

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**OVER KANSERİNİN ERKEN TANI VE TAKİBİNDE**  
**CA 125 ve HE4'ÜN SENSİTİVİTESİ VE SPESİFİTESİNİN**  
**KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. Abdullah ÇOLAK**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Olarak Hazırlanmıştır.**

**ANKARA**

**2013**

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**OVER KANSERİNİN ERKEN TANI VE TAKİBİNDE  
CA 125 ve HE4'ÜN SENSİTİVİTESİ VE SPESİFİTESİNİN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. Abdullah ÇOLAK**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Pakize DOĞAN  
Doç. Dr. Z. Günnur DİKMEN**

**ANKARA  
2013**

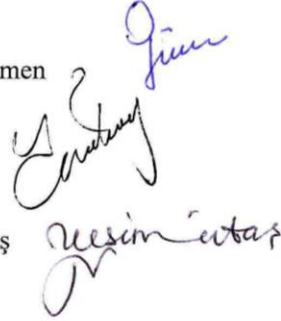
## RAPOR

Dr. Abdullah Çolak'ın 18 Haziran 2013 tarihinde Jürimiz önünde savunmasını yaptığı "Over kanserinin erken tanı ve takibinde CA 125 ve HE4'ün sensitivitesi ve spesifitesinin karşılaştırılması" başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Z. Günnur Dikmen

Doç. Dr. İncilay Lay

Doç. Dr. Yeşim Er Öztaş



## ONAY

**Bu tez, Tıp'ta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliği ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı tarafından kabul edilmiştir.**

**Prof. Dr. Bülent Sivri**  
**Tıp Fakültesi Dekanı**

## TEŞEKKÜR

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalında geçirdiğim dört sene boyunca, başta Anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Leyla Açıkan'a ve diğer tüm öğretim üyesi ve akademisyenlere,

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri, Merkez ve Acil Biyokimya laboratuvarlarındaki eğitimimde, klinik biyokimya ile ilgili bilgi ve tecrübelerini bizlerle paylaşan başta Merkez Laboratuvarı sorumlusu Prof. Dr. Filiz Akbıyık olmak üzere, Doç. Dr. Aslı Pınar, Doç. Dr. İncilay Lay, Doç. Dr. Yeşim Er Öztaş ve Uzm. Dr. Oytun Portakal'a

Bu tez çalışmasındaki büyük katkıları ve araştırma görevlisi olarak çalıştığım süre boyunca her konudaki desteğinden dolayı tez danışmanım Doç. Dr. Z. Günnur Dikmen ve Prof. Dr. Pakize Doğan'a,

Tez çalışması için gerekli örneklerin toplanmasında büyük yardımları olan Uzm. Dr. Derman Başaran'a,

Tez çalışmamın istatistiksel değerlendirmesinde çok değerli yardımlarından dolayı, Biyoistatistik bölümünden Araş. Gör. Selçuk Korkmaz'a

Bu çalışmaya maddi desteklerinden dolayı Abbott Laboratuvarları İthalat, İhracat ve Ticaret LTD.ŞTİ.'ne

Bu uzun öğrenim yaşamımda manevi desteğini hep yanımda hissettiğim sevgili eşim ve aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**ÇOLAK A, Over kanserinin erken tanı ve takibinde CA 125 ve HE4'ün sensitivitesi ve spesifitesinin karşılaştırılması. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı uzmanlık tezi. Ankara, 2013.**

CA 125, over ve endometrium kanserinde en sık kullanılan tümör belirteci olmasına rağmen malignitelerin erken dönemde saptanmasında sensitivitesi düşük kalmaktadır, ayrıca bazı benign jinekolojik hastalıklarda yanlış pozitif sonuçlar vermektedir. HE4'ün (Human epididymis secretory protein 4), over kanserinde yeni bir belirteç olarak kullanılabileceği ileri sürülmektedir. Bu çalışmanın amacı, benign ve malign jinekolojik hastalıklarda HE4'ü, CA 125 ve ROMA indeksiyle karşılaştırarak incelemek, ayrıca sağlıklı Türk kadınlarında HE4 için referans aralığı saptamaktır. CA 125 ve HE4 serum düzeyleri, 70 sağlıklı kadın, benign jinekolojik hastalığı olan 96 kadın ve jinekolojik kanseri olan 71 kadında (47 over kanseri ve 24 endometriyal kanser) Architect® analizöründe (Abbott Laboratories, Chicago, IL) kemiluminesans enzim immün yöntemiyle ölçüldü. Over ve endometrium Ca hastalarındaki HE4 düzeyi, benign jinekolojik hastalıklara oranla anlamlı şekilde yüksekti ( $p<0.005$ ). Over kanserinde % 90 spesifitede elde edilen sensitivite HE4 için % 82,1, CA 125 için % 64,3 ve ROMA için % 89,7 bulundu. Benign jinekolojik hastalıkların over kanserinden ayırımında ROC-AUC değerleri CA 125'e oranla HE4 ve ROMA indeksinde anlamlı şekilde yüksek bulundu. Endometrium kanserinde % 90 spesifitede elde edilen sensitivite HE4 için % 64, CA 125 için % 18 ve ROMA için % 59 saptandı. Bu sonuçlara göre benign jinekolojik hastalıkların endometriyum kanserinden ayırımında ROC-AUC değerleri CA 125 ve ROMA indeksine oranla HE4'de anlamlı şekilde yüksek bulundu. Postmenopozal over kanseri tanısında ise ROMA indeksinin, tek başına CA 125 veya HE4 kullanımına oranla daha güvenilir olduğu gözlemlendi. Postmenopozal endometriyal kanserin ayırıcı tanısında ise HE4, CA 125'e göre daha iyi bir tümör belirteci olarak saptandı. Sağlıklı Türk kadınlarında ( $n=70$ ) yapılan ölçümlerde HE4 değerlerinin yaşla birlikte artış gösterdiği bulundu ve HE4 için referans aralığı 22-84 pmol/L olarak belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** HE4, CA 125, ROMA İndeks, Over Ca, Endometriyum Ca  
**Destekleyen Kuruluş:** Abbott A.Ş.

## ABSTRACT

**Colak, A, Comparison of sensitivity and specificity of CA 125 and HE4 in early detection and follow-up of ovarian cancer. Thesis in Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Medical Biochemistry. Ankara, 2013.**

CA 125 is the most widely used tumour marker in ovarian and endometrial cancer. Unfortunately, it has low sensitivity for detection of gynecological cancers in the early stages and gives false positive results in some benign gynecological disorders. HE4 (Human Epididymis secretory protein 4), is suggested to be used as a potential new biomarker for ovarian cancer. The aim of this study is to evaluate HE4, in comparison with CA 125 and the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA) in benign and malignant gynaecological diseases, additionally to determine the reference range for healthy Turkish women. CA 125 and HE4 serum levels were determined in 96 patients with benign gynaecological diseases, 71 patients with gynaecological cancer (47 ovarian cancers and 24 endometriyal Ca) and in 70 healthy women, using a chemiluminescent enzyme immunoassay on the Architect® Analyzer (Abbott Laboratories, Chicago, IL). HE4 had significantly higher concentrations in ovarian and endometriyal cancer than benign disorders ( $p < 0.005$ ). Tumour marker sensitivity in ovarian cancer was 82.1 % for HE4, 64.3 % for CA 125 and 89.7 % for ROMA at 90 % spesifity. A significantly higher area under the ROC curve was obtained with HE4 and ROMA than CA 125 in the differential diagnosis of ovarian cancer. Tumour marker sensitivity in endometriyal cancer was 64 % for HE4, 18 % for CA 125 and 59 % for ROMA at 90 % specificity. A significantly higher area under the ROC curve was obtained with HE4 than ROMA and CA 125 in the differential diagnosis of endometrium cancer. According to these results, it is more convenient to use ROMA index instead of HE4 or CA 125 alone for the diagnosis of ovarian Ca in postmenapousal women. HE4 is a better tumor marker than CA 125 for the diagnosis of endometriyal Ca in postmenapousal women. It was observed that HE4 values increase by age and HE4 reference range for healthy Turkish women was determined as 22-88 pmol/L.

**Key Words:** HE4, CA 125, ROMA Index, Ovarian Ca, Endometrium Ca

**Supported by:** Abbott Company

**İÇİNDEKİLER**

<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vi</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>ix</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>x</b>
<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>2</b>
2.1. Over Kanseri	2
2.1.1. Over Kanseri İle İlgili Genel Bilgiler	2
2.1.2. Over Kanseri İçin Risk Faktörleri	3
2.1.3. Over Kanserinin Histolojik Tipleri	5
2.1.4. Over Kanserinde Evreleme ve Prognoz	6
2.2. Endometriyum Kanseri	8
2.2.1. Endometriyum Kanseri Hakkında Genel Bilgiler	8
2.2.2. Endometriyum Kanseri Tanısı ve Risk Faktörleri	8
2.2.3. Endometriyum Kanserinin Histolojik Tipleri	9
2.2.4. Endometriyum Kanserinde Evrelendirme	9
2.3. Benign Jinekolojik Hastalıklar	10
2.3.1. Overin Benign Tümörleri	10
2.3.2. Endometriyumun Benign Tümörleri	11
2.4. Tümör Belirteçleri	12
2.4.1. CA 125'in Jinekolojik Kanserler İçin Kullanımı	13
2.4.2. HE4'ün Jinekolojik Kanserlerdeki Yeri	17
2.4.3. Roma İndeksi (Risk of Ovarian Malignancy Index)	19
<b>GEREÇLER VE YÖNTEMLER</b>	<b>20</b>
3.1. Çalışma Popülasyonu	20
3.2. CA 125 Düzeyinin Ölçümü	21
3.3. HE4 düzeyinin ölçümü	21
3.4. HE4 Ölçüm Yönteminin Performansının Değerlendirilmesi	23

3.5. ROMA İndeksinin Hesaplanması	23
3.6. İstatistiksel Analiz	24
<b>BULGULAR</b>	<b>25</b>
<b>TARTIŞMA</b>	<b>37</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>42</b>



**SİMGELER ve KISALTMALAR**

ANOVA	: Varyans Analizi (ANalysis Of VAriance)
AUC	: Area under curve (Eđri altında kalan alan)
CA 125	: Karbonhidrat ya da kanser antijen 125
CMIA	: Chemiluminescent Microparticle Immunoassay
CV	: Varyasyon katsayısı
EIA	: Enzim immunoassay
Exp	: Ekspansiyon
FIGO	: International Federation of Gynecology and Obstetrics
GN	: Gerçek negatif
GP	: Gerçek pozitif
HE4	: Human epididimis protein 4
HNPCC	: Herediter non-polipozis kolorektal kanser
LN	: Doğal (naturel) logaritma
NPV	: Negatif prediktif değer
PPV	: Pozitif prediktif değer
RLU	: Relatif ışık üniteleri
ROC	: Receiver Operating Characteristics
ROMA	: Risk of Ovarian Malignancy Index
USG	: Ultrasonografi
WAP	: Whey acidic proteins
WFDC2	: WAP four-disulfide core domain 2
YN	: Yanlış negatif
YP	: Yanlış pozitif

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

Şekil 2.1. Over tümörlerinin histolojik tipleri ve sıklığı	6
Şekil 3.1. İki aşamalı immünolojik bir tetkik olan CMIA teknolojisi	22
Şekil 4.1. Tüm jinekolojik malign ve benign hastaların A) CA 125, B) HE4 ve C) ROMA indeksine ait Box-plot grafikleri	29
Şekil 4.2. Over kanserinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait ROC eğrileri	30
Şekil 4.3. Endometriyum kanserli hastalarda CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait ROC eğrileri	32
Şekil 4.4. HE4 düzeyinin sağlıklı Türk kadınlarında yaş gruplarına göre dağılımı	36
Şekil 4.5. HE4 düzeyinin yaşlara göre değişimi	36

## TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Kadınlarda en sık görülen kanser tipleri ve mortalite oranları	2
Tablo 2.2. Over kanseri için risk faktörleri ve koruyucu faktörler	4
Tablo 2.3. Over kanserinde FIGO evrelemesi	7
Tablo 2.4. Epitelyal over kanserinde evrelere göre 5 yıllık sağkalım oranları	8
Tablo 2.5. Endometriyum kanseri için risk faktörleri	9
Tablo 2.6. Endometriyum kanserinde FIGO evrelemesi	10
Tablo 2.7. Over ve endometriyumun benign hastalıkları	11
Tablo 2.8. CA 125'in yükseldiği durumlar	14
Tablo 2.9. Over kanseri tanısında yeni biyobelirteçler	16
Tablo 2.10. ELISA ve CMIA yöntemleriyle yapılan HE4 çalışmaları	18
Tablo 3.1. ROMA indeksinin hesaplanması	23
Tablo 3.2. ROMA indeksine göre düşük ve yüksek riskli gruplar	24
Tablo 4.1. Benign ve malign hastalıkların dağılımı	25
Tablo 4.2. Malign over ve endometriyum tümörleri ile benign jinekolojik patolojilerde CA 125 değerleri	26
Tablo 4.3. Malign over ve endometriyum tümörleri ile benign jinekolojik patolojilerde HE4 değerleri	27
Tablo 4.4. Malign over ve endometriyum tümörleri ile benign jinekolojik patolojilerde ROMA indeksi değerleri.	28
Tablo 4.5. Over kanserlerinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksinin AUC ve farklı spesifitelerdeki sensitivite değerleri	31
Tablo 4.6. Over kanserinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait sensitivite (%), spesifite (%), PPV (%) ve NPV (%) değerleri	31
Tablo 4.7. Endometriyum kanserinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait AUC ve % 80, % 90, % 95 spesifitede elde edilen sensitivite değerleri	33
Tablo 4.8. Endometriyum kanserinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait sensitivite (%), spesifite (%), PPV (%) ve NPV (%) değerleri	34
Tablo 4.9. Menopoz öncesi ve sonrasında CA 125, HE4 ve ROMA indeksinin analitik performansları	34
Tablo 4.10. CA 125, HE4 ve ROMA indeksi için hesaplanan eşik ("Cut-off") değerleri	35

Tablo 5.1. CA 125 ile ilgili çalışmalar

37

## GİRİŞ VE AMAÇ

Over kanseri kadınlarda en sık görülen 5. kanser olmakla birlikte, semptomları diğer benign jinekolojik hastalıklarda da görülmektedir, bu nedenle hastaların çoğuna geç evrede tanı konabilmektedir (1-3). Over Ca'nın erken tanısı için halen USG ile birlikte CA 125 kullanılmaktadır ancak bu yaklaşımın sensitivitesi ve spesifisitesi düşüktür. Yüksek CA 125 serum düzeylerine farklı epitelial malignitelerde (endometriyum, serviks, akciğer kanseri) ve non-epitelial tümörlerde (lenfomalar) rastlanmaktadır. Ayrıca over kistleri, endometriozis, myom, efüzyon, karaciğer ve böbrek yetmezliği gibi bazı benign durumlarda da CA 125 düzeyleri yüksek bulunabilmektedir. CA 125'in over kanserindeki sensitivitesi tümörün evresi ile ilişki göstermektedir; Evre I hastaların % 50'sinde, Evre III-IV hastalarının % 80-90'ında CA 125 yüksektir (4,5).

Son yıllarda, over kanserlerinin erken tanısında HE4 (Human Epididymal Protein 4) proteininin yeni bir tümör belirteci olarak kullanılabileceği ileri sürülmektedir. Yapılan çalışmalarda jinekolojik malignitelerde HE4'ün sensitivitesinin CA 125'e benzer, ama spesifitesinin daha yüksek olduğu, dolayısıyla benign jinekolojik durumları malignitelerden daha iyi ayırabildiği belirtilmektedir (6-8). Özellikle ROMA indeksinin (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm), bu iki belirteç ile birlikte kullanılması durumunda hastalara doğru ve erken tanı koyma ihtimali yükselmektedir (9-11).

Bu çalışmanın amacı; benign ve malign jinekolojik hastalığı olan kadınlarda CA 125 ile birlikte HE4 düzeyini ölçerek tanısal değerlerini karşılaştırmaktır. Ayrıca bu çalışma kapsamında, farklı yaş gruplarındaki sağlıklı Türk kadın popülasyonunda referans aralığı çalışması yapılması planlanmıştır. Bu amaçla fizik muayene ve USG ile jinekolojik bir patolojisi olmadığı saptanan menopoz öncesi ve menopoz sonrası kadınlarda HE4 düzeyi ölçülerek normal referans aralığı saptanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Over Kanseri

#### 2.1.1. Over Kanseri İle İlgili Genel Bilgiler

Over kanseri, dünya çapında kadınlarda kansere bağlı görülen ölümlerin 5. nedenidir ve insidansı gelişmiş ülkelerde yüksektir. ABD ve Batı Avrupa'da en sık görülen ikinci jinekolojik kanserdir ve jinekolojik malignitelere bağlı ölümlerin en yaygın nedenidir (12,13). Ülkemizde, T.C. Sağlık Bakanlığının 2002'de yayınladığı sağlık istatistiklerine göre, Türk kadınlarında görülen kanserler içerisinde 4. sırada yer alır (14).

Dünya çapında kadınlarda en sık görülen kanser tipleri ve mortalite oranları Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Kadınlarda en sık görülen kanser tipleri ve mortalite oranları (12)

KANSER TİPLERİ	İnsidans	Mortalite
	%	%
Akciğer Ca	18,6	13,6
Endometriyum Ca	12,8	2,4
Kolorektal Ca	24,2	92
Meme Ca	66,4	15,3
Over Ca	9,4	5,1

Over kanseri genellikle postmenopozal dönemdeki kadınlarda görülür. Her yıl dünyada, 225.500 yeni vaka tespit edilmektedir, insidansı 40/100.000'dir ve 50-60 yaş arasında pik yapar, 70'li yaşlara kadar yaşla birlikte artar (12). Over kanseri ölümlerle sonuçlanan jinekolojik bir malignitedir (15). Over kanseri, hastalığın ileri evrelerine kadar belirti vermediği için "silent killer" (sessiz katil) diye adlandırılmıştır. İlerlemiş epitelyal over kanseri abdominal distansiyon, pelvik ağrı bulantı, zayıflama, çabuk doyma hissi, nefes darlığı gibi şikâyetlerle kendini göstermektedir. Ancak bu belirtilerin daha çok üriner veya gastrointestinal sistem

kaynaklı olduğu düşünülerek hastalık atlanmaktadır. Over kanserli hastaların yaklaşık % 45'inden azı tanı aldıklarında erken evrelerde (16).

Over kanserinde sağkalım kanserin evresine bağlıdır, 5 yıllık sağkalım oranı evre I ve II'de % 70-90'larda iken, evre III ve IV'de % 20-40'lara düşmektedir. Teknolojik gelişmelere rağmen son 30 yılda over kanserinin mortalitesindeki azalma yüz güldürücü değildir (16).

Over kanserinin mortalitenin azaltılabilmesi için vakaların erken evrelerde (Evre I/II) yakalanması ve uygun tedavinin (cerrahi ve /veya kemoterapi) verilmesi çok önemlidir. Günümüzde over Ca tanısında ve taramasında fizik muayene, görüntüleme teknikleri ve tümör belirteçleri kullanılmaktadır. Overlerin derin pelvik anatomik lokalizasyonundan dolayı, pelvik muayene ile over kanserinin erken tanısı çok nadirdir. Bu yüzden pelvik muayene ile tanı konulan hastaların çoğunluğu ileri evrededir ve kötü prognozludur. Pelvik ultrasonografide pelvik kitlenin tespit edilebilmesi önemlidir ancak benign–malign ayırımı kişiden kişiye değişiklik gösterebilir. CA 125 over kanseri tanısında en yaygın kullanılan tümör belirteci olmakla birlikte erken evredeki over kanserlerinin tanınmasında yetersiz kalmaktadır, ayrıca gebelik, endometriyozis ve bazı inflamatuvar hastalıklarda da yükselmektedir. Bu nedenle yeni tarama stratejileri ve yeni biyobelirteçler geliştirmek üzere araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir (17).

### **2.1.2. Over Kanseri İçin Risk Faktörleri**

Ailesinde over kanseri hikayesi olması ve ailesel over kanseri sendromu olan hastalar over kanseri açısından yüksek riskli gruptadırlar. Bu hastalar over kanseri taraması için uygundurlar. Over kanseri gelişiminde rol alan bazı risk faktörleri Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2. Over kanseri için risk faktörleri ve koruyucu faktörler (18,19)

<b>RİSK FAKTÖRLERİ</b>	<b>KORUYUCU FAKTÖRLER</b>
Ailesel over kanser sendromları	Oral kontraseptifler (5 yıldan fazla)
Meme ve/veya over kanseri aile hikayesi	Multiparite
Meme kanseri hikayesi	Emzirme
İleri yaş	Tüp ligasyonu
Erken menarş (<12 yaş)	Histerektomi
Geç menopoz (>50 yaş)	
Inferilitite	
Nulliparite	
Obezite (BMI >30)	
Etnik grup	

Bunlardan en önemlisi aile hikayesidir. Birinci derece yakınlarında yani anne, kız kardeş, kızında over kanseri hikayesi olanlarda yaşam boyu over kanseri olma riski 3 kat artmıştır. Birinci derece yakınlarda etkilenen birey sayısı arttıkça risk katlanır (19). Over kanserli hastaların % 10-15’inde genetik yatkınlık söz konusudur. Over kanser riski aile hikayesi olan bireylerde yüksektir ancak herediter kanser sendromu olan bireylerde oldukça artmıştır. Yaşam boyu over kanseri geliştirme riski, aile hikayesi pozitif olan bireylerde % 1,6-5, herediter kanser sendromu olan bireylerde ise % 25-50 olduğu tahmin edilmektedir (20-22).

Ailesel over kanser sendromları, 50 yaş altı 1. veya 2. derece akrabalarında over kanseri olan kişilerde araştırılmalıdır. Küçük ailelerde herediter bozukluklar maskelenebilir. Ailesel over kanseri sendromları, over kanseri hastalarının % 5-10’unda görülür (23-25).

Ailesel over kanser sendromları:

- Lynch II sendromu (kolon, meme, endometriyum ve over kanserinin eşlik ettiği herediter non-polipozis kolorektal kanseri)
- Meme-over kanser sendromu (genellikle BRCA1 ve BRCA2 mutasyonu ile ilişkili).



Lynch sendromu, herediter non-polipozis kolorektal kanseri (HNPCC) olarak da bilinir, erken yaşta endometriyum ve kolon kanseri gibi tanıları alır. Lynch sendromlu kadınların yaşam boyu over kanseri olma riski % 3-14 iken bu genel popülasyonda % 1,8'dir.

Meme-over kanser sendromu en yaygın herediter over kanser sendromudur. Birçok aile meme kanserinde şüpheli genlerden biri olan germ hücre mutasyonu (BRCA1 ve BRCA2) vardır. BRCA1 mutasyonu olanlarda yaşam boyu over kanseri riski % 35-45, BRCA2 olduğunda ise bu risk % 15-25'lere düşmektedir.

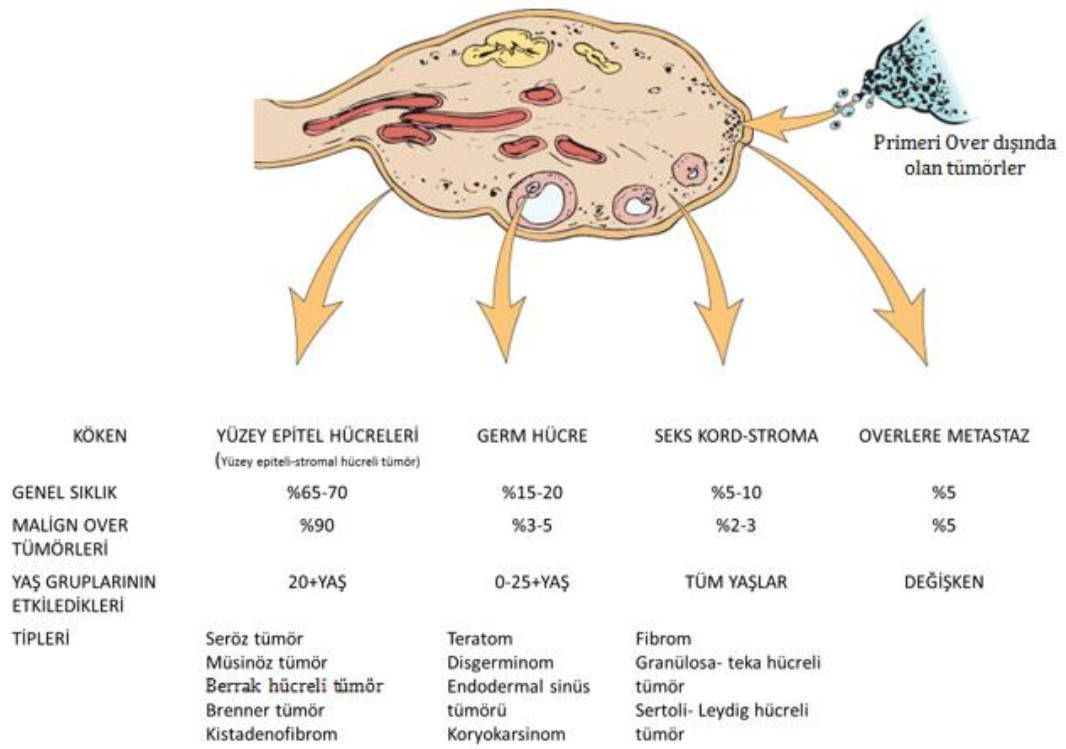
Nulliparite (doğurmamışlık), uzun dönem tekrarlayan ovulasyon döngüsü ile ilişkili olduğundan riski artırır. İnfertilite tedavisinde kullanılan ilaçların da kanser riskini artırdığı söylenebilir. Erken menarş ve geç menopoz da, over kanseri riskini arttırmaktadır. Bunların aksine, ovulasyonu önleyen oral kontraseptiflerin uzun dönem kullanılmasının over kanseri riskini % 50 oranında azalttığı ileri sürülmektedir. Tüp ligasyonu ve histerektomi over kanseri gelişim riskini azaltmaktadır (19).

Beyaz kadınlar, overyan kanserler için diğer etnik gruplarla karşılaştırıldığında en yüksek riske sahiptir. Siyah ve hispanik kadınlarla karşılaştırıldığında risk % 30-40'a çıkmaktadır (19). Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ve sanayileşmiş batı ülkelerinde risk artmıştır. En az kanser riski japonlardadır. Karoten ve vitaminden zengin yiyecekler koruyucu etki göstermektedir (19).

### **2.1.3. Over Kanserinin Histolojik Tipleri**

Over tümörlerinin % 90'ını epitelyal tümörler (seröz, müsinöz, endometrioid ve berrak hücreli tümörler) oluşturur. İkinci sıklıkta germ hücreli tümörler ve diğerleri gelir.

Epitelyal over tümörlerinin benign-malign ayrımı her zaman yapılamaz ve bu tümörler 'borderline tümör' ya da 'düşük malign potansiyelli kistadenomlar' olarak isimlendirilir. Over kanserlerinin sınıflandırılması prognoz açısından önemlidir. Over tümörlerinin sınıflandırılması ve sıklığı Şekil 2.1'de verilmiştir (26).



Şekil 2.1. Over tümörlerinin histolojik tipleri ve sıklığı (26)

#### 2.1.4. Over Kanserinde Evreleme ve Prognoz

Over kanserinde Evrelemede FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics)'nun 2006'da revize edilen 1988'de önerdiği evrelendirme sistemi kullanılmaktadır. FIGO sınıflaması, Tablo 2.3.'de verilmiştir (27). Over kanserinde ortalama sağkalım % 40-44'dür (Tablo 2.4.) (18,28).

Tablo 2.3. Over kanserinde FIGO evrelemesi (2006) (27)

<b>EVRE</b>	<b>Tümör Özellikleri</b>
<b>TX</b>	Primer Tümör değerlendirilemedi
<b>0</b>	Primer tümör varlığı için kanıt yok
<b>I</b>	Büyüme overlere sınırlı
<b>IA</b>	Büyüme bir overe sınırlı, malign hücreler içeren asit yok, dış yüzeyde tümör yok, kapsül intak
<b>IB</b>	Büyüme her iki overe sınırlı, malign hücreler içeren asit yok, dış yüzeyde tümör yok, kapsül intakt
<b>IC</b>	Tümör evre IA veya IB'dir fakat bir ya da iki overde tümör vardır veya kapsül rüptüredir veya malign hücreler içeren asit vardır veya periton yıkamaları pozitifdir.
<b>II</b>	Büyüme bir veya iki overi içine alır, Pelvik yayılım vardır.
<b>IIA</b>	Uterus ve/veya tubalara yayılım ve/veya metastazlar
<b>IIB</b>	Diğer pelvik dokulara yayılım
<b>IIC</b>	Tümör IIA veya IIB'dir fakat bir veya iki overin yüzeyinde tümör veya kapsüller rüptüre veya malign hücreler içeren asit veya pozitif peritoneal yıkama
<b>III</b>	Bir ya da iki overi içeren tümör ile birlikte pelvis dışına histolojik olarak doğrulanmış peritoneal yayılım ve/veya (+) retroperitoneal lenf nodu tutulumu. Yüzeysel karaciğer metastazları Evre III'tür. Tümör gerçek pelvise sınırlıdır fakat ince barsak veya omentuma histolojik olarak doğrulanmış malign yayılım mevcuttur.
<b>IIIA</b>	Gross olarak gerçek pelvise sınırlı tümör ile birlikte negatif lenf nodları vardır fakat abdominal peritoneal yüzeylerde histolojik olarak doğrulanmış mikroskobik ekim vardır veya ince barsak veya mezentere histolojik olarak kanıtlanmış yayılım vardır.
<b>IIB</b>	Bir veya iki overde tümör ile birlikte histolojik olarak doğrulanmış implantları abdominal peritoneal yüzeylere 2 cm çapını geçmeyen peritoneal metastazlar vardır, lenf nodları negatiftir.
<b>IIIC</b>	Pelvisin dışında 2 cm'den büyük çapta peritoneal metastazlar ve/veya pozitif reyonel lenf nodları
<b>IV</b>	Bir veya iki overde büyüme ile birlikte uzak metastaz vardır. Eğer plevral efüzyon varsa olgunun evre IV olabilmesi için sitolojinin (+) olması gerekir. Parankimal karaciğer metastazları evre IV'e eşittir.

Tablo 2.4. Epitelyal over kanserinde evrelere göre 5 yıllık sağkalım oranları (2010)  
(29)

<b>EVRE</b>	<b>5 Yıllık Sağkalım (%)</b>	<b>EVRE</b>	<b>5-Yıllık Sağkalım (%)</b>
<b>IA</b>	94	<b>IIC</b>	57
<b>IB</b>	91	<b>IIIA</b>	45
<b>IC</b>	80	<b>IIIB</b>	39
<b>IIA</b>	76	<b>IIIC</b>	35
<b>IIB</b>	67	<b>IV</b>	18

## 2.2. Endometriyum Kanseri

### 2.2.1. Endometriyum Kanseri Hakkında Genel Bilgiler

Endometriyal kanserler, jinekolojik kanserler arasında en sık rastlanan kanserlerdir, her yıl yaklaşık 40,100 yeni endometriyum kanseri tanısı konulmaktadır ve bunların 7410 ölümle sonuçlanmaktadır (30). Bu hastalar, postmenopozal dönemde vajinal kanama şikayetiyle doktora başvurdukları için erken evrelerde tanı alırlar. Endometriyum kanserleri % 70 oranında Evre I'de yakalanır ve 5 yıllık sağkalım % 95'tir. Ancak rekürren hastalığın erken dönemde saptanması, tedavinin takibi ve endometriyum kanser riski artmış kişilerin taranması için yeni bir tümör belirteciye ihtiyaç vardır. Endometriyum kanseri için risk faktörleri Tablo 2.5.'de verilmiştir (18).

### 2.2.2. Endometriyum Kanseri Tanısı ve Risk Faktörleri

Malignite düşünülen kanamalı hastadan başlangıç değerlendirilmesi için Pipelle ile biyopsi alınmalıdır. Endometriyal örnekleme için sensitivitesi % 90'ın üzerindedir.

Endometriyum kanseri için günümüzde kullanılabilen tek tümör belirteci CA 125'tir, ancak bu belirteç ileri evrelerde yükselmektedir. Rekürrens gösteren endometriyum Ca'nın erken dönemde tespiti için CA 125 kullanımı sınırlıdır. Erken dönemde, rekürrens gösteren hastaların % 20-25'inde CA 125 düzeyi yükselmektedir (7). Bu nedenle erken teşhis ve rekürrenslerin erken tanınması için yeni bir tümör belirteciye ihtiyaç vardır.

Tablo 2.5. Endometriyum kanseri için risk faktörleri (18)

---

Lynch sendromu (herediter non-polipozis kolon kanseri)
Polikistik over sendromu
Uzun dönem yüksek doz menopozal östrojen kullanımı
Erken menarş
Geç menopoz
İnfertilite öyküsü
Nulliparite
Menstrüel düzensizlik
Gelir ve eğitim düzeyinin yüksek olması
Beyaz ırk
İlerlemiş yaş
Tamoksifen (kümülatif doz)
Diyabet, hipertansiyon ve mesane hastalığı öyküsü
Uzun süreli oral kontraseptif kullanımı
Sigara
Obezite

---

### 2.2.3. Endometriyum Kanserinin Histolojik Tipleri

Endometriyal kanser biyolojik ve histolojik olarak 2 gruba ayrılır. Tip I endometrioid adenokarsinomlar tüm vakaların % 75'ini oluşturur ve bu tümörler östrojen bağımlı düşük grade'li ve atipik endometriyum kanserinden türevlenmiştir. Tip II kanserler genellikle seröz veya berrak hücreli hücreli histolojiye sahip olup öncül bir lezyonu yoktur ve daha agresif klinik seyirleri vardır (18).

### 2.2.4. Endometriyum Kanserinde Evrelendirme

2010 FIGO evreleme sistemine göre endometriyum kanseri evrelemesi Tablo 2.6.'da verilmiştir.

Tablo 2.6. Endometriyum kanserinde FIGO evrelemesi (2010)

<b>EVRE</b>	<b>Tümör Özellikleri</b>
<b>IA</b>	Tümör uterusu sınırlı, < ½ myometriyal invazyon
<b>IB</b>	Tümör uterusu sınırlı, > ½ myometriyal invazyon
<b>II</b>	Tümör uterusu sınırlı, Servikal stromal invazyon var
<b>IIIA</b>	Tümör seroza veya adnekslere yayılmış
<b>IIIB</b>	Vajinal ve / veya parametriyal tutulum var
<b>IIIC1</b>	Pelvik lenf nodu tutulumu
<b>IIIC2</b>	Para-aortik lenf nodu tutulumu, pelvik lenf nodu tutulumu olan veya olmayan
<b>IVA</b>	Mesane mukozası ve / veya barsak mukozasının tutulumu
<b>IVB</b>	Uzak metastaz. Karın metastazı ve / veya kasık lenf düğümleri de dahil olmak üzere

### 2.3. Benign Jinekolojik Hastalıklar

#### 2.3.1. Overin Benign Tümörleri

Over kitlelerinin % 90'ı benignidir, ancak yaşlılarda malign olması daha muhtemeldir. Genç kadınlardaki en yaygın tümör kistik teratomdur (Dermoid kist). Yaşlı kadınlar arasında epitelyal tümörler daha yaygındır.

Over benign tümörleri, histopatolojik açıdan çok çeşitlidir. Bunun nedeni, normal overde, multipotansiyel yüzey epiteli, totipotansiyel germ hücreleri ve seks kord stromal hücreler olmak üzere 3 farklı tip hücrenin bulunmasıdır. Bu hücre tiplerinin her biri değişik tümörlerde görülür (31).

Benign over tümörleri, genellikle asemptomatiktir ancak bazen ağrı şişkinlik, baskı hissi, adet düzensizliği ve hormonal etkilere neden olabilir. Jinekolojik muayene, pelvik USG, bilgisayarlı tomografi ve CA 125 over kistlerinin tanısal değerlendirmesinde yararlıdır.

Over ve endometriyuma ait benign hastalıklar Tablo 2.7’de verilmiştir.

Tablo 2.7. Over ve endometriyumun benign hastalıkları

<b>Over</b>	<b>Endometriyum</b>
Kistadenom (seröz ya da müsinöz)	Leiomyom
Brenner tümörü	Endometrial polipler
Germ hücreli tümörler	Adenomyozis
Dermoid (benign kistik teratom)	Endometriyozis
Stromal tümörler	
Fibrom	
Adenofibroma	
Tekoma	
Fizyolojik kistler	
Folikül kistleri	
Luteal kistler	

### 2.3.2. Endometriyumun Benign Tümörleri

**Leiomyomlar** reproduktif çağıdaki kadınların % 25-30’unda oluşan, endometriyumun en sık görülen tümörüdür. Myometriyumun düz kas hücrelerinden köken alır. Menarştan öncesi ve menopoz sonrası nadirdir. Östrojen büyümelerini stimüle eder. Menopozdan sonra boyutları küçülmektedir. Leiomyomlar tek olabilmekle birlikte sıklıkla birden fazladır. Leiomyomlar endometriyumda seröz veya endometriyum yüzeyine yakınlığına göre adlandırılırlar. Submuköz, intramural, subseröz en sık görülen tipleridir (31).

**Endometriyal polipler** endometriyal bezlerin ve stromanın aşırı büyümesi sonucu oluşurlar. Sıklıkla menopoz sırasında oluşurlar. Klinik önemi anormal uterin kanama yapması ve kansere dönüşmesidir. Polipler % 1 oranında maligniteye dönüşürler (31).

**Endometriyozis**, fonksiyonel endometriyal gland ve stromanın, uterin doku dışında bulunmasıdır. En sık olarak overlerde rastlanır. Douglas çıkmazı, vezikouterin aralık, uterosakral ligament ve pelvik periton çevresine de lokalize

olabilir. Daha az sıklıkta laparotomi ve epizyotomi skarları, appendiks, plevral ve perikardiyal kavite ve servikte görülür. Bazıları asemptomatik olmasına karşı, birçok kadında dismenore, infertilite ve pelvik ağrı şikayeti vardır.

Epitelyal over kanserli hastalarda genel popülasyona göre endometriyozis daha sık görülmektedir (18).

#### **2.4. Tümör Belirteçleri**

Tümör belirteçleri kanser veya çevresi tarafından üretilen, kanserin tanısı, taraması veya tedavi takibinde kanda veya vücut sıvılarında ölçülebilen moleküllerdir. Sitoplazmik proteinler, enzimler, hormonlar, yüzey antijenleri, reseptörler, onkofetal antijenler onkogenler veya ürünleri tümör belirteci olarak kullanılabilirler. İdeal bir tümör belirteci hem belirlenen kanser tipi için özgül hem de küçük tümörlerin erken tanısı ve taraması için yeterli duyarlılıkta olmalıdır. Ancak ne yazık ki, bilinen pek çok tümör belirteci hem tek tür için özgül değil, hem de tarama için yeterince duyarlı değildir (32).

İdeal bir tümör belirtecinin sahip olması gereken özellikler aşağıda verilmiştir (33):

- Yüksek spesifiteye sahip olmalıdır, sadece bir tümör tipine özgül olmalıdır.
- Yüksek sensitiviteye sahip olmalıdır, fizyolojik ya da benign durumlarda saptanmamalıdır.
- Düzeyleri tümör yükü ile ilişkili olmalıdır.
- Tümör belirtecinin prediktif ve prognostik yararı bilinmelidir.
- Yarı ömrü kısa olmalıdır, sık ve seri izlem yapılabilir.
- Ucuz ve kolay uygulanabilir olmalıdır.
- Tarama testi olarak kullanılabilir olmalıdır.
- Örnek alımı kolay olmalıdır.



Tümör belirteçlerinin potansiyel kullanım alanları şunlardır (32):

- Genel popülasyon taramaları
- Belirtisi olan bireylerin ayırıcı tanısı
- Kanserin klinik sınıflandırılması
- Tümör evresinin belirlenmesi
- Hastalık prognozunun belirteci olarak
- Tedavinin başarısının değerlendirilmesi
- Kanser rekürrensini saptanması
- Tedaviye yanıtın izlenmesi
- İmmunoterapi yönünün belirlenmesi

Bir tarama testinin prediktif değeri tarama testinin sensitivite ve spesifitesi ile birlikte, toplumdaki prevalansı ile de ilgilidir. Pozitif prediktif (tahmini) değer, testin uygulandığı toplulukta teste göre hasta olanların gerçekte hasta olma olasılığıdır. Bu nedenlerle, bir tarama protokolünde kullanılacak tümör belirtecinin, pozitif prediktif değeri % 10'dan fazla olmalıdır (34-36).

#### **2.4.1. CA 125'in Jinekolojik Kanserler İçin Kullanımı**

CA 125 fetal embriyonik ve çöломik epitel tarafından eksprese edilir. Overlerin yüzeyindeki epitel, endoservikal kanal, endometrium ve fallop tüpleri, embriyolojik olarak çöломik epitelyumdan (mezotelyum) köken alır. Over kanserlerinin % 85-90'ı epitelyal dokudan kaynaklanmaktadır (15).

CA 125 (kanseri antijen 125 veya karbonhidrat antijen 125) over ve endometriyum kanserleri için kullanılan bir tümör belirteçtir. OC 125, seröz papiller over kistadenokarsinomu olan bir hastanın hücre dizisine (OVCA 433) karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikordur. CA 125, OC 125 monoklonal antikoru tarafından tanınan büyük molekül ağırlıklı (>200kD) bir glikoproteindir (37) Karbonhidrat içeriği % 24'dir. İmmunoradyometrik yöntemle yapılan ölçümlerde CA 125'in yarılanma ömrünün 4,8 gün olduğu tespit edilmiştir (38). Bast ve ark. (39), 1983 yılında 888 sağlıklı gönüllüde yaptıkları araştırmada çalışmaya katılanların sadece % 1'inde CA 125 düzeyi 35 U/ml üzerinde tespit edildiği için birçok laboratuvar CA 125 için eşik değerini 35 U/ml olarak kabul etmektedir.

Yükselen CA 125 düzeyi, tümör büyüklüğü ve evresi ile ilişkili olup prognozunu belirlemede yararlıdır (35). Ancak CA 125'in sensitivite ve spesifitesi hem premenopozal hem post menopozal kadınlarda düşüktür. Spesifitesinin düşük olmasının nedeni yaygın görülen benign jinekolojik durumlarda ve jinekolojik olmayan hastalıklarda da yükselmesidir. Bu durum özellikle premenopozal dönemde CA 125'in kullanılabilirliğini azaltmaktadır (40).

CA 125'in yükseldiği durumlar Tablo 2.8'de verilmiştir.

Tablo 2.8. CA 125'in yükseldiği durumlar

<b>Jinekolojik durumlar</b>	<b>Jinekolojik olmayan durumlar</b>
Uterus leiomyomu	Divertikülit
Pelvik inflamatuvar hastalık (PID)	Böbrek Yetmezliği
Endometriyum Ca	Periton irritasyonu (Laparotomi)
Meme Ca	Siroz (41,42)
Erken gebelik	Endometriyum Ca
Ektopik gebelik	Meme Ca
Menstruasyon	Akciğer Ca
Adenomyozis	Pankreas kanseri (43)
Serviks adenokanseri	Plörezi ve asit (44)
Endometriosis	
Ovaryan kistler	
Salpenjit	

Serum CA 125 karbonhidrat antijen konsantrasyonu ölçümü over kanser taraması için en yaygın kullanılan metottur. Serum CA 125 erken evrelerde % 50, ileri evrelerde ise yaklaşık % 80 sensitiviteye sahiptir (22). CA 125'in özellikle evre I'de düşük pozitifliği, over kanseri erken evrede tanısı için yetersiz olduğunu düşündürmektedir (45-47).

CA 125 değerlerinin ise menstrüel siklusun fazlarından ve hormonal tedaviden etkilenmediği saptanmıştır (48). CA 125 düzeyleri etnik kökene göre değişkenlik göstermektedir, Kafkas, Asya ve Afrika kökenli kadınlarda beyaz kadınlara göre daha düşüktür. Sigara ve kahve içimi, histerektomi ve obezite CA

125 düzeylerinde azalmaya yol açmaktadır. CA 125 düzeyi ilerleyen yaşla birlikte hafif derecede artmaktadır (49). Bununla birlikte, ilerleyen yaş ile birlikte CA 125 düzeylerinin etkilenmediğini veya azaldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (50,51).

CA 125'in over kanserinin histolojik tiplerine göre belirleyiciliği farklıdır. Seröz adenokarsinomların % 83'ünde CA 125 pozitif iken berrak hücreli ve endometrioid kanserlerde düşük oranda artış gösterir. Musinoz adenokarsinom, Brenner tümörü, germ hücreli tümör ve lenfomalarda ise artış göstermez (52).

CA 125 tek başına kullanıldığında sensitivitesin % 43,3, spesifitesi % 95'tir (53). Bu nedenle CA 125'in başka biyobelirteçler ve pelvik USG ile kombinasyonu üzerinde durulmaktadır.

Özellikle postmenopozal kadınlarda over kanser taraması için CA 125 kullanılmaktadır. Ancak yapılan birçok çalışmada, tek başına yıllık CA 125 ölçümünün tarama için yetersiz olduğunu göstermiştir. Son yıllarda over kanserinin erken dönemde yakalanabilmesi için CA 125'e alternatif olabilecek yeni bir tümör belirteci tanımlanmasına yönelik kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Araştırılan biyobelirteçler Tablo 2.9'da verilmiştir.

Tablo 2.9. Over kanseri tanısında yeni biyobelirteçler (2)

<b>Over</b>	<b>Endometriyum</b>
CA 72-4	Kolon mide ve over kanserinde saptanan bir yüzey antijenidir. Glikoprotein yapıdadır. CA 125 ile kombine edilerek kullanılabileceğine dair çelişkili çalışmalar vardır (54,55)
M-CSF (Makrofaj koloni stimüle edici faktör)	Makrohem normal hem neoplastik over epitelinden salgılanan bir sitokindir.
OVX1	Over ve meme kanseri hücrelerinde bulunan bir antijenik determinantı tanıyan monoklonal bir antikordur.
LPA (Lizofosfatidik asit)	Kanser hücrelerinin proliferasyonunu stimüle eden büyüme faktörü ben zeri etkileri olan biyoaktif bir fosfolipittir.
Prostasin	Prostat bezi tarafından salgılanan bir serin proteazdır.
Osteopontin	Tüm vücut sıvılarında ve ekstrasellüler matrikste bulunan kalsiyum bağlayıcı asidik bir glikofosfoproteindir.
İnhibin	FSH sekresyonunu regüle etmek üzere gonadlardan salınan menopozla birlikte azalan dimerik bir glikoproteindir.
Kallikrein	Kallikrein gen ailesinden hK-6 ve hK10 un over kanseri tanısında kullanılabileceği düşünülen serin proteazlardandır.

Yapılan çalışmalarda bu yeni belirteçlerin hiçbiri sensitivite ve spesifite açısından CA 125'e üstün bulunmamıştır.

#### 2.4.2. HE4'ün Jinekolojik Kanserlerdeki Yeri

Human epididimis protein (HE4), Whey Asidik Proteinleri (WAP) ailesindedir. Aynı zamanda WFDC2 (WAP-4 disülfid core domain) olarak da isimlendirilir. İki adet whey asidik protein zinciri ile 8 sistein rezidüsünden oluşan 4 disülfid bağı içerir. 20. kromozom üzerinde lokalizedir (53,54).

Sekretuar bir protein olan HE4, sinyal peptidi takiben, kısa (10 kDa) ve asidik (pI= 4,3) özellikte, sisteinden zengin bir polipeptittir. İlk olarak distal epididimal duktusta tanımlandığı için sperm maturasyonunda fonksiyonu olduğu düşünülmüştür (56).

DNA mikroarray yöntemi ile yapılan çalışmalarda over kanserli hastalarda HE4 geninin overeksprese olduğu ancak bunun normal böbrek akciğer, prostat ve testis dokularında da arttığı tespit edilmiştir (57). Schummer ve ark. (58), ilk defa primer olarak bazı over kanserlerinde eksprese olduğu için over kanserinde potansiyel bir tümör belirteci olduğunu bildirmişlerdir.

HE4 düzeyi gebelikte ve yaşla birlikte artmaktadır. Sigara içenlerde de HE4 düzeyi içmeyenlere göre % 29 daha yüksektir (59,60). Hormonal tedavi için kullanılan ilaçlar HE4 düzeylerini etkilemektedir (48). Böbrek yetmezliği olan hastalarda HE4 düzeyi artmıştır. Böbrek yetmezlik derecesine göre HE4 düzeyi de yükselmektedir (61). Anastasi E. ve ark. (62), HE4 düzeylerinin ovulatuvar fazda (45,3 pM) foliküler faza (39,1 pM) göre daha yüksek olduğunu ancak 35 yaşından sonra bu farkın ortadan kalktığını göstermişlerdir. Hallamaa M. ve ark. (46) ise HE4 düzeyinin menstrüel siklus veya hormonal tedavilerden etkilenmediğini, dolayısıyla HE4 ölçümünün siklusun herhangi bir gününde veya hormonal tedavi sırasında ölçülebileceğini ileri sürmektedirler.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda HE4'ün, over kanseri (63-65), akciğer adenokanseri (66), endometriyum kanseri (7), mezotelyoma (67), transizyonel hücreli kanserler (68) ve meme kanseri için potansiyel bir biyobelirteç olduğu gösterilmiştir. HE4'ün özellikle seröz ve endometrioid over kanserlerinde overeksprese olduğu tespit edilmiştir (63). HE4'ün özellikle over kaynaklı endometriyozis ile malign over tümörlerini ayırımında CA 125'e göre üstün olduğu bildirilmektedir (8).

Moore ve ark. (7), HE4'ün endometriyum kanserinin tüm evrelerinde yükseldiği ve erken evrelerde CA 125'e göre daha duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. HE4 düzeyinin, uterusun endometrioid adenokarsinomlarında myometriyal invazyon derinliği ve tümör büyüklüğü ile ilişkili olduğu gösteren çalışmalar da mevcuttur (69,70). Özellikle endometriyal kanser rekürrensının erken tespiti ve tedaviye yanıtın takibinde HE4'ün güvenilir bir belirteç olabileceği ileri sürülmektedir.

HE4'ün tek başına ya da başka biyobelirteçlerle kombine edilerek başta over olmak üzere başka kanser türlerinde ve benign hastalıklarla ayırımındaki değerini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda HE4 düzeyi ölçümü için EIA ve CMIA olmak üzere 2 yöntem kullanılmıştır. Enzim immunometrik yöntem (EIA: Enzyme immunometric Assay) HE4'ün WFDC domainin 2 epitopuna yönelik spesifik 2 fare monoklonal antikorunun (2H5 ve 3D8) kullanıldığı non-kompetitif immün yöntemdir (Fujirecio Diagnostics, Malvern, USA) (<http://www.fujirebio.com>). Bu yöntemin ölçüm aralığı 15-900 pmol/L, eşik değeri 150 pmol/L'dir. CMIA (Chemiluminescent Microparticle Immunoassay) yöntemi ise iki aşamalı immünolojik bir tetkiktir. (Abbott Diagnostics Division, Chicago, USA) (<http://www.abott.com>). Bu yöntemin ölçüm aralığı 20-1500 pmol/L, eşik değeri menopoz öncesi için <70 pmol/L iken menopoz sonrası <140 pmol/L'dir. ELISA ve CMIA yöntemleri ile yapılan çalışmalar Tablo 2.10'da verilmiştir.

Tablo 2.10. ELISA ve CMIA yöntemleriyle yapılan HE4 çalışmaları

Çalışma	Yöntem	Eşik değer	Çalışma popülasyonu	GP	FP	FN	GN
Chang (2011)	ELISA	150	118	38	2	14	64
Anastasi (2010)	ELISA	150	190	31	0	1	158
Moore (2008)	ELISA	70	233	49	20	18	146
Jacob (2011)	ELISA	70	100	25	10	4	61
Montagnana (2011)	ELISA	74,2	153	42	6	13	92
Abdel-Azeez (2010)	ELISA	72	90	34	3	7	46
Dong (2008)	ELISA	150	212	19	0	11	182
Ou (2010)	ELISA	150	181	52	4	12	113
Wang (2009)	ELISA	51,6	132	26	2	4	100
Van GORP (2011)	ELISA	72,2	389	119	34	42	194
Holcomb (2011)	CMIA	70	213	16	16	2	179

### 2.4.3. Roma İndeksi (Risk of Ovarian Malignancy Index)

Over kanseri taramasında sadece CA 125 ve transvajinal USG uygulaması, düşük pozitif prediktif değerler nedeniyle önerilmemektedir. CA 125 ve USG'nin beraber kullanımının sensitivite ve spesifiteyi yükselttiği görülmüştür. Malignite Risk İndeksi (Risk of Malignancy Index, RMI); USG, pelvik kitle özellikleri, menopozal durum ve CA 125 düzeylerini içeren bir indekstir. Yaygın şekilde kullanılan bu indeks, hastaları yüksek veya düşük risk grubuna göre skorlamaktadır. Ancak USG değerlendirmesi kişiden kişiye, merkezden merkeze değiştiği için bu algoritma standardize edilememektedir.

Pelvik kitleli kadınlarda over kanseri riskini belirleyebilmek için Moore ve ark. (96), 2009 yılında Risk of ovarian malignancy ROMA algoritmasını geliştirmişlerdir (40). Bu algoritmada HE4, CA 125 ve menopozal duruma göre risk hesaplanmaktadır ve premenopozal hastalarda % 7,4, postmenopozal hastalarda % 25,3 üst sınır olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda ROMA indeksinin, over kanseri ve benign grupları % 93,8 doğrulukla ayırdığı, ayrıca düşük ve yüksek riskli olarak gruplandığı tespit edilmiştir (40). Ayrıca RMI ile ROMA'nın karşılaştırmasında birbirine çok yakın olmakla birlikte ROMA'nın daha iyi bir ayırım yaptığı gösterilmiştir. ROMA'nın tek başına CA 125'e göre üstün olduğu bildiren başka küçük çaplı çalışmalar da mevcuttur (71,72).

Biyobelirteç kombinasyonunun over kanseri tanısındaki doğruluğu arttıracak başka birçok çalışmada gösterilmesine karşın, Van Gorp ve ark. (73) HE4 ve ROMA'nın tek başına CA 125'e göre malign hastalıkların tespitini arttırmadıklarını bildirmiş ve bu nedenle over kanseri tanısına katkı sağlamadığını iddia etmişlerdir. Jacob F. ve ark. (74), yaptığı çalışmada HE4 ün özellikle borderline tümörlerde ve erken evre over ve tubal kanserlerde spesifite ve sensitivitesinin yüksek olduğu ancak RMI veya ROMA ile kombinasyonun klinik açıdan yarar sağlamayacağını bildirmişlerdir.

## GEREÇLER VE YÖNTEMLER

### 3.1. Çalışma Popülasyonu

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları-Doğum kliniğine başvuran ve pelvik kitle ön tanısı alan hastalar incelenmiştir. Bu hastalardan kırmızı kapaklı tüplere (BD) alınan kan örnekleri 1500g'de 10 dakika santrifüj (Rotanta 460 R) edilerek serumları ayrılmıştır. Ayrılan serumlar -20°C'de çalışma gününe kadar saklanmıştır.

Bu çalışmaya katılan hastalardan alınan cerrahi örnekler, bir uzman patolog tarafından değerlendirilmiş ve son rapor kaydedilmiştir.

Gebeler, kronik karaciğer hastalığı ve kronik böbrek yetmezliği olan hastalar, Diyabetes mellitus tanısı ile insülin kullananlar, bilateral veya unilateral overektomi öyküsü olanlar, daha önce over kanseri ön tanısıyla opere olmuş hastalar ve son 6 ay içinde herhangi bir pelvik operasyon geçirmiş olanlar çalışma dışında tutulmuştur. Histopatolojik tanısı endometriyum kanseri (n=24) veya over kanseri (n=47) olan hastalar, malign grupta yer almıştır. Over kanserli hastaların 33'ü menopoz sonrası, 14'ü menopoz öncesi dönemde idi. Endometriyum kanserli hastaların 19'u menopoz sonrası, 5 tanesi menopoz öncesi dönemde idi. Benign grupta ise, radyolojik olarak pelvik kitle, endometriyozis, over kisti ön tanısı alan veya histopatolojik olarak myom, adenomyozis, over kisti, endometrioma, endometriyozis tanısı alan benign jinekolojik hastalığı (n=96) olan hastalar bulunmaktadır. Bu grupta yer alan hastaların 83'ü premenopozal, 13'ü postmenopozal kadınlardan oluşmaktadır. Yaşları 20 ila 80 arasında değişen sağlıklı gönüllüler ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Kontrol grubuna seçilen gönüllüler (n= 70), jinekolojik hastalık veya operasyon, kronik hastalık ya da ilaç kullanımı açısından sorgulanmış, ayrıca fizik muayene ile değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda yer alanların 35'i premenopozal, 35'i postmenopozal kadınlardır.

Bu çalışma için etik kurul izni, Hacettepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan alındı (27.08.2012/03-07).



### 3.2. CA 125 Düzeyinin Ölçümü

Santrifüj ile ayrılıp  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan serum örnekleri, çalışma öncesi oda ısısına getirildi ve vortekslenerek karıştırıldı. CA 125 ölçümü, ARCHITECT CA 125 reaktif kiti kullanılarak, "ARCHITECT i2000sr" cihazında yapıldı.

ARCHITECT CA 125 kiti, insan serumu ve plazmasında bulunan CA 125 antijeninin kantitatif tespiti için CMIA teknolojisi kullanan iki aşamalı immünolojik bir yönteme dayanır (Şekil 3.1). Reaktifler cihaz üzerinde 30 gün stabildir. Kalibratörü sıvıdır ve kullanıma hazırdır, 0-1000 U/ml arasında 6 noktada kalibrasyon yapılır. İki farklı seviyede (40 ve 150 U/mL) kontrolü vardır. Sistem 16 dakikada sonuç verir ve saatte 200 test çalışabilir. ARCHITECT sisteminde yapılan CA 125 analizi için ölçüm aralığı, 1,0-1000 U/mL'dir. 1000 U/ml üzerindeki konsantrasyonlarda 1:10 dilüsyon yapılır.

Architect sistemi CA 125 ölçümü için 150  $\mu\text{L}$  serum kullanır. İlk aşamada serumdaki antijen, antijene karşı geliştirilmiş 1. antikor (OC 125) ile kaplı paramagnetik mikropartiküllerle bağlanır. Mikropartiküller, sığır protein stabilizatörü ile TRIS tamponu içerisinde anti-CA 125 b (fare, monoklonal) kaplıdır. Yıkama sonrası, akridinyum bağlanmış 2. bir antikor (M11) reaksiyon karışımına eklenir. Sonrasında % 1,32 (w/v) hidrojen peroksit içeren Pretrigger solüsyonu ve 0,35 N sodyum hidroksit içeren trigger solüsyonları karışıma eklenir. Oluşan kemiluminesans reaksiyon, relatif ışık üniteleri (RLU) ile ölçülür. Örnekteki antijen miktarı ile RLU doğru orantılıdır.

CA 125 kit prospektüsünde, çalışma içi presizyon değerinin  $< \% 10$  olması gerektiği belirtilmiş, düşük ve yüksek kontrol örnekleri için presizyon değerleri sırasıyla 3,2 ve 1,7 olarak verilmiştir.

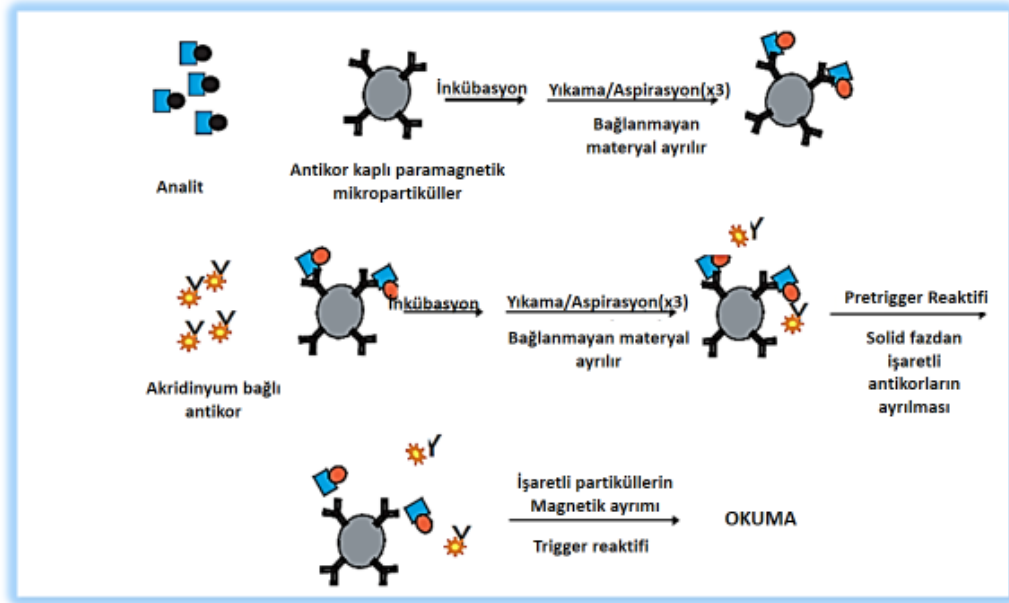
### 3.3. HE4 düzeyinin ölçümü

Santrifüj ile ayrılıp  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan serum örnekleri, çalışma öncesi oda ısısına getirildi ve vortekslenerek karıştırıldı. HE4, ARCHITECT HE4 kiti kullanılarak, "ARCHITECT i2000sr" cihazında çalışıldı. ARCHITECT HE4 kiti, insan serumu ve plazmasında bulunan HE4 antijeninin kantitatif tespiti için CMIA teknolojisi kullanan iki aşamalı immünolojik bir yönteme dayanır (Şekil 3.1).

HE4 düzeyleri, HE4 reaktif kiti kullanılarak "ARCHITECT i2000sr" cihazında çalışılmıştır. Reaktifler cihaz üzerinde 30 gün stabildir. Kalibratörü

sıvıdır ve kullanıma hazırdır, 0-1500 pmol/L arasında 6 noktada kalibrasyon yapar. Üç farklı seviyede (50, 150 ve 700 pmol/L) kontrolü mevcuttur. Sistem 28 dakikada sonuç verir ve saatte 200 test çalışabilir. ARCHITECT sisteminde yapılan HE4 analizi için ölçüm aralığı, 20-1500 pmol/L'dir. 1500 pmol/L üzerindeki konsantrasyonlarda 1:10 dilüsyon ile linearite 15000 pmol/L'ye kadar yükseltilebilir.

Architect sistemi HE4 ölçümü için 150 µL serum kullanır. İlk aşamada serumdaki antijen, antijene karşı geliştirilmiş 1. antikor (anti-HE4 antikorları) ile kaplı paramagnetik mikropartiküllerle bağlanır. Yıkama sonrası, akridinyum bağlanmış 2. bir antikor (3D8 anti-HE4) reaksiyon karışımına eklenir. Sonrasında % 1,32 (w/v) hidrojen peroksit içeren Pretriggerer solüsyonu ve 0,35 N sodyum hidroksit içeren trigger solüsyonları karışıma eklenir. Oluşan kemiluminesans reaksiyon, relatif ışık üniteleri (RLU) ile ölçülür. Örnekteki antijen miktarı ile RLU doğru orantılıdır.



Şekil 3.1. İki aşamalı immünolojik bir tetkik olan CMIA teknolojisi

### 3.4. HE4 Ölçüm Yönteminin Performansının Değerlendirilmesi

Metod performansını değerlendirmek amacıyla, gün içi presizyonu belirlemek için % CV (varyasyon katsayısı) çalışması yapıldı.

Üretici firmatarafından, HE4 kiti için gün içi presizyon değerlerinin <% 10 olması gerektiği belirtilmiş ve yaptıkları gün içi presizyon çalışmasındaki düşük ve orta kontrol için sırasıyla % 3,9 ve % 3,6 olarak verilmiştir.

Bizim çalışmamızda HE4 ölçümünün performansını değerlendirmek amacıyla düşük ve orta düzey kontrol örnekleri gün içinde 20 kez ardışık olarak ölçüldü. Düşük ve orta düzey kontrol örnekleri için gün içi presizyon (% CV) değerleri sırasıyla, % 3,5 ve % 4,8 olarak bulundu.

### 3.5. ROMA İndeksinin Hesaplanması

ROMA indeksi menopozal durum, CA 125 ve HE4 değerleri kullanılarak hesaplanmaktadır. Tümör belirteçleri için kullanılan metoda göre bu indeksin hesaplanması farklılık gösterir. Bu çalışmada CMIA yöntemi kullanıldığı için Moore ve ark. (79) tarafından önerilen hesaplama kullanılmıştır (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. ROMA indeksinin hesaplanması

---

Premenopozal kadınlar için:

$$\text{Prediktif İndeks (PI)} = -12,0 + 2,38 \cdot \text{LN}[\text{HE4}] + 0,0626 \cdot \text{LN}[\text{CA 125}]$$


---

Postmenopozal kadınlar için:

$$\text{Prediktif indeks (PI)} = -8,09 + 1,04 \cdot \text{LN}[\text{HE4}] + 0,732 \cdot \text{LN}[\text{CA 125}]$$


---

$$\text{ROMA}(\%) = \exp(\text{PI}) / [1 + \exp(\text{PI})] \cdot 100$$


---

ROMA indeksi, ikili tümör belirteci (HE4 ve CA 125) kombinasyonu ile menopozal durumu birlikte değerlendirir. Postmenopozal ve premenopozal kadınları yüksek riskli ve düşük riskli gruplara ayırır (Tablo 3.2.), böylece daha etkin bir tedavi planı yapılmasını sağlar.

Tablo 3.2. ROMA indeksine göre düşük ve yüksek riskli gruplar

<b>Premenopozal</b>	<b>Postmenopozal</b>
$\geq$ % 7,4: Over Ca için yüksek risk	$\geq$ % 25,3: Over Ca için yüksek risk
$<$ % 7,4: Over Ca için düşük risk	$<$ % 25,3: Over Ca için düşük risk

### 3.6. İstatistiksel Analiz

HE4 ve CA 125 verileri tek başına ve kombine edilerek (ROMA) değerlendirildi. HE4, CA 125 ve ROMA'nın, diğer pelvik kitle ve benign jinekolojik durumlardan over kanserlerini ayırt etme yeteneği, tek yönlü varyans analizi (ANOVA), Kruskal Wallis Analizi ve ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi yapılarak değerlendirildi. İstatistiksel değerler % 95 güven aralığında verildi. Bu istatistikler, IBM SPSS Statistic programı 19.0 kullanılarak yapıldı. Referans çalışmasında ise Med-Calc 12.5 programı kullanılarak De-Agoustino Pearson testi yapıldı. Çalışmaya katılan örneklere ait ROC eğrilerinden elde edilen "Cut-off" değerleri Youden indeks'e göre hesaplandı.

## BULGULAR

Çalışmaya 96 adet benign jinekolojik hastalık, 46 over kanseri, 22 endometriyum kanseri olan olgu dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan benign ve malign hastalıkların dağılımı Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Benign ve malign hastalıkların dağılımı

		SAYI	%
Benign jinekolojik hastalıklar	Adenom, polip	8	8,3
	Endometriyozis	16	16,7
	Over kistleri	22	22,9
	Leiyomyom	20	20,8
	Leiyomyom + over kisti	10	10,4
	Matür kistik teratom	2	2,1
	Müsinöz kistadenom	1	1,0
	Myom + endometriyozis	1	1,0
	Diğer	16	16,7
	Total	96	100,0
Endometriyum kanseri	Endometrioid Adeno Ca	5	20,8
	Endometriyum adenokarsinomu	11	45,8
	Karsinosarkom	1	4,2
	Seröz	6	25,0
	Diğer	1	4,2
	Total	24	100,0
Over kanseri	Berrak hücreli	3	6,4
	Gonadoblastoma	1	2,1
	Granülosa hücreli	4	8,5
	Krukenberg tümörü	3	6,4
	Senkron tümör	2	4,3
	Seröz	31	66
	Transizyonel hücreli	1	2,1
	Yolk salk tümör	1	2,1
	Diğer	1	2,1
	Total	47	100,0

Benign jinekolojik hastalığı olan gruptaki kadınların yaşları  $42\pm 10$  (premenopozal:  $40\pm 9$ , postmenopozal:  $55\pm 6$ ) aralığında idi. Over kanserli hastaların yaş ortalaması  $56\pm 14$  (premenopozal:  $41\pm 10$ , postmenopozal:  $62\pm 10$ ) iken, endometriyum kanserli hastaların yaş ortalaması  $61\pm 11$  (premenopozal:  $48\pm 3$ , postmenopozal:  $64\pm 10$ ) olarak saptandı.

Premenopozal ve postmenopozal kadınlarda saptanan malign ve benign jinekolojik patolojilerde CA 125 için elde ettiğimiz ortalama, ortanca, en düşük ve en yüksek değerler Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Malign over ve endometriyum tümörleri ile benign jinekolojik patolojilerde CA 125 değerleri

		CA 125 (U/mL)			
		Ort.	Medyan	Min.	Maks.
Benign jinekolojik hastalıklar	Postmenopozal	14,6	12,1	5,1	52,9
	Premenopozal	38,5	18,6	3,5	391,7
Endometriyum Ca	Postmenopozal	56,4	13,2	6,2	519,3
	Premenopozal	33,5	25,2	6,9	62,7
Over Ca	Postmenopozal	646,4	274,6	7,4	3347,0
	Premenopozal	176,2	107,4	7,2	660,7

Postmenopozal over Ca ve benign jinekolojik hastalıklar karşılaştırıldığında, CA 125 düzeyleri arasındaki farkın anlamlı olduğu saptandı ( $P<0,05$ ). Ancak, premenopozal dönemde CA 125 için bu fark anlamlı bulunmadı ( $P>0,05$ ). Endometriyum Ca ve benign jinekolojik hastalıklar karşılaştırıldığında CA 125 düzeyleri arasındaki fark hem premenopozal hem postmenopozal dönemde anlamlı değildi ( $P>0,05$ ). CA 125, endometriyum Ca ayırıcı tanısında yetersiz kalmaktadır.

Premenopozal ve postmenopozal kadınlarda saptanan malign ve benign jinekolojik patolojilerde HE4 için elde ettiğimiz ortalama, ortanca, en düşük ve en yüksek değerler Tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4.3. Malign over ve endometriyum tümörleri ile benign jinekolojik patolojilerde HE4 değerleri

			HE4 (pmol/L)			
			Ort.	Medyan	Min.	Maks
Benign jinekolojik hastalıklar	Postmenopozal	49,9	46,1	29,9	93	
	Premenopozal	48,5	44,3	14,9	103	
Endometriyum Ca	Postmenopozal	230,6	122,3	52,0	1500	
	Premenopozal	48,1	45,6	20,5	82	
Over Ca	Postmenopozal	517,5	237,2	36,9	15000	
	Premenopozal	263,3	157,4	35,9	1271	

HE4 düzeyi, hem premenopozal hem de postmenopozal dönemde benign jinekolojik hastalıklarda düşük bulunurken, over Ca'da anlamlı olarak yüksek bulundu ( $P<0,05$ ). Postmenopozal over Ca hastaları ile premenopozal over Ca vakaları arasında HE4 düzeyi açısından anlamlı fark bulunmadı ( $P>0,05$ ).

Postmenopozal endometrium Ca hastaları ile premenopozal endometrium Ca vakaları arasında HE4 düzeyi açısından fark bulunmadı ( $P>0,05$ ). Postmenopozal dönemde endometriyum Ca'larda saptanan HE4 düzeyi, benign jinekolojik hastalıklara göre anlamlı şekilde yüksek bulundu ( $p<0,05$ ), ancak premenopozal dönemde bu fark anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). Özellikle postmenopozal dönemde HE4 düzeyleri, malignite ile benign hastalıkların ayırımında katkı sağlamaktadır.

Benign jinekolojik hastalıklar değerlendirildiğinde, HE4'ün premenopozal ve postmenopozal dönemde anlamlı farklılık göstermediği izlendi ( $p>0,005$ ).

Premenopozal ve postmenopozal kadınlarda saptanan malign ve benign jinekolojik patolojilerde ROMA indeksi için elde ettiğimiz ortalama, ortanca, en düşük ve en yüksek değerler Tablo 4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Malign over ve endometriyum tümörleri ile benign jinekolojik patolojilerde ROMA indeksi değerleri.

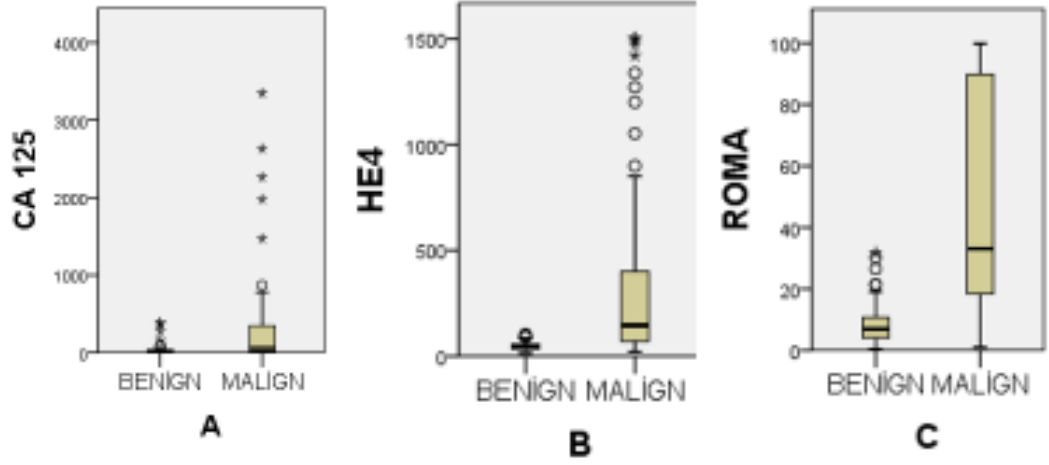
			ROMA indeksi			
			Ort.	Medyan	Min.	Maks
Benign jinekolojik hastalıklar	Postmenopozal		10,3	9,5	3,8	18
	Premenopozal		8	5,9	0,5	32
Endometriyum Ca	Postmenopozal		29,4	20,6	7,6	94
	Premenopozal		8,3	6,6	1,0	21
Over Ca	Postmenopozal		66,2	77,6	11,5	100
	Premenopozal		55,1	72,5	5,6	100

Hem premenopozal hem postmenopozal over Ca ile benign jinekolojik hastalıklar karşılaştırıldığında, ROMA indeksleri arasında anlamlı fark bulundu ( $P<0,05$ ). Ancak endometriyum Ca ile benign jinekolojik hastalıklar arasında, ne premenopozal ne de postmenopozal dönemde anlamlı fark saptanmadı ( $P>0,05$ ).

Özellikle postmenopozal endometriyum Ca hastalarında saptanan ROMA indeksi değerleri, premenopozal dönemde saptanan endometrium kanseri vakalarına oranla anlamlı şekilde yüksekti ( $p<0,05$ ). Premenopozal ve postmenopozal dönemdeki Over Ca vakalarına ait ROMA indeksi değerlerindeki fark anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ). Benign jinekolojik hastalıklar değerlendirildiğinde, ROMA indeksinin premenopozal ve postmenopozal dönemde farklılık göstermediği izlendi ( $p>0,05$ ).



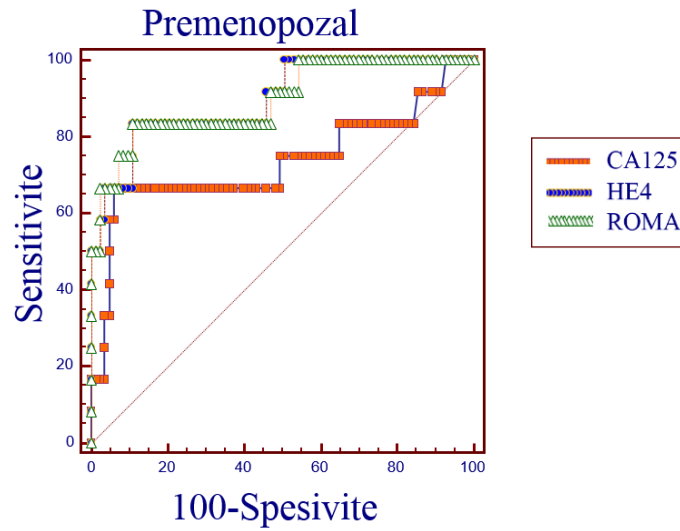
CA 125, HE4 ve ROMA indeksinin benign patolojileri malignitelerden ayırt edebilme yetkinlikleri Şekil 4.1’de Box-plot grafikleri ile gösterilmiştir.

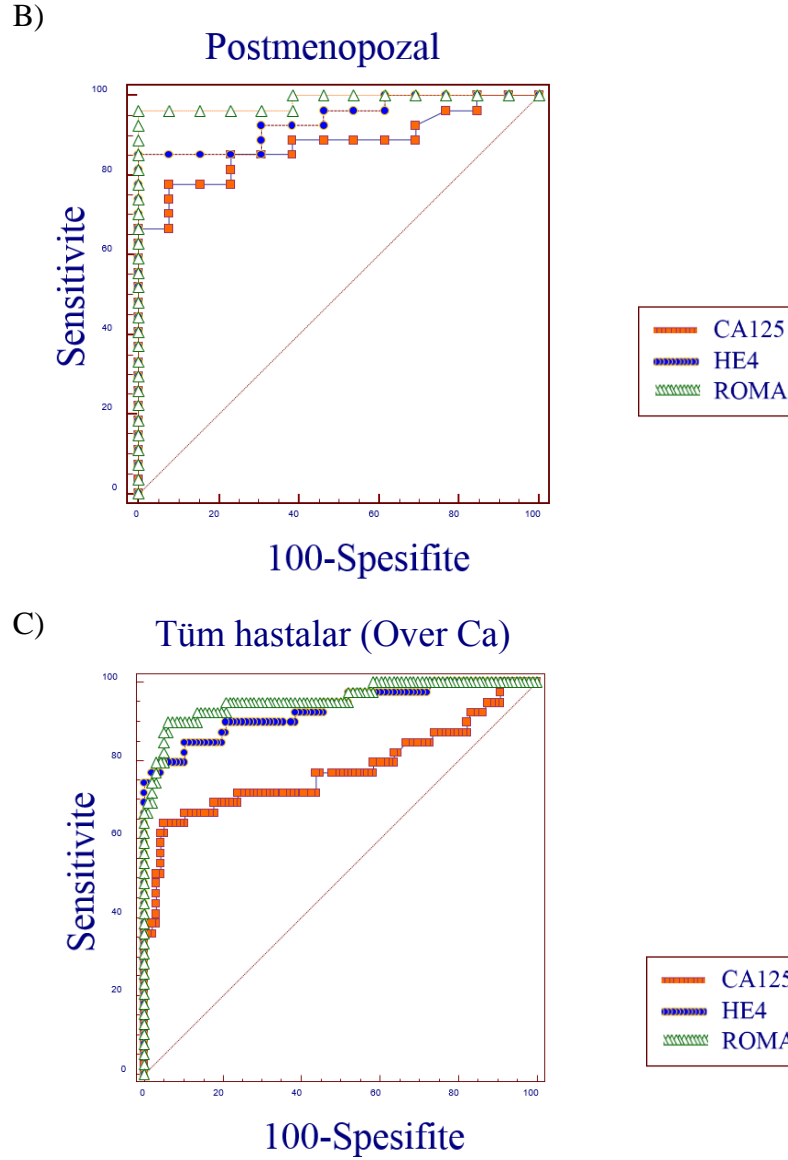


Şekil 4.1. Tüm jinekolojik malign ve benign hastaların A) CA 125, B) HE4 ve C) ROMA indeksine ait Box-plot grafikleri

Premenopozal ve postmenopozal over kanserli hastalar kendi yaş gruplarındaki kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır ve CA 125, HE4, ROMA indeksine ait ROC eğrileri Şekil 4.2’de verilmiştir.

A)





Şekil 4.2. Over kanserinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait ROC eğrileri: A) Premenopozal kadınlar, B) \*, C) Tüm over Ca hastaları

Over kanserli hastalarda ROC eğrilerinin analizinde, CA 125, HE4 ve ROMA indeksinin AUC değeri, sırasıyla 0,776, 0,929 ve 0,954 olarak bulundu. AUC değerleri açısından, CA 125 ile HE4 karşılaştırıldığında aradaki farkın anlamlı ( $p < 0,05$ ) olduğu görüldü. Benzer şekilde, CA 125 ile ROMA indeksi karşılaştırıldığında farkın anlamlı ( $p < 0,05$ ) olduğu saptandı. HE4 ve ROMA indeksine ait AUC değerleri arasındaki fark ise anlamlı bulunmadı ( $p > 0,05$ ). AUC değerleri ile % 80, % 90 ve % 95 spesifitede elde edilen sensitivite değerleri Tablo 4.5.'de görülmektedir.

Tablo 4.5. Over kanserlerinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksinin AUC ve farklı spesifitelerdeki sensitivite değerleri

	ROC		Sensitivite		
	AUC	(% 95 CI)	% 80 spesifite	% 90 spesifite	% 95 spesifite
CA 125	0,776	(0,69-0,84)	69,2	64,3	61,5
HE4	0,929	(0,87-0,96)	89,3	82,1	78,2
ROMA	0,954	(0,90-0,98)	92,1	89,7	79,4

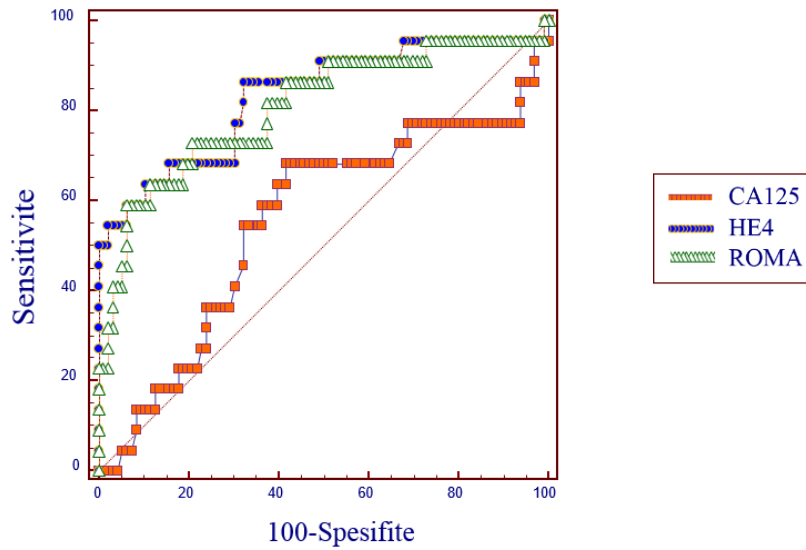
Over Ca insidansı menopozla birlikte artış göstermektedir. Tablo 4.6’da görüldüğü gibi çalışmamızda CA 125’in premenopozal ve postmenopozal dönemdeki sensitivitesi birbirine yakın, PPV değeri ise postmenopozal dönemde daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 4.6. Over kanserinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait sensitivite (%), spesifite (%), PPV (%) ve NPV (%) değerleri

	Sensitivite	Spesifite	PPV	NPV
	%	%	%	%
<b>CA 125</b>				
Premenopozal	66,7	90,0	6,15	0,37
Postmenopozal	77,7	92,1	10,1	0,24
<b>HE4</b>				
Premenopozal	61,5	96,4	17	0,40
Postmenopozal	84,8	92,3	11	0,16
<b>ROMA</b>				
Premenopozal	66,7	97,6	27,6	0,34
Postmenopozal	96,3	92,3	12,5	0,04

HE4'ün ve ROMA indeksinin sensitivitesi postmenopozal dönemde premenopozal döneme göre anlamlı derecede yüksektir. CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait PPV değerleri postmenopozal dönemde birbirine yakındır. Postmenopozal dönemde ROMA indeksi en düşük NPV'ye ve en yüksek sensitiviteye sahiptir.

Menopoz öncesi ve sonrası dönemdeki tüm endometriyum Ca'lı hastalar kendi yaş gruplarındaki kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır ve CA 125, HE4, ROMA indeksine ait ROC eğrileri Şekil 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.3. Endometriyum kanserli hastalarda CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait ROC eğrileri

Endometrium kanserli hastalarda ROC eğrilerinin analizinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait AUC değeri, sırasıyla 0,554, 0,830 ve 0,807 olarak bulunmuştur. AUC değerleri açısından, CA 125 ile HE4 karşılaştırıldığında aradaki farkın anlamlı ( $p < 0,05$ ) olduğu görüldü. Benzer şekilde, CA 125 ile ROMA indeksi karşılaştırıldığında farkın anlamlı ( $p < 0,05$ ) olduğu saptandı. HE4 ve ROMA indeksine ait AUC değerleri arasındaki fark ise anlamlı bulunmadı ( $p > 0,05$ ). AUC değerleri ve % 80, % 90, % 95 spesifitede elde edilen sensitivite değerleri Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Endometriyum kanserinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait AUC ve % 80, % 90, % 95 spesifitede elde edilen sensitivite değerleri

	ROC	Sensitivite		
	AUC (%95 CI)	% 80 spesifite	% 90 spesifite	% 95 spesifite
CA 125	0,554 (0,46-0,64)	23	18	13
HE4	0,830 (0,75-0,89)	72	64	60
ROMA	0,807 (0,72-0,87)	68	59	45

Endometriyum kanserli olguları, benign jinekolojik hastalardan ayırmada en düşük AUC değeri CA 125'e aittir. HE4 ve ROMA indeksine ait AUC değerleri birbirine yakın olmakla birlikte, HE4'ün sensitivitesi % 80, % 90, % 95 spesifite değerlerinde hem CA 125'den hem ROMA indeksinden yüksektir.

Endometrium kanseri insidansı menopoz sonrası dönemde artış göstermektedir. Menopoz öncesi ve sonrası dönemde saptanan endometriyum kanserlerinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait sensitivite (%), spesifite (%), PPV (%) ve NPV (%) değerleri Tablo 4.8'de verilmiştir.

CA 125'in özellikle posmenopozal dönemdeki endometrium kanserinde sensitivitesinin çok düşük olduğu (% 18,8) görüldü. CA 125, HE4 ve ROMA indeksinin PPV değerleri; menopoz öncesi dönemde birbirine yakın olmakla birlikte menopoz sonrası dönemde HE4 ait PPV değeri, hem CA 125'den hem ROMA indeksinden daha yüksek bulundu. Bu sonuçlara göre, HE4'ün sensitivitesi (% 78,9) CA 125'e göre (% 18,8) belirgin yüksektir ve postmenopozal dönemdeki kadınlarda, en yüksek PPV değerine (10,26) sahip olması nedeniyle özellikle postmenopozal dönemde tek başına güvenilir bir kanser belirteci olarak kullanılabilir.

Tablo 4.8. Endometriyum kanserinde CA 125, HE4 ve ROMA indeksine ait sensitivite (%), spesifite (%), PPV (%) ve NPV (%) değerleri

	Sensitivite	Spesifite	PPV	NPV
	%	%	%	%
<b>CA 125</b>				
Premenopozal	50	92,8	6,9	0,54
Postmenopozal	18,8	92,3	2,5	0,88
<b>HE4</b>				
Premenopozal	33,3	94	5,5	0,71
Postmenopozal	78,9	92,3	10,2	0,23
<b>ROMA</b>				
Premenopozal	33,3	94	5,5	0,71
Postmenopozal	68,1	92,3	8,9	0,34

Çalışmaya katılan tüm over ve endometriyum kanserli hastalar, premenopozal ve postmenopozal dönem şeklinde gruplandırıldı, bu belirteçlerin malign-benign ayırımındaki performanslarını incelendi. Burada HE4 ve ROMA'nın premenopozal dönemdeki analitik performansının benzer ve CA 125'den iyi olduğu saptandı. Benzer şekilde postmenopozal dönemde de ROMA indeksi ile HE4'ün analitik performansının birbirine yakın ve CA 125'den üstün olduğu tespit edildi. Tablo 4.9.'da tüm tümör belirteçlerinin menopoz öncesi ve sonrası dönemdeki analitik performansları görülmektedir.

Tablo 4.9. Menopoz öncesi ve sonrasında CA 125, HE4 ve ROMA indeksinin analitik performansları

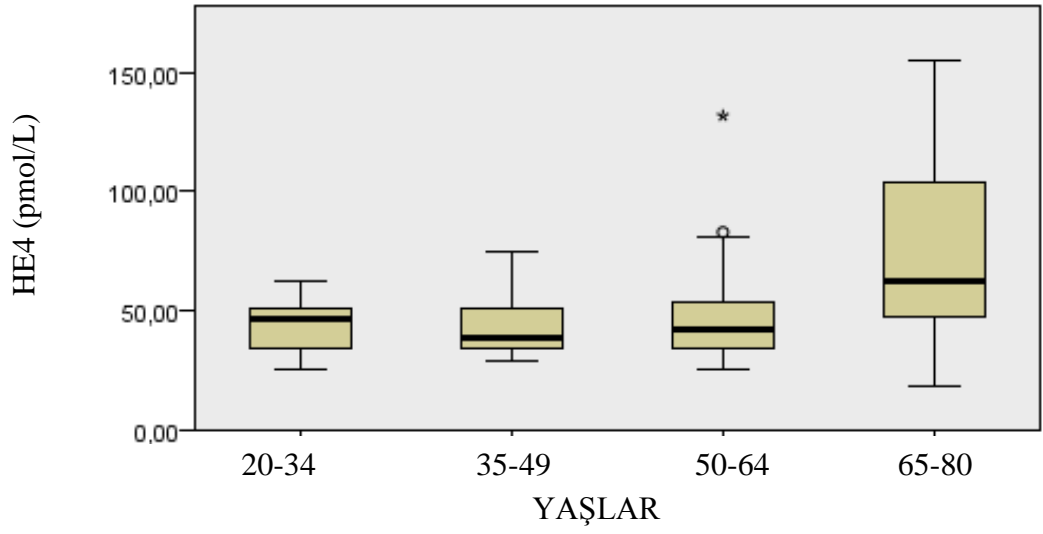
	Premenopozal (12 malign, 95 benign)		Postmenopozal (27 malign, 13 benign)	
	ROC-AUC	(% 95 CI)	ROC-AUC	(% 95 CI)
CA 125	0,734	(0,63-0,81)	0,876	(0,73-0,95)
HE4	0,897	(0,81-0,95)	0,937	(0,81-0,99)
ROMA	0,897	(0,81-0,95)	0,986	(0,88-1,00)

Çalışmamıza katılan tüm over Ca, endometrium Ca ve benign jinekolojik hastalıklar hepbirlikte değerlendirildiğinde, maligniteleri benign durumlardan ayıracak ideal eşik (“cut-off”) değerleri ROC eğrilerinin analiziyle saptanmış ve Tablo 4.10’da verilmiştir.

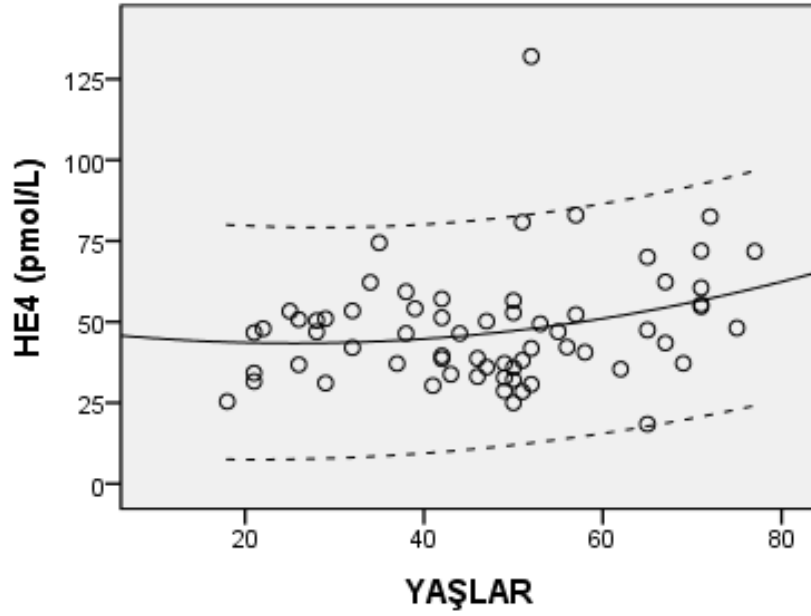
Tablo 4.10. CA 125, HE4 ve ROMA indeksi için hesaplanan eşik (“Cut-off”) değerleri

	Eşik (“Cut-Off”) değerleri	
	Over Ca	Endometriyum Ca
CA 125 (U/mL)	65,4	16
HE4 (pmol/L)	85,4	85,4
ROMA (%)	17,8	17,8

Çalışmamız kapsamında yaşları 20-80 arasında değişen 70 sağlıklı Türk kadınında serum HE4 düzeyleri tayin edildi. Ölçülen en yüksek değer 132 pmol/L, en düşük değer 18 pmol/L idi. Sonuçlar D'Agostino-Pearson testine göre normal dağılım göstermediği için logaritmik transformasyon uygulandı ve bu uygulama sonrası dağılımın normal dağılıma uygun olduğu saptandı. Yüzde persentil metoduna göre % 2,5-97,5 arasında kalan değerler referans aralığı hesaplanmasında kullanıldı. Sonuç olarak HE4’ün yaşla birlikte artış gösterdiği ve en yüksek değerlere 65-80 yaş grubunda rastlandığı tespit edildi (Şekil 4.4). HE4 referans aralığı 22-84 pmol/L olarak saptandı (Şekil 4.5).



Şekil 4.4. HE4 düzeyinin sağlıklı Türk kadınlarında yaş gruplarına göre dağılımı



Şekil 4.5. HE4 düzeyinin yaşlara göre değişimi. Ortalama (düz çizgi) ve % 95 güven aralığı (kesikli çizgi) olarak verilmiştir.



## TARTIŞMA

Pelvik kitlelerin ayırıcı tanısında fizik muayene ve USG gibi görüntüleme yöntemlerinin yanı sıra en sık kullanılan tümör belirteci CA 125'tir. Ancak over tümörlerinin % 20 kadarı CA 125 eksprese etmemektedir, erken evre over Ca'ların da % 50'sinden azında CA 125 yükselmektedir. Ayrıca benign jinekolojik hastalıklarda da yalancı CA 125 yüksekliklerine rastlanabilmektedir (40).

CA 125 ile ilgili 12 farklı çalışmanın dahil olduğu bir meta analiz araştırmasında toplam 2607 örnek incelenmiş ve sonuçları Tablo 5.1'de verilmiştir.

Tablo 5.1. CA 125 ile ilgili çalışmalar

	GP	YP	YN	GN
Chang (2011)	46	9	6	57
Anastasi (2010)	28	10	4	148
Moore (2008)	29	43	38	123
Jacob (2011)	20	7	9	64
Montagnana (2011)	39	15	16	83
Abdel-Azeez (2010)	30	5	11	19
Dong (2008)	26	4	4	178
Havrilesky (2008)	100	7	100	389
Van (2011)	119	25	42	203
Holcomb (2011)	15	79	3	116

Son yıllarda CA 125'in tanısal spesifitesini arttırabilmek için tek başına veya CA 125 ile kombine kullanılabilecek potansiyel tümör belirteçleri araştırılmaktadır. İncelenen belirteçler arasında en ümit verici olan HE4'dür. WFDC2 gen ürünü olan HE4, 11 kDa molekül ağırlığındadır, reproduktif ve respiratuar sistem dokularında eksprese olmaktadır (75,76). HE4'ün over kanserlerinde ekspresyonunun arttığı ilk defa 1999'da gösterilmiş olup over kanserinde tümör belirteci olarak kullanılabileceği 2003'de Hellstrom ve ark. (6) tarafından ileri sürülmüştür. HE4 yüksek spesifitesinden dolayı endometriyozis, over kistleri gibi benign hastalıkları malignitelerden ayırabilmektedir (77).

Son yıllarda Moore ve ark. (7,10,40,59), over kanserlerinin tanısında HE4, CA 125 ve menopozal durumun kombine edilmesiyle ilgili çok sayıda çalışma yapmıştır. HE4 ve ROMA indeksinin, özellikle erken evre over kanserlerinin tanınmasında CA 125'e üstünlüğünü gösteren yayınlar vardır (71,72,78-80).

Rekürrenslerin erken dönemde tanınması önemlidir, rekürrenslerde HE4'ün CA 125'e oranla daha erken yükseldiği saptanmıştır (9). Preoperatif dönemde HE4 düzeyleri yüksek olan hastaların, düşük olanlara göre daha kötü prognoz gösterdiği tespit edilmiştir (81). Serum HE4 düzeyinin sadece over kanseri için prediktif bir test değil aynı zamanda tarama stratejisinde önemli bir belirteç olabileceği bildirilmektedir (82).

Bu çalışmada 47 over Ca, 24 endometrium Ca, 96 benign jinekolojik hastalıkta HE4 ve CA 125 düzeyleri ölçüldü, bu iki belirteç kullanılarak ROMA indeksleri hesaplandı. Bu iki belirteç ayrı ayrı ve kombine edilerek kullanıldığında sensitivite, spesifite, PPV ve NPV değerleri ile tanısal doğrulukları karşılaştırıldı. Ayrıca 70 sağlıklı kadın çalışmaya alınarak ilk defa HE4 için sağlıklı Türk kadınlarına ait referans değerleri saptandı.

Malign hasta popülasyonunda (n=71), hastaların % 73'ü (n=52) postmenopozal, % 27'si (n=19) premenopozal dönemde idi. Benign hasta popülasyonunda (n=96), hastaların % 13'ü (n=13) postmenopozal, % 86'sı (n=83) premenopozal dönemde idi. Benign jinekolojik hastalıkların insidansının menopoz öncesi dönemde, jinekolojik malignitelerin insidansının ise menopoz sonrası dönemde artış gösterdiği saptandı.

Çalışmamızda over kanseri tanısında CA 125 ve HE4 tek belirteç olarak kullanıldığında, % 95 spesifitede HE4'ün sensitivitesi % 78, CA 125'in sensitivitesi % 61,5 bulundu. CA 125+HE4 kombinasyonuna dayanan ROMA indeksinde ise sensitivitenin % 79'a yükseldiği saptandı. Ayrıca postmenopozal kadınlarda en yüksek AUC (0,954) değerinin ROMA indeksine ait olduğu görüldü. Bu sonuçlara göre postmenopozal dönemde over Ca tanısında ROMA indeksi, tek başına CA 125 veya HE4 kullanımına göre daha güvenilirdir.

Benzer şekilde Moore ve ark. (53), over Ca'da % 95 spesifitede HE4'ün sensitivitesi % 73, CA 125'in sensitivitesi % 43,3, CA 125+HE4 kombinasyonunun sensitivitesini ise % 76,4 olarak bulmuştur.

Çalışmamızda CA 125 ve HE4, endometrium kanseri tanısında tek belirteç olarak kullanıldığında, % 95 spesifitede HE4'ün sensitivitesi % 60, CA 125'in sensitivitesi % 13 bulundu. CA 125+HE4 kombinasyonuna dayanan ROMA indeksinde ise sensitivitenin ancak % 45'e yükseldiği tespit edildi. Postmenopozal dönemde CA 125 sensitivitesinin düşük olması, ROMA indeksinin sensitivitesini de azaltmaktadır. Bu nedenle postmenopozal dönemde endometrium Ca'nın ayırıcı tanısında tek başına HE4 kullanımının tanısal değeri artmaktadır.

Benzer şekilde Moore ve ark. (7), 2008'de endometriyum kanseri vakalarında yaptıkları çalışmada HE4'ün sensitivitesi % 45,5, CA 125'in sensitivitesi % 24,6, CA 125+HE4 kombinasyonunun sensitivitesini ise % 50,1 olarak tespit etmiştir.

Çalışmamızda endometrium kanseri ayırıcı tanısında HE4 en yüksek sensitiviteye ve en yüksek AUC değerine (0,830) sahip olduğu bulundu. Ayrıca HE4'ün postmenopozal kadınlarda, en yüksek PPV değerine (% 10,26) sahip olduğu saptandı. Bu sonuçlar, HE4'ün özellikle postmenopozal dönemde endometrium kanseri için güvenilir bir kanser belirteci olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

HE4 önceleri over kanserine spesifik bir tümör belirteci olarak düşünülmüş olmasına rağmen, endometrium Ca gibi diğer jinekolojik maligniteler ile akciğer Ca gibi jinekolojik orijinli olmayan tümörlerde de seviyesinin yükseldiği saptanmıştır. Moore ve ark. (69), 96 endometriyum kanserli hastada yaptıkları çalışmada, evreden bağımsız olarak myometriyal invazyonu ve lenf nodu tutulumu olanlarda HE4'ün daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Bu nedenle preoperatif dönemde HE4'ün prognostik açıdan değerli olduğunu ve lenf nodu rezeksiyonu yapılacak hastaların saptanmasında yararlı bir belirteç olduğunu belirtmektedirler. Benzer şekilde Kalogera ve ark. (70), 75 endometriyum kanserli hasta üzerinde yaptıkları çalışmada HE4 düzeylerinin myometriyal invazyon, lenf nodu tutulumu, tümör çapı ve evresi ile paralel olarak yükseldiğini saptamışlardır. Bu bulgular, özellikle cerrahi tedavi öncesi HE4'ün risk stratejilerin belirlenmesi ve tedavinin planlanmasında değerli bir belirteç olduğunu göstermektedir.

Tüm malign (over Ca + endometriyum Ca) ve tüm benign jinekolojik hastalıklar karşılaştırıldığında, CA 125 düzeyleri açısından premenopozal dönemde

fark görülmezken ( $P>0,05$ ), postmenopozal dönemde anlamlı derecede yükseklik saptandı ( $p<0,05$ ).

Tüm malign (over Ca + endometriyum Ca) ve tüm benign jinekolojik hastalıklar karşılaştırıldığında, HE4 düzeyleri hem premenopozal dönemde, hem de postmenopozal dönemde malignitelere anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Bu sonuçlara göre CA 125'in premenopozal dönemde maligniteleri benign lezyonlardan ayırmada yetersiz kaldığını, postmenopozal dönemde daha güvenilir olduğunu söylemek mümkündür. HE4 ise hem premenopozal hem postmenopozal dönemde maligniteleri benign lezyonlardan başarıyla ayırabilmektedir.

Tüm malign (over Ca + endometriyum Ca) ve tüm benign jinekolojik hastalıklar karşılaştırıldığında, ROMA indeksi açısından premenopozal dönemde fark görülmezken ( $P>0,05$ ), postmenopozal dönemde anlamlı artış saptandı ( $p<0,05$ ).

Tüm malign hastalar ( $n=71$ ) ROMA indeksine göre değerlendirildiğinde, % 16'sı düşük ( $n=10$ ), % 84'ü yüksek ( $n=61$ ) riskli bulundu. Yüksek riskli hastaların daha agresif bir tedavi alması ve daha sıkı takip altında tutulması gereklidir.

Evre I ve II'de yakalanan tüm malign hastalar incelendiğinde ( $n=26$ ), CA 125'in sadece 8 hastada (% 30), HE4'ün 17 hastada (% 61), ROMA indeksinin ise 13 hastada (% 50) eşik değerlerin üzerinde olduğu saptandı. Çalışmaya alınan tüm benign jinekolojik hastalar analiz edildiğinde ise 25 hastada (% 26) CA 125, 10 hastada (% 10) HE4, 31 hastada (% 32) ise ROMA indeksinin yalancı pozitiflik verdiği görüldü.

Over kanserlerinin % 90'ı 50 yaş üzerinde görülmektedir. Bu nedenle 50 yaş üzerindeki kadınlara tarama programlarının uygulanması önerilmektedir. Genetik yatkınlığı olanlarda tarama 35 yaşından itibaren başlatılabilir. Kanser taraması ve tanısında kullanılacak olan bir tümör belirtecinin PPV değerinin % 10 ve üzeri olması istenmektedir (5). Çalışmamızda postmenopozal over kanserinde PPV değeri CA 125 için % 10,1, HE4 için % 11, ROMA indeksi için % 12,5 bulundu. Ancak postmenopozal endometrium kanserinde PPV değeri CA 125 için % 2,5, HE4 için % 10,2 ve ROMA indeksi için % 8,9 olarak saptandı. ROMA indeksi ve HE4, over kanseri taramasında kullanılabilir ancak düşük PPV değerleri nedeniyle

CA 125 endometrium kanseri taraması için uygun değildir, HE4 endometrium kanseri taramasında güvenle kullanılabilir.

Yapılan seri ölçümlerde tümör belirtecinin düzeyinde artış olması hastalık progresyonu hakkında fikir verir, radyolojik veya klinik bulgu olmadan rekürrenslerin erken dönemde saptanmasına olanak sağlar (biyokimyasal rekürrens) (33). Over kanserlerinde tedavi takibinde CA25 düzeyinde yaklaşık % 50 düşme saptanması, tedaviye yanıt olduğunu gösterir. CA 125 düzeyinde 2 katlık bir artış olması ise tedaviye yanıt alınmadığının göstergesidir. Over kanserlerinin takibinde kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanmış iki belirteç CA 125 ve HE4'dür (34).

Çalışmamızda ilk defa sağlıklı Türk kadınlarına ait HE4 değerleri değerlendirildi ve ilerleyen yaşla birlikte (özellikle 60 yaşından itibaren) HE4 düzeylerinin artış gösterdiği saptandı. HE4 düzeyi ortalaması premenopozal sağlıklı Türk kadınlarında 43,8 (n=35), postmenopozal sağlıklı Türk kadınlarında 56,1 (n=35) olarak bulundu. Moore ve ark.'nın (59) sonuçlarına benzer şekilde post menopozal dönemde ortalama HE4 düzeylerinin, premenopozal döneme oranla daha yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı. Bu sonuçlar HE4 düzeyinin menopoz durumundan değil yaştan etkilendiğini göstermektedir. Çalışmamızda Türk kadınlarına ait referans değeri de 22-84 pmol/L olarak belirlendi.

Literatürde HE4'ün etki mekanizmasını ortaya koymaya yönelik yapılmış çok az sayıda araştırma mevcuttur. İlk defa 2011'de Gao ve ark. (83), HE4'ün *in vitro* ve *in vivo* şartlarda tümör büyümesini inhibe ettiği ve metastazları önlediğini saptamıştır. Bunu takiben 2012'de Lu ve ark. (84), HE4'ün SKOV3 over kanseri hücrelerinde, adezyon, migrasyon ve proliferasyonu stimüle ettiğini ve bu etkilerinin EGFR-MAPK sinyal yolağı ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca SCOV3 over kanseri hücrelerinde HE4 ekspresyonunun shDNA ile knock-down edilmesiyle *in vivo* tümör oluşumunun baskılandığını tespit etmişlerdir. Bu bulgular, HE4 ün over kanseri gelişiminde ve progresyonunda rolü olduğunu ve over kanseri tedavisinde bir hedef olabileceğini düşündürmektedir.

HE4'ün kanser gelişimindeki rolünü ve prognostik değerini ortaya koymaya yönelik daha kapsamlı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Bast RC, Jr., Badgwell D, Lu Z et al. New tumor markers: CA 125 and beyond. *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society* 2005;15 Suppl 3:274-81.
2. Jacobs IJ, Menon U. Progress and challenges in screening for early detection of ovarian cancer. *Molecular & cellular proteomics : MCP* 2004;3:355-66.
3. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians* 2011;61:69-90.
4. Duffy MJ, Bonfrer JM, Kulpa J et al. CA 125 in ovarian cancer: European Group on Tumor Markers guidelines for clinical use. *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society* 2005;15:679-91.
5. Molina R, Escudero JM, Auge JM et al. HE4 a novel tumour marker for ovarian cancer: comparison with CA 125 and ROMA algorithm in patients with gynaecological diseases. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 2011;32:1087-95.
6. Hellstrom I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. *Cancer research* 2003;63:3695-700.
7. Moore RG, Brown AK, Miller MC et al. Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Gynecologic oncology* 2008;110:196-201.
8. Huhtinen K, Suviö P, Hiissa J et al. Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts. *British journal of cancer* 2009;100:1315-9.
9. Anastasi E, Marchei GG, Viggiani V, Gennarini G, Frati L, Reale MG. HE4: a new potential early biomarker for the recurrence of ovarian cancer. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 2010;31:113-9.

10. Moore RG, Jabre-Raughley M, Brown AK et al. Comparison of a novel multiple marker assay vs the Risk of Malignancy Index for the prediction of epithelial ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *American journal of obstetrics and gynecology* 2010;203:228.e1-6.
11. Nolen B, Velikokhatnaya L, Marrangoni A et al. Serum biomarker panels for the discrimination of benign from malignant cases in patients with an adnexal mass. *Gynecologic oncology* 2010;117:440-5.
12. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians* 2011;61:69-90.
13. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA: a cancer journal for clinicians* 2013;63:11-30.
14. Kılıç D, Kaya İ, Kamaş A. T.C. Sağlık Bakanlığı. Sağlık İstatistikleri 2002. 2003.
15. SJ B. Berek and Novak's Gynecology, 2007.
16. Barnholtz-Sloan JS, Schwartz AG, Qureshi F, Jacques S, Malone J, Munkarah AR. Ovarian cancer: changes in patterns at diagnosis and relative survival over the last three decades. *American journal of obstetrics and gynecology* 2003;189:1120-7.
17. Kurman RJ, Visvanathan K, Roden R, Wu TC, Shih Ie M. Early detection and treatment of ovarian cancer: shifting from early stage to minimal volume of disease based on a new model of carcinogenesis. *American journal of obstetrics and gynecology* 2008;198:351-6.
18. The Johns Hopkins manual of gynecology and obstetrics. 4th ed. . In: Hurt KJ, Guile MW, Bienstock JL, Fox HE, Wallach EE, editors.: LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, a WOLTERS KLUWER business:573-579.
19. Gynecologic oncology. In: Schorge J, Schaffer J, Halvorson LM, Hoffman BL, Bradshaw KD, Cunningham FG, editors. *Williams Gynecology: The McGraw-Hill Companies*, 2008.
20. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *American journal of human genetics* 2003;72:1117-30.

21. Daly M, Ostram GI. Epidemiology and risk assessment for ovarian cancer. *Seminars in oncology* 1998;25:255-64.
22. Carlson KJ, Skates SJ, Singer DE. Screening for ovarian cancer. *Annals of internal medicine* 1994;121:124-32.
23. Lynch HT, Bewtra C, Lynch JF. Familial ovarian carcinoma. Clinical nuances. *The American journal of medicine* 1986;81:1073-6.
24. Stratton JF, Gayther SA, Russell P et al. Contribution of BRCA1 mutations to ovarian cancer. *The New England journal of medicine* 1997;336:1125-30.
25. Smith SA, Richards WE, Cato K et al. BRCA1 germline mutations and polymorphisms in a clinic-based series of ovarian cancer cases: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecologic oncology* 2001;83:586-92.
26. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Cotran RS. *Robbins Basic Pathology*: Philadelphia : Saunders ; St. Louis : MD Consult LLC, cop., 2009:728-729.
27. Berek JS, Crum C, Friedlander M. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 2012;119 Suppl 2:S118-29.
28. Nguyen HN, Averette HE, Hoskins W, Penalver M, Sevin BU, Stern A. National survey of ovarian carcinoma. Part V. The impact of physician's specialty on patients' survival. *Cancer* 1993;72:3663-70.
29. [www.cancer.org/Cancer/OvarianCancer/OverviewGuide/ovarian-cancer-overview-survival-rates](http://www.cancer.org/Cancer/OvarianCancer/OverviewGuide/ovarian-cancer-overview-survival-rates). American Cancer Society SEER
30. Jemal A, Siegel R, Ward E et al. *Cancer Statistics, 2008*. CA: a cancer journal for clinicians 2008;58:71-96.
31. *Oxford American Handbook of Obstetrics and Gynecology, 1st Edition*. In: Norwitz ER, Arulkumaran S, Symonds IM, Fowlie A, editors.: Oxford University Press, 2007.
32. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*: Palme yayıncılık, 2005.
33. Sharma S. Tumor markers in clinical practice: General principles and guidelines. *Indian journal of medical and paediatric oncology : official journal of Indian Society of Medical & Paediatric Oncology* 2009;30:1-8.



34. Moore RG, MacLaughlan S, Bast RC, Jr. Current state of biomarker development for clinical application in epithelial ovarian cancer. *Gynecologic oncology* 2010;116:240-5.
35. Rosenthal AN, Menon U, Jacobs IJ. Screening for ovarian cancer. *Clinical obstetrics and gynecology* 2006;49:433-47.
36. Jacobs I. Genetic, biochemical, and multimodal approaches to screening for ovarian cancer. *Gynecologic oncology* 1994;55:S22-7.
37. Bast RC, Jr., Feeney M, Lazarus H, Nadler LM, Colvin RB, Knapp RC. Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *The Journal of clinical investigation* 1981;68:1331-7.
38. Canney PA, Moore M, Wilkinson PM, James RD. Ovarian cancer antigen CA 125: a prospective clinical assessment of its role as a tumour marker. *British journal of cancer* 1984;50:765-9.
39. Bast RC, Jr., Klug TL, St John E et al. A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. *The New England journal of medicine* 1983;309:883-7.
40. Moore RG, McMeekin DS, Brown AK et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA 125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecologic oncology* 2009;112:40-6.
41. Devarbhavi H, Kaese D, Williams AW, Rakela J, Klee GG, Kamath PS. Cancer antigen 125 in patients with chronic liver disease. *Mayo Clinic proceedings Mayo Clinic* 2002;77:538-41.
42. Zuckerman E, Lanir A, Sabo E et al. Cancer antigen 125: a sensitive marker of ascites in patients with liver cirrhosis. *The American journal of gastroenterology* 1999;94:1613-8.
43. Sjovall K, Nilsson B, Einhorn N. The significance of serum CA 125 elevation in malignant and nonmalignant diseases. *Gynecologic oncology* 2002;85:175-8.
44. Topalak O, Saygili U, Soyturk M et al. Serum, pleural effusion, and ascites CA 125 levels in ovarian cancer and nonovarian benign and malignant diseases: a comparative study. *Gynecologic oncology* 2002;85:108-13.

45. Bast RC, Jr., Siegal FP, Runowicz C et al. Elevation of serum CA 125 prior to diagnosis of an epithelial ovarian carcinoma. *Gynecologic oncology* 1985;22:115-20.
46. Soper JT, Hunter VJ, Daly L, Tanner M, Creasman WT, Bast RC, Jr. Preoperative serum tumor-associated antigen levels in women with pelvic masses. *Obstetrics and gynecology* 1990;75:249-54.
47. Jacobs I, Bast RC, Jr. The CA 125 tumour-associated antigen: a review of the literature. *Human reproduction (Oxford, England)* 1989;4:1-12.
48. Hallamaa M, Suvitie P, Huhtinen K, Matomaki J, Poutanen M, Perheentupa A. Serum HE4 concentration is not dependent on menstrual cycle or hormonal treatment among endometriosis patients and healthy premenopausal women. *Gynecologic oncology* 2012;125:667-72.
49. Johnson CC, Kessel B, Riley TL et al. The epidemiology of CA 125 in women without evidence of ovarian cancer in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer (PLCO) Screening Trial. *Gynecol Oncol* 2008;110:383-9.
50. Lowe KA, Shah C, Wallace E et al. Effects of personal characteristics on serum CA 125, mesothelin, and HE4 levels in healthy postmenopausal women at high-risk for ovarian cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 2008;17:2480-7.
51. GROVER S, QUINN MA, WEIDEMAN P, KOH H. Factors Influencing Serum CA 125 Levels in Normal Women. *Obstetrics & Gynecology* 1992;79:511-514.
52. Kabawat SE, Bast RC, Welch WR, Knapp RC, Colvin RB. Immunopathologic characterization of a monoclonal antibody that recognizes common surface antigens of human ovarian tumors of serous, endometrioid, and clear cell types. *American journal of clinical pathology* 1983;79:98-104.
53. Moore RG, Brown AK, Miller MC et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol* 2008;108:402-8.

54. Tamakoshi K, Kikkawa F, Shibata K et al. Clinical value of CA 125, CA19-9, CEA, CA72-4, and TPA in borderline ovarian tumor. *Gynecologic oncology* 1996;62:67-72.
55. Hareyama H, Sakuragi N, Makinoda S, Fujimoto S. Serum and tissue measurements of CA72-4 in patients with endometrial carcinoma. *Journal of clinical pathology* 1996;49:967-70.
56. Kirchhoff C, Habben I, Ivell R, Krull N. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular proteinase inhibitors. *Biology of reproduction* 1991;45:350-7.
57. Wang K, Gan L, Jeffery E et al. Monitoring gene expression profile changes in ovarian carcinomas using cDNA microarray. *Gene* 1999;229:101-8.
58. Schummer M, Ng WV, Bumgarner RE et al. Comparative hybridization of an array of 21,500 ovarian cDNAs for the discovery of genes overexpressed in ovarian carcinomas. *Gene* 1999;238:375-85.
59. Moore RG, Miller MC, Eklund EE, Lu KH, Bast RC, Jr., Lambert-Messerlian G. Serum levels of the ovarian cancer biomarker HE4 are decreased in pregnancy and increase with age. *American journal of obstetrics and gynecology* 2012;206:349 e1-7.
60. Bolstad N, Oijordsbakken M, Nustad K, Bjerner J. Human epididymis protein 4 reference limits and natural variation in a Nordic reference population. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 2012;33:141-8.
61. Nagy B, Jr., Krasznai ZT, Balla H et al. Elevated human epididymis protein 4 concentrations in chronic kidney disease. *Annals of clinical biochemistry* 2012;49:377-80.
62. Anastasi E, Granato T, Marchei GG et al. Ovarian tumor marker HE4 is differently expressed during the phases of the menstrual cycle in healthy young women. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 2010;31:411-5.
63. Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y et al. Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer research* 2005;65:2162-9.

64. Lamy PJ, Roques S, Viglianti C, Fabbro M, Montels F. [HE4, a novel marker for epithelial ovarian cancer: evaluation of analytical performances]. *Annales de biologie clinique* 2010;68:325-9.
65. Hellstrom I, Heagerty PJ, Swisher EM et al. Detection of the HE4 protein in urine as a biomarker for ovarian neoplasms. *Cancer letters* 2010;296:43-8.
66. Yamashita S, Tokuishi K, Moroga T et al. Serum level of HE4 is closely associated with pulmonary adenocarcinoma progression. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 2012;33:2365-70.
67. Hegmans JP, Veltman JD, Fung ET et al. Protein profiling of pleural effusions to identify malignant pleural mesothelioma using SELDI-TOF MS. *Technology in cancer research & treatment* 2009;8:323-32.
68. Xi Z, LinLin M, Ye T. Human epididymis protein 4 is a biomarker for transitional cell carcinoma in the urinary system. *Journal of clinical laboratory analysis* 2009;23:357-61.
69. Moore RG, Miller CM, Brown AK, Robison K, Steinhoff M, Lambert-Messerlian G. Utility of tumor marker HE4 to predict depth of myometrial invasion in endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society* 2011;21:1185-90.
70. Kalogera E, Scholler N, Powless C et al. Correlation of serum HE4 with tumor size and myometrial invasion in endometrial cancer. *Gynecologic oncology* 2012;124:270-5.
71. Sandri MT, Bottari F, Franchi D et al. Comparison of HE4, CA 125 and ROMA algorithm in women with a pelvic mass: correlation with pathological outcome. *Gynecologic oncology* 2013;128:233-8.
72. Karlsen MA, Sandhu N, Hogdall C et al. Evaluation of HE4, CA 125, risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) and risk of malignancy index (RMI) as diagnostic tools of epithelial ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecologic oncology* 2012;127:379-83.

73. Van Gorp T, Cadron I, Despierre E et al. HE4 and CA 125 as a diagnostic test in ovarian cancer: prospective validation of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm. *British journal of cancer* 2011;104:863-70.
74. Jacob F, Meier M, Caduff R et al. No benefit from combining HE4 and CA 125 as ovarian tumor markers in a clinical setting. *Gynecologic oncology* 2011;121:487-91.
75. Bingle L, Singleton V, Bingle CD. The putative ovarian tumour marker gene HE4 (WFDC2), is expressed in normal tissues and undergoes complex alternative splicing to yield multiple protein isoforms. *Oncogene* 2002;21:2768-73.
76. Galgano MT, Hampton GM, Frierson HF, Jr. Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues. *Mod Pathol* 2006;19:847-53.
77. Bandiera E, Romani C, Specchia C et al. Serum human epididymis protein 4 and risk for ovarian malignancy algorithm as new diagnostic and prognostic tools for epithelial ovarian cancer management. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 2011;20:2496-506.
78. Chang X, Ye X, Dong L et al. Human epididymis protein 4 (HE4) as a serum tumor biomarker in patients with ovarian carcinoma. *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society* 2011;21:852-8.
79. Escudero JM, Auge JM, Filella X, Torne A, Pahisa J, Molina R. Comparison of serum human epididymis protein 4 with cancer antigen 125 as a tumor marker in patients with malignant and nonmalignant diseases. *Clinical chemistry* 2011;57:1534-44.
80. Lenhard M, Stieber P, Hertlein L et al. The diagnostic accuracy of two human epididymis protein 4 (HE4) testing systems in combination with CA 125 in the differential diagnosis of ovarian masses. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC* 2011;49:2081-8.

81. Trudel D, Tetu B, Gregoire J et al. Human epididymis protein 4 (HE4) and ovarian cancer prognosis. *Gynecologic oncology* 2012;127:511-5.
82. Wu L, Dai ZY, Qian YH, Shi Y, Liu FJ, Yang C. Diagnostic value of serum human epididymis protein 4 (HE4) in ovarian carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society* 2012;22:1106-12.
83. Gao L, Cheng HY, Dong L et al. The role of HE4 in ovarian cancer: inhibiting tumour cell proliferation and metastasis. *The Journal of international medical research* 2011;39:1645-60.
84. Lu R, Sun X, Xiao R, Zhou L, Gao X, Guo L. Human epididymis protein 4 (HE4) plays a key role in ovarian cancer cell adhesion and motility. *Biochemical and biophysical research communications* 2012;419:274-80.