

Overin Yüzey Epitelyal-Stromal Tümörlerinde Tp53 Ekspresyonu ve Ki-67 Proliferasyon İndeksi ve Histopatolojik Prognostik Parametrelerle İlişkileri

Tp53 Expression and Ki-67 Proliferation Index in Surface Epithelial-Stromal Tumors of the Ovary and Their Relationship with the Histopathological Prognostic Parameters

Sevgiye Kaçar Özkara, Deniz Filinte

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Kocaeli, Turkey

ÖZET

Amaç: Malign, "borderline" ve benign epitelyal over tümörlerinde TP53 ve Ki-67 ekspresyonlarını; karsinomlarda histopatolojik parametrelerle ilişkisini; farklı özelliklerdeki olgu gruplarında TP53 ve Ki-67 ekspresyonlarını araştırmak; overde karsinogenezi tartışmak.

Gereç ve Yöntemler: Yüz'ü malign, 27'si "borderline" ve 31'i benign, toplam 158 epitelyal over tümörü ve 42 non-tümöral over dokusunda standart immunohistokimya tekniği kullanıldı.

Bulgular: TP53 aşırı-ekspresyonu, "borderline" tümörlere (%40.7) kıyasla malignlerde (%61.0); 50 yaş üstündeki; yüksek dereceli, az/indiferansiyel ve seröz; solid yapılanmalı seröz, yüksek pleomorfizm dereceli seröz ve non-seröz, yüksek mitotik indeksli non-seröz subtiplerde; lenf nodu tutulumu gösteren, ileri evredeki karsinomlarda daha yüksekti ($p<0.05$). Ortalama Ki-67 indeksleri, malignlerde %41.3, "borderline" tümörlerde %17.2 olup; fark anlamlıydı. Karsinomların Ki-67 indeksleri, dereceleri yükseldikçe artarken; lenf nodu tutulumlu olgularda azalma gösterdi. Karsinomların farklı subtiplerinin, derecelerine, lenf nodu tutulumları ve evrelerine göre, TP53 ekspresyonları ve Ki-67 indeksleriyle ilişkilerinde farklılıklar saptandı.

Sonuç: TP53 aşırı-ekspresyonunun, malign ve "borderline" over tümörlerinin gelişimindeki rolünü desteklemektedir. Karsinomlarda, TP53 ekspresyonunun derecesi, yaş, histopatolojik subtip, derece, pleomorfizm, yapılanma özelliği, mitotik aktivite, lenf nodu tutulumu ve evre ile ilişkili olarak farklılık; Ki-67 proliferasyon indeksi ile de korelasyon göstermektedir. Malign epitelyal over tümörlerinin bu biyolojik parametrelere göre de ayrılması, gelecekte daha olguya özgün tedavi protokollerinin belirlenmesinde, özellikle erken evrede önemli olabilir.

Anahtar Sözcükler: Over tümörleri, p53, Ki-67

Geliş tarihi: 06.05.2010

Kabul tarihi: 02.09.2010

ABSTRACT

Objective: To investigate TP53 and Ki-67 expressions in malignant, borderline and benign epithelial ovarian tumors; correlate results with histopathological parameters; compare TP53 and Ki-67 expressions and discuss ovarian carcinogenesis.

Material and Methods: Standard immunohistochemistry was performed in 100 malignant, 27 borderline and 31 benign tumors and 42 non-tumoral ovarian epithelia.

Results: TP53 overexpression was higher in malignant (61.0%) than in borderline tumors (40.7%); in malignant cases above 50 years-of-age, with high grade and in undifferentiated and serous subtypes. Carcinomas with solid architecture in serous, high mitosis in non-serous and high pleomorphism in both subtypes; lymph node involvement, and advanced stage also showed higher expressions of TP53 ($p<0.05$). The mean Ki-67 index was 41.3% in malignant and 17.2% in borderline tumors. Ki-67 index tended to increase with increasing grade, and decrease with lymph node involvement. The coexpression of proteins according to grade, lymph node involvement and stage in different subtypes, showed significant differences and correlations.

Conclusion: Our findings support the role of TP53 overexpression in development of "borderline" and malignant epithelial ovarian tumors. The degree of TP53 expression differed in terms of histopathological parameters; and was correlated with Ki-67 index. Especially in early stages, these biological factors could provide additional information to stratify patients for case specific therapies.

Key Words: Ovarian tumors, p53, Ki-67

Received: 06.05.2010

Accepted: 02.09.2010

Giriş

Yüzey epitelyal-stromal tümörler, tüm dünyada overin en sık görülen tümörleridir; overin yüzey epitelden ya da onun türevlerinden köken alır ve biyolojik davranışları histopatolojik subtipten göre değişir (1).

Hücre döngüsünü düzenleyici proteinler, preneoplastik ve erken neoplastik tranformasyon patogenezinde önemlidir. İn-

san tümörlerindeki hücre döngüsü proteinleri içerisinde yer alan, negatif düzenleyiciler, tümör baskılayıcı genleri içerirler (2).

TP53, kromozom 17p13'de yerleşim gösteren bir tümör baskılayıcı ("supressor") genidir ve TP53 proteinini kodlar; büyüme ve bölünmede hücre bekçi ("gatekeeper") olarak bilinir (3). TP53, hücre proliferasyonu, apoptozis ve farklılaşmanın düzenlenmesine katılan "encode" fosfoproteinlerdendir; hücre döngüsü arresti, gen transkripsiyonu ve DNA

Bu çalışmanın bir bölümü, 18. Ulusal Patoloji Kongresi'nde (25-29 Ekim 2008, Antalya, Türkiye) bildiri olarak (p-144) sunulmuştur.

Address for Correspondence: Doç. Dr. Sevgiye Kaçar Özkara, Mustafa Paşa Mah. Bağdat Cad. 0712 Sok. No: 25/6, 41400 Gebze, Kocaeli, Turkey
Phone: +90 533 569 16 42 Fax: +90 262 642 19 41 E-mail: emrecan1999@yahoo.com

tamirinde de yer alır (3). TP53, hücre proliferasyonu üzerinde duraklatıcı ("inhibitör") etki gösterir ve böylece p21 ekspresyonu indüklenir. TP53 gen mutasyonu görüldüğünde, hücre döngüsü yollarında aktive olamaz; apoptozis kontrolü kaybedilir ve sonuçta kontrolsüz hücre proliferasyonu olur (3, 5).

Normal hücrelerde TP53 proteini düşük konsantrasyondadır. DNA hasarı, TP53 düzeylerinde hızlı bir artışa neden olur ve biriken TP53, DNA'ya bağlanarak; TP53'ün majör etkilerini düzenleyen birkaç genin transkripsiyonunu tetikler. TP53'ün hücre döngüsü duraklatıcı etkisi, geç G1 fazında ve siklinbağımlı kinaz inhibitörü p21'in transkripsiyonu yoluyla olduğundan, normal TP53 fonksiyonunun kaybı, p21 aracılı kontrol noktasının da kaybına neden olur (2).

Over karsinomlarında, hücre döngüsü düzenleyici proteinlerin prognostik önemi; kısmen birbiri ile çelişen sonuçları olan çalışmalarla incelenmiştir (6). TP53, insan tümörlerinde en sık rastlanan tümör baskılayıcı genidir. TP53 mutasyonları, over tümörlerinde de en sık saptanan genetik değişikliktir (7). Tüm over kanserlerinin, yaklaşık %50-60'ında (4, 8-11); seröz over karsinomlarının ise daha fazlasında TP53 geninde mutasyon bulunduğu gösterilmiştir (12). Uzun yarı ömründen dolayı, mutant TP53 immünohistokimyasal metodlarla kolaylıkla saptanır.

TP53 proteini, overde moleküler hedef olarak kullanılma potansiyeli olan değerli bir prognostik belirteçtir (13). Bazı araştırmacılar, over karsinomlarında TP53 mutasyonları ile sağkalım ve kemoterapi yanıtı arasında ilişki saptarken (14-17), diğer bazı araştırmacılar anlamlı bir ilişki saptamamışlardır (18-22).

Ki-67 antijeni ise; 345 ve 397 kDa ağırlığında, "non-histon" bimoleküle komplekstir. Ki-67, proliferasyonla ilişkili bir çekirdek antijenidir ve G₀ fazı dışında, hücre döngüsü boyunca izlenir; büyüme ve sentez fazlarında (G₁, S, G₂, mitoz) eksprese olur. Hücre proliferasyonu belirteci olarak kullanılmaktadır (23).

Bu çalışmada, benign, "borderline" ve malign tümöral ve non-tümöral over epiteline TP53 ve Ki-67 ekspresyon paternlerini araştırmak; karsinomlarda, bu belirteçlerin histopatolojik parametrelerle ilişkisini sorgulamak; farklı histopatolojik ve prognostik özelliklerdeki olgu gruplarında TP53 ve Ki-67 ekspresyonlarını karşılaştırmak; elde edilecek sonuçlarla, literatür ışığında, overde karsinogenezi tartışmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Olguların klinikopatolojik özellikleri

Bu çalışmaya, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1996-2007 yılları arasında değerlendirilmiş, ardışık 100'ü malign, 27'si "borderline" ve 31'i benign olmak üzere toplam 158 epitelyal over tümörü alındı.

Tüm karsinom olguları, Silverberg (24) tarafından önerilen sistemle tekrar derecelendirildi. Her karsinom olgusunda, baskın yapılanma özelliği (1- glandüler, 2- papiller, 3- solid için); pleomorfizm (1- hafif, 2- orta, 3- belirgin ise); ve mitotik aktivite (10 BBA'da, 1- ≤9, 2- 10 - 24, 3- ≥25 mitoz) tekrar değerlendirildi ve (toplam 3-5 puan: derece I, 6-7 puan: derece II, 8-9 puan: derece III) standardizasyon sağlandı. Karsinom ve "borderline" tümör tanımlı tüm olgular FIGO (The International Federation of Gynecology and Obstetrics) ve pTNM sistemlerine göre evrelendi.

Malign tümörlerin 56'sı seröz, 14'ü müsinöz, 18'i endometrioid, 4'ü berrak hücreli adenokarsinom ve 8'i az/indiferansiyel

karsinom olgusudur. Mikst histolojisi olan olgularda, tümör, baskın histolojiye göre sınıflandırıldı (25).

"Borderline" grupta 11 (%40.7) müsinöz, 16 (%59.3) seröz tümör yer almaktadır.

Benign epitelyal over tümörlerinden, son iki yılda değerlendirilmiş ardışık 31 olgu seçildi. Bunların 20'si (%64.5) seröz, 11'i (%35.5) müsinöz adenomdur.

Ayrıca leiomyoma(ta) uteri nedeniyle TAH+BSO operasyonu geçirmiş olgulardan, yine ardışık 14 seröz kist içeren ve 13 özelliksiz, toplam 27 tümöral olmayan over dokusu da kontrol amacıyla çalışmaya alındı. Unilateral malign ve "borderline" epitelyal over tümörleri içerisinde, blokları bulunabilen (9 karsinom ve 6 "borderline" tümör olgusunda) tümörsüz karşı taraf over dokularında da aynı belirteçler çalışıldı.

Bu çalışma için, Kocaeli Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu'ndan, ön ve son onay; ameliyatları öncesinde tüm hastalardan, yazılı olarak, "bilgilendirilmiş onam" alındı.

İmmünohistokimyasal boyama tekniği

Formalin fikse, parafine gömülmüş dokuların temsil edici blokları, 5µm kalınlıkta kesildi. Doku kesitleri ksilen ile deparafinize; azalan konsantrasyonlardaki alkolde rehidrate edildi. Antijen gerikazanımı, düdüklü tencerede, 1000 ml 0.01 mol/L sodyum sitrat tampon ("buffer") (pH 6.0) içinde, 2 dakika ısıtma ile yapıldı. Endojen peroksidaz aktivitesi 10 dakika %3 hidrojen peroksidaz/metanol ile bloke edildi. Standart avidin-biotin peroksidaz tekniği kullanıldı. Otuz dakika "protein block" ile inkübasyon sonrası, primer antikorlar (TP53: klon: DO-7, NeoMarkers Inc., Fremont, CA, ABD; ve Ki-67: klon: SP6, Thermo Scientific, Fremont, CA, ABD) önerilen konsantrasyonlarda (1:200'er), oda sıcaklığında (25°C) 30'ar dakika uygulandı. Amino etil karbazol (AEC) kromojen, Mayer hematoksilen de zıt boya olarak kullanıldı.

Pozitif kontrol olarak, kolon karsinomu kullanıldı ve kuvvetli nükleer immunoreaktivite gözlemlendi.

İmmunoreaktivite sonuçlarının değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi, iki başlı mikroskopta, iki farklı gözlemci (DF, SKÖ) tarafından, klinik ve patolojik parametreler bilinmeden yapıldı. Nadir olmakla birlikte, karşılaşılan gözlemciler-arası uyumsuzluklar, karşılıklı konsültasyon ile giderildi.

TP53 ve Ki-67 ile immunoreaktivitenin ölçümü, aynı olgunun immunohistokimya için seçilen, temsil edici bloğunda, tümör hücrelerinde en düşük ve en yüksek boyanan alanların ortalaması alınarak ve yaklaşık 500 tümör hücresi sayılarak, semikantitatif olarak yapıldı. Boyanan hücrelerin yüzde oranı ve boyanma şiddeti birlikte değerlendirilerek, her belirteç için bir immunohistokimya skoru (İHK-s) hesaplandı (İHK-s=boyanma şiddeti x boyanma yüzdesi). (Boyanma şiddeti için: 0=boyanma yok, 1=zayıf, 2=orta derecede, 3=kuvvetli boyanma varsa; boyanma yüzdesi için: 0=%0, 1=%1-10, 2=%11-50, 3=%51-80, 4=%81-100 tümör hücresinde boyanma varsa.) İHK-skoru, 0 ile 12 arasında değişmektedir; maksimum İHK skoru=12'dir (6).

TP53 ekspresyonu, negatif ve <%5 pozitif olan olgular (İHK-s=0-2) ile TP53'ü %5 ve üzerinde (İHK-s=3-12) eksprese eden ("overekspresyon", aşırı sunum) olgular ayrılarak, istatistiksel değerlendirmeye alındığı gibi; TP53 ekspresyonunun

yoğunluğu ve derecesi de (İHK-skoruna göre) yukarıdaki beş farklı yüzde aralıklarında değerlendirilerek, anlamlılık araştırıldı.

Ki-67 ekspresyonu için, tüm olguların % olarak İHK-slari yanı sıra, farklı histopatolojik ve prognostik özelliklerdeki olgu gruplarında, ortalama Ki-67 indeksleri de hesaplandı. Bu olgu gruplarında, ortalama Ki-67 indeksleri kullanılarak ve ayrıca Ki-67'yi hücrelerin %50'sinin altında (İHK-s=0-6) ve üzerinde eksprese eden (İHK-s=7-12) (aşırı hücre proliferasyonu gösteren) olgular ayrılarak da istatistiksel testler yapıldı.

İstatistiksel değerlendirme

Çalışmanın istatistiksel değerlendirmesi için, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı'ndan, kullanılan gereç, yöntem ve istatistiksel testler açısından danışmanlık alınarak; istatistiksel testler ve yorumlamalar, yazarlar (SKÖ) tarafından yapıldı. İstatistiksel değerlendirme için SPSS programı (Statistical Package for Social Sciences, 13.0) kullanıldı.

TP53 ve Ki-67 belirteçlerinin immunoreaktivite sonuçlarının, çalışılan farklı gruplardaki dağılımı ile; karsinom olgularımızın histopatolojik prognostik özellikleri arasındaki ilişkileri değerlendirmek üzere ki-kare testi kullanıldı. Farklı gruplardaki olguların ortalama Ki-67 indeksleri, t-testi ile karşılaştırıldı. Çalışılan bu iki belirtecin ekspresyon durumları arasındaki negatif/pozitif ilişkinin (korelasyonun) belirlenmesi için ise "Spearman's rank" testi kullanıldı. $p < 0.05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı ilişki/fark bulunduğu kabul edildi.

Bulgular

Karsinom olguları, 16-96 yaş arasında olup; ortalama yaş 52.3'dür (SD=13.9; SE=1.4). Elli yaşın altında 44 olgu, elli yaşın üstünde ise 56 olgu bulunmaktadır. "Borderline" tümör olgularında, yaş aralığı 22-70 olup; ortalama yaş 39.1'dir (SD=12.2; SE=2.4). Benign tümör olguları ise 22-72 yaş aralığında olup; yaş ortalaması 44.0'dür (SD=15.1; SE=3.1).

Malign tümörlerin 53 tanesi bilateral tutulum gösterirken; 22 olgu sağ over, 14 olgu sol over yerleşimlidir. Onbir olguda ise tümörün hangi overde olduğu kaydedilmemiştir.

Histopatolojik subtipe göre değerlendirildiğinde, 56 olgu seröz tipte, 44 olgu ise non-seröz tiptedir. Non-seröz tip karsinomların 14'ü müsinöz, 18'i endometrioid, 4'ü berrak hücreli iken; 8 olguda tümör az/indiferansiyedir (Tablo 1).

Silverberg tarafından önerilen sisteme (24) göre, yeniden derecelendirilen karsinom olgularının; 40'ı iyi diferansiyeye (derece I), 31'i orta derecede diferansiyeye (derece II) ve 29'u az/indiferansiyeye (derece III) grupta yer almaktadır (Tablo 1).

Karsinom olgularının 49'unun lenf nodu diseksiyonu bulunmaktadır. Bunların 15'inde lenf nodu metastazı görülmüştür. Otuzdört olguda ise lenf nodu tutulumu izlenmemiştir. Lenf nodu tutulumu değerlendirilememiş 51 karsinom olgumuzun %54.9'unda (28 olgu), olguların evre III / IV olduklarını ispatlayan başka tutulumların (peritoneal ve/veya uzak metastaz) bulunduğu gösterilmiştir. Geriye kalan 23 olguda ise, tümörlerin over dışında herhangi bir tutulum yaptıklarını destekleyebilecek herhangi bir bulgu saptanmamıştır. Lenf nodu tutulumu durumu değerlendirilememiş olgular, tüm klinikopatolojik bulgularıyla birlikte değerlendirilerek; %45.1'i (n=23) erken evre (I+II), %54.9'u (n=28) ise geç evre (III+IV)

hasta gruplarına alınmıştır. Lenf nodu tutulumuna göre TP53 ve Ki-67 ekspresyonları açısından farklılık, lenf nodu diseksiyonu bulunmayan 51 olgu dışında tutularak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Karsinom olgularının 81'inde, intraoperatif alınan batın yıkama sıvıları sitopatolojik olarak değerlendirilmiş olup; 43 olguda periton sıvısında da malign hücre görülmüştür.

Tanı aldığı sırada olguların %34.0'ü evre I, %9.0'u evre II, %44.0'ü evre III ve %13.0'ü evre IV'te bulunmaktadır (Tablo 1).

I. TP53 İmmunoreaktivitesi Benign, "borderline" ve malign epitelyal over tümörlerinde ve non-tümöral over epitelyalinde TP53 ekspresyonu

Malign epitelyal tümörlerin %61.0'inde ve "borderline" epitelyal tümörlerin %40.7'sinde TP53 aşırı-ekspresyonu gözlenirken; benign over tümörlerinin ve non-tümöral over dokularının tümü TP53 negatifti. Malign ve "borderline" olguların tümörsüz karşı taraf overlerinin hiçbirisinde de TP53 ile pozitif immunoreaksiyon saptanmadı ($p=0.000$).

Malign tümörler ile "borderline" tümörler karşılaştırıldığında, TP53 ekspresyon dereceleri arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.003$). Malign tümörlerin %31.0'i, tümör hücrelerinin %80'inden fazlasında TP53 ekspresyonu gösterirken; "borderline" olguların hiçbirisinde, bu derecede yüksek TP53 ekspresyonu saptanmadı (Tablo 2). TP53 ekspresyonunun şiddetinin ise, hem malign hem de "borderline" tümörlerde kuvvetli olduğu dikkati çekti.

Seröz ve müsinöz tipte "borderline" ve malign tümör olguları karşılaştırıldıklarında, seröz karsinomlarda TP53 aşırı-ekspresyonu oranı %66.1, müsinöz karsinomlarda ise %42.9'dur. Seröz "borderline" tümörlerin %50'si TP53 aşırı-ekspresyonu gösterirken; müsinöz "borderline" tümörlerde bu oran %27.3'tü ($p=0.238$). Serimizde, 1 adet mikropapiller subtipe seröz "borderline" tümör bulunmaktadır ve bu tümörde düşük oranda (%7, +) TP53 ekspresyonu izlenmiştir.

Karsinomların, histopatolojik subtip gözetilmeksizin, TP53 ekspresyonları ve histopatolojik prognostik parametrelerle ilişkisi

Histopatolojik subtip gözetilmeksizin, karsinomların TP53 ekspresyonları açısından, 50 yaş altı ve üstündeki hasta grubunda anlamlı fark gözlemlendi ($p=0.007$). Elli yaşın altındaki hastaların %38.6'sında TP53 (-) iken; elli yaş üstündeki hastaların %57.1'inde, tümör hücrelerinin %50'sinden fazlasında TP53 ekspresyonu saptandı (Tablo 1).

Karsinomların diferansiyasyon dereceleri ve lenf nodu tutulumları ile TP53 ekspresyonları arasında anlamlı lineer ilişki saptandı (sırasıyla, $p=0.044$; $p=0.048$). Lenf nodu metastazlı karsinomların %80'inde, tümör hücrelerinin %50'sinden fazlasında TP53 ekspresyonu izlendi (Tablo 1).

Erken evre karsinomlar ile geç evre malign tümörlerin TP53 ekspresyonları arasında da anlamlı fark saptandı ($p=0.002$) (Tablo 1). Evre ilerledikçe, TP53 ekspresyonu gösteren olguların oranında da lineer artış gözlemlendi. Erken evre karsinomların ise yüksek derecede pleomorfizm gösterenlerde (%50) daha yüksek TP53 ekspresyonu izlendi.

Karsinomların TP53 ekspresyonları ile, batın yıkama sıvılarının rutin sitopatolojik değerlendirme sonuçları arasında an-

Tablo 1. Over karsinomlarının TP53 ekspresyonunun derecesinin histopatolojik prognostik parametrelere göre dağılımı (n=100)

Prognostik Parametre		(-) (%)	(+) (%)	(++) (%)	(+++) (%)	p değeri
Yaş	<50 (n=44)	38.6	9.1	18.2	34.1	0.007
	≥50 (n=56)	17.9	14.3	10.7	57.1	
Tümörün histopatolojik subtipi	Seröz (n=56)	26.8	7.1	10.7	55.4	0.048
	Müsinöz (n=14)	42.9	14.3	7.1	35.7	
	Endometrioid (n=18)	27.8	27.8	16.7	27.8	
	Berrak hücreli (n=4)	0.0	25.0	50.0	25.0	
	Az/indiferansiye (n=8)	12.5	0.0	25.0	62.5	
	Tümörün diferansiyasyon derecesi	I (n=40)	42.5	17.5	10.0	
II (n=31)	19.4	12.9	19.4	48.4		
III (n=29)	13.8	3.4	13.8	69.0		
Lenf nodu tutulumu	Var (n=15)	20.0	0.0	0.0	80.0	0.048
	Yok (n=34)	20.6	20.6	14.7	44.2	
	? (n=51)	33.3	9.8	17.6	39.2	
Batın sıvısı sitopatolojisi	Pozitif (n=43)	25.6	9.3	14.0	51.2	0.695
	Negatif (n=38)	26.3	10.5	13.2	50.0	
	? (n=19)	31.6	21.1	15.8	31.6	
Evre (pTNM, FIGO)	I (n=34)	38.2	23.5	14.7	23.6	0.002
	II (n=9)	11.1	11.1	0.0	77.7	
	III (n=44)	27.3	6.8	20.5	45.5	
	IV (n=13)	7.7	0.0	0.0	92.3	
Ki-67 indeksi	<%50 (n=57)	38.6	10.5	12.3	38.6	0.040
	≥%50 (n=43)	11.6	14.0	16.3	58.2	

(-): negatif immunoreaktivite (İHK-s=0)
 (+): %1-10 pozitif immunoreaktivite (İHK-s=1-3)
 (++) : %11-50 pozitif immunoreaktivite (İHK-s=4-6)
 (+++): %51-100 pozitif immunoreaktivite (İHK-s=7-12)
 (?): değerlendirilemeyen

Tablo 2. Malign ve "borderline" tümörlerde TP53 immunoreaktivitesi

TP53 ile immunoreaksiyon	Malign "Borderline" tümörler (n=100) (%)	tümörler (n=27) (%)	p değeri
Negatif (İHK-s= 0)	27.0	55.6	0.003
%1-10 pozitif (İHK-s=1-3)	12.0	14.8	
%11-50 pozitif (İHK-s=4-6)	14.0	22.2	
%51-80 pozitif (İHK-s=7-9)	16.0	7.4	
%81-100 pozitif (İHK-s=10-12)	31.0	0.0	

lamli ilişki görülmemekle birlikte; batın sıvılarında malign hücre saptanan bazı olguların sıvılarından hazırlanan hücre bloklarında da TP53 aşırı-ekspresyonu gösterildi (Resim 1).

Karsinomların, yapılanma özellikleri (p=0.012); pleomorfizm dereceleri (p=0.006) ve mitotik indekslerine (p=0.014) göre de farklı oranlarda TP53 ekspresyonları gösterdikleri gözlemlendi.

Karsinomlar, Ki-67 indekslerine göre ayrıldığında, %50'nin altında Ki-67 indeksine sahip olanlar ile %50'nin üzerinde Ki-67 indeksi gösteren olguların TP53 ekspresyonu profillerinde

anlamli fark saptandı (p=0.040) (Tablo 1). Ki-67 indeksi yüksek olan olguların, TP53 ekspresyonları da yüksekti.

Malign tümörlerin, histopatolojik subtiplerine göre TP53 ekspresyonları ve histopatolojik prognostik parametrelerle ilişkisi

Karsinomların histopatolojik subtipleri arasında TP53 ekspresyonu açısından anlamli fark saptandı (p=0.048) (Tablo 1). Seröz karsinomların %42.9'unda, tümör hücrelerinin %80'inden fazlasında TP53 ekspresyonu görülürken (Resim 2); bu oran, non-seröz karsinomlarda %15.9'du (p=0.037).

Seröz karsinomlarda, tümörlerin yapılanma özellikleri ile TP53 ekspresyonları arasında anlamli ilişki saptandı (p=0.001) (Tablo 3). Non-seröz karsinomlarda ise, solid yapılanma gösteren tümörlerin %92.3'ünde TP53 aşırı ekspresyonu gözlemlendi (Tablo 3).

Seröz ve az/indiferansiye karsinomlarda, tümör hücrelerinin pleomorfizm derecesi ile de TP53 ekspresyonu arasında anlamli ilişki gözlemlendi (sırasıyla p=0.010; p=0.018).

Yaş ortalamasının düşük olduğu (43.1) müsinöz karsinomlarda (p=0.011) ve yüksek olduğu (58.0) az/indiferansiye karsinom olgularında (p=0.029) ise, TP53 ekspresyonu, yaş ile anlamli de-

recede ilişkili bulundu. Az/indiferansiye karsinom olgularında, ayrıca, tümörün evresi ile TP53 ekspresyonunun derecesi arasında da anlamlı lineer ilişki izlendi ($p=0.020$). Evre IV az/indiferansiye karsinom olgularının tümünde ($n=5$), tümör hücrelerinin %50'sinden fazlasında TP53 ekspresyonu gözlemlendi ($p=0.002$) (Resim 3).

Karsinomların TP53 ekspresyonları ile Ki-67 indeksleri arasında korelasyon saptandı (Pearson, $p=0.003$; Spearman, $r=0.001$) (Tablo 1).

Seröz ve non-seröz karsinomların TP53 ekspresyonlarının histomorfolojik parametrelerle ilişkisi:

En yüksek TP53 aşırı-ekspresyonu oranı (%83.8) solid yapılanma gösteren karsinomlarda gözlemlendi ($p=0.002$). Solid yapılanma gösteren karsinomların %51.4'ünde, tümör hücrelerinin %80'inden fazlasında TP53 ekspresyonu saptandı (Tablo 3).

Seröz karsinomlarda, tümörlerin yapılanma özellikleri ile TP53 ekspresyonları arasında anlamlı ilişki saptanırken ($p=0.001$); non-seröz karsinomlarda, farklı yapılanma gösteren tümörlerin TP53 ekspresyonu oranları farklı olmakla birlikte, istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı ($p=0.060$) (Tablo 3).

Hem seröz hem de non-seröz karsinomlarda, pleomorfizm derecesi ile TP53 aşırı-ekspresyonu arasında anlamlı lineer ilişki saptandı (sırasıyla $p=0.010$ ve $p=0.008$). Bu ilişkinin özellikle non-seröz karsinomlar grubunda belirgin olduğu ve yüksek derecede pleomorfik olan non-seröz karsinomların ($n=7$) tümünde TP53 aşırı-ekspresyonu bulunduğu gözlemlendi (Tablo 3).

Non-seröz karsinom grubunda, tümörlerin mitotik aktivite-lerine göre TP53 aşırı-ekspresyonları arasında da anlamlı fark saptandı ($p=0.002$). Mitotik aktivitesi en düşük olan grupta ($n=20$), tümörlerin sadece %25.0'inde TP53 aşırı-ekspresyonu görülürken; yüksek mitotik aktiviteli non-seröz karsinomlarda ($n=9$), tümörlerin %77.8'inde TP53 aşırı-ekspresyonu gözlemlendi. Seröz karsinomlarda ise, artan mitotik aktivite skoru ile paralel olarak, TP53 aşırı-ekspresyonu gösteren olguların oranında da artış görülmekle birlikte; fark istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı ($p=0.073$) (Tablo 3).

II. Ki-67 İmmunoreaktivitesi: Benign, "borderline" ve malign epitelyal over tümörlerinde ve non-tümöral over epitelyal Ki-67 ekspresyonu

Karsinomların %98.0'inde (Resim 4) ve "borderline" tümörlerin %100'ünde (Resim 5) değişen derecelerde Ki-67 ekspresyonu gözlemlenirken; benign tümörlerin %51.6'sı ve tümörsüz dokuların %88.9'u tümüyle Ki-67 negatifti. Unilateral malign ve "borderline" tümör olgularının tümörsüz karşı taraf overlerinde, sırasıyla, %22.2 ve %33.3 oranında çok düşük Ki-67 indeksleri saptandı ($p=0.000$) (Tablo 4a).

Karsinomların ortalama Ki-67 indeksleri %41.3 ("SE of mean"=2.6) iken; "borderline" tümörlerin ortalama Ki-67 indeksleri %17.2 ("SE of mean"=3.6) idi. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ($p=0.000$) (Tablo 4a). Karsinom

Tablo 3. Seröz ve non-seröz karsinomların histomorfolojik özelliklerine göre TP53 ekspresyonları

Histopatolojik subtip	Yapılanma Pleomorfizm Mitotik aktivite skoru		TP53		p değeri
	<%5 (%)*	>%5 (%)**	<%5 (%)*	>%5 (%)**	
Seröz karsinom (n=56)	Glandüler (n=6)	16.7	83.3	0.001	
	Papiller (n=26)	50.0	50.0		
	Solid (n=24)	20.8	79.2		
Non-seröz karsinom (n=44)	Glandüler (n=14)	71.4	28.6	0.060	
	Papiller (n=17)	52.9	47.1		
	Solid (n=13)	7.7	92.3		
Seröz karsinom (n=56)	Hafif (n=11)	72.7	27.3	0.010	
	Orta (n=26)	23.1	76.9		
	Belirgin (n=19)	26.3	73.7		
Non-seröz karsinom (n=44)	Hafif (n=12)	66.7	33.3	0.008	
	Orta (n=25)	48.0	52.0		
	Belirgin (n=7)	0.0	100.0		
Seröz karsinom (n=56)	Skor 1 (n=17)	52.9	47.1	0.073	
	Skor 2 (n=22)	27.3	72.7		
	Skor 3 (n=17)	23.5	76.5		
Non-seröz karsinom (n=44)	Skor 1 (n=20)	75.0	25.0	0.002	
	Skor 2 (n=15)	20.0	80.0		
	Skor 3 (n=9)	22.2	77.8		
Seröz karsinom (n=56)		33.9	66.1	0.037	
Non-seröz karsinom (n=44)		45.5	54.5		

* negatif, <%5 pozitif immunoreaktivite (İHK-s= 0-2)

** >%5 pozitif immunoreaktivite (aşırı ekspresyon) (İHK-s= 3-12)

olgularının çeşitli histopatolojik özelliklerine göre değişen ortalama Ki-67 indeksleri, Tablo 5 ve 6'da görülmektedir.

Müsinöz "borderline" tümörlerin %27.3'ünde Ki-67 indeksi %50'nin üzerinde iken (ortalama Ki-67 indeksi %31.4; SE=6.6); seröz "borderline" tümörlerde Ki-67 indeksi %50'nin üzerinde olgu yoktu (p=0.027); (ortalama Ki-67 indeksi %7.5; SE=1.6) (t-testi; p=0.000) (Tablo 4b) (Resim 5).

Seröz karsinomlar ile seröz "borderline" tümörlerin ortalama Ki-67 indeksleri arasındaki fark belirgin ve istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.000, Tablo 4b). Ancak, müsinöz karsinomlar ile müsinöz "borderline" tümörlerin ortalama Ki-67 indekslerinin birbirine çok yakın değerlerde olduğu dikkati çektirdi (p=0.586, Tablo 4b).

Benign tümörlerde, tümörsüz over dokularında, malign ve "borderline" olgularının tümörsüz karşı taraf overlerinde ortalama Ki-67 indeksleri ise, %3'ün altındaydı. Öte yandan, karsinomların %43.0'ünde, "borderline" tümörlerin ise %11.1'inde Ki-67 indeksleri %50'nin üzerindeydi (p=0.000) (Tablo 4a).

Karsinomların, histopatolojik subtip gözetilmeksizin, Ki-67 ekspresyonları ve histopatolojik prognostik parametrelerle ilişkisi

Karsinomların diferansiyasyon dereceleri ile Ki-67 indeksi arasında anlamlı lineer ilişki gözlemlendi (p=0.016) (Tablo 5). Derece I karsinomların %72.5'inde, Ki-67 indeksi %50'nin altında

iken; derece III karsinomların %62.1'inde %50'nin üzerinde Ki-67 indeksi saptandı.

Karsinomların, yapılanma özellikleri (p=0.036), pleomorfizm dereceleri (p=0.007), ve mitotik aktiviteleri (p=0.000) ile Ki-67 ekspresyonları arasında da anlamlı lineer ilişkiler gözlemlendi.

Karsinomların ortalama Ki-67 indeksleri de, tümörlerin baskın yapılanma özelliğine (p=0.036), pleomorfizm derecesi (p=0.002) ve mitotik aktivitesine göre (p=0.000) anlamlı farklılıklar gösterdi (ANOVA testi; p<0.05).

Karsinomların yapılanma özellikleri ile Ki-67 indeksleri arasındaki ilişkinin erken evre tümörlerde anlamlı olduğu dikkati çektirdi (p=0.030). Solid yapılanma gösteren erken evre karsinomların %80'inde Ki-67 indeksi %50'nin üzerindeydi. Geç evre tümörlerde ise farklılık saptanmadı.

Paradoksal olarak, lenf nodu metastazı yapmış karsinomların %80'inin Ki-67 indeksleri %50'nin altında iken; lenf nodu metastazı bulunmayan tümörlerin %55.9'unda Ki-67 indeksleri %50'nin üzerindeydi (p=0.020) (Tablo 5).

Karsinomların, histopatolojik subtiplerine göre Ki-67 ekspresyonları ve histopatolojik prognostik parametrelerle ilişkisi

Seröz karsinomlarda, tümörün diferansiyasyon derecesi ile Ki-67 indeksi arasında, anlamlı ilişki (p=0.009) saptandı (Resim 4). Ki-67 indeksi, %50'nin altında ve üstünde olmak üzere iki grupta toplandığında, seröz karsinomlarda gözlenen derece ile ilişkinin daha da güçlendiği (p=0.007) görüldü.

Tablo 4a. Tümöral ve non-tümöral over epitelinde Ki-67 immunoreaktivitesi

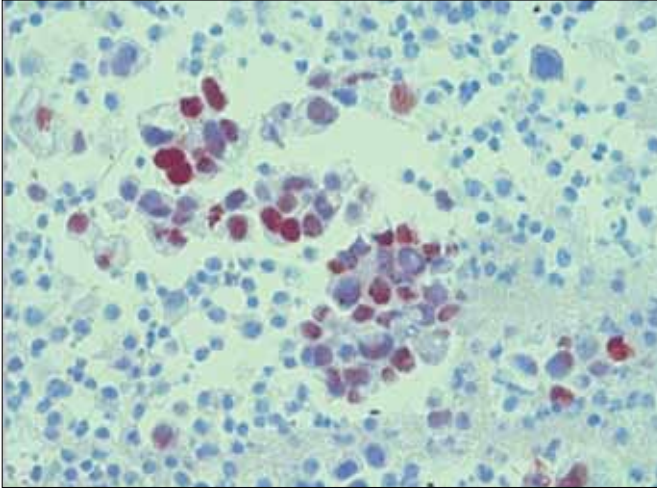
		Ki-67 indeksi %0 (%)	Ortalama Ki-67 indeksi	Ki-67 indeksi <%50 (%)	Ki-67 indeksi ≥%50 (%)	p değeri
Malign tümörler	(n=100)	2.0	41.3	55.0	43.0	0.000
"Borderline" tümörler	(n=27)	0.0	17.2	88.9	11.1	
Benign tümörler	(n=31)	51.6	0.3	48.4	0.0	
Malign tm non-tümöral karşı overleri	(n=9)	77.8	1.7	22.2	0.0	
"Borderline" tm non-tümöral karşı overleri	(n=6)	66.7	2.2	33.3	0.0	
Non-tümöral overler	(n=27)	88.9	2.7	11.1	0.0	

%0: negatif, (IHK-s= 0)
<%50: %1- 49 pozitif immunoreaktivite, (IHK-s= 1-6)
≥%50: %50 - 100 pozitif immunoreaktivite, (IHK-s= 7-12)

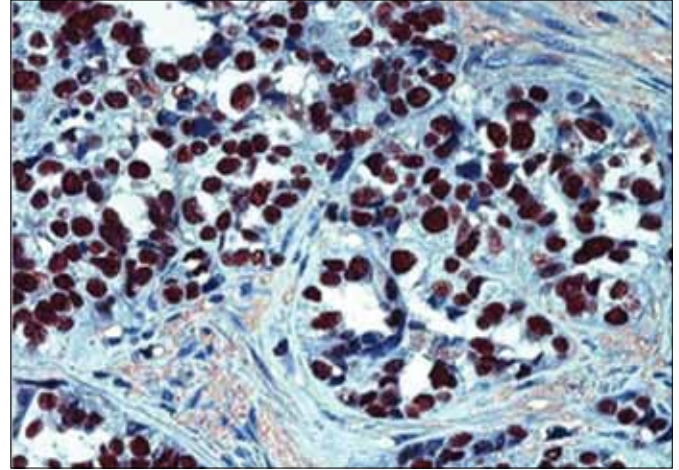
Tablo 4b. "Borderline" ve malign seröz ve müsinöz tümörlerde Ki-67 immunoreaktivitesinin karşılaştırılması

Grup		Ki-67 indeksi <%50 (%)	Ki-67 indeksi ≥%50 (%)	Ortalama Ki-67 indeksi	p* değeri	
1	Seröz "borderline" tümörler	(n=16)	100	0.0	7.5	0.000
	Müsinöz "borderline" tümörler	(n=11)	72.7	27.3	31.4	
2	Seröz "borderline" tümörler	(n=16)	100	0.0	7.5	0.000
	Seröz karsinomlar	(n=56)	53.6	46.4	43.4	
3	Müsinöz "borderline" tümörler	(n=11)	72.7	27.3	31.4	0.586
	Müsinöz karsinomlar	(n=14)	64.3	35.7	36.4	
4	Seröz karsinomlar	(n=56)	53.6	46.4	43.4	0.368
	Müsinöz karsinomlar	(n=14)	64.3	35.7	36.4	

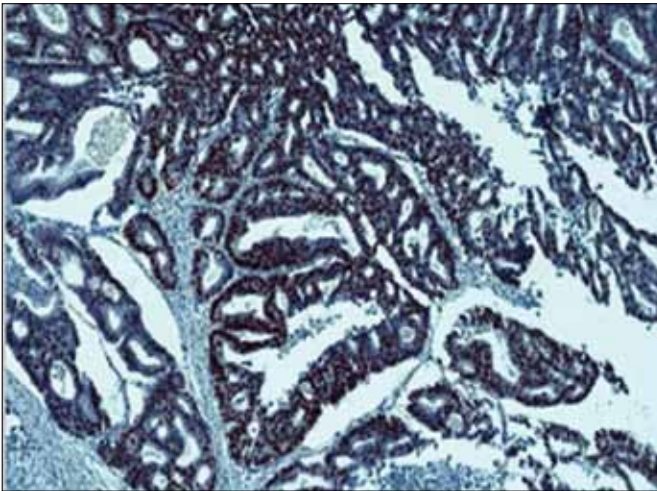
*t-testi



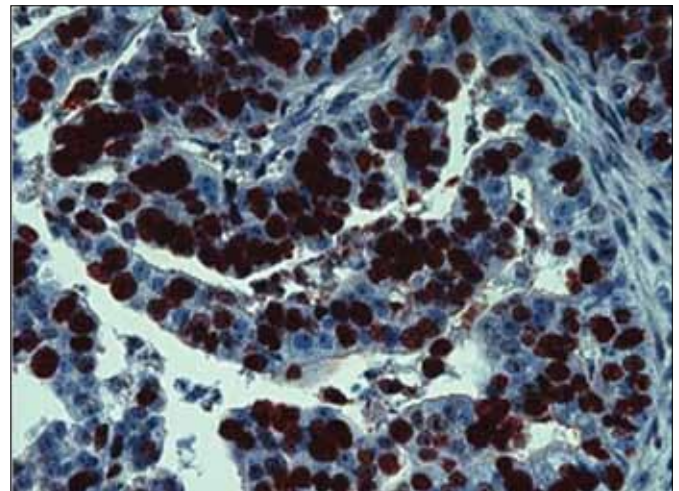
Resim 1. Batın sıvısında TP53 (+) karsinom hücreleri (x400)



Resim 3. Az diferansiye karsinom olgusunda yüksek derecede TP53 ekspresyonu (x400)



Resim 2. Seröz karsinom olgusunda yüksek derecede TP53 ekspresyonu (x200)



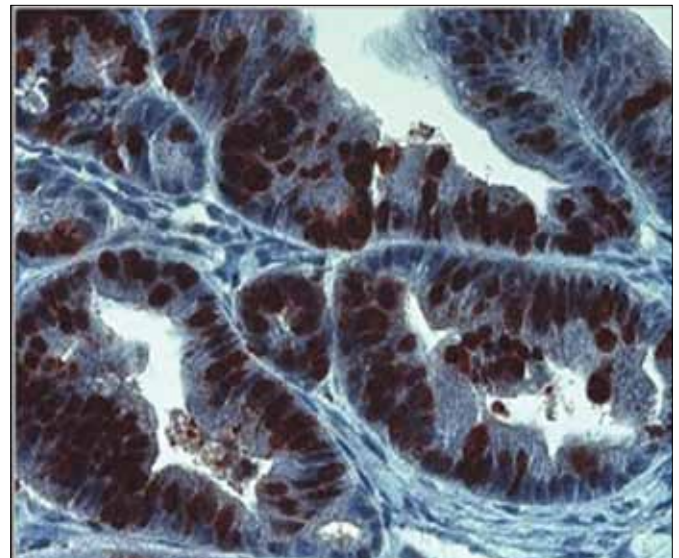
Resim 4. Seröz karsinom olgusunda yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi (x400)

Yine, seröz karsinomlarda, tümörlerin diferansiyasyon dereceleri belirlenirken kullanılan, pleomorfizm ($p=0.002$), mitotik aktivite ($p=0.000$) ve baskın yapılanma özelliği ($p=0.061$) kriterleri açısından, anlamlı/anlamlılığa yakın derecede Ki-67 ekspresyon farklılıkları bulunduğu saptandı. Olguların pleomorfizm dereceleri ($p=0.000$) ve mitotik aktiviteleri ($p=0.002$) arttıkça, Ki-67 ekspresyonunda da lineer artış gözlemlendi (Tablo 6).

Endometrioid adenokarsinom grubunda ise, Ki-67 immunoreaktivitesi ile evre ($p=0.035$) ve hastanın yaşı arasında ($p=0.020$) anlamlı ilişki bulundu. Endometrioid karsinomlu 50 yaşın altındaki olguların %80.0'inde Ki-67 indeksi %50'nin altında iken; 50 yaşın üstündeki olguların %75.0'inde Ki-67 indeksinin %50'nin üzerinde bulunduğu dikkati çekti.

Seröz ve non-seröz karsinomların Ki-67 ekspresyonlarının histomorfolojik parametrelerle ilişkisi

Seröz ve non-seröz karsinomların ortalama Ki-67 indeksleri arasında anlamlı fark bulunmadı. Ancak, diferansiyasyon derecesi, lenf nodu tutulumu ve evreye göre değişen, anlamlı farklılıklar saptandı (Bakınız 3. bölüm).



Resim 5. "Borderline" müsinöz tümör olgusunda yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi (x400)

Tablo 5. Over karsinomlarının Ki-67 ekspresyonunun histopatolojik prognostik parametrelere göre dağılımı (n=100)

Prognostik Parametre			Ortalama	Ki-67		p değeri
			Ki-67 indeksi	<%50 (%)	≥%50 (%)	
Yaş	<50	(n=44)	37.1	63.6	36.4	0.235
	≥50	(n=56)	44.6	51.8	48.2	
Tümörün histopatolojik subtipi	Seröz	(n=56)	43.4	53.6	46.4	0.876
	Müsinöz	(n=14)	36.4	64.3	35.7	
	Endometrioid	(n=18)	38.9	55.6	44.4	
	Berrak hücreli	(n=4)	29.8	75.0	25.0	
	Az/indiferansiye	(n=8)	45.9	62.5	37.5	
Tümörün diferansiyasyon derecesi	I	(n=40)	29.9	72.5	27.5	0.016
	II	(n=31)	45.3	54.8	45.2	
	III	(n=29)	52.6	37.9	62.1	
Lenf nodu tutulumu	Var	(n=15)	38.5	80.0	20.0	0.020
	Yok	(n=34)	47.1	44.1	55.9	
	?	(n=51)	38.2	58.8	41.2	
Batın sıvısı sitopatolojisi	Pozitif	(n=43)	44.7	55.8	44.2	0.833
	Negatif	(n=38)	41.3	55.3	44.7	
	?	(n=19)	33.2	63.2	36.8	
Evre (pTNM, FIGO)	I	(n=34)	36.7	61.8	38.2	0.181
	II	(n=9)	50.7	33.3	66.7	
	III	(n=44)	43.9	52.3	47.7	
	IV	(n=13)	37.5	76.9	23.1	

?: değerlendirilemeyen

Tablo 6. Seröz karsinomların histomorfolojik özelliklerine göre Ki-67 ekspresyonları (n=56)

Histomorfolojik özellik			Ortalama	Ki-67 indeksi		p değeri
			Ki-67 indeksi	<%50 (%)	≥%50 (%)	
Yapılanma	Glandüler	(n=6)	43.7	66.7	33.3	0.061
	Papiller	(n=26)	35.9	65.4	34.6	
	Solid	(n=24)	51.5	37.5	62.5	
Pleomorfizm	Hafif	(n=11)	22.6	90.9	9.1	0.002
	Orta	(n=26)	44.5	53.8	46.2	
	Belirgin	(n=19)	53.9	31.6	68.4	
Mitotik aktivite	Skor 1	(n=17)	26.7	88.2	11.8	0.000
	Skor 2	(n=22)	46.7	50.0	50.0	
	Skor 3	(n=17)	55.8	23.5	76.5	
Toplam		(n=56)	43.4	53.6	46.4	

Non-seröz karsinomların yapılanma özelliklerine göre Ki-67 ekspresyonları arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.621). Ancak seröz karsinomlarda, istatistiksel anlamlılığa ulaşamamakla birlikte, farklılık dikkati çekti. Seröz karsinomlardan, solid yapılanma gösterenlerin %62.5'inin Ki-67 indeksleri %50'nin üzerindeydi (p=0.061) (Tablo 6).

Seröz karsinomların, pleomorfizm dereceleri ile Ki-67 indeksleri arasında ise anlamlı lineer ilişki saptandı (p=0.002). Pleomorfizm derecesi arttıkça, yüksek oranda (>%50) Ki-67

ekspresyonu gösteren olguların oranı da arttı. Non-seröz karsinomlarda ise, pleomorfizm derecesi ile Ki-67 indeksi arasında anlamlı ilişki yoktu (p=0.689) (Tablo 6).

Seröz karsinomlarda, tümörlerin mitotik aktiviteleri ile Ki-67 ekspresyonları arasında da anlamlı lineer ilişki saptandı (p=0.000). Mitotik aktivite skoru arttıkça, yüksek Ki-67 ekspresyonu gösteren seröz karsinomların oranı da arttı. Non-seröz karsinomlar grubunda ise, mitotik aktivite ile Ki-67 ekspresyonu arasındaki ilişki istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı (p=0.109).

Diğer taraftan, yüksek mitotik aktivite gösteren (skor 3) seröz ve non-seröz karsinomların ortalama Ki-67 indeksleri arasında (sırasıyla %55.8 ve %38.8) istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (t-testi; $p=0.023$) (Tablo 6).

III. Karsinomların Farklı Histopatolojik Prognostik Gruplarda TP53 ve Ki-67 Ekspresyonu ve Birbiriyle İlişkileri Histopatolojik subtipine göre

Seröz karsinomlarda, olguların TP53 ekspresyonları ile Ki-67 indeksleri arasında anlamlı lineer ilişki gözlemlendi (Pearson, $p=0.012$; Spearman, $r=0.005$). TP53 ekspresyonunun oranı arttıkça, Ki-67 indeksi %50'nin üzerindeki seröz karsinomların sayısı da arttı ($p=0.010$). Benzer ilişki endometrioid karsinom grubunda da gözlemlendi (Spearman, $r=0.022$).

Diferansiyasyon derecelerine göre

Derece I karsinomlarda, TP53 immunoreaktivitesi açısından, seröz ve non-seröz subtipler arasında anlamlı fark izlendi ($p=0.040$). Derece I seröz karsinomların %38.9'unda, tümör hücrelerinin %80'inden fazlasında TP53 ekspresyonu varken; derece I non-seröz karsinom grubunda bu oran sadece %4.5'ti.

Derece III karsinomlarda, Ki-67 indeksleri açısından, seröz ve non-seröz subtipler arasındaki belirgin fark dikkati çekti ($p=0.076$). Derece III seröz karsinomların %73.7'sinde Ki-67 indeksi %50'nin üzerinde iken; derece III non-seröz karsinomların %60'ında Ki-67 indeksi %50'nin altındaydı.

Histopatolojik subtip gözetilmeksizin, derece I karsinomlarda, TP53 ile Ki-67 ekspresyonları arasında korelasyon saptandı ($p=0.003$, Spearman, $r=0.000$). TP53 ekspresyonu göstermeyen derece I karsinomların %83.4'ünde, Ki-67 indeksi de %50'nin altındaydı. Öte yandan, Ki-67 indeksi %50'nin altındaki derece I olguların %31'inde TP53 aşırı-ekspresyonu görülürken; Ki-67 indeksi %50'nin üzerindeki olguların %63.6'sında TP53 aşırı-ekspresyonu saptandı (Pearson, $p=0.013$, Spearman, $r=0.004$).

Lenf nodu tutulumuna göre

Lenf nodu tutulumu göstermeyen olgularda, TP53 ekspresyonları seröz ve non-seröz subtipteki karsinomlarda anlamlı derecede farklı bulundu ($p=0.036$). Seröz karsinomların %52.6'sında, tümör hücrelerinin %80'inden fazlasında TP53 ekspresyonu görülürken; bu oran non-seröz karsinomlarda %6.7 idi.

Lenf nodu metastazı gösteren olguların hepsinde Ki-67 indeksi %10'un üzerindeydi. Yine bu olguların, seröz ve non-seröz histopatolojik subtipine göre, Ki-67 indeksleri de anlamlı derecede yakın farklılık gösterdi ($p=0.070$). Lenf nodu metastazı gösteren seröz karsinomların %37.5'inde Ki-67 indeksi %50'nin üzerinde iken, non-seröz tipte olanların %100'ünde Ki-67 indeksi %50'nin altındaydı. Lenf nodu metastazlı olgularda, TP53 negatif olguların hepsinde Ki-67 indeksi de %50'nin altındaydı.

Evrelerine göre

Erken evre seröz karsinomların TP53 aşırı-ekspresyonları (%58.8), yine erken evre non-seröz karsinomlardan (%38.5) yüksekti ($p=0.082$). Diğer taraftan, geç evredeki karsinomlarda, non-seröz tipte olanların TP53 aşırı-ekspresyonu oranları (%77.8), seröz karsinomlardan (%69.2) daha yüksekti.

Erken ve geç evrelerdeki, seröz ve non-seröz karsinomların Ki-67 indeksleri arasında ise anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla, $p=0.759$, $p=0.362$).

Erken evre karsinomlarda, olguların TP53 ekspresyonları ile Ki-67 indeksleri arasında korelasyon gözlemlendi ($p=0.003$; Spearman, $r=0.001$). Olguların TP53 ekspresyonu dereceleri arttıkça, Ki-67 indeksi %50'nin üzerindeki olguların oranı da arttı. Yüksek derecede TP53 ekspresyonu gösteren erken evre karsinomların, Ki-67 proliferasyon indeksleri de yüksekti.

Tartışma

Solid tümörlerin moleküler temellerinin anlaşılması, biyolojik terapötik ajanlara yanıtın öngörülmesi ve anlaşılması açısından giderek artan bir önem kazanmaktadır (25). Tümörün metastatik potansiyelinin ve uzun dönem biyolojik davranışının doğru öngörülmesi, jinekolojik malignitelere de önemli bir terapötik ve prognostik amaçtır. Aynı tümör evresinde olan ve aynı tedaviyi almış hastalarda bile klinik gidişte farklılıklar görülebilmektedir. Prognostik ve öngörülmesi nedenlerle, bazı başka organ kanserlerinde (örneğin meme kanseri) rutin olarak çalışılan biyolojik faktörler, over karsinomlarında nadiren kullanılmaktadır (23). Oysa, metastatik ilerleyiş ya da nüks riski olan, erken evre over kanserli hastalarda biyolojik prognostik belirteçlere gereksinim vardır. Bu prognostik belirteçlere göre, mümkün olduğu kadar erken dönemde, seçilmiş olguların daha yoğun tedaviye yönlendirilmesi sağlanabilir. Tümör ilerleyişinde meydana gelen hücresel olaylar zincirinin bir parçası olan biyolojik belirteçlerin, metastatik hastalığın klinik gidişi ile de paralellik göstermesi beklenir.

Over kanserlerinde, hücre döngüsü proteinleriyle yapılan immünohistokimyasal çalışmaların sonuçları tartışmalıdır (26). Hücre döngüsünü düzenleyici proteinlerin ekspresyonunun over karsinomlarının histopatolojik subtiplerine göre değişiklik gösterip göstermediği konusu da tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (27). Overin benign, "borderline" ve malign tümörlerinde ve non-tümöral over dokularında hücre döngüsü düzenleyici proteinlerin ekspresyon paternlerini karşılaştıran ise az sayıda çalışma bulunmaktadır (2, 4). Yine overin malign ve "borderline" tümörlü olgularının tümörsüz karşı taraf overlerinde, hücre döngüsünü düzenleyici proteinlerin ekspresyon özellikleri ise, yeni çalışılmaya başlanmıştır.

Öte yandan, over kanserli hastaların sağkalımı ile ilgili yapılan geniş serili çalışmalarda, çok değişkenli analizlerde, tanı yaşı, diferansiyasyon derecesi, FIGO evresi, lenf nodu tutulumu ve primer rezidüel tümör bağımsız prognostik faktörler olarak saptanmıştır (26). Bu çalışmaların hemen hepsinde, evre, tek değişmeyen bağımsız öngörücü faktör olarak belirlenmiştir. Pek çok çalışmada, histopatolojik subtipin, sağkalım ile ilişkisi saptanmamıştır (27). Sağkalım verilerinin değerlendirilemediği, projemizin bu ayağında, çalışılan hücre döngüsü düzenleyici proteinlerle elde edilen immunoreaktivite sonuçları, histopatolojik prognostik parametreler (tanı yaşı, karsinomların subtipleri, diferansiyasyon dereceleri, lenf nodu tutulumları, periton sıvılarının sitopatolojisi, evreleri) ve histomorfolojik özellikleri (yapılanma, pleomorfizm ve mitotik aktivite) esas alınarak yorumlanmıştır. Ayrıca, over karsinomlarında prognostik gösterge olarak, hücre döngüsü düzenleyici pro-

teinlerin kombine değerlendirilmesinin, tek tek değerlendirmeden daha anlamlı olduğunun gösterilmesi nedeniyle (28), bu çalışmada, belirteçlerin kombine değerlendirilmelerine ve birbirleri ile ilişkilerinin irdelenmesine de özellikle önem verilmiştir. Overin yüzey epitelyal tümörlerinde, TP53 ve Ki-67 ile elde edilen sonuçlar, her belirteç ile ilgili literatür bilgileri ve çalışmamızın verileri ayrı başlıklar halinde gruplanarak; sırasıyla tartışılmaktadır.

I. Overin Yüzey Epitelinde TP53 Ekspresyonu

Tümör baskılayıcı gen TP53'ün mutasyonları, tümör hücrelerinin çekirdeğinde fonksiyonel olmayan protein artışına, apoptozisin gerçekleşmemesine ve bu transforme hücrelerin öncelikle çoğalmasına neden olur. Over karsinomunda TP53 gen mutasyonu sıklıkla görülür ve immunohistokimya ile TP53 proteininin saptanmasının prognostik öneme sahip olduğu gösterilmiştir (23).

Literatürde benign, "borderline" ve malign epitelyal over tümörlerinde ve tümörsüz over epitelinde TP53 ekspresyonunu konu alan çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bunlardan, Lee ve arkadaşlarının çalışmalarında, "borderline" tümörlerin %3'ünde TP53 immunoreaktivitesi, (tümör hücrelerinin %50'sinden azında) görülmüştür. Benign over tümörlerinde TP53 immunoreaktivitesi izlenmemiştir. TP53 ekspresyonu, malign tümörlerde, benign ve "borderline" tümörlere oranla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (4). Henriksen ve arkadaşlarının çalışmalarında, over tümörleri ile birlikte normal overde de TP53 ekspresyonu incelenmiştir. TP53 ekspresyonu, "borderline" ve malign tümörlerde saptanırken, benign tümörlerde ya da normal overde saptanmamıştır (29).

Diğer taraftan, Teneriello ve arkadaşlarının çalışmalarında, ne benign ne de "borderline" over tümörlerinde TP53 mutasyonu saptanmamıştır. Ayrıca K-ras ve TP53 mutasyon paternlerinin, "borderline" tümörlerde, karsinomlardan farklı olduğu gösterilmiştir (11). Yine, Kerner ve arkadaşlarının çalışmalarında da, ne benign ne de "borderline" over tümörlerinde TP53 geninde değişiklik saptanmamıştır (30).

Çalışmamızda, malign tümörlerin %61.0'inde ve "borderline" tümörlerin %40.7'sinde TP53 aşırı-ekspresyonu (>%5) gözlenirken; benign tümörlerin ve tümörsüz over dokularının tümü TP53 negatifti. Malign ve "borderline" olguların tümörsüz karşı taraf overlerinin hiçbirisinde de TP53 ile pozitif immunoreaksiyon saptanmadı.

Malign ve "borderline" tümörlerin TP53 ekspresyon dereceleri arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Karsinomların %31.0'i, tümör hücrelerinin %80'inden fazlasında TP53 ekspresyonu gösterirken; "borderline" olguların hiçbirisinde, bu derecede yüksek TP53 ekspresyonu saptanmadı. Bununla birlikte, çalışmamızda, "borderline" tümörlerde saptanan %40.7'lik TP53 pozitifliğinin, derecesi karsinoma kıyasla düşük olmakla birlikte, literatürdeki çalışmalarla kıyaslandığında, dikkat çekici derecede yüksek olduğu görülmektedir.

Türkiye'den, Kuşçu ve arkadaşları tarafından yapılmış bir başka çalışmada, malign tümörlerin (n=40) %72.5'inde ve benign tümörlerin (n=32) %37.5'i gibi çok yüksek bir oranda TP53 ekspresyonu saptanmıştır (31).

Cho ve arkadaşlarının çalışmalarında, seröz tipteki over tümörleri çalışılmış; yüksek mutasyon seviyeleri ve TP53 aşırı-

ekspresyonu daha çok karsinomlarda bildirilmiş; "borderline" tümörlerde nadir olarak saptanmıştır (12). Fauvet ve arkadaşlarının çalışmalarında ise, seröz tümörlerde TP53 mutasyonu, invaziv olanlarda sık ancak "borderline" olanlarda nadir; müsinöz tümörlerde ise TP53 mutasyonu, hem invaziv hem de "borderline" olanlarda nadir olarak saptanmıştır (32). Küçük bir seride, TP53 mutasyonu, müsinöz "borderline" tümörlerde seröz olanlara göre daha yüksek oranda gözlenmiştir (4).

Çalışmamızda, seröz ve müsinöz malign ve "borderline" tümör olguları TP53 ekspresyonları açısından birbiriyle karşılaştırıldıklarında, TP53 aşırı-ekspresyonu oranı malign seröz tümörlerde %66.1, malign müsinöz tümörlerde ise %42.9'dur. "Borderline" tümörlerde ise, seröz "borderline" tümörlerin %50'si TP53 aşırı-ekspresyonu gösterirken; müsinöz "borderline" tümörlerde bu oran %27.3'tü. Ancak, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Over karsinomlarında TP53 ekspresyonu ve histopatolojik prognostik parametrelerle ilişkisini irdleyen çalışmalarda saptanan TP53 pozitifliği %30-71 arasında değişmektedir (28). Aynı konuda, Türkiye'den yapılmış çalışmalarda da, %41.6 ile %72.5 arasında değişen oranlarda TP53 ekspresyonu bildirilmiştir (31, 33-38).

Diğer taraftan, geniş bir serinin (n=284) ele alındığı Hartmann ve arkadaşlarının çalışmalarında, over karsinomlarının %62.3'ünde TP53 ekspresyonu saptanırken; TP53 aşırı-ekspresyonunun, yüksek dereceli tümörlerle ilişkili olduğu görülmüştür. Azalan sağkalım ile ilişkili bulunan faktörler; evre III ve IV hastalık, derece 3 ve 4 tümör, ortalamamın altında yaş ve TP53 pozitifliğidir. Çok değişkenli analizde evre, derece ve yaşın bağımsız prognostik faktörler; ayrıca, evre I olgularda, TP53 pozitifliğinin, negatif prognostik belirteç olduğu gösterilmiştir (39). Çalışmamızda, TP53 aşırı-ekspresyonu gösteren evre I olgu oranımız %38.2'dir. Ayrıca, elli yaş üstündeki karsinomlu hastalarımızın %57.1'inde, tümör hücrelerinin %50'sinden fazlasında TP53 ekspresyonu saptandı ve bu oran 50 yaş altı grubundakinden anlamlı derecede yüksekti. Erken evre karsinomlar içerisinde, yüksek derecede pleomorfizm gösterenlerin %50'sinde yüksek TP53 ekspresyonu izlendi.

Geisler ve arkadaşlarının çalışmalarında da, (n=103) over karsinomlarında, TP53 pozitifliği, yüksek FIGO evresi ve yüksek derece ile ilişkili bulunmuş ve yüksek TP53 ekspresyonunun, sağkalımı belirleyen bağımsız öngörücü olduğu gösterilmiştir (28). Yine, Costa ve arkadaşlarının çalışmalarında, TP53 ekspresyonu; invazyon ve ileri evre ile ilişkili bulunmuştur (40). Çalışmamızda da, yüksek dereceli ve ileri evre tümörlerde, TP53 aşırı-ekspresyonunun derecesi ve oranı da yüksekti.

Köhler ve arkadaşlarının çalışmalarında ise, sadece erken evre (I/II) over karsinomlarında (n=52) TP53 ekspresyonu araştırılmış ve TP53 aşırı-ekspresyonunun, over(ler)e sınırlı (IA/IB) tümörlerde (%15), over dışına yayılmış tümörlere (IC/II) (%44) göre daha düşük oranda bulunduğu saptanmıştır (8). Çalışmamızda da, evre ilerledikçe, TP53 ekspresyonu gösteren olguların oranında da lineer artış gözlemlendi.

Öte yandan, Seagusa ve arkadaşlarının çalışmalarında, yüksek mitotik indeks ve Ki-67 değerlerinin; yüksek TP53 immunoreaktivitesi ile anlamlı ilişkisi gösterilmiştir. Derece 3 tümörlerde, derece 1-2 tümörlere göre daha yüksek Ki-67 ve TP53 ekspresyonları saptanmıştır. Evre III/IV tümörlerde de evre I/II

tümörlere göre daha yüksek Ki-67 ve TP53 ekspresyonları elde edilmiştir (41). Çalışmamızda, derece I olgulardan, Ki-67 indeksi %50'nin altındaki olguların %31'inde; Ki-67 indeksi %50'nin üzerindeki olguların ise %63.6'sında TP53 aşırı-ekspresyonu saptandı. Bu bulgu, sadece solid yapılanma gösteren ve/veya pleomorfik, kötü diferansiye, yüksek dereceli tümörlerin değil; yüksek proliferatif aktiviteye sahip iyi diferansiye over karsinomlarının 2/3'ünün de TP53 aşırı-ekspresyonu gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Over karsinomlarının histopatolojik subtipleri içerisinde, seröz over karsinomları, genel olarak, non-seröz karsinomlara göre anlamlı derecede yüksek TP53 ekspresyonu gösterirler. Konvansiyonel yüksek dereceli seröz karsinomda, TP53 mutasyonlarının, karsinogenezin erken döneminde gerçekleştiği düşünülmektedir (25). Bu konuda, Lee ve arkadaşlarının çalışmalarında, TP53 ekspresyonunun, yüksek tümör derecesi ve seröz subtiple anlamlı derecede ilişkili olduğu gösterilmiştir (4). Milner ve arkadaşlarının çalışmalarında da, yüksek dereceli seröz karsinomlarda, endometrioid ve müsinöz karsinomlara göre daha sık TP53 mutasyonları saptanmıştır (9). Yine, ülkemizden Doğan ve arkadaşlarının çalışmalarında da (n=82), TP53 ekspresyonunun, seröz subtip ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (33). Çalışmamızda da, seröz karsinomların %42.9'unda, tümör hücrelerinin %80'inden fazlasında TP53 ekspresyonu görülürken; bu oran, non-seröz karsinomlarda %15.9 idi.

Öte yandan, Ho ve arkadaşları, berrak hücreli over karsinomunda, diğer histopatolojik subtiplerden çok daha nadiren TP53 mutasyonu saptamışlardır (42). Shimizu ve arkadaşları da, berrak hücreli over karsinomu olgularında (n=13) TP53 gen mutasyonu saptamamışlardır (27). Willner ve arkadaşlarının çalışmalarında ise, seröz karsinoma benzer şekilde, yüksek dereceli endometrioid karsinomda ve berrak hücreli karsinomda da yüksek oranda TP53 mutasyonu saptanmıştır (25). Çalışmamızda yer alan dört berrak hücreli tümörün ise, üçünde TP53 aşırı-ekspresyonu saptandı. Bu olguların hepsinin de geç evrede oldukları dikkati çekti. Endometrioid karsinomlarda, TP53 ekspresyonunun derecesinin tümörün diferansiyasyon derecesi (p=0.028) ve mitotik aktivitesi ile ilişkili olarak arttığı görüldü.

Diğer taraftan, klinik bulguların da değerlendirildiği çalışmalardan, Eltabbakh ve arkadaşlarının çalışmalarında, TP53 aşırı-ekspresyonu, ileri evre, yüksek derece, suboptimal sitoreduksiyon, asit varlığı ve yüksek S-faz fraksiyonu ile ilişkili bulunmuştur (43). Henriksen ve arkadaşlarının çalışmalarında ise, TP53 ekspresyonunun, kötü diferansiyasyonla ilişkili olduğu gibi, aynı zamanda, hastalığın yayılımı, rezidüel tümör kitlesi ve azalan sağkalım ile de ilişkili olduğu gözlenmiştir. Ek olarak, cerrahi sonrası rezidü tümörü kalan hasta grubunda, TP53 pozitif tümörlerde, negatif olanlara göre sağkalımın anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (29).

Ülkemizden, Doğan ve arkadaşlarının çalışmalarında (n=82) da, TP53 ekspresyonunun, seröz subtip, yüksek derece ve pozitif peritoneal sitopatolojiye ek olarak, rezidü tümör, ileri evre ve kötü sağkalım ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir (33). Yine Özalp ve arkadaşlarının çalışmalarında da, over karsinomlarında (n=26) TP53 aşırı-ekspresyonu, yüksek derece, ileri evre ve kısa ortalama sağkalım süresi ile ilişkili bulunmuştur (34, 35).

Berker ve arkadaşlarının çalışmalarında (n=50) ise, TP53 aşırı-ekspresyonu, histopatolojik parametrelerden sadece yüksek mitotik indeks ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur (36, 37). İkinci bakı laparotomi bulgularının TP53 ekspresyonu ile ilişkisinin irdelendiği, Ayhan ve arkadaşlarının çalışmalarında (n=48) ise, TP53 pozitif tümörlerin, ikinci bakı laparotomi sonuçlarının da pozitif olma eğilimi gösterdiği saptanmıştır (38).

Dansonka-Mieszkowska ve arkadaşları, over karsinomlarının, farklı popülasyonlarda TP53 mutasyon spektrumunda farklılıklar olabileceğini destekleyen bulgular saptamıştır (7). Çalışmamızda, "borderline" tümör olgularında gözlediğimiz, literatüre kıyasla yüksek TP53 aşırı-ekspresyonu (tümör hücrelerinin %5'inden fazlasında TP53 ekspresyonu gösteren olguların) oranı (%40.7), bu makaleyi destekleyebilecek, çarpıcı bir bulgumuzdur. Ayrıca ülkemizden, Kuşçu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (31), benign over tümörlerinde de çok yüksek TP53 ekspresyonu (%37.5) oranı saptanmıştır. İmmunohistokimya tekniği kullanılarak saptanan bu yüksek TP53 aşırı-ekspresyonu oranlarının, ileride TP53 mutasyon analizleri ile de desteklenmesi, ülkemizdeki duruma açıklık getirebilir.

Over karsinomlarında, immunohistokimya tekniği kullanılarak belirlenen TP53 ekspresyonunun prognostik ve öngörülmesi değerini araştıran çalışmaların sonuçları çelişkilidir. TP53 aşırı-ekspresyonunu, tedavi yanıtı ve sağkalım için negatif öngörücü olarak saptayan bazı araştırmacıların yanı sıra (14-17, 33-35, 44); diğer bazı araştırmacılar, herhangi bir ilişki saptamamışlardır (13, 18-21).

Over karsinomlarında, tümör yükünü azaltıcı ("debulking") cerrahiye takiben, ileri evre hastalar genellikle platin bazlı kemoterapi alırlar ve yanıt oranı %70-80'dir. Bununla birlikte, olguların %20-30'unda kemoterapi sırasında progresyon ya da tedavi sonrası 6 ay içinde nüks görülür ve bu tümörler platin-refrakter/dirençli tümörler olarak adlandırılırlar. Bu tümörlerde, platin ve diğer ikincil ajanlarla tedavi başarısı düşüktür ve daha kötü prognoz görülür (45).

Kemoterapi ile tetiklenen hücre ölümü, baskın olarak apoptozisten kaynaklanır (43) ve platin bazlı kemoterapinin apoptozisi tetiklemesi nedeniyle, intakt apoptozis mekanizmaları, over karsinomu hücre kültürlerinin kullanıldığı deneysel modellerde, daha iyi kemoterapi yanıtını göstermiştir (40). Düzensizleşmiş apoptozis ise, tümör gelişimi ve kemorezistansı içeren hücresel değişimde kritik rol oynar (45). Tümör baskılayıcı gen TP53, apoptozis ve platin duyarlılığıyla ilişkisi nedeniyle over karsinomunda özellikle önemlidir (46).

Kemoterapi direnci (kemorezistans) fenomeni, pek çok onkogen ve sitokin aktivasyonu ile giden karmaşık bir süreçtir. TP53 geni ile apoptozis ve kemorezistansın moleküler faktörleri arasında karmaşık bir etkileşim vardır. Hücre, DNA'sını onarabilir durumda değilse, "wild-type" TP53, apoptozis yoluyla hücre ölümünü tetikleyebilir; oysa mutant TP53 bunu yapabileceğine kapasitesine sahip değildir (43). Kemorezistan over karsinomları ile, TP53 aşırı-ekspresyonu ya da mutasyonu arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

Over karsinomlarının önemli bir kısmında TP53 mutasyonu bulunmakla birlikte, TP53 mutasyonlarının hepsi fonksiyonel olarak aynı değildir. Mutasyonların büyük bir kısmı TP53 fonksiyonunu baskımlarken; diğerleri TP53'ün normal fonksiyonunu hafifçe etkilerler. Böylece tümörü, PTEN aşırı sunumuna duyarlı halde

birakırlar (47). İmmunohistokimyasal olarak, TP53 ekspresyonu gösteren hücrelerin büyük bir kısmı TP53 mutasyonu içerir. Mutasyonsuz ("wild-type") TP53 pozitif tümörlerin, farklı karsinogenik mekanizmaya sahip olabilecekleri düşünülmektedir (12).

Belirlenen TP53 mutasyonlarından oluşturulan bir modele göre; aminoasitleri doğrudan DNA ya da çinko bağlarını etkileyen "missense" mutasyonlu olgular, çok agresif klinik fenotip sergilemektedirler. Tersine, herhangi bir korunmuş ya da yapısal alan dışındaki "missense" mutasyonları, klinik gidişi etkilemezler. "Null" mutasyonlar ve diğer "missense" mutasyonları, "intermedier" agresif klinik fenotip gösterirler (48). TP53 mutasyonlarının büyük bir bölümü, proteinin DNA bağlama kapasitesinin ortadan kalktığı ve bu nedenle non-fonksiyonel hale geldiği yapısal değişiklikler şeklindeki "missense" varyantlardır (49).

Diğer taraftan, yayınlanan çalışmalar, BRCA-1 ilişkili tümörlerin %60 ya da daha fazlasında TP53 mutasyonu bulunduğunu göstermektedir. Bu oran, sporadik tümörlerdekinden anlamlı derecede yüksektir ve BRCA-1 ilişkili tümörlerin, sporadik tümörlerden farklı olarak, spesifik bir karsinogenez yolağında geliştiğini düşündürmektedir (50). Amikura ve arkadaşlarının çalışmalarında, TP53 somatik mutasyonları, BRCA-1 ilişkili olguların (n=46) %54.3'ünde ve sporadik olguların (n=93) %43'ünde saptanmıştır. Non-seröz karsinomlarda TP53 mutasyonlu sporadik olguların oranı, seröz tümörlere göre anlamlı derecede düşüktür (%18.5'e karşılık %53). Buna karşılık, seröz ve non-seröz tümörlerde TP53 mutasyonlu BRCA-1 ilişkili olguların oranı arasında anlamlı fark yoktur (%37.5'e karşılık %57.9) (50). Bu bulgularla, TP53 somatik mutasyonlarının, sporadik non-seröz tümörlerin karsinogenezinde, sporadik seröz tümörler ya da BRCA-1 ilişkili tümörlere göre daha az rol oynadığı sonucuna varılmıştır (50).

İmmunohistokimyasal olarak aşırı-ekspresyon ("overekspresyon"), TP53 mutasyonunun varlığını göstermekle birlikte; immunohistokimya için bazı sınırlar söz konusudur. Çalışmalar göstermiştir ki; immunohistokimya ile saptanabilen, stabil mutant proteine yol açan TP53 "missense" mutasyonlarının aksine; delesyonlar, eklenmeler ya da "splice site" mutasyonları gibi, stabil proteinlere neden olmayan diğer mutasyonlar, immunohistokimya ile saptanamazlar. İmmunohistokimya tek başına kullanıldığında, yanlış negatiflik oranı %30'a yaklaşabilir. Diğer taraftan Righetti ve arkadaşları, yanlış pozitiflik oranını (saptanabilir mutasyon olmaksızın aşırı-ekspresyon görülmesi) %15 olarak saptamışlardır. Bu yanlış pozitif olguların nedeni, TP53'ün stabilizasyonuna katkıda bulunabilen, TP53 ile etkileşen proteinlerin varlığı ya da ekspresyonun düzenlenmesindeki değişikliklerle açıklanmıştır (51). Çalışmamızda, olgularımıza TP53 mutasyon analizi yapılamamıştır. Bu nedenle, bu konuda verimiz yoktur.

Sonuçlarımız, TP53 ekspresyonunun, malign ve "borderline" over tümörlerinin gelişimindeki rolünü desteklemektedir. Ek olarak, sonuçlarımız, TP53 ekspresyonunun pozitifliği kadar; ekspresyon gösteren tümör hücrelerinin yüzdesinin de, "borderline" ve malign tümörler arasında ve karsinomların histopatolojik prognostik özelliklerine göre farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır.

II. Overin Yüzey Epitelinde Ki-67 Proliferasyon İndeksi

Ki-67 proteini, hücre döngüsünün tüm aktif fazlarında (G₁, S, G₂ ve mitoz) bulunan; ancak dinlenme fazındaki (G₀) hücreler-

de izlenmeyen bir nükleer antijendir. Ki-67, dokularda çoğalma oranının saptanmasında çok kullanışlı bir belirteçtir ve over karsinomunda, yüksek Ki-67 ekspresyonu ile kötü prognoz arasında anlamlı ilişki gösteren çalışmalar bulunmaktadır (23).

Benign, "borderline" ve malign epitelyal over tümörlerinde Ki-67 ekspresyonunu konu alan çalışmalardan, Kerner ve arkadaşlarının çalışmalarında, Ki-67 immünoaktivitesi, benign ve "borderline" tümörlerle karşılaştırıldığında karsinomlarda belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada, atipinin derecesi ile hücre döngüsünü düzenleyici proteinlerin ekspresyonu arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve sadece Ki-67 ekspresyonu ile atipinin derecesi arasında dikkate değer pozitif korelasyon saptanmıştır (31). Yine, Konstantinidou ve arkadaşlarının çalışmasında da (n=44), karsinomların, "borderline" tümörlere göre daha yüksek oranda Ki-67 pozitifliği gösterdiği görülmüştür (52). Darai ve arkadaşlarının çalışmalarında ise, benign (n=25) tümörlerin ortalama Ki-67 indeksinin %1, "borderline" (n=35) tümörlerin %5 ve malign (n=20) tümörlerin ise %44.5 olduğu saptanmıştır (53).

Çalışmamızda; benign tümörlerde, tümörsüz over dokularında, malign ve "borderline" tümör olgularının tümörsüz karşı taraf overlerinde ortalama Ki-67 indeksleri %3'ün altında idi. Karsinomlarda ortalama Ki-67 indeksi %41.3 iken; "borderline" tümörlerde %17.2 idi ve aralarındaki fark anlamlıydı. Karsinomların %43.0'ünde, "borderline" tümörlerin ise %11.1'inde olguların Ki-67 indeksleri %50'nin üzerindeydi. Bunlardan, müsinöz "borderline" tümörlerin %27.3'ünde Ki-67 indeksi %50'nin üzerinde iken (ortalama Ki-67 indeksi %31.4); seröz "borderline" tümörlerde Ki-67 indeksi %50'nin üzerinde olgu yoktu (ortalama Ki-67 indeksi %7.5). Seröz karsinomlar ile seröz "borderline" tümörlerin ortalama Ki-67 indeksleri arasındaki fark da belirgin ve istatistiksel olarak anlamlıydı. Ancak, müsinöz karsinomlar ile müsinöz "borderline" tümörlerin ortalama Ki-67 indekslerinin birbirine çok yakın değerlerde olduğu dikkati çekti. Bu bulgu, kanımızca, müsinöz tümörlerin karsinogenezinde kabul edilen (1), "borderline" müsinöz tümörden müsinöz karsinoma transformasyon teorisini de desteklemektedir. Bu çalışma ile gösterilememiş olmakla birlikte; yoğun hücre proliferasyonu gösteren müsinöz "borderline" tümörlerin biyolojik davranışlarının da iyi diferansiyasyon müsinöz karsinoma benzer olabileceği, karsinomlarda Ki-67 indeksinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilen histopatolojik parametrelere (tümörün diferansiyasyon derecesi) bakıldığında, dolaylı olarak öngörülebilir.

Çalışmamızda, seröz "borderline" tümörlerin ortalama Ki-67 indeksleri ise, müsinöz "borderline" tümörlerden anlamlı derecede düşüktü. Seröz "borderline" tümörler ile seröz karsinomların proliferasyon hızları arasındaki belirgin farklılık da, kanımızca, seröz "borderline" tümörden seröz karsinoma transformasyonun ise daha nadir olabileceği teorisini (1) destekleyen bir bulgudur.

Over karsinomlarında Ki-67 ekspresyonunun histopatolojik prognostik parametrelerle ilişkisinin de irdelendiği Konstantinidou ve arkadaşlarının çalışmasında, karsinomların, Ki-67 proliferasyon indeksinin, histolojik derece ile birlikte artış gösterdiği de saptanmıştır (52). Çalışmamızda da, karsinomların diferansiyasyon derecelerine göre Ki-67 indeksleri arasında anlamlı fark gözlemlendi. Derece I karsinomların %72.5'inde,

Ki-67 indeksi %50'nin altında iken; derece III karsinomların %62.1'inde, %50'nin üzerinde Ki-67 indeksi saptandı.

Öte yandan, Shimizu ve arkadaşlarının çalışmalarında, over karsinomlarının farklı histopatolojik subtipleri arasında, ortalama Ki-67 indeksleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmazken; farklı evrelerdeki karsinomların ortalama Ki-67 indeksleri arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Geç evredeki (evre III ve IV) olguların ortalama Ki-67 indeksleri, erken evredekilerden anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (27). Saegusa ve arkadaşlarının çalışmalarında ise, (n=131), ortalama Ki-67 indeksi değerleri; histopatolojik subtip dikkate alındığında, seröz karsinomlarda, berrak hücreli karsinoma göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Evre III/IV tümörlerde de evre I/II tümörlere göre daha yüksek Ki-67 indeksleri saptanmıştır (41). Çalışmamızda, karsinomların farklı histopatolojik subtiplerinin ortalama Ki-67 indeksleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ancak, karsinomların subtiplerine göre Ki-67 ekspresyonları ve diğer histopatolojik prognostik parametrelerle ilişkilerini değerlendirildiğinde; seröz karsinomlarda tümörün diferansiyasyon derecesi, pleomorfizm, mitotik aktivite ve yapılanma özelliği; endometrioid karsinomlarda ise, hastanın yaşı ve evre ile Ki-67 indeksi arasında anlamlı ilişki bulundu.

Schindlbeck ve arkadaşlarının çalışmalarında da, yüksek Ki-67 ekspresyonunun daha ileri evre ve peritoneal yayılımı olan tümörlerle ilişkili olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada, yüksek Ki-67 indeksinin nüks gelişimine de işaret edebileceği belirtilmektedir; ve sonuç olarak, Ki-67 immunoreaktivitesinin, prognozla ilgili verilere eklenmesi gerektiği vurgulanmaktadır (23).

Çalışmamızda, farklı evrelerdeki karsinom olguları arasında, Ki-67 proliferasyon indeksleri açısından gözlenen fark istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı. Ancak, erken evre tümörlerin yapılanma özellikleri ile Ki-67 indeksleri arasında anlamlı ilişki saptandı (p=0.030). Solid yapılanma gösteren erken evre karsinomların %80'inde Ki-67 indeksi %50'nin üzerindeydi. Geç evre tümörlerde farklılık saptanmadı.

Çalışmamızda ayrıca, paradoksal olarak, lenf nodu metastazı yapmış malign tümörlerin %80'inin Ki-67 indeksleri %50'nin altında iken; lenf nodu metastazı bulunmayan tümörlerin %55.9'unda Ki-67 indeksi %50'nin üzerindeydi. Bu bulgu, over karsinomlarının lenf nodu metastazı yaptıktan sonra, proliferasyon hızlarının azaldığını göstermektedir.

Over karsinomlarında Ki-67 ekspresyonunun prognostik ve öngörüsül değeri konusunda yapılan çalışmalardan Konstantinidou ve arkadaşlarının çalışmasında (n=44), yüksek Ki-67 proliferasyon indeksinin, olumsuz prognostik gösterge olduğu saptanmıştır (52). Costa ve arkadaşlarının çalışmasında da, yüksek Ki-67 indeksinin daha kısa sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir ve aynı çalışmada, TP53 ve Ki-67 immunoreaktivitesi arasında da pozitif korelasyon saptanmıştır (40). Çalışmamızda da, seröz karsinomlarda, olguların TP53 ekspresyonları ile Ki-67 indeksleri arasında anlamlı lineer ilişki gözlemlendi. TP53 ekspresyonunun oranı arttıkça, Ki-67 indeksi %50'nin üzerindeki seröz karsinom olgularının sayısı da arttı. Benzer ilişki endometrioid karsinomlarda da gözlemlendi (Spearman, r=0.022).

Diğer taraftan, ülkemizden Karaburun ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, over karsinomlarında (n=37), prognos-

tik değere sahip histopatolojik parametrelerin hiçbiri ile Ki-67 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (54).

Over karsinomunda prognozun iyileştirilebilmesi için daha iyi araçların saptanması büyük önem taşımaktadır. Böylelikle, tedavinin daha olguya özelleşmesi mümkün olabilir. Ancak, bulguların, aynı zamanda klinik izlem sonuçları bulunan, daha geniş olgu serilerinde yapılacak farklı çalışmalarla geçerliliğinin gösterilmesine ihtiyaç vardır.

Sonuç

Çalışmamızda, overin malign ve "borderline" epitelyal tümörlerinde TP53 (sırasıyla, %61.0 ve %40.7 oranında TP53 aşırı-ekspresyonu) ve Ki-67 (sırasıyla, %41.3 ve %17.2 ortalama Ki-67 indeksi) ekspresyonları birbirinden anlamlı derecede farklıdır. "Borderline" over tümörlerinde TP53 aşırı-ekspresyonu (tümör hücrelerinin >%5), literatüre kıyasla, olgularımızda yüksektir.

Çalışmamıza göre: karsinomlarda, yaş arttıkça, az/indiferansiye ve seröz subtipde, solid ve glandüler yapılanmada, pleomorfizm ve mitoz arttıkça, diferansiyasyon azaldıkça, lenf nodu yayılımında ve evre arttıkça TP53 ekspresyonu da artmaktadır. Bu artış, yüksek Ki-67 indeksi ile korelasyon göstermektedir. Seröz subtipde, solid yapılanma gösteren yüksek dereceli tümörlerde, pleomorfizm ve mitoz arttıkça Ki-67 proliferasyon indeksi de daha yüksek bulunmaktadır. Paradoksal olarak, lenf nodu yayılımı yapan karsinomlarda Ki-67 proliferasyon indeksi düşmektedir.

Bu bulgular, farklı histopatolojik, biyolojik ve prognostik özelliklerdeki over karsinomlarının gelişiminde, hücre döngüsü ile ilişkili farklı yolların bulunduğunu desteklemektedir. Dolayısıyla, over kanserinin önlenmesinde ve/veya tedavisinde, olguya özgü belirlenmesi gerekebilecek farklı moleküler hedeflerin varlığını düşündürmektedir. Bu nedenle, over karsinomlarının hem histopatolojik hem de biyolojik parametrelere göre sınıflandırılması (stratifikasyonu), gelecekte daha olguya özgün tedavi protokollerinin belirlenmesinde yararlı olabilir.

Bulgularımız, güncel literatür eşliğinde değerlendirildiğinde, over karsinomlarının rutin histopatolojik incelemesi yapılırken, tümör subtiplemesi ve derecelendirilmesinde standardizasyon sağlanmasının yanı sıra; geleneksel histopatolojik prognostik parametrelere ek olarak, TP53 ekspresyonunun durumu ve derecesi ile Ki-67 proliferasyon indeksinin de çalışılmasının yararlı olabileceği görüşündeyiz. Sonuçların, standart tedavi protokolleri ile tedavi edilmiş ve hepsinde yeterli izlem süresi bulunan, daha geniş olgu serilerinde, sağkalım ile ilişkilerinin de sınanması sonrası, daha da değer kazanacağı düşüncesindeyiz.

Teşekkür

Bu makale, Kocaeli Üniversitesi Rektörlüğü, Bilimsel Araştırmalar Yönetim Kurulu tarafından (20. 06. 2006 tarihli kararı; proje no:38) desteklenen, "Egg-Shell Projesi"nin ilk ayağı olarak sunulmaktadır.

Bu çalışmanın istatistiksel değerlendirmesi için, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. Onur Hamzaoğlu'ndan, kullanılan gereç, yöntem ve istatistiksel testler açısından danışmanlık alınarak; istatistiksel testler ve yorumlamalar, yazarlardan Doç. Dr. Sevgiye Kaçar Özkara tarafından yapılmıştır.

Bu makalede, Doç. Dr. Sevgiye Kaçar Özkara tarafından yönetilen, Dr. Deniz Filinte'nin "Tıbbi Patoloji Bilim Uzmanlığı" tezinin ilk bölümünün bulguları yer almaktadır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Kaynaklar

1. Tavassoli FA, Deville P. (editors), World Health Organisation Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs. Lyon, IARC (International Agency for Research on Cancer) Press, 2003: 9-112.
2. Palazzo JP, Monzon F, Burke M, Hyslop T, Dunton C, Barusevicius A, et al. Overexpression of p21WAF1/CIP1 and MDM2 characterizes serous borderline ovarian tumors. *Hum Pathol* 2000;31:698-704. [\[CrossRef\]](#)
3. Santos AM, Sousa H, Pinto D, Portela C, Pereira D, Catarino R, et al. Linking TP53 codon 72 and p21 nt590 genotypes to the development of cervical and ovarian cancer. *Eur J Cancer* 2006;42:958-63. [\[CrossRef\]](#)
4. Lee H, Park G, Jung JH, Ahn WS, Lee JM, Kim BK, et al. Diagnostic approach using the expression profiling of the P53 tumor suppressor gene and its related proteins in ovarian epithelial tumors. *Int J Gynecol Cancer* 2005;15:453-61. [\[CrossRef\]](#)
5. Plisiecka-Hałasa J, Karpinska G, Szymanska T, Ziółkowska I, Madry R, Timorek A, et al. P21WAF1, P27KIP1, TP53 and C-MYC analysis in 204 ovarian carcinomas treated with platinum-based regimens. *Ann Oncol* 2003;14:1078-85. [\[CrossRef\]](#)
6. Milde-Langosch K, Hagen M, Bamberger AM, Loning T. Expression and prognostic value of the cell-cycle regulatory proteins, Rb, p16MTS1, p21WAF1, p27KIP1, cyclin E, and cyclin D2, in ovarian cancer. *Int J Gynecol Pathol* 2003;22:168-74. [\[CrossRef\]](#)
7. Dansonka-Mieszkowska A, Ludwig AH, Kraszewska E, Kupryjanczyk J. Geographical variations in TP53 mutational spectrum in ovarian carcinomas. *Ann Hum Genet* 2006;70:594-604. [\[CrossRef\]](#)
8. Köhler MF, Kerns BJ, Humphrey PA, Marks JR, Bast RC Jr, Berchuck A. Mutation and overexpression of p53 in early-stage epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1993;81:643-50.
9. Milner BJ, Allan LA, Eccles DM, Kitchener HC, Leonard RC, Kelly KF, et al. p53 mutation is a common genetic event in ovarian carcinoma. *Cancer Res* 1993;53:2128-32.
10. Okamoto A, Sameshima Y, Yokoyama S, Terashima Y, Sugimura T, Terada M, et al. Frequent allelic losses and mutations of the p53 gene in human ovarian cancer. *Cancer Res* 1991;51:5171-6.
11. Teneriello MG, Ebina M, Linnoila RI, Henry M, Nash JD, Park RC, et al. p53 and Ki-ras gene mutations in epithelial ovarian neoplasms. *Cancer Res* 1993;53:3103-8.
12. 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;16:1000-6. [\[CrossRef\]](#)
13. Psyrris A, Kountourakis P, Yu Z, Papadimitriou C, Markakis S, Camp RL, et al. Analysis of p53 protein expression levels on ovarian cancer tissue microarray using automated quantitative analysis elucidates prognostic patient subsets. *Ann Oncol* 2007;18:709-15. [\[CrossRef\]](#)
14. Reles A, Wen WH, Schmider A, Gee C, Runnebaum IB, Kilian U, et al. Correlation of p53 mutations with resistance to platinum-based chemotherapy and shortened survival in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:2984-97.
15. Concin N, Hofstetter G, Berger A, Gehmacher A, Reimer D, Watrowski R, et al. Clinical relevance of dominant-negative p73 isoforms for responsiveness to chemotherapy and survival in ovarian cancer: evidence for a crucial p53-p73 cross-talk in vivo. *Clin Cancer Res* 2005;11:8372-83. [\[CrossRef\]](#)
16. Gadducci A, Di Cristofano C, Zavaglia M, Giusti L, Menicagli M, Cosio S, et al. P53 gene status in patients with advanced serous epithelial ovarian cancer in relation to response to paclitaxel-plus platinum-based chemotherapy and long-term clinical outcome. *Anticancer Res* 2006;26:687-93.
17. Laframboise S, Chapman W, McLaughlin J, Andrulis IL. p53 mutations in epithelial ovarian cancers: possible role in predicting chemoresistance. *Cancer J* 2000;6:302-8.
18. Shahin MS, Hughes JH, Sood AK, Buller RE. The prognostic significance of p53 tumor suppressor gene alterations in ovarian carcinoma. *Cancer* 2000;89:2006-17. [\[CrossRef\]](#)
19. Fallows S, Price J, Atkinson RJ, Johnston PG, Hickey I, Russell SE. P53 mutation does not affect prognosis in ovarian epithelial malignancies. *J Pathol* 2001;194:68-75. [\[CrossRef\]](#)
20. Wang Y, Helland A, Holm R, Skomedal H, Abeler VM, Danielsen HE, et al. TP53 mutations in early-stage ovarian carcinoma, relation to long-term survival. *Br J Cancer* 2004;90:678-85. [\[CrossRef\]](#)
21. Goodheart MJ, Ritchie JM, Rose SL, Fruehauf JP, De Young BR, Buller RE. The relationship of molecular markers of p53 function and angiogenesis to prognosis of stage I epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:3733-42. [\[CrossRef\]](#)
22. Galic V, Willner J, Wollan M, Garg R, Garcia R, Goff BA, et al. Common polymorphisms in TP53 and MDM2 and the relationship to TP53 mutations and clinical outcomes in women with ovarian and peritoneal carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer* 2007;46:239-47. [\[CrossRef\]](#)
23. Schindlbeck C, Hantschmann P, Zerzer M, Jahns B, Rjosk D, Janni W, et al. Prognostic impact of Ki-67, p53, human epithelial growth factor receptor 2, topoisomerase IIalpha, epidermal growth factor receptor, and nm23 expression of ovarian carcinomas and disseminated tumor cells in the bone marrow. *Int J Gynecol Cancer* 2007;17:1047-55. [\[CrossRef\]](#)
24. Silverberg SG. Histopathologic grading of ovarian carcinoma: a review and proposal. *Int J Gynecol Pathol* 2000;19:7-15. [\[CrossRef\]](#)
25. Willner J, Wurz K, Allison KH, Galic V, Garcia RL, Goff BA, et al. Alternate molecular genetic pathways in ovarian carcinomas of common histological types. *Hum Pathol* 2007;38:607-13. [\[CrossRef\]](#)
26. Schmider-Ross A, Pirsig O, Gottschalk E, Denkert C, Lichtenegger W, Reles A. Cyclin-dependant kinase inhibitors CIP1 (p21) and KIP1 (p27) in ovarian cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006;132:163-70. [\[CrossRef\]](#)
27. Shimizu M, Nikaido T, Toki T, Shiozawa T, Fujii S. Clear cell carcinoma has an expression pattern of cell cycle regulatory molecules that is unique among ovarian adenocarcinomas. *Cancer* 1999;85:669-77. [\[CrossRef\]](#)
28. Geisler HE, Geisler JP, Miller GA, Geisler MJ, Wiemann MC, Zhou Z, et al. p21 and p53 in ovarian carcinoma: their combined staining is more valuable than either alone. *Cancer* 2001;92:781-6. [\[CrossRef\]](#)
29. Henriksen R, Strang P, Wilander E, Bäckström T, Tribukait B, Oberg K. p53 expression in epithelial ovarian neoplasms: relationship to clinical and pathological parameters, Ki-67 expression and flow cytometry. *Gynecol Oncol* 1994;53:301-6. [\[CrossRef\]](#)
30. Kerner R, Sabo E, Gershoni-Baruch R, Beck D, Ben-Izhak O. Expression of cell cycle regulatory proteins in ovaries prophylactically removed from Jewish Ashkenazi BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: correlation with histopathology. *Gynecol Oncol* 2005;99:367-75. [\[CrossRef\]](#)
31. Kusc E, Ozdemir BH, Erkanli S, Haberal A. HPV and p53 expression in epithelial ovarian carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2005;26:642-5.
32. Fauvet R, Dufournet C, Poncelet C, Uzan C, Hugol D, Darai E. Expression of pro-apoptotic (p53, p21, bax, bak and fas) and anti-apoptotic (bcl-2 and bcl-x) proteins in serous versus mucinous borderline ovarian tumours. *J Surg Oncol* 2005;92:337-43. [\[CrossRef\]](#)

33. 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;97:46-52. [\[CrossRef\]](#)
34. Ozalp SS, Yalcin OT, Basaran GN, Artan S, Kabukcuoglu S, Minsin TH. Prognostic significance of deletion and over-expression of the p53 gene in epithelial ovarian cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2000;21:282-6.
35. Ozalp S, Yalcin OT, Minsin TH. Expression of p53 in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 2000;71:277-8. [\[CrossRef\]](#)
36. Berker B, Dunder I, Ensari A, Cengiz SD. Prognostic value of p53 accumulation in epithelial ovarian carcinomas. *Arch Gynecol Obstet* 2002;266:205-9. [\[CrossRef\]](#)
37. Berker B, Dunder I, Ensari A, Cengiz SD, Simsek E. Prognostic significance of apoptotic index and bcl-2 and p53 expression in epithelial ovarian carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2002;23:505-10.
38. Ayhan A, Tuncer ZS, Ayhan A. p53 expression in ovarian carcinoma with regard to second-look findings. *Eur J Gynaecol Oncol* 1998;19:501-2.
39. Hartmann LC, Podratz KC, Keeney GL, Kamel NA, Edmonson JH, Grill JP, et al. Prognostic significance of p53 immunostaining in epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1994;12:64-9.
40. Costa MJ, Hansen CL, Walls JE, Scudder SA. Immunohistochemical markers of cell cycle control applied to ovarian and primary peritoneal surface epithelial neoplasms: p21(WAF1/CIP1) predicts survival and good response to platin-based chemotherapy. *Hum Pathol* 1999;30:640-7. [\[CrossRef\]](#)
41. Saegusa M, Machida B D, Okayasu I. Possible associations among expression of p14(ARF), p16(INK4a), p21(WAF1/CIP1), p27(KIP1), and p53 accumulation and the balance of apoptosis and cell proliferation in ovarian carcinomas. *Cancer* 2001;92:1177-89. [\[CrossRef\]](#)
42. Ho ES, Lai CR, Hsieh YT, Chen JT, Lin AJ, Hung MH, et al. p53 mutation is infrequent in clear cell carcinoma of the ovary. *Gynecol Oncol* 2001;80:189-93. [\[CrossRef\]](#)
43. Eltabbakh GH, Mount SL, Beatty B, Simmons-Arnold L, Cooper K. Clinical and molecular differences between clear cell and papillary serous ovarian carcinoma. *J Surg Oncol* 2006;93:379-86. [\[CrossRef\]](#)
44. Høgdall EV, Kjaer SK, Blaakaer J, Christensen L, Glud E, Vuust J, et al. P53 mutations in tissue from Danish ovarian cancer patients: from the Danish "MALOVA" ovarian cancer study. *Gynecol Oncol* 2006;100:76-82.
45. Agarwal R, Kaye SB. Expression profiling and individualisation of treatment for ovarian cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2006;6:345-9. [\[CrossRef\]](#)
46. Fraser M, Chan SL, Chan SS, Fiscus RR, Tsang BK. Regulation of p53 and suppression of apoptosis by the soluble guanylyl cyclase/cGMP pathway in human ovarian cancer cells. *Oncogene* 2006;25:2203-12. [\[CrossRef\]](#)
47. Green JA, Berns EM, Coens C, van Luijk I, Thompson-Hehir J, van Diest P, et al. Alterations in the p53 pathway and prognosis in advanced ovarian cancer: a multi-factorial analysis of the EORTC Gynaecological Cancer group (study 55865). *Eur J Cancer* 2006;42:2539-48. [\[CrossRef\]](#)
48. Yan X, Fraser M, Qiu Q, Tsang BK. Over-expression of PTEN sensitizes human ovarian cancer cells to cisplatin-induced apoptosis in a p53-dependent manner. *Gynecol Oncol* 2006;102:348-55. [\[CrossRef\]](#)
49. Wang Y, Kristensen GB, Børresen-Dale AL, Helland A. TP53 mutations and codon 72 genotype--impact on survival among ovarian cancer patients. *Ann Oncol* 2007;18:964-6. [\[CrossRef\]](#)
50. Amikura T, Sekine M, Hirai Y, Fujimoto S, Hatae M, Kobayashi I, et al. Japanese Familial Ovarian Cancer Study Group. Mutational analysis of TP53 and p21 in familial and sporadic ovarian cancer in Japan. *Gynecol Oncol* 2006;100:365-71. [\[CrossRef\]](#)
51. Righetti SC, Perego P, Carenini N, Zunino F. Cooperation between p53 and p73 in cisplatin-induced apoptosis in ovarian carcinoma cells. *Cancer Lett* 2008;263:140-4. [\[CrossRef\]](#)
52. Konstantinidou AE, Korkolopoulou P, Vassilopoulos I, Tsenga A, Thymara I, Agapitos E, et al. Reduced retinoblastoma gene protein to Ki-67 ratio is an adverse prognostic indicator for ovarian adenocarcinoma patients. *Gynecol Oncol* 2003;88:369-78. [\[CrossRef\]](#)
53. Darai E, Walker-Combrouze F, Dauge-Geoffroy MC, Vincent Y, Feldmann G, Madelenat P, et al. Ki 67 expression in 35 borderline ovarian tumours: relations with clinicopathologic parameters and ploidy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998;76:175-80. [\[CrossRef\]](#)
54. Karaburun S, Karaveli S, Peştereli HE, Simsek T, Sargin CF. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 in epithelial ovarian tumours: correlation with DNA flow cytometric analysis. *Adv Clin Path* 2001;5:3-9.