

Henna Lähde

EGFR, HER2, P53 JA ALDH1 :N YHTEYS MUNASARJASYÖPÄPOTILAI-
DEN ENNUSTEESEEN, JA TILASTOJA TYKSIN VUOSIEN 2001–2007
MUNASARJASYÖPÄÄN SAIRASTUNEIDEN POTILAI-
DEN AINEISTOSTA

Syventävien opintojen kirjallinen työ

Kevätlukukausi 2014

Henna Lähde

EGFR, HER2, P53 JA ALDH1 :N YHTEYS MUNASARJASYÖPÄPOTILAIDEN
ENNUSTEESEEN, JA TILASTOJA TYKSIN VUOSIEN 2001–2007
MUNASARJASYÖPÄÄN SAIRASTUNEIDEN POTILAIDEN AINEISTOSTA

Biolääketieteen laitos

Kevätlukukausi 2014

Vastuuhenkilöt: Olli Carpén ja Annika Auranen

TURUN YLIOPISTO

Lääketieteellinen Tiedekunta/ Biolääketieteen laitos

LÄHDE, HENNA: EGFR, Her2, p53 ja ALDH1:n yhteys munasarjasyöpäpotilaiden ennusteeseen, ja tilastoja TYKSiin vuosien 2001–2007 munasarjasyöpään sairastuneiden potilaiden aineistosta

Syventävien opintojen kirjallinen työ, 26s.

Biolääketieteen laitos, Patologian oppiaine

Syyskuu 2014

Munasarjasyöpä on Suomessa tappavin ja toiseksi yleisin gynekologinen syöpä, lisäksi se on kymmenenneksi yleisin naisten syöpä. Yli 90% munasarjasyövistä on epiteeliperäisiä ja morfologisista alatyypeistä yleisin on seroosi syöpä. Serooseista syövistä yli 90 % on korkean riskin eli high grade –syöpää. Vaikka uudet hoidot ovat pidentäneet potilaan selviytymistä, niin kaiken kaikkiaan kokonaisennuste ei kuitenkaan ole parantunut viimeisen vuosikymmenen aikana. Aikaisin havaittu paikallinen epiteeliperäinen munasarjasyöpä on parannettavissa kirurgialla. Yli 2/3 epiteliaalisista munasarjasyövistä diagnosoidaan vasta levinneessä vaiheessa, jolloin viiden vuoden selviytyvyys potilailla on vain noin 30 %. Aiemmin munasarjasyöpien arveltiin olevan lähtöisin munasarjojen pintaepiteelistä, mutta uusimpien tutkimusten mukaan kyseessä on niin molekulaarisesti kuin etiologisesti ryhmä eri syöpiä, jotka ilmenevät samassa anatomisessa paikassa. Syventävässä työssäni tutkin munasarjasyövän käyttäytymistä ennustavia merkkiaineita. Merkkiaineita tutkimalla pyritään tulevaisuudessa ennustamaan paremmin syöpien käyttäytymistä ja antamaan potilaille parempia täsmähoitoja.

Syventävien opintojeni tarkoituksena oli tutkia munasarjasyöpää kirjallisuuteen tutustumalla ja tutkimalla retrospektiivistä vuosien 2001–2007 munasarjapotilasaineistoa. Keräsimme toisen tutkijan kanssa aineistoon 356 potilaan tiedot, joista 310 sisällytettiin tekemiini tilastoihin. Lisäksi tutkin kiinnostavia munasarjasyövän käyttäytymiseen mahdollisesti liittyviä merkkiaineita (EGFR, HER2, P53 JA ALDH1) uudessa 48 potilaan aineistossa ja selvitin proteiinien merkitystä taudin kulussa ja ennusteessa.

310 potilaan aineiston tulokset olivat sopusoinnussa aiempiin julkaisuihin. Aineistomme munasarjasyövistä 60 % on seroosia high grade –syöpää ja 67 % syövistä on levinneen vaiheen eli luokan III-IV tauteja. 48 potilaan immunohistokemiallisissa värjäyksissä mielenkiintoisin tulos on se, että Her2 :n värjäytymisintensiteetti korreloi kääntäen vahvaan ALDH1-värjäykseen eli se on korkea, kun ALDH1 on matala (korrelaatio -0.425; $p=0.00994$) Vastaavasti Her2 :n intensiteetin ollessa korkea ALDH1/heikko-soluja on paljon ($p=0.00975$). Tällaista tutkimus tulosta ei aiemmin ole esitetty. Tämä kiinnostava tulos tulee jatkossa varmistaa laajemmassa aineistossa.

SISÄLLYS

1. JOHDANTO	1
1.1 Yleistä munasarjasyövästä	1
2. MUNASARJASYÖPÄ	2
2.1 Oireet	2
2.2 Levinneisyysluokitus	2
2.3 Suoja- ja riskitekijät	2
2.4 Diagnosointi	3
2.5 Hoito	4
2.6 Epiteliaalinen munasarjasyöpä	4
2.6.1 Histologinen luokittelu	4
2.6.1.1 WOn 1973 luokittelu	5
2.6.1.2 Molekyyli­genetiikkaa hyödyntävä uusi luokittelu	5
3. MUNASARJASYÖVÄN HISTOLOGISTEN ALATYYPPIEN EPIDEMIOLOGIA JA RISKITEKIJÄT	6
3.1 Seroosit munasarjasyövät	6
3.1.1 Yleistä	6
3.1.2 Borderline- ja low grade –muutokset	6
3.1.3 High grade –muutokset	7
3.2 Musinoosi	8
3.3 Endometrioidi	9
3.4 Kirkassoluinen	9
4. MUNASARJASYÖVÄSSÄ MERKITYKSELLISIÄ PROTEIINEJA	10
4.1 EGFR	10
4.2 Her2	10
4.3 p53	11
4.4 ALDH1	12
5. TUTKIMUKSEN TAVOITTEET	11
6. AINEISTO JA MENETELMÄT	12
6.1 Aineisto	12
6.1.1 Retrospektiivinen aineisto vuosilta 2001–2007	13

6.1.2 Prospektiivinen aineisto vuodesta 2009 lähtien	13
6.2 Menetelmät	14
6.2.1 Kliinisten tietojen keräys	14
6.2.2 Immunohistokemialliset värjäykset	14
7. TULOKSET	15
7.1 Tilastoja retrospektiivisestä aineistosta	15
7.2 Immunohistokemiallisten värjäysten yhteys diagnoosiin, kliinisiin muuttujiin ja taudinkulkuun prospektiivisessä aineistossa	19
8. POHDINTA	21
LÄHTEET	24

1. Johdanto

1.1. Yleistä munasarjasyövästä

Munasarjasyöpä on Suomessa kymmenenneksi yleisin naisten syöpä ja toiseksi yleisin gynekologinen syöpä (Munasarjasyöpä, Käypä hoito). Lisäksi se aiheuttaa viidenneksi eniten naisten syöpäkuolemia maailmassa (Yamaguchi ym. 2013). Maailmanlaajuisesti vuonna 2008 naisten syövistä 3,7 % oli munasarjasyöpiä ja 4,2 % syöpäkuolemista johtui siitä (Global Cancer Facts & Figures. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2011). Ilmaantuvuus lisääntyy iän myötä, ja se on suurin 60–64-vuotiailla (Munasarjasyöpä, Käypähoito). Suomessa vuosina 2007–2009 seurattujen munasarjasyöpäpotilaiden yhden ja viiden vuoden suhteelliset elossaololuvut olivat yhden vuoden kohdalla 80 % ja viiden vuoden kohdalla 49 % (Tilastot, Syöpärekisteri, www.cancer.fi). Maailmalla viiden vuoden ennuste levinneessä luokan III-IV taudissa on noin 30 % (Jemal ym. 2007). Kuolleisuus on lääketieteen kehittymisestä huolimatta pysynyt samana jo vuosikymmenten ajan. Munasarjasyövän hoidon tekeekin haasteelliseksi se, että yli 60 % tapauksista todetaan vasta levinneessä eli stage III- tai IV –vaiheessa. Lisäksi ensilinjan hoitoon saadaan yleensä vaste, mutta tauti uusii lähes kaikilla. Hoidettavuutta huonontaa myös se, että herkkyys käytettävissä oleville lääkkeille häviää hoitojen kuluessa. Tällä hetkellä suurin osa syöpään sairastuneista kuolee tautiinsa (Bützow 2014).

Munasarjasyövän on viime vuosiin asti uskottu kehittyvän munasarjakudoksesta, jossa se erilaistuu hyvin erilaistuneesta huonosti erilaistuneeksi, ja jonka jälkeen se leviää lantioon ja vatsaonteloon (Kurman ym. 2008). Nykykäsityksen mukaan munasarjasyöpä kuitenkin on ryhmä molekulaarisesti ja etiologisesti erilaisia syöpiä, jotka ilmenevät samassa anatomisessa paikassa (Vaughan ym. 2011). Viimeaikaiset patologiset ja genomiset löydökset viittaavat siihen, ja että monet munasarjasyöväät olisivat lähtöisin ei-munasarjaperäisestä kudoksesta, ja että munasarjasyövän eri histologiset muodot sisältävät vain vähän molekulaarista samankaltaisuutta (Kurman ja Shih 2010). Ilmeisesti merkittävä osa nopeasti ja aggressiivisesti etenevistä syövistä kehittyy munasarjojen ulkopuolelle, erityisesti munatorviin ja peritoneumiin ja leviävät munasarjoihin vasta sekundaarisesti (Kurman ym. 2008).

2. Munasarjasyöpä

2.1 Oireet

Munasarjasyövällä ei ole spesifisiä oireita, vaan tauti voi aluksi olla oireeton ja kliiniset löydökset vähäisiä. Tämän vuoksi varhaisdiagnostiikka on vaikeaa ja tauti todetaan vasta levinneessä vaiheessa, mikä huonontaa ennustetta. Taudin varhais- ja myöhäisvaiheessa tavallisin oire ja löydös on lantion tai vatsan alueen kasvain. Muita, pääosin myöhäisvaiheen oireita ovat vatsan turpoaminen, suolisto-oireet, verenvuoto ja virtsavaivat. Naisen vatsan alueen pitkittyneissä oireissa tulisi aina muistaa munasarjasyövän mahdollisuus. Kuitenkin 10 % varhaisvaiheen ja 2 % levinneen vaiheen taudeista voivat olla oireettomia. (Munasarjasyöpä, Käypähoito.)

2.2 Levinneisyysluokitus

Munasarjasyövän Käypä hoito –suosituksessa FIGOn (the International Federation of Obstetrics and Gynecology) kansainvälisen levinneisyysluokituksen avulla luokitellaan munasarjasyövän levinneisyys luokkiin I–IV . Lisäksi luokat I–III jaetaan vielä eri ryhmiin A:sta C:hen. Luokassa I kasvain rajoittuu munasarjaan, luokassa II kasvainta on munasarjakudoksen lisäksi muualla lantiossa. Luokassa III kasvainta on munasarjakudoksen lisäksi peritoneumilla tai imusolmukkeissa ja maksassa voi olla pinnallisia etäpesäkkeitä. Luokassa IV kasvainta on munasarjakudoksessa, vatsaontelon ulkopuolella ja lisäksi kasvainsoluja on pleuranesteessä ja maksan parenkyymissä. (Munasarjasyöpä, Käypä hoito.)

2.3 Suoja- ja riskitekijät

Elintapojen vaikutus munasarjasyövän ilmaantumiseen on varsin vähäinen. Yhdistelmäehkäisy pillereiden käytön, raskauden ja imetyksen, sterilisaation ja kohdun poiston on osoitettu olevan munasarjasyövältä suojaavia tekijöitä. Munasarjojen ja munanjohtimien poiston ei uskota täysin suojaavan munasarjasyövältä, mutta nykyään ne voidaan niin sanotuissa syöpäsuvuissa poistaa naiselta profylaktisesti. Riskitekijöitä puolestaan ovat lapsettomuus ja perinnöllisyys. Erityisesti perinnöllistä alttiutta lisäävät rintasyöpäkin aiheuttavat BRCA1 ja -2 mutaatiot ja perinnöllistä ei-polypoottista suolistosyöpää eli HNPCC:ta aiheuttavat mutaatiot. 5–

10 % suomalaisten munasarjasyövistä on arveltu olevan perinnöllisiä (<http://www.cancer.fi/tietoasyovasta/syopataudit/munasarjasyopa/>). Endometrioosiin liittyä ja polykystiseen munasarjaoireyhtymään eli PCO-syndroomaan saattaa liittyä noussut sairastumisriski. Myös vaihdevuosien hormonihoito lisää hieman munasarjasyövän riskiä. (Munasarjasyöpä, Käypähoito.) Myös endometriumsyövän uskotaan lisäävän riskiä erityisesti kirkassoluiseen ja endometroidiin munasarjasyöpää. Myös lihavuutta ja munasarjasyövän yhteyttä ollaan tutkittu, mutta tästä on hieman ristiriitaisia tuloksia. Olsen ym. (2007) julkaisivat Review-artikkelin, jossa he tarkastelivat 28 tutkimusta, jotka sisälsivät tuloksia aikuisten ja nuorten ylipainosta (BMI 25–29,9) ja lihavuudesta (BMI \geq 30) ja lihavuuden yhteyksistä munasarjasyöpään. 24 näistä tutkimuksista osoittivat lihavuuden ja BMI:n nousun vaikuttavan munasarjasyövän riskiin nostavasti ja kymmenen näistä tutkimuksista oli tilastollisesti merkitseviä.

2.4 Diagnostiikka

Munasarjojen hyvänlaatuiset kasvaimet ovat melko yleisiä ja vain noin 15 % kaikista munasarjakasvaimista on pahanlaatuisia. Munasarjakasvaimia voidaan todeta ultraäänitutkimusten avulla. Yksilokeroinen munasarjakysta on hyvin harvoin pahanlaatuinen, kun taas monia lokeroita ja kiinteitä ja papillaarisia rakenteita sisältävistä kasvaimista pahanlaatuisten osuus on huomattava, jopa 36 %. Transvaginaalinen eli emättimen kautta tehty ultraäänitutkimus voi olla parempi kuin transperitoneaalinen eli vatsanpeitteiden läpi tehty. Apuna ovat myös dopplertekniikka, jolla saadaan tietoa verenvirtauksesta kasvaimessa ja lisäksi 3D-kaikututkimus. Kuvausmenetelmistä kerros- ja magneettikuvaus ovat myös oleellisia tutkimuksia kaikututkimusten lisäksi, mutta niiden merkitys tulee esiin enemmän vasta levinneisyyttä tutkittaessa. Kasvainmerkkiaineista Ca 12-5 on käytetyin munasarjasyövän diagnosoinnissa, mutta sen spesifisyys kyseisen syövän osoittamisessa on vain 60–98 % ja sensitiivisyys 88–91 %. Se on koholla 80 %:lla munasarjasyöpäpotilaista, mutta vain 50 %:lla paikallisissa syövässä. Ca 12-5:ta käytetään myös hoidetun taudin seurannassa, sillä se nousee 3–5 kuukautta ennen kliinisesti havaittavaa taudin uusiutumista. Myös TATI-, HE4-, AFP-, hCG- ja LDH-merkkiaineita voidaan käyttää hyväksi munasarjasyövän diagnosoinnissa. RMI:tä (risk of malignancy index) voidaan käyttää hyväksi arvioitaessa kasvaimen pahanlaatuisuutta. Siihen sisältyy tieto menopaussivaiheesta, kaikukuvauslöydöksestä ja Ca 12-5 –arvosta. RMI-pisteiden ylittäessä 200 on pahanlaatuisuuden riski huomattava. Lopullinen diagnoosi saadaan kuitenkin

vasta kudosenäytteistä leikkausten yhteydessä. (Munasarjasyöpä, Käypä hoito; Naistentaudit ja synnytykset, Duodecim.)

2.5 Hoito

Diagnoosi ja levinneisyys varmistetaan leikkauksessa, joka tehdään joko avoimesti tai laparoskooppisena tähystysleikkauksena. Munasarjasyövän ensisijainen hoito on kirurginen ja leikkauksessa pyritäänkin sytoreduktioon eli kasvainkudoksen mahdollisimman täydelliseen poistamiseen. Sytoreduktio määritellään yleensä jäännöskasvaimen avulla, joka pyritään saamaan pienemmäksi kuin 1 cm. Debulking-leikkauksessa pyritään poistamaan kliinisesti metastasoitunut syöpä mahdollisimman tarkasti ja tämä tarkoittaa sitä, että voidaan joutua tekemään radikaaleja kirurgisia toimenpiteitä. Kun kyseessä on nuori potilas, joka haluaisi vielä myöhemmin tulla raskaaksi, niin tehdään niin sanottua hedelmällisyyttä säästävää kirurgiaa. Leikkaushoidon lisäksi annetaan lähes aina solusalpaaja- eli adjuvanttihoitoja. Solusalpaajahoitona tällä hetkellä käytetään yleisesti karbo- tai sisplatiinia taksaaniini eli pakli- tai doketakseliiniin yhdistettynä. Levinneessä asteessa hoitoa annetaan ainakin kuusi yhdistelmäsolusalpaajakuuria kolmen viikon välein. Ennen leikkaushoitoa voidaan antaa myös neoadjuvanttihoito, joka tarkoittaa sitä, että levinneessä taudissa annetaan solusalpaajahoitoja ennen operaatiota kasvainmassan ja toimenpiteeseen liittyvien haittavaikutuksien pienentämiseksi. Vatsaonteloon levinneissä taudeissa voidaan joskus antaa myös intraperitoneaalisia solusalpaajahoitoja. (Munasarjasyöpä, Käypähoito.)

Suuresta kuolleisuudesta huolimatta munasarjasyöpä on yksi kemosensitiivisimmistä kasvaimista; levinneessä taudissa 50-70 % on mahdollisuus täydelliseen hoidonvasteeseen leikkauksen ja solusalpaajahoitojen jälkeen. Nykyään kuitenkin oletetaan, että kasvaimissa on huonosti hoitoihin reagoivia syöpäkantasoluja, jotka hoitojen jälkeen saavat taudin uusiutumaan. (Shah ym. 2014.)

Taudin parempaan ennusteeseen viittaavat kasvaimen täydellinen poisto primaarileikkauksessa, potilaan hyvä yleiskunto ja askiteksen puuttuminen. Myös yli 12 kuukauden tauditon aika hoitojen jälkeen, syövän peritoneumiin leviämisen puuttuminen ja levinneisyysaste I-II parantavat potilaan ennustetta. Kemoresistenteiksi syöviksi luokitellaan taudit, joissa tauti etenee

hoitojen aikana tai Ca 12-5 lähtee uudelleen nousuun kuuden kuukauden sisällä hoitojen lopettamisesta. (Munasarjasyöpä, Käypä hoito; Naistentaudit ja synnytykset, Duodecim.)

2.6 Epiteliaalinen munasarjasyöpä

2.6.1 Histologinen luokittelu

2.6.1.1 WHO 1973 luokittelu

Munasarjakasvaimet jaetaan histologialtaan epiteliaalisiin, sukupienen ja strooman kasvaimiin, itusolukasvaimiin ja sekalaisiin munasarjakasvaimiin. Epiteliaaliset munasarjakasvaimet saavat alkunsa munasarjan pintaepiteelistä. Niiden osuus kaikista munasarjakasvaimista on 70–80 %, joista kaksi kolmasosaa on hyvänlaatuisia. Yli 90 % munasarjasyövistä on histologialtaan epiteliaalisia (Munasarjasyöpä, Käypähoito). Epiteliaaliset kasvaimet luokitellaan alaluokkiin, joita ovat seroosit, musinoosit, endometroidit, kirkassoluiset, transitionaaliset eli Brennerin kasvain ja transitionaalisolusyöpä sekä sekamuotoiset ja erilaistumattomat kasvaimet. Epiteliaalisista munasarjasyövistä serooseja high grade syöpiä on yli 70 %, low grade serooseja 5%, musinooseja 3 %, endometroideja 10 % ja kirkassoluisia 10 %. (Zeppernick ym. 2014). Perusoletuksena on aiemmin ehkä virheellisestikin ollut, että munasarjasyöpä kehittyy erilaisten välivaiheiden kautta: hyvänlaatuisesta kystadenoomasta välimuotoiseksi tai toisin sanoen rajalaatuiseksi eli borderline-kasvaimeksi, josta kasvain edelleen kehittyy hyvin erilaistuneeksi eli matalan riskin, toisin sanoen low grade –syöväksi ja viimeisenä kehityksessä olisi huonosti erilaistunut eli korkean riskin, toisin sanoen high grade –syöpä (Bütsow 2014). Kasvaimet voidaan siis erilaistumisasteen perusteella jakaa lievästi erilaistumattomaksi, kohtalaisesti tai vahvasti erilaistumattomaksi (asteet 1–3). Toisin sanoen samaa luokitusta käyttäen voidaan sanoa, että syöpä on hyvin, kohtalaisesti tai huonosti erilaistunut. On arvioitu, että 10–30 % munasarjasyövistä on muiden syöpien, kuten rinta-, maha- tai paksusuolensyövän ja etäpesäkkeitä (Parker ym. 1992).

Munasarjasyövän luokittelu on muuttumassa 2014 vuoden aikana. Uuden luokituksen mukaan serooseja munasarjasyöpiä ei enää jaeta kolmeen eri asteeseen, vaan vain low ja high grade-syöpiin.

2.6.1.2 Molekyyli-genetiikkaa hyödyntävä uusi luokittelu

Uuden luokittelun mukaan munasarjasyövät voidaan jakaa tyyppiin I ja II (Shih ym. 2004). Tyypin I tyypillinen syöpä on seroosi low grade –syöpä ja tyypin II on seroosi high grade –syöpä. Tyypin I sisältää hitaasti kasvavat, yleensä diagnoosivaiheessa munasarjaan sijoittuvat, välimuotoisista kasvaimista kehittyvät kasvaimet (Gershenson ym. 2006). Toisin sanoen tyypin I kasvaimet kehittyvät siis asteittain hyvänlaatuisista muutoksista pahanlaatuisiksi. Robert J. Kurman ym. (2008) tutkimuksen mukaan I tyyppiin sisältyy seroosi low grade ja endometroidi low grade -syöpä, musinoosi ja kirkassoluinen syöpä ja transitionaalinen, toisin sanoen Brenner-syöpä. Ne ovat geneettisesti vakaita, ja niihin liittyy Ras-viestireitin mutaatiot, esimerkiksi KRAS-, BRAF-, PTEN-, Her2-, ARID1A-, PPP2R1A- ja beeta-kateniiniinigeenien mutaatiot (Kurman 2013). Tyypin I syöpien vaste platinapohjaisille sytostaattihoidoille on yleensä huono. Tyypin II kasvaimet ovat nopeasti kasvavia ja aggressiivisia, ja niiden sanotaan kehittyvän de novo eli suoraan huonosti erilaistuneiksi munasarjasyöviksi.. Tähän ryhmään kuuluu seroosi ja endometroidi high grade -syöpä, pahanlaatuinen sekamuotoinen mesodermaalinen syöpä (karsinosarkooma) ja erilaistumattomat syövät. Näille on tyypillistä geneettinen epävakaus, herkkyys platinapohjaisille sytostaattihoidoille ja p53-geenin mutaatio ja Ras-viestireitin mutaatioiden puuttuminen. 75 % prosenttia munasarjasyöivistä kuuluu tyyppiin II ja 90 % munasarjasyövän kuolemista johtuu niistä (Guth ym. 2007).

3. Munasarjasyövän histologisten alatyypien epidemiologia ja riskitekijät

3.1 Seroosit munasarjasyövät

3.1.1 Yleistä

Noin puolet epiteliaalisista munasarjasyöivistä on histologialtaan serooseja (Naistentaudit ja synnytykset, Duodecim). Seroosin munasarjasyövän solukko on munajohtimen limakalvon kaltaista. Serooseihin syöpiin kuuluu borderline, low grade ja high grade –syöpiä. Robert J. ym. (2011) artikkelissa uusien tutkimusten mukaan nykyään uskotaan, että seroosi munasarjasyöpä kehittyisi munatorven intraepiteliaalisesta syövästä (seroosi tuuban intraepiteliaalinen syöpä, STIC) eikä munasarjan sisäisestä inkluusiokystasta ja munasarjan pintaepiteelistä, niin kuin on jo aikojakaan uskottu. Piek JM ym. (2001) tutkimuksessa osoitettiin, että munatorven leesiot muistuttavat läheisesti seroosia high grade -munasarjasyöpää. 2003 Lancetissa julkaistu Piek JM ym. tutkimus osoitti, että seroosi high grade -syöpä johtuu siitä, että pahanlaatuiset solut implantoituvat munasarjaan. Kindelberger DW ym. (2007) liittivät STIC:n lantion alueen seroosiin high grade -munasarjasyöpään. Myös seroosien low grade -munasarjasyöpien uskotaan

syntyvän munatorven niin sanotusta papillaarisesta tubaalisesta hyperplasiasta, mutta tästä ei ole vielä julkaistu tutkimuksia (Kurman ym. 2011).

3.1.2 Low grade – ja borderline-muutokset

Seroosiin low grade -syöpään sairastuneiden keski-ikä on noin 43 vuotta ja potilaiden keskimääräinen selviytymisaika on 81 kuukautta (Serov ym. 1973). Luokassa I/II serooseja low grade -syöpiä on 2 % ja luokassa III/IV 5 % (Köbel ym. 2010). Serooseja high grade -syöpiä vastaavasti on 35 % ja 87 % (Köbel ym. 2010). Low grade -syöpä on histologialtaan borderline-kasvaimen ja seroosin high grade -syövän välimaastossa. Munasarjan pintaepiteeli muuttuu monikerroksiseksi ja papillaariseksi, ja siinä on havaittavissa anaplasiaa, psammoomakappaleita ja/tai (mikro)invaasiota stroomaan. Lisäksi syöpäsolukko on hyvin erilaistunutta. Tauti voi levitä vatsaonteloon. Vastoin vanhoja uskomuksia uusimpien tutkimusten mukaan low grade -syöivistä harvoin kehittyy high grade -syöpiä.

Epiteliallisista munasarjasyöivistä borderline-munasarjasyöpiä on 15 %, ja suurin osa näistä syöivistä on histologialtaan serooseja tai musinooseja, sillä kummankin osuus on noin 50 prosenttia. (Munasarjasyöpä, Käypä hoito). On olemassa myös borderline-tyyppisiä serooseja kasvaimia, jotka eivät yleensä muutu pahanlaatuisiksi, mutta joiden useiden tutkimusten perusteella uskotaan olevan mikropapillaaristen seroosien low grade -syöpien esiasteita (Kurman ym. 2008). Borderline-kasvaimet saattavat levitä peritoneumiin, mutta implantit eivät yleensä ole invasiivisia. Kasvaimien epiteelissä on havaittavissa proliferaatiota ja tuma-atypiaa. Robert J. Kurman ym. (2008) tutkimusten mukaan noninvasiivinen seroosisyöpä voidaan jakaa kahteen morfologialtaan erilaiseen fenotyyppiin: atyyppiseen proliferatiiviseen seroosiin kasvaimen (APSK) eli toisin sanoen seroosiin borderline -kasvaimen ja mikropapillaariseen seroosiin syöpään (MSS). Osa APS-kasvaimista kehittyy edelleen MS-syöviksi. Nämä kasvaimet voivat invasoida ja tehdä implantteja, jolloin kasvainta kutsutaan mikropapillaariseksi seroosiksi low grade -syöväksi. Paikalliset mikropapillaariset kasvaimet voidaan luokitella lisäksi mikrokarsinoomiksi erotukseksi muista mikroinvasoivista kasvaimista, joilla ei nykykäsityksen mukaan ole potilaan ennustetta huonontavaa vaikutusta. Edellä mainitun tutkimuksen mukaan mikropapillaarisen kasvainkudoksen tunnistaminen auttaa ennusteen arvioinnissa.

3.1.3 High grade -muutokset

Serooseista munasarjasyövistä 90 % on huonosti erilaistunutta high grade –syöpää, ja valtaosa kaikista munasarjasyövistä on tätä tyyppiä. High grade seroosi –syöpä aiheuttaa noin 90 % munasarjasyöpäkuolemista (Kurman ja Shih 2010). Tutkimusten mukaan 5 vuoden selviytymisennuste on vain noin 30 %. Seroosin high grade –syövän prevalenssi on suurimmillaan 45–65-vuotiailla, ja syövän keskimääräinen elinajanodote diagnoosista on 24 kuukautta (Serov ym. 1973). Syöpäsoluissa on paljon mitoottista aktiivisuutta, papillaarisia rakenteita, nekroosia, ja ne ovat huonosti erilaistuneita. Mikäli syöpä on läpäissyt munasarjan pinnan, on 10 vuoden selviytymisennuste vain noin 13 % (Robbins Basic Pathology, 8th edition, 2007). Seroosille high grade -adenokarsinoomalle tyypillisiä mutaatioita ovat p53-geenin ja BRCA1- ja BRCA2-geenin mutaatiot; p53-mutaatio löytyy yli 95 % tapauksista ja BRCA-mutaatio 45–50 %:ssa (Senturk ym. 2010). Low ja high grade -kasvainten välimaastossa on myös kasvaimia, joille ovat tyypillistä BRAF- ja K-RAS-mutaatiot, jotka eivät kuitenkaan siis ole tyypillisiä korkean riskin syöväälle (Robbins Basic Pathology, 8th edition, 2007). High grade -syövän alkuperää ei tiedetä, mutta sen uskotaan syntyvän de novo (Bell ym. 1994). Uusimmat tutkimukset osoittavat kuitenkin, että seroosi high grade –syöpä voisi olla lähtöin STIC:stä (Kurman 2013). Tutkimusten mukaan seroosia high grade -munasarjasyöpä voitaisiin erottaa muista alatyypeistä WT1- ja p53-immunovärjäysten perusteella (Köbel ym. 2013).

3.2 Musinoosi

Musinoosin munasarjasyövän solukko on suoliston tai kohdunkaulan lieriöepiteelin kaltaista. 10 % musinooseista kasvaimista on pahanlaatuisia ja merkittävä osa syövästä on muualta elimistöstä munasarjoihin levinneitä. 8 % primaareista levinneisyysluokan I/II low grade -syövästä ja 1 % high grade -syövästä on musinooseja (Köbel M ym. 2010). Epiteliaalisista syövästä musinooseja on vain noin 3–10 % (Naistentaudit ja synnytykset, Duodecim). Noin puolet paikallisista taudeista alle 40-vuotiailla on musinooseja. Borderline-kasvaimilla on taipumusta muuttua invasiiviksi syöviksi. Levinneessä musinoosissa borderline-taudissa potilaiden selviytyvyys on eri kirjallisuuslähteiden mukaan vain noin 50 %, kun serooseissa borderline-taudeissa selviytymisprosentti on 70 % (Kurman ym. 2008). On myös osoitettu, että metastatit musinoosit syövät tulevat usein muualta ruuansulatuskanavasta, kuten umpilisäkkeestä, paksusuolesta, sappirakosta ja haimasta, ja nämä syövät sekä kohdunkaulansyöpä voivat metastasoida munasarjaan ja käyttäytyä primaarisen musinoosin munasarjasyövän tavoin

(Kurman ym. 2008). 80 % musinooseihin munasarjasyöpiin liittyy pseudomyxoma peritonei eli vatsakalvonontelossa esiintyvä hyytelömäinen limakasvain, jonka taustalta yleensä taas löytyy umpilisäkkeen musinoosi adenooma tai syöpä (Kurman ym. 2008). Musinooseilla munasarjasyövillä on myös yhteys niin kutsuttuihin Brennerin kasvaimiin (Kurman ym. 2011). Seidman JD ym. (2010) tutkimuksen perusteella Brennerin ja musinoosien kasvainten uskotaan muodostuvan transitionaalistyyppisestä epiteelistä munatorven ja peritoneaalitilan junktiosta. Musinoosilla syövällä ei kuitenkaan ole Müller- eli munatorvityyppistä fenotyyppiä toisin kuin seroosilla syövillä (Seidman ym. 2010).

20 % musinooseista munasarjasyöivistä on bilateraalisia, vastaava prosentti on seroosissa syövässä isompi. Patologialtaan kasvaimet ovat monilokeroisia ja isoja. Kasvaimet kasvavat hitaasti. KRAS-geenin mutaatio on tyypillinen musinoosille syöväälle ja borderline-kasvaimelle (Mayer ym. 2006). Tutkimuksen mukaan musinoosia munasarjasyöpää voitaisiin diagnosoida värjäämällä TFF3-proteiineja, jotka värjäytyvät syövässä 91 prosenttisesti (Köbel ym. 2013). Kemoterapia tehoaa huonosti musinoosiin munasarjasyöpään (Pisano ym. 2005).

3.3 Endometroidi

Endometroidit kasvaimet munasarjassa ovat yleensä low grade -syöpiä, mutta myös hyvänlaatuisia ja borderline-kasvaimiakin on. Epiteeliaalisista kasvaimista endometroidityyppeistä on 10–24 %. Endometriosisin on tutkittu olevan riskitekijä endometroidille munasarjasyöväälle retrogradisen menstruaation ja endometrioomien eli munasarjojejn endometriosisipesäkkeiden kautta. 15–30 %:lla endometroidityyppeistä munasarjasyöpäpotilaista on myös endometriumsyöpä (Robbins Basic Pathology, 8th edition, 2007). Yhtäläistä endometriumsyövän kanssa on se, että myös endometroidista munasarjasyövästä löytyy usein PTEN-suppressorigeenin mutaatio (Robbins Basic Pathology, 8th edition, 2007). Myöskin ARID1A- ja CTNNB1-mutaatiot ovat syöväälle tyypillisiä (Xavier ym. 2013). Beeta-kateniinin mutaatio löytyy noin 60 % endometroideista munasarjasyöivistä ja borderline-kasvaimista (Paley ym. 2001). Edelleen on kiistanalaista, onko olemassa endometroidia high grade -munasarjasyöpää, vai onko se vain variantti seroosista high grade -syövästä.

3.4 Kirkassoluinen

Kirkassoluisen munasarjasyövän solukko on hypersekretorista kohdun limakalvoa eli niin sanottua Arias-Stellan muutosta muistuttavia. Sekä kirkassoluinen että endometroidi munasarjasyöpä ovat diagnosoitavilla yleensä isoja (halkaisija noin 15 cm) ja unilateraalisia. Kirkassoluiset kasvaimet löydetään useammin levinneessä vaiheessa, ja syöpä on useammin high grade -tyyppiä kuin muut tyypin I munasarjasyövät. Samoin kuin endometroidissa syövässä, niin endometriosisin uskotaan aiheuttavan myös kirkassoluista munasarjasyöpää. Kirkassoluisella on suhteellisen huono vaste perinteisille platina- ja taksaanihoidoille. Verrattaessa endometroidin ja musinoosin munasarjasyövän samoihin levinneisyysvaiheessa oleviin tauteihin kirkassoluisella munasarjasyöväällä on huonoin ennuste (Kuroda ym. 2013). Toisin kuin muissa epiteliaalisissa syövässä, niin kirkassoluisesta syövästä ei vielä ole tunnistettu montaa sen kulkuun vaikuttavia proteiineja (Yamaguchi ym. 2013). Tutkimusten mukaan kirkassoluista munasarjasyöpää voitaisiin värjäämällä näytteistä HNF1b-proteiini (Köbel ym. 2013).

4. Munasarjasyövässä merkityksellisiä proteiineja

4.1 EGFR

EGFR (epidermal growth factor receptor) eli ErbB-1 tai HER1 kuuluu epidermaaliseen kasvutekijä- eli ErbB-perheeseen, jotka ovat tyrosiini-kinasi-reseptoreita (Normanno ym. 2005). EGF-reseptorit ovat transmembraaniproteiineja, joissa on ekstrasellulaarinen ligandia sitova osa ja solunsisäinen kinaasiosa. ErbB-perheen proteiinien tehtävä terveissä soluissa on säädellä solun kasvua, erilaistumista ja selviytymistä. Aktivoitunut ErbB-perheen reseptori aiheuttaa aktivaation ras/raf/MEK/MAPK -reitissä (Normanno ym. 2006). ErbB-reseptorit aktivoituvat, kun niihin sitoutuu EGF-perheen kasvutekijä, jonka reseptorin oma solu tai vieressä olevat solut ovat tuottaneet (Olayioye ym. 2000; Yarden ja Sliwkowski 2001). EGF-reseptoriin sitoutuvat erityisesti EGF, TGF-alfa, amfi- ja neureguliini ja hepariinia sitova kasvutekijä. Tutkimusten mukaan EGFR, niin kuin muutkin ErbB-perheen proteiinit, on osallisena monen syövän patogeneesissä ja etenemisessä, esimerkiksi munasarjasyövässä. Kasvutekijäreseptoreita löytyykin ylimäärin monista ihmisen syöpäkuksista, mm. ihmisen keuhko-, rinta- ja paksusuolensyövässä. EGFR saattaa rintasyövässä viitata varhaiseen uusiutumiseen ja tämän vuoksi huonoon ennusteeseen, mutta tämä on epäselvää monien vastakkaisten tutkimustulosten vuoksi (Normanno ym. 2006). EGF-reseptoreita vastaan on kehitetty lääkkeitä, joista mainittakoon gefitinibi, joka on EGFR-tyrosiini-kinasi-inhibiittori ja labatanibi, joka on

selektiivinen EGFR/Her2 –tyrosiinikinaasin inhibiittori sekä EGFR:n toimintaa estävät vasta-aineet setuksimabi ja panitumumabi.

4.2 Her2

Her2 (human epidermal growth factor receptor 2) eli toisin sanoen Neu, Her2/neu, ErbB-2, CD340 tai p185 kuuluu epidermaaliseen kasvuhormonireseptorien perheeseen ja sitä koodittaa proto-onkogeneeni nimeltään ERBB2. Her2 on solukalvon läpäisevä transmembraaniproteiini. EGF-perheen peptidit eivät sitoudu tähän reseptoriin toisin kuin EGFR:ään (Normanno ym. 2006). Tämän geenin monistuma johtaa Her2:n pysyvään aktivoitumiseen ja solujen hallitsemattomaan kasvuun. Onkogeenin aktivoituminen johtaa MAP-kinaasin aktivaatioon, jolla on kriittinen rooli solujen kasvusignaalien kuljetuksessa solujen tumiin. Her2-onkogeenin aktivoituminen liittyy osaan aggressiivisista rintasyövistä ja lisäksi sen tiedetään liittyvän mahalaukun, aggressiivisten kohtusyöpien ja munasarjasyövän syntyyn. Rintasyövässä Her2-positiivisuus saattaa olla huonon ennusteen itsenäinen merkitsevä tekijä (Normanno ym. 2006).

Usean tutkimuksen perusteella EGFR ja Her2 ekspressoituvat enemmän munasarjasyövässä kuin normaalissa munasarjakudoksessa ja molempien yliekspressio korreloi huonoon ennusteeseen. Nicola Normanno ym. (2005) tutkimuksen mukaan lääkehoito pitäisi kohdistaa useampaan kasvutekijäperheen proteiiniin yhtä aikaa paremman vasteen saamiseksi.

Seroosiin borderline -kasvaimeen liittyy Her2-geenin monistuma (Singer ym. 2005). ERBB2-mutaatio, joka johtaa K-Ras:n toiminnanhäiriöön ja sitä kautta MAP-kinaasin aktivaatioon, on löydetty 9 %:sta APS-kasvaimista, MS- ja LGMS-syövistä (Kurman ym. 2011). Rintasyövän hoidoksi kehitetty herseptiini on monoklonaalinen vasta-aine, joka kiinnittyy Her2-reseptoreihin niiden toimintaa hilliten (Normanno ym. 2006).

4.3 p53

Tuumorisupressori eli sellulaarinen tuumoriantigeeni p53 on proteiini, jota koodaa kromosomissa 17 sijaitseva TP53-geeni. Proteiini sijaitsee solun tumassa ja terveessä solussa sitä on vain pieniä määriä. TP53:n pistemutaatio johtaa toimimattomaan proteiiniin, jota solut tuottavat ylimäärin. Yksi TP53:n mutaation alatyyppeistä nimitetään GOF:ksi (gain-of-function), jolloin tämä

tuumorisupressorigeeni muuttuu onkogeeniksi. p53:lla on tärkeä rooli solun apoptoosissa ja angiogeneesin estämisessä. Se aktivoi DNA:ta korjaavia proteiineja DNA:n vaurioitua ja voi pysäyttää solun jakautumisen DNA:n korjaamisen ajaksi. Tarvittaessa se käynnistää solukuoleman eli apoptoosin. p53:n mutaatio on osana lähes kaikissa ihmisen syövässä. Yhtä TP53-geenin mutaatio voi periytyä, jolloin yksilöllä on suuri todennäköisyys sairastua syöpiin jo nuorena. (Molecular biology of the cell, 5th edition).

Tutkimusten mukaan TP53 on mutatoitunut yli 90 %:ssa serooseissa high grade -syövässä ja 95 %:ssa tyypin II syövässä (Köbel ym. 2013; Kurman 2013) Meta-analyysit ovat osoittaneet, että p53-positiivisuus syöpänäytteissä on merkittävä ennustetta huonontava tekijä. Seroosia high grade -syöpää ja musinooseja syöpää voitaisiin tutkia p53-värjäyksillä, sillä 93 % serooseista high grade- ja 43 % musinooseista syövästä on värjäyksissä positiivisia (Köbel ym. 2013).

4.4 ALDH1

ALDH1 eli aldehydidehydrogenaasientsyymi, sijaitsee sytoplasmassa lähes kaikissa nisäkkään kudoksissa. Se katalysoi aldehydien oksidaatiota ja lisäksi se detoksifioi asetaldehydiä, kortikosteroideja ja retinoiinihappoa. Tämän vuoksi ALDH1:llä on tärkeä rooli solun homeostaasissa. Sen arvellaan munasarjasyövässä liittyvän solujen kantasoluominaisuuksiin ja siksi sitä kutsutaan kantasolu-merkkiaineeksi. Rintasyövässä ALDH1:n ekspressio liittyy huonoon ennusteeseen. Munasarjasyövän immunihistokemiallisissa värjäyksissä ALDH1:n suuri ekspressio liittyy endometriidiin munasarjasyöpään, varhaisen vaiheen tautiin, hyvään kemoterapiavasteeseen ja alhaiseen Ca 12-5 pitoisuuteen; suuri ALDH1 :tä ekspressoiva solumäärä viittaa pidempään selviytymisaikaan ja taudilta vapaaseen aikaan hoitojen jälkeen (Chang ym. 2009). ALDH1 :n merkitys on kuitenkin vielä kiistanalainen, sillä tutkimukset osoittavat ristiriitaisia tuloksia. Esimerkiksi Kuroda T ym. (2013) tutkimuksessa korkea ALDH1 :n ekspressio viittaa seroosin ja kirkassoluisen adenokarsinooman huonoon ennusteeseen

Uusimpien tutkimusten mukaan munasarjasyövässä on syövän kantasoluja (CSC= cancer stem-like cell) ja syöpää tuottavia soluja (CIC= cancer-initiating cell), joilla on suuri syövän muodostus kyky (Kuroda ym. 2013). Edellä mainittua kutsutaan syövän kantasolu -hypoteesiksi. CS-solut ja CI-solut liitetäänkin syövän uusiutumiseen ja kemoresistenssiin. ALDH1 on potentiaalinen syövän kantasolumarkkeri ja sen aktiivisuutta voidaan tutkia elävien solujen

ALDEFLUOR-värjäyksellä. Uusimpien tutkimusten mukaan ALDH1:n korkea määrä mahdollistaa sekä terveen että syöpäsolun niin sanotun stressinsiedon ja uudistumiskyvyn.

5. Tutkimuksen tavoitteet

Syventävieni töiden tarkoituksena oli tutkia munasarjasyöpää ja sen histologian ja erilaisten proteiinien vaikutusta taudin ennusteeseen. Tutkin kirjallisuuden kautta EGFR-, Her2-, p53- ja ALDH1-proteiineja ja selvitin millainen näiden proteiinien vaikutus on munasarjasyövän taudinkulussa ja ennusteessa prospektiivisen-tutkimuksen 48 potilaan aineistossa. Keräsimme myös toisen syventäviä opintoja tekevän opiskelijan kanssa tietoja vuosien 2001–2007 356 :sta munasarjasyöpäpotilaasta retrospektiivistä aineistoa varten, lopulliseen aineistoon potilaita jäi 310. Lisää tietojen keruusta kerrotaan luvussa 6. Retrospektiivisestä aineistosta tutkin munasarjasyövän histologioiden epidemiologioita ja riskitekijöitä.

6. Aineisto ja menetelmät

6.1 Aineisto

6.1.1 Retrospektiivinen aineisto vuosilta 2001–2007

2001–2007 Turun Yliopistollisessa keskussairaalassa (TYKS) hoidetuista 356 potilaasta on kerätty diagnostisia munasarjasyöpäkudoksenäytteitä, jotka on valettu parafiiniin. Lisäksi käytössä on 40 potilaan jääleikenäytteet. Potilasaineisto sisältää myös munajohdin- ja vatsakalvolähtöisiä syöpiä. Diagnoosien varmistamisen jälkeen potilasaineistoon jäi 310 potilasta.

6.1.2 Prospektiivinen aineisto vuosilta 2009 lähtien

TYKSissä ja Turun yliopistossa vuonna 2009 aloitetun laaja-alaisen Munasarjasyövän diagnostiset ja ennusteelliset tekijät -tutkimushankkeen eli toisin sanoen Mupet-tutkimuksen (tutkimusnumero: NCT01276574) avulla etsitään taudin kehittymistä ennustavia tekijöitä, joiden perusteella hoitoa voitaisiin suunnata yksilöllisemmin. Preoperatiivisesti tehdään PET/CT-kuvantamistutkimus syövän laajuuden selvittämiseksi ja lisäksi määritetään Ca 12-5 ja HE4-arvo. Leikkauksessa kerätään kasvainkudos näytteeksi, josta selvitetään kasvaimen morfologia ja näytteet säilötään biobankkiin DNA-, transkriptomi-, proteomi- ja metabolomi-analyysejä varten. Samalla tavalla materiaali ja tieto kerätään uusiutuvasta taudista. Verinäytteet otetaan

ennen leikkausta, neoadjuvanttihoidon aikana kuuden viikon välein ja seurannassa kolmen kuukauden välein. Tutkimuksessa pyritään löytämään varhaisdiagnostiikkaan tai taudin biologiseen käyttäytymiseen liittyviä merkkiaineita.

6.2 Menetelmät

6.2.1 Kliinisten tietojen keräys

Syventävissä opinnoissani tutustuin 356 potilaan aineistoon. Potilaiden sairauskertomuksien pohjalta kerättiin seuraavat tiedot: sairastumisikä, painoindeksi eli BMI, levinneisyys, WHO, ASA eli terveydentila (mahdollinen antikoagulaatiohoito, tabletti- tai insuliinihoitoinen diabetes, muu vakava yleissairaus), suvun rinta- tai munasarjasyövät, syövän ICD-diagnoosi, diagnostisen laparoskopian päivä, neoadjuvanttihoitojen määrä, varsinainen leikkauspäivä, kasvaimen histologia, gradus ja levinneisyys, selvitys toimenpiteestä, lymfadenektomiasta, peritoneaalikarsinoosista, imusolmukelevinneisyydestä, jäännöskasvaimesta, Ca 12-5 diagnosihetkellä ja leikkauksen jälkeen, primaarihoidon lopussa ja mahdollisesti taudin uusiutuessa, tiedot solusalpaajahoidoista (oliko käytössä platinapohjainen hoito, kuinka monta hoitoa sai, primaarihoidon päättymispäivä), tila primaarihoidon päättyessä, mahdollinen uusiutumispäivä ja tieto merkkiaineen noususta tuolloin ja uusiutumishetken kuvantamis- ja statuslöydös, viimeinen seuranta päivä ja tila viimeisenä seuranta päivänä.

6.2.2 Immunohistokemialliset värjäykset

Syventäviin opintoihini kuului osana EGFR:n, HER2:n, ALDH1:n ja p53:n ekspresion tutkiminen parafiininäytteistä otetuista leikkeistä ja ekspresion korrelointi taudin kulkuun. Tätä ennen etsin patologian professorin (Carpén O.) kanssa näytelaseista parhaat syöpäpalat ja merkkasin ne mikroskoopin avulla, samalla potilaiden histologinen status tarkastettiin. Merkattujen syöpänäytepalojen avulla valmistettiin kaksi kudossirublokkia, joissa oli kaksi kudoslieriötä kustakin kasvaimesta. 48 potilaan näytteistä saatiin kerättyä kudonäytteet näytelasille proteiini-värjäyksiä varten. Kudonäytteitä on yhteensä 56 ja kaikki näytteet otettiin parinäytteinä, joten kokonaisuudessaan kahdella näytelasilla oli yhteensä 112 kudonäytettä. 11 parinäytteistä oli intervallinäytteitä eli näytteet oltiin otettu solusalpaajahoidojen välissä. 8 potilaasta on näytteet ennen ja kesken hoitojen, ja yhdestä potilaasta otettiin kahdet parinäytteet ennen hoitoja otetuista näytteestä. 37 potilaasta on näytteet otettu vain ennen hoitoja ja 2

potilaasta on vain intervallinäytteet. 11 parinäytteistä on jääleikkeitä. Näytteet on valittu edustavuutensa perusteella, ja joidenkin näytteiden kohdalla kyseessä on muuta kuin munasarjaperäistä kudosta.

Immunohistokemialliset värjäykset tehtiin TYKS-SAPA Patologian yksikössä käyttäen pääosin Ventana Benchmark immunovärjäysautomaattia. ALDH1A värjäys suoritettiin Labvision Autostainer värjäysautomaatilla.

Kaikista näytteistä otettiin näytelasille kaksi pientä kudoksenäytettä kutakin värjäystä varten ja kontrollina oli aina maksa-näyte. Värjäytymisasteet ja prosentit arvioitiin aina edustavamman ja voimakkaammin värjäytyneen näytteen mukaan. Kolme tutkijaa, joista yksi oli TYKS:n patologian yksikön ylilääkäri/professori (Carpén O.), arvioi värjäyksiä. EGFR- ja Her2-proteiinien värjäytymisen voimakkuus arvioitiin asteikolla 0 (negatiivinen), 1 (heikko sytoplasminen), 2 (kohtalainen, myös solukalvolla) ja 3 (vahva, painottuu solukalvolle). ALDH1:lle ei ole vakiintunutta arviointitapaa. Näytteet arvioitiin siten, että värjäytyminen jaettiin kolmeen kategoriaan (vahva, heikko, negatiivinen) ja kunkin osuus pinta-alasta arvioitiin prosentteina. p53-mutaatiota arvioitiin värjäytymisen vahvuuden perusteella: positiivinen on vahva värjäytyminen ja negatiivinen on hyvin heikko tai olematon värjäytyminen. Hyvin heikko värjäytyminen voi liittyä normaalitilanteeseen, jonka vuoksi tämä laskettiin siis myös negatiiviseksi.

7. Tulokset

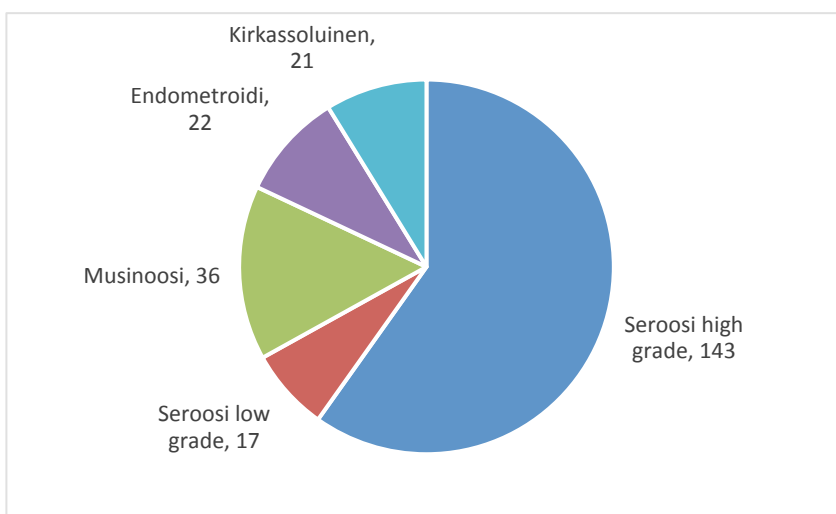
7.1 Tilastoja retrospektiivisestä aineistosta

Aineistossa on potilaita yhteensä 310, ja heistä 239 :llä (77,1 %) oli munasarjasyöpä, 14 :llä (4,5 %) munajohdinsyöpä, 43 :llä (13,9 %) peritoneumisyöpä ja 14 :llä (4,5 %) muita kasvaimia esimerkiksi Brennerin maligneja kasvaimia ja pienisolukarsinoomia (taulukko 1). Munasarjasyövistä seroosia low grade –syöpiä oli 17 (7,1 %), seroosia high grade –syöpää 143 (59,8 %), musinooseja syöpiä 36 (15,1 %), endometroideja syöpiä 22 (9,2 %) ja kirkassoluisia syöpiä 21 (8,8 %) (Kuva 1). Levinneenvaiheen eli luokan III-IV tauteja seroosista low grade –syövistä oli 9 (52,9 %) ja high grade –syövistä 126 (88,1 %), musinooneista 8 (22,2 %), endometroideista 7 (31,8 %) ja kirkassoluisista 9 (42,9 %). 66,5 % munasarjasyövistä olivat

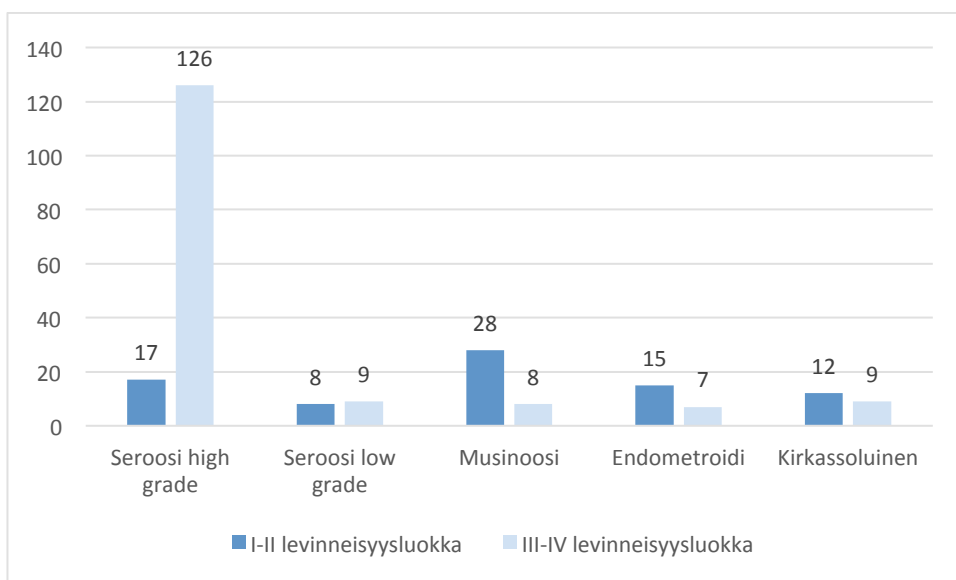
levinneitä tauteja (Kuva 2). Kaikkiaan kahdella kolmasosalla potilaista eli 66,5 %: lla munasarjasyöpä oli toteamishetkellä levinneessä vaiheessa.

Syöpä	Kpl
Munasarjasyöpä	239
Peritoneumisyöpä	43
Munajohdinsyöpä	14
Muut kasvaimet	14
Kaikki yhteensä	310

Taulukko 1. Aineiston syövät

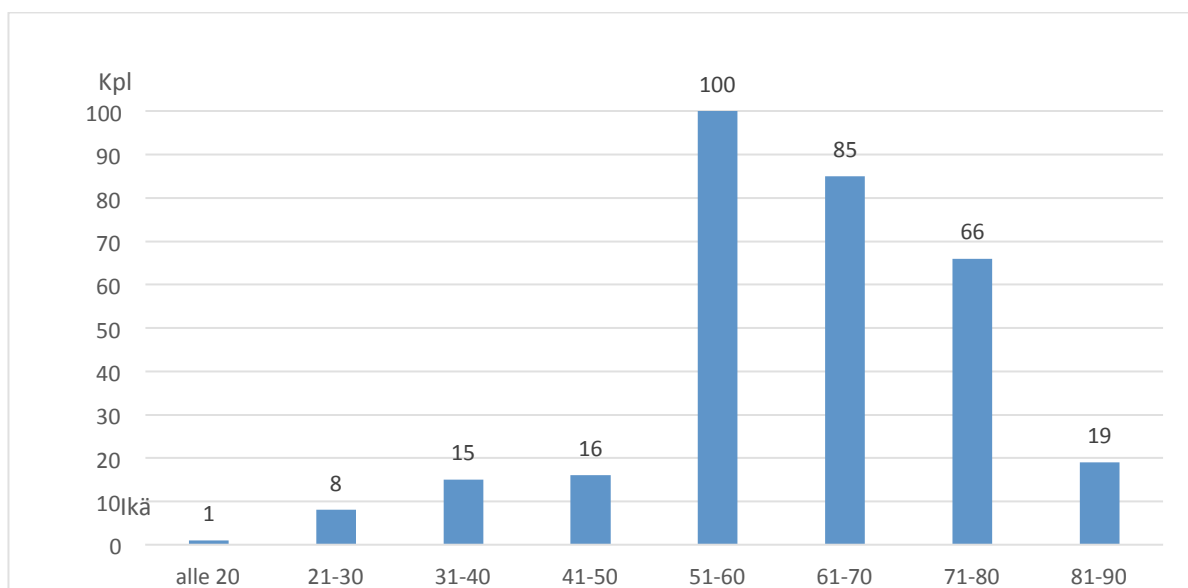


Kuva 1. Aineiston munasarjasyöprien histologinen jakautuminen (n=239)



Kuva 2. Paikalliset ja levinneet munasarjasyövät (n=239)

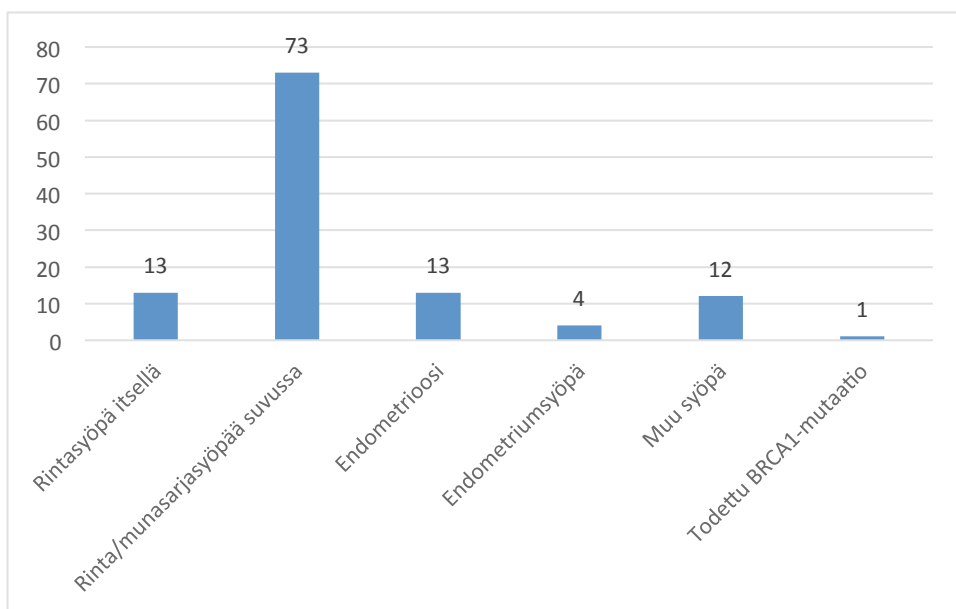
Syöpiin sairastuneiden keski-ikä oli 62 vuotta, keskihajonta on 13 vuotta. Nuorin sairastunut oli 19-vuotias saadessaan paikallisen musinoosin munasarjasyövän diagnoosin ja vanhin 90-vuotias saadessaan levinneen peritoneumisyövän diagnoosin. Seroosiin syöpää sairastuneiden keski-ikä oli myös 62 vuotta (seroosin high grade syövän keski-ikä oli 63 ja low graden 55 vuotta), musinoosiin syöpään sairastuneiden 53 vuotta, endometroidin syövän 56 vuotta ja kirkassoluiseseen syöpään sairastuneiden 58 vuotta. Peritoneaalisiin syöpiin sairastuneiden keski-ikä oli 70 vuotta ja munanjohdinten syövässä 64 vuotta. Aineiston ikäjakauma on esitetty kuvassa 3.



Kuva 3. Ikäjakauma aineistossa (n=310)

Seroosia high grade -syöpää sairastavista kuusi (4,2 %) oli aiemmin sairastanut rintasyövän, yhdellä oli tunnistettu BRCA1-mutaatio ja 33 :lla (23,1 %) oli suvussa rinta- tai munasarjassyöpää. 69 potilaan suvun syöivistä ei ollut tietoa. Low grade -syöpäpotilaista vain yhdellä tiedetään olleen rinta- ja munasarjasyöpiä suvussa. 15 (9,3 %) serooseista munasarjasyöpäpotilaista oli lisäksi sairastanut jonkin muun syövän; rintasyöpien lisäksi muun muassa kolmella oli ollut endometriumsyöpä. Musinoosia munasarjasyöpää sairastaneista yhdellä (2,8 %) oli aiemmin ollut musinoosi munasarjakasvain ja yhdellä (2,8 %) paksusuolen syöpä, rinta- ja munasarjasyöpää oli suvussa seitsemällä (19,4 %), 17 potilaan sukuhistoriaa jäi epäselväksi. Endometroideista munasarjasyöpäpotilaista kolmella (13,6 %) oli tiedossa endometrioosi, kuudella (27,3 %) oli suvussa rinta- tai munasarjasyöpää, 8 potilaan sukuhistoriaa jäi epäselväksi. Kirkassoluisista munasarjapotilaista kahdella (9,5 %) oli aiemmin ollut

rintasyöpä, yhdellä (4,8 %) endometriumsyöpä, kolmella (14,3 %) oli todettu endometrioosi, viidellä (23,8 %) oli suvussa rinta- tai munasarjasyöpää ja kymmenen potilaan sukuhistoria jäi epäselväksi. Munasarjasyöpäpotilaista siis kahdeksalla (3,3 %) oli aiemmin ollut rintasyöpä, sukurasite rinta- tai munasarjasyöväälle oli 52 :llä (21,8 %) potilaalla. Endometroideista ja kirkassoluisista munasarjapotilaista kuudella (20,9 %) oli todettu endometrioosi, kaikkiaan munasarjasyöpäpotilaista 11 :sta (4,6 %) oli todettu endometrioosi. Endometriumsyöpä munasarjapotilaista oli ollut neljällä (1,7 %). Aineiston potilaista seitsemällä (2,3 %) oli sekä rintasyöpä että tiedossa oleva sukurasite. Kaikkien syöpien riskitekijöistä lisää kuvassa 4.

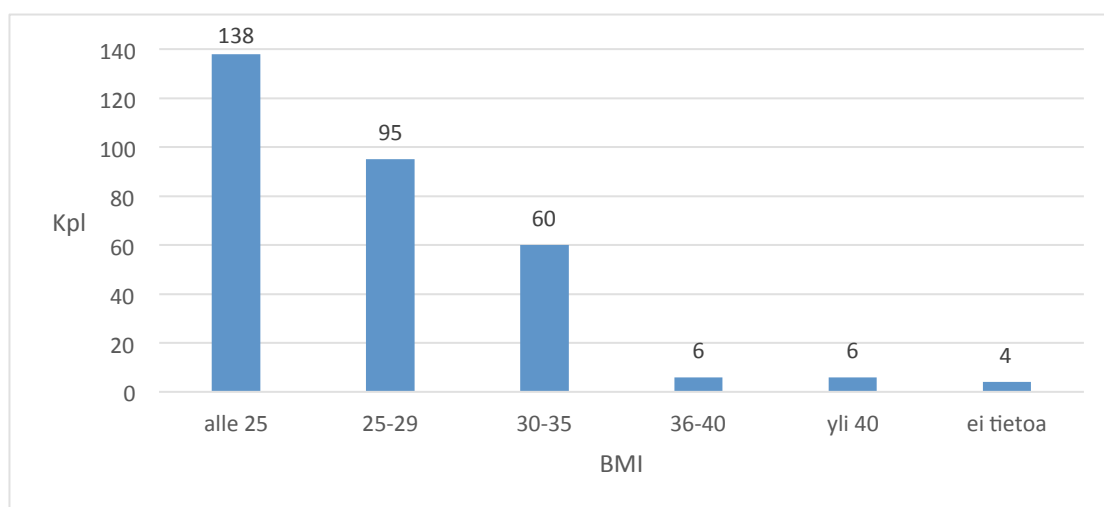


Kuva 4. Aineiston (n=310) munasarjasyövän riskitekijöitä

Peritoneaalisista syöivistä 31 (72,1 %) oli histologialtaan seroosia, kaksi (4,7 %) oli erilaistumatonta, yksi (2,3 %) oli pseudomyxoma peritonei ja kahdeksan (18,6 %) histologia oli epäselvä, lisäksi yhden histologiasta ei ole merkintää. Serooseista syöivistä kaksi syöivistä oli hyvin erilaistuneita, kuusi kohtalaisesti erilaistuneita ja 23 huonosti erilaistuneita. Rintasyöpä oli lisäksi neljällä (9,3 %), yhdellä (2,3 %) oli todettu endometrioosi ja yhdellä oli primaarikasvain sekä munasarjassa että kohdunkaulassa. Rinta- ja munasarjasyöpää oli suvussa 12 :sta (27,9 %).

Munanjohtimien syöivistä kuusi (42,9 %) oli histologialtaan seroosia, loppujen histologia jäi epäselväksi. Neljä (28,6 %) syöivistä oli kohtalaisesti erilaistuneita ja loput kymmenen (71,4 %) huonosti erilaistuneita. Diagnoosihetkellä paikallisia tauteja oli kolme (21,4 %) ja 11 (78,6 %) oli

levinneitä. Yhdellä potilaalla oli myös endometrioosi ja kahdella (14,3 %) oli suvussa tiedossa rinta- tai munasarjasyöpää. Normaalipainoisia (BMI < 25) potilaista oli 138 (44,4 %), ylipainoisia (BMI 25–29,9) 95 (30,6 %), lihavia (BMI ≥ 30) 72 (23,3 %). Lihavista vaikeasti lihavia oli 12, neljästä ei ollut tietoa. BMI-jakaum on esitetty kuvassa 5. Normaalipainoisten taudeista 41 (29,7 %) oli toteamishetkellä paikallisia ja 97 (70,3 %) oli levinneitä, 85 (61,5 %) syöivistä oli serooseja ja sairastumisen keski-ikä oli 61 vuotta. Ylipainoisten potilaiden paikallisia tauteja diagnosoihetkellä oli 28 (29,4 %) ja 67 (70,5 %) oli levinneitä, 64 (67,4 %) syöivistä oli histologialtaan serooseja ja sairastumisen keski-ikä oli 63 vuotta. Lihavien (BMI ≥ 30) syöivistä paikallisia tauteja oli 22 (30,6 %) ja 50 (69,4 %) oli levinneitä, 44 (61,1 %) syöivistä oli serooseja, sairastumisen keski-ikä oli 62 vuotta.



Kuva 5. Aineiston BMI-jakauma

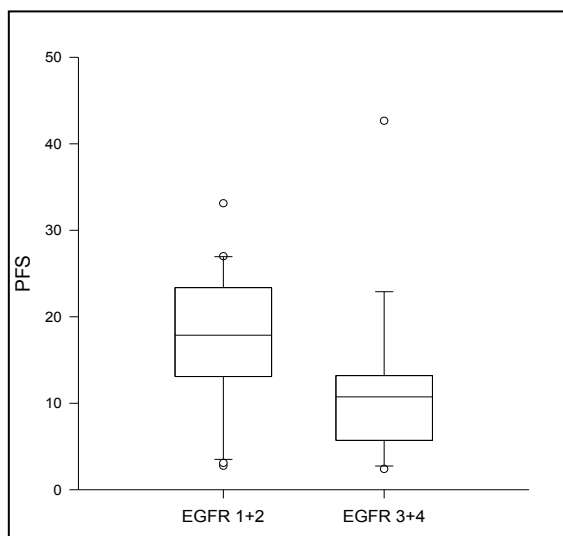
7.2 Immunohistokemiallisten värjäysten yhteys diagnoosiin, klinisiin muuttujiin ja taudinkulkuun

	Värjäytyneet näytteet (kpl)			
Värjäytymisloukka	0	1	2	3
EGFR	4	18	19	7
Her2	32	13	4	3
Osuus prosentteina	0-20%	50-70%		5-95%
ALDH1/heikko	28	18		
ALDH1/vahva+heikko				24
	positiivinen	negatiivinen		
p53	31	16		
Proteiinit				

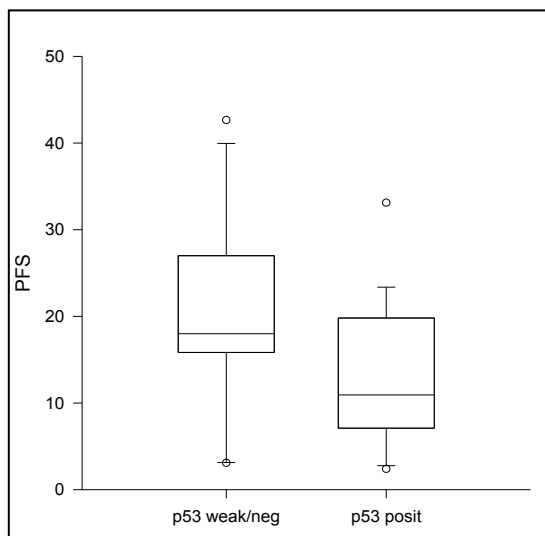
Taulukko 2. Immunohistokemiallisten värjäysten jakautuminen.

Immunohistokemillisiä värjäyksiä verrattiin potilaiden kliinisiin tietoihin käyttäen Spearmannin korrelaatioanalyysiä. Nämä saatiin vertaamalla immunohistokemiallisia värjäyksiä kliinisiin tietoihin. EGFR-värjäyksen ryhmissä 1-4 ei ole merkittäviä eroja PFS (progression free survival):ssä, mutta jos yhdistettiin intensiteetti 1-2 (heikko) ja 3-4 (vahva), niin PFS on merkittävästi heikompi suuremmilla EGFR intensiteeteillä ($p=0.016$) (kuva 6). Lyhyt PFS korreloi värjäyksistä korkeaan p53-intensiteettiin (korrelaatio -0.326 ; $p=0.0491$), ja korkeaan EGFR:ään (korrelaatio -0.343 ; $p=0.0353$). Pitkä PFI (progression free interval) korreloi myös samalla tavalla eli p53-korrelaatio -0.413 ; $p=0.0126$ ja EGFR-korrelaatio -0.382 ; $p=0.0199$. Lyhyt OS (overall survival) puolestaan korreloi matalaan p53:een (korrelaatio 0.733 ; $p=0.00373$) mutta korkeaan EGFR:ään (korrelaatio -0.469 ; $p=0.0873$). Korkea EGFR korreloi kääntäen PFS:n, PFI:n ja OS:n sekä huonon ennusteen potilailla.

P53-värjäys on voimakkain high grade –seroosissa munasarjasyövässä ja lyhyen residivian näytteissä. PFS on siis lyhyempi vahvan p53-värjäyksen potilailla ($p=0.0491$) samoin kuin PFI ($p=0.0126$), mutta tässä aineistossa OS nousee, kun p53-värjäyksen intensiteetti kasvaa ($p=0.00373$). PFS on lyhyempi p53-positiivisilla kuin heikosti tai ei-värjäytyvillä ($p=0.031$) (kuva 7).



Kuva 6. PFS ja EGFR



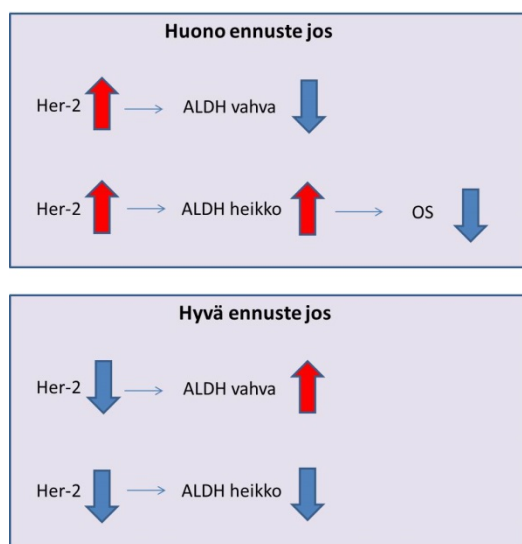
Kuva 7. PFS ja p53

ALDH1-heikko luokiteltiin värjäyksen kahteen selkeästi toisistaan erottuvaan ryhmään 0-20 % ja 50-70 %. Näiden ulkopuolelle ei jäänyt yhtään potilasta. Lisäksi todettiin yhteys lyhyen OS:n ja kasvainten välillä, joissa ALDH1-värjäys on heikko (korrelaatio -0.575 ; $p=0.0369$) tai joissa on vahvasti ja heikosti (ALDH1/vahva+heikko) soluja (korrelaatio -0.574 ; $p=0.0369$). Niin sanotun

vahvan värjäyksen lisääminen ei paranna korrelaatiota eikä se yksinään korreloi ALDH1:n kanssa, joten heikon määrä on tärkeämpi. Eli potilailla, joiden näytteissä on paljon heikkoa ALDH1-värjäytymistä tai vähän kokonaan negatiivisia soluja, on lyhyt OS. ALDH1-heikko+negat värjäytyneiden solujen prosenttiosuuden vertailu Her2-intensiteettiin näyttää, että heikko Her2-värjäytyminen (intensiteetti = 1) liittyy pienempään määrään vähän ALDH1-värjäytyneitä soluja. Her2 korreloi kääntäen vahvaan ALDH1-värjäykseen eli se on korkea, kun ALDH1 on matala (korrelaatio -0.425; p= 0.00994) (taulukko 3). Vastaavasti, kun Her2 on korkea, niin näytteissä on paljon niin sanottuja ALDH1/heikko-soluja (0.427; p=0.00975). ALDH1:n ja Her2 merkityksestä ennusteeseen selvennetään kuvassa 8.

			ALDH1/vahva	ALDH1/ heikko + negat
Her2	Korrelaatiokerroin	-0,0761	-0,425	0,427
	P-arvo	0,643	0,00994	0,00975
	Näytteiden määrä	39	36	36

Taulukko 3. Her2 :n ja ALDH1 :n yhteys



Kuva 8. Kaavio ALH1 :n ja Her2 :n vaikutuksesta ennusteeseen

8. Pohdinta

Munasarjasyövän Käypä hoito -suosituksen mukaan suurin munasarjasyövän ilmaantuvuus on 60–64-vuotiailla ja aineiston potilaiden keski-ikä diagnoosihetkellä oli 62 vuotta. Seroosin high grade -syövän esiintyvyys on suurimmillaan 45–65-vuotiailla (Serov ym. 1973).

Aineistossamme keski-ikä oli 63 vuotta. Seroosiin low grade -syöpään sairastuneiden keski-ikä oli saman edellä mainitun tutkimuksen mukaan 43 vuotta ja aineistossamme se oli 55 vuotta. Köbel ym. (2010) tutkimuksen mukaan levinneistä taudeista serooseja low grade -syöpiä on 5 % ja serooseja high grade -syöpiä vastaavasti 87 %. Aineistossamme luvut munasarjasyöpöpotilailla olivat 5,7 % ja 79,2 %. Eri kirjallisuus lähteiden mukaan epiteliaalisista munasarjasyövistä serooseja on noin 75 %, musinooseja 3 %, endometroideja 10 %, kirkassoluisia 10 % ja serooseista syöväistä 90 % on high grade-syöpiä, ja aineistossamme vastaavat prosentit olivat 66,9 %, 15,1 %, 9,2 %, 8,8 % ja 89,4 %. Munasarjasyöpä on uskottua useammin lähtöisin monesta eri anatomisesta paikasta esimerkiksi peritoneumilta ja munatorvesta ja aineistossa munatorvi- tai peritoneumsyöväksi osoittautui 18,4 % syöväistä. Tutkittu aineisto on potilasmäärältään (n=310) merkittävä ja muiden isojen tutkimusten kaltainen, ja tehdyt tilastot vastaavat hyvin muiden tutkimusten tulosten kanssa.

Immunohistokemiallisissa värjäyksissä p53 värjäytyi voimakkaimmin high grade -seroosissa munasarjasyövässä ja lyhyen residii-ajan näytteissä niin kuin muissakin tekstimme tutkimuksissa on osoitettu. Tässä aineistossa OS kuitenkin nousee, kun p53-värjäyksen intensiteetti kasvaa ($p=0,00373$), mutta mitä luultavimmin tulos olisi sopuissa muiden tutkimusten kanssa, jos potilasaineistomme olisi ollut suurempi. Chang ym. (2009) tutkimuksen mukaan suuri ALDH1-värjäytyvyys viittaa varhaiseen tautiin, hyvään kemoterapiavasteeseen, pidempään selviytymisaikaan ja taudilta vapaaseen aikaan hoitojen jälkeen. Tutkimuksessamme ALDH1-värjäytyminen jaettiin heikkoon ja vahvaan, mutta vahvalla värjäytymillä ei todettu olevan korrelaatioita eri tekijöiden kanssa. Kuitenkin potilailla, joiden näytteissä oli paljon ALDH1 :n heikkoa värjäytymistä tai vähän kokonaan negatiivisia soluja, oli lyhyt OS, joka sopisi yhteen Chang ym. tutkimustuloksen kanssa. EGRF:stä on ristiriitaisia tutkimustuloksia siitä, että korreloiko sen esiintyminen esimerkiksi varhaiseen taudin relapsoitumiseen, mutta meidän tutkimuksessamme lyhyt PFS ja OS korreloi suureen EGFR-intensiteettiin ($p=0.016$ ja $p=0.0353$). Mielenkiintoinen tutkimustulos oli, että Her2 :n värjäytymisintensiteetti korreloi kääntäen vahvaan ALDH1-värjäykseen eli se on korkea, kun ALDH1 on matala. Her2-värjäytyminen liittyy myös siis pienempään määrään värjäytyneitä ALDH1-soluja ja on korkea, kun näytteissä on paljon niin sanottuja ALDH1/heikko-soluja. Tällaista tutkimustulosta ei ole aiemmin mainitsemisissä tutkimuksissa osoitettu. Tutkimustuloksen merkitystä rajoittaa potilasnäytteiden pieni määrä ja se, että ALDH1 :n värjäyksen tulkitsemiseen ei ole vielä sovittu yhtenäistä vakiintunutta tapaa.

Munasarjasyöpä on histologialtaan ja morfologialtaan hyvin heterogeeninen sairaus. Jo kauan tunnettu tauti on edelleen haaste nykylääketieteelle sen hankalan ennustettavuuden ja hoidettavuuden vuoksi; hoitotuloksiin ei ole juurikaan tullut muutoksia viimeisten vuosikymmenten aikana. Syövän jakaminen histologialtaan eri alatyyppeihin on tärkeää, jotta voisimme paremmin tutkia eri tavalla käyttäytyviä tauteja ja yrittää löytää ja hoitaa ne ennen kuin hoidot ovat myöhässä. Merkkiainetutkimuksia on tällä hetkellä runsaasti käynnissä ja juuri näiden tutkimusten avulla joskus toivottavasti osaamme paremmin ennustaa syöpien kulkua ja olla näin askeleen syöpää edellä. Tutkimusten avulla pyritäänkin personalisoihiin hoitoihin, joiden tarkoituksena on löytää ne potilaat, jotka hyötyisivät täsmähoidoista. Tällä hetkellä munasarjasyövän hoito määräytyy FIGO-luokituksen mukaisesti, tulevaisuudessa pyritään siihen, että syövän tyyppi merkitsisi enemmän.

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck –järjestelmällä.

LÄHTEET

- Bell DA, Scully RE. Early de novo ovarian carcinoma. A study of fourteen cases. *Cancer* 1994; 73:1859-1864
- Brandt RM, Eisenbrandt R., Leenders F. ym. Mammary gland specific hEGF receptor transgene expression induces neoplasia and inhibits differentiation. *Oncogene* 2000; 19:2129-213
- Bütsow R. Onko munasarjalähtöistä karsinoomaa olemassakaan? *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* 2014;130(1):29-37
- Chang B, Liu GZ, Xue FX. ym. ALDH1 expression correlates with favorable prognosis in ovarian cancer. *Moder Pathology* 2009;22: 817-823
- Garcia AA, Sill MW, Lankes HA ym. A phase II evaluation of labatanib in the treatment of persistent or recurrent epithelial ovarian or primary peritoneal carcinoma: A gynecologic oncology group study. *Gynecologic oncology* 2012; 124: 569-574
- Gershenson DM, Sun CC, Lu KH ym. Clinical behavior of stage II-IV low-grade serous carcinoma of the ovary. *Obstet Gynecol* 2006; 108:361–368
- Guth U, Huang DJ, Bauer G ym. Metastatic patterns at autopsy in patients with ovarian carcinoma. *Cancer* 2007;110(6):1272-80
- Mayer D, Hirschmann A, Lohrs U, Diebold J. KRAS and BRAF mutations in ovarion tumors: A comprehensive study of invasive carsinomas, borderline tumros and extraovarian implants. *Gynecol Oncol.* 2006; 103(3): 883-7
- Molecular biology of the cell.* 5th edition 2008: 1246-1247
- Jemal A, Siegel R, Ward E ym. Cancer statistic, 2007, CA, *Cancer J. Clin* 2007;57:43-66.
- Kindelberger DW, Lee Y, Miron A ym. Intraepithelial carcinoma of the fimbria and pelvic serous carcinoma: evidence for a causal relationship. *Am J Surg Pathol* 2007; 31:161-9
- Kurman R.J., Shih IeM. Pathogenesis of ovarian cancer. Lessons from morphology and molecular biology and their clinical implication. *Int J Gynecol Pathol.* 2008;27(2):151-160.
- Kurman, R.J. & Shih IeM. The origin and the pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am. J. Surg. Pathol.* 2010;34:433-443
- Kurman R.J., Shih IeM. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer – Shifting the paradigm. *Human pathology* 2011; 42:918-931
- Kurman RJ. Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma. *Ann Oncol.* 2013 Dec;24 Suppl 10:x16-21. doi: 10.1093/annonc/mdt463

Kuroda T, Hirohashi Y, Torigoe T ym. High ovarian cancer stem-like cells can be isolated from serous and clear cell adenocarcinoma cells, and ALDH1 high expression is associated with poor prognosis. *Mod Pathol*, 2009;817-823

Köbel M, Kalloger SE, Huntsman DG ym. Differences in tumor type in low-stage versus high-stage ovarian carcinomas. *Int J Gynecologic pathology* 2010; 29:203-11

Köbel M, Bak J, Bertelsen B ym. Ovarian carcinoma histotype determination is highly reproducible, and is improved through the use of immunohistochemistry. *Histopathology*. 2013. DOI: 10.1111/his.12349

Leminen A., Loukovaara M., Naistentaudit ja synnytykset 2011, *Duodecim*:240-250

Munasarjasyöpä, Käypä hoito, 26.4.2012, www.kaypahoito.fi

Normanno N, Bianco C, Strizzi L. ym. The ErbB receptors and their ligands in cancer: an overview. *Curr. Drug targets*. 2005;6:243–257

Normanno N, De Luca A, Bianco C ym. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene* 2006;366:2-16

Olayioye MA, Beuvink I, Horsch K. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J*. 2000; 19: 3159-3167

Olsen CM, Green AC, Whiteman DC ym. Obesity and the risk of epithelial ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2007;43:690-709

Paley PJ, Swisher EM, Garcia RL ym. Occult cancer of the fallopian tube in BRCA-1 germline mutation carriers at prophylactic oophorectomy: a case for recommending hysterectomy at surgical prophylaxis. *Gynecol Oncol* 2001; 80:176-80

Parker RT, Curie JL ym. *Gynecologic Oncology*, 2nd edition. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1992: 987-1000

Piek JM, van Diest PJ, Zweemer RP ym. Dysplastic changes in prophylactically removed Fallopian tubes of women predisposed to developing ovarian cancer. *J Pathol* 2001; 195:451-6

Piek JM, van Diest PJ, Zweemer RP ym. Tubal ligation and risk of ovarian cancer. *Lancet* 2001;358:844

Pisanol C., Gregg S., Tambaro R. ym. Activity of Chemotherapy in Mucinous Epithelial Ovarian Cancer: A Retrospective Study. *Anticancer research* 25: 3501-3506 (2005)

Robbins Basic Pathology, 8th edition, Montag A, Kumar V. s. 728-732

Seidman JD, Yemelyanova A, Zaino RJ, Kurman RJ. The fallopian tube–peritoneal junction: a potential site of carcinogenesis. *Int J Gynecol Pathol* 2010;30:4-11

Senturk E, Cohen S, Dottino PR, Martignetti JA. A critical re-appraisal of BRCA1 methylation studies in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2010;119:376-83

Serov SF, Scully RE, Sobin LH. International Histological Classification of Tumours no. 9. Histological typing of ovarian tumours. Geneva: World Health Organization; 1973

Shah MM, Landen CN. Ovarian cancer stem cells: Are they real and why are they important? *Gynecol oncol* 2014; 483-489

Shih I-M, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis- a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol* 2004;164:1511–1518

Singer G, Stohr R, Cope L ym. Patterns of p53 Mutations Separate Ovarian Serous Borderline Tumors and Low- and High-grade Carcinomas and Provide Support for a New Model of Ovarian Carcinogenesis: A Mutational Analysis With Immunohistochemical Correlation. *Am J Surg Pathol* 2005; 29:218–224.

Vauhgan S., Coward JI, Bast Jr RC ym. Rethinking ovarian cancer: recommendations for improving outcomes. *Nature* 2011;11:719–725

Yamaguchi K, Huang Z., Matsumura N. Epigenetic determinants of ovarian clear cell carcinoma biology. *International Journal of cancer*. 2013(Dec 31) doi: 10.1002/ijc.28701

Yarden Y, Sliwkowski m.X. Untangling the erbB signalling network. *Nat.Rev.Mol.Cell.Biol*;2:127–137.

Zeppernick Y, Meinhold-Heerlein I. The new FIGO staging system for ovarian, fallopian tube and primary peritoneal cancer. *Arch Gynecol Obstet* DOI 10.1007/s00404-014-3364-8

www.cancer.fi, Tilastot, Syöpärekisteri