmasında ortaya çıkacak maliyettir. EOC'nin büyük çoğunluğu hızlı bir şekilde büyümekte ve metastaz yapmaktadır. Bu durum USG ile tümörün lokalizasyonunu belirlemek açısından zorluk yaratmaktadır (15).

Over kanseri taramasının sağkalım oranını düzeltip düzeltmediğini belirlemek amacıyla yapılmış 2 büyük randomize çalışma bulunmaktadır. Prostat, Akciğer, Kolorektal ve Over (PLCO) Kanser Tarama Çalışması'nda yaşları 55-74 arasında değişen 78.216 kadından 39.105'i yıllık over kanseri taraması için, 39.111'i olağan bakım/hizmet almak üzere rastgele bir şekilde atanmıştır. Kadınlar serum CA125 (eşik değeri: 35 U/mL) düzeyi ve TVS ile 3 yıl izlenmiş, sonraki 2 yıl boyunca sadece CA125 ölçümleri yapılmıştır. Pozitif taramaların tanısız izlemi, katılımcıların kendi hekimlerinin takdirlerine göre yapılmıştır (55). 4 yıllık tarama dönemi süresince 60'ı tarama ile olmak üzere toplam 89 invaziv over veya periton kanseri saptanmıştır. Önemli bir şekilde, tarama ile tespit edilen olguların %72'si, taramanın evre değişimi ile sonuçlanmadığını gösterecek şekilde evre III veya IV'tür (56). Araştırmanın son verilerine göre tarama grubundaki 212, kontrol grubunda 176 kadın over kanseri tanısı almıştır (*rate ratio*: 1,21; %95 CI, 0,99-1,48). Over kanseri nedeniyle tarama grubunda 118, kontrol grubunda 100 ölüm gerçekleşmiştir (*mortality rate ratio*: 1,18; %95 CI, 0,82-1,71). Ek olarak yanlış pozitiflik saptanan 3285 kadından 1080'ine cerrahi girişim uygulanmış ve 163 kadın (%15) en az bir ciddi komplikasyon yaşamıştır. Proje ekibi CA125/TVS tarama yaklaşımının, olağan bakım/hizmet ile karşılaştırıldığında, hastalığa özgü mortaliteyi azaltmadığı, fakat invaziv tıbbi yöntemlerde ve ilişkili zararlarda bir artışa neden olduğu kararına varmıştır (55).

Birleşik Krallık Over Kanser Taraması İşbirliği Çalışması'nda (*United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening, UKCTOCS*) yaşları 55-74 arasında değişen 202.638 postmenapozal kadın; kontrol grubu, yıllık TVS uygulanan grup ve multimodal strateji grubu için 2:1:1 oranında randomize edilmiştir. Multimodal strateji grubunda yıllık

CA125 düzeyleri ölçülmüş (ROCA kullanılarak yorumlanmıştır) ve TVS 2. sıra test olarak kullanılmıştır. Tekrarlanan taramalarda devam eden anormalliği olan kadınlara, klinik onkoloji uzmanı tarafından değerlendirme ve eğer uygunsa, cerrahi girişim uygulanmıştır. Prevalans çalışmalarının sonuçlarına göre; primer invaziv EOC ve fallop tüpü kanserleri için tek başına TVS ile karşılaştırıldığında, multimodal strateji anlamlı bir şekilde daha yüksek bir özgüllüğe (%99,8'e karşı %98,2) ve daha yüksek bir PPV'e (%35,1'e karşı %2,8) sahipken; duyarlılığın ise iki grup arasında anlamlı bir farklılık göstermediği saptanmıştır. İnvaziv malignite tanısı konan hastaların %48'i evre I/II'dir ve evre dağılımı açısından gruplar arasında fark olmadığı saptanmıştır (57).

Sonuç olarak profesyonel toplulukların hiçbiri asemptomatik kadınlarda over kanseri taramasını önermemektedir. Maligniteleri erken evrede saptamak için yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip, böyle düşük insidanslı bir hastalıkta yanlış pozitiflikleri en aza indirecek bir araç, belirteç/belirteç paneli veya strateji bulmak için çalışmalar devam etmektedir (8).

2.1.8. Adneksiyel Kitlelerde Benign/Malign Ayırımı İçin Önerilen Yöntemler

Kadınların yaklaşık %20'si, yaşamlarının herhangi bir anında over kisti veya adneksiyel kitle tanısı alacaktır. Ancak bu kitlelerin küçük bir yüzdesi over malignitesidir (58). Çalışmalar over kanseri konusunda uzmanlaşmamış cerrahlar tarafından tedavi edilen hastalar ile karşılaştırıldığında, başlangıçta jinekolojik onkologlar tarafından opere edilen hastalara tam bir cerrahi evreleme veya optimum sitoredüktif yöntem uygulanma olasılığının daha fazla olduğunu göstermiştir. Ayrıca multidisipliner ekibe sahip kurumlarda jinekolojik onkologlar tarafından tedavi edilen over kanseri hastalarında, daha az komplikasyon ve daha iyi sağkalım oranları gözlenmiştir (11). Düşük malignite riskine sahip hastaların, devlet hastanelerinde jinekologlar veya genel cerrahlar tarafından tedavi edilebileceği, fakat yüksek risk taşıyan hastaların, over kanseri tedavisinde uzmanlaşan, multidisipliner ekibe sahip üçüncü basamak sağlık merkezlerinde tedavi edilmesi gerektiği belirtilmektedir (58). Bu nedenle adneksiyel kitleli hastaları over kanseri açısından yüksek ve düşük riskli gruplara ayıracak bir risk değerlendirme aracının olması kritik bir öneme sahiptir (12). Düşük duyarlılık ve özgüllüğü nedeniyle CA125'in bu konudaki yararlılığı da sınırlıdır. Daha önce bahsedildiği gibi USG'nin de birçok kısıtlılığı bulunmaktadır. Ayrıca bir pelvik kitlenin doğasının tespit edilmesinde USG'nin performansı, uygulayıcının deneyimine ve becerisine

oldukça bağıdır (13). Jacobs ve ark. (59) CA125, USG ve menapoz etkenini birleştirerek %85 duyarlılık ve %97 özgüllük ile pelvik bir kitlenin malignite potansiyelini tahmin edebilen bir “Malignite Riski İndeksi (*Risk of Malignancy Index, RMI*)” geliştirmişlerdir. RMI kullanıcılar ve merkezler arasında değişkenliği olabilecek USG verilerini içermektedir. Birçok çalışmada farklı duyarlılık ve özgüllük verileri elde edilmiştir.

Manyetik Rezonans Görüntüleme, bilgisayarlı tomografi ve pozitron emisyon tomografisinin hastaları düşük veya yüksek riskli olarak sınıflandırmak için yararlı olduğu ancak bu yöntemlerin over kisti veya pelvik kitlesi olan tüm kadınlarda kullanılmak için oldukça fazla masraflı olduğu belirtilmektedir (6).

Food and Drug Administration (FDA) over kanseri riskinin değerlendirilmesi için kullanılan iki algoritmayı onaylamıştır. Bunlardan biri olan “Over Malignite Riski Algoritması (*Risk of Ovarian Malignancy Algorithm, ROMA*)” over kanseri riskini hesaplamak için, CA125 ve HE4 konsantrasyonlarına ek olarak, menapoz etkenini kullanan kantitatif bir testtir. Premenapozal ve postmenapozal hastalar için belirlenmiş 2 farklı denkleme dayanılarak, sayısal bir skor elde edilmektedir ve menapoz etkenine göre farklı eşik değerler kullanılmaktadır (12). ROMA ile ilgili yayınlar çelişkilidir. Bazı yayınlar malignite olasılığını tahmin etmede CA125’ten daha iyi olduğunu savunurken (12,60), bazıları yarar sağlamadığını belirtmektedir (61,62).

Diğer FDA onaylı algoritma olan OVA1 beş serum proteini ile yapılan bir kantitatif testtir. CA125, transtiretin, apolipoprotein A1, beta2 mikroglobulin ve transferrin ölçülmekte ve sayısal bir skorda kombine edilmektedir. Menapoz etkenine göre farklı eşik değerleri kullanılarak hastalar yüksek veya düşük riskli olarak sınıflandırılmaktadır. Ueland ve ark. (63) over malignitelerinin tespitinde hekim değerlendirmesi ve CA125 ile karşılaştırıldığında OVA1’in daha yüksek duyarlılık (sırasıyla, %75, %77, %93) ve daha düşük özgüllük (sırasıyla %79, %84, %43) gösterdiğini, OVA1’in hekim değerlendirmesine eklenmesi ile duyarlılığın %96’ya yükseldiğini, özgüllüğün %35’e düştüğünü belirlemiştir. OVA1’in yüksek duyarlılığı, malignitesi olan hastaların yanlışlıkla genel cerrahlara yönlendirilme olasılığını azaltmaktadır. Diğer yandan azalmış özgüllük, benign hastalığı olan daha fazla sayıda hastanın jinekolojik onkologlara sevk edilmeleri anlamına gelmektedir.

Bütün yapılan çalışmalar göz önüne alındığında günümüzde EOC’nin erken tanısı ve benign over hastalıklarından ayrılmanması için yeterli duyarlılık ve özgüllüğe sahip FDA

onaylı olan/olmayan kesin bir yaklaşım olmadığı görülmektedir. Çalışmalar merkezler arasında tekrarlanabilirlik ve tutarlılık sağlanması için, objektif kantitatif ölçümler yoluyla belirlenecek belirteç veya belirteç panelleri üzerine yoğunlaşmıştır. Bunun sonucu olarak da HE4, Mezotelin, YKL-40, LyGDI, transtiretin, apolipoprotein A1, *Vascular cell adhesion molecule-1*, osteopontin, interlökin (IL)6, IL8, transferrin, *Vascular endothelial growth factor* gibi birçok belirteç adayı belirlenmiştir (8).

2.2. EPİTELYAL OVER KANSERİ TANISINDA ÖNE ÇIKAN BAZI BELİRTEÇLERİN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİ

2.2.1. CA125:

CA125 insan over kanseri hücreleri ile immunize farelerden elde edilen OC125 antikoru ile ilk kez 1981 yılında tanımlanmıştır (64). 1983 yılında ticari hale gelen ilk CA125 immünassayde, hem yakalama ve hem de tespit için OC125 antikoru kullanılmıştır. Daha sonra, birbirleriyle örtüşmeyen farklı epitoplara sahip M11 ve OC125 antikorlarını birleştiren, ikinci nesil bir test (CA125 II) geliştirilmiştir. Bu andan itibaren CA125 ile ilgili testler otomatik platformlara adapte edilmiştir (65). 2,5-5 milyon Da arasında değişen ortalama bir moleküler ağırlığa sahip olan, O- ve N-bağlı oligosakkaridler ile aşırı derecede glikozillenen bir hücre yüzey müsinini olan CA125; birçok epitel hücresinde normal olarak eksprese edilmektedir. Eksprese edildiği dokular, Müller (endoservikal, endometrial, tubal) ve çöломik (perikart, periyon ve plevra) epitelden derive olan erişkin dokularını kapsamaktadır (54,66). CA125'in üretimi ve salınımı hücresel büyüme ile ilişkili gibi görünmektedir ve over kanser hücrelerinde in vitro yapılan çalışmalar kültür süpernatanına CA125 salınımının temel belirleyicisinin total hücre sayısı olduğunu düşündürmektedir (67).

Fonksiyonu tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte CA125'in *naturel killer* hücrelerinin sitolitik cevabını inhibe ettiği gösterilmiştir ve bu CA125'in anti-tümör immun yanıt baskılayıcısı olarak davrandığını düşündürmektedir (68). Çalışmalar CA125'in, periton boşluğunu kaplayan normal mezotelyal hücrelerde var olan mezoteline bağlanarak over kanserinin intraperitoneal yayılımına yol açabileceğini göstermektedir (69).

Düşük duyarlılık ve özgüllüğüne rağmen CA125 EOC tanısında rutin olarak kullanılan tek tümör belirteçidir. CA125'in bir diğer kullanım alanı benign ve malign kitlelerin ayırımıdır. Ancak duyarlılığının düşük olması ve özellikle premenapozal kadınları etkileyen

birçok benign hastalığın CA125 artışına neden olması karışıklık yaratan bir faktördür. Seri CA125 ölçümleri, kemoterapiye yanıtın izlenmesinde de rol oynamaktadır. CA125 ile ilgili çalışmalar, bu belirtecin, operasyon sonrası dönemde, tümörün ikinci bakış operasyonunda bulunabilme olasılığını tahmin etmede yararlı olduğunu göstermiştir. CA125'in bir diğer kullanım alanı rekürrens saptanmasıdır. Artmış, yükselmekte olan veya iki katına çıkan CA125 konsantrasyonlarının nüks habercisi olduğu belirtilmektedir. Primer tedavi sırasında, potansiyel prognostik bir belirteç olarak, CA125 ölçümlerinin yapılması önerilmektedir, çünkü hem operasyon öncesi ve hem de operasyon sonrası ölçülecek olan CA125 konsantrasyonları, prognoz açısından anlamlı olabilmektedir (65).

2.2.2. Human Epididimis Protein 4:

HE4; asit ve ısıya dayanıklı, farklı biyolojik fonksiyonlara sahip bir grup proteini içeren “4-disulphide core” ailesinde yer alan salgılanan bir proteindir (70). 4-disülfid çekirdek motifi ilk olarak farelerin sütündeki temel whey proteini olan *Whey Acidic Protein*'de (WAP) tanımlandığından WAP motifi olarak da bilinmektedir (71). WAP alanı yaklaşık olarak 50 aminoasiti kapsamakta ve korunan bir düzen içinde, 4 disülfid bağı kuran sekiz sistein içermektedir. WAP proteinleri bir veya daha fazla sayıda WAP motifi içermektedir. HE4 2 adet WAP motifi içerdiğinden dolayı “WAP 4-disulphide core domain 2 (WFDC2)” olarak da adlandırılmaktadır (72). WAP proteinleri, tipik olarak küçük, salgılanan proteinlerdir, büyümeyi ve diferansiyasyonu etkileyen değişik fonksiyonlar sergilemektedirler. En çok çalışılan WAP proteinleri olan elafin ve antilökoproteinaz 1; antimikrobiyal ve antiinflamatuvar aktiviteye sahip serin proteinaz inhibitörleridir ve konak savunma fonksiyonunda önemli rol oynamaktadırlar (6,72).

HE4 geni birçok WAP proteinini kodlayan genlerin yer aldığı kromozom 20q12-13.1 kromozomu üzerinde bulunmaktadır (72). Bu gen ilk kez Kirchhoff ve ark. tarafından insan epididimis epitel hücrelerinde tanımlanmıştır (70). Daha sonraki çalışmalar HE4'ün erkek üreme sistemi dışındaki bir dizi dokuda da açığa çıktığını göstermiştir. Drapkin ve ark. (73) HE4'ün epididimis ve kadın reproduktif sisteminde (fallop tüpleri, endometrium ve endoserviks) oldukça yüksek düzeyde açığa çıktığını, ayrıca özellikle trakea olmak üzere solunum epitelinde de HE4 ekspresyonu olduğunu saptamıştır. Yazarlar normal over yüzey epitelinde HE4'ün eksprese edilmediğini ancak metaplazik müller epiteli ile döşenmiş

kortikal inklüzyon kistlerinin ise proteini bol miktarda eksprese ettiğini belirtmektedir. Bu durum EOC gelişimi sırasındaki kortikal inklüzyon kisti oluşumu ve mülleriyen metaplazi sürecinde HE4 proteininin açığa çıktığını göstermektedir. Ayrıca over kanser hücrelerinde HE4 gen ürününün N-glikozilasyona uğradığı ve 25 kDa'luk bir ağırlıkla hücre dışı ortama sekrete edildiği saptanmıştır. EOC histolojik subtiplerinden seröz ve endometrioid tümörlerin tamamında, berrak hücreli tümörlerin %50'sinde ekspresyon saptanırken, 9 müsinöz tümörün sadece 1'inde ekspresyon saptanmıştır. Galgano ve ark. (74), çeşitli malign dokulardaki HE4 gen ve protein ekspresyonunu araştırmıştır. En yüksek gen ekspresyonu over seröz karsinomlarında saptanmıştır. Bununla birlikte akciğer adenokarsinomlarında ve nadiren meme, transizyonel hücreli karsinom ve pankreas karsinomlarında orta veya yüksek düzeyde ekspresyon saptanmıştır. HE4 protein ekspresyonu değerlendirildiğinde seröz karsinomların tamamında, endometrioid karsinomların %80'inde, berrak hücreli karsinomların %85'inde ekspresyon saptanırken, 7 müsinöz karsinomun 1'inde zayıf düzeyde ekspresyon belirlenmiştir. Ek olarak bazı pulmoner, endometrial ve meme adenokarsinomlarında, mezotelyomada ve daha az sıklıkta gastrointestinal, renal ve transizyonel hücreli karsinomlarda da protein ekspresyonu belirlenmiştir.

HE4'ün biyolojik fonksiyonu tam olarak anlaşılamamıştır. Elafin ve antilökoproteinaz 1'e yapısal benzerliğinden dolayı sperm maturasyonunda rolü olan bir proteinaz inhibitörü olarak düşünülmüştür (70). Ancak bugüne kadar hiçbir proteinaz inhibitör aktivitesi belirlenmemiştir (6,72). Zou ve ark. (75) HE4'ün karsinogenezdeki ve over kanserinin progresyonundaki rolünü araştırmıştır. Araştırmacılar orta düzeyde ve aşırı yüksek düzeyde HE4 mRNA ekspresyonu gösteren (sırasıyla SKOV3.ip1 ve CaoV3) over kanseri hücre dizilerinde siRNA ile HE4 ekspresyonunu susturarak HE4 düşüşünün her iki hücre dizisinde de hücreleri G0/G1 fazında durdurduğunu ve S fazına girişi inhibe ettiğini göstermiştir. HE4'ün susturulması, özellikle SKOV3.ip1 hücrelerinin büyümesini, migrasyonunu ve invazyon yeteneklerini inhibe etmiştir. Bu etkilerin CaoV3 hücre dizisinde daha az görülmesinin nedeni de iki hücre dizisinin diferansiyasyon derecelerinin farklı olma olasılığına bağlanmıştır. Bingle ve ark. (76) bronş epiteli hücrelerinde HE4 ekspresyonunun de-diferansiyasyon sürecine uğradıkça azaldığını, re-diferansiyasyon sırasında arttığını göstermiştir. Bu nedenle CaoV3 hücre dizisinde gözlenen aşırı yüksek HE4 düzeylerinin daha iyi bir diferansiyasyon derecesini temsil etme olasılığı bulunduğu, buna göre HE4'ün

susturulmasının, kötü diferansiye hücre dizisi ile karşılaştırıldığında, iyi diferansiye over kanseri hücre dizisi üzerinde daha az etki gösterdiği belirtilmektedir (75).

2.2.3. YKL-40:

YKL-40; insan kıkırdak glikoproteini-39 (HC-gp39), 38-kDa heparin bağlayıcı glikoprotein (gp38k), *chitinase-3-like-1* (CHI3L1), kondreks ve meme regresyon proteini-39 (brp-39) olarak farklı şekillerde adlandırılan salgılanan bir glikoproteindir. YKL-40 terimi, kendisinin üç N-terminal aminoasitinin (tirozin, lizin ve lösin) tek harfli kodundan ve 40 kDa'luk moleküler ağırlığından köken almaktadır. YKL-40 geni kromozom 1q31-q32'de lokalizedir. YKL-40; enzimatik aktiviteye sahip gerçek kitinazlar ve kitinaz benzeri proteinleri içeren 18 glikozil hidrolaz ailesinde yer almaktadır (77). YKL-40 kitin polimeri veya oligomeri ile bağlanmasına olanak sağlayan, fonksiyonel bir karbonhidrat bağlayıcı motife sahiptir ancak enzimatik aktiviteden yoksundur. Bu durum YKL-40'ın aktif bölgesindeki esansiyel glutamik asit yerine lösinin geçmesi ile açıklanabilmektedir (78).

Hücresel düzeyde, YKL-40 protein ekspresyonu, embriyonik ve fetal dokularda yüksek düzeydedir ve bu, hızlı proliferasyon ve belirgin diferansiyasyon ile karakterizedir (79). Erişkin normal dokularında da yüksek hücresel aktiviteye sahip hücrelerde, yüksek düzeyde YKL-40 ekspresyonu gözlenmektedir (80). Ayrıca makrofajlarda, nötrofillerde, kondrositlerde, fibroblast benzeri sinoviyositlerde, vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde, hepatik yıldızlı hücrelerde, duktal ve kolon epitel hücrelerinde de açığa çıkmaktadır. YKL-40'ın kesin fizyolojik fonksiyonu, biyolojik etkilerine aracılık eden hücresel reseptörlerin kimliği henüz bilinmemektedir (77). Dolaşımdaki YKL-40 düzeyi akut inflamasyon, kronik inflamasyon ve/veya doku şekillenmesi ile karakterize; pürülan menenjit, pnömoni, romatoid artrit, osteoartrit, sistemik lupus eritematozus, inflamatuvar barsak hastalıkları, KOAH, ateroskleroz, karaciğer fibrozisi gibi bazı hastalıklarda yükselmektedir (81). Çalışmalar YKL-40'ın inflamasyon, doku şekillenmesi ve fibrozis süreçlerinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (77).

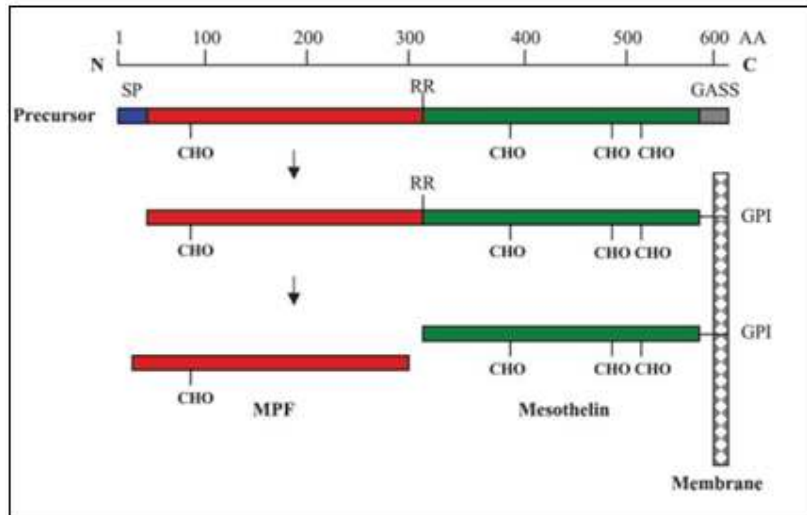
YKL-40 ekspresyonu over, kolon, meme, akciğer, böbrek, pankreas, prostat ve uterus kanserleri, osteosarkom, glioblastom ve germ hücreli tümörler gibi çeşitli solid tümörlerde artmaktadır. YKL-40'ın kanserdeki kesin biyolojik işlevleri ise bilinmemektedir. Malign hücrelerin proliferasyonunda ve diferansiyasyonunda rol oynayabileceği, kanser hücrelerini

apoptozdan koruduğu, anjiyogenezi uyardığı, ekstrasellüler dokunun şekillenmesi üzerinde bir etkisinin olduğu ve tümörü çevreleyen fibroblastları uyardığı öne sürülmüştür (77). YKL-40, fibroblastlarda, *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) ve *Phosphatidylinositol-3 Kinase* (PI3K) sinyal kaskatlarını başlatarak, mitogenez kontrolü ile ilişkili olan *Ekstrasellüler Signal Regulated Kinase* (ERK)-1/2 ve AKT aracılı sinyal kaskatlarının fosforilasyonuna yol açmaktadır (78). Bu özellik YKL-40'ın anti-apoptotik bir protein olarak oynadığı rolü de göstermektedir. Çünkü PI3K yolu ve özellikle AKT'ın fosforilasyonu hücre sağkalımı ile güçlü şekilde ilişkilidir (77). YKL-40, dallanan tübül oluşumunu arttırarak, vasküler endotelial hücre morfolojisini modüle etmektedir; bu durum, YKL-40'ın, vasküler endotelial hücrelerin migrasyonunu ve reorganizasyonunu uyararak, anjiyogeneizde rol oynayabileceğini göstermektedir. Ayrıca YKL-40'ın vasküler düz kas hücreleri için bir adhezyon ve migrasyon faktörü olduğu belirtilmektedir (82,83). Solid tümörleri çevreleyen stroma, tümör proliferasyonu, hücre ölümü, progresyon, *remodelling* ve anjiyogenez gibi bazı temel durumları düzenlemekte, tümör büyümesini ve metastatik hastalığın progresyonunu arttırmaktadır. Kanser hücreleri veya tümörü çevreleyen inflamatuvar hücreler tarafından salgılanan YKL-40'ın tümörü çevreleyen fibroblastların/miyofibroblastların proliferasyonunda, aktivasyonunda ve diferansiyasyonunda rol oynayabileceği, hem primer kanserde ve hem de metastatik bölgelerde görülen belirgin desmoplastik stromanın gelişimini etkileyebileceği öne sürülmektedir (77). YKL-40 kollajen tip 1, 2, 3'e bağlanabilmekte ve tip 1 kollajen fibril oluşum hızını modüle etmektedir (84). YKL-40 kitine (β -1,4 bağlı N-asetilglukozamin polimeri) güçlü bir bağlanma afinitesine sahiptir. Memelilerde kitin bulunmamasına rağmen, YKL-40'ın memelilerde bulunabilen, kitin benzeri motiflere sahip bilinmeyen endojen bileşimler ile etkileşebileceği belirtilmektedir (77).

Yang ve ark. (85) EOC ve normal over dokularında YKL-40 ekspresyonunu araştırmıştır. Yazarlar EOC dokularının %56,8'inde YKL-40 ekspresyonunun arttığını, normal over dokusunda ise ekspresyonun negatif veya düşük düzeyde olduğunu, ekspresyonun hastalığın klinik evresi ile yakından ilişkili olduğunu saptamıştır. Hogdall ve ark. (86) da *borderline* tümörler ile karşılaştırıldığında EOC'de YKL-40 ekspresyonunun arttığını, ekspresyonun hastalığın evresi ve histolojik tip ile ilişkili olduğunu, YKL-40 ekspresyonunun en sık seröz karsinomlarda gözlemlendiğini belirtmektedir.

2.2.4. Mezotelin:

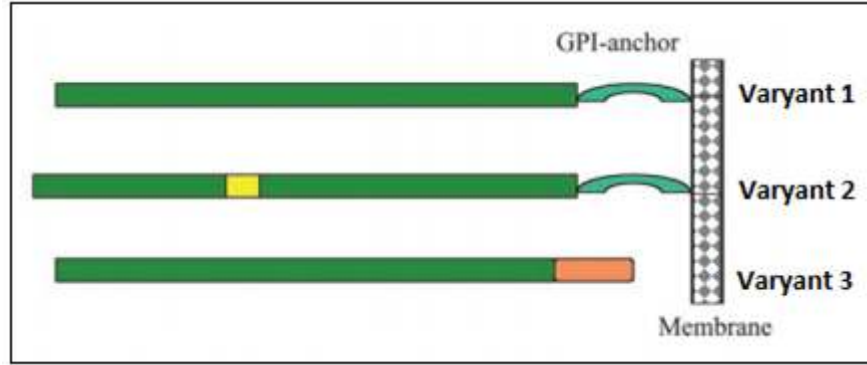
40 kDa ağırlığında, glikozil-fosfatidil-inozitol (GPI) kancası ile membrana bağlı olan bir hücre yüzey glikoproteinidir (87). Normal dokulardaki ekspresyonu plevra, perikart ve peritonu kaplayan mezotelyal hücrelerle sınırlı olan bir diferansiyasyon antijenidir (88). Mezotelini kodlayan gen kromozom 16p13.3 üzerinde bulunmakta ve 71 kDa'luk bir prekürsör proteini kodlamaktadır. Bu protein 622 aminoasitten oluşmakta, N-terminal bölgede sinyal peptid (SP) ve C-terminal bölgede GPI kancası sinyal sekansı (GASS) bulunmaktadır. Protein 4 glikozilasyon alanı (CHO) ve 1 furin bölünme alanı (RR) içermektedir. Membrana bağlanan proteinin furin alanından bölünmesiyle 31 kDa'luk salgısal protein "*Megakaryocyte Potentiating Factor*" ve 40 kDa'luk GPI kancası ile membrana bağlı Mezotelin oluşmaktadır (Şekil 3)(89).



Şekil 3: Mezotelin proteininin maturasyonu (89)

Mezotelin için üç transkript varyantı tanımlanmıştır. Bunlar; ilaveleri olmayan Varyant 1, 24 bp ilavesi olan Varyant 2 ve 82 bp ilavesi olan Varyant 3'tür. Varyant 2'nin kodladığı protein 408. pozisyondaki glutaminden sonra ilave 8 aminoasit içermektedir. Varyant 3'ün kodladığı protein ise mezotelinin membrana bağlı parçası ile aynı N-terminal aminoasit dizisine sahiptir. Ancak GPI kancasından yoksundur ve proteinin çözünebilir olmasını sağlayan bir C-terminal hidrofilik kuyruğa sahiptir (Şekil 4) (89,90). Çözünebilir olan Varyant 3'ün yanı sıra Varyant 1 ve 2'de seruma dökülebilmektedir. Hellstrom ve ark. (90) Varyant 1'in over kanserini de içeren belirli tümörlerden elde edilen hücrelerin

yüzeyinde primer olarak açığa çıkan varyant olduğunu ve vücut sıvılarına salındığını; bunun yanı sıra Varyant 2 ve 3'ün çok daha az sıklıkla açığa çıktığını ve salındığını saptamıştır.



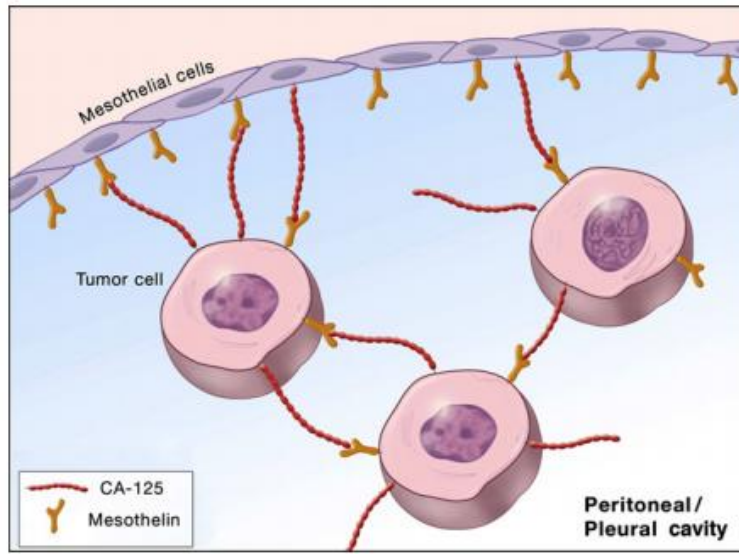
Şekil 4: Mezotelin varyantları (89).

Birçok araştırmacı mezotelin ekspresyonunun, EOC'nin büyük bir kısmını oluşturan seröz over kanserlerinin çoğunda var olduğunu, aynı zamanda diğer histolojik tiplerde de daha az oranlarda açığa çıktığını göstermiştir (91–93). EOC yanısıra mezotelyoma, endometrial adenokarsinom, pankreas, özefagus, mide, kolon, akciğer adenokarsinomları gibi bir çok tümörde mezotelin ekspresyonu olduğu saptanmıştır (92–94).

Mezotelinin biyolojik fonksiyonu bilinmemektedir. Rump ve ark. (69) CA125'in membrana bağlı mezoteline bağlanmasının, heterotipik hücre adhezyonuna aracılık ettiğini ve bu etkileşimi anti-mezotelin antikorunun bloke ettiğini göstermiştir. Bu sonuçlar, mezotelinin yeni bir CA125 bağlayıcı protein olduğunu ve CA125'in, peritoneal boşluğu kaplayan normal mezotelyal hücrelerde var olan mezoteline bağlanarak, over karsinomunun periton içi yayılmasına yol açabileceğini göstermektedir. Ayrıca tümör hücrelerinde bulunan CA125 ve mezotelin arasındaki homotipik etkileşimlerin de tümör agregasyonuna yol açabileceği ve kavite içi metastazları etkin kılabilceği belirtilmektedir (Şekil 5) (95).

Çeşitli çalışmalar malignite gelişimi ile ilgili sinyal yolları ve mezotelin arasında önemli etkileşimler olduğunu göstermiştir. Mezotelinin MAPK/ERK ve *c-Jun N-Terminal Kinase* (JNK) yolları aracılığıyla Matriks metalloproteinaz-7 ekspresyonunu indükleyerek kanser hücrelerinin migrasyon ve invazyonunu arttırdığı belirlenmiştir (96). Aşırı mezotelin ekspresyonunun Nükleer Faktör-Kappa B'yi (NF- κ B) yapısal olarak aktive ederek hücre proliferasyonu ve sağkalımını destekleyen IL6 ekspresyonunu arttırdığı saptanmıştır (97).

Mezotelinin, PI3K aktivasyonu ile AKT fosforilasyonunu hızlıca uyararak, bazı pro-apoptotik faktörlerin ekspresyonunu inhibe ederek ve bazı anti-apoptotik genlerin ekspresyonunu arttırarak kanser hücrelerini TNF- α 'nın indüklediği apoptozdan koruduğu, paklitakselin indüklediği apoptozu inhibe ettiği belirlenmiştir (98,99). Mezotelinin regülasyonunun Wnt/ β -katenin sinyal yolunun üyeleri tarafından düzenlendiği gösterilmiştir (100). Over kanseri gibi Wnt/ β -katenin sinyal yolunun deregüle edildiği tümörlerde yüksek düzeyde mezotelin ekspresyonu görülmektedir (93,101).



Şekil 5: Mezotelin-CA125 etkileşimi ve tümör metastazındaki rolü (95)

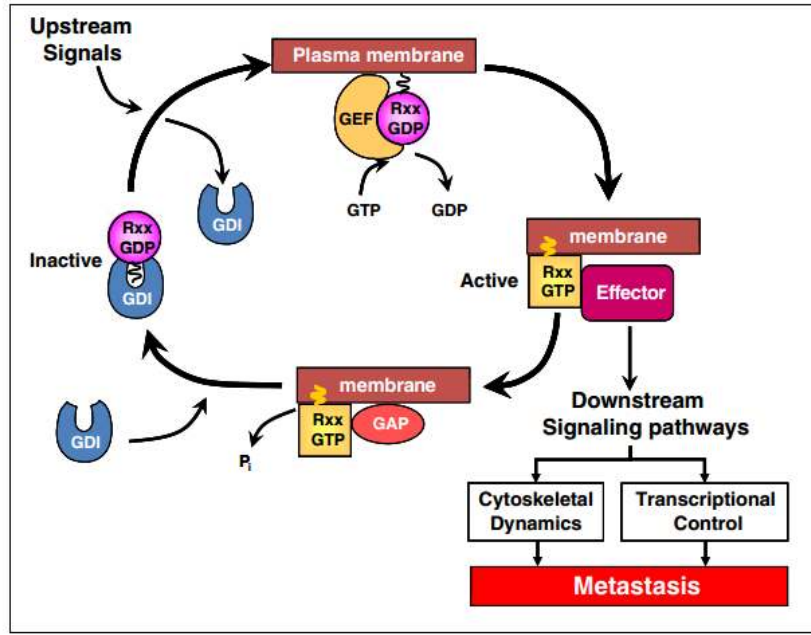
Mezotelin immunojenik bir proteindir. Ho ve ark. mezotelyomalı 69 hastanın 27'sinin (%39) ve EOC'li 24 hastanın 10'unun (%42) serumunda, mezoteline özgü IgG antikor düzeylerinin yüksek olduğunu saptamıştır. Bu antikorlar, immünohistokimyasal olarak güçlü mezotelin ekspresyonu gösteren tümörlere sahip hastalarda daha fazla sıklıkta bulunmaktadır. Bu sonuçlar, mezotelin immünojenisitesinin tümör hücrelerindeki yüksek ekspresyonu ile ilişkili olduğunu ve mezotelinin bir terapötik kanser aşısı olarak kullanılması ile ilgili olarak sürdürülen çabaları desteklemektedir (102). Mezotelinin normal dokularındaki sınırlı ekspresyonu ve çeşitli kanserlerdeki aşırı ekspresyonu, kendisini, kanser tedavisi açısından çekici bir aday haline getirmektedir. Bu tedaviler, hücre yüzeyinde bulunan mezotelin hedefleyen antikorları veya mezoteline karşı bir immün yanıt ortaya çıkaran ajanları içermektedir (89).

2.2.5. LyGDI (Rho GDP Disosiyasyon İnhibitör β):

Rho GDP Disosiyasyon İnhibitör β (RhoGDIβ, LyGDI), RhoGDI2, ARHGDIB ve D4GDI olarak farklı şekillerde isimlendirilen sitozolik bir proteindir. LyGDI; üç üyeden oluşan (RhoGDI1, RhoGDI2 ve RhoGDI3) RhoGDI ailesinde yer almaktadır. Bu proteinler Rho ailesinde yer alan, bir çeşit küçük G proteini olan, GTP bağlayabilen ve hidrolize edebilen GTPaz'lardan (RhoGTPaz), bağlı bulunan guanin nükleotidin (genellikle GDP) ayrışmasını inhibe etme yetenekleri nedeniyle GDI olarak adlandırılmaktadır (103,104). RhoA, Rac1 ve Cdc42; Rho ailesi GTPaz'larının en iyi tanımlanan üyeleridir. RhoGTPaz'lar aktin hücre iskeletinin organizasyonunun düzenlenmesinde ve böylece hücre göçü, hücre adezyonu ve sitokinez gibi çok çeşitli hücreyel olayın kontrolünde merkezi rol oynarlar. Ayrıca hücre siklusu progresyonu, fagositoz, vezikül transportu ve gen transkripsiyonunu içeren birçok hücreyel aktivitede de yer almakta ve tümör gelişimi ve progresyonu için kritik olan süreçlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadırlar (104–106). RhoGTPaz'lar hücre sinyal iletiminde moleküler anahtar işlevi görerek, primer olarak sitozolik olan, inaktif GDP'ye bağlı durum ile genellikle efektör hedeflerin bulunduğu membranla ilişkili olan, aktif GTP'ye bağlı durum arasında değişim göstermektedirler. İnaktif GTPaz'ların aktif forma dönüşümü; bağlı GDP'nin GTP ile değişimini katalize eden *Guanine Nucleotide Exchange Factor (GEF)*'lerinin etki göstermesine gereksinin duymaktadır. GTPaz'ın inaktivasyonu; GTPaz'ı inaktif GDP'ye bağlı duruma dönüştüren *GTPase Activating Protein (GAP)*'lerin etkisiyle, intrinsek olarak yavaş olan GTP hidrolizinin katalizini içermektedir. GEF'ler ve GAP'lar GTPaz aktivitesinin önemli belirleyicileridir. Bununla birlikte üçüncü bir protein sınıfı olan RhoGDI'lar RhoGTPaz'lar ile ilgili ek bir düzenleyici olarak görev yapmaktadırlar (Şekil 6) (104,106).

RhoGDI'lar için 3 farklı biyokimyasal aktivite tanımlanmıştır. Birincisi bağlı GDP'nin RhoGTPaz'dan ayrılmasını önleyerek, GTPazların inaktif formda kalmasını sağlamakta ve GEF'ler tarafından aktivasyonunu engellemektedir. İkincisi GTP'ye bağlı RhoGTPaz ile etkileşerek intrinsek veya GAP'ın uyardığı GTP hidrolizini inhibe etmekte ve *downstream* hedefler ile etkileşimleri önlemektedir. Üçüncüsü RhoGTPaz'ların sitozol ile membranlar arasındaki döngüsünü modüle etmektir. RhoGDI'lar sitozolde RhoGTPaz'lar ile çözünebilir kompleksler oluşturmaktadır. LyGDI RhoA, Rac1, Rac2 ve Cdc42'ye bağlanmaktadır. RhoGTPaz'lar RhoGDI'dan salındığında plazma membranının ikili lipid tabakası içine girebilmekte ve membran ilişkili GEF'ler tarafından aktive edilebilmekte ve

efektör hedefler ile ilişkiyi başlatabilmektedir. RhoGDI ile yeniden birleşme yoluyla ortaya çıkan ve muhtemelen GTP hidrolizi ile tarafından başlatılan membrandan ayrılma süreci, RhoGTPaz'ın sitozole geri dönmesini sağlamakta, membrandaki sinyalin sonlanmasına yardımcı olmaktadır (Şekil 6) (104,107). RhoGDI'ların bu 3 biyokimyasal mekanizma yoluyla RhoGTPazların negatif düzenleyicileri olarak işlev gördükleri kabul edilmektedir (104). Bununla birlikte son kanıtlar RhoGDI'ların pozitif düzenleyiciler olarak da hareket ettiklerini göstermiştir (106).



Şekil 6: RhoGTPaz siklusu (108)

LyGDI'nın özellikle B ve T lenfositleri olmak üzere hematopoetik hücreler tarafından eksprese edildiği saptanmıştır (104,106). Çeşitli tümörlerde de LyGDI ekspresyonunun değiştiği gösterilmiştir. Mesane, akciğer kanserinde ve Hodgkin lenfomada LyGDI ekspresyonunun azaldığı, over ve mide kanserinde ise ekspresyonun arttığı belirlenmiştir. LyGDI'nın kanser ilerlemesinin pozitif (over, mide kanseri) veya negatif (mesane kanseri, Hodgkin lenfoma) düzenleyicisi olarak işlev görebileceği, bu çelişkinin farklı tip kanser hücrelerindeki genetik zeminlerin çeşitliliğini yansıtabileceği gibi LyGDI'nın RhoGTPaz aktivitesinin düzenlenmesindeki ikili rolünden de kaynaklanabileceği belirtilmektedir (107,109).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. ARAÇ ve GEREÇLER

Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Marka	Model
ELISA plak okuyucusu	BioTek	ELx800
ELISA plak yıkayıcısı	BioTek	ELx50
Mikroplate shaker	Labnet	Vortemp56
Saf su cihazı	Millipore	Elix3, Milli Q
Derin dondurucu	Thermo	705
Santrifüj	Hettich	Rotina35
Otomatik pipetler	Thermo	

Tablo 3. Çalışmada kullanılan kitler

Kit Adı	Yöntem	Katalog Numarası	Firma
Human LyGDI ELISA	Enzim İmmunassay	E94330Hu	USCN
Human HE4 EIA	Enzim İmmunassay	404-10	Fujirebio
Human Mezotelin ELISA	Enzim İmmunassay	SK00722-01	Aviscera Bioscience
Human YKL-40 EIA	Enzim İmmunassay	8020	Quidel
CA125	Elektrokemiluminesans İmmunassay	11776223	Roche

3.2. OLGULARIN SEÇİMİ, ÖRNEKLERİN TOPLANMASI ve SAKLANMASI

Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğinde, Mayıs 2011-Mayıs 2013 tarihleri arasında over kitlesi sebebiyle opere edilecek hastalar dahil edildi. Opere edilen olgular postoperatif patoloji sonuçlarına göre malign ve benign grup olarak sınıflandırıldı. Benign grupta 30, malign grupta 31 hasta olmak üzere toplam 61 hasta çalışmada yer aldı. Over kanseri dışında başka bir malignite öyküsü olan hastalar, kemoterapi alan hastalar, *borderline* over tümörleri ve EOC dışındaki diğer histolojik tip over kanserleri çalışmadan dışlandı. Kontrol grubu olarak 32 sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi. Bu bireyler, jinekoloji polikliniğine başvuran, jinekolojik açıdan herhangi bir patoloji düşünülmeyen, ek bir hastalığı olmayan ve çalışmaya katılmayı kabul eden gönüllüler arasından seçildi.

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alındıktan sonra başlatıldı. Çalışmaya katılan tüm hastalar ve kontrol grubundaki bireyler yazılı olarak bilgilendirilip imzalı onam formları alındı (Ek 1).

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğine over kitlesi sebebiyle operasyon için başvuran hastalardan operasyon öncesi rutin tetkikleri için kan örneği alınırken düz tüpe 6-8 mL kan örneği alındı. Kontrol grubuna dahil edilen bireylerden de rutin tetkikleri için kan örneği alınırken düz tüpe 6-8 mL kan örneği alındı. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj sonrası ayrılan serum örnekleri çalışılncaya kadar -80°C'de saklandı.

Hastaların klinikopatolojik verileri hasta dosyalarından ve hastane bilgi işlem sistemlerinden alındı. Klinikopatolojik veriler olarak menapoz etkeni, tümörün histolojik tipi ve evresi değerlendirildi.

Menapoz etkeni, iki farklı evrede ele alındı. En az bir yıldır menstrüel siklusu olmayan hastalar postmenapozal, diğerleri de premanapozal evre olarak değerlendirildi. EOC hastalarında hastalığın evrelendirmesi FIGO evreleme sistemine göre yapıldı.

3.3. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

3.3.1. CA125 Ölçüm Yöntemi

Serum örneklerinde CA125 ölçümü Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda bulunan Roche Cobas e 601 cihazında gerçekleştirildi.

Reaktifler:

Streptavidin kaplı mikropartiküller, 1 şişe, 6,5 mL: Streptavidin kaplı mikropartiküller 0,72 mg/mL, koruyucu madde
Anti-CA125-Ab~biotin, 1 şişe, 9 mL: Biotinli monoklonal Anti-CA125 antikoru (M11, fare) 1mg/L, fosfat tamponu 100 mmol/L, pH 7,4, koruyucu madde
Anti-CA125-Ab~Ru, 1 şişe, 9 mL: Rutenyum kompleksi ile işaretli monoklonal Anti-CA125 antikoru (OC125, fare) 1mg/L, fosfat tamponu 100 mmol/L, pH 7,4, koruyucu madde

Test Prensipleri: İnsan serum ve plazmasında CA125'in ölçümü için kullanılan, sandviç prensibine dayalı, elektrokemiluminesans immünassay teknolojisini kullanan, 2. jenerasyon bir immünassaydır. İlk inkübasyon basamağında örnekte bulunan CA125, CA125'e spesifik biotinli monoklonal antikor ve rutenyum kompleksi ile işaretli monoklonal antikor bir sandviç kompleksi oluşturur. Streptavidin kaplı mikropartiküller eklendikten sonra biotin ve streptavidinin etkileşimi aracılığıyla kompleks solid faza bağlanmış hale gelir. Reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrotun yüzeyinde manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspre edilir. Daha sonra bağlanmamış maddeler yıkama ile uzaklaştırılır. Elektrot üzerine voltaj uygulanması kemiluminesans emisyonuna neden olur ve bu photomultiplier ile ölçülür. Sonuçlar 2 noktalı kalibrasyon ile oluşturulan kalibrasyon eğrisine göre cihaz tarafından otomatik olarak verilmektedir. Ölçüm aralığı 0,600-5000 U/mL, rapor edilebilir aralık 0,600-25.000 U/mL'dir.

3.3.2. HE4 Ölçüm Yöntemi

Serum örneklerinde HE4 düzeyi ölçümü Fujirebio marka EIA kit ile gerçekleştirildi.

Test Prensipleri: HE4 ölçüm prensibi; serumdaki HE4'ü kantitatif olarak ölçen direkt sandviç enzim immünassay tekniğine dayanmaktadır. HE4 enzim immünassay bir solid faz, non-

kompetitif immunassaydır. Standart ve örnekler streptavidin kaplı kuyucuklara HE4'e spesifik biotinlenmiş monoklonal antikor ile birlikte konur ve ilk inkübasyon basamağında standart veya örneklerde bulunan HE4; bu antikor aracılığıyla bağlanır, biotin de kuyucuklardaki streptavidine bağlanır. Yıkama aşamasında bağlanmamış biyolojik komponentler uzaklaştırılır. Daha sonra HE4'e spesifik *Horseradish Peroxidase* (HRP) işaretli monoklonal antikor eklenir. İkinci inkübasyon süresince bu antikor 1. Basamakta yakalanmış olan immobilize HE4'e bağlanır. Bağlanmayan HRP işaretli antikorların uzaklaştırılması amacıyla yapılan yıkama işleminden sonra ortama substrat eklenir. Enzim-substrat reaksiyonu sonucu oluşan rengin yoğunluğu örnekte bulunan HE4 miktarı ile orantılıdır. Reaksiyon ortama asit ilavesi ile sonlandırılır ve 405 nm'de ölçüm yapılır. Hazırlanan 6 adet HE4 standartı ile standart eğrisi çizilir ve örneklerdeki HE4 konsantrasyonu hesaplanır. Ölçüm aralığı 15-900 pM'dır.

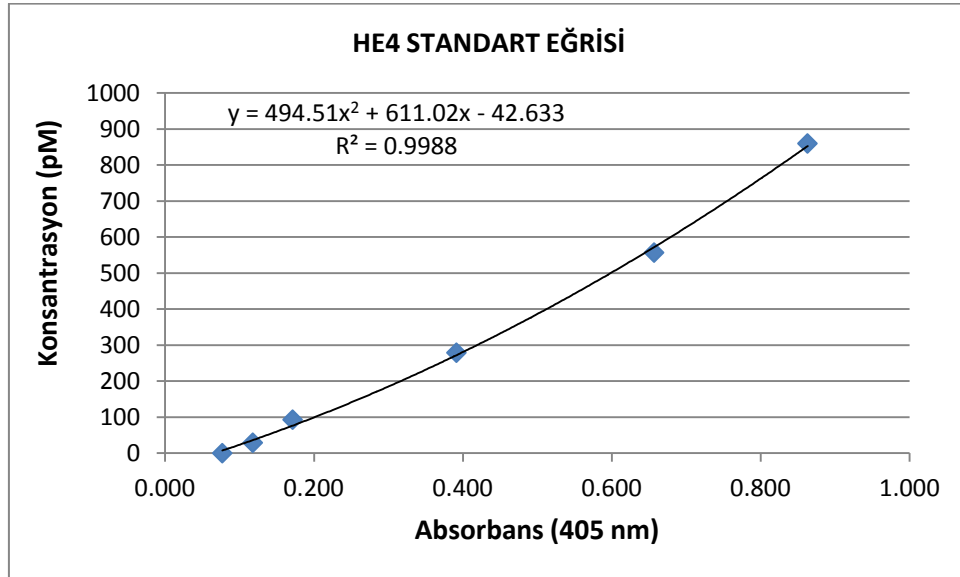
Test İçin Gerekli Malzemeler:

Streptavidin kaplı mikrokuyucuklar içeren 1 adet 96 testlik plak
Standart, 6 adet
Kontrol, 2 adet (Düşük ve yüksek düzey)
Biotinlenmiş monoklonal antikor, 1 adet, 15 mL
HRP işaretli monoklonal antikor (21x), 1 adet, 750 µL
HRP işaretli monoklonal antikor dilüent, 1 adet, 15 mL
TMB substrat solüsyonu, 1 adet, 12 mL
Stop solüsyonu, 1 adet, 15 mL
Yıkama tamponu (25x), 1 adet, 50 mL

Analiz Aşamaları:

- Analize başlamadan önce kit içinde bulunan tüm reaktifler ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.
- 1 adet standart kullanıma hazır (0 pM). Diğer 5 adet liyofilize standart 1000 µL distile su ile çözüldü. Standartların iyice çözünmesi için 15 dakika beklendi. Böylece 6 farklı konsantrasyonda standart oluşturuldu (0; 29; 93; 279; 557; 860 pM).
- Plak yıkama tamponu ile 1 kez yıkandı.

- Hazırlanan 6 farklı konsantrasyonda standart, kontroller ve örneklerden 25'er µL kuyucuklara kondu. Standartlar ve kontroller dublike olarak çalışıldı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL HE4'e özgü biyotinlenmiş monoklonal antikor eklendi.
- 1 saat boyunca oda ısısında ve plak çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda plak 3 kez 350'şer µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL HRP işaretli HE4'e özgü monoklonal antikor eklendi.
- 1 saat boyunca oda ısısında ve plak çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda plak 6 kez 350'şer µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL Tetrametilbenzidin (TMB) substrat solüsyonu eklendi.
- 30 dakika boyunca oda ısısında, karanlık ortamda ve plak çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 100 µL sonlandırma solüsyonu eklendi.
- Tüm kuyucuklarda oluşan rengin absorbansı 15 dakika içinde 405 nm'de ölçüldü.
- Serum HE4 konsantrasyonu standart grafiğinden yararlanılarak hesaplandı. HE4 düzeyi 900pM'in üzerinde olan 7 malign hastanın örnekleri takip eden gün ¼ dilüsyon ile çalışılarak hesaplandı.



Şekil 7. Serum HE4 standart eğrisi

3.3.3. YKL-40 Ölçüm Yöntemi

Serum örneklerinde YKL-40 düzeyi ölçümü Quidel marka EIA kit ile gerçekleştirildi.

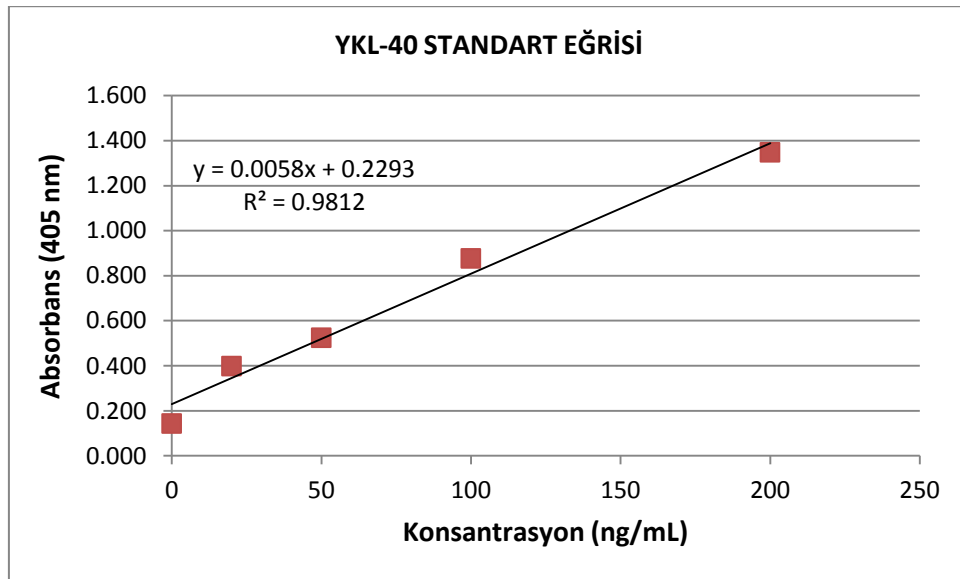
Test Prensipleri: Standart ve örnekler avidin kaplı kuyucuklara YKL-40'a spesifik biotinlenmiş monoklonal antikor ile birlikte konur. İlk inkübasyon basamağında standart veya örneklerde bulunan YKL-40; bu antikor tarafından bağlanır, biotin de kuyucuklardaki avidine bağlanır. Yıkama aşamasında bağlanmamış biyolojik komponentler uzaklaştırılır. Daha sonra YKL-40'a spesifik alkalen fosfataz konjuge poliklonal antikor eklenir. İkinci inkübasyon süresince bu antikor 1. Basamakta yakalanmış olan immobilize YKL-40'a bağlanır. Bağlanmayan alkalen fosfataz konjuge antikorların uzaklaştırılması amacıyla yapılan yıkama işleminden sonra ortama substrat eklenir. Enzim-substrat reaksiyonu sonucu oluşan rengin yoğunluğu örnekte bulunan YKL-40 miktarı ile orantılıdır. Reaksiyon ortamına asit ilavesi ile sonlandırılır ve 405 nm'de ölçüm yapılır. 6 adet YKL-40 standartı ile standart eğrisi çizilir ve örneklerdeki YKL-40 konsantrasyonu hesaplanır. Ölçüm aralığı 5,4-300 ng/mL'dir.

Test İçin Gerekli Malzemeler:

Streptavidin kaplı mikrokuyucuklar içeren 1 adet 96 testlik plak
Standart, 6 adet
Kontrol, 2 adet (Düşük ve yüksek düzey)
Yakalama solüsyonu (Biotin konjuge monoklonal antikor), 1 adet, 12 mL
Enzim konjugat (Alkalen fosfataz işaretli poliklonal antikor), 3 adet
Çözgen tamponu, 1 adet, 27 mL
Substrat tableti, 3 adet, 20 mg
Substrat tamponu, 3 adet, 10 mL
Stop solüsyonu, 1 adet, 15 mL
Yıkama tamponu (10x), 1 adet, 55 mL

Analiz Aşamaları:

- Analize başlamadan önce kit içinde bulunan tüm reaktifler ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.
- 6 farklı konsantrasyonda standart (0; 20; 50; 100; 200; 300 ng/mL), kontroller ve örneklerden 20'şer µL kuyucuklara kondu. Standartlar ve kontroller dublike olarak çalışıldı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL YKL-40'a özgü biyotin konjuge monoklonal antikor eklendi.
- 1 saat boyunca oda ısısında inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda plak 4 kez 300'er µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL YKL-40'a özgü alkalen fosfataz işaretli poliklonal antikor eklendi.
- 1 saat boyunca oda ısısında inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda plak 4 kez 300'er µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL substrat solüsyonu eklendi.
- 60 dakika boyunca oda ısısında inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 100 µL sonlandırma solüsyonu eklendi.
- Tüm kuyucuklarda oluşan rengin absorbansı 15 dakika içinde 405 nm'de ölçüldü.
- Serum YKL-40 konsantrasyonu standart grafiğinden yararlanılarak hesaplandı.



Şekil 8. Serum YKL-40 standart eğrisi

3.3.4. Mezotelin Ölçüm Yöntemi

Serum örneklerinde mezotelin düzeyi ölçümü Aviscera Bioscience marka ELISA kiti ile gerçekleştirildi.

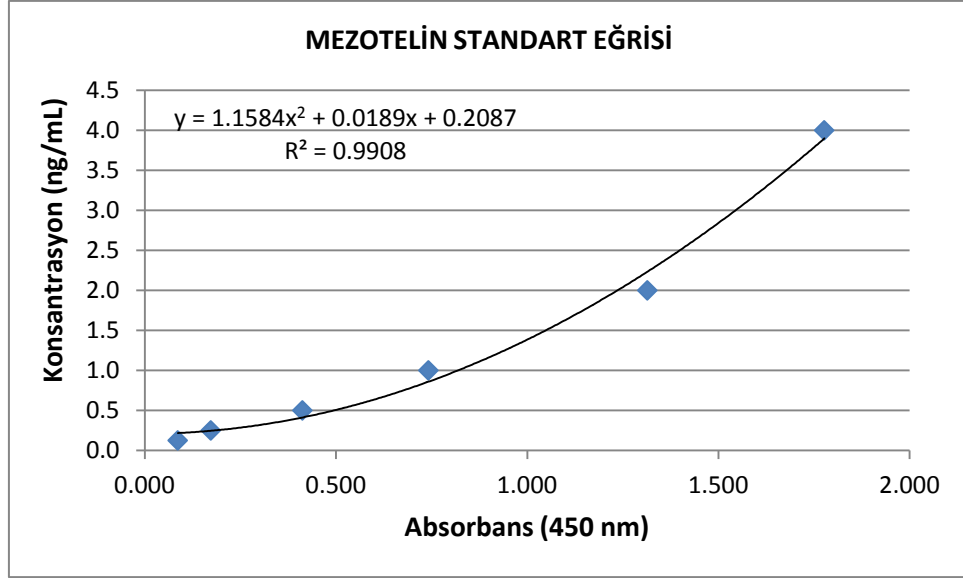
Test Prensibi: Mezotelin ölçüm prensibi; hücre kültür süpenatanları, serum ve EDTA'lı plazmadaki human mezotelinini kantitatif olarak ölçen sandviç enzim immünassay tekniğine dayanmaktadır. İlk inkübasyon basamağında standart veya örneklerde bulunan mezotelin, önceden kuyucuklara kaplanmış mezoteline özgü antikorlar tarafından tutulur. Yıkama aşamasında bağlanmamış biyolojik komponentler uzaklaştırılır. Daha sonra mezoteline spesifik biotinlenmiş antikor eklenir. İkinci inkübasyon süresince bu antikor 1. basamakta yakalanmış olan immobilize mezoteline bağlanır. Bağlanmayan antikorların uzaklaştırılması amacıyla yapılan yıkama işleminden sonra Streptavidin-HRP konjugat ilave edilir. Bağlanmayan fazla enzim yıkama ile uzaklaştırıldıktan sonra ortama substrat eklenir. Enzim-substrat reaksiyonu sonucu oluşan rengin yoğunluğu örnekte bulunan mezotelin miktarı ile orantılıdır. Reaksiyon ortama asit ilavesi ile sonlandırılır ve 450 nm'de ölçüm yapılır. Hazırlanan 7 adet mezotelin standart dilüsyonlarından standart eğrisi çizilir ve örneklerdeki mezotelin konsantrasyonu hesaplanır. Ölçüm aralığı 0,125-8 ng/mL'dir.

Test İçin Gerekli Malzemeler:

Mezoteline karşı saflaştırılmış IgG ile kaplı mikrokuyucuklar içeren 1 adet 96 testlik plak
Standart, 1 adet
Deteksiyon antikor (Biotinlenmiş antikor) (10x), 1 adet
Pozitif kontrol, 1 adet
Streptavidin-HRP konjugat (300x), 1 adet, 40 µL
Dilüsyon tamponu, 1 adet, 60 mL
TMB substrat solüsyonu, 1 adet, 11 mL
Stop solüsyonu, 1 adet, 11 mL
Yıkama tamponu (10x), 1 adet, 50 mL

Analiz Aşamaları:

- Analize başlamadan önce kit içinde bulunan tüm reaktifler ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.
- Liyofilize standart 1000 µL dilüsyon tamponu ile çözülerek 8 ng/mL'lik stok solüsyon hazırlandı. Standartın iyice çözünmesi için 15 dakika beklendi. 8 ng/mL'lik stok solüsyonundan 250 µL alınarak, daha önceden içerisine 250 µL dilüsyon tamponu konmuş 6 eppendorf tüpte 1:2 seri dilüsyonlar yapıldı. Böylece 7 farklı konsantrasyonda standart oluşturuldu (8; 4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125 ng/mL).
- Örnekler 1:8 oranında dilüsyon tamponu ile dilüe edildi.
- Hazırlanan 7 farklı konsantrasyonda standart, blank (dilüsyon tamponu kullanıldı), kontrol ve dilüe edilmiş örneklerden 100'er µL kuyucuklara kondu. Standartlar, blank ve kontrol dublike olarak çalışıldı.
- 2 saat boyunca oda ısısında ve plak çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyon sonunda plak 4 kez 300'er µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL mezoteline özgü biyotinlenmiş antikor eklendi.
- 2 saat boyunca oda ısısında ve plak çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyon sonunda plak 4 kez 300'er µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL Streptavidin-HRP konjugat eklendi.
- 1 saat boyunca oda ısısında, karanlık ortamda ve plak çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyon sonunda plak 4 kez 300'er µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL TMB substrat solüsyonu eklendi.
- 2-5 dakika boyunca oda ısısında, karanlık ortamda ve plak çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 100 µL sonlandırma solüsyonu eklendi.
- Tüm kuyucuklarda oluşan rengin absorbansı 15 dakika içinde 450 nm'de ölçüldü.
- Serum mezotelin konsantrasyonu standart grafiğinden yararlanılarak hesaplandı. Elde edilen konsantrasyonlar dilüsyon oranı ile çarpıldı.



Şekil 9. Serum Mezotelin standart eğrisi

3.3.5. LyGDI Ölçüm Yöntemi

Serum örneklerinde LyGDI düzeyi ölçümü USCN marka ELISA kiti ile gerçekleştirildi.

Test Prensi: LyGDI ölçüm prensibi; insan doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılardaki LyGDI'yi kantitatif olarak ölçen sandviç enzim immünassay tekniğine dayanmaktadır. İlk inkübasyon basamağında standart veya örneklerde bulunan LyGDI, önceden kuyucuklara kaplanmış LyGDI'ya özgü antikorlar tarafından tutulur. Bağlanmamış biyolojik komponentler uzaklaştırıldıktan sonra LyGDI'ya spesifik biotin konjuge antikor eklenir. İkinci inkübasyon süresince bu antikor 1. basamakta yakalanmış olan immobilize LyGDI'ya bağlanır. Bağlanmayan antikorların uzaklaştırılması amacıyla yapılan yıkama işleminden sonra Avidin-HRP ilave edilir. Üçüncü inkübasyon süresince bu enzim biotinlenmiş antikora bağlanır. Bağlanmayan fazla enzim yıkama ile uzaklaştırıldıktan sonra ortama substrat eklenir. Enzim-substrat reaksiyonu sonucu oluşan rengin yoğunluğu örnekte bulunan LyGDI miktarı ile orantılıdır. Reaksiyon ortama asit ilavesi ile sonlandırılır ve 450 nm'de ölçüm yapılır. Hazırlanan 7 adet LyGDI standart dilüsyonlarından standart eğrisi çizilir ve örneklerdeki LyGDI konsantrasyonu hesaplanır. Ölçüm aralığı 0,625-40 ng/mL'dir.

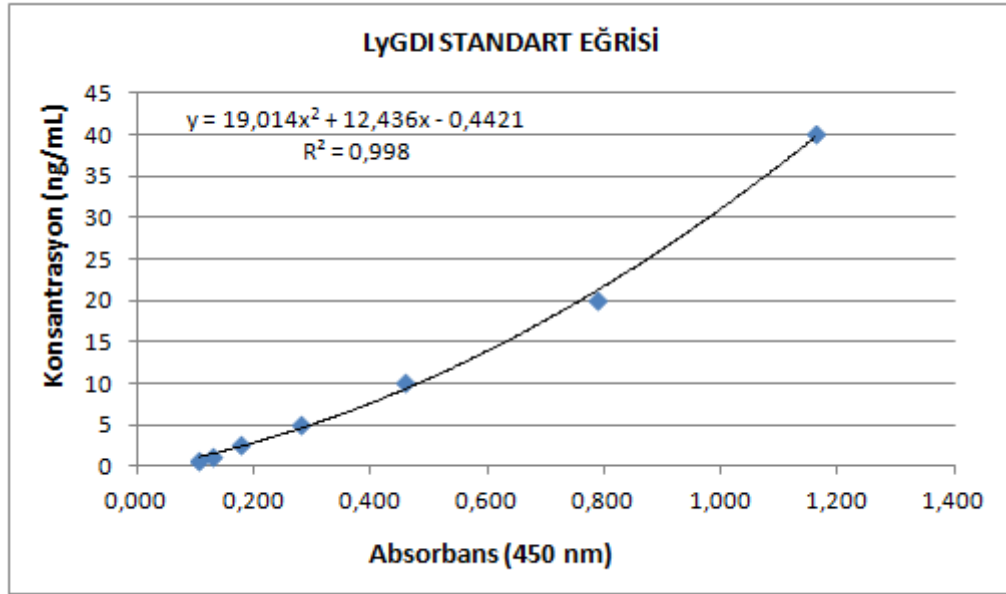
Test İçin Gerekli Malzemeler:

LyGDI'ya spesifik bir antikorla kaplı mikrokuyucuklar içeren 1 adet 96 testlik plak
Standart, 2 adet
Standart dilüent, 1 adet, 20 mL
Deteksiyon reaktifi A (Biotin konjuge antikor, 100x)), 1 adet, 120 µL
Test dilüenti A (2x), 1 adet, 6 mL
Deteksiyon reaktifi B (Avidin-HRP, 100x), 1 adet, 120 µL
Test dilüenti B (2x), 1 adet, 6 mL
TMB substrat solüsyonu, 1 adet, 9 mL
Stop solüsyonu, 1 adet, 6 mL
Yıkama tamponu (30x), 1 adet, 20 mL

Analiz Aşamaları:

- Analize başlamadan önce kit içinde bulunan tüm reaktifler ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.
- Liyofilize standart 1000 µL standart dilüent ile çözülerek 40 ng/mL'lik stok solüsyon hazırlandı. Standartın iyice çözünmesi için 10 dakika beklendi. 40 ng/mL'lik stok solüsyonundan 500 µL alınarak, daha önceden içerisine 500 µL standart dilüent konmuş 6 eppendorf tüpte 1:2 seri dilüsyonlar yapıldı. Böylece 7 farklı konsantrasyonda standart oluşturuldu (40; 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625 ng/mL).
- Hazırlanan 7 farklı konsantrasyonda standart, blank (standart dilüenti kullanıldı) ve örnekler kuyucuklara 100'er µL kondu. Standartlar ve blank dublike olarak çalışıldı.
- 2 saat boyunca 37°C'de inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki likit uzaklaştırıldı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL LyGDI'ya özgü biyotin konjuge antikor eklendi
- 1 saat boyunca 37°C'de inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda plak 3 kez 350'şer µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µL Avidin-HRP eklendi.
- 30 dakika boyunca 37°C'de inkübasyona bırakıldı.

- İnkübasyon sonunda plak 5 kez 350'şer µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 90 µL TMB substrat solüsyonu eklendi.
- 15-25 dakika boyunca 37°C'de, karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 50 µL sonlandırma solüsyonu eklendi.
- Tüm kuyucuklarda oluşan rengin absorbansı 450 nm'de ölçüldü.
- Serum LyGDI konsantrasyonu standart grafiğinden yararlanılarak hesaplandı.



Şekil 10. Serum LyGDI standart eğrisi

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

İstatistiksel değerlendirmeler için “SPSS for Windows 15.0” ve “MedCalc” programları kullanıldı.

- **Normal Dağılıma Uygunluk ve Değişkenlerin Karşılaştırması:** Yaş değişkeni ve ölçümle belirlenen değişkenler açısından grupların normal dağılıma uygunluğu “Kolmogorov Smirnov” testi ile değerlendirildi. Yaş değişkeni açısından verilerin normal dağılım göstermesi sebebiyle karşılaştırma parametrik “One-Way ANOVA” testi ile yapıldı. Bu test ile saptanan anlamlı farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını tespit etmek için “Tukey” Post-Hoc testi kullanıldı. Ölçümle belirlenen değişkenler açısından

verilerin normal dağılım göstermemesi sebebiyle değişkenlerin karşılaştırmasında nonparametrik “Kruskal Wallis” testi kullanıldı. Kruskal Wallis analizi ile anlamlı farklılık görülen parametreler için ikili grup analizinde “Mann Whitney U” testi kullanıldı.

- **Menapoz Etkenine Göre Karşılaştırma:** Menapoz etkeni açısından grupların karşılaştırmasında “Ki kare” testi kullanıldı.
- **Belirteç Tanısal Performans Analizi:** Belirteçlerin tanısal performansını değerlendirmek için “*Receiver operator characteristic (ROC)*” eğrileri çizildi, %95 güven aralığı ile eğri altında kalan alan (ROC-AUC) hesaplandı, belirlenen eşik değerleri için duyarlılık, özgüllük, “*Positive Predictive Value (PPV)*” ve “*Negative Predictive Value (NPV)*” hesaplandı.
- **Belirteç ve Belirteç Kombinasyonlarının Benign/Malign Hastaları Ayırım Gücünün Analizi:** Belirteçlerin ve belirteç kombinasyonlarının benign ve malign hastaları ayırma gücü, ikili bir bağımlı değişken ile (benign/malign) bağımsız değişkenler (menapoz etkeni/ belirteç düzeyi) arasındaki ilişkiyi tahmin eden lojistik regresyon analizi ile incelendi. Her bir lojistik regresyon modeli ile ilgili olarak, modelde yer alan her bir bağımsız değişken için bir katsayı ile birlikte, bir model sabiti saptandı. Katsayı(lar), değişken(ler) ve model sabiti kullanılarak, her bir lojistik regresyon modeli ile, her bir hasta için tahmini bir olasılık hesaplandı. Her bir belirteç ve belirteç kombinasyonları için lojistik regresyon modelleri üzerinden ROC eğrileri oluşturularak ROC-AUC değerleri hesaplandı. Tüm belirteç ve belirteç kombinasyonları için; seçilen %80, %90 ve %95 özgüllük değerlerindeki duyarlılıklar bildirildi.
- **Belirteç ve Belirteç Kombinasyonlarının ROC-AUC Değerlerinin Karşılaştırılması:** ROC-AUC değerleri DeLong matematiksel model (110) kullanılarak karşılaştırıldı.
- Tüm testler için anlamlılık düzeyi $p < 0,005$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. ÇALIŞMA GRUBUNU TANIMLAYICI BULGULAR

Çalışma grubu 32 sağlıklı birey (%34,4), 30 benign over hastalığı olan birey (%32,3) ve 31 EOC tanısı alan birey (%33,3) olmak üzere toplam 93 bireyden oluşmaktadır.

4.1.1. Yaş

Çalışma gruplarının yaş özellikleri Tablo 4'te verilmiştir. One-Way ANOVA testi ile yapılan karşılaştırmada; gruplar arasında anlamlı farklılık olduğu saptandı ($p<0,001$). Anlamlı farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu saptamak için “Tukey” Post-Hoc testi uygulandı. Sağlıklı ve malign gruplar arasında anlamlı fark olmadığı ($p=0,999$), benign ve malign grup ($p=0,001$) ile benign ve sağlıklı grup ($p<0,001$) arasında anlamlı fark olduğu saptandı. Benign grup sağlıklı ve malign gruba göre daha genç bireylerden oluşmaktadır.

Tablo 4: Çalışma gruplarının yaş özellikleri

Grup	n	Ortalama$\pm$SS	Ortanca	Minimum	Maksimum
Sağlıklı	32	53,4 $\pm$ 9,3	53	28	69
Benign	30	41,4 $\pm$ 15,9	37	20	80
Malign	31	53,3 $\pm$ 9,3	53	28	69

4.1.2. Menapoz Etkeni

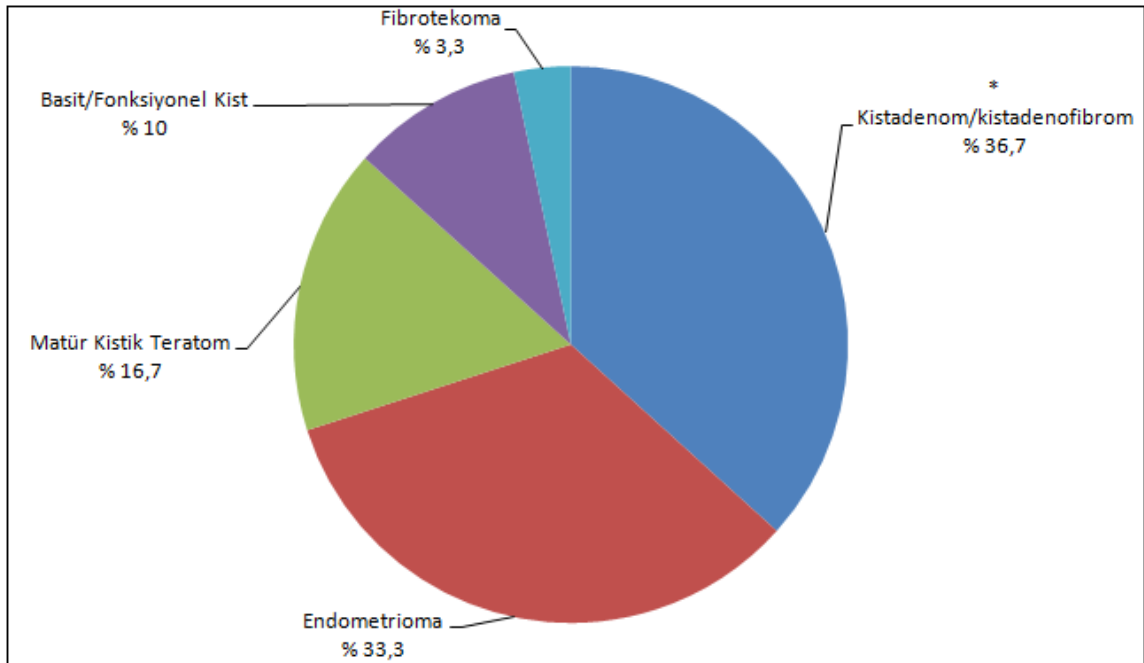
Menapoz etkenine göre değerlendirildiğinde 93 bireyin 42'si (%45,2) premenapozal dönemde, 51'i (%54,8) postmenapozal dönemde idi. Çalışma gruplarının menopoz etkeni özellikleri Tablo 5'te verilmiştir. Benign gruptaki bireylerin %80'i, sağlıklı gruptaki bireylerin %31,3'ü ve malign gruptaki bireylerin %25,8'i premenapozal dönemde idi. Benign grupta premenapozal dönemdeki birey oranı sağlıklı ve malign gruplardan anlamlı yüksek bulundu (p değerleri $<0,001$). Sağlıklı ve malign grup arasında ise menopoz etkeni açısından anlamlı fark yoktu ($p= 0,633$).

Tablo 5: Çalışma gruplarında menapoz etkeninin karşılaştırılması

	Menapoz Etkeni			
	Premenapoz		Postmenapoz	
	Sayı	%	Sayı	%
Sağlıklı	10	31,3	22	68,7
Benign	24	80,0	6	20,0
Malign	8	25,8	23	74,2
Toplam	42	45,2	51	54,8

4.1.3. Patolojik Tanı

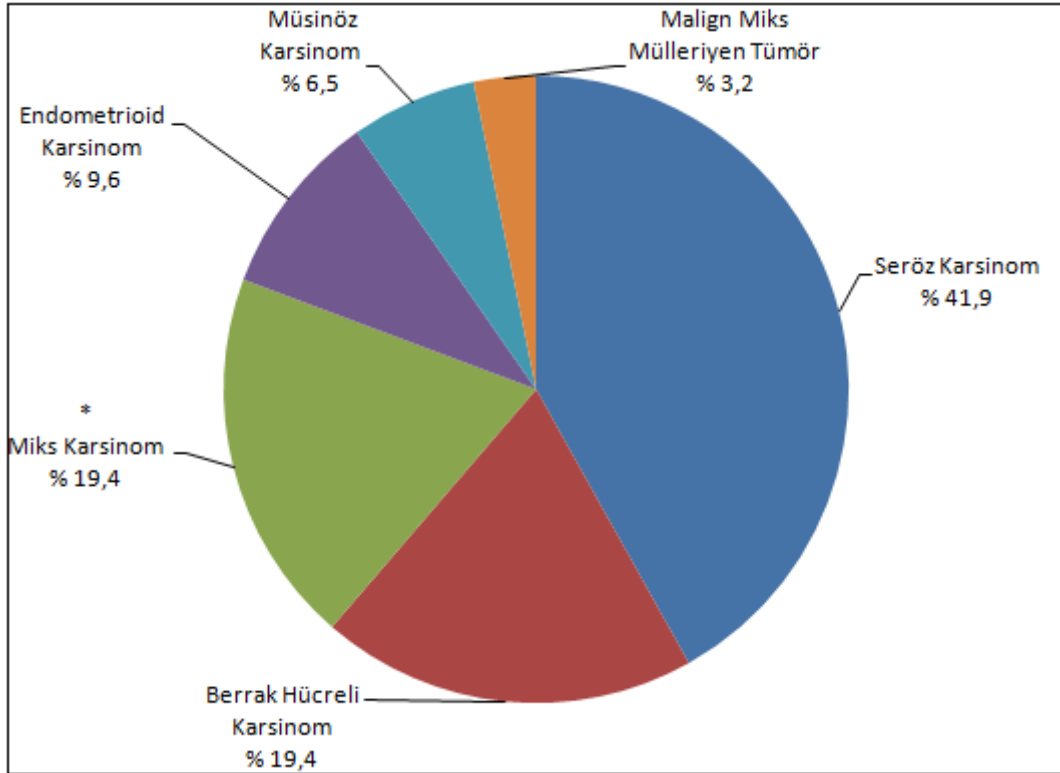
Benign grupta yer alan 30 hastanın 11'i kistadenom/kistadenofibrom, 10'u endometrioma, 5'i matür kistik teratom, 3'ü basit/fonksiyonel kist ve 1'i fibrotekoma idi. Benign over hastalıklarının histolojik tipe göre dağılımı Şekil 11'de yer almaktadır. En yaygın benign hastalık kistadenom/kistadenofibromdu (%36,7). Bunu %33,3'lük oranla endometrioma takip etmekteydi.



*Bu grupta 4 müsinöz ve 7 seröz kistadenom/kistadenofibrom yer almaktadır.

Şekil 11: Benign over hastalıklarının histolojik tiplere göre dağılımı

Malign grupta yer alan 31 hastanın 13'ü seröz karsinom, 6'sı berrak hücreli karsinom, 6'sı miks karsinom, 3'ü endometrioid karsinom, 2'si müsinöz karsinom ve 1'i malign miks mülleriyeen tümördü. Malign hastalıkların histolojik tipe göre dağılımı Şekil 12'de yer almaktadır. En yaygın histolojik tip seröz karsinomdu (%41,9). Bunu %19,4'lük oranlarla berrak hücreli karsinom ve miks karsinom takip etmekteydi.



* Bu tümörlerden 3'ü seröz+endometrioid karsinom, 1'i berrak hücreli+endometrioid karsinom, 1'i berrak hücreli+seröz karsinom ve 1'i berrak hücreli+endometrioid+seröz karsinomdur.

Şekil 12: EOC'nin histolojik tiplere göre dağılımı

4.2. SERUM LyGDI, MEZOTELİN, YKL-40, HE4 ve CA125 DÜZEYLERİ

4.2.1. Sağlıklı, Benign ve Malign Gruplarda Belirteç Düzeylerinin Karşılaştırılması

Sağlıklı, benign ve malign olgu gruplarına ait serumlarda ölçülen LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4, CA125 için hesaplanan değerler ve istatistiksel anlamlılığı gösteren p değerleri Tablo 6’da ve Şekil 13’te yer almaktadır. Kruskal Wallis testi ile yapılan karşılaştırmada; belirteçlerin tümünün gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdiği saptandı. Her bir belirteç için anlamlı farklılığın hangi gruplar arasındaki farklılıktan kaynaklandığını saptamak amacıyla Mann Whitney U testi uygulandı.

Sağlıklı ve benign gruplar karşılaştırıldığında; HE4 ve CA125 değerleri benign grupta anlamlı yüksekti (p değerleri sırasıyla 0,006 ve 0,002). LyGDI, Mezotelin ve YKL-40 değerleri açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı (p değerleri sırasıyla 0,394; 0,746 ve 0,667).

Sağlıklı ve malign gruplar karşılaştırıldığında; Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 değerleri malign grupta anlamlı yüksekti (p değerleri <0,001). LyGDI değeri ise malign grupta anlamlı düşüktü (p= 0,031).

Benign ve malign gruplar karşılaştırıldığında; Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 değerleri malign grupta anlamlı yüksekti (p değerleri sırasıyla 0,001; 0,002; <0,001 ve <0,001). LyGDI değeri ise malign grupta anlamlı düşüktü (p= 0,029).

Sonuç olarak; elde edilen veriler tüm belirteçlerin sağlıklı-malign ve benign-malign grupların ayırımını yapmada başarılı olabileceğini; sağlıklı grup ile benign grup arasında yapılan karşılaştırmada LyGDI, Mezotelin ve YKL-40’ın anlamlı farklılık göstermemesinin avantaj sağlayabileceğini gösterdi.

Tablo 6: Sağlıklı, benign ve malign gruplarda LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 düzeylerinin karşılaştırılması

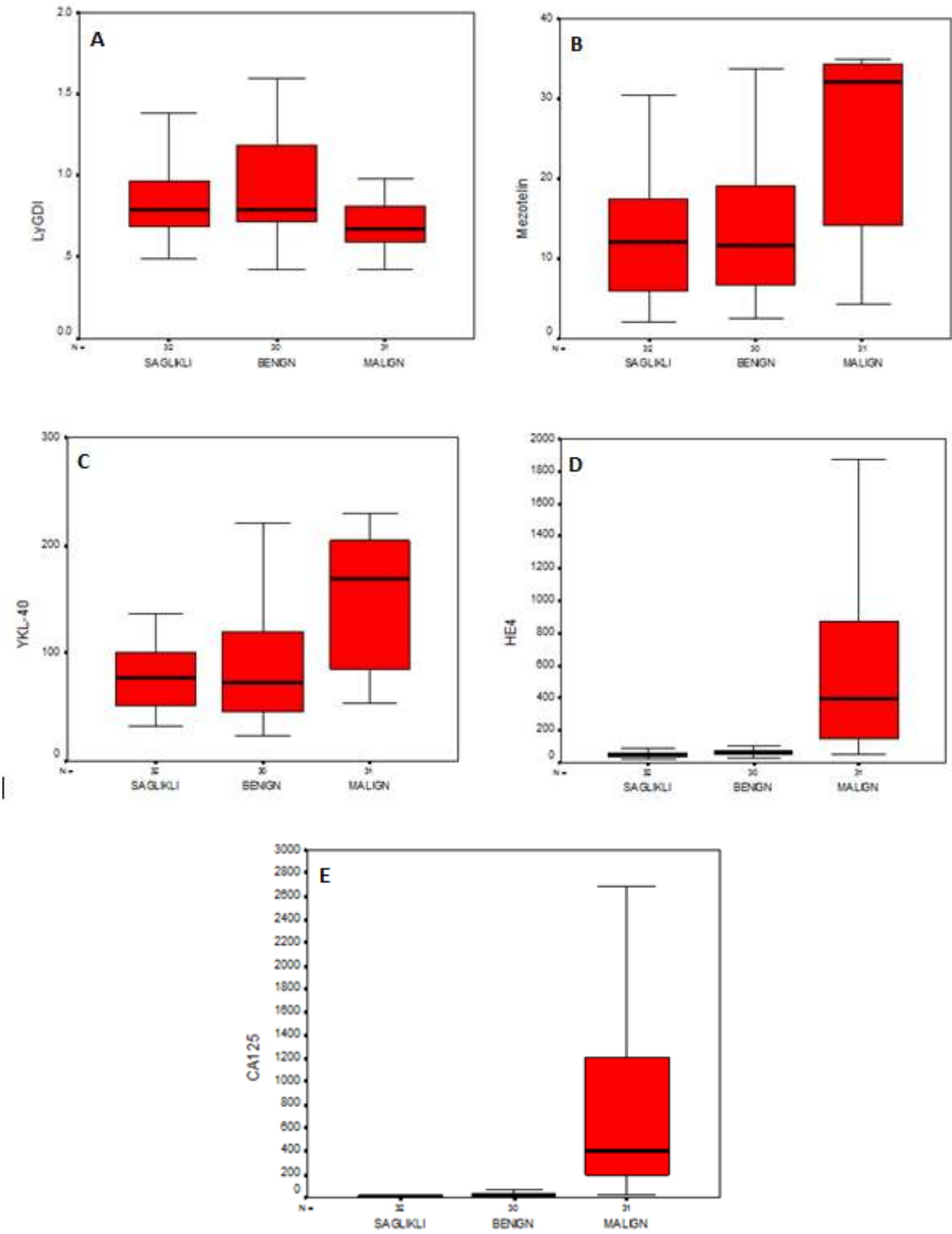
	Sağlıklı (n=32)			Benign (n=30)			Malign (n=31)			p ¹
	Ort±SH	Ortanca	Min-Maks	Ort±SH	Ortanca	Min-Maks	Ort±SH	Ortanca	Min-Maks	
LyGDI (ng/mL)	0,83±0,03	0,79	0,49-1,39	1,07±0,12	0,79	0,42-3,40	0,85±0,10	0,67^{3,4}	0,42-2,93	0,035
Mezotelin (ng/mL)	13,27±1,45	12,12	2,16-30,35	14,54±1,88	11,60	2,60-33,70	25,24±2,03	32,17^{3,4}	4,38-34,85	<0,001
YKL-40 (ng/mL)	79,03±5,26	77,31	32,65-137,21	97,79±11,53	73,17	23,34-219,95	149,62±11,21	168,35^{3,4}	53,12-229,43	<0,001
HE4 (pM)	49,94±2,46	48,86	27,69-86,54	65,91±4,91	61,29²	31,28-160,15	880,55±213,12	396,49^{3,4}	56,36-5342,97	<0,001
CA125 (U/mL)	14,16±0,91	12,81	7,37-25,57	63,85±28,69	20,74²	6,53-869,70	898,13±189,46	400,10^{3,4}	27,81-4174	<0,001

¹: Kruskal Wallis testine göre anlamlılık düzeyi.

²: Sağlıklı ve benign grup arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)

³: Sağlıklı ve malign grup arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)

⁴: Benign ve malign grup arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)



Şekil 13: Sağlıklı, benign ve malign gruplarda LyGDI (A), Mezotelin (B), YKL-40 (C), HE4 (D) ve CA125 (E) düzeylerinin karşılaştırılması

4.2.2. Erken, Geç Evre Tümörlerdeki Belirteç Düzeyleri ve Benign Grup ile Karşılaştırılması

Malign grupta yer alan 31 hastanın 7'si (%22,6) evre I, 4'ü (%12,9) evre II, 13'ü (%41,9) evre III, 7'si (%22,6) evre IV olarak değerlendirildi. Patolojik evre, erken evre (evre I-II) ve geç evre (evre III-IV) olarak kategorize edildi. Belirteçlerin farklı kanser evrelerinde ayırım yapabilme özelliğine sahip olup olmadıklarını belirlemek amacıyla benign gruptaki bireylerden elde edilen örnekler ile erken ve geç evre hastalığa sahip bireylerden elde edilen örnekler arasında karşılaştırma yapıldı. Benign, erken ve geç evre olgu gruplarına ait serumlarda ölçülen LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4, CA125 için hesaplanan değerler ve istatistiksel anlamlılığı gösteren p değerleri Tablo 7'de ve Şekil 14'te yer almaktadır.

Kruskal Wallis testi ile yapılan karşılaştırmada; LyGDI dışındaki belirteçlerin tümünün gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdiği saptandı. Bu nedenle LyGDI için daha ileri analiz yapılmadı. Diğer belirteçler için anlamlı farklılığın hangi gruplar arasındaki farklılıktan kaynaklandığını saptamak amacıyla Mann Whitney U testi uygulandı.

Erken evre ile benign grup karşılaştırıldığında; HE4 ve CA125 değerleri erken evre grubunda anlamlı yüksekti (p değerleri <0,001). YKL-40 ve Mezotelin için bu gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p değerleri sırasıyla 0,185 ve 0,537).

Geç evre ile benign grup karşılaştırıldığında; tüm belirteçlerin geç evre grubunda anlamlı yüksek olduğu saptandı (p değerleri Mezotelin, HE4 ve CA125 için <0,001; YKL-40 için 0,001).

Erken ve geç evre gruplar karşılaştırıldığında ise; Mezotelin, HE4 ve CA125'in geç evre grubunda anlamlı yüksek olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla 0,005; 0,022 ve 0,048), YKL-40 açısından bu gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu (p=0,099).

Sonuç olarak; elde edilen veriler Mezotelin ve YKL-40'ın geç evre hastalığının benign gruptan ayırımını yapabileceğini, HE4, CA125'in ise hastalığın evresi ne olursa olsun ayırım gücüne sahip olabileceğini gösterdi.

Tablo 7: Benign, erken evre ve geç evre gruplarda LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 düzeylerinin karşılaştırılması

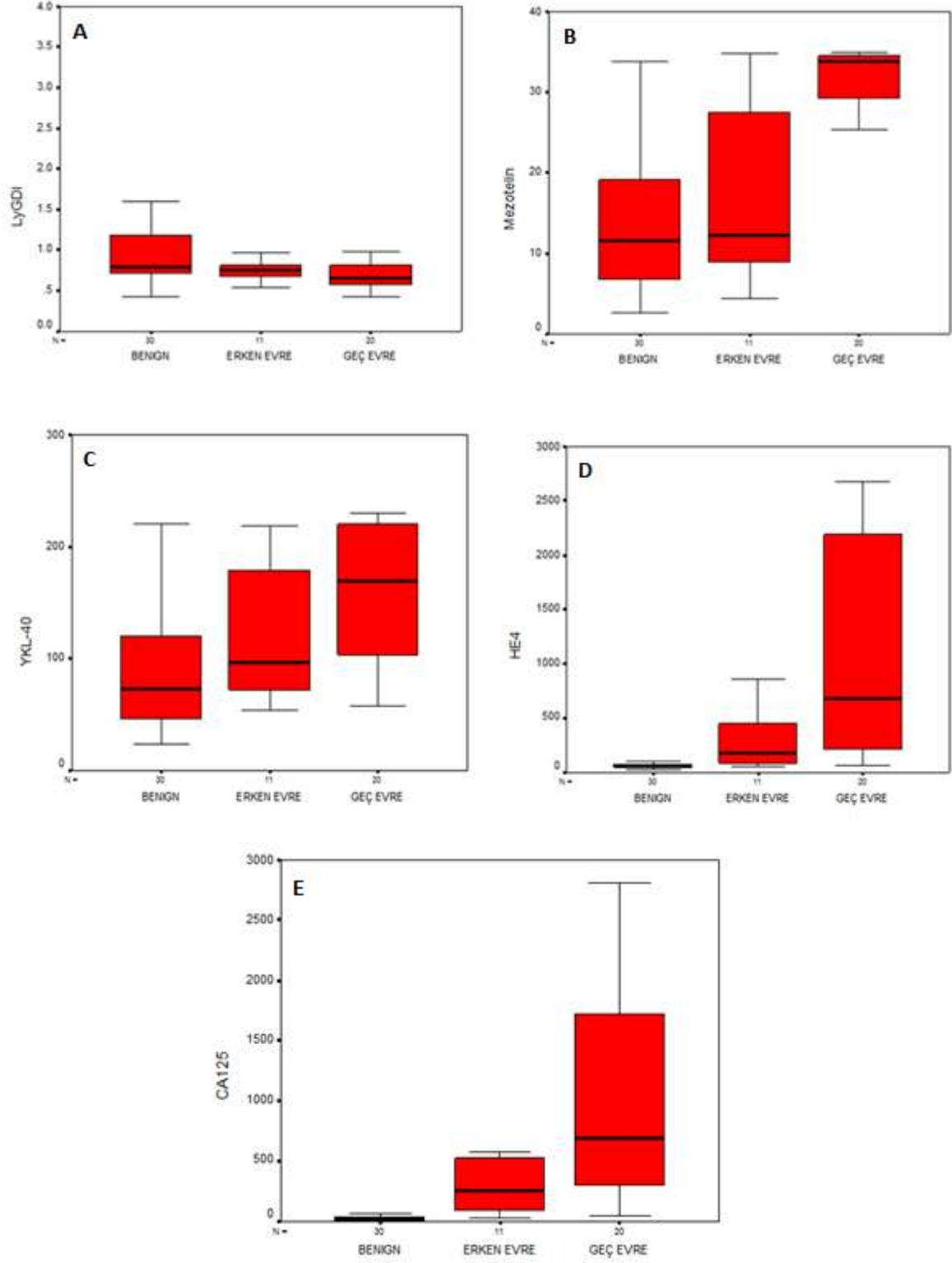
	Benign (n=30)			Erken Evre (n=11)			Geç Evre (n=20)			p ¹
	Ort±SH	Ortanca	Min-Maks	Ort±SH	Ortanca	Min-Maks	Ort±SH	Ortanca	Min-Maks	
LyGDI (ng/mL)	1,07±0,12	0,79	0,42-3,40	0,74±0,03	0,75	0,54-0,96	0,91±0,15	0,65	0,42-2,93	0,067
Mezotelin (ng/mL)	14,54±1,88	11,60	2,60-33,70	17,04±3,23	12,24	4,38-34,74	29,75±2,01	33,70^{3,4}	4,54-34,85	<0,001
YKL-40 (ng/mL)	97,79±11,53	73,17	23,34-219,95	126,30±19,18	96,44	53,12-218,26	162,44±13,30	169,44³	57,18-229,43	0,003
HE4 (pM)	65,91±4,91	61,29	31,28-160,15	288,6±81,19	174,36²	56,36-858,84	1206,13±305,82	674,97^{3,4}	62,43-5342,97	<0,001
CA125 (U/mL)	63,85±28,69	20,74	6,53-869,70	498,92±242,56	252,70²	27,81-2846,0	1117,70±252,32	693,20^{3,4}	44,34-4174,0	<0,001

¹: Kruskal Wallis testine göre anlamlılık düzeyi.

²: Erken evre ve benign grup arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)

³: Geç evre ve benign grup arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)

⁴: Erken ve geç evre grupları arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)



Şekil 14: Benign, erken evre ve geç evre gruplarda LyGDI (A), Mezotelin (B), YKL-40 (C), HE4 (D) ve CA125 (E) düzeylerinin karşılaştırılması

4.2.3. Malign Grup Histolojik Alt Tiplerindeki Belirteç Düzeyleri ve Benign Grup ile Karşılaştırılması

Belirteçlerin farklı kanser histolojik tiplerinde ayırım yapabilme özelliğine sahip olup olmadıklarını belirlemek amacıyla benign gruptaki bireylerden elde edilen örnekler ile seröz, berrak hücreli ve miks karsinom histolojik alt grubuna sahip bireylerden elde edilen örnekler arasında karşılaştırma yapıldı. Diğer histolojik alt gruplarda yer alan birey sayısı yetersiz olduğundan bu alt gruplar ile karşılaştırmaya dahil edilmedi. Benign grup ve malign histolojik alt gruplara ait serumlarda ölçülen LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4, CA125 için hesaplanan ortanca değerleri Tablo 8’de yer almaktadır.

Seröz karsinomlar ile benign grup karşılaştırıldığında; Mezotelin, HE4 ve CA125 değerlerinin seröz karsinom grubunda anlamlı yüksek olduğu (p değerleri <0,001), LyGDI’nın ise seröz karsinom grubunda anlamlı düşük olduğu saptandı (p= 0,011). Bu gruplar arasında YKL-40 açısından anlamlı farklılık saptanmadı (p= 0,057).

Berrak hücreli karsinomlar ile benign grup karşılaştırıldığında; CA125, HE4 ve YKL-40 değerlerinin berrak hücreli karsinom grubunda anlamlı yüksek olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla 0,001; 0,002 ve 0,034) Bu gruplar arasında Mezotelin ve LyGDI açısından anlamlı farklılık saptanmadı (p değerleri sırasıyla 0,056 ve 0,538).

Miks karsinomlar ile benign grup karşılaştırıldığında; CA125, Mezotelin, HE4 ve YKL-40 değerlerinin miks karsinomlarda anlamlı yüksek olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla <0,001; 0,003; 0,003 ve 0,014). LyGDI açısından bu gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p= 0,059).

Sonuç olarak; elde edilen veriler LyGDI’nın sadece seröz karsinomun; Mezotelinin seröz ve miks karsinomların; YKL-40’ın berrak hücreli ve miks karsinomların benign gruptan ayırımında yararlı olabileceğini gösterdi. CA125 ve HE4 ise 3 histolojik tipin de benign gruptan ayırımında yararlı olabilecek belirteçlerdi.

Tablo 8: Benign grup ile malign grup histolojik alt tiplerindeki LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 düzeylerinin karşılaştırılması

	Benign (n=30)	Seröz Karsinom (n=13)	Berrak Hücreli Karsinom (n=6)	Miks karsinom (n=6)	Endometrioid Karsinom (n=3)	Müsinöz Karsinom (n=2)	MMMT* (n=1)
	Ort±SH (Ortanca)	Ort±SH (Ortanca)	Ort±SH (Ortanca)	Ort±SH (Ortanca)	Ort±SH (Ortanca)	Ort±SH (Ortanca)	
LyGDI (ng/mL)	1,07±0,12 (0,79)	0,67±0,02 (0,66)¹	1,08±0,35 (0,73)	0,65±0,08 (0,59)	0,99±0,25 (0,80)	0,67±0,15 (0,67)	2,93
Mezotelin (ng/mL)	14,54±1,88 (11,60)	30,79±1,48 (33,25)¹	24,03±4,71 (27,55)	30,10±4,03 (34,29)³	5,78±1,32 (4,54)	7,36±1,99 (7,36)	25,43
YKL-40 (ng/mL)	97,79±11,53 (73,17)	136,3±17,32 (157,85)	165,38±27,38 (188,14)²	175,42±20,95 (183,31)³	74,04±10,63 (81,21)	186,11±10,15 (186,11)	227,23
HE4 (pM)	65,91±4,91 (61,29)	841,16±225,97 (509,25)¹	672,89±405,76 (188,48)²	1842,21±828,67 (1546,20)³	115,15±42,34 (73,20)	338,42±275,99 (338,42)	249,19
CA125 (U/mL)	63,85±28,69 (20,74)	900,16±348,48 (361,90)¹	979,41±430,07 (638,65)²	1353,71±396,54 (1125,50)³	49,99±10,99 (42,85)	375,15±178,95 (375,15)	1241,0

*MMMT: Malign miks mülleriyen tümör

¹: Seröz karsinom ile benign grup arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)

²: Berrak hücreli karsinom ile benign grup arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)

³: Miks karsinom ile benign grup arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)

4.3. MENAPOZ ETKENİ ile SERUM LyGDI, MEZOTELİN, YKL-40, HE4 ve CA125 DÜZEYLERİNİN İLİŞKİSİ

4.3.1. Sağlıklı, Benign ve Malign Gruplarda Menapoz Etkenine Göre Belirteçlerin Karşılaştırılması

Sağlıklı ve benign gruplarda yer alan bireyler premenapozal ve postmenapozal olarak gruplandırılarak serum belirteç düzeyleri değerlendirildi. Söz konusu gruplara ait serumlarda ölçülen LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4, CA125 için hesaplanan değerler ve istatistiksel anlamlılığı gösteren p değerleri Tablo 9'da yer almaktadır.

Sağlıklı gruptaki premenapozal ve postmenapozal kadınlarda belirteç değerleri açısından anlamlı farklılık yoktu.

Benign grupta ise Mezotelin ve HE4 değerleri postmenapozal kadınlarda premenapozal kadınlara göre anlamlı yüksek (p değerleri sırasıyla 0,038 ve 0,018) iken CA125 değerleri postmenapozal kadınlarda premenapozal kadınlara göre anlamlı düşüktü (p=0,029). LyGDI ve YKL-40 açısından premenapozal ve postmenapozal kadınlar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p değerleri sırasıyla 0,223 ve 0,133).

Malign gruptaki premenapozal ve postmenapozal kadınlarda YKL-40 dışındaki belirteç değerleri açısından anlamlı farklılık yoktu. Malign gruptaki postmenapozal kadınlarda YKL-40 değeri premenapozal kadınlardan anlamlı yüksekti (p=0,013).

Tablo 9: Sağlıklı, benign ve malign gruplarda yer alan premenapozal ve postmenapozal bireylerin LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 düzeylerinin karşılaştırılması

		LyGDI (ng/mL)		Mezotelin (ng/mL)		YKL-40 (ng/mL)		HE4 (pM)		CA125 (U/mL)	
		Ort±SH (Ortanca)	p	Ort±SH (Ortanca)	p	Ort±SH (Ortanca)	p	Ort±SH (Ortanca)	p	Ort±SH (Ortanca)	p
Sağlıklı (n=32)	Premenapoz (n=10)	0,89±0,08 (0,89)	0,290	15,95±2,78 (15,37)	0,167	70,97±10,22 (53,37)	0,290	45,98±3,39 (41,10)	0,263	15,54±2,0 (12,72)	0,489
	Postmenapoz (n=22)	0,80±0,03 (0,76)		12,06±1,68 (10,78)		82,70±6,09 (82,47)		51,73±3,21 (52,22)		13,53±0,98 (12,96)	
Benign (n=30)	Premenapoz (n=24)	0,97±0,11 (0,78)	0,223	12,95±2,07 (10,15)	0,038	85,04±10,88 (69,36)	0,133	59,09±3,75 (56,36)	0,018	76,26±35,55 (27,50)	0,029
	Postmenapoz (n=6)	1,46±0,42 (1,21)		20,9±3,77 (17,09)		148,77±32,06 (190,26)		93,19±15,95 (87,86)		14,20±2,28 (11,34)	
Malign (n=31)	Premenapoz (n=8)	0,72±0,04 (0,68)	0,752	23,73±4,47 (28,93)	0,874	99,20±15,36 (91,02)	0,013	568,75±220,98 (397,05)	0,718	1030,67±339,05 (826,30)	0,652
	Postmenapoz (n=23)	0,89±0,13 (0,67)		25,77±2,30 (32,17)		167,16±12,28 (176,30)		989±275,68 (292,03)		852,03±229,95 (361,90)	

4.3.2. Premenapozal Sağlıklı, Benign, Malign ve Postmenapozal Sağlıklı, Benign, Malign Gruplarda Belirteçlerin Karşılaştırılması

Sağlıklı, benign ve malign gruplarda yer alan premenapozal dönemdeki bireylerin belirteç düzeyleri Kruskal Wallis testi ile karşılaştırıldığında; sadece HE4 ve CA125 düzeylerinin gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdiği saptandı. HE4 ve CA125 için anlamlı farklılığın hangi gruplar arasındaki farklılıktan kaynaklandığını saptamak amacıyla Mann Whitney U testi uygulandı. Diğer belirteçler açısından daha ileri analiz yapılmadı. Söz konusu gruplara ait serumlarda ölçülen LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4, CA125 için hesaplanan değerler ve istatistiksel anlamlılığı gösteren p değerleri Tablo 9’da yer almaktadır.

Sağlıklı ve benign grup karşılaştırıldığında; HE4 ve CA125 düzeyleri benign grupta anlamlı yüksekti (p değerleri sırasıyla 0,021 ve 0,026).

Sağlıklı ve malign grup karşılaştırıldığında; HE4 ve CA125 düzeyleri malign grupta anlamlı yüksekti (p değerleri sırasıyla 0,001 ve <0,001).

Benign ve malign grup karşılaştırıldığında; HE4 ve CA125 düzeyleri malign grupta anlamlı yüksekti (p değerleri sırasıyla <0,001 ve 0,001).

Sonuç olarak; elde edilen veriler HE4 ve CA125’in premenapozal dönemdeki bireylerde sağlıklı-malign ve benign-malign ayrımında yararlı olabileceğini gösterdi.

Sağlıklı, benign ve malign gruplarda yer alan postmenapozal dönemdeki bireylerin belirteç düzeyleri Kruskal Wallis testi ile karşılaştırıldığında; LyGDI dışındaki tüm belirteçler gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdi. Anlamlı farklılığın hangi gruplar arasındaki farklılıktan kaynaklandığını saptamak amacıyla Mann Whitney U testi uygulandı. Söz konusu gruplara ait serumlarda ölçülen LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4, CA125 için hesaplanan değerler ve istatistiksel anlamlılığı gösteren p değerleri Tablo 10’da yer almaktadır.

Sağlıklı ve benign grup karşılaştırıldığında; HE4 ve Mezotelin düzeyleri benign grupta anlamlı yüksekti (p değerleri sırasıyla 0,005 ve 0,033). YKL-40 ve CA125 açısından iki grup arasında anlamlı farklılık yoktu (p değerleri sırasıyla 0,131 ve 0,780).

Sağlıklı ve malign grup karşılaştırıldığında; tüm belirteçlerin malign grupta anlamlı yüksek olduğu saptandı (p değerleri <0,001).

Benign ve malign gruplar karşılaştırıldığında; HE4 ve CA125 düzeylerinin malign grupta anlamlı yüksek olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla 0,010 ve <0,001). Mezotelin ve

YKL-40 düzeyleri açısından 2 grup arasında anlamlı farklılık yoktu (p değerleri sırasıyla 0,281 ve 0,518).

Sonuç olarak; elde edilen veriler; postmenapozal dönemde YKL-40 ve Mezotelinin sağlıklı-malign ayrımında, HE4 ve CA125'in ise hem sağlıklı-malign hem de benign-malign ayrımında yararlı olabileceğini gösterdi.

Tablo 10: Premenapozal sağlıklı, benign, malign ve postmenapozal sağlıklı, benign, malign gruplarda LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125 düzeylerinin karşılaştırılması

	Premenapoz				Postmenapoz			
	Sağlıklı (n=10)	Benign (n=24)	Malign (n=8)	p ¹	Sağlıklı (n=22)	Benign (n=6)	Malign (n=23)	p ¹
LyGDI (ng/mL)	0,89±0,08 (0,89)	0,97±0,11 (0,78)	0,72±0,04 (0,68)	0,242	0,80±0,03 (0,76)	1,46±0,42 (1,21)	0,89±0,13 (0,67)	0,065
Mezotelin (ng/mL)	15,95±2,78 (15,37)	12,95±2,07 (10,15)	23,73±4,47 (28,93)	0,075	12,06±1,68 (10,78)	20,9±3,77 (17,09)²	25,77±2,30 (32,17)³	0,001
YKL-40 (ng/mL)	70,97±10,22 (53,37)	85,04±10,88 (69,36)	99,20±15,36 (91,02)	0,316	82,70±6,09 (82,47)	148,77±32,06 (190,26)	167,16±12,28 (176,30)³	<0,001
HE4 (pM)	45,98±3,39 (41,10)	59,09±3,75 (56,36)²	568,75±220,98 (397,05)^{3,4}	<0,001	51,73±3,21 (52,22)	93,19±15,95 (87,86)²	989±275,68 (292,03)^{3,4}	<0,001
CA125 (U/mL)	15,54±2,0 (12,72)	76,26±35,55 (27,50)²	1030,67±339,05 (826,30)^{3,4}	<0,001	13,53±0,98 (12,96)	14,20±2,28 (11,34)	852,03±229,95 (361,90)^{3,4}	<0,001

¹: Kruskal Wallis testine göre anlamlılık düzeyi.

²: Sağlıklı ve benign grup arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)

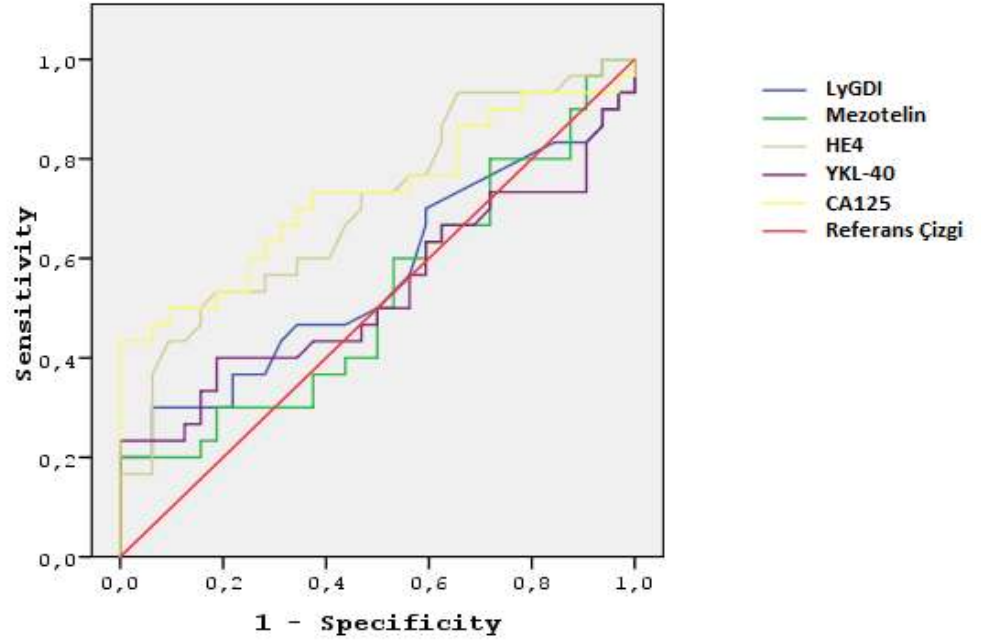
³: Sağlıklı ve malign grup arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)

⁴: Benign ve malign grup arasında anlamlı fark (Mann Whitney U, p<0,05)

4.4. LyGDI, MEZOTELİN, YKL-40, HE4 ve CA125'İN TANISAL PERFORMANSI

4.4.1. Benign ve Sağlıklı Grubun Ayrımında Belirteçlerin Tanısal Performansı

Benign grubun sağlıklı gruptan ayırt edilmesi ile ilgili olarak; LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125'in ROC eğrileri incelendi (Şekil 15). Tablo 11'de her bir belirteç için belirlenen ROC-AUC değerleri ve %95 güven aralığı (%95 CI) yer almaktadır.



Şekil 15: Benign ve sağlıklı grup arasındaki ROC eğrileri

Tablo 11: Benign ve sağlıklı grubun ayırımında belirteçlerin ROC-AUC değerleri

Belirteç	ROC-AUC	%95 CI	p*	p**
CA125	0,728	0,600- 0,833	0,0006	-
LyGDI	0,563	0,416-0,710	0,394	0,0412
Mezotelin	0,524	0,393-0,652	0,7511	0,0458
YKL-40	0,532	0,401-0,660	0,6805	0,0453
HE4	0,705	0,575-0,814	0,0021	0,7938

* Alan=0,5 ile karşılaştırmanın anlamlılık düzeyi.

** CA125 ROC-AUC ile karşılaştırmanın anlamlılık düzeyi.

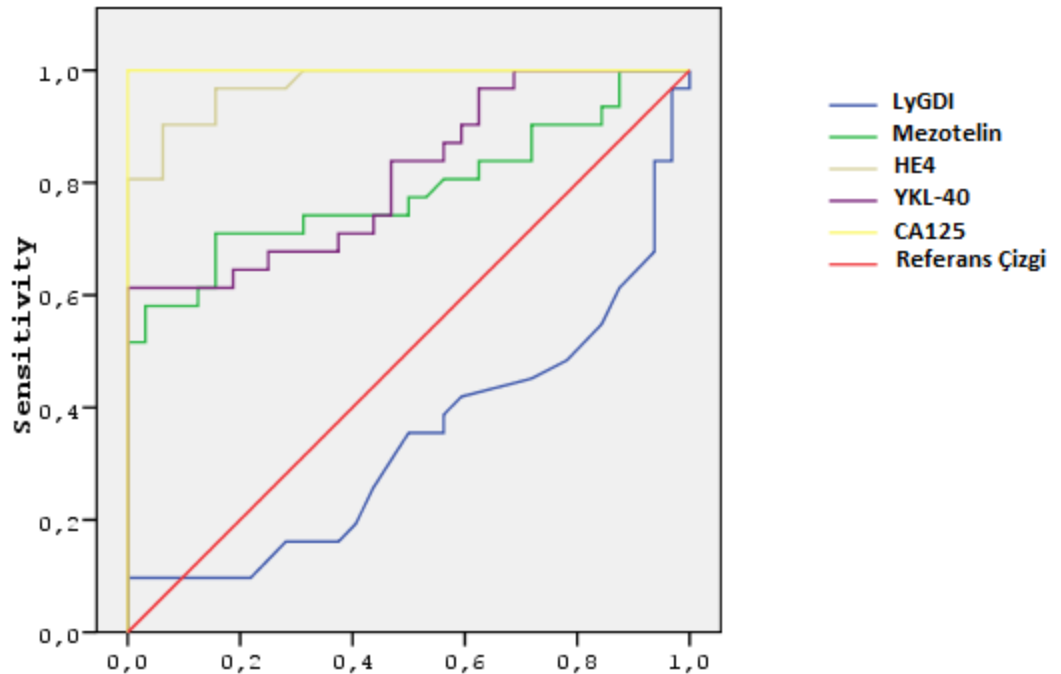
Her bir belirtecin ROC-AUC değeri 0,5 ile karşılaştırıldığında; CA125 ve HE4'ün ROC-AUC değerinin anlamlı yüksek olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla 0,0006 ve 0,0021). Diğer belirteçler açısından anlamlı bir farklılık yoktu.

HE4, YKL-40, Mezotelin ve LyGDI'nın ROC-AUC değerleri ile en yüksek ROC-AUC değerine sahip CA125 ile karşılaştırıldı. HE4 ve CA125 arasında anlamlı farklılık olmadığı (p=0,7938), YKL-40, Mezotelin ve LyGDI'nın ROC-AUC değerlerinin CA125'e göre anlamlı düşük olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla 0,0453; 0,0458 ve 0,0412).

Sonuç olarak elde edilen veriler; YKL-40, Mezotelin ve LyGDI'nın benign ve sağlıklı grubu ayırma kapasitelerinin zayıf, CA125 ve HE4'ün ise daha iyi olduğunu gösterdi. Söz konusu iki grubun ayırımında CA125 ve HE4'ün performansı benzerdi.

4.4.2. Malign ve Sağlıklı Grubun Ayırımında Belirteçlerin Tanısal Performansı

Malign grubun sağlıklı gruptan ayırt edilmesi ile ilgili olarak; LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125'in ROC eğrileri incelendi (Şekil 16). Tablo 12'de de her bir belirteç için belirlenen ROC-AUC değerleri ve %95 CI yer almaktadır.



Şekil 16: Malign ve sağlıklı grup arasındaki ROC eğrileri

Tablo: 12: Malign ve sağlıklı grubun ayırımında belirteçlerin ROC-AUC değerleri

Belirteç	ROC-AUC	%95 CI	p *	p**
CA125	1,000	0,943-1,000	<0,0001	-
LyGDI	0,342	0,204-0,479	0,031	-
Mezotelin	0,785	0,663-0,878	<0,0001	0,0004
YKL-40	0,815	0,697-0,901	<0,0001	0,0006
HE4	0,974	0,899-0,998	<0,0001	0,0865

* Alan=0,5 ile karşılaştırmanın anlamlılık düzeyi.

** CA125 ROC-AUC ile karşılaştırmanın anlamlılık düzeyi.

Her bir belirteçin ROC-AUC değeri 0,5 ile karşılaştırıldığında CA125, Mezotelin, YKL-40 ve HE4'ün anlamlı yüksek ROC-AUC değeri olduğu (p değerleri <0,0001), LyGDI'nın ise anlamlı düşük ROC-AUC değerine sahip olduğu (p=0,031) saptandı.

Mezotelin, YKL-40 ve HE4'ün ROC-AUC değerleri ile en yüksek ROC-AUC değerine sahip CA125 karşılaştırıldı. HE4 ve CA125 arasında anlamlı farklılık olmadığı (p=0,0865), Mezotelin ve YKL-40'ın ROC-AUC değerlerinin CA125'e göre anlamlı düşük olduğu (p değerleri sırasıyla 0,0004; 0,0006) saptandı.

Sonuç olarak elde edilen veriler; LyGDI'nın sağlıklı ve malign grubu ayırma kapasitesinin olmadığını, CA125'in iki grubu tam olarak ayırabildiğini, diğer belirteçlerin de sözkonusu grupları ayırma kapasitesine sahip olduğunu gösterdi. CA125 ve HE4'ün iki grubu ayırma kapasiteleri benzer iken, YKL-40 ve Mezotelinin iki grubu ayırma kapasiteleri CA125'e göre düşüktü.

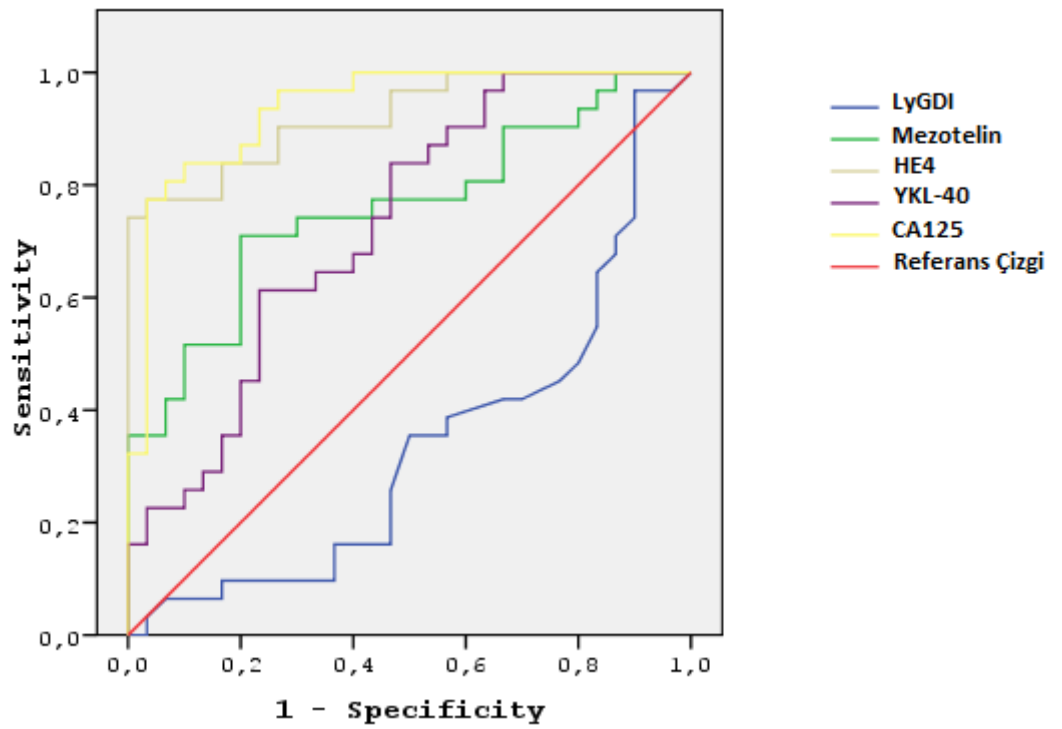
Sağlıklı ve malign grubu ayırma kapasitesi olan belirteçlerin %80, %90 ve %95 özgüllük düzeylerindeki duyarlılıkları Tablo 13'te bulunmaktadır. Elde edilen veriler belirtilen tüm özgüllük düzeylerinde CA125'in duyarlılığının mükemmel olduğunu gösterdi.

Tablo 13: Belirteçlerin %80, %90 ve %95 özgüllük düzeylerindeki duyarlılıkları

Belirteç	ROC-AUC	Özgüllük		
		% 80	% 90	% 95
CA125	1,000	% 100	% 100	% 100
Mezotelin	0,785	% 71	% 58,1	% 58,1
YKL-40	0,815	% 64,5	% 61,3	% 61,3
HE4	0,974	% 96,8	% 90,3	% 80,7

4.4.3. Malign ve Benign Grubun Ayrımında Belirteçlerin Tanısal Performansı

Malign grubun benign gruptan ayırt edilmesi ile ilgili olarak; LyGDI, Mezotelin, YKL-40, HE4 ve CA125'in ROC eğrileri incelendi (Şekil 17). Tablo 14'te her bir belirteç için belirlenen ROC-AUC değerleri ve %95 CI yer almaktadır.



Şekil 17: Malign ve benign grup arasındaki ROC eğrileri

Tablo 14: Malign ve benign grubun ayırımında belirteçlerin ROC-AUC değerleri

Belirteç	ROC-AUC	%95 CI	p*	p**
CA125	0,937	0,843-0,983	<0,0001	-
LyGDI	0,337	0,198-0,476	0,029	-
Mezotelin	0,759	0,633-0,859	<0,0001	0,0063
YKL-40	0,728	0,599-0,834	0,0004	0,0020
HE4	0,923	0,825-0,975	<0,0001	0,7256

* Alan=0,5 ile karşılaştırmanın anlamlılık düzeyi.

** CA125 ROC-AUC ile karşılaştırmanın anlamlılık düzeyi.

Her bir belirteçin ROC-AUC değeri 0,5 ile karşılaştırıldığında; CA125, Mezotelin, YKL-40 ve HE4'ün anlamlı yüksek ROC-AUC değerine sahip olduğu (p değerleri CA125, Mezotelin ve HE4 için <0,0001; YKL-40 için 0,0004), LyGDI'nın ise anlamlı düşük ROC-AUC değerine sahip olduğu (p=0,029) saptandı.

Mezotelin, YKL-40 ve HE4'ün ROC-AUC değerleri ile en yüksek ROC-AUC değerine sahip CA125 karşılaştırıldı. HE4 ve CA125 arasında anlamlı farklılık olmadığı (p=0,7256), Mezotelin ve YKL-40 ROC-AUC değerlerinin CA125'e göre anlamlı düşük olduğu (p değerleri sırasıyla 0,0063 ve 0,0020) saptandı.

Sonuç olarak elde edilen veriler; LyGDI'nın benign ve malign grubu ayırma kapasitesinin olmadığını, diğer belirteçlerin sözkonusu iki grubu ayırma kapasitesine sahip olduğunu gösterdi. CA125 ve HE4'ün sözkonusu grupları ayırma kapasiteleri benzer iken, YKL-40 ve Mezotelinin iki grubu ayırma kapasiteleri CA125'e göre düşüktü.

ROC eğrilerinden yararlanılarak benign ve malign grubu ayırma yeteneğine sahip her bir belirteç için eşik değerleri belirlendi. Eşik değer belirlenirken belirteçlerin en az %80 özgüllüğe sahip olduğu değerler seçildi. Belirlenen eşik değerleri ve bu değerdeki duyarlılık, özgüllük, PPV, NPV değerleri Tablo 15'te yer almaktadır.

Tablo 15: Belirlenen eşik değerlerinde belirteçlerin tanısal performansı

Belirteç	Eşik Değer	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPV (%)	NPV (%)
CA125	64,3 U/mL	87,1	80	81,8	85,7
Mezotelin	22,97 ng/mL	71	80	78,6	72,7
YKL-40	173,25 ng/mL	45,2	80	70	58,5
HE4	74,75 pM	83,9	83,3	83,9	83,3

4.4.4. Malign ve Benign Grubun Ayrımında Belirteç/Belirteç Kombinasyonlarının Tanısal Performansı

Lojistik regresyon kullanılarak malign ve benign grubu ayırma kapasitesi olan her bir belirteç ve bu belirteçlerin değişik kombinasyonları için hesaplanan ROC-AUC değerleri ile %80, %90 ve %95 olarak seçilen özgüllük değerlerindeki duyarlılıklar Tablo 16’da yer almaktadır.

Bireysel olarak her bir belirteçin ve değişik kombinasyonların ROC-AUC değeri 0,5 ile karşılaştırıldığında; bireysel belirteçler, ikili, üçlü ve dördü belirteç kombinasyonların tümünün ROC-AUC değerinin anlamlı yüksek olduğu saptandı (p değerleri <0,0001).

Her bir belirteçin ve değişik kombinasyonların ROC-AUC değerleri ile CA125’in ROC-AUC değeri karşılaştırıldı. Mezotelin ve YKL-40’ın ROC-AUC değerinin CA125’ten anlamlı düşük olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla 0,048 ve 0,011). HE4 ve diğer tüm belirteç kombinasyonlarının ROC-AUC değerleri ile CA125’in ROC-AUC değeri arasında anlamlı bir fark yoktu.

Elde edilen veriler; Mezotelin ve YKL-40’ın malign ve benign grupları ayırma kapasitelerinin CA125’ten düşük olduğunu gösterdi. HE4 ve diğer tüm kombinasyonlar sözkonusu iki grubun ayrımında CA125 ile benzer kapasiteye sahipti.

Bireysel belirteçler arasında HE4; %80 özgüllükte malignitenin saptanmasında en yüksek duyarlılığı (%93,6) gösterdi. Diğer bireysel belirteçlerin tümünün duyarlılığı CA125’ten düşüktü. İkili kombinasyonlar arasında CA125+HE4 kombinasyonu ile CA125+YKL-40 kombinasyonu %80 özgüllükte %93,6 duyarlılık ile en yüksek duyarlılığı gösterdi. Bu kombinasyonlar tek başına CA125’in duyarlılığını %3,3 arttırdı. CA125+HE4

kombinasyonuna Mezotelinin eklenmesi duyarlılığı %96,8'e çıkarırken, CA125+YKL-40 kombinasyonuna Mezotelin veya HE4'ün eklenmesi duyarlılığı değıştirmedi. Son olarak 4 belirteçin birlikte kullanılması ile %80, %90 ve %95 özgüllükte sırasıyla %96,8, %93,6 ve %93,6 duyarlılık elde edildi (Tablo 16).

Tablo 16: Belirteç/belirteç kombinasyonlarının %80, %90 ve %95 özgüllük düzeylerindeki duyarlılıkları

Belirteç	ROC-AUC (%95 CI)	Özgüllük			p*	p**
		%80	%90	%95		
CA125	0,943 (0,852-0,986)	%90,3	%90,3	%90,3	<0,0001	-
Mezotelin	0,846 (0,731-0,926)	%83,9	%54,8	%38,7	<0,0001	0,048
YKL-40	0,810 (0,689-0,899)	%74,2	%35,5	%25,8	<0,0001	0,011
HE4	0,946 (0,857-0,988)	%93,6	%83,9	%77,4	<0,0001	0,924
CA125+HE4	0,958 (0,873-0,993)	%93,6	%90,3	%83,9	<0,0001	0,558
CA125+Mezotelin	0,929 (0,833-0,979)	%90,3	%90,3	%83,9	<0,0001	0,297
CA125+YKL-40	0,941 (0,849-0,985)	%93,6	%90,3	%90,3	<0,0001	0,873
CA125+HE4+Mezotelin	0,971 (0,892-0,997)	%96,8	%93,6	%90,3	<0,0001	0,333
CA125+HE4+YKL-40	0,962 (0,879-0,994)	%93,6	%90,3	%83,9	<0,0001	0,498
CA125+YKL-40+Mezotelin	0,931 (0,836-0,980)	%93,6	%90,3	%87,1	<0,0001	0,543
CA125+HE4+Mezotelin+YKL-40	0,973 (0,895-0,998)	%96,8	%93,6	%93,6	<0,0001	0,301

* Alan=0,5 ile karşılaştırmanın anlamlılık düzeyi.

** CA125 ROC-AUC ile karşılaştırmanın anlamlılık düzeyi.

5. TARTIŞMA ve SONUC

Over kanseri gelişmiş ülkelerde jinekolojik maligniteler içinde en ölümcül olanıdır (1). Mortalite hastalığın evresi ile son derece ilişkilidir. Over kanseri erken evrede tanı aldığı ve organ sınırlı olduğu durumda 5 yıllık sağkalım %90'ı geçmektedir. Ancak vakaların çoğu hastalığın overler dışına yayıldığı geç evrelerde tanı almaktadır. Bunun nedeni hastaların genellikle nonspesifik semptomlar göstermesi ve erken tanı imkanı sağlayacak güvenilir bir yöntemin olmamasıdır (4–6). Erken tanı için önerilen herhangi bir yaklaşım olmaması nedeniyle; bu hastalarda sağkalımı etkileyen tek faktör cerrahi uzaklaştırmanın boyutu ve ilk cerrahi girişim sırasındaki doğru evrelemedir (111). Bu nedenle adneksiyel kitlesi hastaları over kanseri açısından yüksek veya düşük riskli gruplara ayıracak, yüksek riskli hastaların over kanseri tedavisinde uzmanlaşan, multidisipliner ekibe sahip üçüncü basamak sağlık merkezlerine yönlendirilmesini sağlayacak bir risk değerlendirme yönteminin olması kritik bir öneme sahiptir (12,58). Böyle bir yaklaşım düşük malignite riskli hastaların gereksiz yere büyük, abdominal-ovaryen evreleme cerrahisine maruz kalmasını engelleyerek; cerrahiye bağlı komplikasyonları azaltacak, hastanede kalış süresini kısaltacak, günlük hayata dönüşü hızlandıracak ve sağlam bir overle yaşama şansı sağlayacaktır (112).

Günümüzde EOC'nin tespiti için semptomların değerlendirilmesi ve fizik muayenenin yanı sıra en sık kullanılan yöntemler USG ve serum CA125 düzeyinin ölçümüdür. CA125 EOC'nin tespiti, yönetimi için kullanılan ve en iyi bilinen serum belirteçidir (7). CA125 düzeyleri EOC'li hastaların %80'inde yükselirken, hastalığın erken evresinde yalnızca hastaların %50-60'ında yüksek bulunmaktadır. EOC'lerinin %20'sinin CA125'i anlamlı düzeyde eksprese edemediği belirtilmektedir. Ayrıca pek çok benign durum CA125'in düzeyinin artmasına neden olmaktadır. Bu özgüllük konusundaki eksiklik benign jinekolojik durumların sıkça görüldüğü premenapozal kadınlarda özellikle önem kazanmaktadır (9,10). USG'nin duyarlılık ve özgüllüğü de over kanseri tanısı koymak için sınırlıdır (8). Ayrıca bir pelvik kitlenin doğasının tespit edilmesinde USG'nin performansı, uygulayıcının deneyimine ve becerisine oldukça bağlıdır (13).

Pelvik kitle saptanan hastalarda over kanseri riskinin değerlendirilmesi için kullanılan iki algoritma (ROMA ve OVA1) FDA tarafından onaylanmış olmakla birlikte, over kanserinin erken tanısı için önerilmiş herhangi bir kesin yöntem bulunmamaktadır (113). Çalışmalar merkezler arasında tekrarlanabilirlik ve tutarlılık sağlanması için, objektif kantitatif ölçümler yoluyla belirlenecek belirteçler üzerine yoğunlaşmıştır. Patolojide ve

genetik biliminde kaydedilen son ilerlemeler, EOC'nin farklı histolojik tiplerinin; biyolojik davranışı, kemoterapiye yanıtı ve prognozu kısmen belirleyen farklı risk faktörlerine, genetik anormalliklere ve onkolojik yollara sahip olduklarını göstermiştir (4). Bu nedenle tek bir belirteçin hastalığın tüm subtiplerini ve evrelerini yüksek duyarlılık ve özgüllük ile saptayabilmesinin pek mümkün olmadığı, çok sayıda belirteçin birlikte kullanımının over kanseri tanısında daha büyük bir potansiyel sağlayabileceği belirtilmektedir (5). Bunun sonucu olarak da son yıllarda tanımlanan pek çok potansiyel belirteç tek başına veya CA125 ile ve/veya diğer belirteçlerle kombine edilerek değerlendirilmiştir.

Bizim bu çalışmadaki amacımız; literatür araştırmamız sonucunda EOC tanısında ve benign over hastalıklarından ayırımında yararlı olabileceği öngörülen 4 belirteç olan (HE4, YKL-40, Mezotelin, LyGDI) ve rutin olarak kullanılan CA125'ten oluşan bir belirteç panelinin, EOC tanısında ve benign over hastalıklarından ayırımında kullanılabilirliğini ortaya koymaktır.

Yaş faktörü EOC gelişiminde büyük öneme sahiptir. EOC insidansının yaşla birlikte arttığı ve 50 yaşın üzerinde en belirgin hale geldiği, bu kademeli artışın 70'li yaşlara kadar devam ettiği bilinmektedir (9). Bu durum over kanserinin daha çok postmenapozal kadınlarda görülmesinin nedenini de açıklamaktadır. Postmenapozal dönemdeki hastalarda görülen over neoplazilerinin %30'u malign iken; premenapozal dönemdeki hastalar için bu oranın %7 olduğu belirtilmektedir (44). Çalışmamızda da malign ve sağlıklı grup daha yaşlı ve daha çok postmenapozal dönemdeki kadınlardan oluşurken, benign grup daha genç ve daha çok premenapozal dönemdeki kadınlardan oluşmaktadır. Çalışmamızda malign gruptaki en yaygın histolojik tip, EOC histolojik tipleri içerisinde en sık görülen seröz karsinomdur (%41,9). Benign gruptaki en yaygın hastalık ise kistadenom/kistadenofibromdur.

Sağlıklı, Benign ve Malign Gruplardaki Belirteç Değerlerinin Karşılaştırılması:

Çalışmamızda yer alan sağlıklı, benign ve malign gruplarda belirlenen belirteç değerlerinin gruplar arasındaki farklılığı ve diğer yapılan çalışmalar ile uyumluluğu değerlendirildi.

CA125 verileri değerlendirildiğinde; beklenildiği gibi malign grubun CA125 ortanca değerinin hem sağlıklı hem de benign gruptan anlamlı yüksek olduğu saptandı ($p<0,001$; $p<0,001$). CA125 düzeyinin EOC'li hastaların %80'inde yükseldiği bilinmektedir (9). Ayrıca benign grubun CA125 ortanca değerinin sağlıklı gruptan anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır

($p=0,002$). Bu şaşırtıcı değildir. Çünkü CA125 pek çok benign jinekolojik hastalıkta yükselbilmektedir (9). Zaten bu durum yeni belirteç arayışının nedenlerinden de birini oluşturmaktadır.

LyGDI ortanca değeri açısından benign ve sağlıklı grup arasında fark bulunmazken ($p=0,394$); malign grubun sağlıklı ve benign gruplara göre çok anlamlı düzeyde olmasa da ($p=0,031$; $p=0,029$) bir miktar düşük değere sahip olduğu saptandı. Zhen ve ark. (114) EOC'li hastalarda LyGDI ortanca değerinin benign ve sağlıklı gruptan anlamlı yüksek olduğunu, sağlıklı ve benign gruplar arasında ise anlamlı fark olmadığını saptamışlardır. Araştırmacılar LyGDI'nın epitelyal kanser hücreleri tarafından eksprese edildiğini ve benign over epitelinde ekspresyonun olmadığını belirtmektedir. Tapper ve ark.'nın (115) yaptığı cDNA array çalışmasında 6 seröz kistadenokarsinom ve 1 seröz kistadenom gen ekspresyonları açısından karşılaştırılmış ve tüm karsinomlarda en sık upregüle olan genin LyGDI olduğu saptanmıştır. Bu genin tümör evresinden bağımsız olarak tüm karsinomlarda upregüle olduğu belirtilmekte ve seröz over kanseri gelişimi için esansiyel olabileceği savunulmaktadır. Stevens ve ark. (116) da EOC'de LyGDI ekspresyonunun arttığını, bu artışın histolojik tip ve *grade* ile ilişkili olduğunu, yüksek *grade*'li tümörlerde, transizyonel hücreli, miks, seröz karsinom ve malign miks mülleriyen tümörlerde ekspresyon artışının daha yüksek oranda saptandığını belirtmektedir. Bu çalışmada benign kistler ve karsinomlar arasında ekspresyon düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Araştırmacılar bir over kanseri hücre hattında LyGDI ekspresyonunun suprese edilmesi ile büyüme, invazyon ve metastazın arttığını ve LyGDI'nın bir invazyon, metastaz supresörü olarak da işlev görebileceğini belirtmekte, ancak bu konuda daha fazla çalışma yapılmasının gerekliliği vurgulanmaktadır. Verilerimiz, Zhen ve ark.'nın çalışmasındaki sağlıklı ve benign grup verileri ile uyumluluk göstermesine karşın; malign grupta yükselme saptanmayarak uyumlu olmadığı görülmektedir. Bu durumun bizim hasta grubumuzdaki histolojik tip dağılımının farklı olmasına bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışma gruplarımızda Mezotelin için elde edilen veriler malign grubun ortanca değerinin sağlıklı ve benign gruptan anlamlı yüksek olduğunu ($p<0,001$, $p=0,001$), sağlıklı ve benign gruplar arasında ise anlamlı fark olmadığını gösterdi ($p=0,746$). Verilerimiz Huang ve ark.'ı (117), Azeez ve ark.'nın (118) EOC'li hastalar ile benign ve sağlıklı grupları karşılaştırdıkları çalışmaların verileri ile uyumluluk göstermektedir. Ancak Azeez ve ark.'ı benign ve sağlıklı grupları karşılaştırdıklarında benign grupta anlamlı yükseklik

saptadıklarını belirtmişlerdir. Bizim sonuçlarımıza göre ise böyle bir farklılık belirlenmemiştir.

Çalışma gruplarımızdaki YKL-40 verileri değerlendirildiğinde; malign grupta YKL-40 ortanca değerlerinin sağlıklı ve benign gruba göre anlamlı yüksek olduğu saptanırken ($p<0,001$; $p=0,002$), sağlıklı ve benign gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,667$). Verilerimiz Zou ve ark. (119), Dupont ve ark. (120), Hogdall ve ark.'nın (86) EOC'li hastalar ile benign ve/veya sağlıklı grupları karşılaştırmış oldukları çalışmalar ile uyumludur. Bunun yanı sıra Zou ve ark, Dupont ve ark.'nın çalışmalarında benign grup jinekolojik hastalıklardan oluşturulmasına rağmen bizim sonuçlarımız ile uyumluluk göstermektedir.

Çalışma gruplarımızın HE4 verileri göz önüne alındığında; malign grubun HE4 ortanca değerinin hem sağlıklı, hem de benign gruptan anlamlı yüksek ($p<0,001$) olduğu saptandı. Sonuçlarımız ile paralellik gösteren, HE4 düzeyinin EOC'li hastalarda benign ve/veya sağlıklı gruplardan anlamlı yüksek olduğunu belirlemiş pek çok çalışma bulunmaktadır (58,60,118,121,122). Ayrıca çalışmamızda benign grubun HE4 değerlerinin sağlıklı gruptan anlamlı yüksek olduğu ($p=0,006$) saptandı. Bu durum HE4'ün de CA125 gibi benign hastalıklarda yükselebileceğini göstermektedir. Ancak benign gruptaki artış sağlıklı gruptan 1,25 kat yüksek iken, malign gruptaki artış 8,11 kattır. Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde Montagnana ve ark. (123) benign grupta HE4 düzeyinin sağlıklı gruptan anlamlı yüksek saptandığını ancak artışın büyüklüğünün over kanserli (%91'i EOC) hastalarda gözlenenden 10 kat daha düşük olduğunu belirtmektedir. Azzez ve ark. (118) da benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Ancak sağlıklı ve benign gruplar arasında HE4 düzeyi açısından anlamlı farklılık saptamayan çalışmalar da bulunmaktadır (60,121). Bu farklılığın çalışmalardaki benign gruplarda yer alan hastalıkların histolojik tiplerinin farklı olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Van Gorp ve ark (61) benign over tümörlerindeki HE4 düzeylerini değerlendirmiş, kistadenom/kistadenofibromlarda endometriozis ile karşılaştırıldığında anlamlı yüksek HE4 düzeyleri tespit edilmiştir. Bizim benign grubumuzdaki en yaygın hastalık da kistadenom/kistadenofibromdur.

Belirteçlerin Farklı Evrelerdeki Maligniteleri Benign Gruptan Ayırabilme Kapasitelerinin Değerlendirilmesi:

Çalışmamızda hem erken evre hem de geç evre gruplarda CA125 ve HE4'ün ortanca değerleri benign gruptan anlamlı yüksekti (CA125 ve HE4 için $p<0,001$). Drapkin ve ark. (73) normal over yüzey epitelinde HE4'ün eksprese edilmediğini, EOC'nin gelişimi sırasındaki kortikal inklüzyon kisti oluşumu ve mülleriye metaplazi sürecinde HE4 proteininin açığa çıktığını saptamışlar ve bu nedenle HE4'ün erken evrede yükselme gösterebileceğini öngörmektedirler. CA125'in erken evre hastaların %50-60'ında yükseldiği bilinmektedir (10). Azeez ve ark. (118) da çalışmamıza benzer şekilde her iki belirteçin de erken evrede benign gruptan anlamlı yüksek olduğunu, ancak erken evre-benign ayrımında HE4'ün duyarlılığının CA125'ten daha yüksek olduğunu belirtmektedir. Erken evre için HE4'ün duyarlılığının CA125'ten daha iyi olduğunu saptayan başka çalışmalar da bulunmaktadır (58,124,125). Ruggeri ve ark. (60) ise erken evre için CA125'in duyarlılığının daha yüksek olduğunu belirtmektedir. Montagnana ve ark. (123) her iki belirteçin de erken evrede sağlıklı gruptan anlamlı yüksek olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda her iki belirteç hastalığın şiddeti ile birlikte anlamlı artış gösterdi (HE4 için $p=0,022$; CA125 için $p=0,048$). Bulgularımıza benzer şekilde her iki tümör belirteçinin de hastalığın evresi ile belirgin şekilde ilişkili olduğu, geç evrede erken evreye göre anlamlı yüksek düzeyler saptandığı diğer araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (123–125).

Çalışmamızda geç evre grubun Mezotelin ortanca değeri benign gruptan anlamlı yüksek bulunurken ($p<0,001$), erken evrede anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,537$). Bizim bulgularımızdan farklı olarak Azeez ve ark. (118) Mezotelin düzeyinin erken evrede benign gruptan anlamlı yüksek olduğunu saptamıştır. Huang ve ark. (117) da Mezotelin düzeyinin Evre I ile IV arasında anlamlı artış gösterdiğini belirtmektedir. Çalışmamızda da Mezotelin düzeyi geç evrede erken evreden anlamlı yüksekti ($p=0,005$). Mezotelin ile yapılan çalışmalarda, mezotelinin CA125'e bağlandığı belirtilmekte ve over kanserinin peritoneal yayılımını sağlayabildiği öngörülmektedir (69,95). Bu bilgilere dayanarak geç evrede bulunan artışın buna bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda geç evre grubun YKL-40 ortanca değerinin benign gruptan anlamlı yüksek olduğu ($p=0,001$), erken evrede ise anlamlı farklılık olmadığı saptandı ($p=0,185$). Dupont ve ark. (120), Zou ve ark.'nın (119) çalışmalarında EOC'li hastalarda YKL-40 düzeyinin artan FIGO evresi ile birlikte lineer bir artış gösterdiği belirtilmektedir. Bizim

çalışmamızda da istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte Zou ve ark.'nın bulgularına benzer şekilde geç evrede YKL-40 düzeyinin erken evreden 1,75 kat yüksek olduğu belirlendi ($p=0,099$).

Belirteçlerin Farklı Histolojik Tip Maligniteleri Benign Gruptan Ayırabilme Kapasitelerinin Değerlendirilmesi:

Belirteçlerin farklı histolojik tip maligniteleri benign gruptan ayırabilme özelliğine sahip olup olmadıklarını belirlemek amacıyla nispeten yeterli olgu sayısına sahip seröz, berrak hücreli ve miks karsinomlar ile benign grup karşılaştırıldı. Çalışmamızda elde edilen veriler CA125'in seröz ($p<0,001$), berrak hücreli ($p=0,001$) ve miks ($p<0,001$) karsinomlar için ayırt edici olduğunu gösterdi. Benzer şekilde HE4 de 3 histolojik tip için ayırt ediciydi ($p<0,001$; $p=0,002$; $p=0,003$). YKL-40'ın berrak hücreli ($p=0,034$) ve miks ($p=0,014$) karsinomlar için ayırt edici olduğu saptanırken, Mezotelinin seröz ($p<0,001$) ve miks ($p=0,003$) karsinomlar için ayırt edici olduğu saptandı. LyGDI ise yalnızca seröz karsinomlar ($p=0,011$) için ayırt ediciydi ve diğer belirteçlerden farklı olarak seröz karsinomlarda LyGDI ortanca değeri benign gruptan daha düşüktü.

Verilerimiz HE4 ve CA125'in söz konusu 3 histolojik tip için, YKL-40'ın seröz ve miks karsinomlar için ayırt edici olduğunu saptayan Yip ve ark.'nın (126) bulgularıyla büyük oranda benzerdir. Çalışmamızda yer alan ($n=13$) ve diğer çalışmada yer alan ($n=84$) seröz karsinom sayısı oldukça farklıdır. Hogdall ve ark. (86) YKL-40 ekspresyonunun en sık seröz karsinomlarda gözlendiğini belirtmektedir. Çalışmamızda da YKL-40 düzeyi seröz karsinomlarda artmış olmakla birlikte bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Çalışmamızın Mezotelin verileri de; 14 seröz karsinomun tümünde, 8 berrak hücreli karsinomun 6'sında mezotelin ekspresyonu olduğunu gösteren Ordonez'in (93) çalışmasıyla paralellik göstermektedir. Başka araştırmacılarda mezotelin ekspresyonunun, seröz karsinomların çoğunda var olduğunu, diğer histolojik tiplerde daha az düzeylerde açığa çıktığını göstermiştir (91,92). Mezotelin GPI kancası ile membrana bağlı olan bir hücre yüzey glikoproteindir ve seruma dökülebilmektedir (87,90). Bu nedenle ekspresyon artışına paralel olarak serumda daha yüksek saptanması olağandır.

Çalışmamızın LyGDI verilerinin ise seröz karsinomlarda en sık upregüle olan genin LyGDI olduğunu saptayan Tapper ve ark.'nın (115), seröz, miks karsinomlarda LyGDI

ekspresyon artışının daha yüksek oranda olduğunu belirten Stevens ve ark.'nın (116) sonuçlarıyla uyumlu olmadığı görülmektedir. LyGDI sitozolik bir proteindir (104). Bu nedenle serum düzeyini ölçmek yerine proteinin ekspresyon düzeyini değerlendirmek daha uygun bir yaklaşım olabilir.

Belirteçlerin Menapoz Etkenine Göre Değerlendirilmesi:

Belirteç düzeyleri yaş, cinsiyet, menopoz etkeni gibi kişisel özelliklerden etkilenebilmektedir. CA125'in sağlıklı premenapozal kadınlarda anlamlı yüksek, HE4'ün ise postmenapozal kadınlarda anlamlı yüksek olduğu ve 40 yaşın üzerinde yaşla birlikte yükseldiği saptanmıştır (127,128). Lowe ve ark. (129) Mezotelin düzeylerinin sağlıklı postmenapozal kadınlarda yaşla birlikte arttığını, Johansen ve ark. (130) YKL-40 düzeylerinin sağlıklı kadınlarda yaşla birlikte arttığını belirtmektedir.

Çalışmamızdaki sağlıklı ve benign gruplarda yer alan premenapozal ve postmenapozal dönemdeki bireylerin belirteç değerleri karşılaştırıldı. Hiçbir belirtecin sağlıklı gruptaki premenapozal ve postmenapozal kadınlar arasında anlamlı farklılık göstermediği saptanmakla birlikte LyGDI ve Mezotelin değerleri postmenapozal kadınlarda daha düşük iken; YKL-40 ve HE4 değerleri postmenapozal kadınlarda daha yüksekti. CA125 değerleri ise premenapozal ve postmenapozal kadınlarda hemen hemen aynıydı. Bizim çalışmamızdan farklı olarak Escudero ve ark. (124), Molina ve ark. (125) CA125 düzeylerinin sağlıklı premenapozal kadınlarda postmenapozal kadınlara göre anlamlı yüksek olduğunu belirtirken; çalışmamıza benzer şekilde HE4 düzeylerinin anlamlı olmasa da postmenapozal kadınlarda daha yüksek olduğu vurgulanmaktadır.

Benign gruptaki premenapozal ve postmenapozal kadınlar arasında LyGDI ve YKL-40 değerleri açısından anlamlı farklılık yokken ($p=0,223$; $p=0,133$), Mezotelin ve HE4 değerlerinin postmenapozal kadınlarda ($p=0,038$; $p=0,018$), CA125 değerlerinin premenapozal kadınlarda ($p=0,029$) anlamlı yüksek olduğu saptandı. Benign gruptaki HE4 ve CA125 ile ilgili bulgularımıza benzer sonuçlar Moore ve ark. (58) tarafından da bildirilmiştir ve iki belirtecin birbirini tamamlayıcı özellikte olduğu vurgulanmaktadır.

Belirteçlerin premenapozal ve postmenapozal kadınlardaki ayırım gücünü değerlendirmek amacıyla her iki grupta yer alan sağlıklı, benign ve malign olguların belirteç düzeyleri karşılaştırıldı. Premenapozal dönemdeki karşılaştırma; malign grupta HE4 ve CA125 değerlerinin hem sağlıklı ($p=0,001$; $p<0,001$), hem de benign gruptan ($p<0,001$;

p=0,001); benign grupta da sağlıklı gruptan (p=0,021; p=0,026) anlamlı yüksek olduğunu gösterdi. Diğer belirteçler açısından premenapozal dönemdeki gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Postmenapozal dönemdeki karşılaştırmada da CA125 ve HE4 premenapozal dönemdekine benzer performans göstermekle birlikte; HE4 benign grupta sağlıklı gruptan anlamlı yüksekken (p=0,005) CA125 açısından iki grup arasında anlamlı farklılık yoktu (p=0,780). Ayrıca malign grupta Mezotelin ve YKL-40 değerleri de sağlıklı gruptan anlamlı yüksek iken (p<0,001; p<0,001), malign ve benign gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p=0,281; p=0,518). Bizim çalışmamıza benzer şekilde Chan ve ark. (131) da hem premenapozal hem de postmenapozal dönemde; CA125 ve HE4 düzeylerinin malign grupta benign gruptan yüksek olduğunu belirtmektedir. Malign gruplarında EOC dışında diğer over maligniteleri de bulunmasına rağmen Van Gorp ve ark.'nın (61) da CA125 ve HE4 ile ilgili bulguları çalışmamızla benzerdir. Çalışma verilerimize göre HE4 ve CA125 hem premenapozal hem de postmenapozal dönemde benign-sağlıklı/malign ayrımını yapabilecek belirteçlerdir. Moore ve ark. (58) HE4'ün premenapozal dönemde tanısallık performansının CA125'e göre daha yüksek olduğunu, postmenapozal dönemde ise her iki belirteçin benzer performans gösterdiğini belirtmektedir. Bir başka çalışmada premenapozal dönemde HE4'ün postmenapozal dönemde ise CA125'in daha yararlı olduğu vurgulanmaktadır (112).

Belirteçlerin Tanısal Performanslarının ROC Eğrilerine Göre Değerlendirilmesi:

Belirteçlerin performansının değerlendirilmesinde ROC eğrilerinin çizilmesi bu eğrilerin; eğri altında kalan alan (ROC-AUC) ile özetlenmesi yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Çalışmamızda da sağlıklı-benign, sağlıklı-malign ve benign-malign grupların ayrımında belirteçlerin performansını değerlendirmek için ROC eğrileri çizildi ve ROC-AUC hesaplandı.

Sağlıklı-Benign Grupların Ayrımı:

Çalışmamızda yer alan sağlıklı-benign grupların ayrımında en başarılı belirteç CA125'ti. Bunu HE4 takip etti. HE4 ve CA125 ROC-AUC değerleri arasında anlamlı farklılık yoktu (p=0,793). LyGDI, Mezotelin ve YKL-40'ın ROC-AUC değerleri ise CA125'ten anlamlı düşüktü. Azzam ve ark. (121) sağlıklı-benign ayrımında HE4'ün ROC-AUC değerinin CA125'ten anlamlı düşük olduğunu, %90, %95 ve %98 özgüllük düzeylerinde CA125'in duyarlılıklarının sırasıyla %64, %50, %49; HE4'ün ise %12, %10 ve

%9 olduğunu belirtmektedir. HE4 düzeyi normal iken CA125 düzeyinin yükselmesinin daha çok benign durumlara yönlendirilmesini sağlayacağı, her iki belirtecin yüksek olmasının EOC varlığını göstereceği, CA125 düzeyi normal iken HE4'ün yükselmesinin ise EOC veya endometrial kanser gibi başka bir kanser varlığını göstereceği vurgulanmaktadır. İki belirtecin birlikte ölçülmesinin EOC ve benign over tümörü olan hastaların sağlıklı bireylerden ayırt edilmesi açısından yararlı olabileceği belirtilmektedir. Bizim çalışmamızda da sözkonusu özgüllük düzeylerinde CA125'in duyarlılığı sırasıyla %50, %43, %43; HE4'ün duyarlılığı ise %43, %16 ve %16 olarak hesaplanmıştır. Huhtinen ve ark. (132) da benign grubun sadece endometriyal hastalardan oluştuğu çalışmalarında benzer sonuçlar saptamıştır.

Sağlıklı-Malign Grupların Ayrımı:

Çalışmamızda yer alan sağlıklı-malign grupların ayrımında da en başarılı belirteç CA125'ti. Bunu HE4 takip etti. HE4 ve CA125 ROC-AUC değerleri arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0,086$). Mezotelin ve YKL-40'ın ROC-AUC değerleri ise CA125'ten anlamlı düşüktü. LyGDI için hesaplanan ROC-AUC değeri; bu belirtecin söz konusu grupları ayırma kapasitesinin olmadığını gösterdi. Zhen ve ark. (114) bizim çalışmamızdan farklı olarak LyGDI'nın sağlıklı ve malign grupları ayırma kapasitesine sahip olduğunu belirtmektedir.

McIntosh ve ark. (133) Mezotelinin ROC-AUC değerinin CA125'ten düşük olduğunu ($p=0,67$), %98 özgüllük düzeyinde CA125'in duyarlılığının %78,8, Mezotelinin duyarlılığının %59,6 olduğunu belirtmektedir. Bizim çalışmamızda %98 özgüllük düzeyinde CA125'in duyarlılığı %100 ve Mezotelinin duyarlılığı %51,6 olarak hesaplanmaktadır. İki çalışmadaki malign grupta yer alan olgu sayısı benzer iken diğer araştırmacıların çalışmasında sağlıklı gruptaki olgu sayısı 220 gibi yüksek bir değerdir.

Dupont ve ark. (120) YKL-40'ın ROC-AUC değerinin CA125'ten anlamlı yüksek olduğunu, %90 özgüllük düzeyinde YKL-40'ın duyarlılığının %72, %95 özgüllük düzeyinde CA125'in duyarlılığının %47 olduğunu belirtmektedir. Çalışmada YKL-40 için saptanan ROC-AUC değeri bizim çalışmamızla benzerdir, bizim çalışmamızda da %90 özgüllük düzeyinde YKL-40'ın duyarlılığı %61,3 olarak hesaplanmıştır.

Hellström ve ark. (134) bizim çalışmamıza benzer şekilde HE4 ve CA125 ROC-AUC değerleri arasında anlamlı fark olmadığını saptamış, HE4 ve CA125'in EOC'ni sağlıklı bireylerden ayırt etmede benzer yeteneğe sahip olduğuna karar vermişlerdir. Montagnana ve

ark. (123) HE4'ün CA125'le karşılaştırıldığında anlamlı yüksek ROC-AUC değerine sahip olduğunu, %100 özgüllük düzeyinde CA125'in duyarlılığının %83; HE4'ün duyarlılığının %98 olarak hesaplandığını belirtmektedir. Huhtinen ve ark. (132) %95 özgüllük düzeyinde CA125 ve HE4'ün duyarlılığının eşit olduğunu (%78,6) saptamıştır. Bizim çalışmamızda da %95 ve %100 özgüllük düzeylerinde CA125'in duyarlılıkları %100 iken HE4'ün duyarlılıkları %81 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmalardaki malign/sağlıklı oranının farklı olmasının ve bizim çalışmamızda malign grubun CA125 değerlerinin oldukça yüksek saptanmasının sonuçları etkileyebilecek bir faktör olduğu düşünülmektedir.

Benign-Malign Grupların Ayrımı:

Çalışmamızda yer alan benign-malign grupların ayrımında belirteçlerin tanısallık performansı ROC eğrilerinin yanı sıra, bu eğrilerden yararlanılarak belirlenen eşik değerlere göre de değerlendirildi. Benign ve malign grupların ayrımında en yüksek ROC-AUC değerine sahip belirteç CA125'ti. CA125 için 64,3 U/mL olarak belirlenen eşik değerinde duyarlılık %87,1; özgüllük %80; PPV %81,8 ve NPV %85,7 olarak hesaplandı.

Çalışmamızda LyGDI için hesaplanan ROC-AUC değeri; bu belirteçin söz konusu grupları ayırma kapasitesinin olmadığını gösterdi. Bizim çalışmamızdan farklı olarak Zhen ve ark. (114) LyGDI'nın benign ve malign grupları ayırma kapasitesinin olduğunu, eşik değer 1,5 ng/mL alındığında duyarlılığın ve özgüllüğün %83,3 olarak hesaplandığını belirtmektedir. Bu çalışmada CA125 için (eşik değer: 35 U/mL) duyarlılık %80 ve özgüllük %91,7 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmamızın YKL-40 verileri değerlendirildiğinde; YKL-40'ın ROC-AUC değerinin CA125'in ROC-AUC değerinden anlamlı düşük olduğu ($p=0,0020$), yani bu belirteçin söz konusu iki grubu ayırma kapasitesinin CA125'ten düşük olduğu belirlendi. YKL-40 için 173,25 ng/mL olarak belirlenen eşik değerinde duyarlılık %45,2; özgüllük %80; PPV %70 ve NPV %58,5 olarak hesaplandı. Dupont ve ark. (120) ise YKL-40 ve CA125'in ROC-AUC değerleri arasında anlamlı farklılık olmadığını belirtmektedir. Zou ve ark. (119) da EOC'li hastaların kontrol grubundan (sağlıklı+benign) ayrımında YKL-40'ın CA125'ten anlamlı yüksek ROC-AUC değerine, %92,9 duyarlılık ve %94,4 özgüllüğe sahip olduğunu belirtmektedir (eşik değer: 121,5 ng/mL). Bu çalışmada CA125 için duyarlılık %73,8 ve özgüllük %86,1 (eşik değer: 35 U/mL) olarak hesaplanmıştır. Bizim çalışmamıza benzer

şekilde Yip ve ark. (126) YKL-40'ın CA125'ten daha düşük ROC-AUC değerine sahip olduğunu belirtmektedir.

Çalışmamızın Mezotelin verileri değerlendirildiğinde; Mezotelinin ROC-AUC değerinin CA125'in ROC-AUC değerinden anlamlı düşük olduğu ($p=0,0063$) saptandı. Mezotelin için 22,97 ng/mL olarak belirlenen eşik değerinde duyarlılık %70,9; özgüllük %80; PPV %78,6 ve NPV %72,7 olarak hesaplandı. Azeez ve ark. (118) Mezotelinin CA125'ten daha düşük bir ROC-AUC değerine sahip olduğunu, CA125'in duyarlılık ve özgüllüğünün sırasıyla %73,2 ve %79,2; Mezotelinin duyarlılık ve özgüllüğünün sırasıyla %70,7 ve %83,3 olduğunu belirtmektedir. Bizim çalışmamızda %83,3 özgüllük düzeyinde Mezotelinin duyarlılığı %51,6, %80 özgüllük düzeyinde CA125'in duyarlılığı %87'dir. McIntosh ve ark. (133) ise Mezotelinin CA125'ten daha düşük bir ROC-AUC değerine sahip olduğunu ($p=0,85$), %98 özgüllük düzeyinde CA125'in duyarlılığının %37,2; Mezotelinin duyarlılığının %28,8 olduğunu belirtmektedir. Bizim çalışmamızda da %98 özgüllük düzeyinde CA125'in duyarlılığı %32,3 ve Mezotelinin duyarlılığı %35,5 olarak hesaplanmaktadır.

Çalışmamızın HE4 verileri değerlendirildiğinde; HE4'ün ROC-AUC değeri ile CA125'in ROC-AUC değeri arasında anlamlı fark olmadığı ($p=0,7256$) saptandı. HE4 için 74,75 pM olarak belirlenen eşik değerinde duyarlılık %83,9; özgüllük %83,3; PPV %83,9 ve NPV %83,3 olarak hesaplandı. Bu veriler iki grubun ayrımında CA125 ve HE4'ün benzer kapasitede olduğunu göstermektedir. Çeşitli yayınlar bir over kanser belirteci olarak HE4'ün CA125'ten daha üstün olduğunu savunmaktadır. Hellström ve ark. (134) HE4 ve CA125 ROC-AUC değerleri arasında anlamlı farklılık olmadığını, %100 özgüllükte CA125'in duyarlılığının %10,8 iken HE4'ün duyarlılığının %56,7 olduğunu ($p=0,001$), HE4'ün yüksek özgüllükte EOC'ni benign over hastalığı olan bireylerden ayırt etmede CA125'ten daha iyi performans gösterdiğini belirtmektedir. Bizim çalışmamızda da %100 özgüllük düzeyinde CA125'in duyarlılığı %32,3 iken HE4'ün duyarlılığı %74,2'dir. Huhtinen ve ark. (132) EOC ve endometriomanın ayrımında; %95 özgüllük düzeyinde HE4'ün duyarlılığını %71,4 ve CA125'in duyarlılığını %64,3 olarak bildirmiştir. Bizim çalışmamızda yer alan 10 endometriomalı hastanın 5'inde CA125 düzeyi eşik değerin üzerindeyken, HE4 düzeyi eşik değerin üzerinde olan sadece 1 hasta yer almaktadır. Molina ve ark. (125) CA125 için (eşik değer: 35 U/mL) duyarlılık, özgüllük, PPV, NPV ve verimliliğin sırasıyla %82,9; %70,9; %52,6; %91,4 ve %74,2; HE4 için (eşik değer: 140 pM) %79,9; %98,9; %96,7; %92,5 ve %93,4 olduğunu ve HE4'ün CA125'ten daha yüksek verimliliğe sahip bir belirteç olduğunu

belirtmektedir. Bizim çalışmamızda CA125 (eşik değeri: 64,3 U/mL) ve HE4'ün (eşik değeri: 74,75 pM) verimliliğinin eşit olduğu (%83,6) saptanmıştır. Biz de 35 U/mL ve 140 pM eşik değerlerini kullandığımızda CA125 için duyarlılık, özgüllük, PPV, NPV ve verimliliğin sırasıyla %96,8; %73,3; %78,9; %95,6 ve %85,2; HE4 için %74,2; %96,6; %95,8; %78,3 ve %85,2'dir. Montagnana ve ark. (123) benign-malign ayırımında HE4'ün CA125'ten daha iyi bir performans sergilemediğini belirtmektedir. Azeer ve ark. (118) HE4'ün ROC-AUC değerinin CA125'ten yüksek olduğunu, HE4'ün duyarlılık ve özgüllüğünün %82,9 ve %87,5 (eşik değeri: 72 pM); CA125'in duyarlılık ve özgüllüğünün %73,2 ve %79,2 (eşik değeri: 35 U/mL) olarak saptandığını belirtmekte, HE4'ün hem duyarlılık, hem de özgüllüğünün daha iyi olduğu vurgulanmaktadır. HE4 ile ilgili verilerimiz her iki belirtecin karşılaştırılabilir performans sergilediğini göstermektedir. Bu belirtecin CA125'in özellikle özgüllük konusundaki eksikliğini tamamlayabilecek nitelikte olduğunu belirten çalışmalarla uyumludur. Bizim çalışmamızda CA125'in diğer belirteçlerden daha iyi performans göstermesinin mantıklı bir açıklaması da sınırlı sayıdaki malign grubumuzda çok sayıda hastanın çok yüksek CA125 değerlerine sahip olması olabilir.

Lojistik Regresyon Modeli ile Belirteç/Belirteç Kombinasyonlarının Değerlendirilmesi:

Çalışmamızda bireysel olarak her bir belirteç ve değişik belirteç kombinasyonları için lojistik regresyon modelleri tahmin edildi. Lojistik regresyon modellerinde belirteç veya belirteçlerin yanısıra menapoz etkeni de bağımsız değişken olarak kullanıldı. Çünkü kişinin menapozda olup olmaması malign veya benign olma durumunda başlı başına önemli bir belirleyiciydi. Her bir lojistik regresyon modeli için ROC eğrileri oluşturularak %80, %90 ve %95 özgüllük düzeylerindeki duyarlılıklar tahmin edildi. Lojistik regresyon modeli ile yapılan tahmin sonucunda; bireysel olarak tüm belirteçlerin ROC-AUC değerlerinin ve tüm özgüllük düzeylerinde duyarlılıklarının arttığı saptandı. HE4 en yüksek ROC-AUC değerine sahip belirteçti. Ancak CA125 ve HE4 ROC-AUC değerleri arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0,924$). Mezotelin ve YKL-40'ın ROC-AUC değerleri ise CA125'ten anlamlı olarak düşüktü. %80 özgüllükte en yüksek duyarlılık HE4' için (%93,6) belirlenirken, %90 ve %95 özgüllüklerde en duyarlı belirteç CA125'ti (%90,3).

İkili Kombinasyonlar:

Çalışmamızda CA125+HE4, CA125+Mezotelin, CA125+YKL-40 şeklinde oluşturulan ikili kombinasyonların ROC-AUC değerleri ile CA125 ROC-AUC değeri

arasında anlamlı farklılık yoktu. İkili kombinasyonlar arasında %80 özgüllük düzeyinde en yüksek duyarlılık (%93,6) CA125+HE4 ve CA125+YKL-40 kombinasyonunda hesaplandı. Bu iki kombinasyon tek başına CA125'in duyarlılığını %3,3 oranında arttırmakla birlikte %90 özgüllük düzeyinde iki kombinasyonun da duyarlılığı CA125'e eşitti (%90,3). %95 özgüllük düzeyinde ise CA125+YKL-40 kombinasyonunun duyarlılığı CA125'e eşitken, CA125+HE4 kombinasyonunun duyarlılığı (%83,9) CA125'ten düşüktü. Azeez ve ark. (118) CA125, HE4 ve Mezotelinin yer aldığı çalışmalarında; %79,2 özgüllük düzeyinde CA125+HE4 kombinasyonunun duyarlılığının (%90,2) tek başına CA125 (%73,2) ve tek başına HE4 (%82,9)'ten yüksek olduğunu belirtmektedir. Moore ve ark. (58) CA125, HE4, Mezotelin, CA72-4, aktivin A, inhibin, osteopontin, EGFR ve Her-2'den oluşan belirteçleri değerlendirdikleri çalışmalarında; %90, %95 ve %98 özgüllük düzeylerinde CA125+HE4 kombinasyonunun (duyarlılıklar sırasıyla %80,7; %76,4; %71,6) hem tek başına CA125'in (duyarlılıklar sırasıyla %61,2; %43,3; %23,9) hem de HE4'ün (duyarlılıklar sırasıyla %%77,6; %72,9; %64,2) duyarlılığını arttırdığını ve bu kombinasyonun ikili kombinasyonlar arasında en başarılı olan kombinasyon olduğunu belirtmektedir. Benzer sonuçlar Nolen ve ark. (135) tarafından %85 özgüllük düzeyi için bildirilmiştir. Araştırmacılar CA125+HE4 kombinasyonunun her iki belirteçin tek başına kullanılmasına göre daha iyi bir potansiyel sağlayacağını belirtmektedir. Çalışmamızın verileri kısmen bu çalışmalarla uyumlu olmakla birlikte %90, %95 özgüllük düzeylerinde CA125+HE4 kombinasyonunun (duyarlılıklar sırasıyla %90,3 ve %83,9) CA125'in (duyarlılıklar sırasıyla %90,3 ve %90,3) değil HE4'ün duyarlılığını (sırasıyla %83,9 ve %77,4) arttırdığını göstermektedir.

Çalışmamızda %80, %90, %95 özgüllük düzeylerinde CA125+Mezotelin kombinasyonu (duyarlılıklar sırasıyla %90,3; %90,3; %83,9) Mezotelinin duyarlılığını (sırasıyla %83,9; %54,8; %38,7) arttırırken CA125'in duyarlılığını (sırasıyla %90,3; %90,3; %90,3) arttırmadı. McIntosh ve ark. (133) %98 özgüllük düzeyinde CA125+Mezotelin kombinasyonunun duyarlılığının (%44,1) tek başına CA125 (%37,2) ve Mezotelinden (%28,8) yüksek olduğunu saptamıştır. Azeez ve ark. (118) %79,2 özgüllük düzeyinde CA125+Mezotelin kombinasyonunun duyarlılığının (%75,6) tek başına CA125 (%73,2) ve tek başına Mezotelin (%70,7)'den yüksek olduğunu ve bizim çalışmamıza benzer şekilde söz konusu kombinasyonun duyarlılığının CA125+HE4 (%90,2) kombinasyonundan düşük olduğunu belirtmektedir. Benzer sonuçlar Moore ve ark. (58) tarafından da bildirilmiştir.

Üçlü Kombinasyonlar:

Çalışmamızda CA125+HE4+Mezotelin, CA125+HE4+YKL-40, CA125+YKL-40+Mezotelin şeklinde oluşturulan üçlü kombinasyonların ROC-AUC değerleri ile CA125 ROC-AUC değeri arasında anlamlı farklılık yoktu. Üçlü kombinasyonlar arasında arasında %80, %90, %95 özgüllük düzeylerinde en yüksek duyarlılık (sırasıyla %96,8; %93,6; %90,3) CA125+HE4+Mezotelin kombinasyonu ile elde edildi. Söz konusu kombinasyon tüm özgüllük düzeylerinde hem CA125+HE4 (duyarlılıklar sırasıyla %93,6; %90,3; %83,9) hem de CA125+Mezotelin kombinasyonunun (duyarlılıklar sırasıyla %90,3; %90,3; %83,9) duyarlılığını arttırdı. Azeer ve ark. (118) bizim çalışmamızdan farklı olarak %79,2 özgüllük düzeyinde CA125+HE4+Mezotelin kombinasyonunun duyarlılığının (%90,2) CA125+Mezotelin kombinasyonunun duyarlılığını (%75,6) arttırdığını ancak CA125+HE4 kombinasyonunun (%90,2) duyarlılığını değiştirmediğini belirtmektedir. Moore ve ark. (58)'nin bulguları da Azeer ve ark.'nın sonuçlarına benzerdir.

Çalışmalarda yaş dağılımının, menapoz etkeninin, malign ve benign gruplardaki histolojik tiplerin, malign grupta yer alan tümörlerin evre ve *grade* dağılımının farklı olması belirteçlerin performansını etkileyebilecek nedenlerdir ve çalışmaların karşılaştırılabilirliğini güçleştirmektedir. Bizim çalışmamızda belirteç/belirteç kombinasyonlarının diğer çalışmalara oranla daha yüksek duyarlılık göstermesinin sebebi lojistik regresyon modeli tahmininde menapoz etkeninin de bağımsız bir değişken olarak modele dahil edilmesi olabilir.

Dörtlü Kombinasyon:

Çalışmamızda son olarak 4 belirteç kombine edilerek değerlendirildi. CA125+HE4+Mezotelin+YKL-40 kombinasyonunun ROC-AUC değeri ile CA125 ROC-AUC değeri arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,301$). Dörtlü kombinasyonun %80 ve %90 özgüllük düzeylerindeki duyarlılığı (sırasıyla %96,8 ve %93,6) CA125+HE4+Mezotelin kombinasyonunun duyarlılığına eşit iken; %95 özgüllük düzeyinde söz konusu üçlü kombinasyonun duyarlılığını %3,3 oranında arttırdı (%90,3'e karşı %93,6).

Sonuç olarak;

- Çalışmamız; EOC ve benign over tümörlerinin ayırımında, söz konusu belirteç kombinasyonunun değerlendirildiği ilk çalışmadır.
- Verilerimiz her bir belirteçin kendine özgü kuvvetli ve zayıf yönleri olduğunu göstermektedir. Belirteçlerin evre, histolojik tip, menapoz etkenine göre veya benign tümörlerde yükselme eğilimindeki farklılıklar çoklu belirteç stratejilerinin gerekliliklerini vurgulamaktadır. Belirteç kombinasyonu oluşturulması ile hedeflenen, özellikle benign ve malign ayırım gücünün artırılması ve serumda bu performansı sergileyebilecek bir kombinasyon panelinin oluşturulmasıdır.
- Benign-malign ayırımında panele kombine edilen belirteç sayısının artırılması bireysel belirteçler ve ikili kombinasyonlara göre duyarlılığı arttırmıştır. CA125, HE4, Mezotelin ve YKL-40'dan oluşan dörtlü kombinasyon ile %95 özgüllük düzeyinde en yüksek duyarlılık düzeyi (%93,6) elde edilmiştir. Bu bulgularımız çok sayıda belirteçin kombine edilmesi ile daha iyi bir tanısal performans sağlanabileceğini ve özellikle benign-malign ayırımının sağlanmasında daha yararlı bir belirteç panelinin elde edildiğini göstermektedir. Lojistik regresyon modelini uygularken bir değişken olarak eklediğimiz menapoz etkeni de göz önüne alındığında, CA125+HE4+Mezotelin+YKL-40 kombinasyonu benign-malign ayırımında yararlı olabilecek bir kombinasyondur ve daha ileri araştırmaları da hak etmektedir.
- Yukarıda da belirtildiği gibi ne yazık ki bu alanda yapılan tüm çalışmalar grup, belirteç veya yaş, menapoz etkeni, histolojik tip, evre, *grade* gibi pek çok değişkene bağlı farklılıklar içerdiği için çalışmaları birebir karşılaştırmak mümkün olamamaktadır. Bu nedenle her çalışmanın performansı kendi içinde değerlendirilmektedir. Bu bağlamda kendi çalışmamızı değerlendirdiğimizde, dörtlü kombinasyonun benign-malign ayırımında CA125'ten daha duyarlı olduğunu söylemek mümkün olsa da çalışma gruplarının sayılarının artırılması ve böylece belirteç/belirteç kombinasyonlarının histolojik tip, evre, menapoz etkenine göre değerlendirilmesinin daha verimli olabileceğini öngörmekteyiz. Ayrıca EOC over kanserlerinin büyük çoğunluğunu oluşturmakla birlikte nonepitelyal tümörlerin ve metastatik karsinomların da dahil edileceği bir grubun oluşturulmasının daha gerçekçi bir klinik ortamı yansıtacağını düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR ve EKLER

6.1. KAYNAKLAR

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2011;61(2):69–90.
2. Epithelial ovarian cancer. In: Schorge J, Schaffer J, Halvorson L, Hoffman B, Bradshaw K, Cunningham F, eds. *Williams Gynecology*. 1st ed. 2008. p. 716–38.
3. Chen VW, Ruiz B, Killeen JL, Coté TR, Wu XC, Correa CN. Pathology and classification of ovarian tumors. *Cancer*. 2003 May 15;97(10 Suppl):2631–42.
4. Lalwani N, Prasad SR, Vikram R, Shanbhogue AK, Huettner PC, Fasih N. Histologic, molecular, and cytogenetic features of ovarian cancers: implications for diagnosis and treatment. *Radiographics*. 2011;31(3):625–46.
5. Gagnon A, Ye B. Discovery and application of protein biomarkers for ovarian cancer. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*. 2008 Feb;20(1):9–13.
6. Li J, Dowdy S, Tipton T, Podratz K, Lu W-G, Xie X, et al. HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial cancer management. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2009 Sep;9(6):555–66.
7. Nolen BM, Lokshin AE. Protein biomarkers of ovarian cancer: the forest and the trees. *Future Oncology*. 2012 Jan;8(1):55–71.
8. Nguyen L, Cardenas-Goicoechea SJ, Gordon P, Curtin C, Momeni M, Chuang L, et al. Biomarkers for early detection of ovarian cancer. *Women's Health (London, England)*. 2013 Mar;9(2):171–85.
9. Coleman RL and Gershenson DM. Neoplastic diseases of the ovary. In: Katz VL, Lentz GM, Lobo RA, Gershenson DM, eds. *Comprehensive Gynecology*. 5th ed. 2007. p. 839–75.
10. Rosen DG, Wang L, Atkinson JN, Yu Y, Lu KH, Diamandis EP, et al. Potential markers that complement expression of CA125 in epithelial ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*. 2005 Nov;99(2):267–77.
11. Earle CC, Schrag D, Neville BA, Yabroff KR, Topor M, Fahey A, et al. Effect of surgeon specialty on processes of care and outcomes for ovarian cancer patients. *Journal of the National Cancer Institute*. 2006 Feb 1;98(3):172–80.
12. Moore RG, McMeekin DS, Brown AK, DiSilvestro P, Miller MC, Allard WJ, et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecologic Oncology*. 2009 Jan;112(1):40–6.

13. Yazbek J, Raju SK, Ben-Nagi J, Holland TK, Hillaby K, Jurkovic D. Effect of quality of gynaecological ultrasonography on management of patients with suspected ovarian cancer: a randomised controlled trial. *The Lancet Oncology*. 2008 Feb;9(2):124–31.
14. Moore RG, Jabre-Raughley M, Brown AK, Robison KM, Miller MC, Allard WJ, et al. Comparison of a novel multiple marker assay vs the Risk of Malignancy Index for the prediction of epithelial ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2010 Sep;203(3):228.e1–6.
15. Rein BJD, Gupta S, Dada R, Safi J, Michener C, Agarwal A. Potential markers for detection and monitoring of ovarian cancer. *Journal of Oncology*. 2011 Jan;2011:475983.
16. American Cancer Society Cancer facts & figures 2008.
<http://www.cancer.org/research/cancerfactsstatistics/cancerfactsfigures2008/index>
17. Sağlık Bakanlığı Kanser Daire Başkanlığı. <http://www.kanser.gov.tr/index.php/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri.html>.
18. Auersperg N, Edelson MI, Mok SC, Johnson SW, Hamilton TC. The biology of ovarian cancer. *Seminars in Oncology*. 1998 Jun;25(3):281–304.
19. Dubeau L. The cell of origin of ovarian epithelial tumours. *The Lancet Oncology*. 2008 Dec;9(12):1191–7.
20. Schildkraut JM, Bastos E, Berchuck A. Relationship between lifetime ovulatory cycles and overexpression of mutant p53 in epithelial ovarian cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 1997 Jul 2;89(13):932–8.
21. Fathalla MF. Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia? *Lancet*. 1971 Jul 17;2(7716):163.
22. Cramer DW, Welch WR. Determinants of ovarian cancer risk. II. Inferences regarding pathogenesis. *Journal of the National Cancer Institute*. 1983 Oct;71(4):717–21.
23. Risch HA. Hormonal etiology of epithelial ovarian cancer, with a hypothesis concerning the role of androgens and progesterone. *Journal of the National Cancer Institute*. 1998 Dec 2;90(23):1774–86.
24. Cardillo MR, Petrangeli E, Aliotta N, Salvatori L, Ravenna L, Chang C, et al. Androgen receptors in ovarian tumors: correlation with oestrogen and progesterone receptors in an immunohistochemical and semiquantitative image analysis study. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 1998 Jun;17(2):231–7.
25. Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Gordon GB, Longcope C, Bush TL, Hoffman SC, et al. Serum gonadotropins and steroid hormones and the development of ovarian cancer. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 1995 Dec 27;274(24):1926–30.

26. Schüler S, Ponnath M, Engel J, Ortmann O. Ovarian epithelial tumors and reproductive factors: a systematic review. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2013 Jun;287(6):1187-204.
27. Fauvet R, Dufournet Etienne C, Poncelet C, Bringuier A-F, Feldmann G, Daraï E. Effects of progesterone and anti-progestin (mifepristone) treatment on proliferation and apoptosis of the human ovarian cancer cell line, OVCAR-3. *Oncology Reports*. 2006 Apr;15(4):743–8.
28. Ness RB, Cottreau C. Possible role of ovarian epithelial inflammation in ovarian cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 1999 Sep 1;91(17):1459–67.
29. Haruta S, Furukawa N, Yoshizawa Y, Tsunemi T, Nagai A, Kawaguchi R, et al. Molecular genetics and epidemiology of epithelial ovarian cancer (Review). *Oncology Reports*. 2011 Dec;26(6):1347–56.
30. Titus-Ernstoff L, Perez K, Cramer DW, Harlow BL, Baron JA, Greenberg ER. Menstrual and reproductive factors in relation to ovarian cancer risk. *British Journal of Cancer*. 2001 Mar 2;84(5):714–21.
31. Lerner-Geva L, Liat L-G, Rabinovici J, Jaron R, Olmer L, Liraz O, et al. Are infertility treatments a potential risk factor for cancer development? Perspective of 30 years of follow-up. *Gynecological Endocrinology*. 2012 Oct;28(10):809–14.
32. Jordan SJ, Cushing-Haugen KL, Wicklund KG, Doherty JA, Rossing MA. Breast-feeding and risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Causes & Control*. 2012 Jun;23(6):919–27.
33. McNeilly AS. Lactational control of reproduction. *Reproduction, Fertility, and Development*. 2001 Jan;13(7-8):583–90.
34. Chittenden BG, Fullerton G, Maheshwari A, Bhattacharya S. Polycystic ovary syndrome and the risk of gynaecological cancer: a systematic review. *Reproductive Biomedicine Online*. 2009 Sep;19(3):398–405.
35. Rosenberg L, Palmer JR, Zauber AG, Warshauer ME, Lewis JL, Strom BL, et al. A case-control study of oral contraceptive use and invasive epithelial ovarian cancer. *American Journal of Epidemiology*. 1994 Apr 1;139(7):654–61.
36. Greiser CM, Greiser EM, Dören M. Menopausal hormone therapy and risk of ovarian cancer: systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2007;13(5):453–63.
37. Mørch LS, Løkkegaard E, Andreasen AH, Krüger-Kjaer S, Lidegaard O. Hormone therapy and ovarian cancer. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*. 2009 Jul 15;302(3):298–305.

38. Whittemore AS, Harris R, Itnyre J. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. II. Invasive epithelial ovarian cancers in white women. Collaborative Ovarian Cancer Group. *American Journal of Epidemiology*. 1992 Nov 15;136(10):1184–203.
39. Roett MA, Evans P. Ovarian cancer: an overview. *American Family Physician*. 2009 Sep 15;80(6):609–16.
40. Camargo MC, Stayner LT, Straif K, Reina M, Al-Alem U, Demers PA, et al. Occupational exposure to asbestos and ovarian cancer: a meta-analysis. *Environmental Health Perspectives*. 2011 Sep;119(9):1211–7.
41. Kobayashi H, Kajihara H, Yamada Y, Tanase Y, Kanayama S, Furukawa N, et al. Risk of carcinoma in women with ovarian endometrioma. *Frontiers in Bioscience (Elite edition)*. 2011 Jan;3:529–39.
42. Bulun SE. Endometriosis. *The New England Journal of Medicine*. 2009 Jan 15;360(3):268–79.
43. Merritt MA, De Pari M, Vitonis AF, Titus LJ, Cramer DW, Terry KL. Reproductive characteristics in relation to ovarian cancer risk by histologic pathways. *Human Reproduction*. 2013 May;28(5):1406–17.
44. Ayhan A, Başaran M. Epitelyal over kanserleri. Güner H, ed. *Jinekolojik Onkoloji*. 3rd ed. 2002. p. 199–232.
45. Kaku T, Ogawa S, Kawano Y, Ohishi Y, Kobayashi H, Hirakawa T, et al. Histological classification of ovarian cancer. *Med Electron Mikrosc*. 2003;36:9–17.
46. Ronnett BM, Shmookler BM, Sugarbaker PH, Kurman RJ. Pseudomyxoma peritonei: new concepts in diagnosis, origin, nomenclature, and relationship to mucinous borderline (low malignant potential) tumors of the ovary. *Anatomic Pathology*. 1997 Jan;2:197–226.
47. Young RH, Oliva E, Scully RE. Small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type. A clinicopathological analysis of 150 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 1994 Nov;18(11):1102–16.
48. Eichhorn JH, Young RH, Scully RE. Primary ovarian small cell carcinoma of pulmonary type. A clinicopathologic, immunohistologic, and flow cytometric analysis of 11 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 1992 Oct;16(10):926–38.
49. Goff BA, Mandel LS, Drescher CW, Urban N, Gough S, Schurman KM, et al. Development of an ovarian cancer symptom index: possibilities for earlier detection. *Cancer*. 2007 Jan 15;109(2):221–7.

50. Lutz AM, Willmann JK, Drescher CW, Ray P, Cochran F V, Urban N, et al. Early diagnosis of ovarian carcinoma: is a solution in sight? *Radiology*. 2011 May;259(2):329–45.
51. Bast RC, Badgwell D, Lu Z, Marquez R, Rosen D, Liu J, et al. New tumor markers: CA125 and beyond. *International Journal of Gynecological Cancer*. 2005;15 Suppl 3:274–81.
52. Menon U, Skates SJ, Lewis S, Rosenthal AN, Rufford B, Sibley K, et al. Prospective study using the risk of ovarian cancer algorithm to screen for ovarian cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2005 Nov 1;23(31):7919–26.
53. Gentry-Maharaj A, Menon U. Screening for ovarian cancer in the general population. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2012 Apr;26(2):243–56.
54. Sharma A, Menon U. Screening for gynaecological cancers. *European Journal of Surgical Oncology*. 2006 Oct;32(8):818–24.
55. Buys SS, Partridge E, Black A, Johnson CC, Lamerato L, Isaacs C, et al. Effect of screening on ovarian cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Randomized Controlled Trial. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*. 2011 Jun 8;305(22):2295–303.
56. Partridge E, Kreimer AR, Greenlee RT, Williams C, Xu J-L, Church TR, et al. Results from four rounds of ovarian cancer screening in a randomized trial. *Obstetrics and Gynecology*. 2009 Apr;113(4):775–82.
57. Menon U, Gentry-Maharaj A, Hallett R, Ryan A, Burnell M, Sharma A, et al. Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS). *The Lancet Oncology*. 2009 Apr;10(4):327–40.
58. Moore RG, Brown AK, Miller MC, Skates S, Allard WJ, Verch T, et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecologic Oncology*. 2008 Feb;108(2):402–8.
59. Jacobs I, Oram D, Fairbanks J, Turner J, Frost C, Grudzinskas JG. A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound and menopausal status for the accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 1990 Oct;97(10):922–9.
60. Ruggeri G, Bandiera E, Zanotti L, Belloli S, Ravaggi A, Romani C, et al. HE4 and epithelial ovarian cancer: comparison and clinical evaluation of two immunoassays and a combination algorithm. *Clinica Chimica Acta*. 2011 Jul 15;412(15-16):1447–53.

61. Van Gorp T, Cadron I, Despierre E, Daemen A, Leunen K, Amant F, et al. HE4 and CA125 as a diagnostic test in ovarian cancer: prospective validation of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm. *British Journal of Cancer*. 2011 Mar 1;104(5):863–70.
62. Jacob F, Meier M, Caduff R, Goldstein D, Pochechueva T, Hacker N, et al. No benefit from combining HE4 and CA125 as ovarian tumor markers in a clinical setting. *Gynecologic Oncology*. 2011 Jun 1;121(3):487–91.
63. Ueland FR, Desimone CP, Seamon LG, Miller RA, Goodrich S, Podzielinski I, et al. Effectiveness of a multivariate index assay in the preoperative assessment of ovarian tumors. *Obstetrics and Gynecology*. 2011 Jun;117(6):1289–97.
64. Bast RC, Feeney M, Lazarus H, Nadler LM, Colvin RB, Knapp RC. Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *The Journal of Clinical Investigation*. 1981 Nov;68(5):1331–7.
65. Sturgeon CM, Duffy MJ, Stenman U-H, Lilja H, Br  nner N, Chan DW, et al. National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *Clinical Chemistry*. 2008 Dec;54(12):e11–79.
66. O’Brien TJ, Beard JB, Underwood LJ, Shigemasa K. The CA 125 gene: a newly discovered extension of the glycosylated N-terminal domain doubles the size of this extracellular superstructure. *Tumour Biology*. 2002;23(3):154–69.
67. Beck EP, Moldenhauer A, Merkle E, Kiesewetter F, J  ger W, Wildt L, et al. CA 125 production and release by ovarian cancer cells in vitro. *The International Journal of Biological Markers*. 1998;13(4):200–6.
68. Patankar MS, Jing Y, Morrison JC, Belisle JA, Lattanzio FA, Deng Y, et al. Potent suppression of natural killer cell response mediated by the ovarian tumor marker CA125. *Gynecologic Oncology*. 2005 Dec;99(3):704–13.
69. Rump A, Morikawa Y, Tanaka M, Minami S, Umesaki N, Takeuchi M, et al. Binding of ovarian cancer antigen CA125/MUC16 to mesothelin mediates cell adhesion. *The Journal of Biological Chemistry*. 2004 Mar 5;279(10):9190–8.
70. Kirchhoff C, Habben I, Ivell R, Krull N. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular proteinase inhibitors. *Biology of Reproduction*. 1991 Aug;45(2):350–7.
71. Clauss A, Lilja H, Lundwall A. A locus on human chromosome 20 contains several genes expressing protease inhibitor domains with homology to whey acidic protein. *The Biochemical Journal*. 2002 Nov 15;368(Pt 1):233–42.
72. Bouchard D, Morisset D, Bourbonnais Y, Tremblay GM. Proteins with whey-acidic-protein motifs and cancer. *The Lancet Oncology*. 2006 Feb;7(2):167–74.

73. Drapkin R, Von Horsten HH, Lin Y, Mok SC, Crum CP, Welch WR, et al. Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer Research*. 2005 Mar 15;65(6):2162–9.
74. Galgano MT, Hampton GM, Frierson HF. Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues. *Modern Pathology*. 2006 Jun;19(6):847–53.
75. Zou S-L, Chang X-H, Ye X, Cheng H-Y, Cheng Y-X, Tang Z-J, et al. Effect of human epididymis protein 4 gene silencing on the malignant phenotype in ovarian cancer. *Chinese Medical Journal*. 2011 Oct;124(19):3133–40.
76. Bingle L, Cross SS, High AS, Wallace WA, Rassi D, Yuan G, et al. WFDC2 (HE4): a potential role in the innate immunity of the oral cavity and respiratory tract and the development of adenocarcinomas of the lung. *Respiratory Research*. 2006 Jan;7:61.
77. Johansen JS. Studies on serum YKL-40 as a biomarker in diseases with inflammation, tissue remodelling, fibrosis and cancer. *Danish Medical Bulletin*. 2006 May;53(2):172–209.
78. Recklies AD, White C, Ling H. The chitinase 3-like protein human cartilage glycoprotein 39 (HC-gp39) stimulates proliferation of human connective-tissue cells and activates both extracellular signal-regulated kinase- and protein kinase B-mediated signalling pathways. *The Biochemical Journal*. 2002 Jul 1;365(Pt 1):119–26.
79. Johansen JS, Høyer PE, Larsen LA, Price PA, Møllgård K. YKL-40 protein expression in the early developing human musculoskeletal system. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2007 Dec;55(12):1213–28.
80. Ringsholt M, Høgdall EVS, Johansen JS, Price PA, Christensen LH. YKL-40 protein expression in normal adult human tissues--an immunohistochemical study. *Journal of Molecular Histology*. 2007 Mar;38(1):33–43.
81. Lee CG, Da Silva CA, Dela Cruz CS, Ahangari F, Ma B, Kang M-J, et al. Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury. *Annual Review of Physiology*. 2011 Jan;73:479–501.
82. Malinda KM, Ponce L, Kleinman HK, Shackelton LM, Millis AJ. Gp38k, a protein synthesized by vascular smooth muscle cells, stimulates directional migration of human umbilical vein endothelial cells. *Experimental Cell Research*. 1999 Jul 10;250(1):168–73.
83. Nishikawa KC, Millis AJT. gp38k (CHI3L1) is a novel adhesion and migration factor for vascular cells. *Experimental Cell Research*. 2003 Jul 1;287(1):79–87.
84. Bigg HF, Wait R, Rowan AD, Cawston TE. The mammalian chitinase-like lectin, YKL-40, binds specifically to type I collagen and modulates the rate of type I collagen fibril formation. *The Journal of Biological Chemistry*. 2006 Jul 28;281(30):21082–95.

85. Yang G-F, Cai P-Y, Li X-M, Deng H-X, He W-P, Xie D. Expression and clinical significance of YKL-40 protein in epithelial ovarian cancer tissues. *Ai zheng = Aizheng = Chinese Journal of Cancer*. 2009 Feb;28(2):142–5.
86. Høgdall EVS, Ringsholt M, Høgdall CK, Christensen IJ, Johansen JS, Kjaer SK, et al. YKL-40 tissue expression and plasma levels in patients with ovarian cancer. *BMC Cancer*. 2009 Jan;9:8.
87. Chang K, Pastan I. Molecular cloning of mesothelin, a differentiation antigen present on mesothelium, mesotheliomas, and ovarian cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996 Jan 9;93(1):136–40.
88. Chang K, Pastan I, Willingham MC. Isolation and characterization of a monoclonal antibody, K1, reactive with ovarian cancers and normal mesothelium. *International Journal of Cancer*. 1992 Feb 1;50(3):373–81.
89. Hassan R, Bera T, Pastan I. Mesothelin: a new target for immunotherapy. *Clinical Cancer Research*. 2004 Jun 15;10(12 Pt 1):3937–42.
90. Hellstrom I, Raycraft J, Kanan S, Sardesai NY, Verch T, Yang Y, et al. Mesothelin variant 1 is released from tumor cells as a diagnostic marker. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2006 May;15(5):1014–20.
91. Hassan R, Kreitman RJ, Pastan I, Willingham MC. Localization of mesothelin in epithelial ovarian cancer. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2005 Sep;13(3):243–7.
92. Frierson HF, Moskaluk CA, Powell SM, Zhang H, Cerilli LA, Stoler MH, et al. Large-scale molecular and tissue microarray analysis of mesothelin expression in common human carcinomas. *Human Pathology*. 2003 Jun;34(6):605–9.
93. Ordóñez NG. Application of mesothelin immunostaining in tumor diagnosis. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003 Nov;27(11):1418–28.
94. Ordóñez NG. Value of mesothelin immunostaining in the diagnosis of mesothelioma. *Modern Pathology*. 2003 Mar;16(3):192–7.
95. Hassan R, Schweizer C, Lu KF, Schuler B, Remaley AT, Weil SC, et al. Inhibition of mesothelin-CA-125 interaction in patients with mesothelioma by the anti-mesothelin monoclonal antibody MORAb-009: Implications for cancer therapy. *Lung Cancer*. 2010 Jun;68(3):455–9.
96. Chang M-C, Chen C-A, Chen P-J, Chiang Y-C, Chen Y-L, Mao T-L, et al. Mesothelin enhances invasion of ovarian cancer by inducing MMP-7 through MAPK/ERK and JNK pathways. *The Biochemical Journal*. 2012 Mar 1;442(2):293–302.

97. Bharadwaj U, Marin-Muller C, Li M, Chen C, Yao Q. Mesothelin overexpression promotes autocrine IL-6/sIL-6R trans-signaling to stimulate pancreatic cancer cell proliferation. *Carcinogenesis*. 2011 Jul;32(7):1013–24.
98. Bharadwaj U, Marin-Muller C, Li M, Chen C, Yao Q. Mesothelin confers pancreatic cancer cell resistance to TNF- α -induced apoptosis through Akt/PI3K/NF- κ B activation and IL-6/Mcl-1 overexpression. *Molecular Cancer*. 2011 Jan;10:106.
99. Chang M-C, Chen C-A, Hsieh C-Y, Lee C-N, Su Y-N, Hu Y-H, et al. Mesothelin inhibits paclitaxel-induced apoptosis through the PI3K pathway. *The Biochemical Journal*. 2009 Dec 15;424(3):449–58.
100. Prieve MG, Moon RT. Stromelysin-1 and mesothelin are differentially regulated by Wnt-5a and Wnt-1 in C57mg mouse mammary epithelial cells. *BMC Developmental Biology*. 2003 Apr 7;3:2.
101. Cho KR, Shih I-M. Ovarian cancer. *Annual Review of Pathology*. 2009 Jan;4:287–313.
102. Ho M, Hassan R, Zhang J, Wang Q-C, Onda M, Bera T, et al. Humoral immune response to mesothelin in mesothelioma and ovarian cancer patients. *Clinical Cancer Research*. 2005 May 15;11(10):3814–20.
103. Harding MA, Theodorescu D. RhoGDI signaling provides targets for cancer therapy. *European Journal of Cancer*. 2010 May;46(7):1252–9.
104. DerMardirossian C, Bokoch GM. GDIs: central regulatory molecules in Rho GTPase activation. *Trends in Cell Biology*. 2005 Jul;15(7):356–63.
105. Karlsson R, Pedersen ED, Wang Z, Brakebusch C. Rho GTPase function in tumorigenesis. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2009 Dec;1796(2):91–8.
106. Dovas A, Couchman JR. RhoGDI: multiple functions in the regulation of Rho family GTPase activities. *The Biochemical Journal*. 2005 Aug 15;390(Pt 1):1–9.
107. Cho HJ, Baek KE, Yoo J. RhoGDI2 as a therapeutic target in cancer. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2010 Jan;14(1):67–75.
108. Said N, Theodorescu D. Pathways of metastasis suppression in bladder cancer. *Cancer Metastasis Reviews*. 2009 Dec;28(3-4):327–33.
109. Griner EM, Theodorescu D. The faces and friends of RhoGDI2. *Cancer Metastasis Reviews*. 2012 Dec;31(3-4):519–28.
110. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics*. 1988 Sep;44(3):837–45.

111. Sandri MT, Bottari F, Franchi D, Boveri S, Candiani M, Ronzoni S, et al. Comparison of HE4, CA125 and ROMA algorithm in women with a pelvic mass: correlation with pathological outcome. *Gynecologic Oncology*. 2013 Feb;128(2):233–8.
112. Partheen K, Kristjansdottir B, Sundfeldt K. Evaluation of ovarian cancer biomarkers HE4 and CA-125 in women presenting with a suspicious cystic ovarian mass. *Journal of Gynecologic Oncology*. 2011 Dec;22(4):244–52.
113. Su Z, Graybill WS, Zhu Y. Detection and monitoring of ovarian cancer. *Clinica Chimica Acta*. 2013 Jan 16;415:341–5.
114. Zhen H, Yang S, Wu H, Wang S, Lv J, Ma L, et al. LyGDI is a promising biomarker for ovarian cancer. *International Journal of Gynecological Cancer*. 2010 Apr;20(3):316–22.
115. Tapper J, Kettunen E, El-Rifai W, Seppälä M, Andersson LC, Knuutila S. Changes in gene expression during progression of ovarian carcinoma. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2001 Jul 1;128(1):1–6.
116. Stevens E V, Banet N, Onesto C, Plachco A, Alan JK, Nikolaishvili-Feinberg N, et al. RhoGDI2 antagonizes ovarian carcinoma growth, invasion and metastasis. *Small GTPases*. 2011 Jan;2(4):202–10.
117. Huang C-Y, Cheng W-F, Lee C-N, Su Y-N, Chien S-C, Tzeng Y-L, et al. Serum mesothelin in epithelial ovarian carcinoma: a new screening marker and prognostic factor. *Anticancer Research*. 2006;26(6C):4721–8.
118. Abdel-Azeez HA, Labib HA, Sharaf SM, Refai AN. HE4 and mesothelin: novel biomarkers of ovarian carcinoma in patients with pelvic masses. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2010 Jan;11(1):111–6.
119. Zou L, He X, Zhang JW. The efficacy of YKL-40 and CA125 as biomarkers for epithelial ovarian cancer. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2010 Dec;43(12):1232–8.
120. Dupont J, Tanwar MK, Thaler HT, Fleisher M, Kauff N, Hensley ML, et al. Early detection and prognosis of ovarian cancer using serum YKL-40. *Journal of Clinical Oncology*. 2004 Aug 15;22(16):3330–9.
121. Azzam AZ, Hashad DI, Kamel NAF. Evaluation of HE4 as an extrabiomarker to CA125 to improve detection of ovarian carcinoma: is it time for a step forward? *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2013 Jul;288(1):167–72.
122. Montagnana M, Danese E, Ruzzenente O, Bresciani V, Nuzzo T, Gelati M, et al. The ROMA (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) for estimating the risk of epithelial ovarian cancer in women presenting with pelvic mass: is it really useful? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2011 Mar;49(3):521–5.

123. Montagnana M, Lippi G, Ruzzenente O, Bresciani V, Danese E, Scevarolli S, et al. The utility of serum human epididymis protein 4 (HE4) in patients with a pelvic mass. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2009 Jan;23(5):331–5.
124. Escudero JM, Auge JM, Filella X, Torne A, Pahisa J, Molina R. Comparison of serum human epididymis protein 4 with cancer antigen 125 as a tumor marker in patients with malignant and nonmalignant diseases. *Clinical Chemistry*. 2011 Nov;57(11):1534–44.
125. Molina R, Escudero JM, Augé JM, Filella X, Foj L, Torné A, et al. HE4 a novel tumour marker for ovarian cancer: comparison with CA 125 and ROMA algorithm in patients with gynaecological diseases. *Tumour Biology*. 2011 Dec;32(6):1087–95.
126. Yip P, Chen T-H, Sessaiah P, Stephen LL, Michael-Ballard KL, Mapes JP, et al. Comprehensive serum profiling for the discovery of epithelial ovarian cancer biomarkers. *PloS One*. 2011 Jan;6(12):e29533.
127. Moore RG, Miller MC, Eklund EE, Lu KH, Bast RC, Lambert-Messerlian G. Serum levels of the ovarian cancer biomarker HE4 are decreased in pregnancy and increase with age. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2012 Apr;206(4):349.e1–7.
128. Bon GG, Kenemans P, Verstraeten R, Van Kamp GJ, Hilgers J. Serum tumor marker immunoassays in gynecologic oncology: establishment of reference values. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1996 Jan;174(1 Pt 1):107–14.
129. Lowe KA, Shah C, Wallace E, Anderson G, Paley P, McIntosh M, et al. Effects of personal characteristics on serum CA125, mesothelin, and HE4 levels in healthy postmenopausal women at high-risk for ovarian cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2008 Sep;17(9):2480–7.
130. Johansen JS, Lottenburger T, Nielsen HJ, Jensen JEB, Svendsen MN, Kollerup G, et al. Diurnal, weekly, and long-time variation in serum concentrations of YKL-40 in healthy subjects. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2008 Oct;17(10):2603–8.
131. Chan KKL, Chen C-A, Nam J-H, Ochiai K, Wilailak S, Choon A-T, et al. The use of HE4 in the prediction of ovarian cancer in Asian women with a pelvic mass. *Gynecologic Oncology*. 2013 Feb;128(2):239–44.
132. Huhtinen K, Suvitie P, Hiissa J, Junnila J, Huvila J, Kujari H, et al. Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts. *British Journal of Cancer*. 2009 Apr 21;100(8):1315–9.
133. McIntosh MW, Drescher C, Karlan B, Scholler N, Urban N, Hellstrom KE, et al. Combining CA 125 and SMR serum markers for diagnosis and early detection of ovarian carcinoma. *Gynecologic Oncology*. 2004 Oct;95(1):9–15.
134. Hellström I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, Ledbetter JA, Schummer M, McIntosh M, et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. *Cancer Research*. 2003 Jul 1;63(13):3695–700.

135. Nolen B, Velikokhatnaya L, Marrangoni A, De Geest K, Lomakin A, Bast RC, et al. Serum biomarker panels for the discrimination of benign from malignant cases in patients with an adnexal mass. *Gynecologic Oncology*. 2010 Jun;117(3):440–5.

6.2. EKLER

EK-1

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Kadın üreme sistemi ile ilişkili olan yumurtalık kitlelerinin erken belirlenmesi ve izlenmesi amacıyla; kan örneklerinde çeşitli belirteçlerin saptanması için araştırmalar halen sürmektedir. Bu amaçla onayınız doğrultusunda şu an alınan rutin kan örneğinizden bir miktarı ayrılarak araştırma amacıyla kullanılacaktır. Alınan kan örneğinizden yumurtalık kitlelerinin operasyon öncesi ve sonrası izlenebilmesi amacıyla yeni geliştirilen 4 belirteç çalışılacak ve teşhisiniz ile uyumu araştırılacaktır. Bu kapsamda vereceğiniz kan örneği ile destekleyeceğiniz bu çalışma; gelecekte yumurtalık ile ilgili kitlelerin erken saptanması ve izlenmesine katkı sağlayacaktır. Bu çalışma için kan örneği bir kez alınacaktır. Alınan örnekler bu çalışma dışında kullanılmayacak, çalışma sonrasında imha edilecektir.

- Bu çalışma sırasında uygulanacak testlerin ve araştırma ile ilgili gerçekleştirilecek diğer işlemlerin masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.
- Gönüllü bu çalışmaya katılmayı red etme ya da araştırma başladıktan sonra devam etmeme hakkına sahiptir. Bu çalışmaya katılmanız veya başladıktan sonra herhangi bir safhasında ayrılmanız daha sonraki tıbbi bakımınızı etkilemeyecektir.
- Araştırmacı da gönüllünün kendi rızasına bakmadan, olguyu araştırma dışı bırakabilir.
- Bu çalışmada yer aldığınız süre içerisinde kayıtlarınızın yanı sıra ilişkili sağlık kayıtlarınız kesinlikle gizli kalacaktır. Bununla birlikte kayıtlarınız kurumun yerel etik kurul komitesine ve Sağlık Bakanlığına açık olacaktır.
- Hassas olabileceğiniz kişisel bilgileriniz yalnızca araştırma amacıyla toplanacak ve işlenecektir. Çalışma verileri herhangi bir yayın ve raporda kullanılırken bu yayında isminiz kullanılmayacak ve veriler izlenerek size ulaşılamayacaktır.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Hastanın;

Adı Soyadı:

Tarih:

Tel:

Adres:

İmza:

Olur Alma İşlemine Başından Sonuna Kadar Tanıklık Eden Kuruluş Görevlisinin

Adı Soyadı:

Tarih:

Görevi:

İmza:

Araştırma Yapan Araştırmacının

Adı Soyadı: Dr.Banu DEVECİ

Tarih:

Tel: 0 505 6818254, 0 232 4122559

İmza: