

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANA BİLİM DALI

SERÖZ OVER TÜMÖRLERİNİN P53'ÜN HÜCRE İÇİ
LOKALİZASYONUNDA GÖREVLİ MDM2, WWP1 ve PARC
MOLEKÜLLERİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Uzmanlık Tezi

Dr. Elif ÖZSAĞIR

TRABZON – 2021

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANA BİLİM DALI

**SERÖZ OVER TÜMÖRLERİNİN P53'ÜN HÜCRE İÇİ
LOKALİZASYONUNDA GÖREVLİ MDM2, WWP1 ve PARC
MOLEKÜLLERİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Elif ÖZSAĞIR

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mustafa Emre ERCİN

TRABZON - 2021

ÖNSÖZ

Asistanlığım ve tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübelerini paylaşarak bana yardımcı olan saygıdeğer tez danışmanım Doç. Dr. Mustafa Emre ERCİN'e,

Eğitim hayatımda bilgi ve deneyimlerini her zaman benimle paylaşan saygıdeğer hocalarım başta Prof. Dr. Ümit ÇOBANOĞLU olmak üzere; Prof. Dr. Kadriye YILDIZ'a, Prof. Dr. Şafak ERSÖZ'e, Prof. Dr. Sevdegül AYDIN MUNGAN'a, Doç. Dr. İsmail SAYGIN'a, Dr. Öğr. Üyesi Emel ÇAKIR'a, Dr. Öğr. Üyesi Zeynep SAĞNAK YILMAZ'a,

Değerli arkadaşlarım Uzm. Dr. Gizem TEOMAN, Uzm. Dr. Zeynep TÜRKMEN USTA, Uzm. Dr. Gizem Ay HALDIZ, Uzm. Dr. Arife Çiçek MALAT, Dr. Kübra ÖZTÜRK TÜRKER, Dr. Müşerref Müge USTAOĞLU, Dr. Berna KATI, Dr. Ümmühan TURALİ ve Dr. Rümeyza Beyzanur GÜLÇEBİ'ye

Eğitim sürem boyunca çalışma ortamımızdaki uyumlu katkılarından dolayı teknisyenlerimize ve sekreterlerimize,

Tüm hayatımda hep yanımda olduklarını bildiğim, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan canım annem Rahime, babam Metin, ve ağabeyim Eren'e,

Hayatıma anlam katan, en güzel hediyem minik oğlum Mustafa Taha'ya ve tatlı babası sevgili eşim Yusuf'a,

En içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Elif ÖZSAĞIR

ÖZET

SERÖZ OVER TÜMÖRLERİNİN P53'ÜN HÜCRE İÇİ LOKALİZASYONUNDA GÖREVLİ MDM2, WWP1 ve PARC MOLEKÜLLERİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Seröz over kanserleri, jinekolojik maligniteye bağlı ölümlerin en sık sebebidir (1). P53 mutasyon durumuna göre iki kategoride incelenmektedirler. Yüksek dereceli seröz karsinomlar p53 mutasyonu taşıırken, düşük dereceli seröz karsinomlarda p53 mutasyonu izlenmemektedir.

P53 mutasyonu, immünohistokimyasal olarak değerlendirilmekte ve p53'ün hücrel lokalizasyonuna göre farklı mutasyon tipleri bulunmaktadır (2). P53'ün hücrel lokalizasyonu ve aktivitesi, E3 ubiquitin ligazlarca kontrol edilmektedir (3,4).

Yüksek dereceli seröz karsinomlarda izlenen mutant p53'ün farklı hücrel lokalizasyonlarının, birer E3 ubiquitin ligaz olan, MDM2, WWP1 ve PARC tarafından düzenlenebileceği düşünülmüş ve bu amaçla Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı 2011 - 2019 yılları arşivine ait 7 düşük dereceli seröz karsinom, 38 yüksek dereceli seröz karsinom, 15 seröz kistadenomda MDM2, PARC ve WWP1 immünohistokimyasal bulguları, p53 durumu, diğer histopatolojik ve klinik verilerle kıyaslanmıştır.

Çalışmamız sonucunda, PARC ve WWP1'in, seröz over kanserinde ekspresyon kaybı gösterdiği görülmektedir. Bu kayıp malignite derecesi arttıkça artmakta, yüksek dereceli seröz over karsinomunda daha belirgin olmaktadır. MDM2 ekspresyonu anlamlı fark göstermemiştir.

WWP1 ve PARC'ın seröz over kanserinde p53 ekspresyon paternleriyle kıyaslanarak değerlendirildiği bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır. WWP1 ve PARC'ın over kanserindeki rolleri ve p53 ile ilişkisi daha iyi aydınlatıldığında, özellikle yüksek dereceli seröz over kanserinin hedefe yönelik tedavisinde kullanılabilecek moleküllerden olabileceklerdir.

SUMMARY

INVESTIGATION OF RELATIONSHIP OF SEROUS OVARIAN TUMORS WITH MDM2, WWP1 and PARC MOLECULES THAT RESPONSIBLE INTRACELLULAR LOCALIZATION OF P53

Serous ovarian cancer is the most common cause of death due to gynecological malignancies (1). Molecular pathologically, serous ovarian cancers are examined in two categories according to their p53 mutation status. While high-grade serous carcinomas carry p53 mutation, the p53 mutation is not observed in low-grade serous carcinomas.

P53 mutation is evaluated immunohistochemically and there are different types of mutations according to the cellular localization of p53 (7). The cellular localization and activity of p53 are controlled by E3 ubiquitin ligases (8,9).

In our study, it was thought that the different cellular localizations of mutant p53 observed in high-grade serous carcinomas may be regulated by MDM2, WWP1 and PARC, which are E3 ubiquitin ligases. The immunohistochemical findings of MDM2, PARC and WWP1 in 7 low-grade serous carcinomas, 38 high-grade serous carcinomas, 15 serous cystadenomas, p53 status, other histopathological and clinical data belonging to the 2011 – 2019 year archive of the Karadeniz Technical University Medical Pathology Department were compared.

As a result of our study, it is seen that PARC and WWP1 show loss of expression in serous ovarian cancer. This loss increases as the degree of malignancy increases and becomes more prominent in high-grade serous ovarian carcinoma. MDM2 expression showed no significant difference.

A study in which WWP1 and PARC were compared with p53 expression patterns in serous ovarian cancer was not found in the literature. When the roles of WWP1 and PARC in ovarian cancer and their relationship with p53 are better clarified, they can be used in the targeted treatment of especially high-grade serous ovarian cancer.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
SUMMARY.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Epidemiyoloji ve İnsidans	3
2.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri	3
2.3. Koruyucu Faktörler	5
2.4. Moleküler Patogenez	5
2.5. Klinik Prezantasyon.....	7
2.6. Evreleme.....	7
2.7. Histopatoloji.....	10
2.7.1. Seröz Kistadenom ve Kistadenofibrom.....	12
2.7.2. Seröz <i>Borderline</i> Tümör.....	13
2.7.3. Düşük Dereceli Seröz Karsinom.....	16
2.7.4. Yüksek Dereceli Seröz Karsinom.....	17
2.8. İmmünohistokimya.....	19
2.9. Prognoz ve Tedavi.....	19
2.10. P53.....	20
2.10.1. P53'ün İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi.....	22
2.10.2. P53'ün Hücresel Lokalizasyonunun Kontrolü ve Ubikuitinasyon.....	27
2.11. MDM2.....	28

2.12. WWP1.....	29
2.13. PARC.....	30
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	32
3.1.Olgu Seçimi.....	32
3.2. İmmünohistokimyasal İnceleme.....	32
3.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	33
3.4. İstatiksel Değerlendirme.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Yaş.....	35
4.2. Tümör Boyutu ve Yerleşimi.....	35
4.3. Patolojik Parametreler.....	36
4.4. Klinik Veriler.....	37
4.5. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	38
4.5.1. P53 İmmünohistokimyasal Bulguları.....	38
4.5.2. MDM2 İmmünohistokimyasal Bulguları.....	40
4.5.3. WWP1 İmmünohistokimyasal Bulguları.....	41
4.5.4. PARC İmmünohistokimyasal Bulguları.....	44
4.6. Tanılara Göre MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	47
4.7. P53 Durumu ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	49
4.8. P53 Boyanma Yüzdesi ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi....	52
4.9. Ki-67 Yüzdesi ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	53
4.10. Yaş ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	55
4.11. Yerleşim Yeri ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	56
4.12. Bilateralite ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	56
4.13. Tümör Boyutları ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	57
4.14. Over ve Tuba Yüzey Tutulumları ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	58
4.15. Omentum Tutulumu ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	60
4.16. Over Kapsül Rüptürü ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	62
4.17. Batın Sıvısı Pozitifliği ve Peritoneal Karsinomatozis ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	63

4.18. Lenfovasküler İnvazyon ve Lenf Nodu Metastazı ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	66
4.19. Eşlik Eden Adenomyozis ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi..	69
4.20. ER ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	71
4.21. WT1 ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	72
4.22. Periton Dışı Metastaz Varlığı ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	74
4.23. Tanı Anında Serum CA125 Değeri ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi.....	76
4.24. Tanı Anında Serum CA125 Değeri ile P53 Paterni İlişkisi..	77
4.25. YDSK'ların P53 Durumuna Göre Dört Alt Tipinde İzlenen Bulgular.....	78
5. TARTIŞMA.....	82
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	95
7. KAYNAKLAR.....	98

KISALTMALAR DİZİNİ

YDSK: Yüksek dereceli seröz karsinom

DDSK: Düşük dereceli seröz karsinom

STİK: Seröz tubal intraepitelyal karsinom

KA: Kistadenom

BST: Borderline seröz tümör

TP53: Transformasyon ilişkili protein 53 (Transformation-related protein 53)

WWP1: WW zinciri içeren E3 ubiquitin protein ligaz 1 (WW Domain Containing E3 Ubiquitin Protein Ligase 1)

PARC: p53 ilişkili Parkin benzeri sitoplazmik protein

MDM2: Fare çift dakika 2 (Mouse Double Minute 2)

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

FIGO: Uluslararası Jinekoloji ve Obstetri Federasyonu (International Federation of Gynecology and Obstetrics)

AJCC: Amerikan Ortak Kanser Komitesi (American Joint Committee on Cancer)

UICC: Uluslararası Kanser Savaş Örgütü (Union for International Cancer Control)

siRNA: Kısa engelleyici RNA (Short interfering RNA)

TAD: Transaktivasyon bölgesi (Transactivation domain),

TET: Tetramerizasyon bölgesi

HECT: E6 ilişkili protein karboksil terminali homologu (Homologous to the E6-associated protein carboxyl terminus)

RING: Gerçekten ilginç yeni gen (Really interesting new gene)

PRD: Prolinden zengin bölge (Proline rich domain)

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Over, fallop tüpü ve primer peritoneal karsinom TNM evrelemesi.....	8
Tablo 2: FIGO evrelemesi (FIGO 2018 Kanseri Raporu).....	10
Tablo 3: Over tümörleri DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) 2020 sınıflaması.....	10
Tablo 4: Seröz over tümörleri DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) 2020 sınıflaması.....	11



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Östrojenin hücre proliferasyonuna neden olan genlerin ekspresyon düzeyine etkisi.....	4
Şekil 2A ve 2B: Seröz tubal intraepitelyal karsinomun yüksek dereceli seröz karsinom gelişimindeki rolü.....	6
Şekil 3: P53'ün hücredeki sitoplazmik ve nükleer görevleri	21
Şekil 4: P53 protein yapısı.	21
Şekil 5: MDM2'nin , p53'e ubikuitin bağlaması.....	28
Şekil 6: WWP1 protein yapısı.....	30
Şekil 7: WWP1 ve PARC'ın, p53'ü ubikuitinlemesi ve p53'ün sitoplazmada kalmasını sağlaması.....	31
Şekil 8: Tüm vakaların p53 ile immünohistokimyasal boyanma durumu.....	39
Şekil 9: Tanılara göre MDM2 H skor değerleri.....	40
Şekil 10: Tanılara göre WWP1 H skor değerleri.....	42
Şekil 11: Tanılara göre PARC Nükleer H skor değerleri.....	45
Şekil 12: Tanılara göre PARC sitoplazmik H skor değerleri.....	46
Şekil 13: Tanılara göre WWP1, PARC nükleer ve sitoplazmik ekspresyonları.....	47
Şekil 14: P53 durumuna göre WWP1 H skor değerleri.....	50
Şekil 15: P53 durumuna göre PARC nükleer H skor değerleri.....	50
Şekil 16: P53 durumuna göre PARC sitoplazmik H skor değerleri.....	51
Şekil 17: P53 durumuna göre MDM2 H skor değerleri.....	51
Şekil 18: PARC nükleer ekspresyonu ile p53 yüzdesi ilişkisi.....	52
Şekil 19: WWP1 ekspresyonu ile p53 yüzdesi ilişkisi.....	53
Şekil 20: PARC nükleer ekspresyonu ile Ki-67 yüzdesi ilişkisi.....	54
Şekil 21: WWP1 ekspresyonu ile Ki-67 yüzdesi ilişkisi.....	54
Şekil 22: PARC sitoplazmik ekspresyonu ile Ki-67 yüzdesi ilişkisi.....	55
Şekil 23: Yaş ile WWP1 ekspresyonu ilişkisi.....	56
Şekil 24: Bilateralite ile PARC nükleer ekspresyonu ilişkisi.....	57
Şekil 25: Tümör çapı ile PARC nükleer ekspresyonu ilişkisi.....	58
Şekil 26: Tümör çapı ile WWP1 ekspresyonu ilişkisi.....	58
Şekil 27: Yüzey tutulumu ile PARC nükleer ve WWP1 ekspresyonları ilişkisi	59

Şekil 28: Omentum tutulumu ile PARC nükleer, PARC sitoplazmik ve WWP1 ekspresyonları ilişkisi.....	61
Şekil 29: Kapsül rüptürü ile PARC nükleer ve WWP1 ekspresyonları ilişkisi	63
Şekil 30: Batın sıvısı pozitifliği ile WWP1, PARC nükleer ve PARC sitoplazmik ekspresyonu ilişkisi.....	65
Şekil 31: Peritoneal karsinomatozis ile WWP1 ve PARC nükleer ekspresyonları ilişkisi.....	66
Şekil 32: Lenfovasküler invazyon varlığı ile WWP1 ekspresyon skoru arasındaki ilişki.....	67
Şekil 33: Lenfovasküler invazyon varlığı ile PARC nükleer ve sitoplazmik ekspresyonu ilişkisi.....	68
Şekil 34: Lenf nodu metastazı ile PARC nükleer ve sitoplazmik ekspresyonu ilişkisi.....	69
Şekil 35: Adenomyozis varlığı ile WWP1, PARC nükleer ve PARC sitoplazmik ekspresyonları arasındaki ilişki.....	71
Şekil 36: PARC sitoplazmik ve WWP1 ekspresyonlarının ER ile ilişkisi.....	73
Şekil 37: MDM2 ekspresyonunun WT1 ile ilişkisi.....	73
Şekil 38: WT1 boyanması ile PARC nükleer ekspresyonu ilişkisi.....	74
Şekil 39: WWP1, PARC sitoplazmik ve PARC nükleer ekspresyonları periton dışı metastaz varlığı ile ilişkisi.....	76
Şekil 40: Serum CA125 değeri ile PARC nükleer ekspresyonu ilişkisi.....	77
Şekil 41: Serum CA125 değeri ile p53 paterni arasındaki ilişki.....	78
Şekil 42: YDSK’larda P53 durumuna göre MDM2 H skorları.....	78
Şekil 43: YDSK’larda P53 durumuna göre PARC nükleer H skorları.....	79
Şekil 44: YDSK’larda P53 durumuna göre WWP1 H skorları.....	79
Şekil 45: YDSK’larda P53 durumuna göre PARC sitoplazmik H skorları.....	80
Şekil 46: YDSK’larda P53 durumuna göre serum CA125 değerleri.....	80
Şekil 47: YDSK’ların p53 durumuna göre alt tipleri ile MDM2, WWP1, PARC ve Ki-67 indeksine ait ortanca değerler arasındaki ilişki.....	81
Şekil 48: YDSK’ların p53 durumuna göre alt tipleri, kistadenomlar ve düşük dereceli seröz karsinomlarda MDM2, WWP1, PARC ekspresyon düzeyleri.....	81

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1A-B: Seröz kistadenom, Hematoksilen & Eozin.....	12-13
Resim 2: Seröz borderline tümör, Hematoksilen & Eozin.....	14
Resim 3A-B: Düşük dereceli seröz karsinom, Hematoksilen & Eozin.....	16-17
Resim 4A-B: Yüksek dereceli seröz karsinom, Hematoksilen & Eozin.....	18
Resim 5A-C: KA, DDSK ve YDSK’larda <i>wild</i> tip p53 ekspresyonları	22-23
Resim 6: Diffüz nükleer p53 ekspresyonu.....	24
Resim 7: Diffüz nükleer p53 paterninde dikkat edilecek noktalar	25
Resim 8: Komplet kayıp p53 paterni.....	25
Resim 9A ve 9B: Komplet kayıp p53 paterninde dikkat edilecek noktalar.....	26
Resim 10: Sitoplazmik p53 ekspresyonu.....	27
Resim 11A-B: MDM2 ile immünohistokimyasal boyanma.....	41
Resim 12A-C: WWP1 ile immünohistokimyasal boyanma.....	43-44
Resim 13A-C: PARC ile immünohistokimyasal boyanma.....	46-47

1. GİRİŞ

Over kanseri Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık ikinci jinekolojik malignitedir ve yüksek dereceli seröz over karsinomu, over kanseri nedeniyle ölümlerin büyük kısmından sorumludur (1).

Over kanseri, moleküler patolojik olarak tip 1 ve tip 2 olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır. Düşük dereceli seröz karsinom gibi tip 1 tümörler p53 dışı mutasyonlar taşımaktadırlar. Yüksek dereceli seröz karsinom gibi tip 2 tümörler ise tipik olarak tip 1 tümörlerde izlenen mutasyonlardan yoksun olup p53 mutasyonu taşımaktadır (9–10).

Yüksek dereceli seröz karsinomların tamamında p53 mutasyonu mevcuttur. P53'ün immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi, mutasyon varlığını saptamada uygun ve kolay ulaşılabilir bir yöntemdir (8). 2016 yılından önce, p53 immünohistokimyasal olarak incelenirken ya hep ya hiç kuralı uygulanarak, komplet boyanmanın olmayışı ve yaygın nükleer boyanma mutasyon olarak kabul edilmiştir. Artık, immünohistokimyasal olarak sitoplazmik ve *wild* tipte p53 boyanmasının izlendiği p53 mutasyonu gösteren yüksek dereceli seröz karsinomların varlığı bilinmektedir (2).

P53'ün aktivitesi ubikuitin proteazom sistemi ile düzenlenmektedir. Ubikuitin proteazom sistemi, hücrede hasarlı, ihtiyaç dışı ve fazla miktardaki proteinlerin yıkımını gerçekleştirir ve böylece proteinler hücrede belli bir seviyede tutulurlar. P53, E3 ubikuitin ligazlarca ubikuitinle işaretlenir ve böylelikle hücresel lokalizasyonu ve aktivitesi kontrol edilir (3,4).

MDM2, WWP1 ve PARC'ın, p53 ile ilişkili E3 ubikuitin ligaz oldukları, p53'ün hücresel lokalizasyonunu ve aktivasyonunu kontrol ettikleri bilinmektedir. Yüksek dereceli seröz karsinomlarda p53'ün hücresel lokalizasyonuna göre farklı mutasyon tipleri izlendiğinden, p53'ün, MDM2, WWP1 ve PARC ile ilişkisi olabileceği düşünülmüştür.

Biz çalışmamızda seröz over tümörlerinde, p53 ile ilişkili E3 ubiquitin ligazlardan olan MDM2, PARC ve WWP1'i immünohistokimyasal olarak değerlendirdik ve p53 immünohistokimyasal boyanma paternleri ve diğer histopatolojik, immünohistokimyasal ve klinik verilerle karşılaştırdık.



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Epidemiyoloji ve İnsidans

Over kanseri, Türkiye Kanser İstatistikleri veritabanı verilerine göre, kadınlarda ülkemizde 7. en sık görülen kanser türüdür ve insidansı 100.000'de 6.4'tür (9). ABD ulusal kanser enstitüsü verilerine göre ise insidans 100.000'de yaklaşık 10, 5 yıllık sağ kalım ise %48,6'dır (10). Over kanseri görülme sıklığı dünya genelinde değişkenlik göstermektedir. Coğrafik prevalanslar İspanyol olmayan beyaz kadınlarda 100.000'de 12, İspanyol ırkında 100.000'de 10.3, İspanyol olmayan siyahlarda 100.000'de 9,4 ve Asyalı kadınlarda 100.000'de 9,2'dir. En yüksek ölüm oranı ise Afrika popülasyonlarında görülmektedir (11).

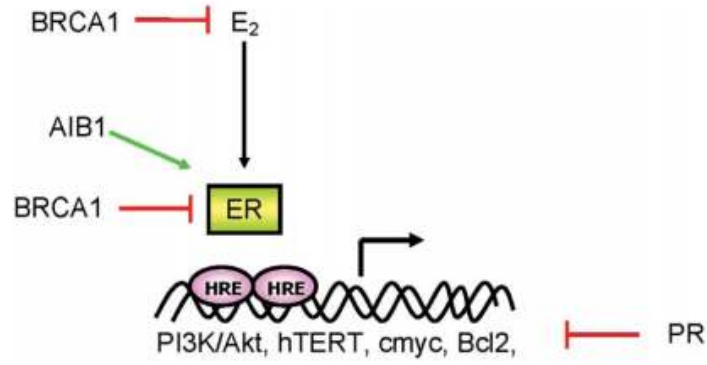
1.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

İleri yaş:

Over kanseri olgularında tanı anında ortalama yaş 63'tür. Düşük malign potansiyelli *borderline* tümörler tipik olarak 30-40'lı yaşlarda görülürken, epitelyal over kanserleri 50 yaşın üstünde görülmektedir. 55-65 yaş grubunda epitelyal over kanseri açısından en yüksek risk mevcuttur (12).

Erken Menarş ve Geç Menapoz:

12 yaşında önce menarş ve 52 yaşından sonra menopoz over kanseri gelişim riskini artırmaktadır (13). Muhtemel mekanizma, erken menarş ve geç menopozun, ovulasyon sayısını ve kadının yaşam boyunca östrojen maruziyetini arttırmasıdır. Ovulasyon, over yüzey epitelinde travmaya neden olarak, östrojen ise, overyan yüzey epitel proliferasyonunu artırıp, apoptozu baskılayarak malign transformasyona neden olabilmektedir (14)(Şekil 1).



Şekil 1: Östrojen (ER), hücre proliferasyonuna neden olan genlerin ekspresyonu artırır ve apoptozu inhibe eder. Östrojenin bu etkisi progesteron (PR) ve BRCA1 ile baskılanmaktadır (14).

Genetik Yatkınlık

Birinci derece yakın akrabada over kanseri görülmesi %7, ikinci derece akrabada over kanseri görülmesi ise %3,5 oranında risk artışına neden olmaktadır. En bilinen genetik yatkınlık nedenleri BRCA1 ve BRCA2’de mutasyon ile Lynch sendromudur. BRCA1 %40 oranında, BRCA2 ise %15 oranında over kanseri gelişim riskini artırmakta ve bu hastalarda over kanseri daha genç yaşta görülmektedir. Ayrıca BRIP1, RAD51C, RAD51D, PALB2 ve BARD1'deki genetik varyantların tümü, yumurtalık kanseri olan hastalarda genel popülasyona göre daha sık bulunmuştur (12,15).

Endometriozis

Endometriozis, epitelyal over kanserlerinin özellikle şeffaf hücreli ve endometrioid karsinom tiplerinin gelişim riskini artırmaktadır. 7911 epitelyal over kanserli kadını içeren 13 vaka-kontrol çalışmasının meta-analizinde, endometriozisli hastalarda şeffaf hücreli karsinom gelişiminde %20,2, düşük dereceli seröz karsinom gelişiminde %9,2 ve endometrioid karsinom gelişiminde %13,9 oranında artmış risk bulunmuştur. Yüksek dereceli seröz karsinom, müsinöz karsinom ve *borderline* tümörlerin gelişimi açısından endometriozisle anlamlı ilişki saptanmamıştır (16).

Over kanseri gelişimine neden olabilen diğer risk faktörleri arasında nulliparite, intrauterin araç kullanımı, polikistik over sendromu, infertilite, hormon

tedavisi, asbestozis, obezite, sigara, nonsteroid antienflamatuar ilaç kullanımı yer almaktadır (12).

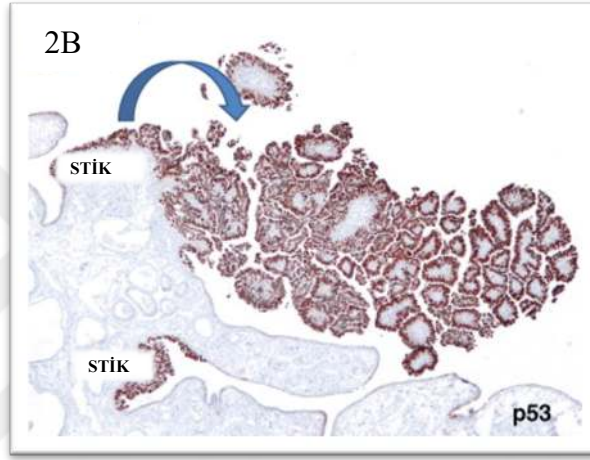
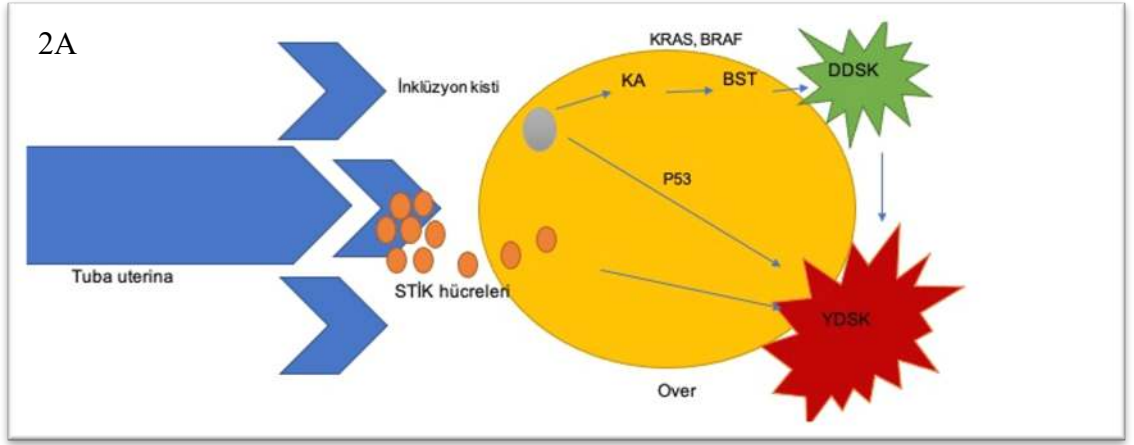
1.3. Koruyucu Faktörler

Bilateral salpingo-ooferektomi, tubal ligasyon ve histerektomi cerrahi koruyucu faktörler arasındadır. Doğum yapmış olmak, emzirmek ve oral kontraseptif kullanımı ise muhtemel hormon ilişkili koruyucu faktörlerden olup epitelyal over kanseri gelişim riskini azaltmaktadır (12).

1.4. Moleküler Patogenez

Over kanseri patogenezi aydınlatan moleküler patolojik çalışmalar, epitelyal over kanseri gelişimini açıklamak için tip 1 ve tip 2 olmak üzere iki kategori önermektedir. Tip 1 tümörler düşük dereceli seröz, düşük dereceli endometrioid, şeffaf hücreli ve müsinöz karsinomlardır. Tip 2 tümörler ise yüksek dereceli seröz karsinom, yüksek dereceli endometrioid karsinom, karsinosarkom ve indifferansiye karsinomlardır. Tip 1 tümörler genelde KRAS, BRAF, PTEN, ERBB2, PIK3CA ve ARID1a gibi p53 dışı mutasyonları taşır ve genetik olarak stabildirler. Tip 2 tümörler ise tipik olarak bu mutasyonlardan yoksun olup p53, BRCA1/2 gibi DNA onarımından sorumlu genlerin mutasyonunu taşımaktadır ve genetik olarak stabil değildirler (9–10).

Düşük dereceli seröz over karsinomlarının patogenezi, jinekolojik organların embriyolojik öncülü olan mülleryan kanaldan köken alan kistler sorumlu tutulmaktadır. Yüksek dereceli seröz karsinom (YDSK) patogenezi ise malign dönüşüme uğramış tubal epitelin fimbrial uçtan dökülerek over yüzeyine tutunması öncü lezyon olarak kabul edilmektedir. YDSK vakalarında eşlik eden tubal epitelde sınırlı intraepitelyal neoplazi varlığı ve bu neoplastik epitelde de p53 mutasyonunun YDSK'lara benzer şekilde görülmesi, neoplazmin kökeninin tubal epitelde görülen seröz tubal intraepitelyal karsinom (STİK) olduğu düşüncesini doğurmuştur (9-11) (Şekil 2A ve 2B).



Şekil 2A ve 2B: Tubal fimbrial uçtaki seröz tubal intraepitelyal karsinom (STİK) hücreleri dökülerek over yüzeyine tutunup YDSK gelişiminde rol oynarken, over yüzeyindeki inklüzyon kistleri DDSK gelişiminde rol oynamaktadır (2A). Tuba uterinaya ait histopatolojik örneğin p53 immünohistokimya boyamasında, STİK alanında kuvvetli diffüz kuvvetli p53 ekspresyonu görülmektedir (2B) (5,17).

DDSK: Düşük dereceli seröz karsinom, **YDSK:** Yüksek dereceli seröz karsinom, **BST:** *Borderline* seröz tümör, **STİK:** Seröz tubal intraepitelyal karsinom

Seröz tümörlerden seröz *borderline* tümörlerde KRAS ve BRAF mutasyonları görülmektedir. Düşük dereceli seröz karsinomlarda KRAS, NRAS, BRAF, USP9X ve EIF1AX mutasyonları görülebilmektedir. BRAF mutasyonları ileri evre tümörlerle daha az ilişkilidir. KRAS mutasyonu rekürrensle ilişkili bulunmuştur. 9p kaybı ve CDKN2A/2B lokusundaki homozigot delesyonlar da bildirilmiştir.

Yüksek dereceli seröz karsinomların ise neredeyse tamamı TP53 mutasyonu ve yüksek oranda kopya sayısı değişiklikleri içermektedir. Homolog rekombinasyon

eksikliği olan tümörlerde DNA çift zincir kırıkları tamir edilememektedir. DNA çift sarmal kırılmalarını tamir etme yeteneğinin kaybı, YDSK'da erken olaydır, ardından tümör içi heterojenite ile sonuçlanan çok sayıda kopya sayısı anormallikleri birikmektedir. %15 vakada kalıtsal BRCA1 ya da BRCA2 eksikliği mevcuttur (18,19).

1.5. Klinik Prezantasyon

Akut ve subakut hastalık şeklinde olabilmektedir. Asit, plevral efüzyon, tromboembolizm, barsak tıkanıklığı şeklinde görülebilen akut prezantasyon genellikle acil müdahale gerektirmektedir. Ancak çoğunlukla hastalar subakut prezente olmaktadır. Sık rastlanılan semptomlar karın ağrısı, şişkinlik, sık idrara çıkma, vajinal kanamadır (20,21). YDSK genellikle FIGO evre 3 ve 4 hastalıkla karşımıza çıkmaktadır. Serum CA125 seviyeleri sıklıkla yükselmiştir (19,22).

1.6. Evreleme

Over kanseri olgularına primer tümörün, abdominal implantların ve retroperitoneal lenf nodlarının diseksiyonundan oluşan sitoredüksiyon cerrahisi uygulanmakta ve cerrahi sonucunda evreleme yapılmaktadır. Evreleme; Amerikan Ortak Kanser Komitesi (American Joint Committee on Cancer (AJCC)) ve Uluslararası Kanser Savaş Örgütü (Union for International Cancer Control (UICC)) 8. Edisyon kılavuzuna göre TNM evrelemesi şeklinde (Tablo 1), Uluslararası Jinekoloji ve Obstetri Federasyonu (International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO)) 2018 kanser raporuna göre ise FIGO evrelemesi (Tablo 2) şeklinde olmaktadır.

Tablo 1: Over, fallop tüpü ve primer peritoneal karsinom TNM evrelemesi Amerikan Ortak Kanser Komitesi (American Joint Committee on Cancer (AJCC)), Uluslararası Kanser Savaş Örgütü (Union for International Cancer Control (UICC)) 8. Edisyon ve Uluslararası Jinekoloji ve Obstetri Federasyonu (International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO)) 2018 Kanser raporu (23,24)

Primer Tümör		
T kategorisi	FIGO evresi	T Kriterleri
Tx		Primer tümör değerlendirilemiyor
T0		Primer tümör izlenmiyor
T1	I	Tümör over ya da tubaya sınırlı
T1a	IA	Tümör 1 over/tubaya sınırlı (kapsül intakt) ve yüzey tutulumu yok, periton sıvısı negatif
T1b	IB	Tümör her iki over/tubaya sınırlı (kapsül intakt) ve yüzey tutulumu yok, periton sıvısı negatif
T1c	IC	Tümör 1 ya da 2 over/tubaya sınırlı ancak aşağıdakilerden biri mevcut;
T1c1	IC1	Cerrahi sırasında kapsül bütünlüğünün bozulması
T1c2	IC2	Cerrahi öncesi kapsül rüptürü veya over/tuba yüzey tutulumu
T1c3	IC3	Pozitif periton sıvı sitolojisi
T2	II	Pelvik girimin altındaki pelvik yayılımı birlikte tümör 1 veya 2 over/tubada ya da peritoneal tutulum mevcut
T2a	IIA	Uterus, tuba ya da overlerde yayılım/implant mevcut
T2b	IIB	Diğer pelvik intraperitoneal yapılara yayılım mevcut
T3	III	Histopatolojik olarak doğrulanmış pelvis dışı periton tutulumu ve/veya retroperitoneal (pelvik ve/veya paraaortik) lenf nodu metastazı
T3a	IIIA2	Mikroskopik pelvis dışı periton tutulumu (retroperitoneal lenf nodu pozitifliği olan veya olmayan durumda)

T3b	IIIB	≤ 20 mm çapta makroskopik pelvis dışı periton tutulumu
T3c	IIIC	> 20 mm çapta makroskopik pelvis dışı periton tutulumu
Bölgesel lenf nodları		
N kategorisi	FIGO evresi	N Kriterleri
Nx		Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0		Lenf nodu metastazı yok
N0(i+)		İzole tümör hücresi içeren lenf nodu metastazı (<0.2 mm)
N1	IIIA1	Pozitif bölgesel lenf nodları
N1a	IIIA1(i)	En büyük metastatik tümör depoziti boyutu ≤10 mm
N1b	IIIA1(ii)	En büyük metastatik tümör depoziti boyutu >10 mm
Uzak metastaz		
M kategorisi	FIGO evresi	M Kriterleri
M0		Uzak metastaz yok
M1	IV	Periton metastazı hariç uzak metastaz bulunması
M1a	IVa	Pozitif plevral efüzyon sitolojisi
M1b	IVb	Ekstraabdominal organlara metastaz (İnguinal lenf nodu veya abdomen dışı lenf nodu metastazı dahil) veya abdominal organ parankimine metastaz

Tablo 2: FIGO evrelemesi (FIGO 2018 Kanser Raporu) (16,17,18)

FIGO evresi			
I	T1	N0	M0
IA	T1a	N0	M0
IB	T1b	N0	M0

IC	T1c	N0	M0
II	T2	N0	M0
IIA	T2a	N0	M0
IIB	T2b	N0	M0
IIIA1	T1/2	N1	M0
IIIA2	T3a	N0, N1	M0
IIIB	T3b	N0, N1	M0
IIIC	T3c	N0, N1	M0
IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1
IVA	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1a
IVB	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1b

1.7. Histopatoloji

Epitelyal over tümörleri, hücre tipine göre seröz, endometrioid, berrak hücreli, müsinöz, seromüsinöz, transizyonel (Brenner) ve diğer karsinomlar olmak üzere 7 grupta sınıflandırılmaktadır (Tablo 3). Bu sınıflandırmanın, hücre kökenini ve moleküler farklılıkları da yansıttığı düşünülmektedir (19).

Tablo 3: Over tümörleri DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) 2020 sınıflaması (19)

Over tümörleri
Seröz tümörler
Müsinöz tümörler
Endometrioid tümörler
Şeffaf hücreli tümörler
Serömüsinöz tümörler
Brenner tümörleri
Diğer karsinomlar
Mezenkimal tümörler
Mikst epitelyal ve mezenkimal tümörler

Seks kord stromal tümörler
Germ hücreli tümörler
Sınıflanamayan tümörler
Mezotelyal tümörler
Tümör benzeri lezyonlar
Metastazlar

Epitelyal over tümörleri, tüm over tümörlerinin yaklaşık yarısını, benign tümörlerin yaklaşık % 40'ını, malign tümörlerin ise yaklaşık % 90'ını oluşturmaktadır (17). Seröz tümörler ise, tüm over tümörlerinin yaklaşık dörtte birini oluştururlar. Seröz tümörler, seröz kistadenom, *borderline* seröz tümör ve seröz karsinom şeklinde sınıflandırılmaktadır. Seröz karsinom ise düşük dereceli ve yüksek dereceli seröz karsinom olmak üzere iki tipte görülmektedir (Tablo 4).

Tablo 4: Seröz over tümörleri DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) 2020 sınıflaması (19)

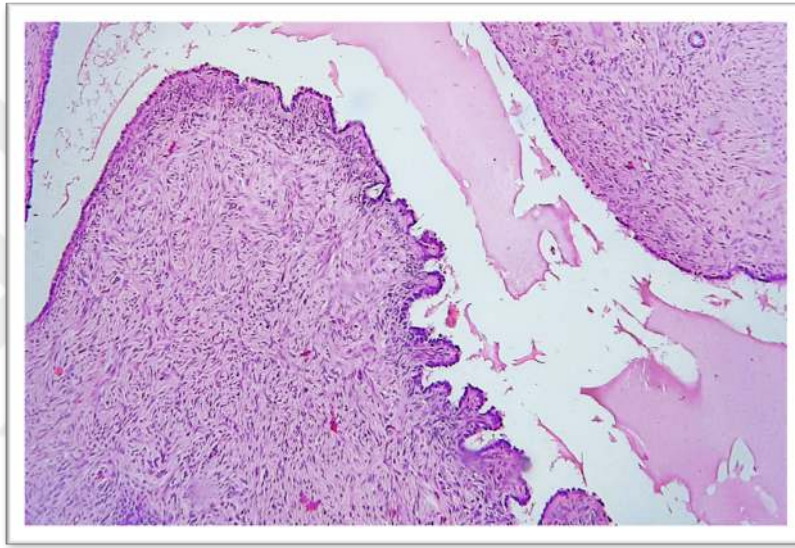
Seröz tümörler	
Benign seröz tümörler	Seröz kistadenom, adenofibrom ve yüzey papillomu
<i>Borderline</i> seröz tümörler	Seröz <i>borderline</i> tümör
Malign seröz tümörler	Düşük dereceli seröz karsinom
	Yüksek dereceli seröz karsinom

Düşük dereceli seröz neoplazmlar ile yüksek dereceli seröz karsinomlar arasında hücre kökeni, moleküler patogenezi ve tedaviye yanıt bakımından farklılıklar bulunmaktadır (18).

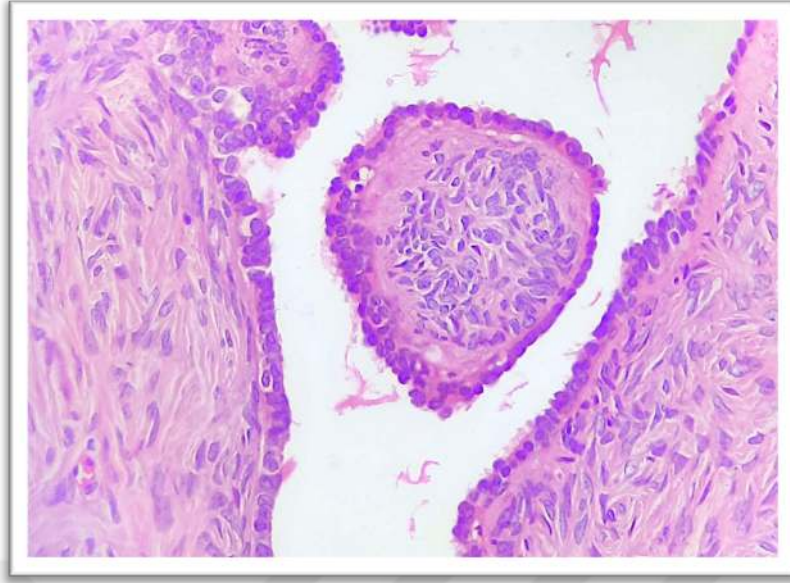
1.7.1. Seröz Kistadenom ve Kistadenofibrom

Bir cm'den büyük boyutta benign seröz epitelle döşeli lezyonlardır (19). Makroskopik olarak, ortalama 5-8 cm çaplı, seröz veya ince mukoid sıvı içeren

uniloküle veya multiloküle kistik kitle oluşturmaktadırlar. Kistin iç yüzeyi genelde pürüzsüzdür. Lümeninde kaviteye doğru büyüyen papiller yapılar bulunabilir. Adenofibromlar, sert ya da lastik kıvamında ve solid niteliktedir. Mikroskopik olarak kist yüzeyi ve papillalar normal tubal epitel benzeri küboid-kolumnar stratifiye olmayan epitelle döşelidir (Resim 1A-1B). Silyalı hücrelere sık rastlanılmaktadır. Mitoz ve atipi izlenmemektedir. Stromal alanlarda psammom cisimcikleri bulunabilir. Kistadenofibromlar ise; stromal alanları geniş, solid, selüler ve fibröz nitelikte, dağınık kalın papiller yapılar ve glandlar içeren lezyonlardır (12,19,20).



Resim 1A: Seröz kistadenom, Hematoksilen & Eozin, x100



Resim 1B: Seröz kistadenom, Hematoksilen & Eozin, x400

1.7.2. Seröz *Borderline* Tümör

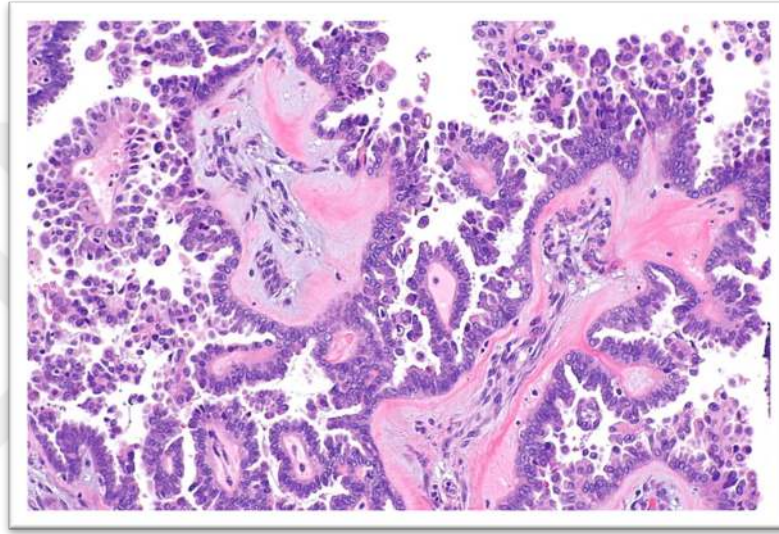
Seröz *borderline* tümör (SBT), invaziv olmayan, düşük dereceli proliferatif bir neoplazidir. Makroskopik olarak belirgin oranda ince, frajil papiller yapılar içeren kistik kitle şeklindedirler. Papillalar bazen lezyonun dış yüzeyinde de bulunabilmektedir. Makroskopik olarak materyalin papiller ve solid alanları iyi incelenmelidir. Tümörün en büyük çapına ait her santimetre başına en az iki örnek alınmalıdır.

Mikroskopik olarak tabakalanma artışı, tomurcuklanma, dallanan papiller yapılar ve hafif sitolojik atipi görülmektedir. Papillalar, merkezi bir papilladan çıkan daha küçük papillalarla karakterize hiyerarşik dallanma içermektedirler (Resim 2). Bu tabakalanma artışı ve tomurcuklanma tümörün en az %10'unda bulunmalıdır. *Borderline* proliferatif özellikler tüm lezyonun %10'undan azında mevcut ise, lezyon “**Fokal atipi ya da fokal proliferasyon gösteren kistadenom**” şeklinde tanımlanmaktadır.

Kabara çivisi görünümlü hücreler bulunabilir, hücre çekirdekleri bazale lokalize, oval ya da yuvarlak biçimli, ince kromatinli olup yer yer küçük boyutlu nükleol içerebilirler. Mitoz sayısı 10 büyük büyütme alanında (BBA) 4'ü nadiren

geçmektedir. Lamellar kalsifikasyonla karakterize psammom cisimciklerine sık rastlanılır. Lümeninde ekstraselüler mürin bulunabilmektedir.

Kribriform ve mikropapiller yapılarla karakterize “**Kribriform/mikropapiller seröz borderline tümör**” alt tipi mevcuttur. Mikropapillalar, uzunluğu, genişliğinden en az 5 kat fazla olan medusa başı görünümünde papillalardır. Papillaların füzyonu kribriform görünüm oluşturabilmektedir. Tanısal olarak bu subtip için, kribriform ve mikropapiller alanlar en az 5 mm olmalıdır (12,15,18).



Resim 2: Seröz *borderline* tümör, Hematoksilen & Eozin, x100 (25)

Mikroinvazyon:

Borderline tümörlerde de mikroinvazyon olarak adlandırılan, 5 mm’den küçük çapta bir veya birden fazla invazyon odakları sıklıkla bulunabilmektedir. Bu mikroinvazyon odakları eozinofilik metaplastik hücreler olarak adlandırılan, tipik olarak tek hücreli veya küçük grup oluşturan eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden veya şeffaf boşluklar içerisindeki küçük papillalardan oluşmaktadır. Bu durumda lezyon “**Mikroinvazyon gösteren SBT**” tanısını alır (19).

Mikroinvazyon ve mikropapiller/kribriform SBT; bilateralite, yüzey tutulumu, periton implantları ve lenf nodu tutulumunun görülme oranında artışla ilişkili bulunmuştur (17,18,22).

Peritoneal implantlar:

SBT ile ilişkili over dışı yayılım implant olarak tanımlanmaktadır. *Borderline* tümörlerde implant nadirdir ve invaziv peritoneal implant varlığında düşük dereceli seröz karsinom tanısı uygun bulunmuştur (19).

İnvaziv olmayan peritoneal implantlar:

İnvaziv olmayan peritoneal implanların, morfolojik olarak epitelyal ve dezmoplastik olmak üzere iki tipi bulunmaktadır.

Epitelyal implant, yaygın psammomatöz kalsifikasyon içeren, papiller korlara sahip, hafif atipi içerebilen epitelle örtülü olup, nadir mitoz içermektedir.

Dezmoplastik implant, peritonla kaplı yüzeylerde plak benzeri kalınlaşmayla karakterizedir. Ancak omental lobüllerin arasına septal yapılar halinde ilerleyebilir ve yalancı invazyon görünümü yaratabilmektedir. Bu lezyonlar, epitelle döşeli gland yapıları yanı sıra belirgin fibroblastik proliferasyon içermektedirler. Stromal inflamasyon, eşlik eden bezlere oranla daha baskın niteliktedir. İltihabi granülasyon dokusu benzeri görünüm olabilmektedir. Stromada bol miktarda eozinofilik sitoplazmaya sahip dağınık hücreler ile psammom cisimcikleri görülebilmektedir. Mitoza nadir rastlanılmaktadır.

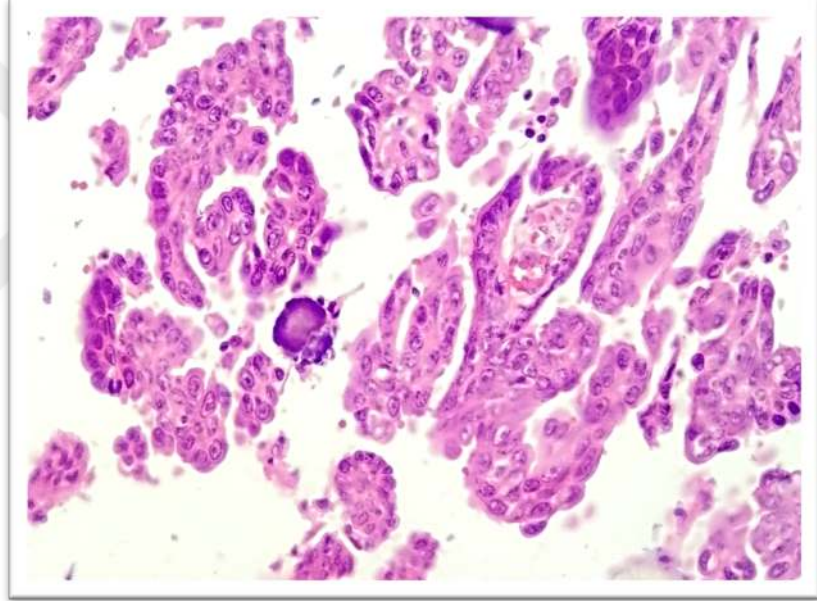
Her iki tipe de akut veya kronik inflamasyon sıklıkla eşlik etmektedir (17).

İnvaziv peritoneal implantlar:

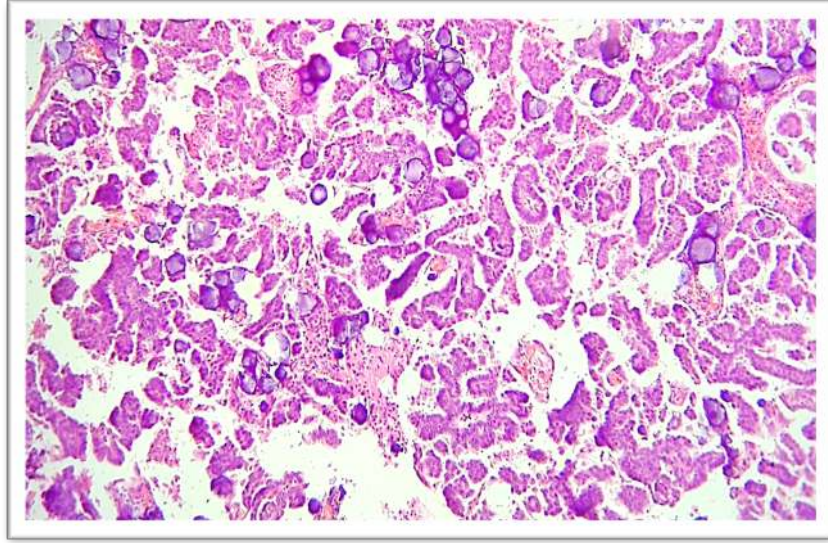
İnvaziv peritoneal implantlar dağınık, gelişigüzel infiltratif büyüme göstermektedirler. Stromadaki invaziv düzensiz mikropapiller yapılar ve küçük hücre toplulukları, tipik olarak şeffaf boşluklar içerisinde bulunmaktadır. Mitotik figürler sıklıkla görülmektedir. Epitel / stroma oranı epitel lehinedir (17,19).

1.7.3. Düşük Dereceli Seröz Karsinom

Düşük dereceli seröz karsinom (DDSK), stromal invazyon içeren düşük dereceli malign özelliklerle karakterize bir seröz neoplazidir. Genellikle bilateral ve makroskopik olarak papiller yapılar ve solid alanlar içeren kistik kitle şeklinde olmaktadır. Mikroskopik olarak küçük adalar, glandlar, mikropapilla ve papillalar, ters makropapillalar içermektedirler. Nükleer atipi hafif olup, nükleus boyutundaki değişkenlik 3 katı aşmamaktadır (Resim 3A ve 3B). Psammom cisimcikleri sık, mitoz sayısı genellikle 1-2/mm² olup, nekroz nadir görülmektedir. İnvaziv neoplastik hücreler tipik olarak şeffaf boşluklar içerisinde bulunmaktadır (17–19,22).



Resim 3A: Düşük dereceli seröz karsinom, Hematoksilen & Eozin, x400



Resim 3B: Düşük dereceli seröz karsinom, Hematoksilen & Eozin, x100

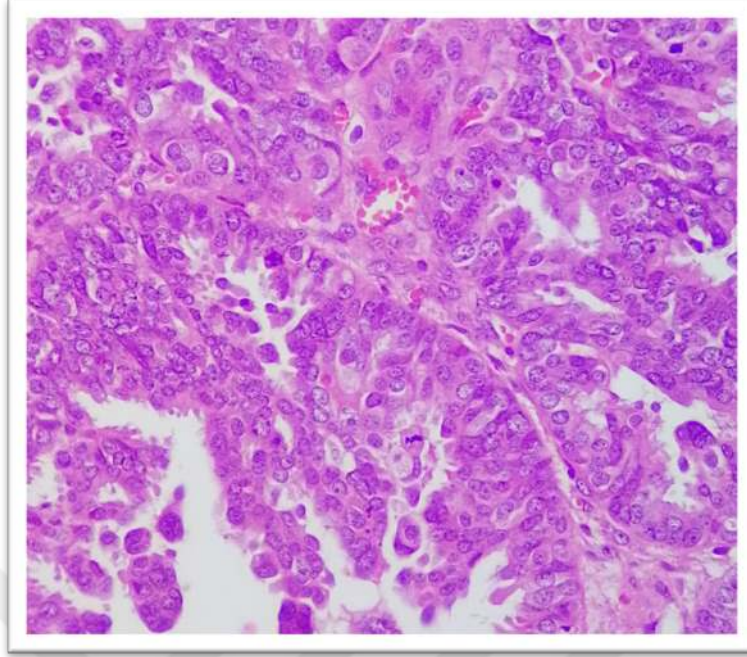
1.7.4. Yüksek Dereceli Seröz Karsinom

Yüksek dereceli seröz karsinom (YDSK), seröz neoplazm spektrumunun sonunda yer alan yüksek dereceli bir neoplazidir.

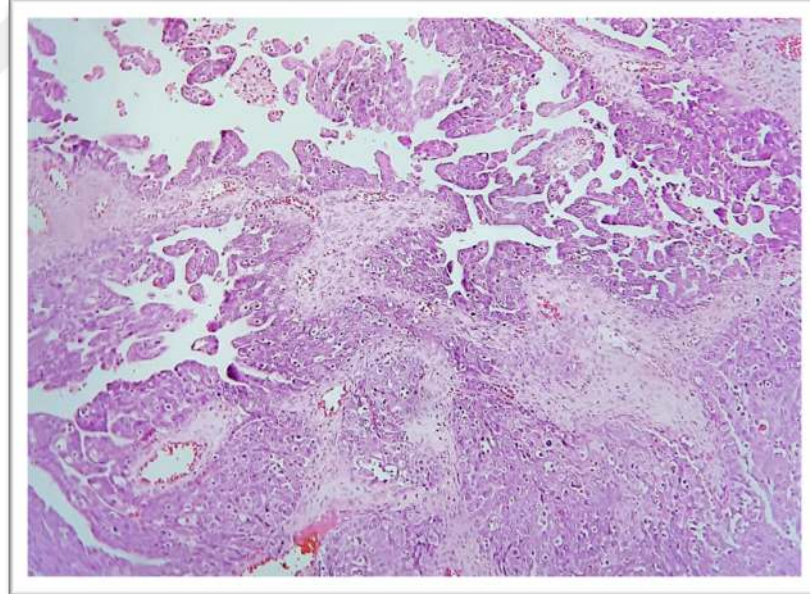
Makroskopik olarak genellikle bilateral, büyük, solid ve papiller alanlar, nekroz ve hemoraji alanları içeren kistik kitle şeklinde görülmektedirler. Tuba uterina sıklıkla kitleden ayrı olarak izlenmemekte ve sıklıkla over dışı yayılım alanları bulunmaktadır.

Mikroskopik olarak solid, papiller, yarık benzeri alanlar içeren, glandüler, kribriform yapısal patern görülebilmektedir. Nükleuslar arası boyut farklılığı 3 kattan fazla, mitoz sayısı ise mm^2 'de 5'den fazla olmaktadır. Nekroz ve bizar tümör hücreleri sıklıkla görülmektedir (Resim 4A ve 4B) (17,19,22).

Homolog rekombinasyon eksikliği olan tümörler, sıklıkla SET şeklinde kısaltılan solid, endometrioid ve transizyonel yapısal paternlere sahiptirler (19).



Resim 4A: Yüksek dereceli seröz karsinom, Hematoksilen & Eozin, x400



Resim 4B: Yüksek dereceli seröz karsinom, Hematoksilen & Eozin, x100

1.8. İmmünohistokimya

DDSK'lar ve SBT'ler, CK7, PAX8, ER ve WT1 pozitif olup p16 ile yamasal ekspresyona sahiptirler. P53'te tipik olarak *wild* tip olarak adlandırılan zayıf fokal pozitiflik izlenmektedir (17,19).

YDSK'lar %95 oranında anormal p53 ekspresyon paternine sahiptir ve %90 oranında WT1 eksprese etmektedirler. Anormal p53 boyanması üç şekilde karşımıza çıkmaktadır;

- Güçlü ve diffüz (hücrelerin en az %80'inde) izlenen nükleer boyanma,
- Hiçbir neoplastik hücrede boyanmanın olmaması,
- Diffüz sitoplazmik boyanmaya eşlik eden zayıf nükleer boyanma

Ayrıca CK7, CA125 ve PAX8 pozitifliği ve sıklıkla ER ekspresyonu görülmektedir. P16 %50 oranında güçlü diffüz boyanma göstermektedir. CK20 ve Napsin A tipik olarak negatif olup PTEN ve ARID1a ekspresyonları korunmuştur (17,19).

DDSK nadiren YDSK şeklinde nüks edebilmektedir. Bu nüks durumunda genellikle *wild* tip p53 boyanması korunmaktadır (22).

1.9. Prognoz ve Tedavi

Seröz kistadenom ve adenofibromlar benign lezyonlar olup nadiren tekrarlamaktadırlar. SBT'lerde FIGO evre 1 hastalık sağ kalımı etkilememektedir ancak ileri evre hastalıkta sağ kalım etkilenmektedir. %4-7 oranında genellikle DDSK'a dönüşüm bildirilmiştir. İnvaziv implantların varlığı en önemli prognostik faktördür (19).

DDSK overe sınırlı olduğunda çok iyi prognoza sahiptir. Evre 3-4 hastalık uzun dönem takipte kötü prognozldur. Evre 2-4 hastalık için sağ kalım 101 aydır (26).

YDSK'ların %95'i over dışı yayılıma sahiptirler. Evrelere göre değişen ortalama 5 yıllık sağ kalım %15-55'tir. Çoğu vaka kemoterapiye yanıtı rağmen nüks

etmektedir. Kalıtsal BRCA1/2 mutasyonu olan tümörler daha iyi prognoza sahiptirler. PARP (Poli ADP-riboz polimeraz) inhibitörleri ile DNA hasar tamirini hedefleyen tedavi yaklaşımları, homolog rekombinasyon eksikliği ve BRCA1/2 mutasyonu olan olgularda sağ kalımda ilerleme sağlamıştır (19,27).

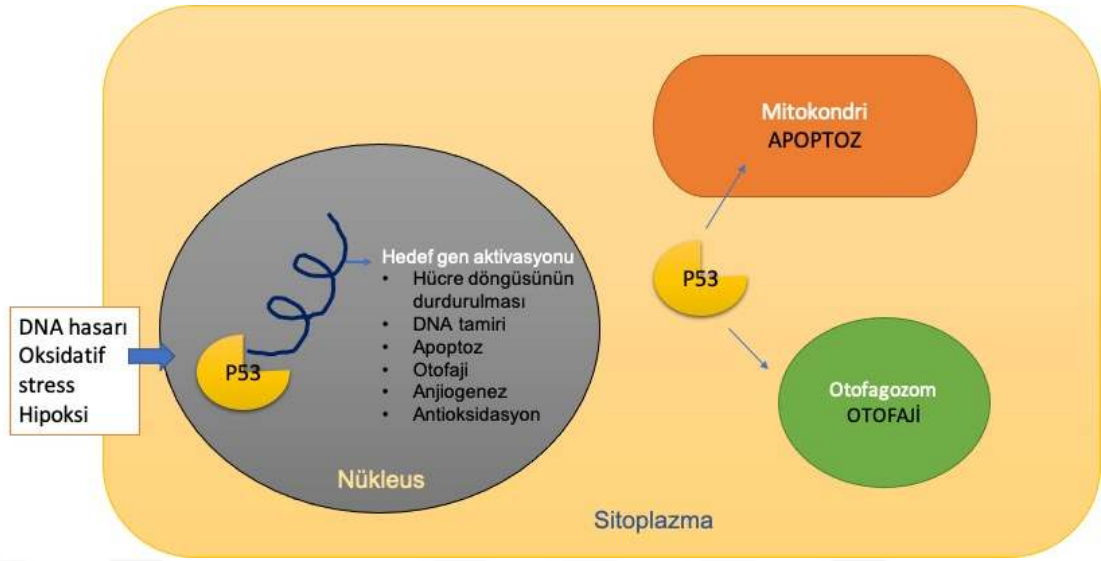
1.10. P53:

P53, kromozom 17p13.1'de lokalize, 19198 nükleotitten oluşan, 11 ekzonluk TP53 (transformation-related protein 53) geni tarafından kodlanan 53-kDa ağırlığında, genom gardiyanı olarak da bilinen tümör baskılayıcı bir proteindir (28,29).

İnsan kanserlerinin yaklaşık %50'sinde p53 mutasyonu bildirilmiştir. P53 eksprese edemeyen deney farelerinde kanser gelişim sıklığı %100'dür (3,28).

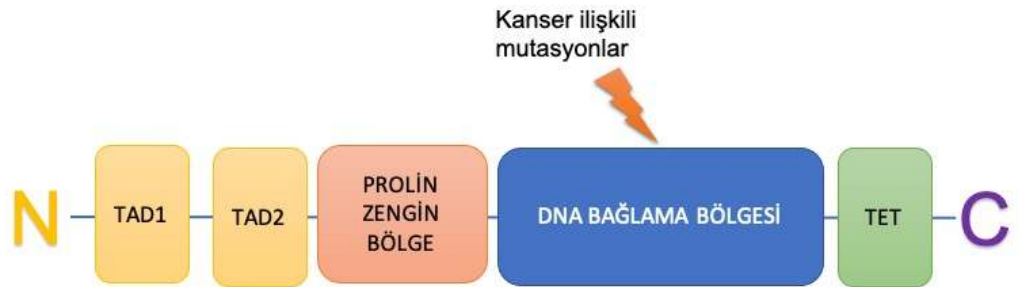
P53 mutasyonu iki farklı şekilde karşımıza çıkmaktadır. Fonksiyon kaybı mutasyonları *wild* tipte p53'ün işlevsiz kalmasına neden olmaktadır. Fonksiyon kazanımı mutasyonlarında ise mutant p53, tümör baskılayıcı özelliğinin kaybı yanında, tümör büyümesi, anjiogenez, invazyon gibi onkojenik fonksiyonlar da kazanmaktadır. Bu tipte fonksiyon kazanımı mutasyonlar özellikle yanlış anlamalı "*missense*" mutasyonlardır ve sık görülmektedirler (8,30,31).

P53 DNA hasarı, oksidatif stress, hipoksi gibi hücrede stress yaratan durumlara yanıt olarak aktiflenmektedir. P53'ün hücrede nükleusta ve sitoplazmada farklı görevleri bulunmaktadır. Nükleusta apoptoz, DNA tamiri, hücre döngüsü, otofaji, hücre yaşlanma ile ilgili genleri aktifleyen transkripsiyon faktörü olarak görev almaktadır. Sitoplazmada ise mitokondri üzerinden apoptoz ve otofagozomlar üzerinden otofajide görev görmektedir (3) (Şekil 3).



Şekil 3: P53'ün hücrede sitoplazmik ve nükleer görevleri bulunmaktadır (3).

P53'ün protein yapısında N terminal ucunda iki tane transkripsiyon aktivasyon zinciri (TAD1, TAD2; transactivation domains) yer alır. C terminal ucuna doğru proline zengin bölgesi (PRD; proline rich domain) ve Src benzeri 3 (SH3; Src homology 3) zinciri yer almaktadır. Santral bölgesinde ise DNA bağlayıcı bölgesi bulunmaktadır (Şekil 4). İnsan kanserlerinde görülen mutasyonların %80'i DNA bağlama bölgesindeki kritik aminoasitlerde görülmektedir (3).



Şekil 4: P53 protein yapısı. Kanser ilişkili mutasyonlar sıklıkla DNA bağlama bölgesinde meydana gelmektedir (3). TAD: Transaktivasyon bölgesi, TET: Tetramerizasyon bölgesi

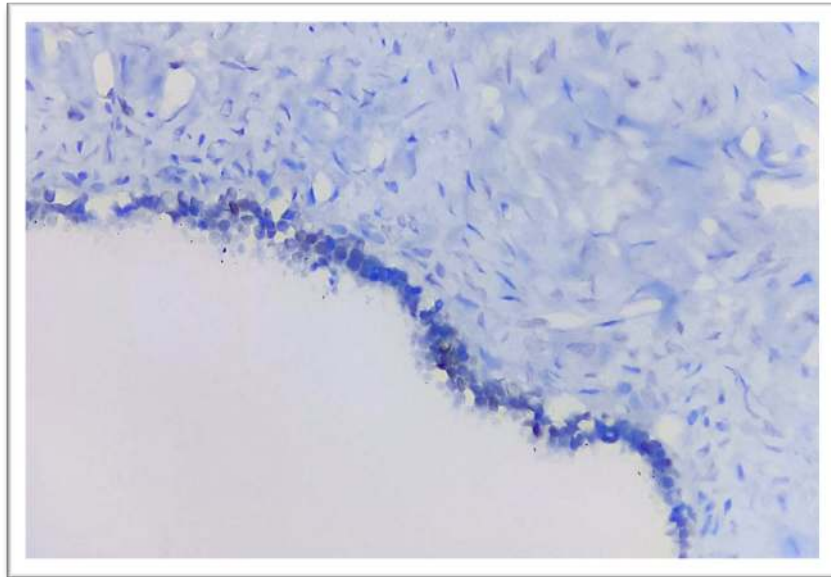
Kanser hücrelerinde p53'ün immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi mutasyon varlığını saptamada uygun ve kolay ulaşılabilir bir yöntem olarak kabul görmüştür (8).

2.10.1 P53'ün İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi:

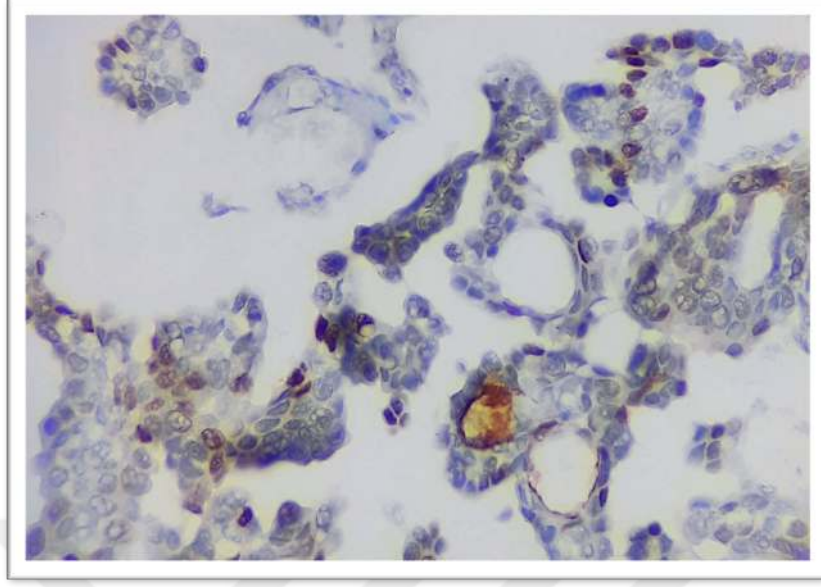
YDSK'ların tamamında p53 mutasyonu mevcuttur. Martin Köbel tarafından 2016 yılında yayınlanan kılavuza göre YDSK'larda p53 immünohistokimyasal paternlerinden en sık (%66) aşırı ekspresyon izlenmektedir. İkinci sıklıkta (%25) komplet kayıp, %4 oranında ise sitoplazmik boyanma paternine rastlanılmaktadır. YDSK'ların %5'inde ise immünohistokimyasal olarak *wild* tipte boyanma izlenmektedir. Bu vakalarda da aslında güdük tipte (*truncated*) p53 mutasyonu mevcuttur. Sağlıklı işlev gören gerçek *wild* tipte p53 YDSK'larda bulunmamaktadır (8).

Wild patern:

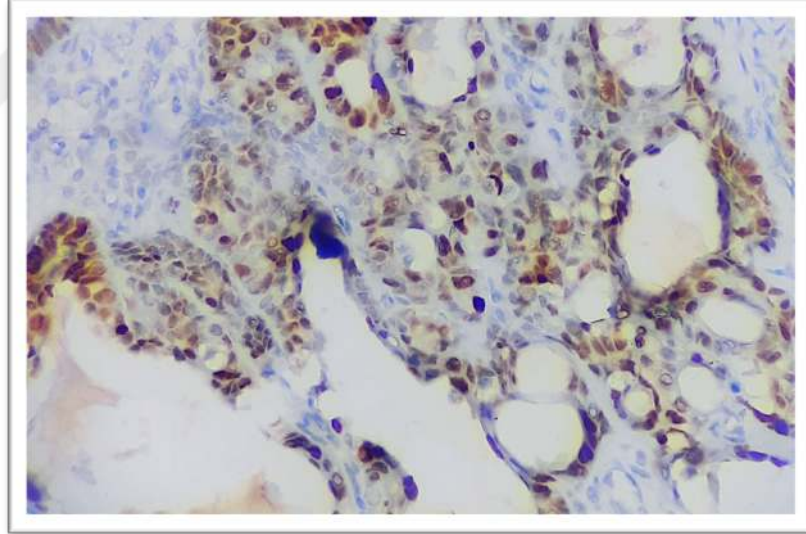
Normal sağlıklı bir hücrede izlenen p53 boyanma paternidir. Seyrek birkaç hücre veya preparat geneline yayılan ancak değişken yoğunlukta nükleer boyanma ile karakterizedir (Resim 5A-5C). Stromal fibroblastlar veya tümör içi immün hücreler iç kontrol olarak kullanılabilir.



Resim 5A: KA'da *wild* tipte p53 ekspresyonu, x400



Resim 5B: DDSK'da *wild* tipte p53 ekspresyonu, x400



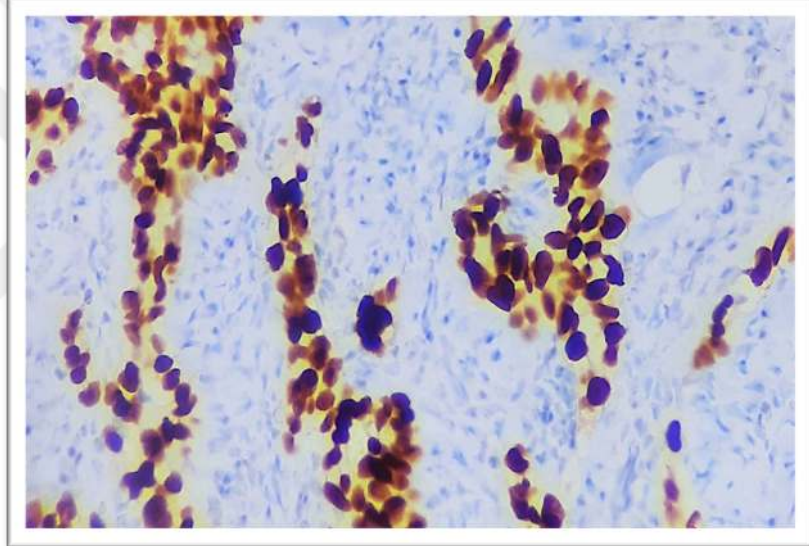
Resim 5C: YDSK'da *wild* tipte p53 ekspresyonu, x400

Wild tip p53 değerlendirilirken dikkat edilmesi gereken bir nokta bulunmaktadır; oransal olarak bakıldığında %80'den fazla dahi p53 boyanması olabilir ancak zayıf, orta ve kuvvetli olmak üzere değişken şiddetlerde boyanma varlığında *wild* patern olarak değerlendirilmelidir.

Proliferasyonun yüksek olduğu alanlarda (epidermis bazali gibi) daha yoğun *wild* p53 boyanması olması beklenen bir durumdur (8).

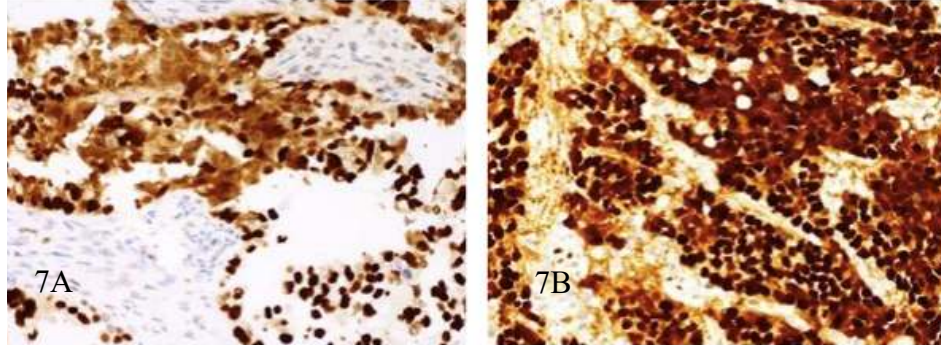
Aşırı ekspresyon (Diffüz nükleer ekspresyon) paterni:

%80'den fazla hücrede boyanma olarak tanımlansa da genelde hücrelerin tamamında görülen kuvvetli nükleer boyanma ile karakterizedir (Resim 6). Sıklıkla yanlış anlamlı (*missense*) p53 mutasyonu ile ilişkili olmaktadır. Ayrıca çerçeve kayması ve uçbirleştirme (*splicing*) mutasyonları ile oluşabilmektedir (8).



Resim 6: YDSK'da diffüz nükleer p53 ekspresyonu, x400

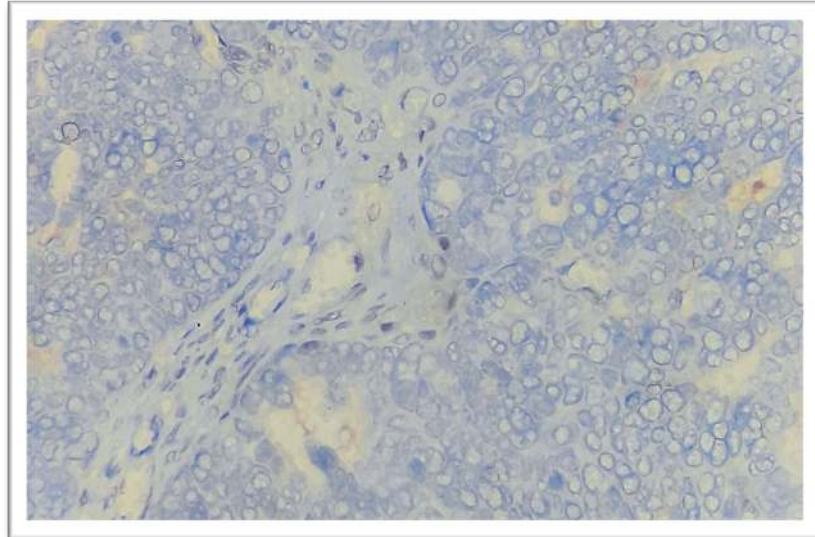
Diffüz nükleer ekspresyon paterninde tümöral hücrelerde veya zeminde eşlik eden sitoplazmik boyanma olabilmektedir. Böyle durumlarda tümör hücrelerindeki %80'den fazla nükleer boyanma varlığı diffüz nükleer p53 ekspresyonu olarak değerlendirilmelidir (8) (Resim 7A ve 7B).



Resim 7: Diffüz nükleer p53 ekspresyonu örnekleri 7A: Nükleer aşırı ekspresyon paternine nadiren tümöral sitoplazmik boyanma eşlik edebilmektedir. 7B: Nükleer aşırı ekspresyona, zemindeki stromal hücrelerin sitoplazmik boyanması eşlik edebilmektedir. (p53, x400)

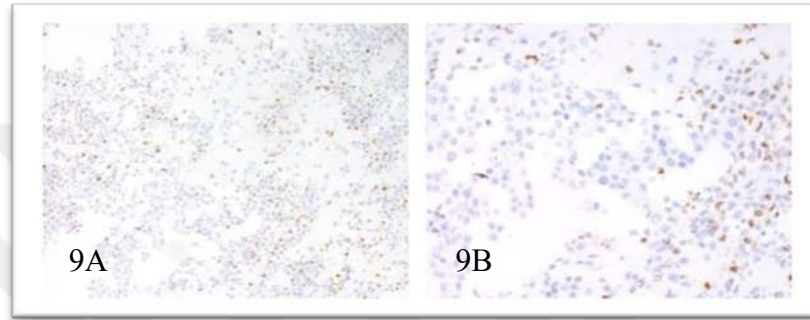
Komplet kayıp paterni:

İç kontrol olan stromal fibroblastlar ve immün hücrelerde *wild* tipte boyanma varlığında, tümör hücrelerinin hiçbirinde boyanmanın izlenmemesi ile karakterizedir (Resim 8). P53'ün insersiyon, delesyon, sonlanım (*stop-gain*) ve uçbirleştirme (*splicing*) mutasyonları ile ilişkilidir. Sonuçta kısa bir mRNA oluşmakta ve protein translasyonu gerçekleşmemektedir.



Resim 8: YDSK'da p53 ekspresyonunda komplet kayıp, x400

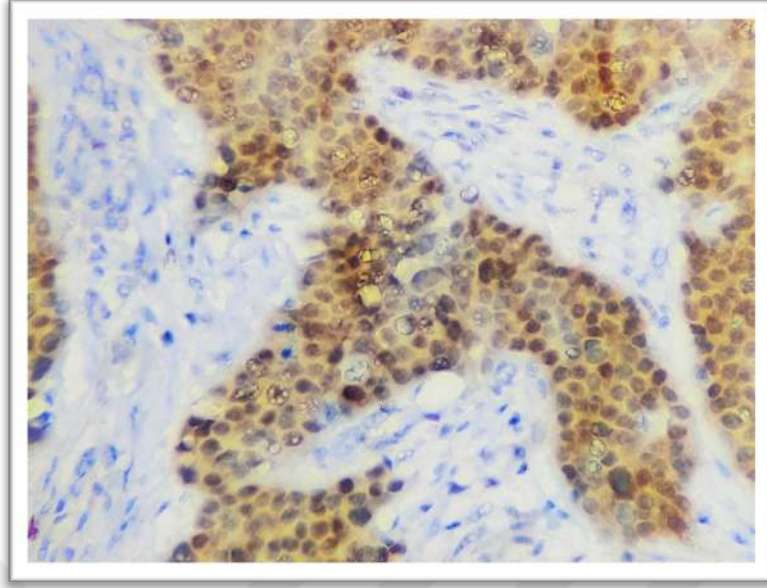
Dikkat edilmesi gereken bir nokta, çok az ve izole hücrelerde izlenen zayıf nükleer boyanma varlığında preparat dikkatle incelenmeli komplet kayıp olarak değerlendirilmemelidir. Bu durumda genelde iç kontrol boyanması da aynı şekilde çok zayıf olmaktadır. İç kontrol boyanmasından belirgin olarak ayırt edilen boyanma kaybı komplet kayıp olarak değerlendirilmelidir. İç kontrol boyanması da izlenmiyorsa preparat değerlendirilmeye uygun değil demektir (8) (Resim 9A ve 9B).



Resim 9: 9A: Komplet kayıp p53 paternine sahip örneğe küçük büyütmede bakıldığında wild tipte p53 izlenimi uyandırmaktadır. (p53, x100) 9B: Büyük büyütmeye geçildiğinde p53 ile boyanan hücrelerin immün hücreler oldukları ve tümörün komplet kayıp gösterdiği görülmektedir. (p53, x200)

Sitoplazmik patern:

Kuvvetli, %80'den fazla oranda nükleer boyanmanın olmadığı ve baskın olarak sitoplazmik boyanmanın izlendiği paterndir (Resim 10). Eşlik eden nükleer boyanma olmayabilir veya zayıf, değişken yoğunlukta olabilmektedir. İnversiyon, delesyon veya nükleer lokalizasyon sinyalinin durdurulması ile sonuçlanan mutasyonlarla ilişkili bulunmuştur. Sitoplazmik boyanma için bir eşik değer henüz tanımlanmamıştır. Ancak zemindeki kontrol hücrelerinden farklı bir sitoplazmik boyanmanın olması, zemin boyanmasından ayırt etmekte yardımcı olmaktadır (8).



Resim 10: YDSK'da sitoplazmik p53 ekspresyonu, x400

2.10.2. P53'ün Hücresel Lokalizasyonunun Kontrolü ve Ubikuitinasyon:

Ubikuitin proteazom sistemi, hücrede hasarlı, ihtiyaç dışı ve fazla miktardaki proteinlerin yıkımını gerçekleştirir ve böylece proteinler hücrede belli bir seviyede tutulmaktadır. Bu sistem çalışmadığında kusurlu proteinler yıkılamadığından hücrede hastalık yaratmaktadırlar. Seçilmiş proteinlerin ubikuitinle işaretlendikten sonra proteazomlarla tanınıp yıkılması için spesifik proteinlerle eşleşmeleri gerekmektedir (32).

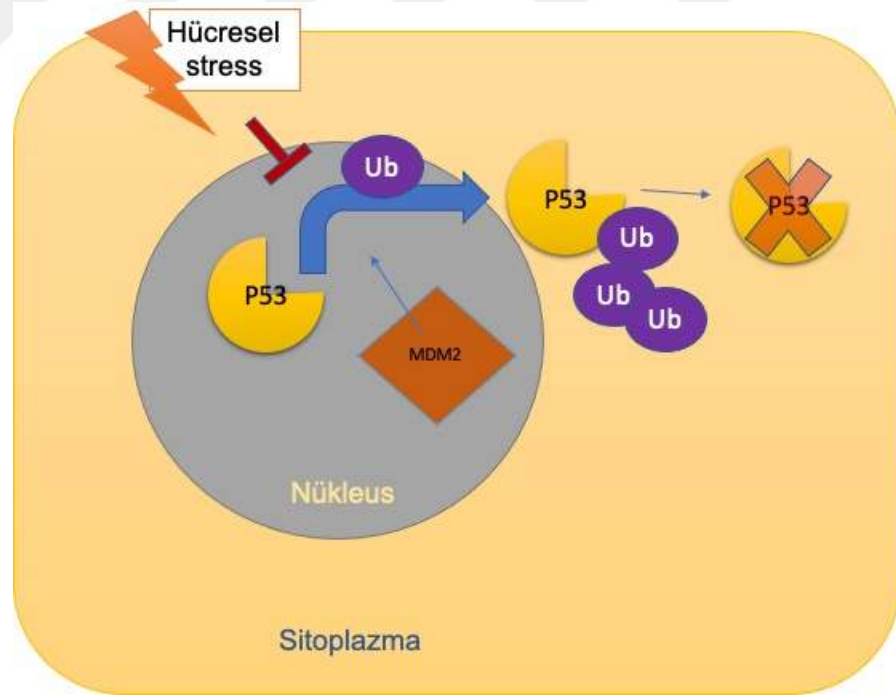
Protein ubikuitinizasyonu üç ana enzimle gerçekleşmektedir. E1 enzimi ile ubikuitin aktiflenmekte, aktif ubikuitin, ubikuitin bağlayıcı enzim olan E2'ye aktarılmaktadır. E3 enzimi ise hedef proteinin tanınmasında ve ubikuitini E2 enziminden alıp hedef proteine bağlanmasında rol oynamaktadır. İnsanlarda altıyüzden fazla E3 ligaz bilinmektedir (33,34).

P53 aktivitesi proteazomal yolla regüle edilmektedir. Stressiz durumdaki bir hücrede p53'ün proteazomal yıkımı olmaktadır. Bu yıkım p53'ün E3 ligazlar tarafından ubikuitinle işaretlenmesi sonucu gerçekleşmektedir. Sağlıklı bir hücre stres altındayken, p53'e ubikuitin kazandıran E3 ubikuitin ligazların işlevi durmakta ve hücrede *wild* tipte p53 birikmeye başlayarak aktive olmaktadır (3,4).

1.11. MDM2:

MDM2 (Mouse Double Minute 2), kromozom 12q14'te lokalize MDM2 geni tarafından kodlanan 491 aminoasitlik, 56 kDa ağırlığında bir proteindir. N-terminal p53 bağlanma alanı, merkezi asidik ve çinko-bağlama alanları ve bir C-terminal RING (*Really interesting new gene*-Gerçekten ilginç yeni gen) alanı içermektedir. Baskın olarak nükleusta lokalize olup E3 ubiquitin ligaz aktivitesine sahiptir (35,36).

MDM2, p53 proteininin önemli bir negatif düzenleyicisi olup üç yolla p53 aktivitesini baskılamaktadır. p53'ün N terminal ucundaki transaktivasyon bölgesine bağlanarak p53'ün direkt olarak transkripsiyon işlevini inhibe edebilmektedir. P53'e bir adet ubiquitin bağlayarak nükleustan sitoplazmaya geçişini sağlamaktadır. P53'e çok sayıda ubiquitin bağlayarak ise proteazomal yolla yıkımına neden olmaktadır. Böylelikle DNA tamirinde bozulmaya, kromozomal anormalliklere ve genomik stabilitenin bozulmasına neden olarak onkojenik fonksiyon göstermektedir (37) (Şekil 5).



Şekil 5: MDM2, p53'e bir adet ubiquitin bağlayarak nükleustan sitoplazmaya geçmesine, birden çok ubiquitin bağlayarak ise proteazomal yıkımına neden olmaktadır.

Sağlıklı hücrelerde stres durumunda p53 ve MDM2 fosforile olmakta ve MDM2, p53'ten ayrılmaktadır. Böylelikle aktif olan p53 hücre döngüsünü kontrol ederek tümör baskılama görevini yürütmektedir. Artan p53 ise, MDM2 aktivitesini aktive ederek geri besleme yoluyla p53 düzeyini sınırlamaktadır (37,38).

MDM2'nin p53'den bağımsız işlevleri de bulunmaktadır. Tümör baskılanmasında rol alan p53 dışı proteinlerin proteazomal yıkımında, DNA hasarına neden olan faktörlerin aktivasyonunda ve genomik instabilitede, onkogenik mRNA aktivasyonunda ve epigenetik modifikasyonda rol oynamaktadır. MDM2 hipoksi durumunda mitokondriye girerek mitokondriyal reaktif oksijen radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır (39). Ayrıca MDM2, TGF-Beta aktivasyonuna yol açarak, epitelial mezenkimal dönüşüm ve metastaza neden olmaktadır (40).

MDM2 geni taşımayan deney fareleri embriyogenezin erken safhalarında ölmektedir. Hem MDM2 hem de p53 yokluğunda ise yalnızca p53 geni taşımayan farelerdekine benzer bir sağ kalım görülmektedir. MDM2 özellikle sarkomlar ve bazı karsinomlarda amplifiye bulunmuştur (37,38).

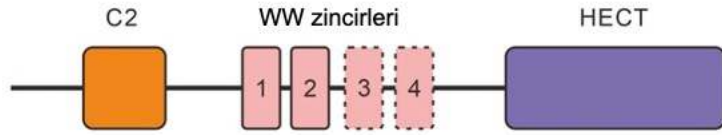
1.12. WWP1:

WWP1 (WW zinciri içeren E3 ubiquitin protein ligaz 1 (WW Domain Containing E3 Ubiquitin Protein Ligase 1)), 8q21 kromozomunda lokalize WWP1 geni tarafından kodlanan 922 aminoasitlik bir proteindir. Bu gen, 4 ardışık WW alanı ve bir HECT (E6 ilişkili protein karboksil terminali homologu (Homologous to the E6-associated protein carboxyl terminus) alanı içeren bir proteini kodlamaktadır. Kodlanmış protein, NEDD4 benzeri ubiquitin ligaz ailesine aittir (41,42).

WW zinciri 35-40 aminoasitten oluşan bir proteindir. 2000'den fazla WW zinciri içeren protein tanımlanmıştır. WW zincirleri proteinlerin prolinen zengin bölgesine bağlanır ve sinyal iletiminde, proteinlerin posttranskripsiyonel modifikasyonunda görev almaktadırlar (43).

Ubikuitin proteazom sisteminde görev alan WW zinciri içeren proteinler NEDD4 ubiquitin ligaz ailesinde yer alırlar. NEDD4 ubiquitin ligaz ailesi N terminal C2 zinciri, C terminal HECT zinciri ve 2 ile 4 WW zinciri içerirler (44) (Şekil 6). HECT zinciri ubiquitini, E3 ubiquitin ligazdan hedef protein taşımakta görevlidir. Bu

nedenle NEDD4 ubikuitin ligaz ailesi HECT tipi ubikuitin ligaz olarak sınıflandırılır. HECT tipi ubikuitin ligazlardan WW zinciri içeren proteinlerden biri WWP1'dir (45).



Şekil 6: WWP1 protein yapısı

WWP1 hücrede sinyal iletiminde, proteazomal yıkımda, transkripsiyon ve RNA düzenlenmesinde görev almakta, proteazomal yıkım için hedef proteinleri işaretlemektedir. Bu hedef proteinler arasında p53, PTEN, p73, p63 yer almaktadır (42,46).

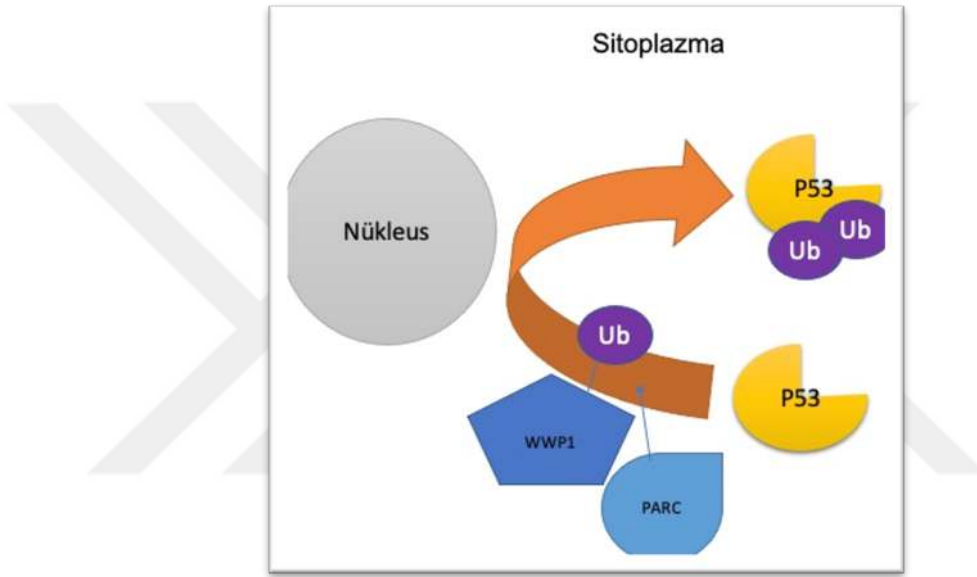
WWP1, p53'ün stabilitesini artırarak işlevini bozmaktadır. Bu stabilizasyon p53'ün sitoplazmada kalmasını sağlamakta ve p53'ün nükleer transkripsiyon aktivitesini baskılamaktadır. WWP1'in baskılanması sonucu p53 aktivitesi artmaktadır. P53 aktivitesi artınca da negatif geri besleme nedeniyle WWP1 baskılanmaktadır (47).

WWP1, transforme büyüme faktörü- β (TGF- β) ve EGFR sinyal yolağında da görev almaktadır. WWP1 ErbB4/HER4'ün sitoplazmik bölgesini ubikuitinleyerek proliferatif etkisini baskılamaktadır. WWP1 kaybı kontrolsüz tümöral proliferasyona neden olmaktadır (48).

1.13. PARC:

PARC (p53 ilişkili Parkin benzeri sitoplazmik protein) ya da diğer adıyla CUL9 (*Cullin 9*) geni kromozom 6p21.1'de lokalize olup 2517 aminoasitlik 270 kDa ağırlığında bir protein kodlamaktadır. PARC baskın olarak sitoplazmada bulunmaktadır. Nikolaev ve arkadaşları tarafından 2003'te tanımlanmıştır. Over ve testiste belirgin olmakla birlikte vücutta yaygın ekspresyonu bulunmaktadır (49–51).

PARC *Cullin RING* (Really interesting new gene-Gerçekten ilginç yeni gen) içeren ligaz ailesinin bir üyesi olup ubiquitin ligaz aktivitesi içermektedir. Genom bütünlüğünde ve mikrotübül fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev almaktadır. PARC p53'ün hücresel lokalizasyonunu ve fonksiyonunu düzenlemektedir. P53'ün C terminal zincirine bağlanmakta ve nükleusa alımını engellemektedir. PARC, p53 için sitoplazmik çapa görevi görmektedir (Şekil 7) (47,50,52).



Şekil 7: WWP1 ve PARC, p53'ü ubiquitinleyerek sitoplazmada kalmasını sağlamaktadır. Ub: Ubikuitin

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Olgu Seçimi

Çalışmada Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda 2011-2019 yılları arasında tanı alan, 7'si düşük dereceli seröz kistadenokarsinom, 38'i yüksek dereceli kistadenokarsinom ve 15'i seröz kistadenom olmak üzere toplam 60 over tümörü olgusu retrospektif olarak incelenmiştir.

Patoloji raporlarından olgulara ait yaş, yerleşim yeri, over yüzey tutulumu, kapsül rüptürü, bilateralite, en büyük tümör çapı, toplam tümör çapı, tuba uterina tutulumu, omentum tutulumu, peritoneal karsinomatosis varlığı, batın sıvısı pozitifliği, reaktif ve metastatik lenf nodu durumu, lenfovasküler invazyon varlığı, adenomyozis, endometriozis varlığı kaydedilmiştir. Hastane bilgi sisteminden serum CA125 değeri, periton dışı metastaz varlığı ve metastaz yeri öğrenilmiştir. Olgulara ait arşivde yer alan Hematoksilen & Eozin, p53, ER, WT-1 ve Ki-67 preparatları tekrar değerlendirilmiştir.

3.2. İmmunohistokimyasal İnceleme

Olgulara ait seçilmiş parafin bloklardan 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler, polilizin ile kaplanmış lama alınıp deparafinize edildi. Kromojen olarak DAB ultraview detection kit (Ventana Medical Systems, Inc.) kullanılarak Ventana BenchMark ULTRA otomatik boyama cihazında (Ventana Medical Systems, Inc.) immünohistokimyasal boyama gerçekleştirildi. WWP1 antikoru (FineTest, *Rabbit Polyclonal*) 1/400 dilüsyon, PARC antikoru (Abcam, *Rabbit Polyclonal*) 1/200, MDM2 antikoru (Bioassay Technology Laboratory, *Rabbit Polyclonal*) 1/200 dilüe edilerek kullanıldı. Boyama için deparafinize edilen kesitler, antijeniteyi ortaya çıkarmak için otomatize sistemde önce 95° derecede 8 dakika ısıtma uygulanıp, ardından 64 dakika CC1 solüsyonunda bekletildi. Boyama, antikor ile 36 dakika inkübasyon süresi sonra hematoksislen ile zemin boyaması yapılarak tamamlandı. Boyalı lamalar su bazlı medium (DAKO) ile kapatıldı.

3.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal boyalı kesitler, ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse E200) değerlendirildi. Boyaların çalışırılığının kontrolü açısından; WWP-1 için mide dokusu, MDM-2 için liposarkom dokusu, PARC için testis dokusu pozitif kontrol olarak alındı. Kontrol dokusu pozitif iken, WWP1, MDM2 ve PARC antikoru hücresel boyanma lokalizasyonuna (sitoplazmik ve nükleer) ve boyanma yüzdesine göre değerlendirildi. Boyanma kuvveti 0-3 arasında skorlandı. 4 adet 40'lık büyük büyütme alanındaki sitoplazmik boyanma yüzdesi ve boyanma yoğunluğu H skoru kullanılarak değerlendirildi. H skoru hesaplanması için aşağıdaki denklemi kullanan MS Excel macro dosyası oluşturuldu (53,54).

$$H \text{ skor} = \sum (P_i \times i)$$

P_i boyanan hücrelerin yüzdesini gösteren katsayı ve i ise boyanma yoğunluğu (3+ (Güçlü), 2+ (Orta), 1+ (Zayıf), 0 (Boyanma yok)) ifade etmektedir.

Arşive ait Ki-67 (Ventana, 30-9, *Rabbit Monoclonal*) boyalı preparatlar, boyanmanın en yoğun olduğu alanda büyük büyütme alanında boyanan neoplastik hücre nükleusları hücre sayılarak yüzde olarak hesaplandı. İç kontrol olarak ki-67 için ise lenfositler, p53 için zemin fibroblastları kullanıldı. P53 (Ventana, Bp53-11) boyalı preparatlar;

- *Wild*: Tümöral hücrelerde zayıf ve fokal nükleer boyanma
- Sitoplazmik: Tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanma
- Komplet kayıp: Hiçbir tümör hücresinde boyanmanın olmaması
- Diffüz nükleer (Aşırı ekspresyon): Tümör hücrelerinde %80'in üzerinde nükleer kuvvetli boyanma olmak üzere 4 kategoriye ayrılarak değerlendirildi ve boyanmanın yüzdesi kaydedildi.

Arşive ait ER (Ventana, SP1, *Rabbit Monoclonal*) ve WT1 (Ventana, 6F-H2, *Mouse Monoclonal*) preparatları ise negatif, pozitif ve yamasal olmak üzere üçer kategoriye ayrılarak incelendi.

3.4. İstatiksel Değerlendirme:

İstatiksel analiz için IBM SPSS Statistics 21.0 kullanılıp p değeri 0,05 ve altı anlamlı olarak kabul edildi. Veriler normal dağılıma uymadığından gruplar arasındaki karşılaştırma nonparametrik testler olan Kruskal-Wallis testi ve Mann-Whitney U testi ile Bonferoni düzeltmesi kullanılarak değerlendirildi.

Finansal Destek ve Etik Kurul Kararı:

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alınmıştır (12.07.2019 - Protokol no: 2019/195). Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: TTU-2019-8381

4. BULGULAR

Çalışmaya;

- 38 adet (%63,3) yüksek dereceli seröz kistadenokarsinom (YDSK),
- 7 adet (%11,7) düşük dereceli seröz kistadenokarsinom (DDSK),
- 15 adet (%25) seröz kistadenom (KA)

dahil edilmiştir.

4.1. Yaş:

Vakaların yaşı 11 ile 87 arasında değişmekte olup ortalama yaş 53'tür.

- YDSK'larda yaş aralığı 39-87, ortalama 58, ortanca 57'dir.
- DDSK'larda yaş aralığı 33-74, ortalama 52, ortanca 51'dir.
- KA'larda yaş aralığı 11-78, ortalama 41, ortanca 35'tir.

4.2. Tümör Boyutu ve Yerleşimi:

Toplam 23 vaka bilateraldir (%38,3).

- YDSK'ların 21'i (%55,2),
- DDSK'ların 2'si (%28,6) bilateral olup, KA'larda bilateral vaka yoktur.

Tek overde yerleşim gösterenlerde ise YDSK, DDSK ve KA'lar açısından sağ ve sol over yerleşimi açısından eşit dağılım görülmektedir.

Tümör boyutları; (Bilateral tümörlerde en büyük tümör çapı dikkate alınmıştır.)

- YDSK: 1,7 ile 20 cm arasında değişmekte, ortanca çap 6 cm'dir.
- DDSK: 1,8 ile 17 cm arasında değişmekte, ortanca çap 10 cm'dir.
- KA: 3 ile 16 cm arasında değişmekte, ortanca çap 8 cm'dir.

4.3. Patolojik Parametreler:

Over yüzey tutulumu:

YDSK'larda 26 adet (%68,4), DDSK'larda 3 adet (%42,9) over yüzey tutulumu gösteren vaka mevcuttur.

Tuba yüzey tutulumu:

YDSK'larda 21 adet (%55,2), DDSK'larda 4 adet (%57,1) tubal yüzey tutulum gösteren vaka mevcuttur.

Omentum tutulumu:

YDSK'ların 20 tanesinde (%52,6), DDSK'ların 3 tanesinde (%42,9) omentum tutulumu mevcuttur.

Kapsül rüptürü:

YDSK'ların 16 tanesinde (%42,1), DDSK'ların 3 tanesinde (%42,9) kapsül rüptürü mevcuttur.

Batın sıvısı:

YDSK'larda 23 adet (%60,5), DDSK'larda 5 adet (%71,4) batın sıvısı pozitifliği gösteren vaka izlenmiştir.

Lenfovasküler invazyon:

YDSK'ların 16 tanesinde (%42,1), DDSK'ların 2 tanesinde (%28,6) lenfovasküler invazyon mevcuttur.

Lenf nodu tutulumu:

YDSK'larda 12 adet (%31,5), DDSK'larda 1 adet (%14,2) lenf nodu tutulumu gösteren vaka mevcuttur.

Peritoneal karsinomatozis:

YDSK'ların 26 tanesinde (%68,4), DDSK'ların 4 tanesinde (%57,1) peritoneal karsinomatozis izlenmiştir.

Adenomyozis:

YDSK'ların 7 tanesinde (%18,4), DDSK'ların 1 tanesinde (%14,2) uterusda adenomyozis varlığına rastlanılmıştır.

ER:

YDSK'larda;

7 adet (%18,4) ER negatif, 10 adet (%26,3) ER pozitif, 9 adet (%23,6) yamasal pozitif vaka mevcuttur.

DDSK'larda 1 adet (%14) ER pozitif, 3 adet (%42) ER yamasal pozitif vaka izlenmiştir. Geri kalan vakaların arşivde ER preparatına rastlanılmamıştır.

WT1:

YDSK'ların 8 (%21) tanesi WT1 negatif, 17 (%44) tanesi WT1 pozitif, 7 (%18) tanesinde yamasal pozitiflik mevcuttur.

DDSK'ların 1 (%20) tanesi WT1 negatif, 2 (%40) tanesi WT1 pozitif, 2 (%40) tanesi yamasal pozitifdir. Geri kalan vakaların arşivde WT1 preparatına rastlanılmamıştır.

Ki-67:

YDSK'ların Ki-67 indeksi 3 ile 90 arasında değişmekte olup ortanca 25'tir. DDSK'ların Ki-67 indeksi 3 ile 20 arasında değişmekte olup ortanca 10'dur.

KA'larda ise Ki-67 aralığı 0-5 olup ortanca 2'dir.

4.4. Klinik Veriler:

Periton dışı metastaz:

YDSK'larda 15 adet (%39), DDSK'larda 2 adet (%28,5) vakada periton dışı metastaz izlenmiştir.

Metastaz bölgeleri YDSK'ların 5 tanesinde akciğer, 8 tanesinde karaciğer, 1 tanesinde dalak, 1 tanesinde mesanedir. DDSK'ların 1 tanesinde akciğer, 1 tanesinde cilt altı metastazı görülmüştür.

Serum CA125 değeri:

YDSK'larda 4,9 ile 5197 U/ml arasında değiştiği görülmüş, ortalama 921 bulunmuştur.

DDSK'lar için CA125 değeri 7-1216 U/ml arasında değişmekte olup ortalama 35'tir.

KA'lar için ise 4,5-52 U/ml arası değişmekte olup ortalama 13'tür.

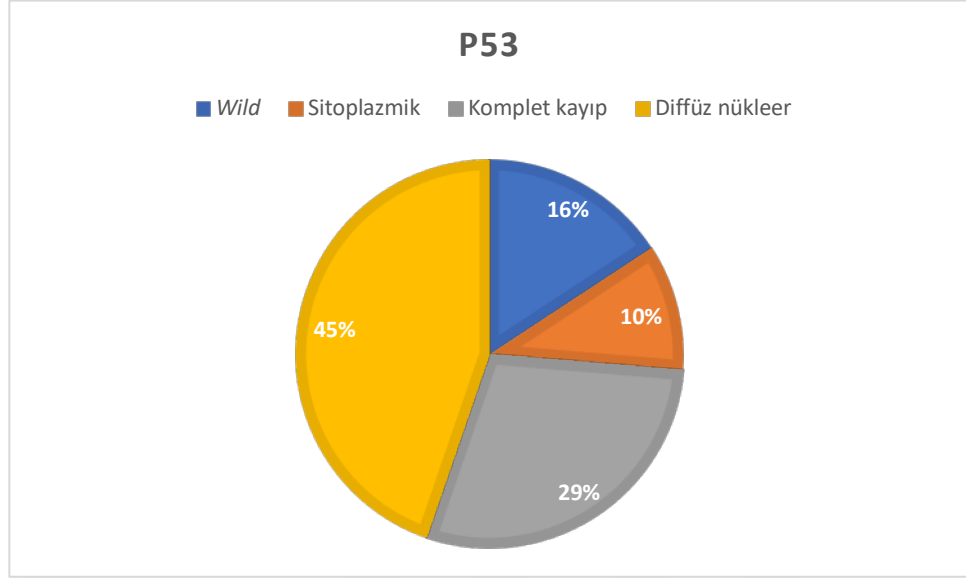
4.5. İmmunohistokimyasal Bulgular:

4.5.1. P53 İmmohistokimyasal Bulguları:

YDSK'ların p53 boyanma özellikleri;

- *Wild*: 6 adet (%15,8),
- Sitoplazmik: 4 adet (%10,5)
- Komplet kayıp: 11 adet (%28,9),
- Aşırı ekspresyon (Diffüz nükleer): 17 adet (%44,7)

DDSK'lar ve KA'ların tamamında p53 ile *wild* tipte boyanma izlenmiştir. Tüm vakalar için p53 boyanma durumu pasta grafiğinde özetlenmiştir (Şekil 8).



Şekil 8: Tüm vakaların p53 ile immünohistokimyasal boyanma durumu

P53 İmmünohistokimyasal Boyanma Yüzdesi:

Dört büyük büyütme alanında boyanan hücreler sayılıp boyanmayan hücrelere oranlanarak elde edilen p53 yüzdesi ise;

- YDSK’lar için için 0 ile 100 arasında değiştiği görülmüş, ortanca 90 bulunmuştur.
- DDSK’lar için p53 yüzde aralığı 1-40 olup ortanca 5’tir.
- KA’lar için ise p53 yüzdesi 1-7 arası değişmekte olup ortanca 1’dır.

YDSK’lar p53 paternlerine göre kategorize edilerek bakıldığında ise p53 boyanma yüzdeleri;

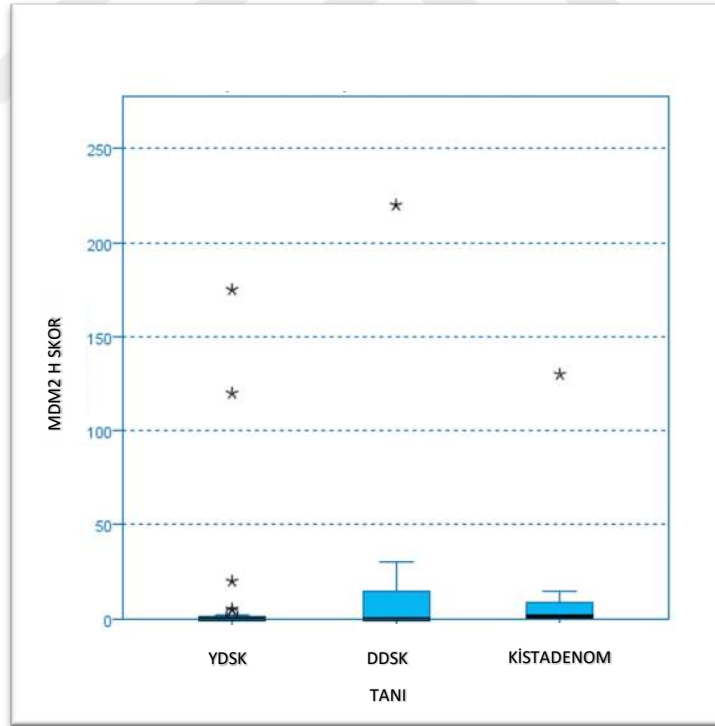
- Sitoplazmik patern p53 sergileyen YDSK’larda %70-95
- *Wild* patern p53 sergileyen YDSK’larda %30-60
- Komplet kayıp vakalar %0
- Diffüz nükleer paterndeki vakalarda %90-100 arasındadır.

4.5.2. MDM2 İmmunohistokimyasal Bulguları

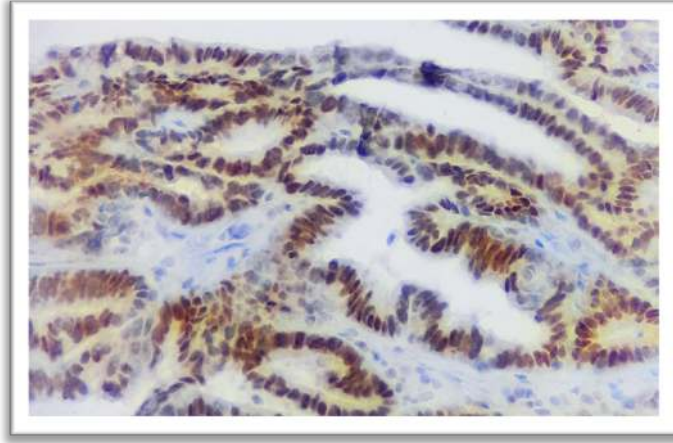
MDM2 immunohistokimyasal çalışması uygulanmış ve boyanmanın hücresel lokalizasyonu belirlenip, boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddetine göre H skoru hesaplanmıştır (Resim 11A-B). MDM2 boyanma paterni yalnızca nükleer niteliktedir.

H skoru değerleri;

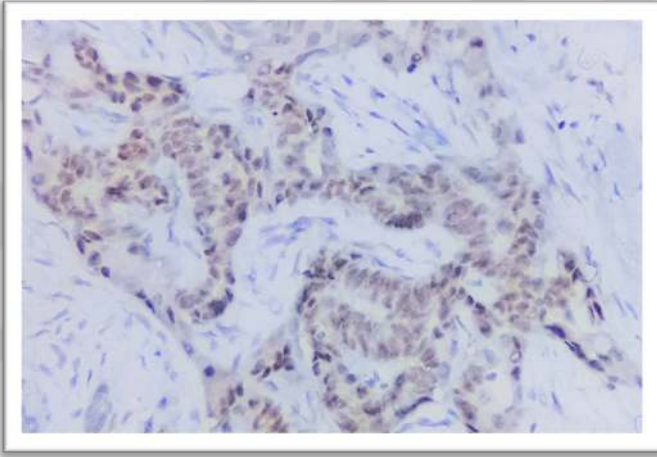
- YDSK: Minimum 0, maksimum 175 olup ortalama 9, ortanca değer ise 0'dır.
- DDSK: Minimum 0, maksimum 220 olup ortalama 32, ortanca değer ise 0'dır.
- KA: Minimum 0, maksimum 130 olup ortalama 12, ortanca değer ise 1'dir (Şekil 9).



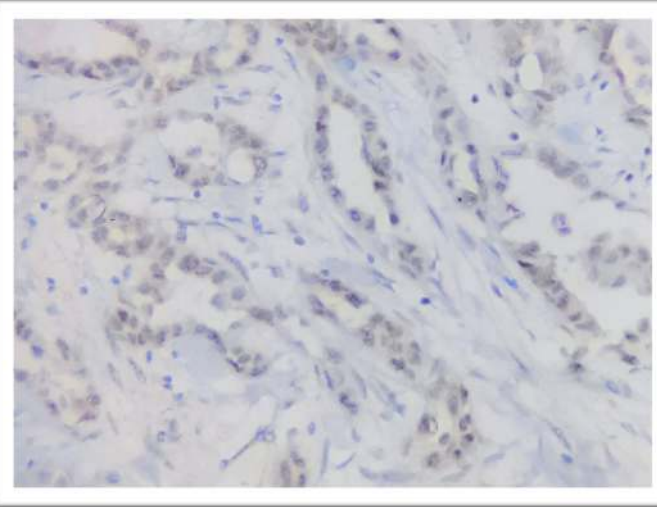
Şekil 9: Tanılara göre MDM2 H skor değerleri



Resim 11A: MDM2 ile +3 şiddetinde nükleer boyanma, x400



Resim 11B: MDM2 ile +2 şiddetinde nükleer boyanma, x400



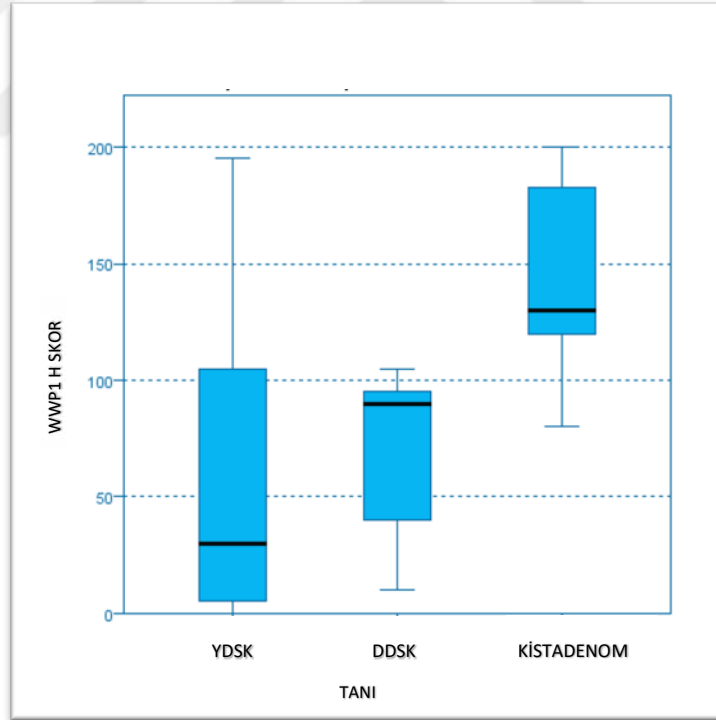
Resim 11C: MDM2 ile +1 şiddetinde nükleer boyanma, x400

4.5.3. WWP1 İmmunohistokimyasal Bulguları

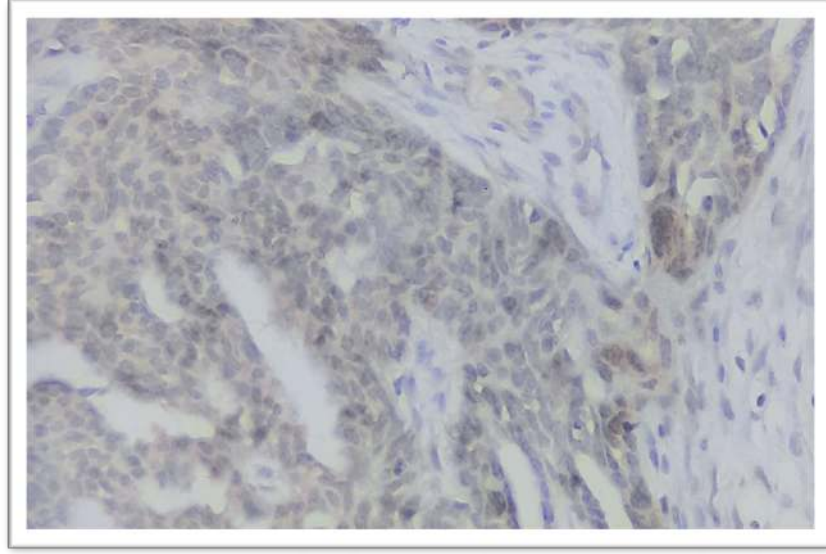
WWP1 ile vakalarda sitoplazmik ve nükleer boyanma görülmüştür. Bu nükleer ve sitoplazmik boyanma benzer şiddette olduğundan tek H skoru verilmiştir. Boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddetine göre H skoru hesaplanmıştır (Resim 12A-C).

H skoru değerleri;

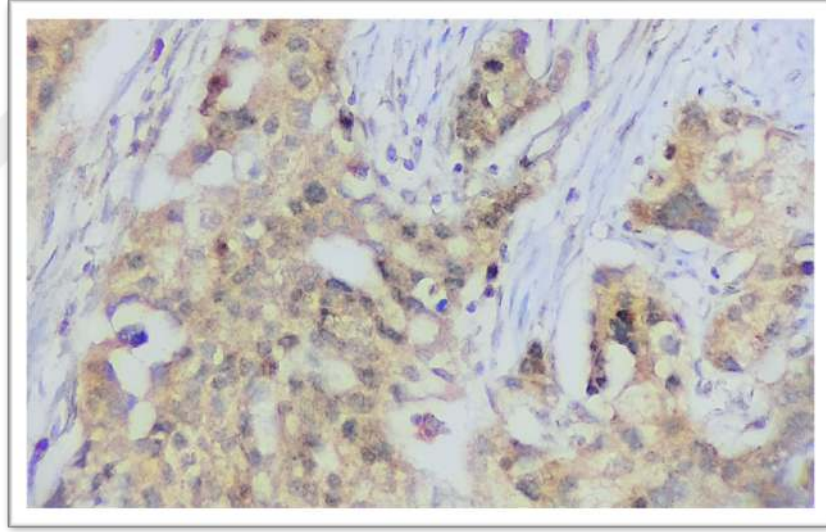
- YDSK: Minimum 0, maksimum 195 olup ortalama 59, ortanca değer ise 30'dur.
- DDSK: Minimum 10, maksimum 105 olup ortalama 68, ortanca değer ise 90'dır.
- KA: Minimum 80, maksimum 200 olup ortalama 143, ortanca değer ise 130'dur (Şekil 10).



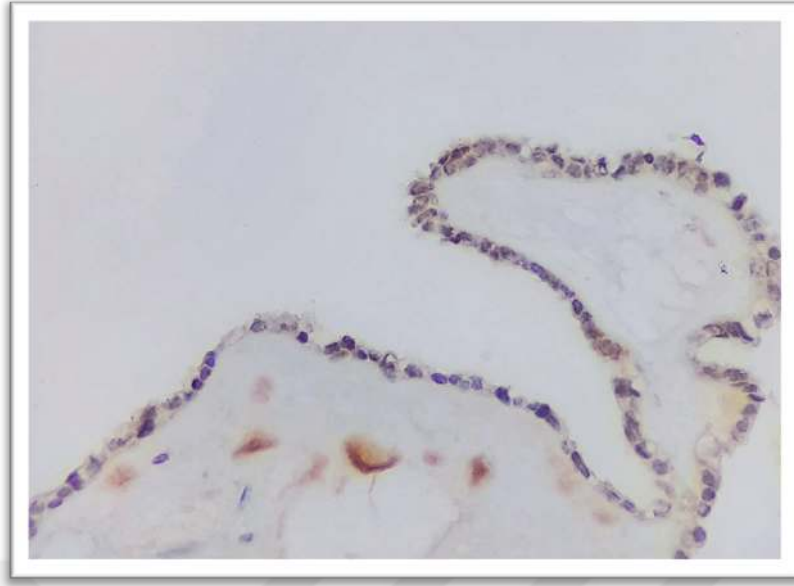
Şekil 10: Tanılara göre WWP1 H skor değerleri



Resim 12A: WWP1 ile +1 şiddetinde boyanma, x400



Resim 12B: WWP1 ile +2 şiddetinde boyanma, x100



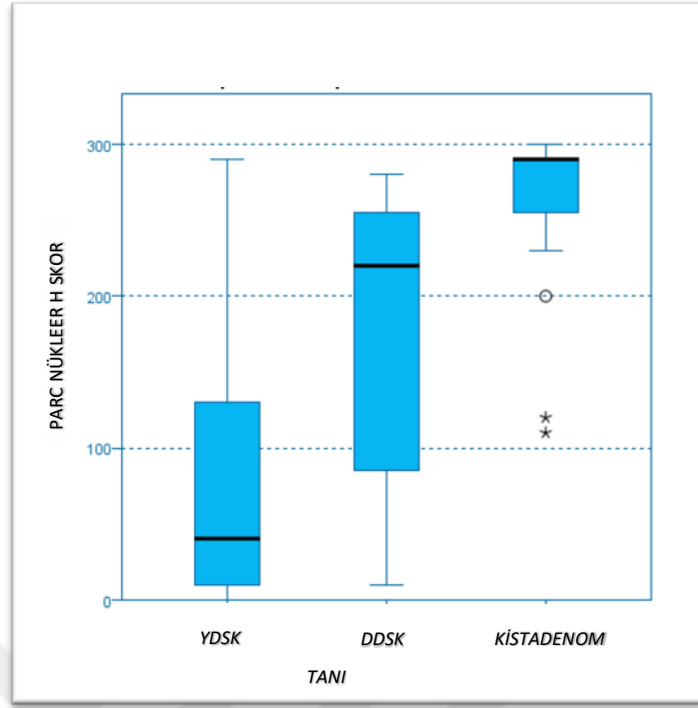
Resim 12C: WWP1 ile +3 şiddetinde boyanma, x400

4.5.4. PARC İmmunohistokimyasal Bulguları

PARC immunohistokimyasal çalışmasında değişen şiddette nükleer ve sitoplazmik boyanma paternleri dikkat çekmiştir. Boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddetine göre H skoru hesaplanmış, nükleer ve sitoplazmik boyanmalar ayrı ayrı skorlanmıştır (Resim 13A-C).

Nükleer PARC H skoru değerleri (Şekil 11);

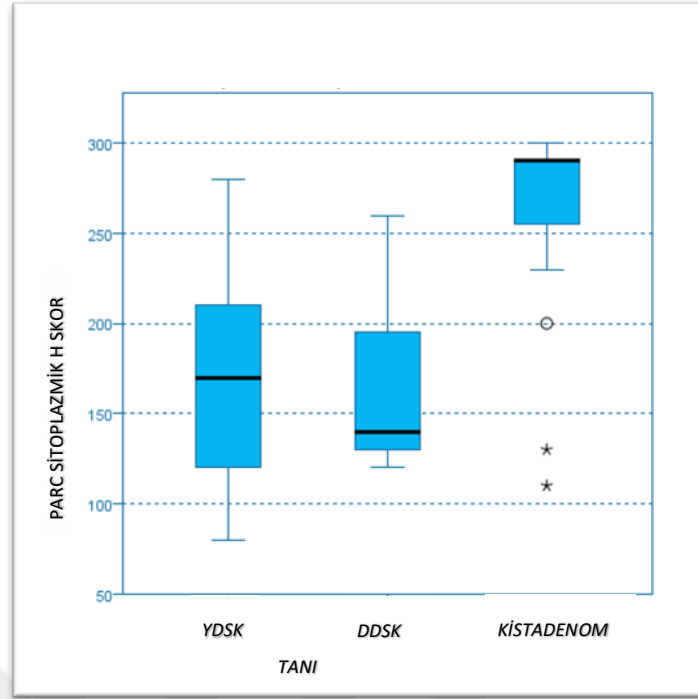
- YDSK: Minimum 0, maksimum 290 olup ortalama 84, ortanca değer ise 40'tır.
- DDSK: Minimum 10, maksimum 280 olup ortalama 170, ortanca değer ise 220'dir.
- KA: Minimum 110, maksimum 300 olup ortalama 257, ortanca değer ise 290'dır (Şekil 11).



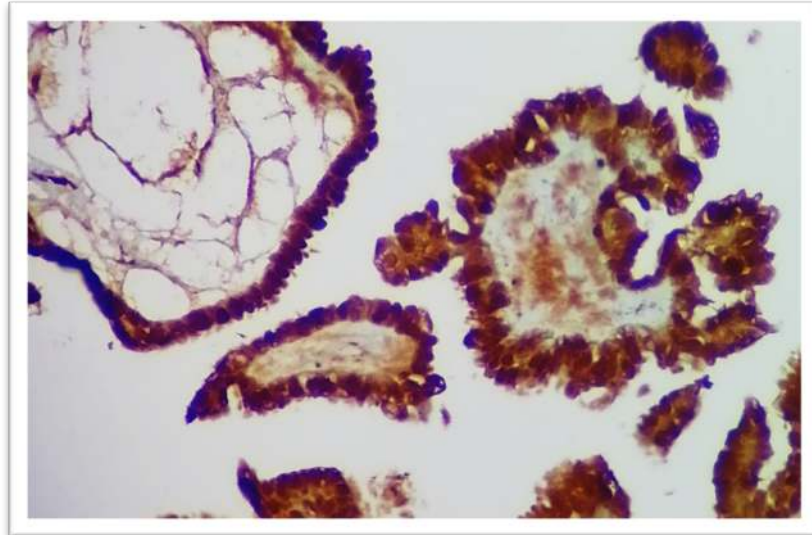
Şekil 11: Tanılara göre PARC Nükleer H skor değerleri

Sitoplazmik PARC H skoru değerleri;

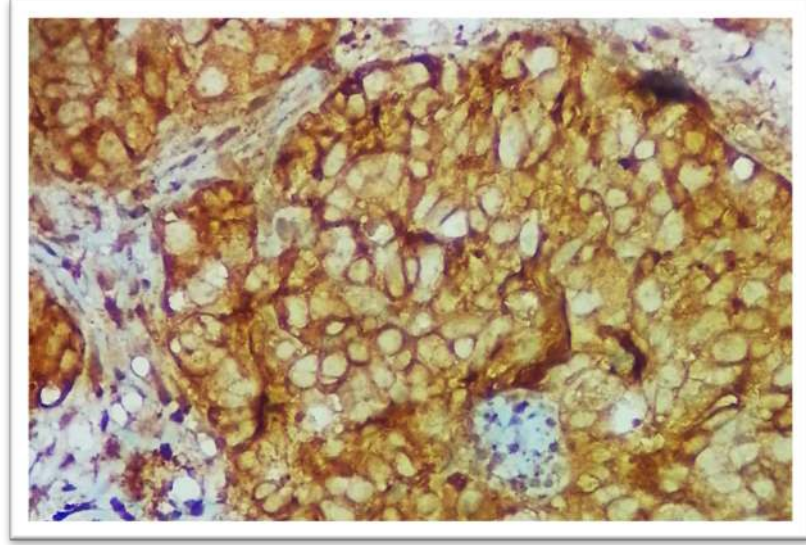
- YDSK: Minimum 80, maksimum 280 olup ortalama 172, ortanca değer ise 170'tir.
- DDSK: Minimum 120, maksimum 260 olup ortalama 167, ortanca değer ise 140'tır.
- KA: Minimum 110, maksimum 300 olup ortalama 257, ortanca değer ise 290'dır (Şekil 12).



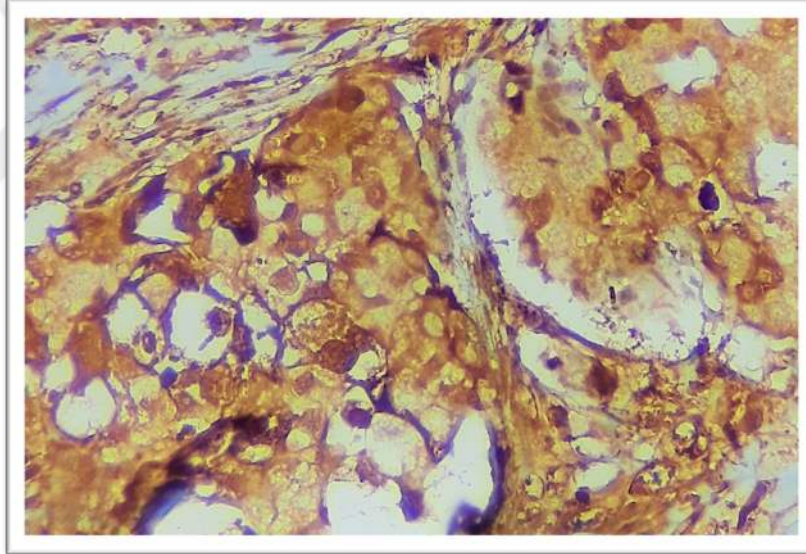
Şekil 12: Tanılara göre PARC sitoplazmik H skor değerleri



Resim 13A: PARC ile +3 şiddetinde nükleer ve sitoplazmik boyanma, x400



Resim 13B: PARC ile nükleer boyanmanın kaybı, x400



Resim 13C: PARC ile +2 ve +1 şiddetinde sitoplazmik boyanma, x400

4.6. Tanılara Göre MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

PARC nükleer ekspresyonu;

YDSK’da düşük, DDSK’da orta seviyede, KA’da ise yüksektir. PARC nükleer ekspresyonu ile YDSK ve KA arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p 0,00).

PARC sitoplazmik ekspresyonu;

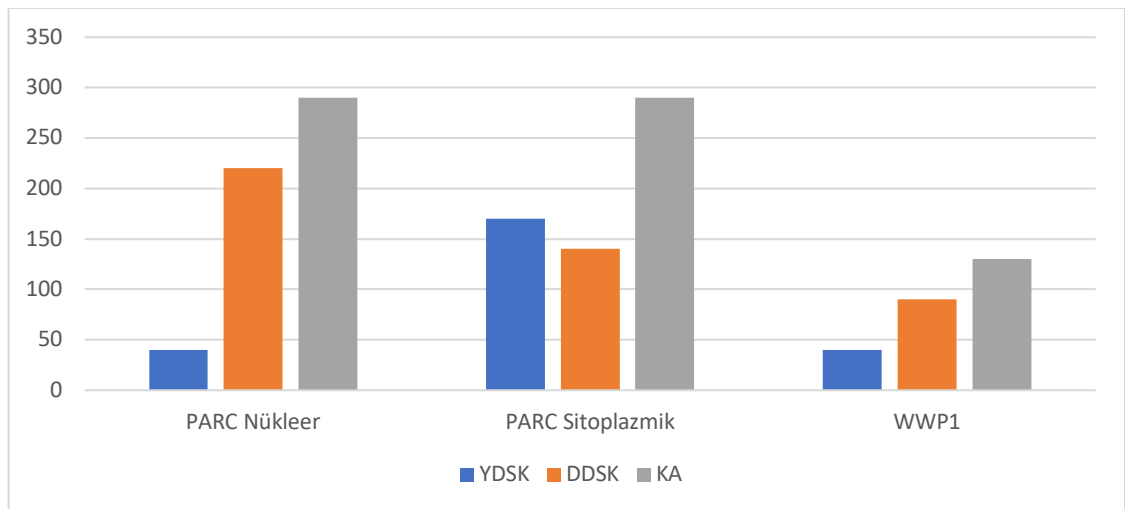
YDSK ve DDSK’larda düşük, KA’da yüksektir. PARC sitoplazmik ekspresyonu ile hem YDSK ve KA arasında (p 0,00), hem de DDSK ve KA arasında (p 0,019) anlamlı ilişki mevcuttur.

MDM2 ekspresyonu ile tanıları arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Ancak MDM2 ekspresyonu YDSK’da düşük, DDSK’da yüksektir.

WWP1 değerleri ise; YDSK’larda düşük, DDSK’larda orta seviyede, kistadenomlarda ise yüksektir. WWP1 ekspresyonu ile hem YDSK ve KA (p 0,00), hem de DDSK ve KA (p =,039) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttur.

PARC nükleer, PARC sitoplazmik ve WWP1 ekspresyon skorlarının malignite derecesi arttıkça azaldığı dikkati çekmiştir.

Tanırlara göre WWP1, PARC nükleer ve sitoplazmik ekspresyon seviyeleri, ortanca değerler baz alınarak grafikte gösterilmiştir (Şekil 13).



Şekil 13: Tanılara göre WWP1, PARC nükleer ve sitoplazmik ekspresyonları

4.7. P53 Durumu ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

Tüm vakalar P53'ün sitoplazmik, diffüz nükleer, komplet kayıp ve *wild* oluşuna göre incelendiğinde,

WWP1 ekspresyonu ile;

- Diffüz nükleer ve *wild* arasında (düzeltilmiş p 0,013)

PARC nükleer ekspresyonu ile;

- Diffüz nükleer ve *wild* arasında (düzeltilmiş p 0,000)
- Komplet kayıp ve *wild* arasında (düzeltilmiş p 0,003)

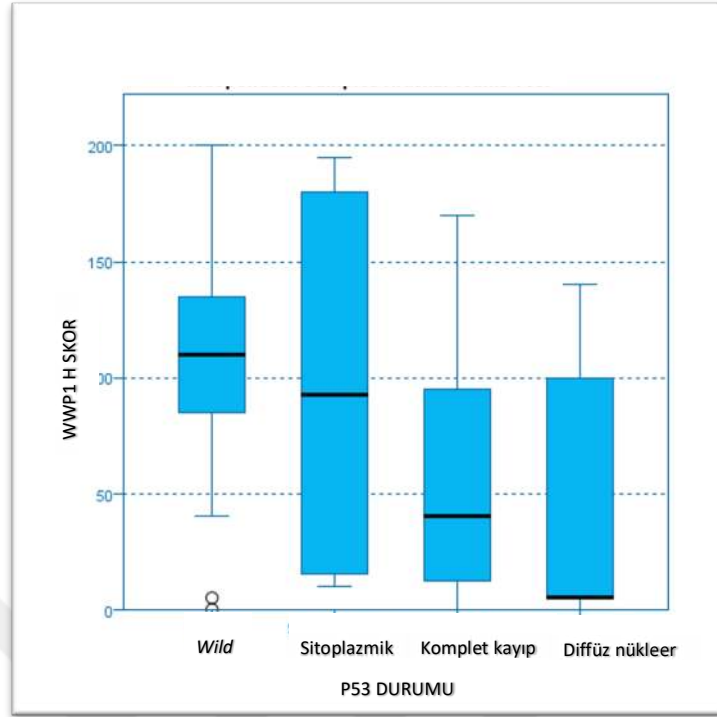
PARC sitoplazmik ekspresyonu ile;

- Diffüz nükleer ve *wild* arasında (düzeltilmiş p 0,024)

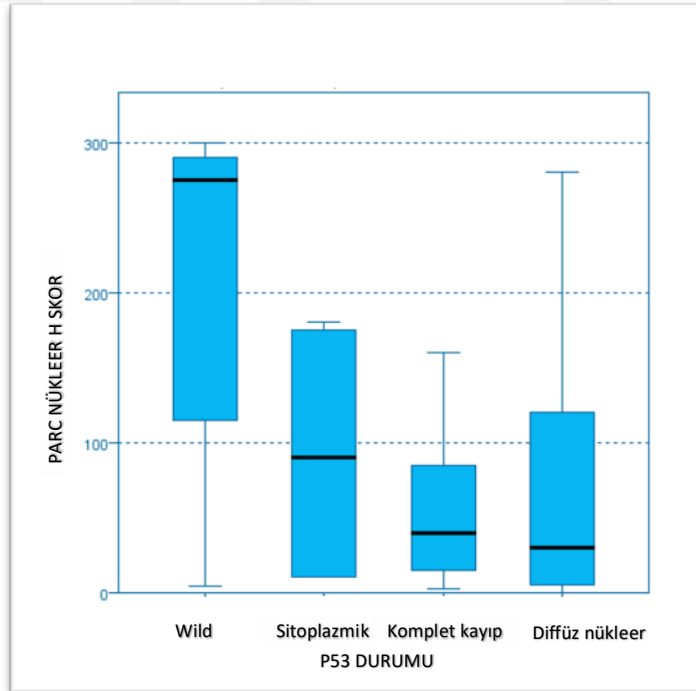
istatiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.

WWP1, PARC nükleer ve PARC sitoplazmik ekspresyonları p53'ün *wild* olduğu durumda en yüksek, sırasıyla sitoplazmik ve komplet kayıpta orta derecede olup diffüz nükleer olduğu durumda ise en düşüktür. WWP1, PARC nükleer ve PARC sitoplazmik ekspresyonları ile p53 durumları arasındaki ilişki grafiği Şekil 14,15 ve 16'da gösterilmiştir.

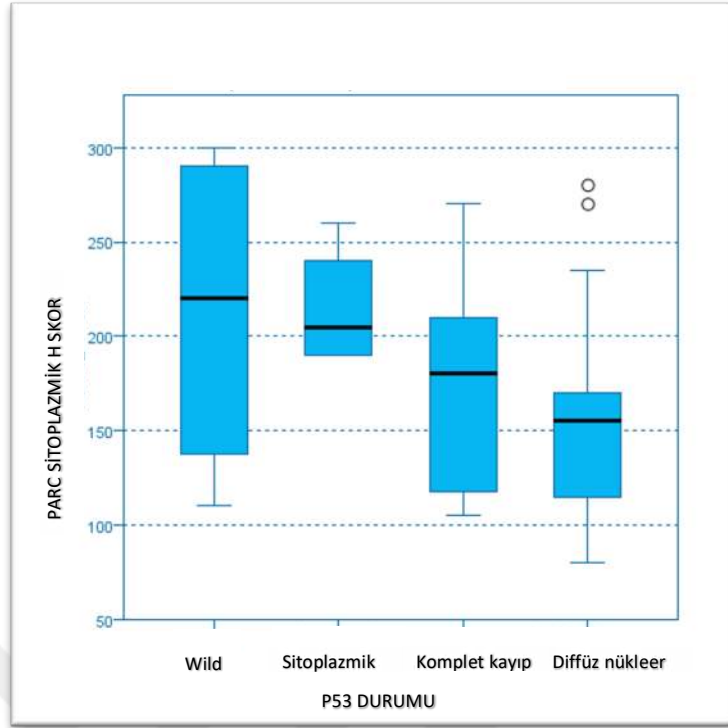
MDM2 ve p53 paterni ile anlamlı ilişki bulunmamıştır. Ancak istatiksel olarak anlamlı olmasa da MDM2, p53'ün *wild* olduğu durumlarda daha yüksek bulunmuştur (Şekil 17).



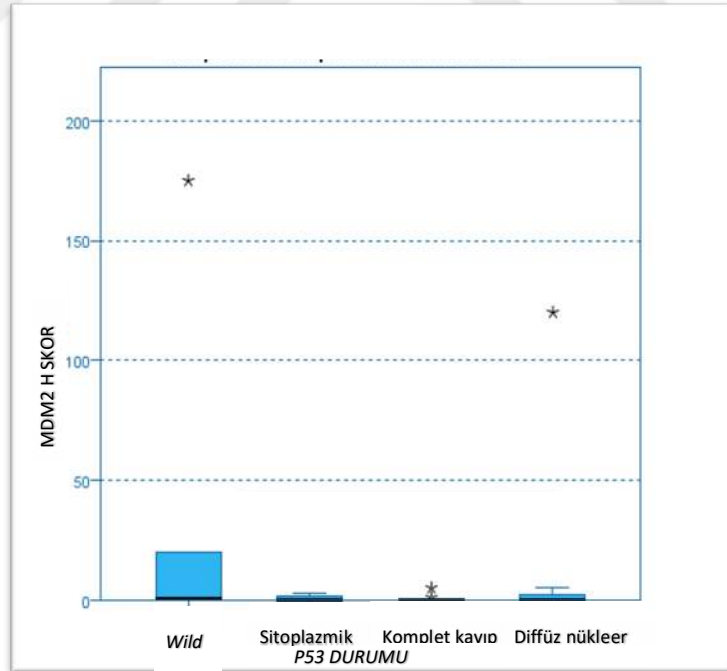
Şekil 14: P53 durumuna göre WWP1 H skor değerleri



Şekil 15: P53 durumuna göre PARC nükleer H skor değerleri



Şekil 16: P53 durumuna göre PARC sitoplazmik H skor değerleri

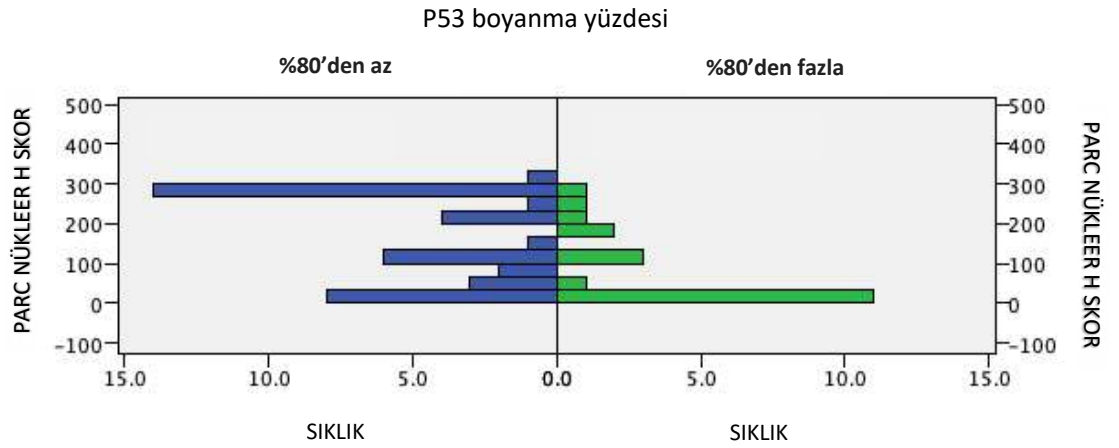


Şekil 17: P53 durumuna göre MDM2 H skor değerleri

4.8. P53 Boyanma Yüzdesi ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

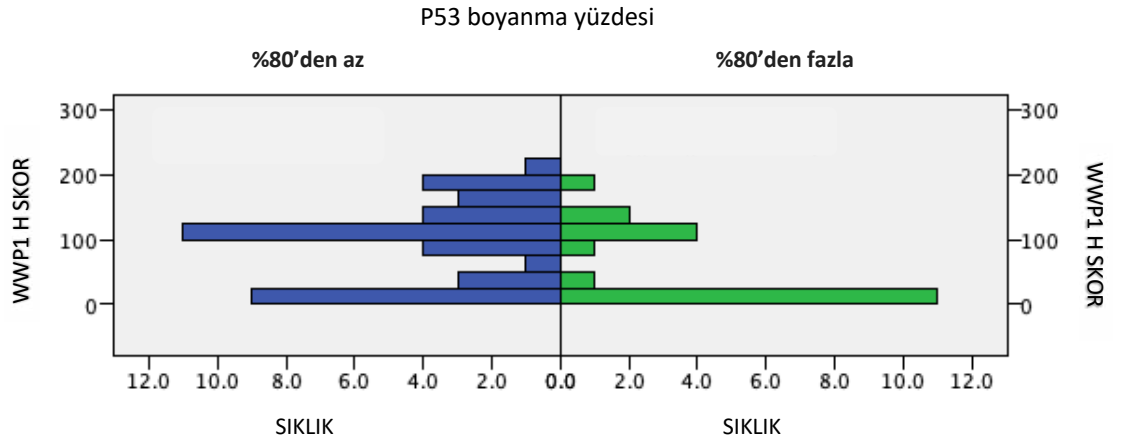
P53 boyanma yüzdesi için eşik değeri %80 olarak kabul edildiğinden p53'ün %80'den az ve fazla olduğu durumlar ile MDM2, WWP1 ve PARC ekspresyonları arasındaki ilişkiye bakılmıştır. MDM2 ve PARC sitoplazmik ekspresyonu ile p53 boyanma yüzdesi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. WWP1 ve PARC nükleer ekspresyonu ile p53 yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttur.

- P53 boyanma yüzdesi %80'den az ise PARC nükleer ekspresyonu artmış, p53 %80'den fazla oranda eksprese olduğu durumda ise PARC nükleer ekspresyonu azalmıştır (p 0,005) (Şekil 18).



Şekil 18: PARC nükleer ekspresyonu ile p53 yüzdesi ilişkisi. P53 yüzdesi arttıkça PARC nükleer ekspresyonu azalmaktadır.

- P53 %80'den az ise WWP1 ekspresyonu artmış, p53 %80'den fazla oranda eksprese olduğu durumda ise WWP1 ekspresyonu azalmıştır (p 0,014) (Şekil 19).

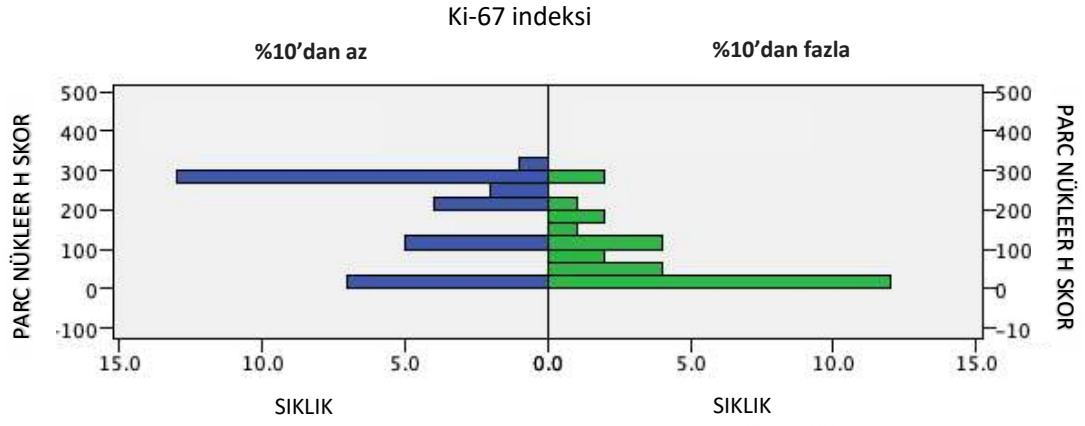


Şekil 19: WWP1 ekspresyonu ile p53 yüzdesi ilişkisi. P53 yüzdesi arttıkça WWP1 ekspresyonu azalmaktadır.

4.9. Ki-67 Yüzdesi ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

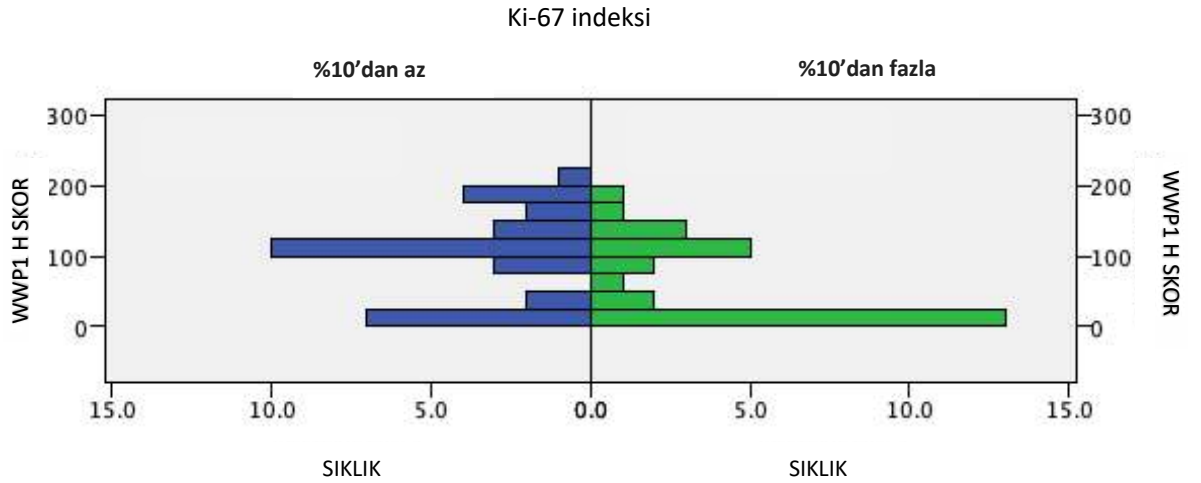
Ki-67 için eşik olarak ortanca değer olan %10 dikkate alınmıştır. Ki-67 indeksinin %10'dan az ve fazla olduğu durumlarda WWP1, PARC sitoplazmik ve PARC nükleer ekspresyonu ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttur. Ki-67 ile MDM2 arasında ise anlamlı ilişki mevcut değildir.

- Ki-67 %10'dan az ise PARC nükleer ekspresyonu artmış, Ki-67 %10'dan fazla oranda eksprese olduğu durumda ise PARC nükleer ekspresyonu azalmıştır (p 0,001) (Şekil 20).



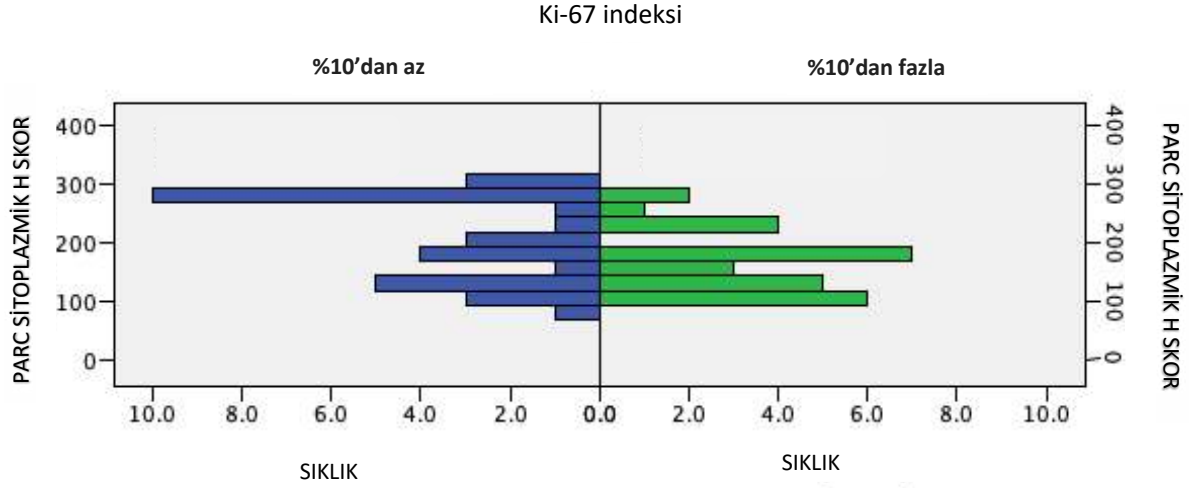
Şekil 20: PARC nükleer ekspresyonu ile Ki-67 yüzdesi ilişkisi. Ki-67 yüzdesi arttıkça PARC nükleer ekspresyonu azalmaktadır.

- Ki-67 %10'dan az ise PARC sitoplazmik ekspresyonu artmış, Ki-67 %10'dan fazla oranda eksprese olduğu durumda ise PARC sitoplazmik ekspresyonu azalmıştır (p 0,023) (Şekil 21).



Şekil 21: WWP1 ekspresyonu ile Ki-67 yüzdesi ilişkisi. Ki-67 yüzdesi arttıkça WWP1 ekspresyonu azalmaktadır.

- Ki-67 %10'dan az ise WWP1 ekspresyonu artmış, Ki-67 %10'dan fazla oranda eksprese olduğu durumda ise WWP1 ekspresyonu azalmıştır (p 0,018) (Şekil 22).

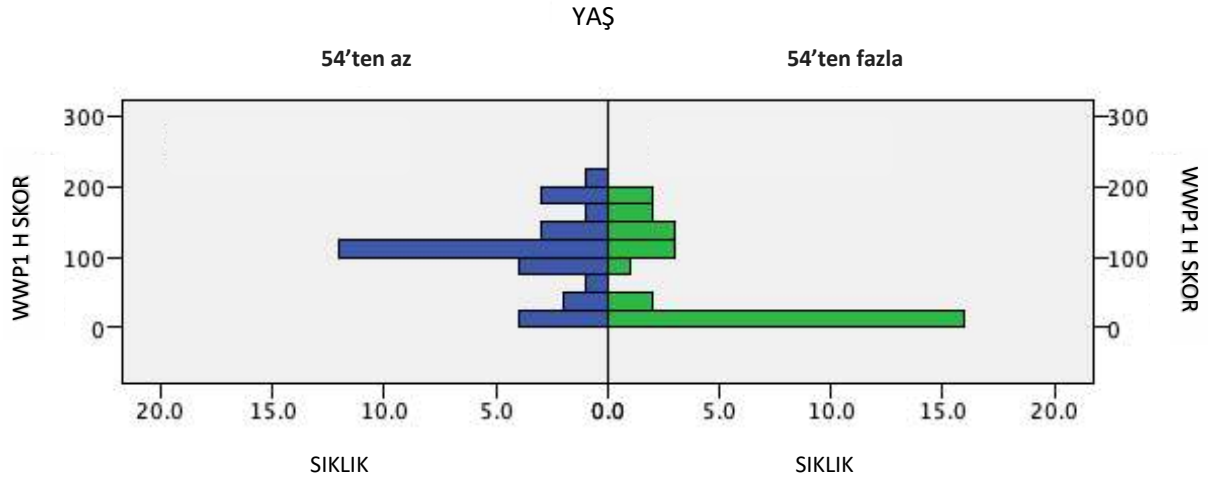


Şekil 22: PARC sitoplazmik ekspresyonu ile Ki-67 yüzdesi ilişkisi. Ki-67 yüzdesi arttıkça PARC sitoplazmik ekspresyonu azalmaktadır.

4.10. Yaş ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

Yaş için eşik olarak ortanca değer olan 54 göz önüne alınmıştır. MDM2 ve PARC ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcut değildir.

- WWP1 ekspresyonu ile yaş arasında anlamlı ilişki mevcuttur (p 0,01). Yaş 54'ten yüksekse WWP1 ekspresyonu düşmektedir (Şekil 23).



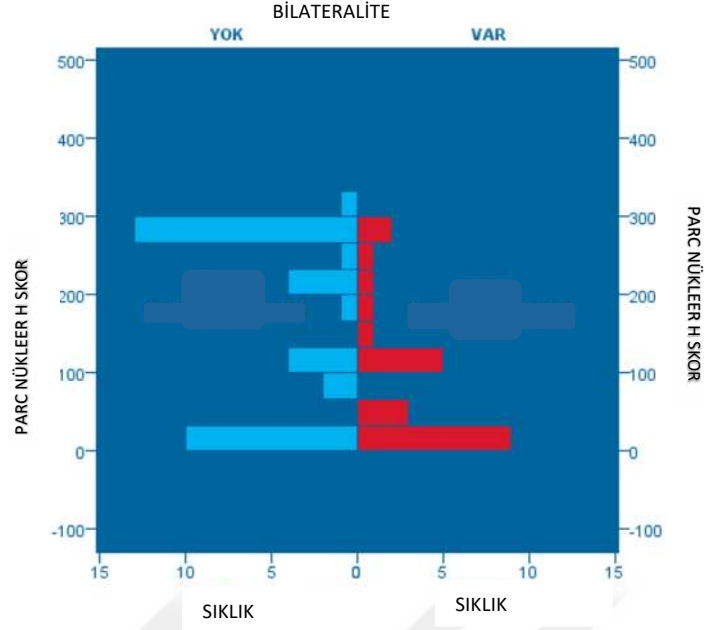
Şekil 23: İleri yaştaki vakalarda WWP1 ekspresyonu istatistiksel anlamı olarak düşük saptanmıştır.

4.11. Yerleşim Yeri ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

Sağ ve sol over yerleşimi ile MDM2, WWP1 ve PARC ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

4.12. Bilateralite ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

- PARC nükleer ekspresyonu ile bilateralite arasında anlamlı ilişki mevcuttur ($p = 0,02$). Bilateral vakalarda PARC nükleer ekspresyonu düşük bulunmuştur (Şekil 24).

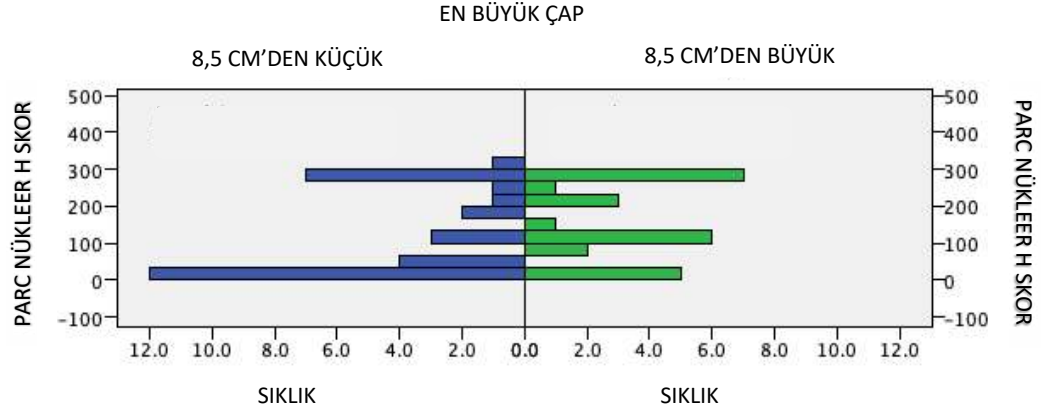


Şekil 24: Bilateralite varlığında PARC nükleer ekspresyonu düşmektedir.

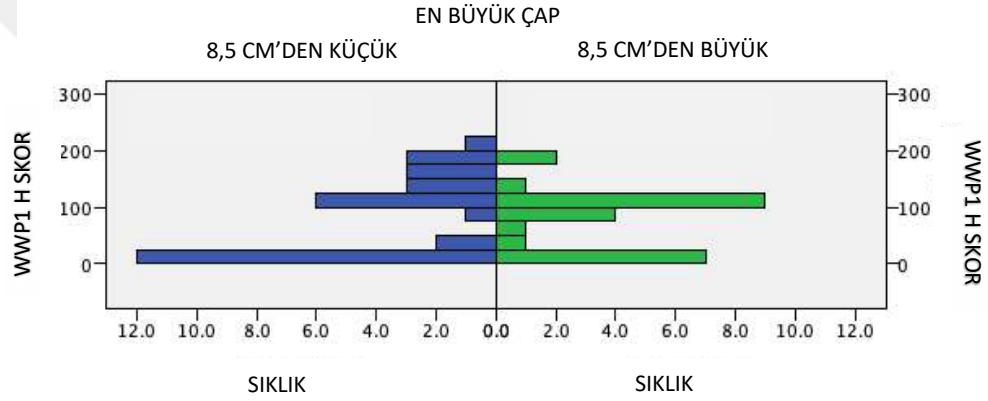
MDM2, WWP1 ve PARC sitoplazmik ekspresyonları ile bilateralite arasında anlamlı ilişki mevcut değildir.

4.13. Tümör Boyutları ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

En büyük tümör çapı ve bilateral vakalarda toplam tümör çapı dikkate alınmıştır. Tümör çapları eşik olarak ortanca değerlere göre kategorize edilip incelenmiştir. Tümör çapları ile MDM2, WWP1 ve PARC ekspresyonları ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak WWP1 ve PARC nükleer ekspresyonlarının tümör çapı düşük iken daha düşük olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 25 ve 26).



Şekil 25: Tümör çapı düşük olduğunda PARC nükleer ekspresyonu daha düşüktür.

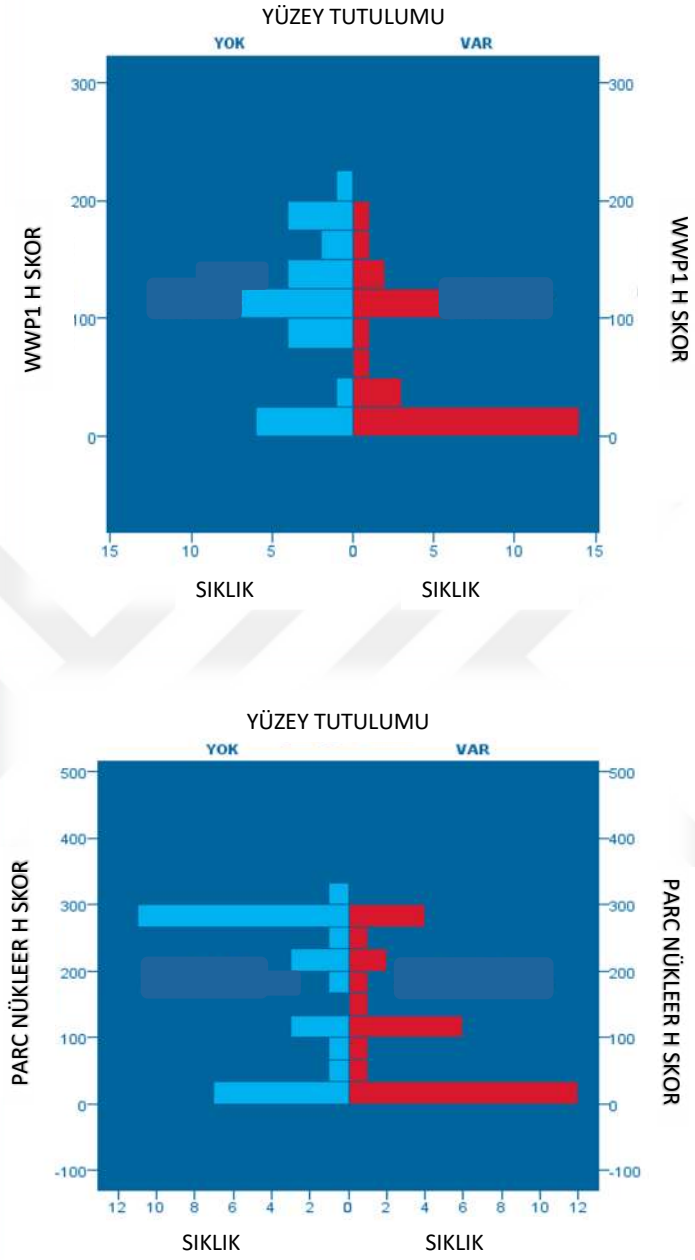


Şekil 26: Tümör çapı düşük olduğunda WWP1 ekspresyonu daha düşüktür.

4.14. Over ve Tuba Yüzey Yutulmaları ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

- PARC nükleer (p 0,014) ve WWP1 (p 0,007) ekspresyonu ile yüzey tutulumu arasında anlamlı ilişki mevcuttur.

Yüzey tutulumu olan vakalarda PARC nükleer ve WWP1 ekspresyonları daha düşüktür (Şekil 27).

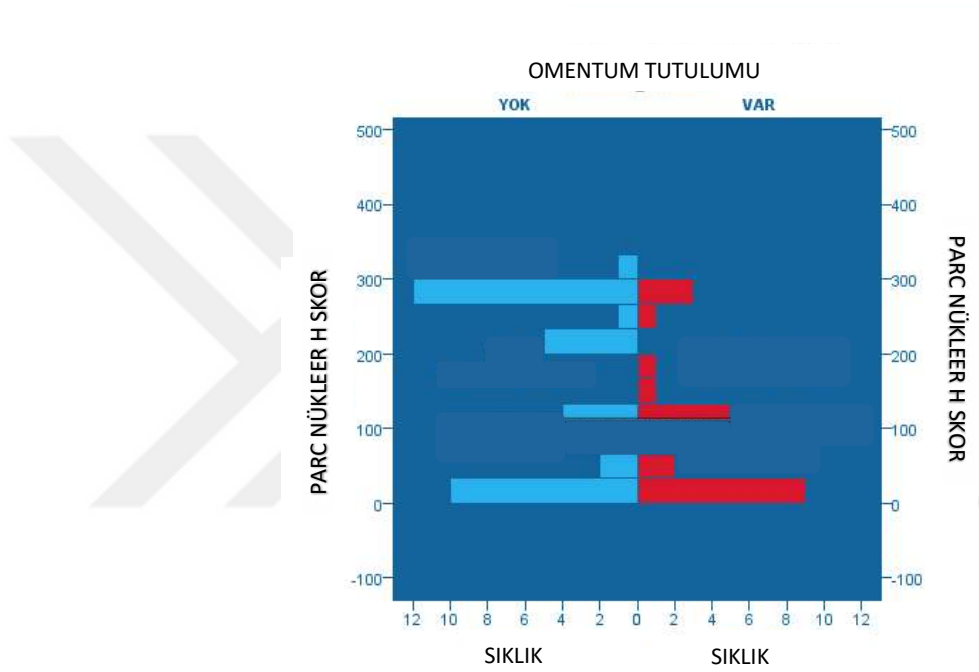


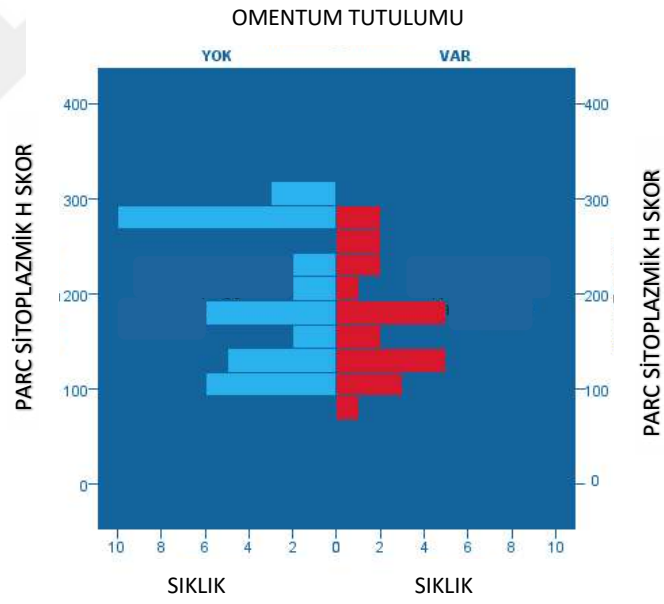
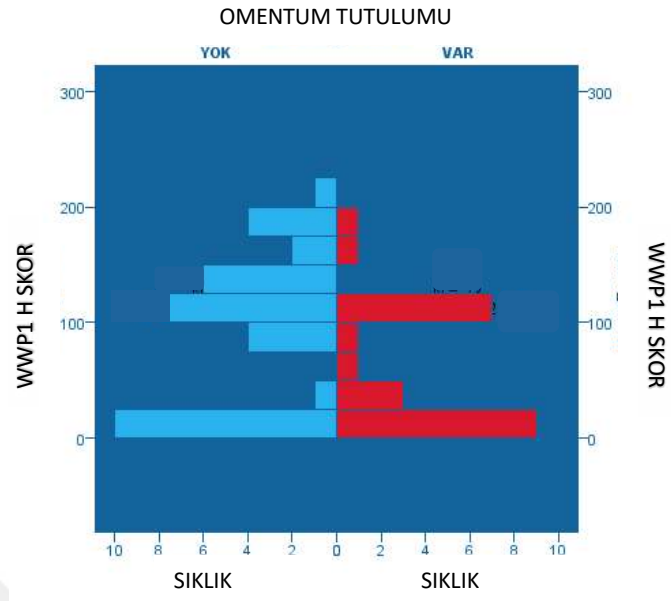
Şekil 27: Yüzey tutulumu varlığında PARC nükleer ve WWP1 ekspresyonları düşmektedir.

MDM2 ve PARC sitoplazmik ekspresyonları ile ise yüzey tutulumu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

4.15. Omentum Tutulumu ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

Omentum tutulumu ile MDM2, WWP1 ve PARC ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak omentum tutulumu varlığında PARC nükleer, PARC sitoplazmik ve WWP1 ekspresyonlarının daha düşük olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 28).

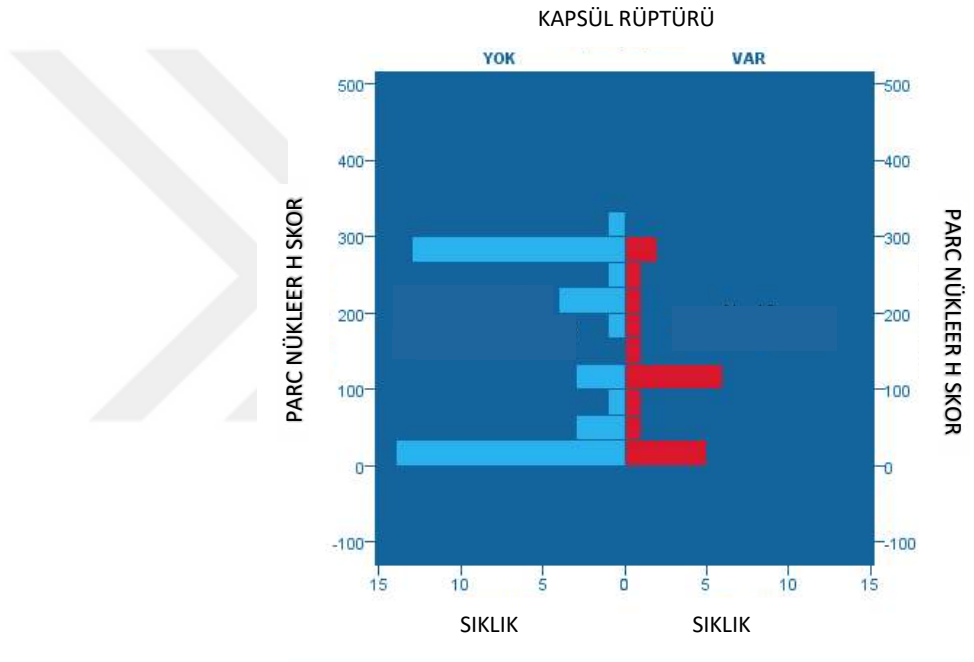


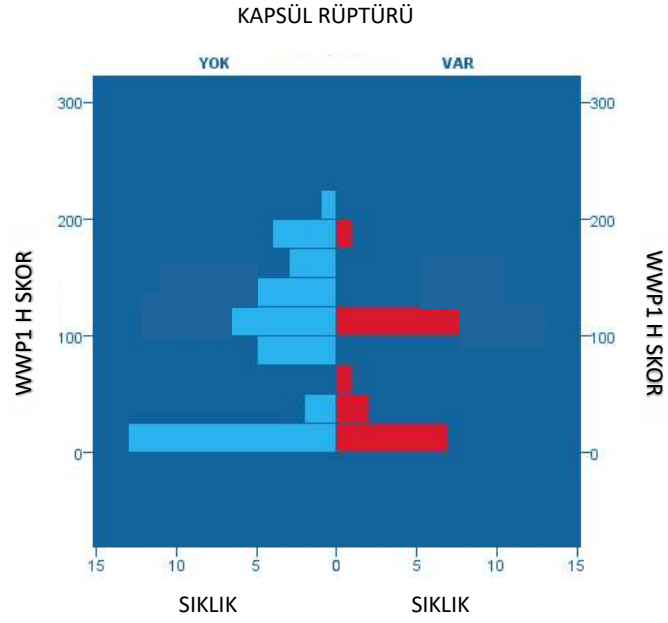


Şekil 28: Omentum tutulumu varlığında PARC nükleer, PARC sitoplazmik ve WWP1 ekspresyonları düşmektedir.

4.16. Over Kapsül Rüptürü ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

Over kapsül rüptürü ile MDM2, WWP1 ve PARC ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak WWP1 ve PARC nükleer ekspresyon skorunun yüksek olan vakalarda kapsül rüptürünün görülmeme sıklığı daha fazladır (şekil 29).



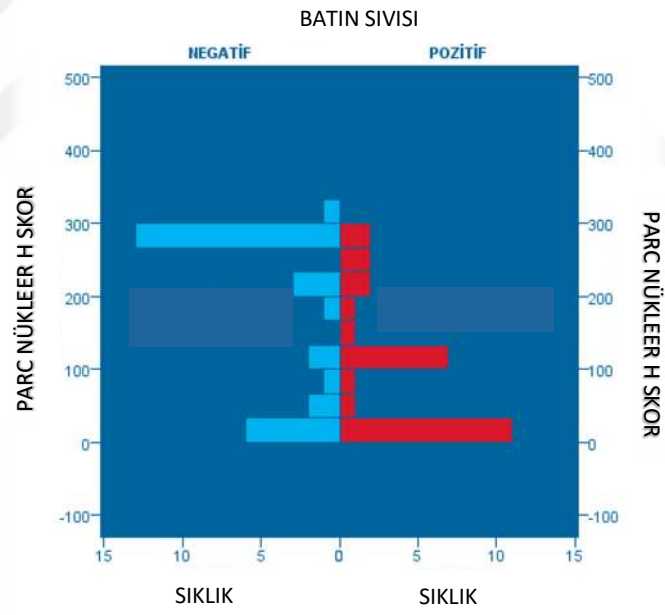
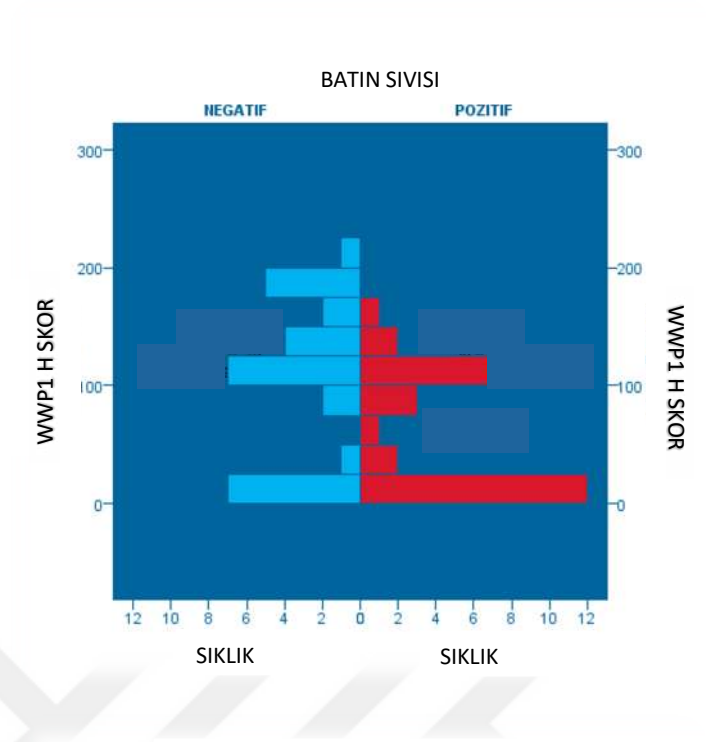


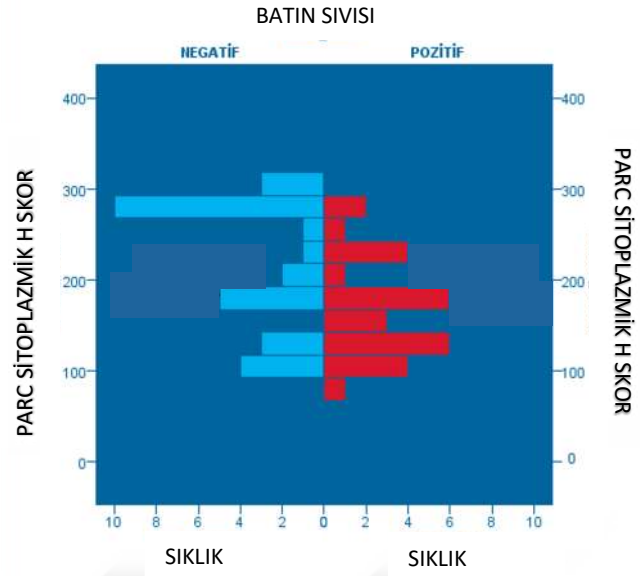
Şekil 29: PARC nükleer ve WWP1 ekspresyon skorlarının yüksek olduğu vakaların kapsül rüptürünün görülmediği vakalar oluşu dikkati çekmiştir.

4.17. Batın Sıvısı Pozitifliği ve Peritoneal Karsinomatozis ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

Batın sıvısı pozitifliği ile WWP1 (p 0,016), PARC nükleer (p 0,004) ve PARC sitoplazmik (p 0,008) ekspresyonları arasında anlamlı ilişki mevcuttur. MDM2 ekspresyonu ile ise anlamlı ilişki bulunmamıştır.

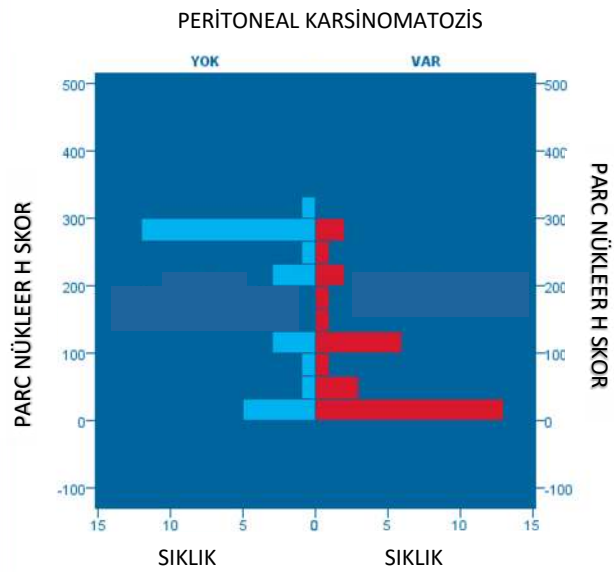
- Batın sıvısı pozitif iken WWP1, PARC nükleer ve PARC sitoplazmik ekspresyon skorlarında düşüklük izlenmiştir (Şekil 30). Bu ilişki PARC nükleer ekspresyonunda daha belirgindir.

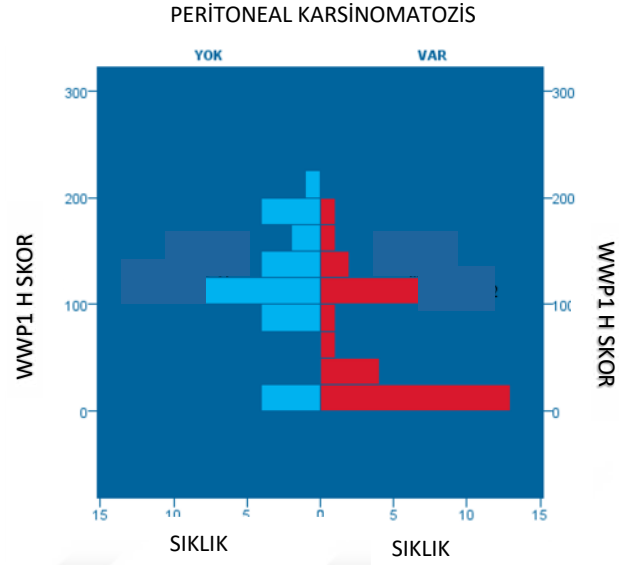




Şekil 30: Batın sıvısı pozitifliği ile WWP1, PARC nükleer ve PARC sitoplazmik ekspresyonu ilişkisi. Özellikle PARC nükleer ekspresyonu düşüklüğünde belirgin bir batın sıvısı pozitifliği mevcuttur.

- Peritoneal karsinomatosis ile WWP1 (p 0,006) ve PARC nükleer (p 0,008) ekspresyonları arasında anlamlı ilişki mevcuttur. Peritoneal karsinomatosis varlığında WWP1 ve PARC nükleer ekspresyonları düşmektedir (Şekil 31).

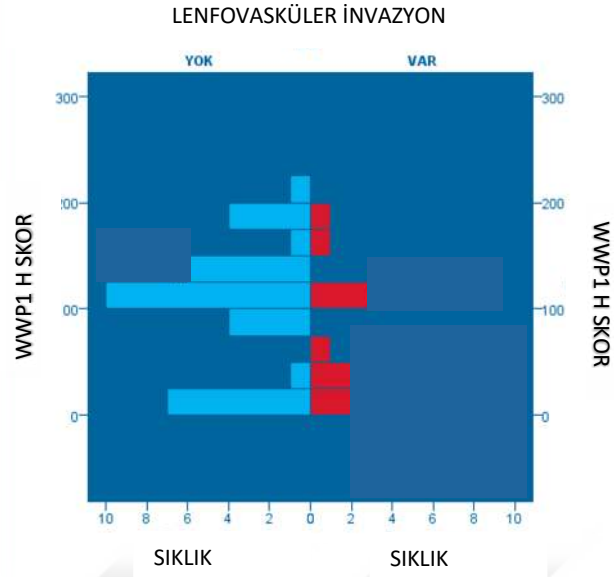




Şekil 31: Peritoneal karsinomatozis ile WWP1 ve PARC nükleer ekspresyonları ilişkisi. WWP1 ve PARC nükleer skorları yüksek iken peritoneal karsinomatozis görülme sıklığı azalmaktadır.

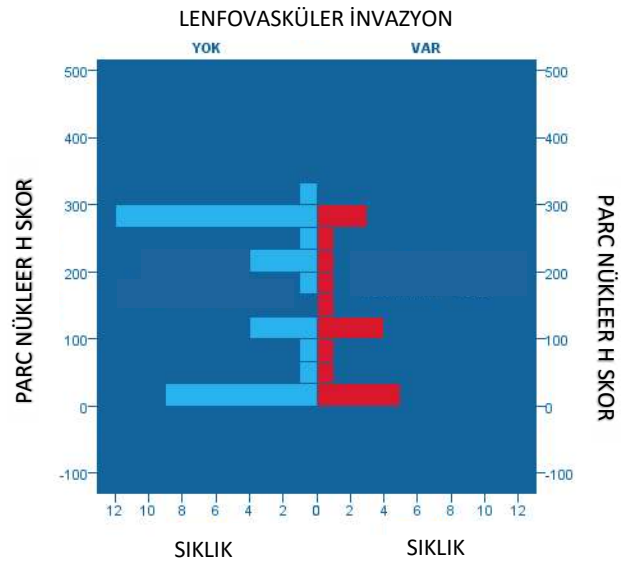
4.18. Lenfovasküler İnvazyon ve Lenf Nodu Metastazı ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

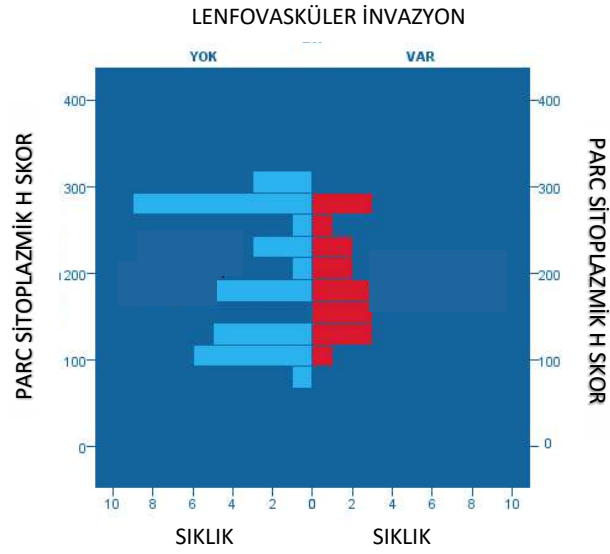
- Lenfovasküler invazyon varlığı ile WWP1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki mevcuttur (p 0,01). Lenfovasküler invazyon varlığında WWP1 ekspresyon skoru düşmektedir (Şekil 32).



Şekil 32: Lenfovasküler invazyon varlığı ile WWP1 ekspresyon skoru arasındaki ilişki (p 0,01).

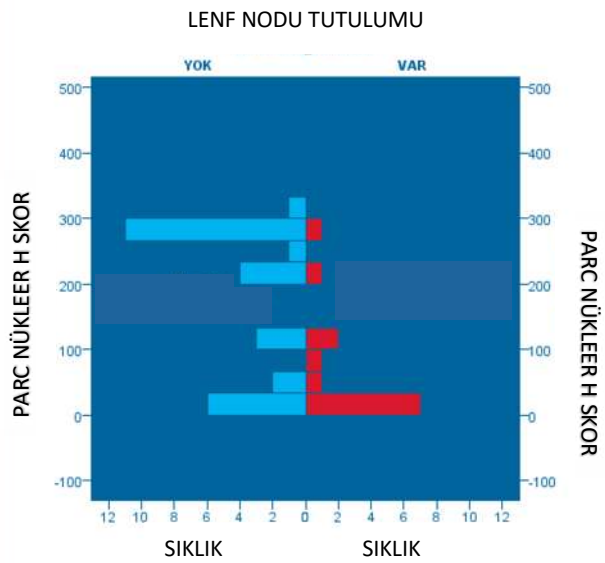
PARC nükleer ve sitoplazmik ekspresyon skoru ile lenfovasküler invazyon varlığı arasında ise istatistiksel anlamlı ilişki olmamakla birlikte; PARC nükleer ve sitoplazmik ekspresyon skorları arttıkça lenfovasküler invazyonun görülmeme sıklığının arttığı görülmüştür (Şekil 33).

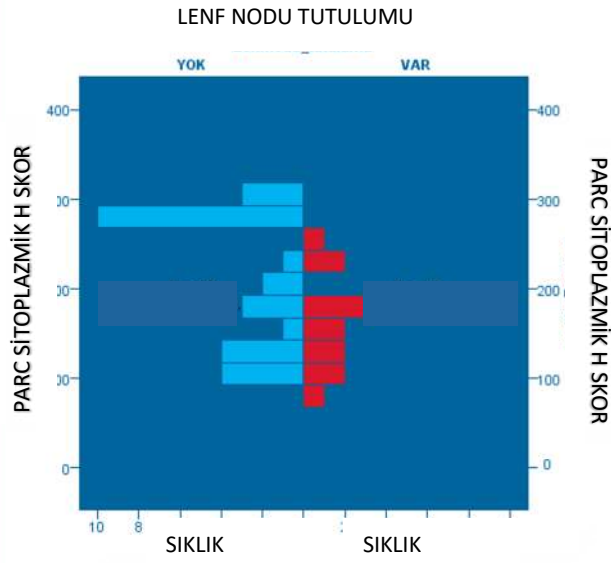




Şekil 33: Lenfovasküler invazyon varlığı ile PARC nükleer ve sitoplazmik ekspresyon skorlarında düşüş izlenmektedir.

- Lenf nodu metastazı varlığında PARC nükleer (p 0,004) ve PARC sitoplazmik (p 0,033) ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Lenf nodu metastazı varlığında PARC nükleer ve sitoplazmik ekspresyonu düşmüştür (Şekil 34).

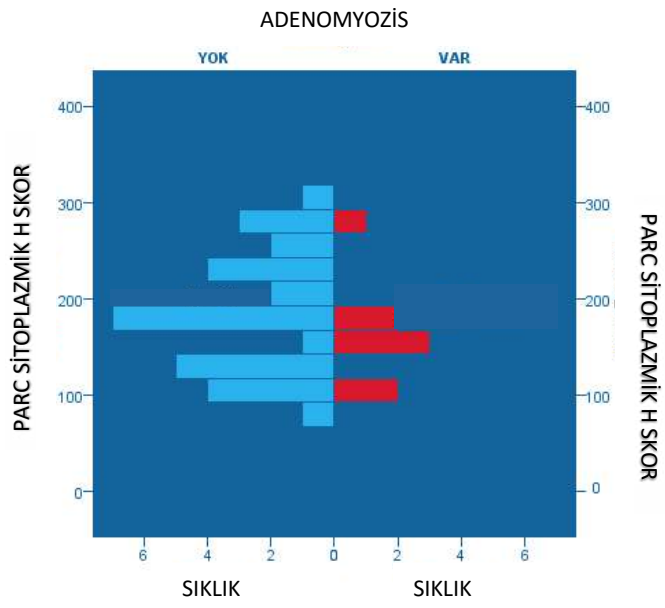
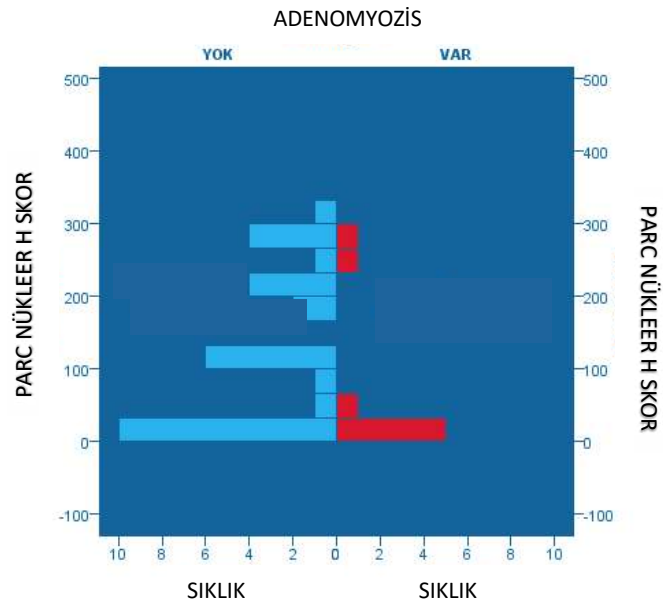


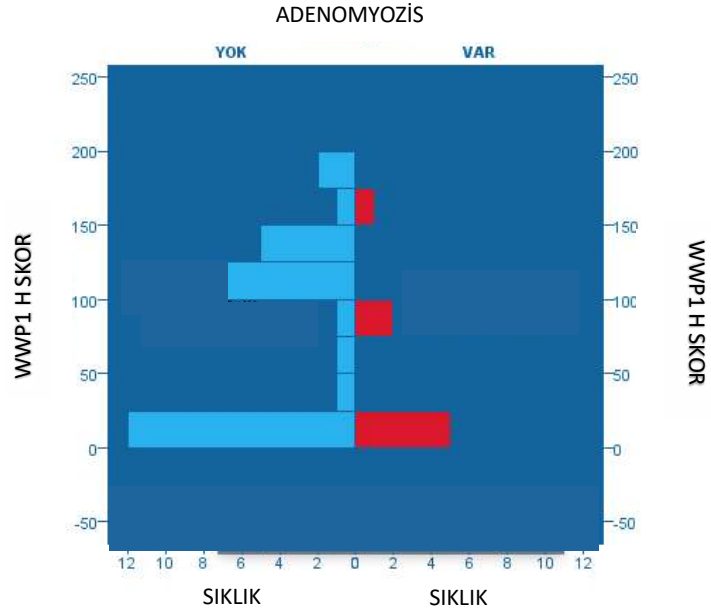


Şekil 34: Lenf nodu metastazı ile PARC nükleer ve sitoplazmik ekspresyonu ilişkisi

4.19. Eşlik Eden Adenomyozis ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

Uterusta eşlik eden adenomyosis varlığı ile MDM2, WWP1 ve PARC ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak PARC nükleer, PARC sitoplazmik ve WWP1 ekspresyon skorlarının adenomyozis varlığında daha düşük oluşu dikkati çekmiştir (Şekil 35).

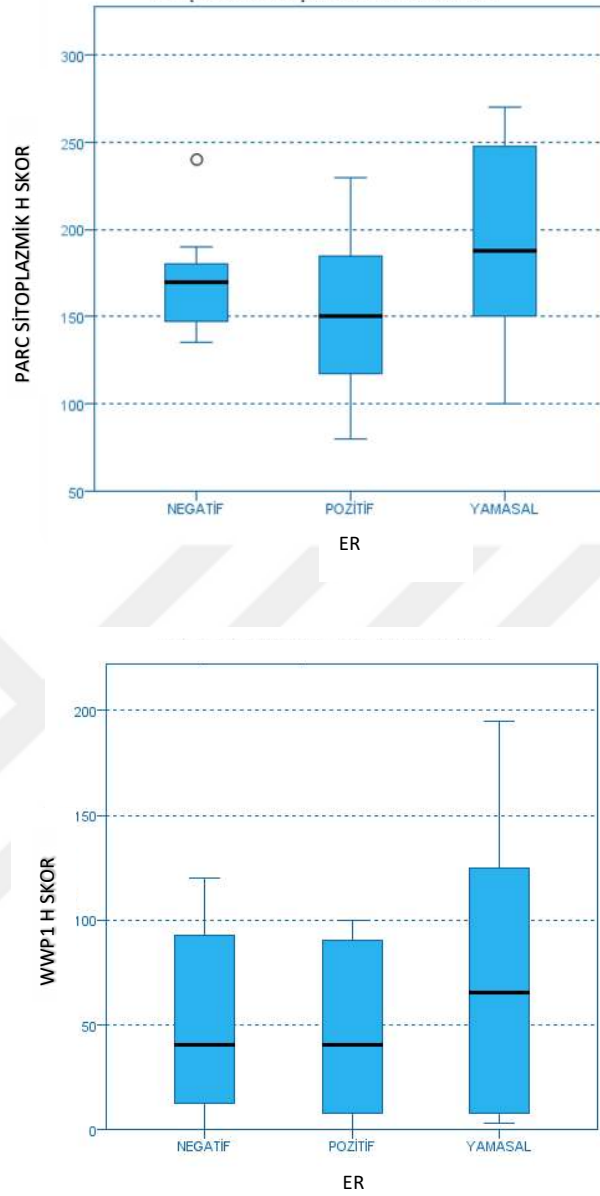




Şekil 35: Adenomyozis varlığında WWP1, PARC nükleer ve PARC sitoplazmik ekspresyon skorlarındaki düşüklük dikkati çekmektedir.

4.20. ER ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

ER boyanma durumu negatif, pozitif ve yamasal pozitif olarak üç kategoriye ayrılarak incelenmiştir. ER ekspresyonu ile MDM2, WWP1 ve PARC ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Yalnızca PARC sitoplazmik ve WWP1 ekspresyonlarının, ER'nin yamasal pozitif olduğu durumda hafif daha yüksek oluşu görülmüştür (Şekil 36).

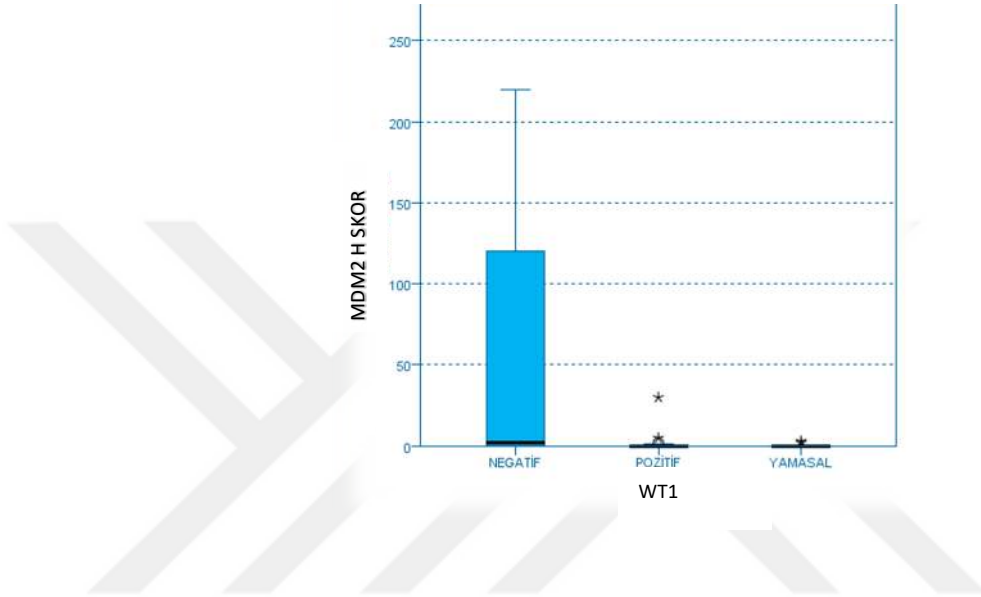


Şekil 36: PARC sitoplazmik ve WWP1 ekspresyonlarının ER ile ilişkisi

4.21. WT1 ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

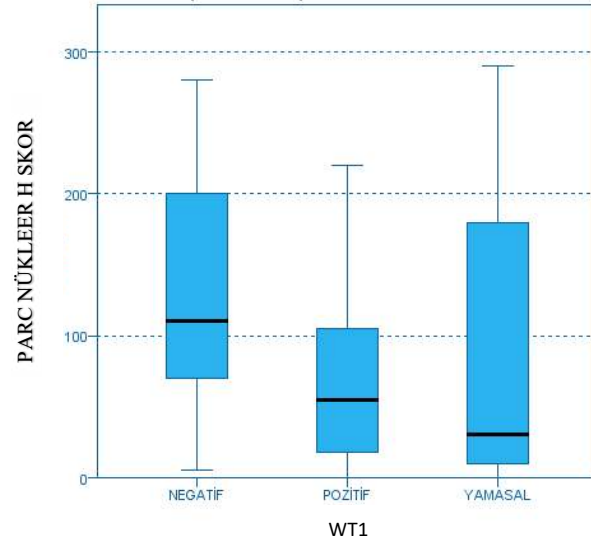
WT1 boyanması pozitif, negatif ve yamasal pozitif olarak üç kategoriye ayrılarak incelenmiştir. WT1 ekspresyonu ile MDM2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p = 0,034$). WT1 negatifliğinde MDM2 skoru daha

yüksek bulunmuştur (Şekil 37). İkili karşılaştırma yapıldığında ise WT1'in pozitif ve negatif oluşu arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde MDM2 ekspresyonları değişmektedir (Düzeltilmiş p 0,048).



Şekil 37: MDM2 skoru ile WT1 ilişkisi, WT1 negatifliğinde MDM2 skoru artmıştır.

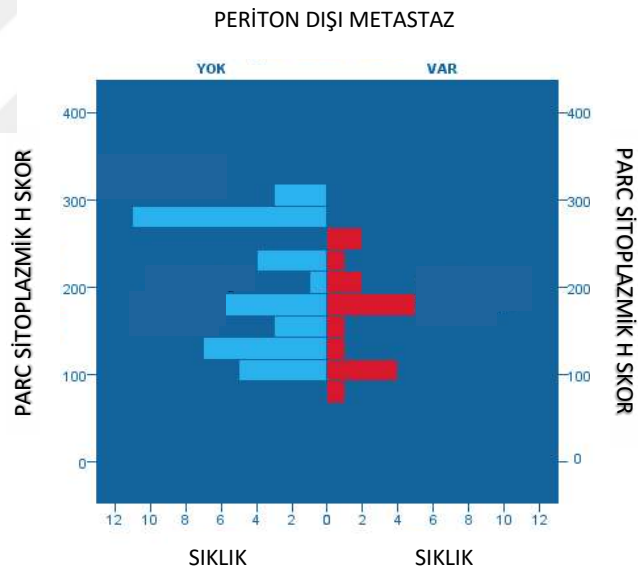
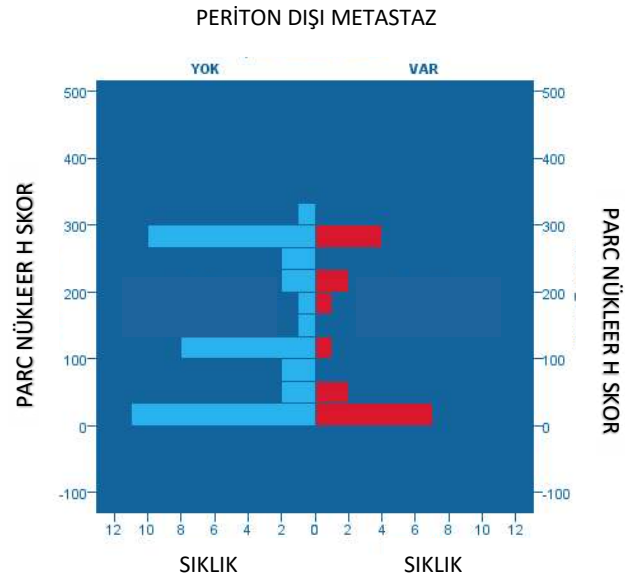
WWP1 ve PARC ekspresyonları ile WT1 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak PARC nükleer skoru WT1 pozitif iken düşük, negatif iken daha yüksek bulunmuştur (Şekil 38).

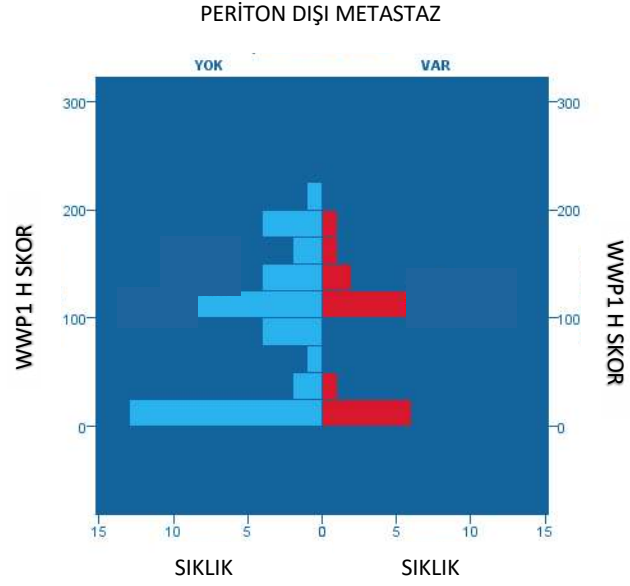


Şekil 38: WT1 pozitifliğinde PARC nükleer skorunda düşüş görülmektedir.

4.22. Periton Dışı Metastaz Varlığı ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

Periton dışı metastaz varlığı ile MDM2, WWP1 ve PARC ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak periton dışı metastaz varlığında WWP1, PARC nükleer ve sitoplazmik ekspresyon skorlarında düşüş dikkati çekmiştir (Şekil 39). Bu düşme eğilimi PARC'ta daha belirgindir.

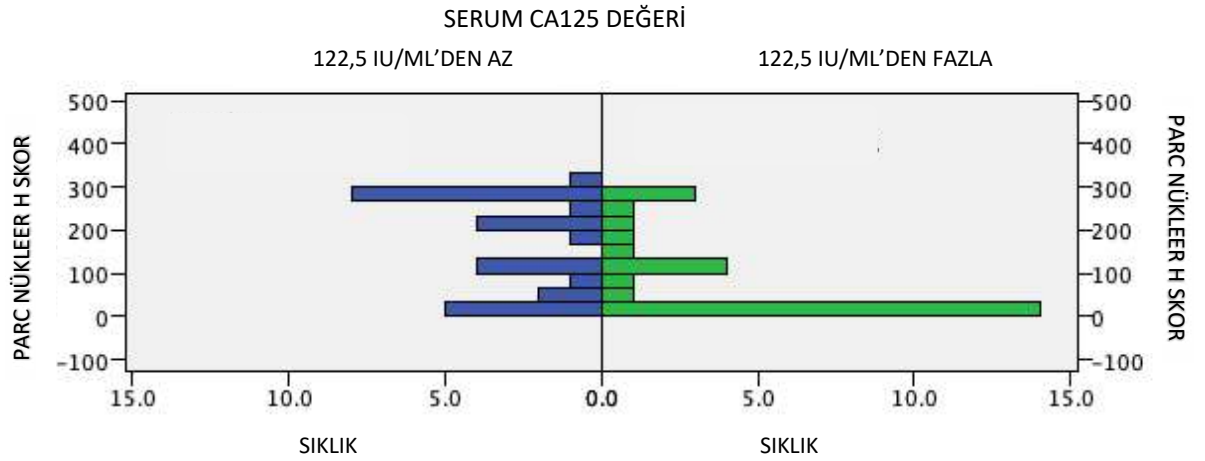




Şekil 39: WWP1, PARC sitoplazmik ve PARC nükleer ekspresyonları periton dışı metastaz varlığında düşmektedir.

4.23. Tanı Anında Serum CA125 Değeri ile MDM2, WWP1 ve PARC Ekspresyonu İlişkisi

Tanı anındaki serum CA125 değeri ortanca değer olan 122,5 IU/ml'ye göre az ve fazla olmak üzere iki kategoriye ayrılarak incelenmiştir. PARC nükleer ekspresyonu ile serum CA125 değeri arasında anlamlı ilişki mevcuttur (p 0,003). CA125 değeri 122,5 IU/ml'den yüksek olan vakalarda PARC nükleer ekspresyonu daha düşük bulunmuştur (Şekil 40).

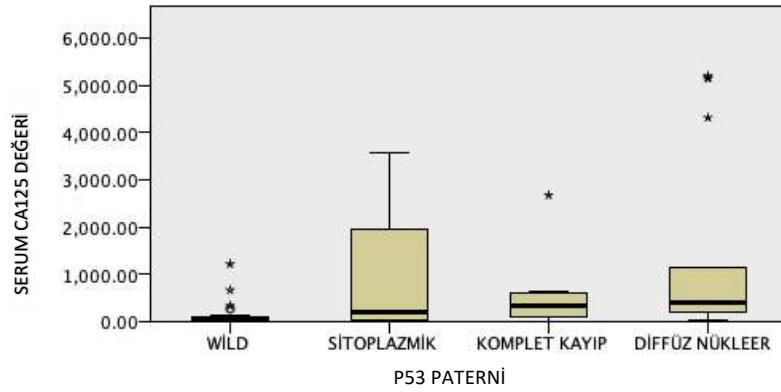


Şekil 40: Serum CA125 değeri arttıkça PARC nükleer ekspresyonu düşmektedir.

MDM2, WWP1 ve PARC sitoplazmik ekspresyonları ile CA125 değeri arasında ise anlamlı ilişki saptanmamıştır.

4.24. Tanı Anında Serum CA125 Değeri ile P53 Paterni İlişkisi

P53 durumu ile serum CA125 değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttur ($p = 0,003$). İkili karşılaştırma yapıldığında p53 *wild* ve diffüz nükleer patern ile serum CA125 değerinin anlamlı olarak değişim gösterdiği görülmüştür (Düzeltilmiş p değeri 0,002). P53 *wild* paterndeki vakalarda CA125 değeri düşük, diffüz nükleer vakalarda ise yüksektir. Sitoplazmik ve komplet kayıp paternler ile CA125 değeri arasında anlamlı ilişki olmamakla birlikte komplet kayıp olan vakalarda nispeten düşük CA125 değeri dikkati çekmiştir (Şekil 41).

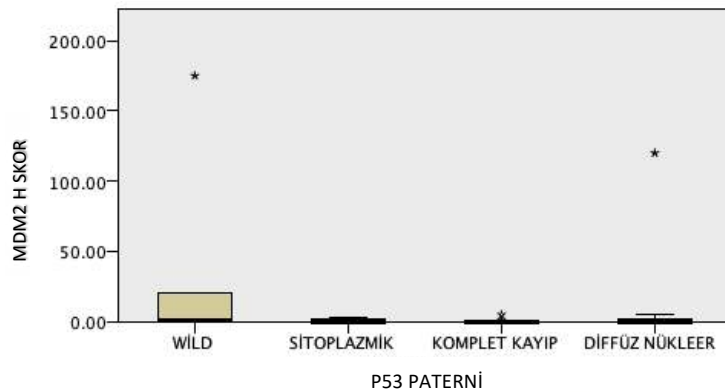


Şekil 41: Serum CA125 değeri ile p53 paterni arasındaki ilişki

4.25. YDSK'ların P53 Durumuna Göre Dört Alt Tipinde İzlenen Bulgular

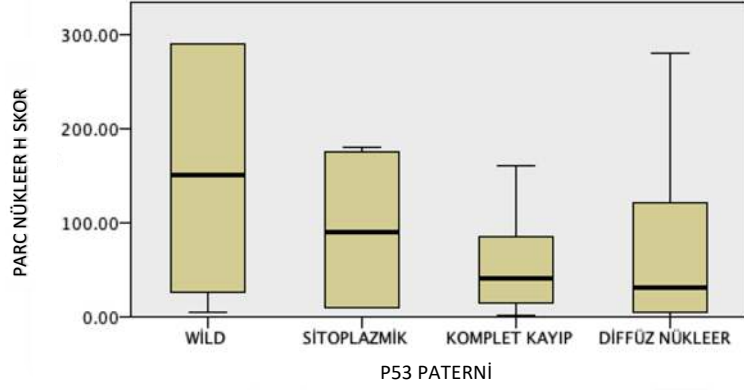
YDSK'lar kendi aralarında içerdikleri p53 paternlerine göre MDM2, PARC ve WWP1 ekspresyonları açısından incelendiklerinde gruplar arası istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir. Ancak;

- MDM2 ekspresyonu *wild* paterndeki YDSK'larda izlenmiş olup sitoplazmik, komplet kayıp ve diffüz nükleer p53 paternlerinde belirgin MDM2 ekspresyonu izlenmemektedir (Şekil 42).



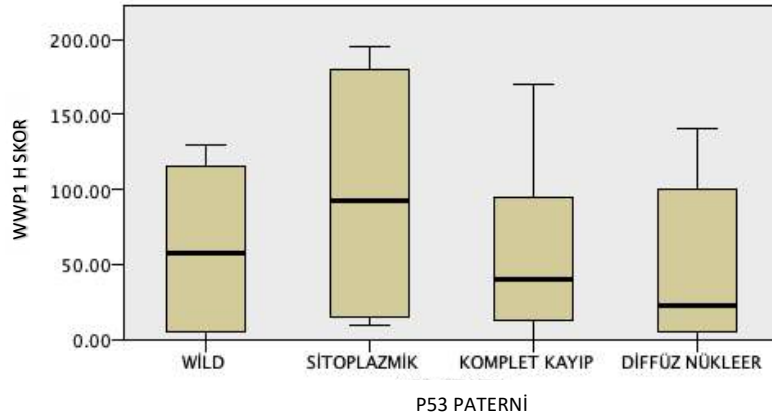
Şekil 42: YDSK'larda P53 durumuna göre MDM2 H skorları

- PARC nükleer ekspresyonu *wild* paterndeki YDSK'larda daha yüksek bulunmuştur (Şekil 43).



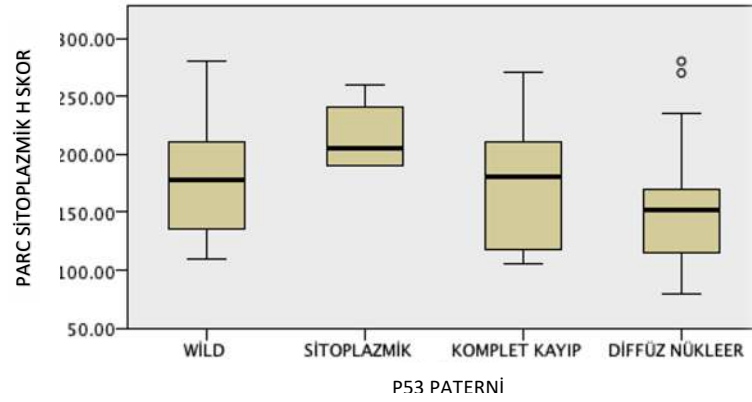
Şekil 43: YDSK'larda P53 durumuna göre PARC nükleer H skorları

- Sitoplazmik YDSK'larda WWP1 ekspresyonu daha yüksektir (Şekil 44).



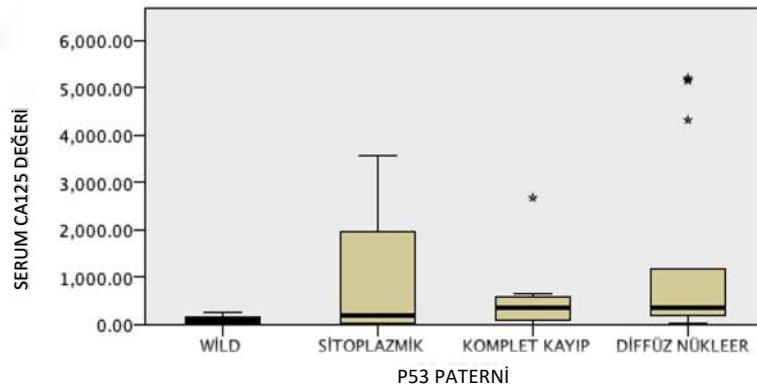
Şekil 44: YDSK'larda P53 durumuna göre WWP1 H skorları

- PARC sitoplazmik ekspresyonu, sitoplazmik p53 paternindeki YDSK'da daha yüksektir (Şekil 45).



Şekil 45: YDSK’larda P53 durumuna göre PARC sitoplazmik H skorları

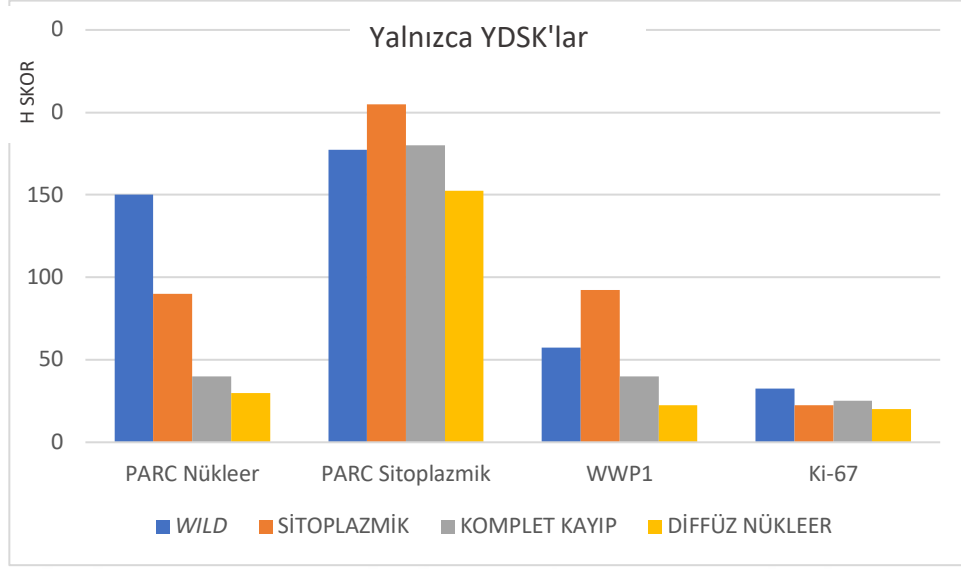
- Serum CA125 değeri *wild* paterndeki YDSK’larda daha düşüktür (Şekil 46).



Şekil 46: YDSK’larda P53 durumuna göre serum CA125 değerleri

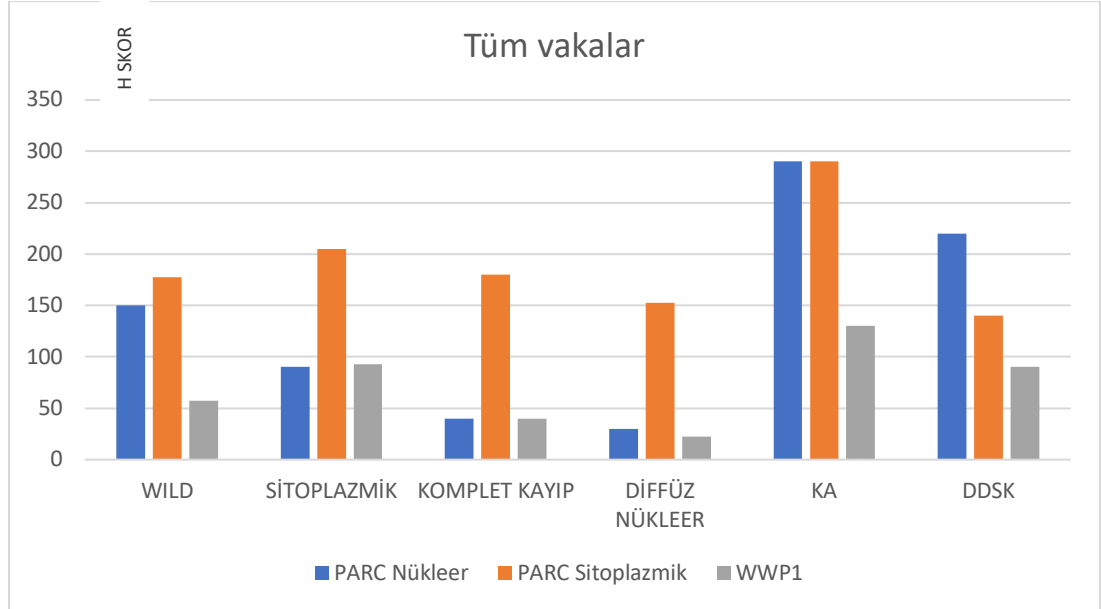
- Ki-67 indeksi YDSK’ların dört p53 paterni arasında da benzer niteliktedir.

YDSK’ların p53 durumuna göre alt tipleri ile MDM2, WWP1, PARC ve Ki-67 indeksine ait ortanca değerler arasındaki ilişki grafikte özetlenmiştir (Şekil 47).



Şekil 47: YDSK'ların p53 durumuna göre alt tipleri ile MDM2, WWP1, PARC ve Ki-67 indeksine ait ortanca değerler arasındaki ilişki

YDSK'ların p53 durumuna göre alt tipleri ile KA ve DDSK'ların, diğer bir deyişle tüm vakaların, MDM2, WWP1, PARC ekspresyon düzeylerinin hepsini bir arada aşağıdaki grafikte özet olarak görmekteyiz (Şekil 48).



Şekil 48: YDSK'ların p53 durumuna göre alt tipleri, KA ve DDSK'larda MDM2, WWP1, PARC ekspresyon düzeyleri

5. TARTIŞMA

Over karsinomu Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre dünya çapında 7. sıklıkta görülmekte olup, kansere bağlı ölümlerin 8. en sık nedenidir (55).

Jinekolojik maligniteler içerisinde over kanseri ikinci sıklıktadır ve jinekolojik maligniteye bağlı ölümlerin 3. en sık sebebidir (56). Over kanserlerinden en sık epitelyal seröz over karsinomu görülmektedir. Yüksek dereceli seröz over karsinomu over kanseri nedeniyle ölümlerin büyük kısmından sorumludur (55).

Yüksek dereceli seröz karsinomların tamamında p53 mutasyonu mevcuttur. Düşük dereceli seröz karsinomlarda ise p53 mutasyonu izlenmemektedir (57).

P53'ün farklı hücresel lokalizasyonlarına göre farklı mutasyon tipleri bulunmaktadır. Bu mutasyonların varlığı immünohistokimya ile kolaylıkla saptanabilmektedir. P53'ün immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi tarihsel olarak bakıldığında değişiklik göstermektedir. Yakın zamana kadar p53 immünohistokimyasal olarak incelenirken ya hep ya hiç kuralı uygulanmakta, komplet boyanmanın olmayışı ve yaygın nükleer boyanma mutasyon olarak kabul edilmekteydi (58). Artık nadir de olsalar, immünohistokimyasal olarak sitoplazmik ve *wild* tipte boyanmanın izlendiği p53 mutasyonu gösteren yüksek dereceli seröz karsinomların varlığı bilinmektedir (59).

P53'ün hücresel lokalizasyonu, protein ubiquitinizasyonu ile düzenlenmektedir. P53 proteinine E3 ubiquitin ligazlar tarafından bir veya daha fazla ubiquitin molekülünün bağlanması, p53'ün hücresel lokalizasyonu için bir sinyal oluşturur. Bu sinyal, p53'ün hücrede nükleusta mı yoksa sitoplazmada mı kalacağına karar vermektedir. Ayrıca böylelikle p53'ün yıkımı veya aktive olarak işlev görmesi düzenlenmektedir (60).

MDM2, WWP1 ve PARC, p53 ile ilişkili moleküllerden olup E3 ubiquitin ligaz işlevine sahiptir. Bu moleküller p53'ü ubiquitinlemede, p53'ün hücrede hangi lokalizasyonda bulunacağını ve bu lokalizasyonlardaki aktivasyonunu düzenlemektedirler.

Çalışmamızda yüksek dereceli seröz karsinomlarda izlenen p53'ün hücrel lokalizasyon farklılıklarının, p53 düzenleyici moleküller olan MDM2, WWP1 ve PARC ile ilişkisi olabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda 2011-2019 yılları arasında tanı almış toplam 60 over tümörü olgusu (7 düşük dereceli seröz karsinom, 38 yüksek dereceli seröz karsinom, 15 seröz kistadenom) incelenmiştir. Bu olgularda MDM2, PARC ve WWP1 immünohistokimyasal olarak değerlendirilerek, başta p53 immünohistokimyasal boyanma durumu olmak üzere diğer histopatolojik, immünohistokimyasal ve klinik verilerle kıyaslanmıştır.

Çalışmamızda p53 yalnızca immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiş, protein ekspresyon düzeyi kantitatif olarak değerlendirilememiş ve moleküler çalışmalarla p53 mutasyonu doğrulanamamıştır. Çalışmamıza dahil edilen YDSK'larda p53 immünohistokimyasal olarak, en sık aşırı ekspresyon, ikinci sıklıkta komplet kayıp, üçüncü sıklıkta sitoplazmik, sınırlı sayıda vakada ise *wild* tipte izlenmiştir. YDSK'larda P53 immünohistokimyasal olarak *wild* tipte olsa dahi, güdük (*truncated*) tip mutasyon beklenmektedir (59). *Wild* tipte p53 paternine sahip vakalarımız moleküler patolojik çalışmalarla incelenebilir ve güdük tip mutasyon araştırılabilir.

Çalışmamızda dikkati çeken bulgulardan biri de proliferasyon derecesinin artışıyla, *wild* tip p53 yüzdesinin artışının paralel oluşudur. P53 immünohistokimyasal boyanması yüzdelik olarak değerlendirildiğinde; YDSK'ların bir kısmı, DDSK ve KA'ların tamamında *wild* tipte p53 gözlenmesine rağmen, üç grup arasında p53 boyanma yüzdesi açısından belirgin farklılık saptanmıştır. P53 boyanma yüzdesi, *wild* patern p53 sergileyen YDSK'larda en yüksek, DDSK'larda orta seviyede, KA'larda ise düşük bulunmuştur. Bu durum literatürde tanımlanan p53'ün *wild* tipte olsa dahi, proliferasyon olan hücrelerde daha yoğun şekilde izlendiği bilgisi ile uyumludur (8). P53 yüzdesinde izlenen değişkenlik hücredeki p53 protein seviyelerinin, p53 mutasyonundan bağımsız şekilde, p53 düzenleyici moleküllerin etkisi altında olduğunu düşündürmektedir.

Kanser ilişkili çok sayıda E3 ubiquitin ligaz bulunmaktadır. Bazıları onkogenik, bazıları tümör baskılayıcı işleve sahiptirler. Örneğin MDM2 onkogen olup, p53'ün yıkımından sorumlu en bilindik moleküllerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. HIF-1alfa'nın transkripsiyon faktörü olan VHL ise, renal hücreli karsinomda mutant olan tümör baskılayıcı bir ubiquitin ligazdır (61). WWP1 ve PARC'ın kanser oluşumuna etkisi ile ilgili literatürde farklı çalışmalara rastlanılmaktadır.

Literatürde WWP1 ile ilgili oldukça sınırlı çalışma mevcutken, WWP1'in p53 ile ilişkisini ortaya koyan yalnızca birkaç çalışmaya rastlanılmıştır. 2007 yılında Laine ve arkadaşları WWP1'in; p53'ün sitoplazmik lokalizasyonundan sorumlu olduğu, stressiz durumda p53'ün nükleer işlevini baskıladığı, p53'ün yarı ömrünü uzattığı ve p53 seviyesini artırdığını saptamışlardır (47). Buna karşın Cheng ve arkadaşları ise, hepatoselüler kanser hücrelerinde WWP1 inhibisyonunun, p53 protein seviyesini artırarak apoptoza neden olduğunu saptamışlardır. (62). Görüldüğü üzere WWP1'in, p53 seviyesi ve p53'ün farklı hücresel lokalizasyonlarındaki fonksiyonu üzerine etkisi konusunda literatürde fikir birliğine rastlanılmamaktadır.

Hücredeki WWP1 düzeyi p53'e bağımlı bir şekilde değişmektedir. Yüksek yağlı beslenen deney farelerinde WWP1 artışı olmakta, ancak p53 bulundurmeyen farelerde WWP1 artışı izlenmemektedir (63). Li, Zhou ve arkadaşları; p53 *wild* tipteki kolon kanseri hücrelerinde kemoterapötik ilaçların WWP1 ekspresyonunu artırdığını saptamışlardır. P53 eksprese etmeyen kolon kanser hücrelerinde ise kemoterapötik ilaçlar, WWP1'i artıramamıştır (64). Bu bulgular, WWP1 ekspresyonunun, p53'e bağlı şekilde artabildiğini göstermektedir.

WWP1'in farklı hücre tipleri üzerinde de farklı etkisi bulunmaktadır. Meme kanseri hücrelerinde WWP1 inhibisyonunun, p63 üzerinden apoptozu azaltarak kemoterapi direncini artırdığı saptanmıştır. Öte yandan kolon kanseri hücrelerinde ise WWP1 inhibisyonu, p63 üzerinden apoptozu artırarak doksorubisin ve sisplatin duyarlılığı sağlamaktadır (64).

WWP1 ile kanser ilişkisini ortaya koyan araştırmalara bakıldığında, WWP1'in hem onkogenik hem de tümör baskılayıcı fonksiyonları olduğunu söyleyen çalışmalara rastlanılmaktadır (65).

WWP1'in tümör baskılayıcı olduğunu söyleyen iki çalışma dikkati çekmiştir. Bu çalışmaların biri gliom, diğeri de meme kanseri hücreleri ile yapılmıştır. WWP1 inhibisyonunun meme kanserinde kemik metastazını arttırdığı, gliom dokusunda ise hücre çoğalmasını, hücre göçünü ve invazyonu artırdığı bulunmuştur (66,67).

Yukarıda bahsedilen iki çalışma haricinde diğerk birçok çalışma da WWP1'in onkogenik fonksiyonları olduğunu göstermiştir (65). Meme, prostat, oral, hepatoselüler, kolorektal ve gastrik kanserler ve lösemide WWP1 amplifikasyonuna rastlanılmıştır. Kanser hücrelerinde WWP1 artışının hücre büyümesini artırdığı, WWP1 kaybının ise hücre çoğalmasını durdurup apoptoza neden olduğu saptanmıştır (46,68–70).

Chen ve arkadaşlarının prostat kanseri hücre serisi ile yaptıkları bir çalışmanın sonuçlarına göre WWP1, TGF-Beta'nın fonksiyonunu bozmakta ve hücre proliferasyonunu sağlamaktadır (71). Goto ve arkadaşları ise yine prostat kanserinde WWP1'in hücre göçü ve invazyondan sorumlu olduğunu söylemektedirler (72).

Lee ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptıkları çalışmalarına göre ise WWP1, MYC üzerinden aktive olarak, önemli tümör baskılayıcı bir protein olan PTEN'in inaktivasyonuna neden olmaktadır (73).

WWP1, hücre farklılaşmasında ve proliferasyonun inhibisyonunda görevli, prostat ve meme karsinomunda kaybı bilinen bir transkripsiyon faktörü olan KLF5'in proteazomal yıkımını sağlamaktadır. Bu bulgu WWP1'in onkogen olarak fonksiyon gördüğünü düşündürmektedir (61).

WWP1'in onkogenik fonksiyon gösterdiğini öne süren bu çalışmalara bakıldığında ise WWP1'in kanser gelişiminde rolü olduğu bilinen MYC, TGF-Beta, KLF5 gibi moleküllerle etkileşerek veya tümör baskılayıcı PTEN gibi moleküllerin fonksiyon görmesini engelleyerek onkogenik özellik gösterdiği söylenebilmektedir.

Sonuç olarak WWP1'in tümör baskılayıcı mı yoksa onkogen mi olduğu konusunda da literatürde iki yönlü bulgulara rastlanılmıştır. WWP1'in tümör baskılayıcı gen olduğunu saptayan iki çalışma gliom ve meme kanseri serileri ile yapılmıştır. Onkogenik fonksiyonu olduğunu gösteren çalışmalar ise prostat, meme, gastrik, hepatoselüler kanserler ve lösemi üzerinde yapılmıştır. Bu farklılık, tümörlerdeki ayrı hücre tiplerinden kaynaklanıyor olabilir.

Öte yandan WWP1'in p53'e bağımlı fonksiyon gördüğü bilinmektedir. Bu nedenle WWP1'in işlevi, çalışılan hücrelerdeki p53 mutasyon durumlarının farklı oluşundan dolayı da değişik saptanmış olabilir. WWP1'in p53'ün sitoplazmik ve nükleer aktivitelerini ne yönde değiştirdiği, p53'ün *wild* tipteki veya çeşitli mutasyonlar taşıyan hali ile etkileşimi henüz aydınlatılamamıştır. Bu çalışmalarda tümörler p53 mutasyon türlerine göre kategorize edilerek WWP1 ile ilişkilerine bakıldığında bu farklılığın aydınlatılmasına katkı sağlanabilmektedir.

Literatür incelendiğinde, YDSK gibi p53'ün farklı mutasyon türlerini yansıtan bir hastalıkla, WWP1 ilişkisini ortaya koyan çalışmaya da rastlanılmamıştır. Bu bakımdan bizim çalışmamızın bakış açısı farklılık göstermektedir.

Bizim çalışmamızda WWP1, YDSK'larda en düşük, DDSK'larda orta seviyede, KA'da ise yüksek bulunmuştur. Malign vakalarda ve malignite derecesi arttıkça WWP1 kaybı izlenmiştir.

YDSK'lara genel olarak bakıldığında izlenen WWP1 ekspresyonu düşüklüğünün p53 ile ilişkisini saptamak adına, YDSK'lar da p53 ekspresyon türlerine göre kategorize edilerek de değerlendirilmiştir. Diffüz nükleer p53 ekspresyonu gösteren YDSK'larda WWP1 en düşük saptanmıştır. Sitoplazmik patern p53 sergileyen YDSK alt grubunda ise beklenmedik bir sonuçla karşılaşmıştır. Sitoplazmik p53 paternindeki vakalarda WWP1 değerleri yüksek olup DDSK'lardaki WWP1 seviyelerine yakındır.

P53'ün paternlerine ait sonuçların ışığında beklenen şekilde, p53 yüzdesinin de %80'den fazla olduğu durumda WWP1 ekspresyonu düşük bulunmuştur.

Lenfovasküler invazyon varlığında, over yüzey tutulumunda, batın sıvısı pozitifliği ve peritoneal karsinomatozis olan vakalarda, yaşı 54'ten büyük olduğu ve Ki-67 indeksinin %10'dan fazla olduğu durumda da WWP1 düşük bulunmuştur. Bu histopatolojik parametrelerin malign karakterizasyonla ilişkili oluşuyla WWP1 ekspresyonunda düşüklük paralellik göstermektedir.

Bizim çalışmamızda izlenen benign durumlardaki WWP1 yüksekliği, WWP1'in tümör baskılayıcı işleve sahip olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca p53 sitoplazmik tipte olduğunda da WWP1'de yükseklik mevcuttur. WWP1'in, p53'ün sitoplazmik lokalizasyonundan sorumlu olduğu bilgisi ile birlikte değerlendirdiğimizde, WWP1'in, benign vakalarda ve stressiz durumda *wild* tip p53'ün sitoplazmaya geçerek yıkımından sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Ancak mutant ve sitoplazmik birikim gösteren p53, WWP1 ile sitoplazmaya geçse dahi yıkılamayıp hücrede anormal birikime neden olabilir.

Diffüz nükleer p53 paternindeki malign vakalarda görülen WWP1 ekspresyon kaybı, mutant p53'ün sitoplazmaya geçemeyip ve dolayısıyla yıkılamayıp, nükleusta anormal şekilde birikmesine neden olmuş olabilir. Böylelikle WWP1 kaybı, mutant p53'ün nükleusta kalarak onkojenik işlev görmesinden sorumlu olabilir. Bu durumda WWP1 kaybı, p53'ün fonksiyon kazanımı mutasyonlarına sebep olan moleküllerden biri olacaktır. İzlenen WWP1 kaybı, mutant p53'ün nükleer birikiminin sekonder olarak WWP1'i baskılaması nedeniyle de olmuş olabilir. Bu yönüyle yorumlandığında WWP1 tümör baskılayıcı bir proteindir.

WWP1'in nükleer ve sitoplazmik düzeyde etkilerini ortaya çıkarmak, p53 ile ilişkisini hücresel lokalizasyona bağlı şekilde incelemek ve p53 mutasyon türlerine göre değişebilen etkilerini değerlendirmek için iyi kurgulanmış yeni moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

E3 ubiquitin ligazlardan çalışmamıza dahil ettiğimiz diğer bir molekül olan MDM2, p53'ün önemli bir negatif düzenleyicisidir (37,38). MDM2 gen amplifikasyonu yumuşak doku tümörlerinde %20 oranında, osteosarkomda %16 oranında, özofageal kanserlerde %13 oranında, beyin, meme ve akciğer tümörlerinde yaklaşık %6 oranında, overyan tümörlerde ise %3 oranında izlenmektedir (74).

Momand, Jung ve arkadaşları tarafından 1998 yılında 28 tümör tipinde toplam 3889 örnekte, p53 mutasyonu ile MDM2 amplifikasyon sıklığı incelenmiştir. Bu çalışmada p53 mutasyonu ile MDM2 amplifikasyonunun büyük oranda birbirini dışlar nitelikte olduğu dikkati çekmiştir. MDM2 amplifikasyonu genellikle p53 *wild* vakalarda görülürken, p53 mutasyonu izlendiğinde ise MDM2 amplifikasyonuna rastlanılmamıştır (74).

Ancak p53 mutasyonu ve MDM2 amplifikasyonunun birlikte izlendiği nadir vakalar da mevcuttur. Bunlara örnek olarak iki çalışma gösterilebilir. Shibagaki ve arkadaşlarının 72 özofageal skuamöz hücreli karsinomu inceledikleri çalışmalarında, olguların 4'ü p53 mutasyonu ve MDM2 amplifikasyonunu birlikte içermektedir (75). Cordon-Cardo ve arkadaşlarının 207 yumuşak doku sarkomunu inceledikleri çalışmalarında ise olguların 22'si hem MDM2'nin aşırı ekspresyonunu, hem de Tp53 mutasyonlarını sergilemiştir. Bu durum, bu genetik değişikliklerden sadece birinin oluşuna kıyasla daha yüksek bir tümör derecesi ve daha kötü bir prognoz ile ilişkili bulunmuştur (76).

MDM2'nin over kanserlerindeki durumunu inceleyen çalışmalarda ise MDM2 ekspresyonu, p53 *wild* tip olan over tümörlerinde daha sıklıkla görülmektedir. Ayrıca MDM2 ekspresyonu over kanserlerinde kötü prognoz ve sağ kalım düşüklüğü ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmalar arasında şunlar yer almaktadır;

Makii ve arkadaşları, MDM2'nin *wild* tip p53 içeren berrak hücreli over karsinomlarında, YDSK'lara göre daha fazla eksprese olduğunu bulmuşlardır (77). Doğan ve arkadaşları 82 over kanseri olgusunda yaptıkları çalışmalarında MDM2 ekspresyonunu kemosenitivite, yüksek evre ve kötü prognozla ilişkili bulmuşlardır. MDM2 ve p53'ün birlikte ekspresyonu da kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (78).

Palazzo ve arkadaşları seröz over tümörlerinde MDM2 immünohistokimyasal ekspresyonunu boyanma yoğunluğunu yüzdesel olarak 4 kategoriye ayırarak değerlendirmişlerdir. Çalışmaları sonucunda *borderline* tümörlerde MDM2 ekspresyon sıklığı %90, kistadenomlarda %46,2, seröz adenokarsinomlarda %75 olarak bulunmuştur (79).

Soslow ve arkadaşları endometrioid ve seröz endometriyal karsinomların p53 ve MDM2 ekspresyon paternlerini inceledikleri çalışmaları sonucunda seröz karsinomlarda güçlü p53 ekspresyonu ile birlikte zayıf MDM2 ekspresyonu, endometrioid karsinomlarda ise zayıf p53 ekspresyonu ile orta derecede MDM2 ekspresyonu saptamışlardır (80).

Cho ve arkadaşları seröz over tümörlerinde MDM2 immünohistokimyasal ekspresyonunu incelemişler ve *borderline* vakalarda MDM2 ekspresyonu saptamışlardır (81). Mayr ve arkadaşları *borderline* seröz tümörlerde %80 oranında MDM2 amplifikasyonuna rastlamışlardır (82).

Biz çalışmamızda MDM2'yi immünohistokimyasal ekspresyon yönünden inceleyebildik, moleküler olarak gen amplifikasyonunu değerlendiremedik. Çalışmamız sonucunda DDSK'ların bazılarında MDM2 ekspresyonu saptanmıştır. YDSK'ların ise yalnızca *wild* paternde p53 içerenlerinin bir kısmında MDM2 pozitifliği vardır.

Literatürde tanımlanan p53 mutasyonu ile MDM2 amplifikasyonunun birbirini dışlar nitelikte olduğu bilgisi ile bulgularımız uyum göstermektedir. Buna ilave olarak, p53 *wild* immünohistokimyasal paterne sahip ancak muhtemelen p53 mutasyonu taşıyan YDSK'larda rastladığımız MDM2 ekspresyonu yine literatürde tanımlanan nadiren de olsa p53 mutasyonu ile MDM2 ekspresyonunun birlikte olabileceğini de doğrular niteliktedir.

Ayrıca çalışmamızda WT1 negatifliğinde MDM2 pozitifliği izlenmiştir. WT1 negatif vakaların kistadenom ve DDSK oluşu da bu bulguda etken olabilir.

PARC ise çalışmamıza dahil ettiğimiz üçüncü bir ubiquitin ligaz olup p53'ün hücrel lokalizasyonunu ve fonksiyonunu düzenleyen bir proteindir. PARC baskın olarak sitoplazmada bulunmaktadır (50,83).

PARC ile ilgili bilimsel çalışmalar da sınırlı olup, WWP1'e benzer şekilde, PARC'ın da hem tümör baskılayıcı, hem de onkogen olabileceği yönünde bulgular vermiştir. Tarihsel olarak bakıldığında, p53 ile ilgili bilimsel çalışmalar da yeni

başladığında bulgular p53'ün onkogen olduğu yönündeydi. *Wild* tip yerine mutant p53'ün klonunun deneysel olarak kullanımının, bu basit hataya neden olduğu görülmüştür (84).

Literatüre baktığımızda PARC'ın p53 ile ilişkisiyle ilgili de çift yönlü bulgular görmekteyiz. Bazı çalışmalar PARC'ın p53 aktivatörü olduğunu söylerken, bazıları p53'ün nükleer işlevini baskıladığını, bazıları da p53'ün sitoplazmik işlevlerini baskıladığını söylemektedir. Genel olarak PARC'ın, p53'ü sitoplazmada sekestre ettiği düşünülmektedir (52,85–88).

Pei ve arkadaşları PARC mutant deney farelerini incelediklerinde, PARC delesyonunun akciğer, karaciğer, over gibi birden çok organda spontan karsinom, sarkom ve lenfoma gelişimine neden olduğunu saptamışlardır. PARC'ın homozigot delesyonu %79, heterozigot delesyonu %74 oranında spontan tümör gelişimine neden olmuştur. Çalışmalarını PARC ve p53 ikili mutant fareler üzerinde kurguladıklarında ise, PARC ve p53'ün birlikte mutant olduğu durumda, tek başına p53 mutasyonu durumunda görülen onkogenik etkilerin benzeri görülmüştür. Tek başına PARC mutasyonu durumunda ise tümörde kontrolsüz büyüme gözlenmemiş ancak DNA hasarı sonucu gelişen apoptozda azalma görülmüştür. PARC kaybı ve aşırı ekspresyonu durumunda p53 yarı ömründe ise bir değişiklik olmamıştır. Bu bulgular ışığında PARC'ın, sitoplazmada p53'ü aktive edici rol oynadığı sonucuna varılmıştır. PARC, p53 ilişkili apoptozu kolaylaştırmaktadır. Bu yönleriyle PARC tümör baskılayıcı görev görmektedir (69).

Zhijun Li ve arkadaşlarının fare embriyonal fibroblastlarında yaptıkları çalışmalarına göre PARC'ın delesyonu DNA hasarına kötü yanıt, azalmış apoptoz, artmış S-fazında hücre sayısı ile ilişkilidir. P53 *wild* tipte olan farelerde PARC delesyonu, p53 kaybı varmış gibi etki göstermiştir. P53 kaybı durumunda PARC kaybı olursa ise DNA hasarı etkisi değişmemektedir. PARC hücre proliferasyonunu ve DNA hasar tamirini p53 üzerinden yönetmekte, önemli bir p53 aktivatörü olarak görev görmektedir. Bu yönleriyle PARC, p53 aktive edici tümör baskılayıcı bir proteindir. (90).

Vitali ve arkadaşları 2008 yılında in vitro çalışmalarını, nöroblastom ve osteosarkom hücre hatlarında p53 ile PARC bağlantısını bozan TAT peptidi ile kurgulamışlardır. Kullandıkları hücrelerde p53 *wild* tiptedir ancak anormal sitoplazmik lokalizasyonda bulunmaktadır. TAT peptidi ile PARC ve p53 bağlanmasını bozmuş, p53'ü reaktif etmeye çalışmışlardır. Bu peptit tedavisi ile kanser hücrelerinde kemoterapi ilişkili apoptoz ve p53 ilişkili gen ekspresyonu artmıştır. Bu bulgular PARC'ın, p53'ü sitoplazmada sekestre ederek işlevini baskıladığını ve onkogenik fonksiyon gördüğünü düşündürmektedir. Ayrıca bu çalışma, p53 ile PARC bağlantısını engelleyen proteinlerin p53'ü reaktif ederek kanser tedavisinde kullanılabilirliğini de göstermiştir (92).

Mulhall ve arkadaşları 2010 yılında Peyroni plaklarındaki fibroblast hücrelerinde siRNA (Short interfering RNA-Kısa engelleyici RNA) kullanarak PARC fonksiyonunu bozdukları bir çalışma kurgulamışlardır. Çalışmada sonucunda PARC'ın, p53'ün sitoplazmik yerleşiminden sorumlu olduğu ve p53'ün nükleer transkripsiyon işlevini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Çalışmalarına göre PARC, p53'ün fonksiyonunun kaybına ve stabilizasyonuna neden olarak onkogenik fonksiyon görmektedir (86).

Vivivan Gama ve arkadaşları fare sinir hücreleriyle yaptıkları bir çalışmada PARC'ın mitokondriyal hasar sonucu salınan sitokrom c'yi ubiquitinleyerek proteazomal yıkımından sorumlu olduğunu göstermişlerdir. Sitokrom c yıkıldığında apoptoza gidiş engellenerek hücrenin yaşamsal devamlılığı sağlanacaktır. PARC, sitokrom c'nin yıkımını engelleyerek hücrenin apoptoza gidişini önlemektedir. PARC eksikliği durumunda ise nöron ve kanser hücrelerinde apoptoza gidiş kolaylaşmaktadır (93,94).

Nikolaev ve arkadaşları PARC'ın p53'ü sitoplazmada sıkı bir şekilde bağladığını ve nöroblastom hücrelerinde PARC seviyesinin yüksek olduğunu göstermişlerdir. Nöroblastom hücrelerinde saptanan PARC artışı, p53'ün stres durumunda dahi sitoplazmada sekestre olmasına neden olmakta ve nükleusa girip işlev görmesini engellemektedir ancak PARC artışı ile p53 total seviyesi değişmemiştir. Bu nedenle PARC'ın ubiquitinaz aktivitesi olduğunu, p53'ün direk olarak yıkımını

sağlamasa da hücrel lokalizasyonunu değiştirerek fonksiyon görmesini engellediğini öne sürmektedirler. PARC'ın RNA aracılı inhibisyonu sağlandığında ise, p53 sağlıklı çalışabilmiştir (52).

Nikolaev ve arkadaşlarının çalışmalarında PARC'ın p53'ü sitoplazmada sekestre ederek işlevini antagonize ettiği bildirilmesine karşılık, Pei ve arkadaşları ise farelerde PARC aşırı ekspresyonu durumunda p53'ü sitoplazmada sekestre etmediğini öne sürmektedirler. PARC inhibisyonunun ise p53 işlevini artırmadığını bulmuşlardır (47).

Michael Woo ve arkadaşları 2012 yılında, over kanserinde PARC ile kemoterapi duyarlılığı ilişkisini araştırmışlardır. PARC eksikliği, kemoterapiye duyarlı over kanseri hücrelerinde tedavi ilişkili apoptozu artırmıştır. Kemoterapiye dirençli over kanserinde ise bu etki görülmemiştir. Kemoterapiye dirençli hücreleri duyarlı hale getirmek için PARC inhibisyonu gerekmektedir. PARC inhibisyonu, Akt'yi azaltıp p53'ü artırarak bu duyarlılaştırma etkisini sağlamaktadır (95).

Bizim çalışmamızda PARC ile nükleer ve sitoplazmik olmak üzere farklı şiddette boyanmalar izlenmiştir. Nükleer PARC ekspresyon skorları tanılar arasında en dikkat çekici farklılığı gösterendir. YDSK ve DDSK'da PARC kaybı görülmüştür ancak bu kayıp YDSK'da çok daha belirgindir. Lezyon malignleştikçe ve malignite derecesi arttıkça PARC kaybı artmaktadır.

Çalışmamızda YDSK'larda izlenen PARC kaybının, komplet kayıp ve diffüz nükleer p53 paternine sahip olan vakalarda daha belirgin olduğunu saptanmıştır. *Wild* p53 paternine sahip YDSK'larda ise PARC nükleer ekspresyonu daha yüksek bulunmuştur. Ancak yine de tüm farklı mutant p53 paternindeki YDSK'larda, KA ile kıyasla belirgin PARC nükleer ekspresyon kaybı dikkat çekmektedir.

PARC'ın sitoplazmik ekspresyonu, KA ile kıyaslandığında hem YDSK, hem DDSK'da benzer şekilde kayıp göstermiştir. Ancak YDSK ile DDSK'larda izlenen PARC sitoplazmik ekspresyonu benzer düzeydedir. YDSK'lar p53 paternlerine göre kategorize edilerek incelendiklerinde ise p53 paterni sitoplazmik olan vakalarda, PARC sitoplazmik ekspresyonu en yüksek bulunmuştur.

P53 boyanma yüzdesi arttıkça ve Ki-67 indeksi %10'dan fazla ise PARC sitoplazmik ve nükleer pozitifliği azalmıştır. Bilateral, over yüzey tutulumu ve batın sıvısı pozitifliği olan, lenf nodu metastazı, periton dışı organ metastazı, WT1 pozitifliği izlenen vakalarda da PARC kaybı mevcuttur. Bu bulguların hepsi de lezyonun malign karakteriyle ilgili olduğundan, PARC kaybı ile paralellik gösterdikleri düşünülmüştür.

Çalışmamız sonucunda genel olarak tüm p53 mutasyonu durumlarında malign vakalarda da PARC sitoplazmik ekspresyonu yüksek seyretmiştir. Bu bulgu, hücrede PARC'ın baskın olarak sitoplazmada bulunduğu bilgisini desteklemekte ve bu durumun p53 mutasyon türlerinde değişmediğini düşündürmektedir. Ancak PARC'ın nükleer ekspresyonunda malign vakalarda ve malignite derecesi arttıkça belirgin kayıp izlenmiştir. Bu kayıp, diffüz nükleer ve komplet kayıp p53 paternine sahip YDSK'larda dikkat çekicidir. *Wild* p53 paternine sahip YDSK'larda PARC nükleer ekspresyonu ise nispeten yüksekçe seyretmektedir. Bu sonuçlar ışığında, PARC'ın özellikle nükleer ekspresyonunun p53 ile yakın ilişkide olduğu söylenebilir. Yanlış anlamalı p53 mutasyonu gösteren diffüz nükleer p53 paternindeki vakalarda, PARC eksikliği nedeniyle p53 sitoplazmaya geçemediğinden nükleer birikim göstermiş olabilir. P53 *wild* paterndeki YDSK'larda izlenen p53 yüzdesindeki fazlalık yine PARC kaybı nedeniyle p53'ün sitoplazmaya geçişinin azalması sonucu olmuş olabilir. Bulgularımız PARC'ın p53'ün sitoplazmaya geçişini sağlayan tümör baskılayıcı bir protein olduğunu düşündürmektedir.

P53'ün nükleer fonksiyonlarının düzenlenmesinin iyi bilinmesine rağmen, sitoplazmadaki işlevlerinin düzenlenmesi hakkında daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır (89). Genel olarak bakıldığında E3 ubiquitin ligazlar p53 yıkımına neden olarak p53'ü negatif yönde düzenleyicidirler (96). Birer E3 ubiquitin ligaz olmalarına rağmen, PARC ve WWP1 hakkındaki literatür bilgilerimiz sınırlı ve yer yer çelişen niteliktedir. PARC ve WWP1'in p53'ün hücrel lokalizasyonu ve işleviyle yakından bağlantılı olabileceği bilgisine sahibiz. Ancak bu ilişkinin ne yönde olduğunu, spesifik hücreler için değişip değişmediğini, ek düzenleyicilerini daha ayrıntılı anlamak için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Over kanserlerinde tedavi yaklaşımlarından biri mutant p53'e *wild* tip p53 fonksiyonlarını kazandırmaktır. Mutant p53'ün onkogenik fonksiyonları olduğundan, hücrede azaltılması gerekmektedir. Bunun bir yolu da mutant p53'ün yıkımını artırmaktır. Mutant p53 de, *wild* tipte p53 de hücrede ubiquitinlenerek proteazomal yolla yıkılır.

Wild tip p53 bulunduran kanser hücrelerinde MDM2'nin p53 ile bağlanmasını engelleyen ilaçlar tedavide hedef olarak denenmektedir. Nutlin-3a, RG-7112 gibi MDM2-p53 bağlanmasının üç boyutlu taklitçileri, bu bağlanmayı inhibe ederek *wild* tip p53'ün aktivitesini arttırmışlardır (97,98). MDM2 inhibitörü olarak İdasanutlin'in (RG7388) de, akut myeloid lösemi hastalarında Faz 3 klinik çalışması devam etmektedir (99).

Ayrıca p53 gen terapileri de denenilen tedaviler arasındadır. Baş boyun kanserlerinde adenovirus vektör olarak kullanılarak p53 gen transfer tedavisi klinik kullanım onayı alan ilk gen tedavisidir. Serviks kanserlerinde de p53 gen tedavisi klinik olarak denenmektedir. Over kanserinde, sentetik p53 uzun peptit aşısının klinik olarak Faz 2 denemeleri sürmektedir (99).

Mutant p53 over kanserinde kemoterapiye dirençle de ilişkilidir. *Wild* tip p53 genellikle kemoterapiye duyarlıdır. Over kanserinde kemoterapi direncine sıklıkla PI3K/Akt yolağının aktive olarak p53'ü inhibe etmesi neden olmaktadır. Kemoterapiye duyarlılığı sağlamak için p53'ün hücrel lokalizasyonunun ve apoptotik etkisinin düzenlenmesi önemlidir (95,100).

PARC, MDM2 ve WWP1'in over kanserindeki rolleri ve p53 ile ilişkisi daha iyi aydınlatıldığında bu moleküller, özellikle yüksek dereceli seröz over kanserinde p53 aktive edici ve kemoterapi duyarlılaştırıcı hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlayabileceklerdir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Yüksek dereceli seröz karsinomlar, immünohistokimyasal olarak sıklıkla diffüz nükleer ve komplet kayıp p53 boyanması gösterirler ancak nadir olarak *wild* tipte ve sitoplazmik boyanma da görülebilir.
2. P53 yüzdesel olarak değerlendirildiğinde *wild* tipte olsa dahi, lezyonun proliferasyon derecesi arttıkça daha yüksek saptanmaktadır.
3. WWP1, yüksek dereceli seröz karsinomlarda en düşük, düşük dereceli seröz karsinomlarda orta seviyede, kistadenomda yüksek bulunmuştur. Seröz karsinomlarda istatistiksel anlamlı şekilde WWP1 kaybı mevcuttur. Malignite derecesi arttıkça WWP1 kaybı belirginleşmektedir.
4. WWP1, yüksek dereceli seröz karsinomlar içerisinde diffüz nükleer p53 ekspresyonu gösteren vakalarda en düşüktür.
5. Sitoplazmik patern p53 sergileyen yüksek dereceli seröz karsinom alt grubunda ise WWP1 değerleri yüksek olup, belirgin kayıp göstermemiştir.
6. Lenfovasküler invazyon varlığında, over yüzey tutulumunda, batin sıvısı pozitifliği ve peritoneal karsinomatozis olan vakalarda, yaşı 54'ten büyük olduğu ve Ki-67 indeksinin %10'dan fazla olduğu durumda WWP1 düşük bulunmuştur.
7. Tümör çapı, bilateralite, omentum tutulumu, ER ve WT1 durumu, serum CA125 değeri ile WWP1 arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.
8. Diffüz nükleer p53 eksprese eden vakalardaki WWP1 düşüklüğü ve sitoplazmik p53 paternindeki vakalarda izlenen WWP1 yüksekliği, WWP1'in, p53'ü sitoplazmada sekestre ettiğini düşündürmüştür.
9. MDM2 çalışmamızda immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiş, gen amplifikasyonu değerlendirilememiştir. Düşük dereceli seröz karsinomların bazılarında MDM2 ekspresyonu saptanmıştır. Yüksek dereceli seröz karsinomlardan yalnızca *wild* p53 paternine sahip vakaların bir kısmında MDM2 pozitifliği izlenmiştir. Bulgularımız, p53 mutasyonu ile MDM2 amplifikasyonunun birbirini dışlar nitelikte olduğu bilgisini desteklemiştir.

10. PARC ile nükleer ve sitoplazmik olmak üzere farklı şiddette boyanmalar izlenmiştir. Nükleer PARC skorları tanımlar arasında en dikkat çekici farklılığı gösterendir. Yüksek ve düşük dereceli seröz karsinomlarda PARC kaybı görülmüştür. Malignite derecesi arttıkça PARC'ın nükleer kaybı çok daha belirgindir.
11. PARC nükleer kaybı, komplet kayıp ve diffüz nükleer p53 paternine sahip olan yüksek dereceli seröz karsinomlarda daha belirgindir. *Wild* p53 paternine sahip yüksek dereceli seröz karsinomlarda ise PARC nükleer ekspresyonu görece daha yüksektir.
12. Sitoplazmik PARC ekspresyonu, hem yüksek dereceli, hem de düşük dereceli seröz karsinomda benzer oranda kayıp göstermiştir.
13. Yüksek dereceli seröz karsinom grubunda, sitoplazmik paternde P53 içerenlerde, PARC sitoplazmik ekspresyonu en yüksek bulunmuştur.
14. P53 boyanma yüzdesi arttıkça, Ki-67 indeksi %10'dan fazla ise, bilateral, over yüzey tutulumu ve batin sıvısı pozitifliği olan, lenf nodu metastazı, periton dışı organ metastazı, WT1 pozitifliği izlenen vakalarda PARC kaybı mevcuttur. Bu bulguların hepsi de lezyonun malign karakteriyle ilgili olduğundan, PARC kaybı ile paralellik gösterdikleri düşünülmüştür.
15. PARC ve WWP1, yüksek dereceli seröz over kanserinde belirgin ekspresyon kaybı göstermiştir. Genel olarak PARC ve WWP1 için benzer şekilde, malignite derecesi arttıkça ekspresyon kaybı artmaktadır. Bu nedenle PARC ve WWP1'in tümör baskılayıcı moleküller olduğu düşünülmüştür.
16. Diffüz nükleer p53 paternine sahip YDSK'larda izlenen PARC kaybı, PARC'ın p53'ün sitoplazmik lokalizasyonundan sorumlu olabileceğini düşündürmektedir.
17. Sitoplazmik patern p53 sergileyen yüksek dereceli seröz karsinom alt grubundaki WWP1 yüksekliği de WWP1'in p53'ün sitoplazmik lokalizasyonundan sorumlu olduğunu düşündürmüştür.
18. Gelecek çalışmalarda seröz over tümörlerinde p53 mutasyonunun çeşitli olduğu hücresel koşullarda, WWP1 ile PARC'ın protein ve mRNA düzeyleri kantitatif yöntemlerle, genetik mutasyonları moleküler

yöntemlerle tespit edilebilir, hücre kültürü çalışmalarında konfokal mikroskopla p53 ile birlikte WWP1 ve PARC'ın hücresel lokalizasyonları incelenebilir.

19. MDM2 amplifikasyonu varlığına bakılarak, immünohistokimyasal ekspresyon düzeyiyle karşılaştırılabilir.
20. Bu moleküllerin seröz over karsinomunda tanısal belirteç olup olmayacağı geniş vaka serilerinde çalışılabilir.
21. WWP1 ve PARC özellikle yüksek dereceli seröz over kanseri tedavisinde p53'ün sağlıklı fonksiyonunun kazanımına yönelik geliştirilecek hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarından olabileceklerdir.



7. KAYNAKLAR

1. Güzel D, Yıldırım N, Besler A, Akman L, Özdemir N, Zekioğlu O, et al. Over kanserinin epidemiyolojisi ve genel sağ kalım özellikleri Epidemiologic fetaures and survival outcomes of ovarian cancer. Vol. 58, Ege Journal of Medicine. 2019.
2. Köbel M, Piskorz AM, Lee S, Lui S, LePage C, Marass F, et al. Optimized p53 immunohistochemistry is an accurate predictor of TP53 mutation in ovarian carcinoma. J Pathol Clin Res. 2016;
3. Brady CA, Attardi LD. p53 at a glance. J Cell Sci. 2010;123:2527–32.
4. Cole AJ, Dwight T, Gill AJ, Dickson K-A, Zhu Y, Clarkson A, et al. Assessing mutant p53 in primary high-grade serous ovarian cancer using immunohistochemistry and massively parallel sequencing OPEN. Nat Publ Gr. 2016;
5. Kurman RJ, Shih IM. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer - Shifting the paradigm. Hum Pathol. 2011;42(7):918–31.
6. Kurman RJ. Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma. Ann Oncol. 2013;24(SUPPL.10):x16–21.
7. Kroeger PT, Drapkin R. Pathogenesis and heterogeneity of ovarian cancer.
8. Köbel M, Mccluggage G, Gilks CB, Singh N. Guidance document: p53 IHC reporting in tubo-ovarian carcinoma version 1 Interpretation of p53 Immunohistochemistry In Tubo-Ovarian Carcinoma: Guidelines for Reporting. 2016;
9. Türkiye Kanser İstatistikleri [Internet]. [cited 2020 Dec 3]. Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2017.pdf
10. Ovarian Cancer — Cancer Stat Facts [Internet]. [cited 2020 Dec 3]. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>
11. Momenimovahed Z, Tiznobaik A, Taheri S, Salehiniya H. Ovarian cancer in the world: Epidemiology and risk factors. Int J Womens Health. 2019;11.

12. Epithelial carcinoma of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: Incidence and risk factors - UpToDate.
13. Tsilidis KK, Allen NE, Key TJ, Dossus L, Lukanova A, Bakken K, et al. Oral contraceptive use and reproductive factors and risk of ovarian cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Br J Cancer* [Internet]. 2011;12:1436–42. Available from: www.bjcancer.com
14. Salehi F, Dunfield L, Phillips KP, Krewski D, Vanderhyden BC. Risk Factors for Ovarian Cancer: An Overview with Emphasis on Hormonal Factors. *J Toxicol Environ Health*. 2008;11:301–21.
15. Norquist BM, Harrell MI, Brady MF, Walsh T, Lee MK, Gulsuner S, et al. Inherited Mutations in Women with Ovarian Carcinoma HHS Public Access Author manuscript. *JAMA Oncol*. 2016;2(4):482–90.
16. Pearce CL, Templeman C, Rossing MA, Lee A, Near AM, Webb PM, et al. Association between endometriosis and risk of histological subtypes of ovarian cancer: A pooled analysis of case-control studies. *Lancet Oncol*. 2012;13(4):385–94.
17. Kurman R. J., Hedrick Ellenson L. MRBM. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. Sixth. Springer; 2011. 701–735 p.
18. Goldblum J, Lamps L, McKenney J MJ. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 11th ed. Elsevier; 2018. 1377 p.
19. Kurman RJ, Carcandiu ML, Herrington SC YR. WHO Classification of Tumours of the Female Reproductive Organs. Lyon: IARC; 2020.
20. Goff BA, Mandel LS, Melancon CH, Muntz HG. Frequency of symptoms of ovarian cancer in women presenting to primary care clinics. *J Am Med Assoc*. 2004;291(22):2705–12.
21. Goff B. Symptoms Associated With Ovarian Cancer. *Clin Obstet Gynecol*. 2012 Mar;55(1):36–42.
22. Clement P. YR. Atlas of Gynecologic Surgical Pathology. Third. Elsevier Inc.; 2014. 343–366 p.
23. Saeid Movahedi-Lankarani. College of American Pathologists (CAP) Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Primary Tumors of the Ovary, Fallopian Tube, or Peritoneum. 2020.

24. Bhatla N DL. FIGO Cancer Report 2018. *Int J Gynecol Obstet.* 2018 Oct;143:i–iv.
25. Serous borderline tumour - Libre Pathology [Internet]. [cited 2021 Sep 22]. Available from: https://librepathology.org/wiki/Serous_borderline_tumour#:~:text=Serous%20borderline%20tumour%20is%20a%2Cbehaviour%20that%20borders%20on%20malignant.&text=Serous%20borderline%20tumour%20with%20a%2CHe%20stain.&text=It%20is%20also%20known%20as%2C%20low%20malignant%20potential%2C%20abbreviated%20SLMP.
26. Gershenson DM, Bodurka DC, Lu KH, Nathan LC, Milojevic L, Wong KK, et al. Impact of age and primary disease site on outcome in women with low-grade serous carcinoma of the ovary or peritoneum: Results of a large single-institution registry of a rare tumor. *J Clin Oncol.* 2015;33(24):2675–82.
27. Moore K, Colombo N, Scambia G, Kim B-G, Oaknin A, Friedlander M, et al. Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(26):2495–505.
28. Cole AJ, Dwight T, Gill AJ, Dickson KA, Zhu Y, Clarkson A, et al. Assessing mutant p53 in primary high-grade serous ovarian cancer using immunohistochemistry and massively parallel sequencing. *Sci Rep.* 2016 May 18;6.
29. TP53 Gene - GeneCards | P53 Protein | P53 Antibody [Internet]. [cited 2021 Aug 16]. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TP53>
30. Zhou X, Hao Q, Lu H. Mutant p53 in cancer therapy-the barrier or the path. Vol. 11, *Journal of Molecular Cell Biology*. Oxford University Press; 2019. p. 293–305.
31. Muller PAJ, Vousden KH. Mutant p53 in cancer: New functions and therapeutic opportunities. Vol. 25, *Cancer Cell*. Cell Press; 2014. p. 304–17.
32. Huang S, Hsu L, Chang N. Functional role of WW domain-containing proteins in tumor biology and diseases: Insight into the role in ubiquitin-proteasome system. *FASEB BioAdvances.* 2020 Apr;2(4):234–53.

33. Li W, Bengtson MH, Ulbrich A, Matsuda A, Reddy VA, Orth A, et al. Genome-wide and functional annotation of human E3 ubiquitin ligases identifies MULAN, a mitochondrial E3 that regulates the organelle's dynamics and signaling. *PLoS One*. 2008 Jan 23;3(1).
34. Buetow L, Huang DT. Structural insights into the catalysis and regulation of E3 ubiquitin ligases. Vol. 17, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Nature Publishing Group; 2016. p. 626–42.
35. MDM2 MDM2 proto-oncogene [*Homo sapiens* (human)] - Gene - NCBI [Internet]. [cited 2021 Aug 16]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4193>
36. MDM2 Gene - GeneCards | MDM2 Protein | MDM2 Antibody [Internet]. [cited 2021 Aug 16]. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MDM2&keywords=mdm2>
37. Mendoza M, Mandani G. The MDM2 gene family. *Biomol Concepts*. 2014 Mar 1;5(1):9–19.
38. Marine J-C, Lozano G. Mdm2-mediated ubiquitylation: p53 and beyond. *Cell Death Differ* 2010 171. 2009 Jun 5;17(1):93–102.
39. Arena G, Riscal R, Linares LK, Cam L Le. MDM2 controls gene expression independently of p53 in both normal and cancer cells. *Cell Death Differ*. 2018 Sep 1;25(9):1533.
40. Chen Y, Wang D-D, Wu Y-P, Su D, Zhou T-Y, Gai R-H, et al. MDM2 promotes epithelial–mesenchymal transition and metastasis of ovarian cancer SKOV3 cells. 2017;117.
41. WWP1 WW domain containing E3 ubiquitin protein ligase 1 [*Homo sapiens* (human)] - Gene - NCBI.
42. WWP1 Gene - GeneCards | WWP1 Protein | WWP1 Antibody [Internet]. [cited 2021 Aug 16]. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=WWP1&keywords=wwp1>
43. Hu H, Columbus J, Zhang Y, Wu D, Lian L, Yang S, et al. A map of WW domain family interactions. *Proteomics*. 2004 Mar;4(3):643–55.
44. Zhi X, Chen C, Zhi X, Chen ÁC. WWP1: a versatile ubiquitin E3 ligase in signaling and diseases. *Mol Life Sci*. 2012;69:1425–34.

45. Molecular functions of NEDD4 E3 ubiquitin ligases in cancer | Elsevier Enhanced Reader.
46. Zhang XF, Chao J, Pan QZ, Pan K, Weng DS, Wang QJ, et al. Overexpression of WWP1 promotes tumorigenesis and predicts unfavorable prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*. 2015;6(38):40920–33.
47. Laine A, Ronai Z. Regulation of p53 localization and transcription by the HECT domain E3 ligase WWP1. *Oncogene*. 2007 Mar 1;26(10):1477–83.
48. Feng S-M, Muraoka-Cook RS, Hunter D, Sandahl MA, Caskey LS, Miyazawa K, et al. The E3 Ubiquitin Ligase WWP1 Selectively Targets HER4 and Its Proteolytically Derived Signaling Isoforms for Degradation. *Mol Cell Biol*. 2009 Feb;29(3):892–906.
49. Kastan MB, Zambetti GP. Paracrine p53 in the cytoplasm. *Cell*. 2003 Jan 10;112(1):1–2.
50. CUL9 Gene - GeneCards | CUL9 Protein | CUL9 Antibody [Internet]. [cited 2021 Aug 16]. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CUL9&keywords=cul9>
51. Nikolaev AY, Gu W. PARC: A Potential Target for Cancer Therapy. *Cell Cycle*. 2003;2(3):168–70.
52. Nikolaev AY, Li M, Puskas N, Qin J, Gu W. Paracrine: A cytoplasmic anchor for p53. *Cell*. 2003 Jan 10;112(1):29–40.
53. Ercin ME. MALİGN MELANOMDA HİPOKSİK SÜREÇ ve İLİŞKİLİ GENLERİN ARAŞTIRILMASI. Kırıkkale Üniversitesi; 2014.
54. Ercin M, Bozdoğan Ö. Hypoxic Gene Signature of Primary and Metastatic Melanoma Cell Lines: Focusing on HIF-1 β and NDRG-1. *Balkan Med J*. 2019;37(1):15–23.
55. Lisio MA, Fu L, Goyeneche A, Gao ZH, Telleria C. High-grade serous ovarian cancer: Basic sciences, clinical and therapeutic standpoints. Vol. 20, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2019.
56. Patricia G-L, Lourdes AM-G, Kassandra M-P. Epidemiology of ovarian cancer. *Chinese Clin Oncol*. 2020;9(4).

57. Singer G, Stöhr R, Cope L, Dehari R, Hartmann A, Cao DF, et al. Patterns of p53 mutations separate ovarian serous borderline tumors and low- and high-grade carcinomas and provide support for a new model of ovarian carcinogenesis: A mutational analysis with immunohistochemical correlation. *Am J Surg Pathol*. 2005 Feb;29(2):218–24.
58. Yemelyanova A, Vang R, Kshirsagar M, Lu D, Marks MA, Shih IM, et al. Immunohistochemical staining patterns of p53 can serve as a surrogate marker for TP53 mutations in ovarian carcinoma: an immunohistochemical and nucleotide sequencing analysis. *Mod Pathol* 2011 249. 2011 May 6;24(9):1248–53.
59. Köbel M, Kang E. The Many Uses of p53 Immunohistochemistry in Gynecological Pathology: Proceedings of the ISGyP Companion Society Session at the 2020 USCAP Annual Meeting. *Int J Gynecol Pathol*. 2021 Jan 1;40(1):32–40.
60. Yang Y, Li C-CH, Weissman AM. Regulating the p53 system through ubiquitination. *Oncogene* 2004 2311. 2004 Mar 15;23(11):2096–106.
61. Chen C, Sun X, Guo P, Dong XY, Sethi P, Cheng X. Human Kruppel-like Factor 5 Is a Target of the E3 Ubiquitin Ligase WWP1 for Proteolysis in Epithelial Cells. *J Biol Chem*. 2005;280(50):41553–61.
62. Cheng Q, Cao X, Yuan F, Li G, Tong T. Knockdown of WWP1 inhibits growth and induces apoptosis in hepatoma carcinoma cells through the activation of caspase3 and p53. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 Jun 6;448(3):248–54.
63. Kobayashi M, Hoshino S, Abe T, Okita N, Tagawa R, Nagai W, et al. Identification of WWP1 as an obesity-associated E3 ubiquitin ligase with a protective role against oxidative stress in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019 Jan 1;508(1):117–22.
64. Li Y, Zhou Z, Chen C. WW domain-containing E3 ubiquitin protein ligase 1 targets p63 transcription factor for ubiquitin-mediated proteasomal degradation and regulates apoptosis. *Cell Death Differ* 2008 1512. 2008 Sep 19;15(12):1941–51.

65. Hu X, Yu J, Lin Z, Feng R, Wang Z, Chen G. The emerging role of WWP1 in cancer development and progression. *Cell Death Discov* 2021 71. 2021 Jun 21;7(1):1–8.
66. Zhao P, Wang M. A positive feedback loop of miR-30a-5p-WWP1-NF- κ B in the regulation of glioma development. *Int J Biochem Cell Biol*. 2019 Jul 1;112:39–49.
67. Subik K, Shu L. The ubiquitin E3 ligase WWP1 decreases CXCL12-mediated MDA231 breast cancer cell migration and bone metastasis. *Bone*. 2012 Apr;50(4):813–23.
68. Zhang L, Wu Z, Ma Z, Liu H, Wu Y, Zhang Q. WWP1 as a potential tumor oncogene regulates PTEN-Akt signaling pathway in human gastric carcinoma.
69. Chen J-J, Zhang W. High expression of WWP1 predicts poor prognosis and associates with tumor progression in human colorectal cancer. *Am J Cancer Res*. 2018;8(2):256–65.
70. Sanarico AG, Ronchini C, Croce A, Memmi EM, Cammarata UA, De Antoni A, et al. The E3 ubiquitin ligase WWP1 sustains the growth of acute myeloid leukaemia. *Leukemia*. 2018 Apr 1;32(4):911–9.
71. Chen C, Sun X, Guo P, Dong X-Y, Sethi P, Zhou W, et al. Ubiquitin E3 ligase WWP1 as an oncogenic factor in human prostate cancer. *Oncogene* 2007 2616. 2006 Oct 2;26(16):2386–94.
72. Goto Y, Kojima S, Kurozumi A, Kato M, Okato A, Matsushita R, et al. Regulation of E3 ubiquitin ligase-1 (WWP1) by microRNA-452 inhibits cancer cell migration and invasion in prostate cancer. *Br J Cancer* 2016 11410. 2016 Apr 12;114(10):1135–44.
73. Lee Y-R, Chen M, Lee JD, Zhang J, Lin S-Y, Fu T-M, et al. Reactivation of PTEN tumor suppressor for cancer treatment through inhibition of a MYC-WWP1 inhibitory pathway. *Science*. 2019 May 17;364(6441):159.
74. Momand J, Jung D, Wilczynski S, Niland J. The MDM2 gene amplification database. *Nucleic Acids Res*. 1998;26(15).
75. p53 mutation, murine double minute 2 amplification, and human papillomavirus infection are frequently involved but not associated with each other in esophageal squamous cell carcinoma - PubMed.

76. Cordon-Cardo C, Latres E, Drobnjak M, Oliva MR, Pollack D, Woodruff JM, et al. Molecular Abnormalities of mdm2 and p53 Genes in Adult Soft Tissue Sarcomas. *Cancer Res.* 1994;54(3).
77. Makii C, Oda K, Ikeda Y, Sone K, Hasegawa K, Uehara Y, et al. MDM2 is a potential therapeutic target and prognostic factor for ovarian clear cell carcinomas with wild type TP53. *Oncotarget.* 2016;7(46):75328.
78. Dogan E, Saygili U, Tuna B, Gol M, Gürel D, Acar B, et al. p53 and mdm2 as prognostic indicators in patients with epithelial ovarian cancer: A multivariate analysis. *Gynecol Oncol.* 2005 Apr 1;97(1):46–52.
79. Palazzo JP, Monzon F, Burke M, Hyslop T, Dunton C, Barusevicius A, et al. Overexpression of p21WAF1/C1P1 and MDM2 characterizes serous borderline ovarian tumors. *Hum Pathol.* 2000 Jun 1;31(6):698–704.
80. Soslow R, Shen P. Distinctive p53 and mdm2 immunohistochemical expression profiles suggest different pathogenetic pathways in poorly differentiated endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol.* 1998 Apr 1;17(2):129–34.
81. Cho EY, Choi YL, Chae SW, Sohn JH, Ahn GH. Relationship between p53-associated proteins and estrogen receptor status in ovarian serous neoplasms. *Int J Gynecol Cancer.* 2006 Apr 1;16(3):1000–6.
82. Mayr D, Kanitz V, Anderegg B, Luthardt B, Engel J, Löhrs U, et al. Analysis of Gene Amplification and Prognostic Markers in Ovarian Cancer Using Comparative Genomic Hybridization for Microarrays and Immunohistochemical Analysis for Tissue Microarrays. *Am J Clin Pathol.* 2006;126:101.
83. Nikolaev AY, Li M, Puskas N, Qin J, Gu W. Parc: A cytoplasmic anchor for p53. *Cell.* 2003 Jan 10;112(1):29–40.
84. Muller PAJ, Vousden KH. Mutant p53 in Cancer: New Functions and Therapeutic Opportunities. *Cancer Cell.* 2014 Mar 17;25(3):304.
85. Pei XH, Bai F, Li Z, Smith MD, Whitewolf G, Jin R, et al. Cytoplasmic CUL9/PARC ubiquitin ligase is a tumor suppressor and promotes p53-dependent apoptosis. *Cancer Res.* 2011 Apr 15;71(8):2969–77.

86. Mulhall JP, Barnas J, Kobylarz K, Mueller A. P53-Associated Parkin-like cytoplasmic protein (Parc) short-interfering RNA (siRNA) alters p53 location and biology of Peyronie's disease fibroblasts. *BJU Int.* 2010 Dec 1;106(11):1706–13.
87. Kastan MB, Zambetti GP. Parc-ing p53 in the cytoplasm. *Cell.* 2003 Jan 10;112(1):1–2.
88. Vitali R, Cesi V, Tanno B, Ferrari-Amorotti G, Dominici C, Calabretta B, et al. Activation of p53-dependent responses in tumor cells treated with a PARC-interacting peptide. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 Apr 4;368(2):350–6.
89. Pei XH, Bai F, Li Z, Smith MD, Whitewolf G, Jin R, et al. Cytoplasmic CUL9/PARC ubiquitin ligase is a tumor suppressor and promotes p53-dependent apoptosis. *Cancer Res.* 2011;71(8).
90. Li Z, Xiong Y. Cytoplasmic E3 ubiquitin ligase CUL9 controls cell proliferation, senescence, apoptosis and genome integrity through p53. *Oncogene.* 2017 Sep 7;36(36):5212–8.
91. Li Z, Pei X-H, Yan J, Yan F, Cappell KM, Whitehurst AW, et al. CUL9 mediates the functions of the 3M complex and ubiquitylates survivin to maintain genome integrity. *Mol Cell.* 2014 Jun 5;54(5):805.
92. Vitali R, Cesi V, Tanno B. Activation of p53-dependent responses in tumour cells treated with a PARC-interacting peptide. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 Apr 4;368(2):350.
93. Lopez J, Tait SWG. Killing the killer: PARC/CUL9 promotes cell survival by destroying cytochrome c. Vol. 7, *Science Signaling*. American Association for the Advancement of Science; 2014.
94. Gama V, Swahari V, Schafer J, Kole AJ, Evans A, Huang Y, et al. PARC/CUL9 Mediates the Degradation of Mitochondrial-released Cytochrome c and Promotes Survival in Neurons and Cancer Cells. *Sci Signal.* 2014;7(334).
95. Woo MG, Xue K, Liu J, McBride H, Tsang BK. Calpain-mediated processing of p53-associated parkin-like cytoplasmic protein (PARC) affects chemosensitivity of human ovarian cancer cells by promoting p53 subcellular trafficking. *J Biol Chem.* 2012;287(6).

96. Sane S, Rezvani K. Essential Roles of E3 Ubiquitin Ligases in p53 Regulation. *Int J Mol Sci.* 2017 Feb 17;18(2).
97. Kawata Y, Nagasaka K, Oda K, Makii C, Takeuchi M, Oki S, et al. Effect of murine double-minute 2 inhibitors in preclinical models of advanced clear cell carcinomas originating from ovaries and kidneys. *Cancer Sci.* 2020 Oct 1;111(10):3824.
98. Crane E, Kwan S, Izaguirre D. Nutlin-3a: A Potential Therapeutic Opportunity for TP53 Wild-Type Ovarian Carcinomas. *PLoS One.* 2015 Aug 6;10(8).
99. Nakamura M, Obata T. The Association and Significance of p53 in Gynecologic Cancers: The Potential of Targeted Therapy. *Int J Mol Sci.* 2019 Nov 1;20(21).
100. Kang HJ, Chun S-M, Kim K-R, Sohn I, Sung CO. Clinical Relevance of Gain-Of-Function Mutations of p53 in High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *PLoS One.* 2013 Aug 13;8(8):e72609.