TÜRKİYE CUMHURİYETİ

ANKARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

OVER KANSERİNDE PROTEOMİCS (PROTEOM BİLİMİ) TEKNOLOJİSİ İLE BULUNAN YENİ TÜMÖR BELİRLEYİCİLERİNİN ŞÜPHELİ ADNEKSİYEL KİTLELERİN TANISINDA KULLANIMI

Dr. Funda YAZICI EROL

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ruşen AYTAÇ

ANKARA

2011

KABUL VE ONAY

TEZ DEĞERLENDİRME JÜRİSİ RAPORU

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı araştırma görevlilerinden Dr.Funda YAZICI EROL'un tezi ile ilgili " Tez Değerlendirme Jürisi " raporu: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının 16.05.2011 tarih ve B.30.2.ANK.0.20.71.01.900 / 10837 sayılı yazısı üzerine, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı araştırma görevlilerinden Dr.Funda YAZICI EROL'un ***"Over kanserinin tanısında proteomics (proteom bilimi) teknolojisi ile yeni tümör belirleyicilerinin bulunması ve şüpheli adneksiyel kitlelerin tanısında kullanımı."*** konulu tezin sözlü savunması 24/05/2011 tarihinde öğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine açık bir toplantıda gerçekleştirilmiştir. Prof.Dr.Ruşen AYTAÇ, Prof.Dr.Feride SÖYLEMEZ ve Doç.Dr.Cem ATABEKOĞLU'ndan oluşan Tez Değerlendirme Jürisi anılan toplantıyı takiben bir araya gelmiş ve adayın tezini incelemiştir. Tezin kabul edilmesine oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof.Dr.Ruşen AYTAÇ Prof.Dr.Feride SÖYLEMEZ Doç.Dr.Cem ATABEKOĞLU

ÖNSÖZ

Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlık eğitimim süresince ki katkılarından dolayı başta Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Ruşen Aytaç olmak üzere, tüm öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Uzmanlık tezimin gerçekleştirilmesindeki emek ve yardımlarından dolayı sayın Prof. Dr. Ruşen Aytaç'a, sayın Prof. Dr. Mete Güngör'e, sayın Prof. Dr. Fırat Ortaç'a, sayın Prof. Dr. Cihat Ünlü'ye, sayın Doç. Dr. Faruk Köse'ye ve sayın Doç. Dr. Batuhan Özmen'e teşekkür ederim.

Uzmanlık tezimin yürütülmesi aşamasında katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Duygu Demiralp ve Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Uzmanlık tezimi finanse eden Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine ve Türk Alman Jinekoloji Eğitim, Araştırma ve Hizmet Vakfına katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ankara Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesinde çalışan tüm hemşireler, sağlık personeli ve doktor arkadaşlarıma tez çalışmamdaki emek ve katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Son olarak tezin tüm aşamalarında desteğini hiç esirgemeyen eşim Dr. Bekir Erol'a teşekkür ederim.

Dr. Funda YAZICI EROL

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL VE ONAY i

ÖNSÖZ ii

İÇİNDEKİLER iii

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ v

TABLOLAR DİZİNİ vi

ŞEKİLLER DİZİNİ viii

1. GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1 Over Kanseri Sıklığı ve Risk Faktörleri 3

2.2 Bulgu ve Semptomlar 4

2.3 Histolojik Sınıflama 4

2.4 Cerrahi Sınıflama 5

2.5 Erken Tanı ve Tarama 6

2.5.1 Transvajinal Ultrasonografi 8

2.5.2 Tümör Belirteçleri 9

2.5.2.1 Serum CA 125 10

2.5.3 Testlerin Kombine Olarak Kullanımı 11

2.6 Over Kanseri Tanısında Yeni Tümör Belirteçleri Kullanılması 12

2.6.1 İki Boyutlu Jel Elektroforez 13

2.6.2 MALDİ/SELDİ-TOF Kitle Spektrometri 13

2.7 Yeni Tümör Belirteçleri 13

2.7.1 Transferin 14

2.7.2 Apolipoprotein A1 14
3. GEREÇ VE YÖNTEM 16
3.1 Olgu Seçimi ve Kan Örneklerinin Toplanması 16
3.2 Western Blot Yöntemi 17
3.3 Değerlendirme 17
3.4 İstatistik 18
4. BULGULAR 19
5. TARTIŞMA 26
6. SONUÇLAR 30
7. ÖZET 32
8. SUMMARY 33
9. KAYNAKLAR 34

SİMGELER VE KISALTMALAR

Apo A1	**:**	Apolipoprotein A1
AFP	**:**	Alfafetoprotein
BRCA 1-2 geni	**:**	Meme kanseri tip 1 ve tip 2 geni
CA 125	**:**	Kanser antijeni 125
CA 19-9	**:**	Kanser antijeni 19-9
CEA	**:**	Karsinoembriyonik antijen
FIGO	**:**	Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu
HCG	**:**	Human chorionic gonadotropin
HDL	**:**	High density lipoprotein
LDH	**:**	Laktat Dehidrogenaz
MALDİ-TOF	**:**	Matrix-assisted laser-desorption/ionization time of flight
SELDİ-TOF	**:**	Surface-enhanced laser-desorption/ionization time of flight
SDS-PAGE	**:**	Sodyum dodesil sülfat poliakrilamit jel elektroforezi

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 2.1. Tanıdaki over kanserinin evresi ve 5 yıllık yaşam oranı.....5

Tablo 2.2. Dünya Sağlık Örgütü'nün epitelyal over kanserinin histolojik sınıflandırması.....6

Tablo 2.3. FIGO primer over kanseri için cerrahi evreleme 7

Tablo 2.4. Dünya Sağlık Örgütü'nün tarama kriterleri 7

Tablo 2.5. Over kanserinin ultrasonografik tanısı için morfolojik indeks 8

Tablo 2.6. Over kanserinde serum belirteçleri 9

Tablo 2.7. CA 125 seviyesini yükselten nedenler 10

Tablo 2.8. Over kanserinin tarama seçeneklerinin özeti 12

Tablo 4.1. Çalışmaya alınan hastaların dağılımı 19

Tablo 4.2. Transferin ve apolipoprotein A1 ve CA 125 düzeyleri.....20

Tablo 4.3. İkili karşılaştırmada transferin ve Apo A1 ve CA 125'in P değerleri.....21

Tablo 4.4. Gruplardaki düşük ve yüksek CA125 yüzdeleri ve hasta sayıları.....21

Tablo 4.5. CA 125 düzeyine göre grupların transferin ve Apo A1 oranlarının karşılaştırılması.....22

Tablo 4.6. CA125 düzeylerine göre transferin ve Apo A1 oranları ve P değerleri.....22

Tablo 4.7. Kanser evresine göre transferin ve Apo A1 oranları ve CA 125 değerleri.....23

Tablo 4.8. Yaşa göre transferin ve Apo A1 oranları ve CA 125 düzeyi 24

Tablo 4.9. Over kanserinde yaşa göre transferin ve Apo A1 oranları ve CA 125 düzeyi 24

Tablo 4.10. Over kanserinde histolojik tipe göre transferin ve Apo A1 oranları ve CA 125 düzeyleri 25

Tablo 4.11. Transferin ve Apo A1'in cut off değerleri, sensitivite, spesifite ve güven aralığı.....25

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 4.1. Her gruptan birkaç hastanın membranda transferin, Apo A1 ve B-aktin görüntüleri 20

Şekil 4.2. Erken ve ileri over kanserinde transferin, Apo A1, B-aktin görüntüleri 23

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Over kanseri, hastalığın tanısı için yeterli belirteçlerin olmaması ve geç evrede semptomatik olması nedeniyle her yıl yaklaşık dünyada 16000 kadının ölümüne neden olmaktadır (1). Over kanserinin erken dönemde az miktarda spesifik semptom oluşturmasından dolayı, çoğu kadına kötü prognozu olan hastalığın ilerlemiş döneminde tanı konulur. Over kanserinin erken tanısı için altın standart tarama testi henüz bulunmamaktadır (2). Over kanserine spesifik yeni tümör belirteçleri bulunması ile erken tanı mümkün olduğu gibi tümörün progresyonunda ve tedavinin takibinde daha iyi monitorizasyon sağlanacaktır.

Over kanserli hastaların %80'inden fazlası geç klinik evrede (evre 3-4) başvurmaktadır. Bu grubun 5 yıllık yaşam oranı %35'tir. Fakat evre 1 over kanserli hastaların 5 yıllık yaşam oranı %90'nın üzerindedir ve hastaların çoğu yalnız cerrahi tedavi ile kür olurlar (3). Evre 1 iken tanı alan hastaların sayılarının artması hem mortaliteyi azaltacak hem de kanser ekonomisine katkıda bulunacaktır.

Over kanseri tanısı alan hastaların çoğunda başvuru anında adneksiyel kitle saptanır. Adneksiyel kitle saptandığında öncelikle fizik muayene yapılmalı, görüntüleme yöntemleri ve laboratuar tetkikleri bunu izlemelidir. Saptanan adneksiyel kitle 10 cm'den büyük, bilateral, konturleri düzensiz, multiloküle, solid, kist duvarı 3 mm'den kalın, 3mm üzerinde septasyon ve papiller yapı içeriyorsa, asit veya metastaz varsa, muayenede semimobil veya fiske ise maligniteden şüphelenilmelidir. Bu hastalar daha ayrıntılı araştırılmalı, bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans gibi görüntüleme yöntemleri yapılmalıdır. Laboratuvar tetkiki olarak CA 125, CA19-9, CEA, AFP, HCG düzeylerine bakılır. Bu kan tetkiklerinden hiçbiri over kanserine spesifik değildir.

Kanser antijeni 125 (CA 125) over kanseri için kullanılan en yaygın tümör belirtecidir. Şu anda over kanseri için altın standarttır. Bu protein 25 yıl önce tanımlanmıştır, fonksiyonu henüz tam olarak bilinmemektedir. CA 125 normal over epitelinden salgılanmaz. Over kanserinde ovaryen dokudan salınır. Fakat over kanserinin %50'sinden azında erken tanıda saptanabilir. Ayrıca bazı benign hastalıklarda da yükselmektedir (4,5). Tüm bu sebeplerden dolayı yeni tümör

belirteçlerine ihtiyaç vardır. Proteomics teknolojisi ile over kanserinde değişime uğrayan birçok protein belirlenmiştir.

Bu çalışmada adneksiyel kitle nedeniyle başvuran hastalarda over kanserini benign adneksiyel kitlelerden ayırmak için proteomics teknolojisi ile saptanan yeni tümör belirteçlerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve over kanserinin tanısında yeni tümör belirteçlerinin kullanılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Over Kanseri Sıklığı ve Risk Faktörleri:

Over kanseri kadınlarda mortaliteye sebep olan kanserler arasında beşinci sıradadır (6). Birleşik devletlerde over kanseri jinekolojik kanserler arasında en başta gelen ölüm sebebidir (7). Aile hikayesi olmaksızın yaşam boyu over kanseri olma riski 70'te bir, over kanserinden ölüm riski 95'te birdir. Birinci derecede yakınlarında over veya meme kanseri olan kadınlarda risk artar. BRCA gen mutasyonu over kanseri riskini arttırır. BRCA1 gen mutasyonu olanlarda yaşam boyu over kanseri olma riski %39-46 iken, BRCA2 gen mutasyonu olan kadınlarda risk %12-20'dir (4).

Over kanseri riskini yaş, parite, aile hikayesinin olması, kronik inflamasyon, non-steroidal antiinflamatuar ilaç kullanımı, diet, hormon replasman tedavisi, histerektomi, infertilite ilaç tedavisi, oral kontraseptif kullanımı etkiler (8). Over kanseri kırk yaş öncesi nadir olup bu yaştan sonra insidansı artmaya başlar ve 65 ile 70 yaşları arası pik yapar. Menarş yaşı 12 yaşından önce olan kadınlarda over kanseri riskinin arttığını gösteren çalışmalar vardır (9, 10). Geç menopoz ile over kanserinde artış ilişkilendirilmiştir (10, 11). Parite genetik olmayan en önemli risk faktörüdür. Her term gebeliğin over kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir. Artan gebelik sayıları ile birlikte over kanseri riski belirgin olarak düşer (12). Pudra ve asbestos maruziyetine bağlı kronik inflamasyonun over kanseri riskini arttırdığı düşünülmektedir (13). Over kanserli hastalarda pelvik inflamatuar hastalık ve endometriozis insidansı daha yüksek bulunmuştur (12, 14). Non-steroidal ilaç kullanımının inflamasyonu azalttığı için over kanseri riskini azalttığı düşünülmektedir. Diet ile over kanseri arasındaki ilişkiye yönelik yapılan yeterli çalışma olmamasına rağmen alkol ile over kanseri arasında negatif bir korelasyon gösteren çalışmalar vardır (15). Postmenepozal kadınlarda hormon replasman tedavisinin over kanserini arttırdığına yönelik çalışmalar mevcuttur (16, 18). Yapılan kapsamlı bir çalışmada yüksek riskli hastalarda yapılan proflaktik histerektominin over kanseri riskini %36, tubal ligasyonun %39 azalttığı gösterilmiştir (17).

İnfertilite tedavisi için kullanılan klomifen sitrat, gonadotropinlerin over kanseri riskini arttıdığı söylense de kesin gösterilememiştir (19, 20). Oral kontraseptif kullanımının over kanseri riskini anlamlı olarak azalttığı belirlenmiştir. Over kanseri riski kullanımının yılı başına %11 düşerken, beş yıllık kullanım sonucunda maksimum %46 oranında düşer.

2.2. Bulgu ve Semptomlar:

Evre 1 ve 2 over kanseri hastalarında en sık şikayetler karın ağrısı ve şişliği, hazımsızlık, idrar sıklığı ve konstipasyondur. Bu semptomların bir çoğunun non spesifik olması nedeniyle bu şikayetlerin over kanseri ile beraber olabileceği dikkate alınmamıştır. Sonuç olarak hastaların %22'si semptomları görmezden gelirken %30'unda yanlış tanı konulmuştur. Pelvik muayene bu hastaların yalnızca üçte ikisine uygulanmış olup, %45'inde tanıda gecikme 3 ay üzerindedir. İlerlemiş evre hastalıkta şikayetler genelde abdominal şişme, yorgunluk ve kilo kaybıdır.

2.3. Histolojik Sınıflama:

Over tümörlerinin histolojik sınıflaması çok farklı doku komponenetlerinden köken aldığı için oldukça komplekstir. Tümörün histolojik sınıflaması Dünya Sağlık Örgütü'nün over tümörü sınıflaması kriterlerine göre yapılmalıdır. En sık üç hücre tipi epitelyal, seks kord stromal ve germ hücreli tümörlerdir. Epitelyal over kanserinin sınıflaması tablo 2.1'de görülmektedir.

Tablo 2.1. Dünya Sağlık Örgütü'nün epitelyal over kanserinde histolojik sınıflaması

Yüzey epitelyal stromal tümörler
a. Seröz tümörler
b. Müsinöz tümörler
c. Endometrioid tümörler
d. Şeffaf hücreli tümörler
e. Transizyonel hücreli tümörler
f. Skuamöz hücreli tümörler
g. Mikst epitelyal tümörler
h. Farklılaşmamış karsinomlar

2.4. Cerrahi Sınıflama:

Tam cerrahi evrelemenin önemi tedavi planı ve prognoz için önemlidir. Cerrahi evreleme işlemi vertikal insizyonla tüm abdomen ve pelvisin eksplarasyonunu, pelvisten, parakolik mesafelerden ve diyaframdan yıkama örneklerinin alınmasını, pelvik yan duvarlardan, rektum ve mesane yüzeylerinden, douglastan, lateral abdominal parakolik alanlardan, diyaframdan çoklu biopsilerin alınmasını, infragastrik omentektomi, pelvik paraaortik lenfadenektomiyi içermektedir. Bu cerrahi işlemlere ek olarak total abdominal histerektomi ve bilateral salphingoooforektomi yapılır. Debulking sitoredüksiyon olarak da adlandırılır. İlk operasyonda mümkün olan en fazla tümör dokusu çıkarılmalıdır. Optimal debulking, çapı 1-2 cm'den daha büyük tümör dokusu bırakılmamasıdır. Primer over kanserlerinin FIGO evrelemesi tablo 2.2'de gösterilmektedir.

Tablo 2.2. FIGO primer over kanseri için cerrahi evreleme

Evre I	Yayılım overlere sınırlı	**Evre IA**	Yayılım bir overe sınırlı; asit yok; dış yüzeyde tümör yok; kapsül sağlam
		Evre IB	Yayılım her iki overe sınırlı; asit yok; dış yüzeyde tümör yok; kapsül sağlam
		Evre IC	Tümör evre IA veya IB fakat bir veya her iki over yüzeyinde tümör veya kapsül rüptüre olmuş veya malign hücreler içeren asit veya pozitif periton yıkaması
Evre II	Pelvik yayılım ile birlikte bir veya iki overin tutulması	**Evre IIA**	Uterus ve/veya tubalara yayılım ve/veya metastaz
		Evre IIB	Diğer pelvik dokulara yayılım
		Evre IIC	Tümör evre IIA veya IIB fakat bir veya her iki over yüzeyinde tümör veya kapsül rüptüre olmuş veya malign hücreler içeren asit veya pozitif periton yıkaması
Evre III	Bir veya iki overin tutulumu ile birlikte pelvis dışında periton implantları ve/veya retroperitoneal veya inguinal lenf nodu pozitifliği. Yüzeyel karaciğer tutulumu. Tümör gerçek pelvise sınırlıdır fakat histolojik olarak ince barsak ve omentumda malign yayılım izlenir.	**Evre IIIA**	Tümör görünüm olarak lenf nodu tutulumu negatif ve gerçek pelvise sınırlı iken histolojik olarak batın periton yüzeylerinde mikroskobik yayılım izlenir.
		Evre IIIB	Tümör bir veya iki overde ve hiçbiri 2 cm'i aşmayan histolojik olarak onaylanmış batın periton yüzey implantları. Lenf nodu tutulumu negatif.
		Evre IIIC	2 cm'den büyük çaplı batın implantları ve/veya retroperitoneal veya inguinal lenf nodu tutulumu pozitifliği
Evre IV	Bir veya her iki overin tutulumu ile birlikte uzak metastaz. Eğer plevral efuzyon mevcut ise vakayı evre IV'e sokabilmek için pozitif sitolojik inceleme gereklidir.		

2.5. Erken Tanı ve Tarama:

Her ne kadar over kanserinin değerlendirilmesinde ve tedavisinde gelişmeler olsa da çoğu hasta sağkalımın sınırlı olduğu ilerlemiş hastalık evresinde başvurmaya devam etmektedir. Over kanserinin prognozunda son yıllarda önemli bir değişim olmamıştır. Heintz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada over kanserinin evreye göre 5 yıllık yaşam oranları tablo 2.3'te görülmektedir (4).

Tablo 2.3. Tanıdaki over kanserinin evresi ve 5 yıllık yaşam oranı

Tümör Evresi	Tanı anındaki hasta (%)	5 yıllık yaşam (%)
Evre I	37	83-90
Evre II	8	65-71
Evre III	44	
Evre III A	3	47
Evre III B	5	42
Evre III C	36	33
Evre IV	11	19

Prognozu iyileştirmek için hastaları erken evrelerde yakalamak gerekir. Tarama programları bu devrede işe yarayabilir. Dünya Sağlık Örgütü'nün tarama kriterleri tablo 2.4'de gösterilmiştir (4).

Tablo 2.4. Dünya Sağlık Örgütü'nün tarama kriterleri

Mortalitenin majör sebeplerinden biri olmalı ve popülasyonda prevelansı yüksek olmalı
Gizli dönemden aşikar hastalığa kadar hastalığın bütün özellikleri iyi karakterize edilebilmeli
Hastalığın erken dönemdeki tedavisi sonuçları etkilemeli
Tarama testi topluma uygulanabilir olmalı
Aşikar hastalığın efektif tedavisi olmalı
Tanı ve tedavi yöntemleri uygulanabilir olmalı
Klinik uygulamalar arasında fikir birliği olmalı
Tarama testi maliyet açısından efektif olmalı
Tarama testi yüksek sensitivite, spesifisite, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer içermelidir.

Over kanserinin preklinik dönemi semptomları belirgin olmadığı için süresi hakkında bilgimiz sınırlıdır. Ovaryen müsinöz ve seröz kistadenokarsinomlarda benignden borderline veya malign epitelyal histolojik geçiş ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu ile tanımlanmıştır. Benzer olarak endometriozisten endometrioid over karsinomuna geçiş tanımlanmıştır. Bu çalışmalara göre zaman

içinde bazı benign veya borderline epitelyal over tümörleri malign transformasyona uğrayabilirler. Bu tümörlerin hangi sıklıkla malign transformasyona uğrayabileceği bilinmemektedir. Teorik olarak özellikle postmenopozal kadınlarda premalign over tümörlerinin belirlenmesi ve ortadan kaldırılması ardından gelişebilecek over kanserlerini azaltabilir.

Günümüzde over kanserinin taranmasında transvajinal ultrasonografi ve serum CA125 düzeyi kullanılabilir.

2.5.1. Transvajinal Ultrasonografi:

Transvajinal ultrasonografinin Amerika Birleşik Devletleri'nde over kanserinin tespitinde ilk tarama testi olarak kullanımına 1987'de Kentucky Medical Center üniversitesinde başlandı. Transvajinal ultrasonografide boyut ve overlerdeki görünüm farklılıkları saptanmaya çalışılır. Transvajinal ultrasonografi ovaryen doku ve boyut değerlendirilmesinde transabdominal ultrasonografiye göre üstündür. Sağlıklı kadınları içeren çalışmalarda over boyutunun üst sınırı premenopozal kadınlarda 20 cm3, postmenopozal kadınlarda 10 cm3 tür (21). Boyuta ek olarak ovaryen kitlelerde morfolojinin de kullanımı benign kitlelerin malignden ayırımında fayda sağlar. Tablo 2.5'te morfolojik indeks görülmektedir.

Tablo 2.5. Over kanserinin ultrasonografik tanısı için morfolojik indeks

	Morfolojik indeks				
	0	**1**	**2**	**3**	**4**
Kist duvarı özelliği	<3mm kalınlık	>3mm kalınlık	Papiller projeksiyon (<3mm boyut)	Papiller projeksiyon (>3mm boyut)	solid kısmı fazla
Tümör volümü	<10 cm^3	10-50 cm^3	50-200 cm^3	200-500 cm^3	>500 cm^3
Septum özelliği	Septa yok	İnce septa (<3mm kalınlık)	Kalın septa (3-10mm kalınlık)	Solid alan (≥10mm kalınlık)	Solid kısmı fazla

Over boyutu, kist duvarı morfolojisi ve septa özelliği değerlendirilerek yapılan bir çalışmada over kanseri riski değerlendirilmiş ve malign benign ayırımında %100 sensitif, %83 spesifik olarak bulunmuştur (22). Fakat ultrasonografiyi yapanlar arasındaki önemli farklılıklar spesifisiteyi de önemli derecede düşürmektedir. Transvajinal ultrasonografi taramasının over kanserinde pozitif prediktif değeri sadece %9.4'tür. Bu yüzden tespit edilen her over kanseri için on adet benign over tümörü çıkarılmaktadır. Pozitif prediktif değeri arttırmak için ek testler geliştirmek gerekir. Malign lezyonlarda doppler ultrasonografide ovaryen kan akımının artması saptanabilir. Çeşitli çalışmalarda asemptomatik kadınlar over kanseri açısından ultrasonografi ile taranmıştır. Bir çalışmada 45 yaş üstü 5479 kadın abdominal ultrasonografi ile taranmıştır. 3 yıl boyunca 9 over kanseri (5'i evre 1) saptanmıştır. Fakat 317 yanlış pozitif sonuç vardır (23). Yapılan birçok geniş kapsamlı çalışmada over kanserinin erken tanısında ultrasonografinin tek başına yeterli olmadığı gösterilmiştir.

2.5.2. Tümör Belirteçleri:

Serum tümör belirteçleri over kanserinin erken tanısında kullanılabilir. Serum tümör belirteçlerinin ölçümü birçok yerde yapılabilir, belirli dönemlerde tekrar edilebilir, ve kişisel farklılık göstermez. Minimal invaziv bir yöntemdir ve ucuzdur. Bazı over kanserleri ile ilişkilendirilen tümör belirteçleri tablo 6'da görülmektedir.

Tablo 2.6. Over kanserinde serum belirteçleri

Tümör Histolojisi	Serum Belirteci
Epitelyal over kanseri	CA 125
Müsinöz kistadenokarsinom	CEA
Endodermal sinüs tümörü	AFP
Embriyonel hücreli karsinom	HCG,AFP
Koryokarsinom	HCG
Disgerminom	LDH-1,LDH-2
Granüloza hücreli tümör	İnhibin

2.5.2.1. Serum Ca 125:

Kanser antijen 125 (CA 125), monoklonal antikor OC 125 tarafından tanınan yüksek moleküler glikoprotein üzerindeki antijenik determinanttır. Tekrarlanan çabalara rağmen bu molekülü kodlayan tek gen klonlanamamıştır. CA 125 fetal amniyotik, çölomik epitelden (perikardium, plevra, peritonun mezotel hücreleri) ve müllerian (tubal, endometrial, endoservikal) epitelden salınır. CA 125 hücre içinde sentezlenir, lüminal yüzeye akümüle olur ve aktif olarak lümene sekrete edilir (24). Peritoneal ve mezotelyal değişiklikler serum CA 125 düzeyinde yükselmelere neden olur. CA 125 serum seviyesinin 35 U/ml'nin altında olması normal kabul edilir. CA 125 over kanseri hücrelerinde diğer hücrelerden daha yüksek konsantrasyonda bulunan bir proteindir. İlerlemiş evre over kanseri olan kadınların serumlarında % 80, normal kadınların serumlarında %1-3 yükselmiş olarak bulunur (25). Fakat CA 125'in tarama testi olarak kullanımı için bazı sınırlamalar vardır. Erken evre over kanserlerinin %50'sinden azında yükselmiş olarak bulunur (26-27). Aynı zamanda serum CA 125 yüksekliğinin over kanserinde spesifisitesi düşüktür. Birçok benign ve başka malign nedenlerden dolayı da yükselebilir. CA 125 düzeyini yükselten nedenler tablo 2.7'de görülmektedir.

Tablo 2.7. CA 125 seviyesini yükselten nedenler

BENİGN NEDENLER	MALİGN NEDENLER
Endometriozis	Meme kanseri
Miyomlar	Pankreas kanseri
Pelvik inflamatuar hastalıklar	Kolon kanseri
Hepatit	Akciğer kanseri
Gebelik	Endometrial kanser
Menstruasyon	
Peritonit	
Abdominal cerrahi	
Trofoblastik hastalık	
Pankreatit	
Pnömoni	
Siroz	

Malign olaylarda benignlere göre CA 125 düzeyi daha yüksek bulunabilmektedir. Menopoz ve histerektomi sonrası da CA 125 düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (24). 5550 kadından alınan örneklerle yapılan retrospektif bir çalışmada 175 kadında CA 125 yüksekliği bulunmuştur. Bu kadınların altısında, CA 125 düzeyi normal olanlardan üçünde over kanseri olduğu saptanmıştır. 50 yaş üstü kadınlarda spesifisitesi yüksekken (%98.5), 50 yaş altı kadınlarda düşmektedir (%94.5) (28).

9233 kadından alınan 33621 serum örneği ile yapılan retrospektif bir çalışmada tek artmış CA 125 düzeyinin preklinik over kanseri tanısındaki sensitivitesi % 62, tekrarlayan ölçümlerde artış saptandığında sensitivitesi %86 bulunmuştur (29).

Serum CA 125, postmenopozal kadınlarda ovarian papiller adenokarsinomu saptamada en iyi markır olarak belirlenmiştir. Premenopozal kadınlarda, seröz olmayan histolojilerde ve erken evre kanserde iyi bir belirteç değildir (30).

2.5.3. Testlerin Kombine Olarak Kullanımı:

Birden fazla tanı testinin bir arada kullanımı over kanserinin erken tanısında sensitiviteyi ve spesifisiteyi arttırabilir. CA 125 değeri ile transvajiinal ultrasonografinin birleştirilmesi yada seri CA 125 düzeyi ölçümleri pozitif ve negatif prediktif değerleri arttıracaktır.

34671 sağlıklı 55 ile 74 yaşları arasında yapılan bir çalışmada, kadınlara CA 125 düzeyi ve transvajinal ultrasonografi bakılmıştır. 35 u/ml'den yüksek CA 125 düzeyi olan veya transvajinal ultrasonografide anormal ovaryen volüm ya da papiller projeksiyonlu, solid komponentli kisti olanlar belirlenmiş. 4 yıllık taramada 3388 kadında bu bulgular saptanmış. Bu kadınların 1170 (%34.5)'ine ooforektomi uygulanmış. Cerrahi uygulanan kadınların 60 (%5.1)'ında over kanseri tespit edilmiş, bu tümörlerin %72'si evre 3-4 olarak saptanmış. Tarama periyodu boyunca 29 over kanseri tanımlanmış. Pozitif tarama testinin pozitif prediktif değeri %1.0 ile 1.3 arasındadır (31). Over kanseri taramasında CA 125, Transvajinal ultrasonografi ve her ikisinin kombinasyonunun spesifisiteleri ve sensitiviteleri tablo 2.8'de görülmektedir.

Tablo 2.8. Over kanserinin tarama seçeneklerinin özeti

Tarama modalitesi	Evre	Sensitivite,%	Spesifite,%	Pozitif prediktif değer,%	Negatif prediktif değer,%
CA 125	Erken evre	50-62	95	57	70.6
	Geç evre	90			
Ultrason	Tüm evreler	96.8	77	29.4	99.6
Doppler USG	Tüm evreler	98	87	94	95
USG, CA125'in kombinasyonu	Tüm evreler	78	99.9	20.7-26.8	99.9

2.6. Over Kanseri Tanısında Yeni Tümör Belirteçlerinin Kullanılması:

Over kanserinin tanısında CA 125'in kullanımının yetersiz olması araştırmacıları yeni tümör belirteçleri bulmaya yöneltmektedir. Kanser hücrelerinden salınımı diğer hücrelerden farklı olan bazı proteinler üzerinde çalışılmıştır. CA 19-9, lizofosfotidikasit, leptin, prolaktin, osteopontin, insülin like growth faktör 2 gibi çeşitli tümör belirteçleri üzerinde çalışılmış fakat klinik olarak faydası gösterilememiştir (32-33). Over kanserinin erken tanısı için proteomics tecnolojisi ile birçok protein tespit edilmiştir. Proteomics (proteom bilimi) hücrelerdeki protein içeriği ile uğraşan bir teknolojidir. Proteomlar dinamiktir ve DNA değişimleri, mRNA eklenmesi, post translasyonel modifikasyonlar, gen ekspresyonunun temporal ve fonksiyonel regülasyonu gibi birçok faktörün sonuçlarından hızlıca etkilenirler. Proteomic teknolojisi hastalık boyunca protein seviyelerindeki değişiklikleri tanımlamayı sağlar. Alınan örnekten protein ayırımını sağlamak için 2 boyutlu jel elektroforez, jelsiz kitle spektrometriler olan MALDİ-TOF (matrix-assisted laser-desorption/ionization time of flight) ve SELDİ-TOF (surface-enhanced laser-desorption/ionization time of flight) kullanılır.

2.6.1. İki Boyutlu Jel Elektroforez:

İki boyutlu jel elektroforez proteomic çalışmalarında proteinlerin ayırımı için 1975'ten beri kullanılmıştır. 3000-10,000 protein ve peptidi ayırabilir. Peptid ve proteinleri ilk boyutta değiştirerek ikinci boyutta boyutlandırarak ayırır. Geçmişteki çalışmalarda kardiak hastalıklar, akciğer hastalıkları, kanser, romatoid hastalıkları belirlemek için kullanılan birçok belirteci tespit etmek için kullanılmıştır (34). İki boyutlu jel elektroforez efektif olmasına karşın, yavaş olması, iş yükünün fazla olması, büyük proteinlerde sensitivitesinin düşük olması gibi sınırlamalara sahiptir (5).

2.6.2. MALDİ/SELDİ-TOF Kitle Spektrometri:

Kitle spektrometri (MS) eksprese edilen düşük molekül ağırlıklı proteinlerin tanımlanması için geliştirilen kromatografik ayırma prosedürüdür. MALDİ/SELDİ-TOF MS serumdaki yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin ayırımını sağlayan proteomic analitik araçlardan biridir. 5-25 mikrolitre serum protein bağlayıcı çipin üzerine konulur, ayrılma işlemi yapılır (3,35). Bu yöntemle kompleks örneklerden küçük protein ve peptitler görüntülenebilir. Yüksek rezolüsyonlu SELDİ-TOF 400,000 üzerinde peptid ve proteini küçük volümlü örneklerden ayırabilir (36). Materyalin miktarı, geniş skala ile çalışabilme, daha kısa zaman MALDİ/SELDİ-TOF'u iki boyutlu kromotografiden üstün kılmaktadır.

2.7. Yeni Tümör Belirteçleri:

Over kanserinin tanısında proteomic teknolojisi ile birçok protein tespit edilmiştir. Bunlardan bazıları apolipoprotein A1, prealbumin(transtretin), inter-α-tripsin inhibitör hafif zincir H_4, haptoglobin, beta-hemoglobin, transferin, α1-asit glikoprotein, α1-antikemotripsindir. Over kanserinde bu proteinlerden bazılarının miktarları artarken bazılarının azaldığı gösterilmiştir.

2.7.1. Transferin:

Glikoprotein olan ve serum elektroforezinde β fraksiyonunda yer alan transferin başlıca karaciğerde ve daha az olmak üzere retiküloendotelyal sistem, testis ve overlerde sentezlenmektedir. Tek bir polipeptid zincirinden meydana gelen bu molekül demir, çinko, bakır, kobalt ve kalsiyumu geri dönüşümlü olarak bağlayabilmektedir. Negatif akut faz reaktanıdır. Beslenme bozukluklarında böbrek ve gastrointestinal sistem ile kayıpların arttığı durumlarda, karaciğer yetmezliğinde ve kronik karaciğer hastalıklarında transferin düzeyi azalmaktadır. Östrojen miktarının arttığı durumlarda arttığı için hamilelikte artar. Transferin geni 77-80 kDa protein kodlar ve over kanserli hastaların serumunda azalmıştır.

2.7.2. Apolipoprotein A1:

Lipoprotein metabolizmasında yer alan enzimlerin aktivatörü veya koenzimi olarak rol alırlar. Temel olarak HDL'nin yapısında yer alır. Periferal hücrelerden kolesterol ve fosfolipid salınımı ve karaciğere taşınmasında görev alır. Anti-aterojenik özelliğine ek olarak anti inflamatuar ve antioksidan özelliği de vardır (37). Lipid transportu, oksidatif stres, inflamasyon kanser oluşumunda ve progresyonunda etkili olduğundan, over kanserli hastalarda apolipoprotein A1 düzeyi azalabilir. Ayrıca apolipoprotein A1 over kanserinde anti-tümörojenik etkili olabilir. Apolipoprotein A1'in etki mekanizması, proinflamatuar fosfolipidleri bağlama özelliğinin olmasıdır (38). Bu özelliğinden dolayı Apo A1 mimetik peptitler over kanserli farelerde kullanılmış ve tümör gelişiminde inhibisyon sağlamıştır (39).

Mayo klinikte yapılan bir çalışmada 42 over kanserli, 65 benign tümörlü, 76 kontrol grubu kadından tanı sonrası tedavi öncesi kan örnekleri alınmış, SELDİ-TOF MS ile transtretin ve apolipoprotein A1 çalışılmıştır. Transtretinin over kanserinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır. Sadece apolipoproteinin ve transtretinin spesifitesi yüksek (%96.5), fakat sensitivitesi düşüktür (%52.4). CA 125 eklendiğinde sensitivitesi yükselmektedir (%78.6) (41). Ayrıca başka bir çalışmada over kanserli hastalarda transtretin, beta-hemoglobin, apolipoprotein A1, transferin SELDİ-TOF MS'de pik yapmıştır. Bu proteinlerin CA

125 ile kombine edilmesinin over kanserinin erken tanısında anlamlı olabileceği belirtilmektedir (42). Zhen Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 42 over kanserli hastada apolipoprotein A1 ve transtretin düzeyinde azalma saptanırken inter alfatripsin inhibitör hafif zincir H4 (ITIH4) düzeyinde artış saptanmıştır (43). Johns Hopkins Üniversitesinde yapılan başka bir çalışmada da 41 sağlıklı kadın, 41 geç evre over kanserli kadın, 20 meme, 20 kolon, 20 prostat kanseri olan hastada transtretin ve ITIH4 SELDI-TOF kitle spektrometrisinde çalışılmıştır. Over kanserinde kontrol grubuna göre serumda transtretin düzeyi daha düşük çıkarken, ITIH4 düzeyi daha yüksek bulunmuştur (44).

Ayrıca over kanserinde tümör belirteci olarak hemoglobin-α, hemoglobin-β, haptoglobin-α, apolipoprotein A2, apolipoprotein B, HDL trigliseritler, total kolesterol, α1-asit glikoprotein, α1-antikimotripsin, IgG hafif zincir de çalışılmıştır (45-50).

Bazı çalışmalarda da over kanserli hastaların tümör doku örneği çalışılmıştır. Xiu-Qin Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ovaryen seröz kistadenokarsinoma dokusu ve normal over epiteli arasında 6 proteinin anlamlı olarak farklı sentezlendiği bulunmuştur (51). Yine başka bir çalışmada MALDİ-TOF da over kanser dokusunda farklı sentezlenen birçok protein bulunmuştur (52).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na 2007-2010 yılları arasında başvuran 20 over kanseri, 21 benign adneksiyel kitlesi olan ve 21 ovaryen patolojisi olmayan hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

3.1. Olgu Seçimi ve Kan Örneklerinin Toplanması:

Over kanseri olan hastalar adneksiyel kitle ve beraberinde CA 125 yüksekliği, asit bulgularının birkaçı ile başvuran, operasyon sonrası patoloji ile kesin over kanseri tanısı konulan hastalardır. Aynı bulgularla başvuran, opere edilip patolojik tanısı benign gelen hastalardan over kanserlilerle karşılaştırmak için ayrı bir grup oluşturulmuştur. Kontrol grubu ise ovaryen patolojisi olmayan, başka endikasyonla total abdominal histerektomi+ bilateral salphingoooforektomi yapılan hastalardır. Daha önce kemoterapi alan, adneksiyel kitle nedeniyle opere olan, kan örneği verdiği dönemde belirlenmiş enfeksiyonu olan, kronik inflamatuar hastalığı olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Hastalardan operasyon öncesi 7-8 cc EDTA'lı tüpe venöz kan örneği alınıp 3000 devirde 10-15 dk santrifüj edildikten sonra elde edilen plazmalar -80 C de saklandı. Toplanan plazma örneklerinden Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsünde Western blot tekniği ile apolipoprotein A1, transferrin oranları belirlendi.

Hastaların operasyon öncesi CA 125 düzeylerine bakıldı. Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların postoperatif histopatolojileri belirlendi.

Tüm hastalar çalışma hakkında bilgilendirilerek, çalışmaya dahil edildiklerine dair yazılı bilgilendirilmiş onamları alındı. Çalışma için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındı.

Çalışma için gerekli olan ödenek Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi ve Türk Alman Jinekoloji Eğitim, Araştırma ve Hizmet Vakfı tarafından karşılandı.

3.2. Western Blot Yöntemi:

Proteinler western blot yöntemi ile belirlendi. Western blot yöntemi, herhangi bir örnekten elde edilen ve çok sayıda protein içeren bir karışımın içinde istenen tek bir proteini özgün bir şekilde saptamak için moleküler biyolojide en yaygın olarak kullanılır. Bu şekilde ilgilenilen bir proteinin örnekte bulunup bulunmadığı ve bulunuyorsa göreceli olarak (yarı kantitatif) farklı gruplar arasındaki miktarı hesaplanabilir. Uygulanan protokol ve kullanılan boyaya göre değişmekle birlikte, bu yöntemle membran üzerinde bulunan 5 ng gibi az miktardaki proteinler dahi tespit edilebilir. Western blot işlemi birbirini takip edecek şekilde, proteinlerin membrana aktarımı, bloklama, birincil antikor uygulanması, ikincil antikor uygulanması ve görüntüleme olmak üzere temel olarak beş basamaktan oluşur.

SDS-PAGE (sodyum dodesil sülfat poliakrilamit jel elektroforezi) işlemi uygulanarak molekül ağırlıklarına göre ön ayırma işlemi yapıldı. Belirlenen proteinden eşit miktarda (0,1-30 µg) yarı kuru elektro emdirim ile PVDF (polivinildin diflorür) membrana aktarıldı. % 5 BSA (sığır serum albumini) ile bloklama yapıldı. Bloklama işleminde amaç membrana aktarılan proteinlerin dışındaki boşlukların kapatılmasıdır. Bu sayede yine protein yapısında olan antikorların membranın boş kısımlarına bağlanması en aza indirgenmiş olur ve proteinlere bağlanma oranı da en üst seviyeye çıkarılır. Human apolipoprotein A1 antibody MA1-83002, human transferrin antibody PA1-21594, B aktin kontrol antikoru 4967 birincil antikorlar olarak kullanıldı. Aktin ve transferin için anti rabbit IgG HRP 2ml 31460 ikincil antikor olarak kullanılırken apolipoprotein A1 için anti mouse IgG HRP 31430 kullanıldı. Son olarak membranlar görüntülendi.

3.3. Değerlendirme:

Üç grup arasında apolipoprotein A1 ve transferin düzeyleri açısından standardizasyonu sağlamak için bütün hastalarda aktin antikoru çalışıldı. Western blot analizlerinde kantitatif olarak karşılaştırma yapabilmek için, ifadesi değişmeyen bir protein olarak B aktin izoformunu kullanıldı. Aktin, hücreler arasında minimal farklılık gosteren evrimsel açıdan yüksek derecede korunmuş bir gen ürünü olan bağ

doku elemanıdır. Tüm bu nedenlerden ötürü yükleme kontrolü olarak western blot analizlerinde tercih edilmektedir. Western blot yöntemi ile elde edilen apolipoprotein A1, transferin ve aktin görüntüleri image J programı ile sayısal değere çevrildi. Bu işlem esnasında membran üzerindeki her görüntüden üç değer alınarak ortalamaları bulundu. Apolipoprotein A1 ve transferin değerleri aktin değerlerine oranlanarak, üç grup arasındaki farklılık saptanmaya çalışıldı.

3.4. İstatistik:

Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro-Wilk normallik testi ile sınandı. Sürekli ölçüm değerleri olan yaş, transferin, apolipoprotein A1 ve CA 125 değişkenlerinin gruplar arasında farklılığının araştırılması için parametrik olmayan Kruskal-Wallis analizi uygulandı. Gruplar arasında fark anlamlı bulunduğunda farklılığı yaratan grubun belirlenmesi amacıyla parametrik olmayan çoklu karşılaştırma testi uygulandı. Üzerinde durulan değişkenlerin iki grup arasında farklılıklarının değerlendirilmesinde Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin dağılımları arasındaki farklılıkların araştırılmasında Ki-Kare analizi uygulandı. Sürekli ölçüm değerleri için tanımlayıcı istatistikler olarak ortanca-min-max, kategorik değişkenlerin özetlenmesinde ise yüzde değerleri kullanıldı. Analizler SPSS 15 paket programı ile gerçekleştirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak P= 0,05 kullanıldı. Sensitivite ve spesifite için cut off değerler ROC eğrisi ve Youden analizi ile belirlendi.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 62 hastanın ortalama yaşı 54,11 yıl (22-84 yıl) idi. Gruplar arası yaş açısından anlamlı fark saptanmadı (P= 0,703). Tüm hastaların yaş dağılımı tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışmaya alınan hastaların dağılımı

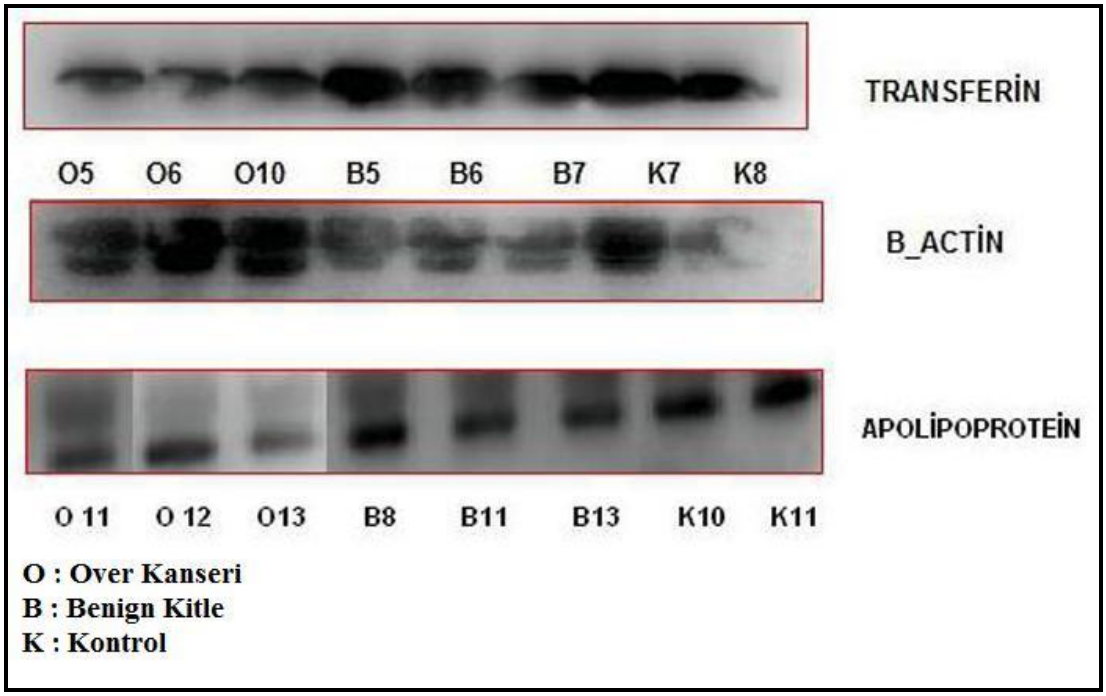
Olgu Tipi	Hasta Sayısı	Ortalama yaş	SD	Median(min-max)
İleri Evre Over Ca	12	59,0	10,86	59,5(42-80)
Erken Evre Over Ca	8	51,4	10,27	48,5(38-65)
Benign Kitle	21	53,8	18,26	53(22-84)
Kontrol	21	52,7	9,6	50(40-73)
Toplam	62	54,11	13,39	52(22-84)

İleri evre (evre 3-4) over kanseri olan hastaların patolojileri 1 endometrioid, 1 şeffaf hücreli, 10 seröz papiller adenokarsinom olarak belirlenirken erken evre (evre 1-2)'nin patolojileri 2 şeffaf hücreli, 6 seröz papiller adenokarsinom olarak belirlendi. Benign kitlelerin patolojileri 4 seröz kistadenom, 3 seröz kistadenofibrom, 3 hemorajik seröz kist, 3 fibrotekoma, 4 tekoma, 3 endometrioma, 1 dermoid kist olarak belirlendi. Kontrol grubundaki hastaların patolojileri ise 2 endometrial polip, 3 atrofik endometrium, 16 myoma uteri olarak geldi.

Over kanseri grubunda transferin oranı median (min- max) 0,67 (0,32- 1,21) iken, benign kitle grubunda 1,19 (0,3- 3,24), kontrol grubunda ise 1,24 (0,85- 4,62) olarak belirlendi. Apolipoprotein A1 oranları over kanserinde 0,4 (0,09-0,63), benign kitlede 0,52 (0,17-3,16), kontrol grubunda ise 0,54 (0,12- 4,89) olarak belirlendi. Over kanseri, benign kitle, kontrol grubu olarak üç grup karşılaştırıldığında transferin, apolipoprotein A1 ve CA 125 düzeyleri arasında anlamlı fark bulundu ($p< 0,05$) (Tablo 4.2), (Şekil 4.1).

Tablo 4.2. Transferin ve apolipoprotein A1 ve CA 125 düzeyleri

		Over kanseri	Benign kitle	Kontrol	P
Transferin	ortalama± SD	0,7± 0,24	1,33± 0,76	1,68± 0,99	**0,001**
	Median (min-max)	0,67 (0,32- 1,21)	1,19 (0,3-3,24)	1,24 (0,85-4,62)	
Apo A1	ortalama± SD	0,37± 0,17	0,81± 0,78	0,86± 1,09	**0,013**
	Median (min-max)	0,4 (0,09-0,63)	0,52 0,17-3,16)	0,54 (0,12-4,89)	
CA 125	ortalama± SD	710,6± 1123,2	46,86± 75,16	24,76±19,14	**0,001**
	Median (min-max)	233 (14-4539)	19 (5-273)	21 (6-82)	



Şekil 4.1. Her gruptan birkaç hastanın membranda transferin, Apo A1 ve B-aktin görüntüleri

Gruplar ikili olarak karşılaştırıldığında transferin oranı için, over kanseri ile benign kitle arasında ve over kanseri ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanırken ($p< 0,05$), benign kitle ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Apolipoprotein A1 oranı için, over kanseri ile benign kitle arasında ve over kanseri ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanırken ($p< 0,05$), benign kitle ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). CA 125 düzeyi için, over kanseri ile benign kitle arasında ve over kanseri ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanırken ($p< 0,05$), benign kitle ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. İkili karşılaştırmada Transferin ve Apo A1 ve CA 125'in P değerleri

	Transferin	**Apo A1**	**CA 125**
	P	**P**	**P**
Over Kanseri- Benign Kitle	0,001	0,005	0,001
Over Kanseri- Kontrol	0,001	0,017	0,001
Benign Kitle- Kontrol	0,088	0,650	0,970

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların CA 125 düzeylerine bakıldı. 35 U/ml'nin üzeri yüksek olarak kabul edildi. Over kanseri grubundaki hastaların %15,0'ının, benign kitlede %76,2'sinin, kontrol grubunda ise %81,0'ının CA 125 düzeyleri düşüktü (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Gruplardaki düşük ve yüksek CA125 yüzdeleri ve hasta sayıları

	CA 125			
	<= 35 U/ml		**>35,1 U/mCal**	
	n	**%**	**n**	**%**
Over Kanseri	3	%15,0	17	%85,0
Benign Kitle	16	%76,2	5	%23,8
Kontrol	17	%81,0	4	%19,0

CA 125 düzeyi düşük olanlarda gruplar arası transferin ve apolipoprotein A1 oranında anlamlı fark saptanmadı (p>0,05). CA125 düzeyi yüksek olanlarda gruplar arası transferin oranında anlamlı fark saptanırken (p<0,05), Apo A1 oranında anlamlı fark saptanmadı (p>0,05) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. CA 125 düzeyine göre grupların transferin ve Apo A1 oranlarının karşılaştırılması

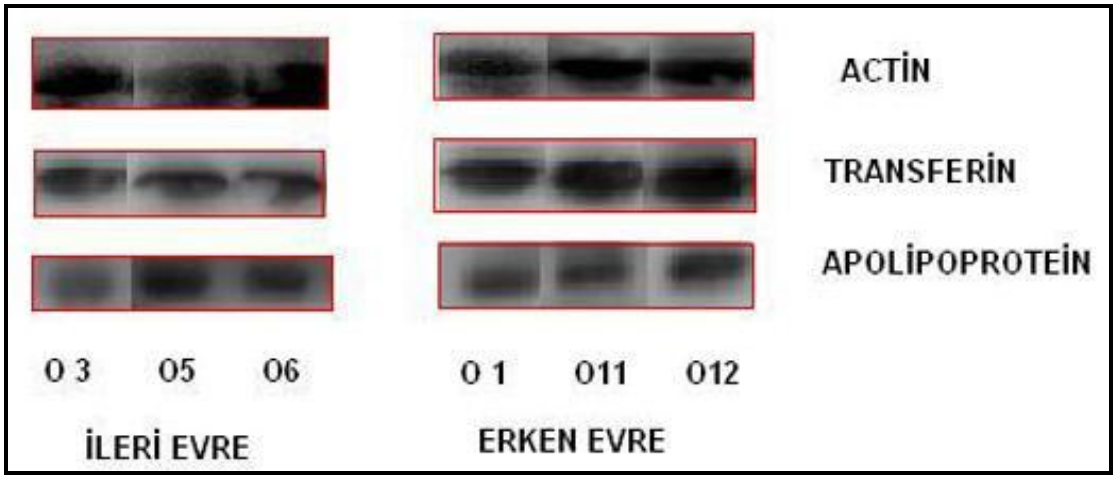
CA 125 düzeyi (U/ml)	Transferin	Apolipoprotein A1
	P	P
<=35	0,309	0,674
>35,1	**0,001**	0,063

Çalışmaya dahil edilen hastalar CA 125 düzeyi düşük ve yüksek olarak iki gruba ayrıldığında, transferin oranı arasında anlamlı fark saptanırken (p<0,05), apolipoprotein A1 oranı arasında anlamlı fark saptanmadı (p>0,05) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. CA125 düzeylerine göre transferin ve Apo A1 oranları ve P değerleri

		Transferin		Apolipoprotein A1	
CA125(U/ml)	**n**	ortalama± SD	Median(min-max)	ortalama± SD	Median(min-max)
<=35	36	1,47±0,94	1,19 (0,3- 4,6)	0,8± 0,94	0,52 (0,16- 4,89)
>35,1	26	0,93± 0,53	0,74 (0,32- 2,46)	0,51± 0,52	0,43 (0,09-2,82)
P		**0,002**		0,084	

Over kanseri olan hastalar erken evre (evre 1-2) ve ileri evre (evre 3-4) olarak ayrıldığında transferin ve apolipoprotein A1 oranları arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Şekil 4.2). İleri evre over kanserinde CA 125 düzeyi anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4.7).



Şekil 4.2. Erken ve ileri over kanserinde transferin, Apo A1, B-aktin görüntüleri

Tablo 4.7. Kanser evresine göre transferin ve Apo A1 oranları ve CA 125 değerleri

		Erken n: 8	**İleri n: 12**	**P**
Transferin	ortalama± SD	0,67±0,26	0,73± 0,24	0,910
	Median (min-max)	0,61 (0,38- 1,21)	0,73 (0,32- 1,18)	
Apo A1	ortalama± SD	0,39± 0,17	0,35± 0,18	0,624
	Median (min-max)	0,4 (0,14- 0,63)	0,39 (0,09-0,61)	
CA 125	ortalama± SD	122,6± 89,2	1102,6± 1324,6	**0,025**
	Median (min-max)	103 (29-296)	569 (14-4539)	

Bu çalışmaya dahil edilen bütün hastaları <= 50 yaş ve >50 yaş olarak iki gruba ayırdığımızda transferin, apolipoprotein A1 oranları ve CA 125 düzeyi arasında anlamlı fark bulunmadı (p>0,05) (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Yaşa göre transferin ve Apo A1 oranları ve CA 125 düzeyi

		<= 50 yaş n: 29	**>50 yaş n: 33**	**P**
Transferin	ortalama± SD	1,38± 0,81	1,13± 0,85	0,096
	Median (min-max)	1,13 (0,58- 3,35)	0,88 (0,3- 4,42)	
Apo A1	ortalama± SD	0,74± 0,82	0,63± 0,8	0,631
	Median (min-max)	0,46 (0,09-3,16)	0,51 (0,12-4,9)	
CA 125	ortalama± SD	64,66± 89,54	46,86± 75,16	0,805
	Median (min-max)	26 (6-412)	29 (5-4539)	

Over kanseri hastalarını <= 50 yaş ve >50 yaş olarak iki gruba ayırdığımızda transferin ve apolipoprotein A1 oranlarında iki grup arasında anlamlı fark bulunmazken (p>0,05), CA 125 düzeylerinde iki grup arası anlamlı fark bulundu (p<0,05). CA 125 düzeyi >50 yaş hastalarda daha yüksek olarak bulundu (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Over kanserinde yaşa göre tansferin ve Apo A1 oranları ve CA 125 düzeyi

		<= 50 yaş n: 8	**>50 yaş n: 12**	**P**
Transferin	ortalama± SD	0,71± 0,2	0,7± 0,28	0,678
	Median (min-max)	0,61 (0,58- 1,17)	0,73 (0,32- 1,21)	
Apo A1	ortalama± SD	0,32± 0,18	0,4± 0,17	0,427
	Median (min-max)	0,33 (0,09-0,58)	0,42 (0,13-0,63)	
CA 125	ortalama± SD	130,75± 122,8	1097,17± 1327,4	**0,020**
	Median (min-max)	90 (35-412)	569 (14-4539)	

Over kanseri olan hastalar histolojik tipe göre ayrıldığında transferin, apolipoprotein A1 oranları ve CA 125 düzeyleri arasında histolojik tipler arasında anlamlı fark bulunmadı (p>0,05) (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Over kanserinde histolojik tipe göre transferin ve Apo A1 oranları ve CA 125 düzeyleri

		Seröz papiller	**Şeffaf hücreli**	**Endometrioid**	
		n: 16	**n: 3**	**n: 1**	**P**
Transferin	ortalama± SD	0,73± 0,26	0,58± 0,16	0,72	0,729
	Median	0,67	0,58	0,72	
	(min-max)	(0,32- 1,21)	(0,42- 0,75)	(0,72-0,72)	
Apo A1	ortalama± SD	0,41± 0,16	0,18± 0,04	0,16	0,076
	Median	0,43	0,18	0,16	
	(min-max)	(0,09-0,63)	(0,14-0,21)	(0,16-0,16)	
CA 125	ortalama± SD	857,9± 1216,3	157± 123	14	0,146
	Median	457	113	14	
	(min-max)	(29-4539)	(62-296)	(14-14)	

Over kanseri belirlemede transferinin sensitivitesi ve spesifitesi %85 olarak bulunurken, Apo A1'in sensitivitesi %75, spesifitesi %64 olarak bulundu (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. Transferin ve Apo A1'in cut off değerleri, sensitivite, spesifite ve güven aralığı

	Transferin	**Apo A1**
Sensitivite(güven aralığı)	%85 (%64- %95)	%75 (%53-%89)
Spesifite(güven aralığı)	%85 (%72- %93)	%64 (%49- %77)
Cut off değeri	0,82	0,48

5. TARTIŞMA

Son zamanlarda proteomics teknolojisi ile kanser tanısında kullanılabilecek birçok protein tanımlanmıştır. Over, meme, kolon, prostat kanseri gibi kanserlerde çalışılmıştır. Over kanserinde erken tanı için yeterli belirteç olmadığından, over kanseri proteomics çalışmaları içinde önemli bir yeri almıştır.

Şüpheli adneksiyel kitle ile başvuran hastalarda CA 125 benign- malign ayırımında yeterli olamamaktadır. Bunun için benign- malign ayırımında CA 125'e ek olarak yeni proteinlere ihtiyaç vardır. Bu çalışmada daha önce proteomics teknolojisi ile tanımlanan transferin ve apolipoprotein A1'in over kanserindeki değişimi araştırılarak şüpheli adneksiyel kitle ayırımında yol gösterici olması beklenmektedir.

Bu çalışmada over kanserinde serumda transferin oranı benign kitlesi olanlara ve sağlıklı kişilere göre daha düşük olarak saptandı. Benign kitlesi olanlarda transferin oranı sağlıklı kişilerle benzer olarak saptandı. Yine over kanserinde serumda apolipoprotein A1 oranı benign kitlesi olanlara ve sağlıklı kişilere göre daha düşük olarak saptandı. Benign kitlesi olanlarda apolipoprotein A1 oranı sağlıklı kişilerle benzer olarak saptandı. CA 125 düzeyi ise over kanserinde, benign kitlesi olan ve sağlıklı kişilere göre anlamlı olarak yüksek saptandı. Benign kitlesi olanların CA 125 düzeyi ise sağlıklı kişilerle benzer olarak saptandı (Tablo 4.2, 4.3).

Kanser hastalarında benign kitlesi olan hastalara göre farklı olduğu için serum transferin ve apolipoprotein A1 düzeyleri over kanserinin tanı ve taramasına katkı sağlayabilir. Serum CA 125 düzeyi benign kitlelerde de yükselerek benign- malign ayırımını yapmada güçlüğe neden olmaktadır. Bu nedenle tümör belirteci olarak sadece CA 125 yerine, transferin ve apolipoprotein A1 ile birlikte kullanımı over kanserini saptama oranını arttıracaktır.

Birçok çalışmada SELDİ-TOF ve MALDİ-TOF kitle spektrometrisi kullanılarak transferin 79 kDa'da saptanırken (42), apolipoprotein A1 28 kDa'da saptanmıştır (41, 42, 43). Kozak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SELDİ-TOF

kitle spektrometrisinde transferin ve apolipoprotein A1'de pik saptanmış, western blot analizinde transferin over kanserli hastalarda düşük seviyede saptanırken, apolipoprotein A1'de anlamlı farklılık saptanmamıştır (42). Fakat Zhang ve arkadaşlarının çalışmasında apolipoprotein A1 düzeyine elisa ile bakılmış ve over kanserli hastalarda sağlıklı kişilere göre anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır (43). Bizim çalışmamız da bu çalışmayı desteklemektedir.

Goufman ve arkadaşlarının çalışmasında MALDİ-TOF ve iki boyutlu elektroforez kombine edilmiş over, uterus, meme kanserleri ve benign ovariyen kitlede çeşitli protein pikleri (α-1 asit glikoprotein, transtretin, apolipoprotein A1, haptoglobulin α) saptanmıştır. Bu proteinlerden apolipoprotein A1 bizim çalışmamızdaki gibi over kanserinde düşük tespit edilmiştir (53). Godomska ve arkadaşları ise over kanserinde serum lipid seviyelerini araştırmış, apolipoprotein A1 düzeyini malign over tümöründe sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük saptarken, benign tümöre göre anlamlı farklılık saptamamıştır (49). Bizim çalışmamızda over kanseri ve benign kitle arasında apolipoprotein A1 oranlarında anlamlı farklılık saptadık.

Nosov ve arkadaşlarının çalışmasında 90 erken evre, 96 ileri evre over kanseri, 79 benign kitle ve 93 kontrol grubu sağlıklı hastada elisa ile serum transferin, apolipoprotein A1, transtretin ve CA 125 düzeylerine bakılmıştır. Benign grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında transferin ve CA 125 düzeyleri anlamlı olarak farklı bulunmuştur. Erken evre over kanseri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında transferin ve CA 125 düzeyleri anlamlı olarak farklı bulunmuştur. İleri evre over kanseri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise Apolipoprotein A1, transferin ve CA 125 düzeyleri anlamlı olarak farklı bulunmuştur (54). Bizim çalışmamızın sonuçları da bu çalışmayı desteklemektedir. Fakat bizim çalışmamızda hasta sayısı daha az olduğu için erken ve ileri evre over kanserini ayrı ayrı diğer gruplarla karşılaştıramadık.

Bu çalışma, daha önce SELDİ-TOF ve MALDİ-TOF kitle spektrometride over kanseri hastalarında farklı pik saptanan proteinlerden transferin ve apolipoprotein A1'in serumdaki değişimini doğrulamak için yapıldı. Biz de birçok çalışmada olduğu gibi serumdaki değişimleri saptamak için western blot analizini kullandık. Fakat diğer çalışmalardan farklı olarak western blot analizinde aktin

proteinini de çalışarak ve transferin ve apolipoprotein aktine oranlanarak hastalar arasında bir standardizasyon sağlandı. Dolayısıyla setler arası farklılık ortadan kaldırılmış oldu.

Apolipoprotein A1 HDL'nin yapısında bulunur ve ateroskleroziste de miktarı düşer. Over kanserli hastalar genellikle aterosklerozisin yaygın olabileceği geç yaşlarda görüldüğünden apolipoprotein A1 miktarındaki düşüş sadece over kanserine bağlanmayabilir. Fakat çalışmamızda bütün gruplardaki hastaların yaş dağılımları benzer olduğundan bu faktörün etkisini azaltmış olmaktayız.

Transferin demiri +2 formu ile bağlayıp taşıyan proteindir. İflamasyonda, nefrozisde ve hemokromatozisde miktarı azalır. Bunun için over kanseri tanı ve taramasında transferin seviyesine bakarken hastalarda inflamasyon bulguları ve kronik hastalıklar iyi sorgulanmalıdır. Bizde çalışmaya dahil ettiğimiz hastaları bu açıdan sorgulayıp, olmayanları dahil ettik.

Bu çalışmada over kanseri olan hastaların %15'inde CA 125 düzeyi düşük saptandı (< 35U/ml). Tüm hastalar içinde CA 125 düzeyi düşük olanlar alındığında gruplar arası transferin ve apolipoprotein A1 oranlarında anlamlı farklılık saptanamadı. Benign kitlesi olan hastaların %23,8'inde CA 125 düzeyi yüksek çıktı. Tüm hastalar içinde CA 125 düzeyi yüksek çıkanlar alındığında gruplar arası transferin oranında anlamlı fark saptanırken, apolipoprotein A1 oranında anlamlı fark saptanmadı (tablo 4.4, 4.5). Yani CA 125 düzeyi yüksek olan bir hastada transferin düzeyine bakılması over kanseri tanısı için destekleyici olacaktır. Aslında CA 125 düzeyi düşük olanlarda gruplar arası anlamlı fark saptansaydı, over kanserinin taramasında transferin ve apolipoprotein A1 daha faydalı olabilirdi.

Çalışmaya dahil edilen hastaları grup ayırt etmeden CA 125 düzeyi düşük ve yüksek olarak karşılaştırdığımızda, transferin oranı CA 125 düzeyi yüksek olan grupta düşük bulunurken, apolipoprotein A1 oranları her iki grupta benzer bulundu (tablo 4.6). Bu da bize over kanserinin tanısında tümör belirteci olarak transferinin CA 125'e katkı sağlayabileceğini göstermektedir. Nosov ve arkadaşlarının çalışmasında apolipoprotein A1, transferin ve transtretinin erken evre over kanserindeki sensitivitesi ve spesifitesi %86 iken bu proteinler Ca 125 ile kullanıldığında sensitivite ve spesifite %96'ya çıkmıştır. İleri evre over kanserinde ise %94'den, %98'e çıkmıştır (54).

Bu çalışmada erken ve ileri evre over kanserleri arasında transferin ve apolipoprotein A1 oranlarında anlamlı farklılık saptanmadı. Erken evrede de transferin ve apolipoprotein A1 oranları düşük saptandı. CA 125 düzeyleri arasında ise erken ve ileri evrelerde farklılık saptandı. Ca 125 erken evrede ileri evreye göre daha düşük düzeyde bulundu (tablo 4.7). CA 125 erken evrede normal veya hafif yüksekken transferin ve apolipoprotein A1 düşebilir ve bu da tanıya katkı sağlayabilir. Çalışmaya dahil edilen hastalar yaşa göre incelendiğinde 50 yaş altı ve üstü hastalarda transferin ve apolipoprotein A1 oranlarının benzer olduğu görüldü. Bu da bize transferin ve apolipoprotein A1'in yaştan bağımsız proteinler olduğunu göstermektedir.

Over kanseri hastalar yaşa göre incelendiğinde 50 yaş altı ve üstü hastalarda transferin ve apolipoprotein A1 oranlarının benzer olduğu fakat 50 yaş üstü kadınlarda CA 125 düzeylerinin daha yüksek olduğu görüldü (tablo 4.9). Zaten over kanserinin tanısında CA 125'in 50 yaş üstü kadınlarda daha sensitif ve sfesifik olduğunu bilmekteyiz (28). 50 yaş altı şüpheli adneksiyel kitle ile gelen kadınlarda transferin ve apolipoprotein A1 düzeylerine bakılması CA 125'in sensitivitesini ve spesifitesini arttıracaktır. Zhang ve arkadaşları da 50 yaş altı ve üstü hastalarda apolipoprotein A1 düzeyini benzer bulurken, CA 125 düzeyini 50 yaş üstünde daha yüksek bulmuşlardır (43).

Over kanseri olan hastalar histolojik tiplerine göre incelendiğinde transferin, apolipoprotein A1, CA 125 düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı (tablo 4.10). CA 125 seröz papiller adenokarsinomun tanısında daha sensitif ve spesifik iken bizim çalışmamızda histolojiler arasında fark saptanmadı. Hasta sayısının az olması daha nadir görülen endometrioid ve şeffaf hücreli karsinom sayısının azalmasına ve etkili bir karşılaştırma yapılamamasına neden olmuş olabilir. Zhang ve arkadaşları da 172 over kanseri hastasında apolipoprotein A1 düzeyini histolojik tipler arasında farklı bulmamışlardır (43).

Transferinin over kanserindeki sensitivite ve spesifitesi CA 125'e yakınken, Apo A1'inki biraz daha düşüktür (tablo 4.11). Bu da bize bu testlerin tek başına değilde CA 125 ile kombine kullanılmasının over kanserini saptamada daha etkili olabileceğini göstermektedir.

6. SONUÇLAR

- Çalışmaya 20'si over kanseri, 21'i benign kitle, 21'i kontrol olan 62 hasta dahil edildi ve bu hastaların ortalama yaşı 54,11 (22-84) idi.
- Transferin oranı over kanserinde benign kitleden ve kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulundu. Transferin oranı benign kitle ve kontrol grubu arasında benzer bulundu.
- Apolipoprotein A1 oranı over kanserinde benign kitleden ve kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulundu. Apolipoprotein A1 oranı benign kitle ve kontrol grubu arasında benzer bulundu.
- CA 125 düzeyi düşük olan hastalarda üç grup arasında transferin ve apolipoprotein A1 oranı benzerdi.
- CA 125 düzeyi yüksek olan hastalarda üç grup arasında transferin oranı anlamlı olarak farklı bulunurken, apolipoprotein A1 oranı benzer bulundu.
- CA 125 düzeyi düşük ve yüksek tüm hastalar karşılaştırıldığında transferin oranı CA 125 düzeyi yüksek olan hastalarda anlamlı olarak daha düşük bulunurken, apolipoprotein A1 oranları arasında anlamlı fark bulunmadı.
- Erken ve ileri evre over kanseri hastaları arasında transferin ve apolipoprotein A1 oranları arasında anlamlı fark bulunmadı.
- 50 yaş altı ve üstü hastalarda transferin ve apolipoprotein A1 oranlarının benzer olduğu görüldü.
- Over kanseri hastalar yaşa göre incelendiğinde 50 yaş altı ve üstü hastalarda transferin ve apolipoprotein A1 oranlarının benzer olduğu fakat 50 yaş üstü kadınlarda CA 125 düzeylerinin daha yüksek olduğu görüldü.

- Over kanseri olan hastalar histolojik tiplerine göre incelendiğinde transferin, apolipoprotein A1, CA 125 düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı.

- Over kanserini saptamada transferinin sensitivitesi ve spesifitesi %85 iken, apolipoprotein A1'in sensitivitesi %75 spesifitesi %64 olarak bulundu.

- Şüpheli adneksiyel kitlelerin benign-malign ayırımında transferin ve apolipoprotein A1, CA 125 ve transvajinal ultrasonografiye katkı sağlıyacaktır.

- Over kanserinin erken tanısında ve mevcut tümör belirteçleri yeterli değildir. Yeni tümör belirteçlerine ihtiyaç vardır. Proteomic teknolojisi ile yeni tümör belirteçleri bulunmuştur. Bulunan tümör belirteçlerinin klinik kullanımı ile ilgili yeterli sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

- Hasta sayısının arttırılması ile erken evre over kanseri grubu genişletilebilir ve daha güvenilir sonuçlara ulaşılabilir.

7. ÖZET

Over Kanserinde Proteomics (Proteom Bilimi) Teknolojisi ile Bulunan Yeni Tümör Belirleyicilerinin Şüpheli Adneksiyel Kitlelerin Tanısında Kullanımı

Amaç: Bu çalışmada adneksiyel kitle nedeniyle başvuran hastalarda over kanserini benign ovarian tümörden ayırmak için proteomics teknolojisi ile saptanan yeni tümör belirteçlerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve over kanserinin tanısında yeni tümör belirteçlerinin kullanılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada 20 over kanseri, 21 benign ovarian tümörü olan ve 21 ovaryen patolojisi olmayan hasta değerlendirildi. Hastaların serum örneklerinden Western blot tekniği ile Apolipoprotein A1, Transferrin oranları belirlendi. Hastaların operasyon öncesi CA 125 düzeylerine bakıldı. Over kanserinde benign kitle ve ovaryen patolojisi olmayan gruba göre Apo A1 ve transferinin değişimi ve over kanserinde Apo A1 ve transferin oranının yaş, evre, CA 125 ve histolojik tipe göre değişimi araştırıldı.

Sonuçlar: Transferin ve Apo A1 oranları over kanserinde benign kitle ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunurken, benign kitle ve kontrol grubu arasında benzer bulundu. CA 125 düzeyine göre karşılaştırıldığında transferin oranı CA 125 düzeyi yüksek olanlarda daha düşükken, Apo A1 oranı benzer bulundu. CA 125 düzeyi düşük olanlarda transferin ve Apo A1 oranları gruplar arası benzerken, Ca 125 düzeyi yüksek olanlarda transferin over kanserinde düşük bulundu. Tüm hastalarda yaşa göre ve over kanserinde yaşa, evreye ve histolojik tipe göre karşılaştırıldığında transferin ve ApoA1 oranları benzer bulundu. Transferinin over kanserindeki sensitivitesi ve spesifisitesi %85 iken, Apo A1'in sensitivitesi %75, spesifisitesi %64 olarak bulundu.

Yorum: Transferin ve Apo A1 oranlarının over kanserinde düşük çıkıp, benign kitle ve kontrol grubunda benzer çıkması, bu proteinleri şüpheli adneksiyel kitlelerin tanısında kullanabileceğimizi göstermektedir. Sensitivite ve spesifisiteyi arttırmak için transferin ve Apo A1'i CA 125 ile birlikte kullanmak gerekir.

Anahtar Kelimeler: Transferin, Apolipoprotein A1, CA 125, Over kanseri, Proteomics.

8. SUMMARY

The Use of New Tumor Markers Detected by Proteomics (Proteome Sciences) Technology in the Diagnosis of Suspected Adnexial Masses and Ovarian Carcinoma

Objective: In this study we evaluated new tumor markers detected by proteomics (proteome sciences) technology to differentiate benign ovarian masses from ovarian carcinoma and used new tumor markers to identify ovarian carcinoma.

Methods: Twenty women with ovarian carcinoma, twenty-one woman with benign ovarian masses, twenty-one women with normal ovaries were included in this study. The levels of transferrin and apolipoprotein A1 were measured in serum samples with western blot analysis. The level of CA 125 was measured before operation. In ovarian carcinoma, according to age, stage, CA 125 level and histological type change of transferin and apolipoprotein A1 levels were investigated.

Results: Transferrin and apolipoprotein A1 levels were down-regulated in patients with ovarian carcinoma compared with benign ovarian mass and control groups. The differences in transferrin and Apo A1 levels between benign ovarian mass and control groups were not significant. Low transferrin level was observed in patients with high level of CA 125. In ovarian carcinoma, differences in transferrin and apo A1 levels were not significant in terms of age, stage and histological type. Transferrin sensitivity and specificity for detection of ovarian carcinoma were 85%, Apo A1 sensitivity and specificity for detection of ovarian carcinoma were %75 and %64.

Conclusions: Transferrin and apolipoprotein A1 can be used in the diagnosis of suspected adnexial masses. In case of combination with CA125, sensitivity and specificity will increase.

Keywords: Transferrin, Apolipoprotein A1, CA 125, Ovarian carcinoma, Proteomics.

9. KAYNAKLAR

1. Jones MB, Krutzsch H, Shu H, Zhao Y, Liotta LA, Kohn EC, Petricoin EF Proteomic analysis and identification of new biomarkers and therapeutic targets for invasive ovarian cancer. Proteomics. 2002 Jan;2:76-84.

2. Nossov V, Amneus M, Su F, Lang J, Janco JM, Reddy ST, Farias-Eisner R. The early detection of ovarian cancer: from traditional methods to proteomics. Can we really do better than serum CA-125? Am J Obstet Gynecol. 2008 Sep;199:215-223.

3. Petricoin EF, Liotta LA. Proteomic approaches in cancer risk and response assessment. Trends Mol Med. 2004 Feb;10:59-64.

4. Daniel L. Clarke-Pearson, M.D Screening for Ovarian Cancer. N Engl J Me 2009;361:170-177.

5. Petricoin EF, Ardekani AM, Hitt BA, Levine PJ, Fusaro VA, Steinberg SM, Mills GB, Simone C, Fishman DA, Kohn EC, Liotta LA. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. Lancet. 2002 Feb 16;359:572-577.

6. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. CA Cancer J Clin. 2009 Jul-Aug;59:225-249.

7. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin. 2010 Sep-Oct;60:277-300.

8. Monica R. McLemore, Christine Miaskowski, Bradley E. Aouizerat, Lee-may Chen, MD Marylin J. Dodd, RN, PhD, FAAN. Epidemiological and Genetic Factors Associated With Ovarian Cancer Cancer Nursing TM 2009; Vol. 32, No. 4.

9. Ries LAG, Young JL, Keel GE, Eisner MP, Lin YD, Horner M-J, eds. SEER Survival Monograph: Cancer Survival Among Adults: U.S. SEER Program, 1988-2001, Patient and Tumor Characteristics. National Cancer Institute, SEER Program: Bethesda, MD; 2007. NIH Publication No. 07-6215.

10. Riman T, Dickman PW, Nilsson S, Nordlinder H, Magnusson CM, Persson IR. Some life-style factors and the risk of invasive epithelial ovarian cancer in Swedish women. Eur JEpidemiol. 2004;19:1011-1019.

11. Ho SM. Estrogen, progesterone and epithelial ovarian cancer. Reprod Biol Endocrinol. 2003;1:73-81.

12. Rubin SC, Sutton GP. Ovarian Cancer. 2nd ed. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams, & Wilkins; 2004:170, 195-197.

13. Ness RB, Cottreau C. Possible role of ovarian epithelial inflammation in ovarian cancer. J Natl Cancer Inst. 1999;91:1459-1467.

14. Cramer DW, Welch WR. Determinants of ovarian cancer risk. II. Inferences regarding pathogenesis. J Natl Cancer Inst. 1983;71:717-721.

15. Kushi LH, Mink PJ, Folson AR, et al. Prospective study of diet and ovarian cancer. Am J Epidemiol. 1999;149:21-31.

16. Narod SA. Ovarian cancer and HRT in the Million Women Study. Lancet. 2007 May 19; 369:1667-1668.

17. Green A, Purdie D, Bain C, et al. Tubal sterilization, hysterectomy, and decreased risk of ovarian cancer. Int J Cancer. 1998;71:948-951.

18. Gambacciani M, Monteleone P, Sacco A, Genazzani AR. Hormone replacement therapy and endometrial, ovarian, and colorectal cancer. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2003;17:139-147.

19. Rossing MA, Daling JR, Weiss NS, Moore DE, Self SG. Ovarian tumors in a cohort of infertile women. N Engl J Med. 1994;331:771-776.

20. Shushan A, Paltiel O, Iscovich J, Elchalal U, Pertz T, Schenker JG. Human menopausal gonadotropin and the risk of epithelial ovarian cancer. Fertil Steril. 1996;65:13-18.

21. Pavlik EJ, DePriest PD, Gallion HH, et al. Ovarian volume related to age. Gynecol Oncol 2000;77:410-412.

22. Sassone AM, Timor-Tritsch IE, Artner A, Westhoff C, Warren WB. Transvaginal sonographic characterization of ovarian disease: evaluation of a new scoring system to predict ovarian malignancy. Obstet Gynecol 1991;78:70-76.

23. Campbell S, Bhan V, Royston P, Whitehead MI, Collins WP. Transabdominal ultrasound screening for early ovarian cancer. BMJ 1989;299:1363-1367.

24. Verheijen U, S. von Mensdorff-PouillyU, G.J. van Kamp and P. KenemansU. CA 125: fundamental and clinical aspects. Cancer Bıology, Vol 9, 1999: pp. 117-124.

25. Bast RC Jr, Klug TL, St John E, et al. A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. N Engl J Med 1983; 309:883-887.

26. Jacobs I, Bast RC Jr. The CA125 tumour- associated antigen: a review of the literature. Hum Reprod 1989;4:1-12.

27. Woolas RP, Xu FJ, Jacobs IJ, et al. Elevation of multiple serum markers in patients with stage I ovarian cancer. J Natl Cancer Inst 1993;85:1748-1751.

28. Einhorn N, Sjövall K, Knapp RC, et al. Prospective evaluation of serum CA 125 levels for early detection of ovarian cancer. Obstet Gynecol 1992;80:14-18.

29. Skates SJ, Menon U, MacDonald N, et al. Calculation of the risk of ovarian cancer from serial CA-125 values for preclinical detection in postmenopausal women. J Clin Oncol 2003;21:Suppl:206-210.

30. Bast RC Jr, Xu FJ, Yu YH, Barnhill S, Zhang Z, Mills GB. CA 125: the past and the future. Int J Biol Markers. 1998 Oct-Dec;13:179-187.

31. Partridge E, Kreimer AR, Greenlee RT, et al. Results from four rounds of ovarian cancer screening in a randomized trial. Obstet Gynecol 2009;113:775-782.

32. Goff BA, Mandel LS, Drescher CW, Urban N, Gough S, Schurman KM, Patras J, Mahony BS, Andersen MR. Development of an ovarian cancer symptom index: possibilities for earlier detection. Cancer 2007;109:221-227.

33. Wilson JMG, Junger G. Principles and practice of screening for disease. Geneva: World Health Organization, 1968.

34. Röcken C, Ebert MP, Roessner A. Proteomics in pathology, research and practice. Pathol Res Pract. 2004;200:69-82.

35. Petricoin EF, Liotta LA. Clinical applications of proteomics. J Nutr. 2003 Jul;133(7 Suppl):2476-2484.

36. Petricoin EF, Liotta LA. SELDI-TOF-based serum proteomic pattern diagnostics for early detection of cancer. Curr Opin Biotechnol. 2004 Feb;15:24-30.

37. Tardif JC, Heinonen T, Noble S. High-density lipoprotein/apolipoprotein A-I infusion therapy. Curr Atheroscler Rep. 2009 Jan;11:58-63.

38. Van Lenten BJ, Wagner AC, Anantharamaiah GM, Navab M, Reddy ST, Buga GM, Fogelman. Apolipoprotein A-I mimetic peptides. AM. Curr Atheroscler Rep. 2009 Jan;11:52-57.

39. Su F, Kozak KR, Imaizumi S, Gao F, Amneus MW, Grijalva V, Ng C, Wagner A, Hough G, Farias-Eisner G, Anantharamaiah GM, Van Lenten BJ, Navab M, Fogelman AM, Reddy ST, Farias-Eisner R. Apolipoprotein A-I (Apo A-I) and Apo A-I mimetic peptides inhibit tumor development in a mouse model of ovarian cancer. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Nov 16;107:19997-20002.

40. Van Bennekum AM, Wei S, Gamble MV, Vogel S, Piantedosi R, Gottesman M, Episkopou V, Blaner WS. Biochemical basis for depressed serum retinol levels in transthyretin-deficient mice. J Biol Chem. 2001 Jan 12;276:1107-1113.

41. Moore LE, Fung ET, McGuire M, Rabkin CC, Molinaro A, Wang Z, Zhang F, Wang J, Yip C, Meng XY, Pfeiffer RM. Evaluation of apolipoprotein A1 and posttranslationally modified forms of transthyretin as biomarkers for ovarian cancer detection in an independent study population. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006 Sep;15(9):1641-1646.

42. Kozak KR, Su F, Whitelegge JP, Faull K, Reddy S, Farias-Eisner R. Characterization of serum biomarkers for detection of early stage ovarian cancer. Proteomics. 2005 Nov;5:4589-4596.

43. Zhang Z, Bast RC Jr, Yu Y, Li J, Sokoll LJ, Rai AJ, Rosenzweig JM, Cameron B, Wang YY, Meng XY, Berchuck A, Van Haaften-Day C, Hacker NF, de Bruijn HW, van der Zee AG, Jacobs IJ, Fung ET, Chan DW. Three biomarkers identified from serum proteomic analysis for the detection of early stage ovarian cancer. Cancer Res. 2004 Aug 15;64:5882-5890.

44. Fung ET, Yip TT, Lomas L, Wang Z, Yip C, Meng XY, Lin S, Zhang F, Zhang Z, Chan DW, Weinberger SR. Classification of cancer types by measuring variants of host response proteins using SELDI serum assays. Int J Cancer. 2005 Jul 10;115:783-789.

45. Woong-Shick A, Sung-Pil P, Su-Mi B, Joon-Mo L, Sung-Eun N, Gye-Hyun N, Young-Lae C, Ho-Sun C, Heung-Jae J, Chong-Kook K, Young-Wan K, Byoung-Don H, Hyun-Sun J. Identification of hemoglobin-alpha and -beta subunits as potential serum biomarkers for the diagnosis and prognosis of ovarian cancer. Cancer Sci. 2005 Mar;96:197-201.

46. Ye B, Cramer DW, Skates SJ, Gygi SP, Pratomo V, Fu L, Horick NK, Licklider LJ, Schorge JO, Berkowitz RS, Mok SC. Haptoglobin-alpha subunit as potential serum biomarker in ovarian cancer: identification and characterization using proteomic profiling and mass spectrometry. Clin Cancer Res. 2003 Aug 1;9:2904-2911.

47. Ahmed N, Oliva KT, Barker G, Hoffmann P, Reeve S, Smith IA, Quinn MA, Rice GE. Proteomic tracking of serum protein isoforms as screening biomarkers of ovarian cancer. Proteomics. 2005 Nov;5:4625-4636.

48. Ahmed N, Barker G, Oliva KT, Hoffmann P, Riley C, Reeve S, Smith AI, Kemp BE, Quinn MA, Rice GE. Proteomic-based identification of haptoglobin-1 precursor as a novel circulating biomarker of ovarian cancer. Br J Cancer. 2004 Jul 5;91:129-140.

49. Gadomska H, Grzechocińska B, Janecki J, Nowicka G, Powolny M, Marianowski L. Serum lipids concentration in women with benign and malignant ovarian tumours. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2005 May 1;120:87-90.

50. Saldova R, Royle L, Radcliffe CM, Abd Hamid UM, Evans R, Arnold JN, Banks RE, Hutson R, Harvey DJ, Antrobus R, Petrescu SM, Dwek RA, Rudd PM. Ovarian cancer is associated with changes in glycosylation in both acute-phase proteins and IgG. Glycobiology. 2007 Dec;17:1344-1356.

51. Li XQ, Zhang SL, Cai Z, Zhou Y, Ye TM, Chiu JF. Proteomic identification of tumor-associated protein in ovarian serous cystadenocarinoma. Cancer Lett. 2009 Mar 8;275:109-116.

52. Zhu Y, Wu R, Sangha N, Yoo C, Cho KR, Shedden KA, Katabuchi H, Lubman DM. Classifications of ovarian cancer tissues by proteomic patterns. Proteomics. 2006 Nov;6:5846-5856.

53. Goufman EI, Moshkovskii SA, Tikhonova OV, Lokhov PG, Zgoda VG, Serebryakova MV, Toropygin IY, Vlasova MA, Safarova MR, Makarov OV, Archakov AI. Two-dimensional electrophoretic proteome study of serum thermostable fraction from patients with various tumor conditions. Biochemistry (Mosc). 2006 Apr;71:354-360.

54. Nosov V, Su F, Amneus M, Birrer M, Robins T, Kotlerman J, Reddy S, Farias-Eisner R. Validation of serum biomarkers for detection of early-stage ovarian cancer. Am J Obstet Gynecol. 2009 Jun;200:639.e1-5.