

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ
ANABİLİM DALI

SERVİKS KARSİNOMUNDA PROGNOZU VE
TEDAVİYE YANITI ETKİLEYEN BAZI
PROGNOSTİK FAKTÖRLERİN ARAŞTIRILMASI

YASEMEN ADALI

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2013

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ
ANABİLİM DALI

SERVİKS KARSİNOMUNDA PROGNOZU VE
TEDAVİYE YANITI ETKİLEYEN BAZI
PROGNOSTİK FAKTÖRLERİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

YASEMEN ADALI

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. MERAL KOYUNCUOĞLU

Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı tarafından desteklenmiştir.
Proje no: 2012. KB. SAG. 001

İÇİNDEKİLER

Tablo Listesi	I
Şekil ve Grafik Listesi	II
Resim Listesi	II
Kısaltmalar	III
Teşekkür	VI
Özet	1
İngilizce Özet	3
1. Giriş ve Amaç	5
2. Genel Bilgiler	7
2.1. Serviks Karsinomu:	7
2.1.1 Skuamöz hücreli karsinom	10
2.1.2 Adenokarsinom	14
2.1.3 Diğer epitelyal tümörler	16
2.2. İmmunhistokimyasal çalışma	17
2.2.1 GLUT-1	17
2.2.2 Maspın	18
2.3. Moleküler çalışma	18
2.3.1 Gen polimorfizmi	18
2.3.2 Myeloperoksidaz	19
2.3.3. Polimeraz zincir reaksiyonu	19
2.3.4. Restriksiyon uzunluk fragman polimorfizmi/ Restriksiyon enzimleri	20
2.3.5. Myeloperoksidaz gen polimorfizmi	21
3. Gereç ve Yöntem	22
3.1 Genel bilgiler	22
3.2 İmmunhistokimyasal inceleme	22
3.3 DNA izolasyonu ve PCR	25
3.4 İstatistiksel değerlendirme	26
4. Bulgular	27
4.1 Patolojik ve klinik bulgular	27
4.2 İmmunohistokimyasal bulgular	33
4.3 PCR bulguları	38
5. Tartışma	41
5.1 GLUT-1	41
5.2 Maspın	44
5.3 MPO	47
6. Sonuçlar	49
7. Kaynaklar	50

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: DSÖ Uterin serviks invaziv karsinomları histolojik klasifikasyonu

Tablo 2:FIGO Uterin serviks invaziv karsinom evrelemesi (2009 modifikasyonu)

Tablo 3: Materyal türleri ve sayıları

Tablo 4: Tümör tipleri ve sıklıkları

Tablo 5: Tümör tiplerinin gruplanmış tablosu

Tablo 6: Olguların FIGO Evreleme sistemine göre tümör evresi

Tablo 7: Toplam 114 olguda klinik davranışı gösteren tablo

Tablo 8: Olguların tedavi türleri

Tablo 9: Patolojik parametrelerin tutulumunu (EM, over, PM) gösteren tablo

Tablo 10: Patolojik parametreler II (LD -radyolojik/patolojik=P/R , batin yıkama sıvısı, vajen-P/R) tutulumunu gösteren tablo

Tablo 11: Cerrahi sınır durumunu gösteren tablo

Tablo 12: Evre- ölüm ilişkisini gösteren tablo

Tablo 13: Evre- lokal nüks ve geç metastaz ilişkisini gösteren tablo

Tablo 14: Tümör tipi- LD ilişkisini gösteren tablo

Tablo 15: MPO genotip olgu sayısı ve yüzdeleri

ŞEKİL VE GRAFİK LİSTESİ

Şekil 1: PCR ile DNA çoğaltılması

Şekil 2 : PCR-RFLP' nin şematik gösterimi

Grafik 1: Sağ kalım eğrisi

Grafik 2: GLUT-1 ekspresyonu ile sağ kalım ilişkisini gösteren eğri

Grafik 3: Maspın ekspresyonu ile sağ kalım ilişkisini gösteren eğri

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Hazırlanan TMA blok ve bu bloklardan alınan H&E boyalı kesit örneği

Resim 2: Tümörlü bir alanın 4x, 10x ve 40x büyütmelemlerindeki görüntüsü

Resim 3: Tümörlü bir alanın 20x büyütmede H&E, GLUT-1 ve maspin boyalı görüntüsü

Resim 4: A)GLUT-1 pozitifliği gösteren tümör ve negatif olan stromal alanların görüntüsü, B) Negatif kabul edilen zayıf GLUT-1 pozitifliği alanı, C-D) Pozitif kabul edilen GLUT-1 boyanma alanları

Resim 5: A)Maspın pozitifliği gösteren tümör ve negatif olan stromal alanların görüntüsü, B) Negatif kabul edilen zayıf maspın pozitifliği alanı, C-D) Pozitif kabul edilen maspın boyanma alanları

Resim 6: Etidyum bromid ile boyanmış MPO -463 promotör polimorfizmine ait (Acil enzim kesimi) DNA fragmentlerinin analizine ait kontrol grubuna örnek resim

Resim 7: Etidyum bromid ile boyanmış MPO -463 promotör polimorfizmine ait (Acil enzim kesimi) DNA fragmentlerinin analizine ait hasta grubuna örnek resim

KISALTMALAR

AG	Adenin / Guanin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ABK	Adenoid Bazaloid Karsinom
ADK	Az Diferansiye Karsinom
AIS	Adenokarsinoma in-situ
AK	Adenokarsinom
AKK	Adenoid Kistik Karsinom
ASK	Adenoskuamöz Karsinom
BHK	Büyük Hücreli Keratinizan
BHNK	Büyük Hücreli Non-Keratinizan
CD	Cluster of Diferantation
CIN	Servikal intraepitelyal Neoplazi
Cox2	Siklooksigenaz 2
c-myc	Bir hücre döngüsü kontrol faktörü
CS	Cerrahi Sınır
DAB	Diaminobenzidin
D2-40	Lenfangiotik bir belirleyici
DEÜTF	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü

EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
EM	Endometrium
FIGO	Jinekoloji ve Obstetri Federasyonu
GG	Guanin / Guanin
GLUT-1	Glukoz Taşıyıcısı 1
H&E	Hematoksilen & Eozin
HPV	Human Papilloma Virüs
İHK	İmmunhistokimya
Ki-67	Hücre proliferasyonu ilişkili bir protein
KHNK	Küçük Hücreli Non-Keratinizan
KHK	Küçük Hücreli Karsinom
LD	Lenf Düğümü
LVI	Lenfovasküler İnvazyon
MEK	Mukoepidermoid Karsinom
MIKA	Mikro-invaziv Karsinom
MPO	Myeloperoksidaz
NEK	Nöroendokrin Karsinom
PM	Parametrium
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RLFP	Restriksiyon Uzunluk Fragman Polimorfizmi
SHK	Skuamöz Hücreli Karsinom

SK	Serviks Kanseri
SIL	Skvamöz İnterepiteliyal Lezyon
TMA	Doku Mikrodizini (“Tissue Microarray”)

TEŐEKKÖR

Emeđi geçen herkese teŐekkÖr ediyorum...

Yasemen ADALI

İzmir, 2013

ÖZET

SERVİKS KARSİNOMUNDA PROGNOZU VE TEDAVİYE YANITI ETKİLEYEN BAZI PROGNOSTİK FAKTÖRLERİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Yasemen ADALI

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

yasemenadali@hotmail.com

Amaç: Serviks kanseri (SK) yıllık yaklaşık 750.000 yeni vaka ile dünya çapında en sık görülen jinekolojik malignitedir. Çalışmamız SK'nın histopatolojik ve klinik özelliklerini ortaya koymanın yanısıra; bu olgularda immunhistokimyasal olarak glukoz taşıyıcı 1 (GLUT-1) ve maspin ekspresyonlarının ve myeloperoksidaz (MPO) gen polimorfizminin klinikopatolojik parametreler ile ilişkisinin araştırılması ve bu ilişkinin prognoz ve sağkalıma etkili olup olmadığını göstermeyi amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntem: 1992- 2012 yılları arasında "Serviks Karsinomu" tanısı olan 114 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Olgulara ait tümörü içeren bloklardan hazırlanan 10 mikron kalınlığındaki kesitler steril ve DNA-RNA free ependorf tüplerine alınmıştır ve bu kesitlerden PCR-RFLP ile MPO gen polimorfizmi çalışılmıştır. Aynı bloklardan quick ray sistemi kullanılarak çapı 5 mm olan ve 20 adet doku koru mikroarray kalıplarına yerleştirilmiştir. Daha sonra bu kalıplar bloklanmış ve elde edilen bloklardan yapılan 4 mikron kalınlıktaki kesitlere GLUT-1 ve Maspin immunhistokimyasaları uygulanmıştır. Bulguların , klinikopatolojik prognostik parametreler ile lokal nüks, uzak metastaz, sağkalım ile ilişkisi araştırılmıştır.

Bulgular: GLUT-1 ve Maspin ekspresyonları ile tümör tipi, lenf nodu ve lenfovasküler invazyon (LVI) durumu gibi patolojik ve lokal nüks, metastaz arasında istatistiksel anlamlılık

bulunmamıştır. Ancak maspin ekspresyonu ile evre arasında ilişki saptanmıştır ($p=0.048$). MPO genotip analizi sonuçları ile de tümör tipi, lenf nodu ve lenfovasküler invazyon (LVI) durumu, cerrahi sınır (CS), parametrium (PM), sıvı, vajen tutulumu, lokal nüks, metastaz arasında ilişki saptanmamıştır. Yalnızca endometrium (EM) tutulumu ile AG ve GG genotipleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmiştir ($p=0.015$).

Sonuç: Çalışmamızda Maspin ekspresyonu ve evre arasında anlamlı ilişki saptadık. Ancak aynı ilişkiyi GLUT-1 ekspresyonu ile saptamadık. Ayrıca literatürde prognozu etkilediği belirtilen evre, tümör tipi, lenf düğümü durumu, LVI, PM durumu ve hastaların sağkalımı ile de GLUT-1 ve maspin ekspresyonunun anlamlı ilişkisi olmadığını bulduk. Benzer şekilde MPO gen polimorfizminin de prognoz için anlamlı bir belirteç olmadığını saptadık.

Anahtar Sözcükler: Serviks karsinomu, GLUT-1, Maspin, MPO gen polimorfizmi

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF THE PROGNOSTIC FACTORS THAT AFFECT PROGNOSIS AND RESPONSE TO TREATMENT IN CERVICAL CARCINOMA

Yasemen ADALI, MD

Dokuz Eylul University School of Medicine Department of Pathology

yasemenadali@hotmail.com

Aim: Cervical cancer is the the most common gynecologic malignancy worldwide with approximately 750,000 new cases of annually. The aim of this study was to pose the histopathologic and clinical features of cervical carcinoma, as well as, the immunohistochemical expression of glucose transporter 1 (GLUT-1) and Maspin, myeloperoxidase (MPO) gene polymorphisms and their association with clinicopathological parameters in these cases and whether this relationship is effective with prognosis and survival.

Methods: 114 patients were included in this study with the diagnosis of cervix carcinoma between 1992-2012. 10 micron thick sections were prepared from the blocs of the cases which demonstrates tumor and put into DNA-RNA free sterile eppendorf tubes and sections were studied PCR-RFLP for MPO gene polymorphism. Tissue cores of 5 mm has taken by using the same blocks with Quick ray system and placed in the patterns of tissue microarrays containing 20 pieces cor. Then these patterns are blocked and 4 micron thick sections were taken and immunstained with GLUT-1 and Maspin. The relationship is investigated between findings and clinicopathological prognostic factors, local recurrence,

distant metastasis and survival.

Results: Tumor type, lymph node invasion, and lymphovascular invasion (LVI) and clinic parameters like recurrence and metastasis have not show statistically significant difference with the presence of GLUT-1 and Maspin immunoreactivity. However, the relationship between mapin expression and stage show statistically significant difference ($p = 0.048$). The results of MPO genotype found no correlation between tumor type, lymph node invasion, lymphovascular invasion (LVI) and involvement of surgical margin, parametrium, vagen, abdominal fluid and recurrence, metastasis with the analysis. Only the involvement of the endometrium showed statistically significant difference between the AG and GG genotypes ($p=0.015$).

Conclusion: In our study we observed that the presence of maspin expression and stage have shown statistically significant difference but we could not detect the same difference between GLUT-1 presence and stage. Also we did not find any correlation between GLUT-1 and maspin expression with the factors which are mentioned in the literature that affect prognosis and survival like stage, tumor type, lymph node status, LVI, involvement of parametrium. Furthermore we found that MPO gene polymorphism is not a significant marker for prognosis.

Key Words: Carcinoma of the cervix, GLUT-1, MASPIN, MPO gene polymorphism

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Serviks kanseri (SK) çoğunlukla az gelişmiş ülkelerde ortaya çıkan yıllık yaklaşık 750.000 yeni vaka ile dünya çapında en sık görülen jinekolojik malignitedir (1-4). 1940' lardan beri Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) rutin tarama programları ile SK' dan ölüm oranı azalmıştır. 2000 yılında tahmini 12.800 yeni olgu ve 4600 ölüm birlikte SK ABD' de üçüncü en sık görülen jinekolojik malignite olmaya devam etmektedir ve ileri evre hastalığı olan kadınların büyük bir yüzdesi hala lokal nüks ve metastatik hastalıktan ölmeye devam etmektedir (3-5). SK' nın %75- 85' ini skuamöz hücreli karsinom (SHK) oluştururken geriye kalan yüzdeyi sırasıyla adenokarsinomlar (AK) ve subtipleri, diğer epiteliyal tümörler ve son olarak mezenkimal tümörler oluşturmaktadır (6).

Türkiye' de ise serviks kanserleri, kanser nedenli ölümler arasında 13. sıradadır. Kadınlarda 9. en sık görülen kanser türüdür. Dünya Sağlık Örgütü' nün (DSÖ) kanser verileri ve araştırmaları kurumu GLOBOCAN' ın veritabanına göre Türkiye' de her yıl serviks kanseri tanısı alan 1.364 hastanın % 50' den fazlası bu hastalıktan ölmektedir (7) . 2002 Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı verilerine göre ise SK' nın 2002 yılında kadınlar arasında yeni tanı alan tüm kanser vakalarının % 3.13' ünü teşkil ettiği saptanmıştır.

Kompleks bir tedavi protokolüne rağmen %40 oranında relaps görülen invaziv SK' lı olgularda radyoterapinin (RT) özellikle ileri evrelerde önemli olması nedeni ile, sağ kalımı belirleyecek en önemli etkenlerden biri RT' ye yanıttır. Yapılan çalışmalarda çok sayıda genetik ve epigenetik değişikliğin RT rezistansına neden olabileceği bulunmuştur. Ayrıca çok sayıda iyi bilinen prognostik faktör olmasına rağmen (klinik evre, lenf nodu metastazı, tümör boyutu ve invazyon derinliği) relaps riskini azaltmak, hastalara yaklaşımı ve tedavi protokollerini belirlemek için daha iyi prognostik belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle servikal kanserlilerde hipoksi ve anjiogenez, genetik ampfilikasyonlar, immunité ve tedaviye yanıt ile ilişkili prognostik faktörlere yönelik literatürde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların bir kısmı prognoz ile ilişkili bulunurken bir kısmında ise daha geniş serilere ihtiyaç vardır.

Çeşitli tümörlerde çalışılan belirteçlerden biri hipoksi ile ilişkisi bildirilen glukoz taşıyıcısı- 1 (GLUT-1)' dir. Fizyolojik koşullar altında GLUT-1 eritrositlerde ve kan-beyin ya da kan sinir bariyerlerinde kuvvetli ekspresyon göstermektedir (8-10). GLUT-1 aşırı ekspresyonu

çok çeşitli solid tümörlerde bulunmaktadır (8) ve SK da bu tümörlerden biridir (11). GLUT-1 aşırı ekspresyonu solid tümörlerde bulunan artmış glikoz fenomenine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır ve bu da tanısallama amaçları için yararlanılabilir bir özelliktir (12-13). Çalışmalara göre mide (14), kolorektal (15), akciğer (16), beyin (17-18), baş ve boyun (19), ve pankreas (20) kanserleri gibi çeşitli tümörlerde artmış GLUT-1 mRNA varlığını göstermektedir. Az sayıda çalışmanın olduğu serviks karsinomunda ise daha çok ve geniş serili çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Diğer bir belirteç ise Maspın olarak adlandırılan bir proteaz inhibitörü olup tip II tümör baskılayıcı gen olarak tanımlanmıştır (21-24). Maspın aberran gen ekspresyonu tiroid, meme, prostat karsinomu gibi bir çok tümörde bildirilmiştir (25-27). Prognoza etkilerine dair çeşitli yayınlar bulunmaktadır (28-34). Ancak literatürde servikal kanserlilerde maspin ekspresyonunun prognoz ilişkisine dair yayınlanmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Son yıllarda moleküler tekniklerin ilerlemesi ile gen polimorfizmleri de neoplastik süreçlerde araştırılan bir başka alan olarak dikkati çekmektedir. İnflamatuar süreçlerde önemli bir yer tutan myeloperoksidaz (MPO) enzimi için olan gen polimorfizmi de bu antitelerden biridir (35-40). MPO demir içeren bir enzimdir. Monositlerin lizozomunda ve nötrofillerin granüllerinde bulunur. MPO, nötrofil tarafından üretilen hidrojen peroksidi (H₂O₂) kullanır ve hipoklorik asit (HOCl) ve diğer oksidanları üretir (41,42). MPO, ekspresyonu myeloid hücreler tarafından sınırlanan 17. kromozomun uzun koluna 14 kb uzaklıkta olan tek bir gen tarafından kodlanır (43). Çeşitli çalışmalarda farklı alelleri çalışılan MPO' nun bazı yayınlarda displazi ve karsinom gelişimi ile ilişkisi saptanmazken bazı yayınlarda karsinom için koruyucu olduğu bildirilmektedir (38-40). SK'lı olguların periferik kan nötrofillerinde MPO aktivitesi gözlenmemiştir ya da düşük gözlenmiştir. Bu da azalmış anti-tümör aktivitesinin SK gelişmesinde rolü olabileceğini düşündürmektedir (44). Ancak literatürde SK prognozuna etkili faktörler ve gen polimorfizmi ile ilgili yapılan bir çalışma bulunmamaktadır.

Literatürdeki bu bilgilerin ışığında, bu çalışma; serviks karsinomunda histopatolojik ve klinik özelliklerini ortaya koymanın yanısıra; bu olgularda immunhistokimyasal olarak GLUT-1 ve maspin ekspresyonlarının ve MPO gen polimorfizminin klinikopatolojik parametreler ile ilişkisinin araştırılması ve bu ilişkinin prognoz ve sağkalıma etkili olup olmadığını göstermeyi amaçlamaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SERVİKS KARSİNOMU

DSÖ serviksin invaziv karsinomlarını skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve diğer epiteliyal tümörler olmak üzere 3 genel kategoriye ayırmaktadır (Tablo 1) (45). Bu farklı tümör tiplerinin rölatif frekansı çalışmalar arasında değişiklik gösterir. Genel olarak SHK invaziv karsinomlar arasında en sık görülen subtip olup tüm karsinomlar arasındaki oranı %70-80' dir. Adenokarsinom (AK) ve adenoskuamöz karsinom (ASK) %10-15' i oluştururken geri kalan invaziv karsinomlar %10-15 'i oluşturur (45,46).

Servikal kanserlerde en yaygın kabul edilen evreleme sistemi 4 basamaklı bir sistem olan FIGO (Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu) evreleme sistemidir (47) (Tablo 2). SK evrelemesi cerrahiden çok klinik inceleme tabanlı bir evrelemedir. Evre 1 tümörler servikse sınırlı tüm tümörleri içermektedir ve 2 alt gruba bölünmektedir. Bu alt grupların birincisini stromaya 5 mm veya altında invazyon gösteren ve makroskopik olarak görülmeyen tümörlerdir. İkinci alt grup stromaya 5 mm üzerinde invazyon gösteren veya makroskopik olarak görülen tümörlerdir. Evre 2 tümörler serviksin ötesine uzanım gösterirken pelvik duvara uzanmazlar ve vajenin alt 1/3 ünü invaze etmezler. Evre 3 tümörler pelvik duvara doğru uzanır ve hidronefroza sebep olur ya da vajen alt 1/3 ü invaze ederler. Son olarak evre 4 tümörler gerçek pelvise doğru uzanır veya klinik olarak mesane ya da rektum mukozası tutulumu yaparlar.

1847'de Mestwertert tarafından prognostik olarak değerli olan mikroinvaziv karsinom (MIKA) tanımlanmıştır. MIKA prelinik evre olarak spektrumda skuamöz intraepitelial lezyonlar (SIL) ile invaziv karsinom arasında yer alır. Disemine serviks karsinomundan ölen birçok olguda ya lenfatik yayılım ya 5 mm üzerinde stroma invazyonu ya da 2.5 cm³ üzerinde tümör hacmi vardır. Bu yüzden 5 mm altında stromal invazyon olan tümörler horizontal olarak 7 mm' yi geçmiyor ise evre 1a olarak değerlendirilirler (Tablo 2). MIKA olgularının çoğunluğu 35-46 yaş arasında olup tüm SK' nın %20' sini oluşturmaktadır (48,45). Birleşik Krallık Ulusal Sağlık Servisi (NHS) serviks kanseri tarama programında 1991-1993 yılları arasında kadın

popülasyonunda MIKA insidansı 100000^e de 3.8 olarak belirlenmiştir (45).

<p>SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM (SHK)</p> <ul style="list-style-type: none">-Mikroinvaziv (erken invaziv) SHK-İnvaziv SHK<ul style="list-style-type: none">KeratinizanNonkeratinizanBazaloidVerrüközWartyPapillerSkuamotransizyonelLenfoepitelyoma benzeri karsinom
<p>ADENOKARSİNOM (AK)</p> <ul style="list-style-type: none">-Usual tip AK-Müsinöz AK<ul style="list-style-type: none">Endoservikal tipİntestinal tipTaşlı yüzük hücreli tip-Minimal deviasyon AK-Villoglandüler AK-Endometrioid AK-Berrak hücreli AK-Seröz AK-Mezonefrik AK
<p>DİĞER EPİTELYAL TÜMÖRLER</p> <ul style="list-style-type: none">-Adenoskuamöz Karsinom<ul style="list-style-type: none">Glassy hücreli varyant-Adenoid Kistik Karsinom-Adenoid Bazal Karsinom-Nöroendokrin tümörler<ul style="list-style-type: none">KarsinoidAtipik karsinoidKüçük hücreli karsinomBüyük hücreli nöroendokrin karsinom-Andiferansiye karsinom

Tablo 1: Modifiye DSÖ Uterin serviks invaziv karsinomları histolojik klasifikasyonu (45)

Histopatolojik olarak MIKA malign hücrelerden oluşan bir ya da daha fazla dil şeklindeki uzantının, skuamöz epitelin bazal membranını penetre etmesidir. Mikroinvazyon odağında SIL hücreleri ile kıyaslandığında hücreler bol eozinofilik sitoplazmalı ve belirgin nükleollüdür. SIL ile ayırımında tanıya yardımcı olacak bir özellik MIKA’ da neoplastik hücrelerin oluşturduğu epiteli saran belirgin enflamatuvar infiltrat olmasıdır (45).

Evre	Tanım
I	Tümör servikse sınırlı
IA	Stromaya 5 mm veya altında invazyon gösteren ve makroskopik olarak görülmeyen tümörler
IA1	Tümör 3 mm altında stromal invazyon gösteriyor ve horizontal olarak 7 mm’ yi geçmiyor
IA2	Tümör 3-5 mm arasında stromal invazyon gösteriyor ve horizontal olarak 7 mm’ yi geçmiyor
IB	Tümör stromaya 5 mm üzerinde invazyon gösteriyor veya makroskopik olarak görülebiliyor
IB1	Klinik görülebilen tümör çapı 4 cm ve altında
IB2	Klinik görülebilen tümör çapı 4 cm ve üzerinde
II	Tümörler uterusun ötesine uzanım gösterirken pelvik duvara uzanmazlar ve vajenin alt 1/3 ünü invaze etmezler
IIA	Parametrial invazyon göstermeyen tümör
IIA1	Klinik görülebilen tümör çapı 4 cm ve altında
IIA2	Klinik görülebilen tümör çapı 4 cm ve üzerinde
IIB	Parametrial invazyon gösteren tümör
III	Tümör pelvik duvara doğru uzanır ve/ veya vajen alt 1/3 ü invaze ederler ve/veya hidronefroza ya da nonfonksiyone böbreğe sebep olur
IIIA	Tümör vajen alt 1/3 ü invaze eder ancak pelvik duvara uzanmaz
IIIB	Tümör pelvik duvara doğru uzanır ve/veya hidronefroza ya da nonfonksiyone böbreğe sebep olur
IV	Tümörler gerçek pelvise doğru uzanır veya klinik olarak mesane ya da rektum mukozası tutulumu yaparlar.
IVA	Tümör çevre organlara doğru yayılmış
IVB	Tümör uzak organ metastazı yapmış

Tablo 2: FIGO Uterin serviks invaziv karsinom evrelemesi (2009 modifikasyonu) (45)

2.1.1. SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM

Servikte en yüksek oranda görülen tümör olan invaziv SHK, dünya çapında insidans olarak meme kanserinin ardından 2. sıradadır. Kanser kökenli ölümlerin arasında akciğer ve meme kanserlerinden sonra 3. sıradadır (48). 2008’ de 11270 yeni olgu varken SK’ ye bağlı ölüm sayısı 4070 olarak bildirilmiştir (45). Tanı ve tedavideki avantajlardan bağımsız olarak SK dünya çapında belirgin bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. SK’ nın insidansının en fazla olduğu bölgeler sırasıyla Güney Afrika, Orta ve Güney Amerika ile Güney ve Orta Asya’ dır. İnsidans hızının en yüksek olduğu yer Doğu Afrika olup yaşa bağlı standardize hız 42.7 olarak belirtilmektedir. En düşük insidans hızı ise Çin ve Batı Asya olup yaşa bağlı standardize hız sırasıyla 6.8 ve 5.8 olarak bildirilmiştir (45).

İnvaziv servikal karsinom olgularının çoğu 40’ lı ya da 50’ li yaşların ortalarında tanı almakla birlikte 17 ile 90 arasında herhangi bir yaşta görülebilir (45). Son yıllarda 35 yaş altı ortaya çıkan SK’ larda tanı oranı artmıştır. Bu oranın artışı ve invaziv SK’ nin mortalitesini ve morbiditesini azaltmakta sitolojik inceleme majör rolü oynar. Amerikan Kanser Topluluğu’ na göre 1961’ de ABD’ de kadınlarının yalnızca % 30’ u Papanikolaou (PAP) smear yaptırırken bu sayı 1987’ de %87’ ye çıkmıştır.

Moleküler, klinik ve epidemiyolojik çalışmalar Human Papilloma Virüs (HPV) enfeksiyonunun servikal SHK gelişiminde rol aldığını göstermektedir. %90’ dan fazla SK spesifik HPV tiplerinin DNA sekanslarını taşımaktadır. Global olarak en fazla saptanan HPV tipi 16’ dır. İkinci sırada HPV tip 18 ve sonra sırasıyla 31, 33, 35, 45, 52 ve 58 gelmektedir (45). Moleküler ve epidemiyolojik çalışmaların ışığında DSÖ SK’ya neden olan tip 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 60 olmak üzere 13 HPV tipini insanlar için karsinojenik olarak bildirmiştir. Ayrıca HPV dışında da bazı faktörlerin invaziv SK oluşmasında rol aldığına dair kanıtlar vardır. HPV kontrolü yapıldıktan sonra da SK ile belirgin ilişkisi olan faktörlere dair olan 2 çalışma vardır. Bu faktörler seksüel partnerlerin sayısı, sigara ve veneryal hastalık öyküsüdür (45) . Yüksek riskli HPV tipleriyle enfekte olgularda oral kontraseptif kullanımı da yüksek dereceli skuamöz intraepitelial lezyon (HSIL) ve invaziv karsinom gelişimi riskini arttıran bir diğer faktördür (45).

Serviksin invaziv karsinomunun tüm histolojik tiplerinde semptomlar lezyonun boyutuna ve evresine bağlı gibi görünmektedir . 1950'lerden 1970'lere kadar olan erken seriler genelde geç evreyle karşımıza gelirken en belirgin semptom anormal vajinal kanamadır. Güçsüzlük, solukluk, kilo kaybı, alt ekstremitelerde ödem, rektal ağrı ve hematüri lokal ileri evre ya da metastatik hastalığın bulgularıdır (45).

İnvaziv SHK'nın makroskopik görünümü çok değişkenlik gösterir. Erken lezyonlarda fokal indurasyon, erozyon ya da hafifçe yükselmiş, kanamaya meyilli, granüler görünüm karşımıza çıkabilmektedir. Kolposkopik muayenede genellikle atipik, çapı ve konfigürasyonu değişkenlik gösteren tortiyoze damarlar görülür. Erken karsinomların yaklaşık %98'i transformasyon zonunda lokalizedir. İleri tümörler endofitik ya da ekzofitik olabilirler. Endofitik lezyonlar ülsere ya da nodülerdir ve endoservikal kanala doğru gelişme eğilimindedirler. Sıklıkla servikal stromanın derinlerine doğru invaze olup genişlemiş, sert, fiçı şekilli serviks oluşumuna neden olurlar. Bazı endofitik tümörler makroskopik olarak normal görünümündedir. Ekzofitik olanlar papiller ya da polipoid görünümündedirler (45).

Mikroskopik olarak invaziv SHK, anastomoz yapan dil şekilli yapılar ya da kordlar oluşturan neoplastik epitelin stromayı invaze etmesi ile karakterizedir. Karakteristik olarak infiltran adaların konturları irregüler ve dağınıktır. Bazı tümörlerde ise tümör hücreleri tek tek dağılmış ya da stromayı tümüyle neoplastik skuamöz hücrelerle değiştirmiş olarak karşımıza çıkmaktadır. İnvaziv adaların merkezindeki hücreler sıklıkla nekroza ya da yoğun keratinizasyona gitmektedir. Tanımlanan hücreler genellikle poligonal ya da oval eozinofilik sitoplazmalı belirgin hücre membranı olan hücrelerdir. İntersellüler köprüler görülebilir. Bazı olgularda nükleus göreceli olarak uniform görünümde bazı olgularda hafif pleomorfik olabilir. Çoğu olguda kromatin kaba ve kümelenmiş görünümündedir. Ayrıca anormal formları da içeren mitotik figürler sıklıkla dikkati çekmektedir (45).

Geçmiş yıllarda invaziv SHK'nın klasifikasyonları baskın hücrelerin türüne göre yapıldı: büyük hücreli keratinizan (BHK), büyük hücreli nonkeratinizan (BHNK) ve küçük hücreli nonkeratinizan (KHNK) şeklinde. Wents ve Regan'a göre RT'den sonra en iyi 5 yıllık sağkalımlar BHK'da %68.3, BHNK'da %41.7 ve KHNK'da ise %20'dir (45). Ancak Wentz ve Regan'ın tanımladığı KHNK tip ile akciğerdekine benzeyen nöroendokrin (NE) özellikler gösteren küçük hücreli karsinom (KHK) arasında sıklıkla bir karmaşa olduğu için DSÖ NE

özellikler taşıyan KHK' yı ayrı bir başlık altına almıştır. DSÖ SHK' yı keratinizan ve nonkeratinizan olarak ikiye ayırmaktadır (45). Keratinizan karsinomlar değişken boyutlarda ve konfigürasyonlarda kordlar ya da yuvalanmalar oluşturan iyi diferansiye skuamöz hücrelerin varlığı ile karakterizedir. Keratinizan karsinom demek için tek bir keratin incisi görmek yeterlidir. Keratin incileri keratinizasyona giden skuamöz hücre kümelerinin konsantrik bir yuvalanma yapması ile oluşur. Non keratinizan skuamöz hücreli karsinom da sıklıkla keratinizasyona giden neoplastik skuamoz hücrelerin oluşturduğu adalar ile karakterizedir ancak keratin inci oluşturmazlar. Hücre sınırları rölatif olarak belirgin değildir. Nükleus oval ya da yuvarlaktır ve kaba, kümeleşmiş kromatin içerir. Mitotik figürler çok sayıdadır. Bazı olgularda berrak sitoplazmalı hücrelerin oluşturduğu solid tabakalar izlenirken diğerlerinde ise kitleler ve adalar oluşturan dar sitoplazmalı, küçük bazaloid, hiperkromatik nükleuslu ve çok sayıda mitotik figür gösteren hücreler dikkati çekmektedir (45).

Skuamöz hücreli serviks karsinomunda en sık kullanılan derecelendirme sistemi Broders' ın 1920' de önerdiği orijinal sistemin modifiye edilmiş halidir (45). Bu sistem tümörün skuamöz inciler oluşturan keratinizasyonu ve mitoz sayısı baz alınarak hazırlanmıştır. Günümüzde histolojik derecelemede skuamöz hücreli serviks karsinomlar iyi diferansiye (derece 1), orta derecede diferansiye (derece 2) ve az diferansiye (derece 3) olarak 3 gruba ayrılmaktadır. İyi diferansiye karsinomlarda en göze çarpan özellik bol keratin ve keratin incilerdir ve hücreler matür, geniş eozinofik sitoplazmalıdır. Yoğun sitoplazmik eozinofili ile karakterize tek hücre keratinizasyonu da (diskeratozis) görülebilir. Hücreler arası bağlantılar sıkıdır ve intersellüler köprüler iyi gelişmiştir. Nükleus geniş ve hiperkromatiktir. Orta dereceli diferansiye karsinomda neoplastik hücreler iyi diferansiye tümör hücreleri ile kıyaslandığında daha pleomorfik olup daha geniş nükleuslu ve daha az geniş sitoplazmaya sahiptir. Sellüler sınırlar ve intersellüler köprüler belirsizdir. Keratin inciler nadirdir ve tek hücre keratinizasyonları tümör hücre adalarının ortalarında karşımıza çıkmaktadır. Mitotik figürler iyi diferansiye karsinoma göre daha fazladır. Az diferansiye tümörler ise genelde hiperkromatik, oval nükleuslu ve az miktarda belirsiz sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Keratinizasyon ile kendini gösteren skuamoz diferansiyasyonu net şekilde bulmak güçtür. Mitozlar ve nekroz alanları bol miktardadır. Sıklıkla büyük pleomorfik hücreler, dev bizar nükleuslar ve anormal mitotik figürler görülür. Bazı çalışmalar tümör derecesinin hasta sağkalımı ile ilişkili olduğunu bildirmekle birlikte (45) çoğu çalışma histopatolojik derecenin klinik gidişatı etkilediğini konfirme edememiştir (45, 51).

SHK' nın verrüköz karsinom, kondilamotöz (warty karsinom), papiller (transizyonel) skuamöz hücreli karsinom ve lenfoepitelyoma benzeri karsinom olmak üzere 4 subtipi tanımlanmıştır (45).

İnvaziv SHK' da prognozu etkileyen faktörleri değerlendirmek için çok sayıda çalışma yapılmıştır. 129 olguluk bir çalışmada CD4 pozitif lenfositleri içeren inflamatuvar infiltratın varlığını iyi prognoz ile ilişkili bulunurken, yüksek ki-67 indeksi ileri evre olgularda kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Siklooksigenaz 2' nin (Cox2) aşırı ekspresyonu metastatik potansiyeli ve anjiyogenezi artırırken, konağın immun yanıtını ve apoptozisi azalttığı saptanmıştır (51). Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve insan EGFR2' nin (HUMAN EGFR2) varlığı servikal kanser ve çok sayıda malignitede ivmelenmiş tümör progresyonu ve terapötik resistans ile ilişkili bulunmuştur. Lenfatik endotel için selektif bir belirteç olan D2-40 ile pozitif damarlar sayılarak yapılan 111 SK' lı olgunun dahil edildiği bir çalışmada yüksek tümör evresi, lenf nodu metastazları ve kötü sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (51). p53 ve RAS mutasyonları SHK' da nadir görülmektedir ve son çalışmalarda tümör evresi, tümör derecesi ya da sağkalım ile ilişki bulunmamıştır (45). C-myc onkogen ampfikasyonu ve aşırı ekspresyonu servikal SHK' lı olgurun %20' sinde gösterilmiş olup HPV 16 varlığı ile ilişkili bulunmuştur. C-myc aşırı ekspresyonu ayrıca bazı çalışmalarda kötü prognoz ile ilişkili olarak saptanmıştır (45).

Serviksin SHK' larında, histopatolojik prognostik faktörler değerlendirildiğinde evre en önemli prognostik faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Histolojik tiplendirme ve derecelemenin herhangi bir evredeki sağ kalıma direkt etkisi oldukça azdır. Cerrahi olarak tedavi edilen evre 1b ve 2a olgularda en önemli patolojik prognostik faktörler tümör boyutu, invazyon derinliği, parametrial tutulum ve lenf düğümü durumu olarak bildirilmektedir (45). Radikal histerektomi ve pelvik lenfadenektomiye giden evre 1b' li 188 olguda 2 cm den küçük ve 10 mm' den az stromal invazyon bulunan tümörlerde hastaliksız 5 yıllık sağ kalımı %95 olarak belirtilmiştir ancak diğer olgularda bu oran yalnızca % 52' de kalmıştır (45). Evre 1b' li hastalar içinde lenfovasküler invazyonu olan olgularda 4-5 kat artmış pelvik lenf düğümü tutulumu riski bulunmaktadır (45). Evre 1b-2a olgularından oluşan 978 tümörü içeren seride lenf düğümü tutulumu olmayan olgularda medyan sağ kalım 5.3 yıl iken pelvik lenf düğümü tutulumu olan olgularda bu süre 3.2 yıla, paraaortik lenf düğümü tutulumu olan olgularda 1.3 yıla düşmektedir (45). Parametrial ekstansiyon tümör lokal nüksü ve kötü survi ile koreledir (45). Evre 1b ve 2a 69 radikal histerektomi materyalinde sağkalım parametrium tutulumu olmayan olgularda (%100)

parametrium tutulumu olan olgulara (%78) göre oldukça yüksektir (45). Prognozu etkileyen başka bir faktör de hasta yaşı olarak bildirilmektedir. 1952’ de Lindell sağ kalımın yaşlı kadınlarda daha fazla olduğunu göstermiştir (45). Ancak 10000’ den fazla invaziv karsinomlu olgunun analizini içeren diğer bir geniş çalışmada ise genç kadınların yaşlı kadınlara göre daha iyi prognozu olduğu rapor edilmektedir (45).

SHK’ lar öncelikle direkt lokal invazyonla çevre dokulara ve lenfatiklere yayılırlar. Kan damarlarına daha az yayılım yaparlar. Tümör perinöral, perivasküler, paraservikal dokular, parametrial alanlar, kardinal ve uterosakral ligamana yayılır. Geç yayılımda ise kemik pelvise bir ya da her iki üreteri obstrükte ederek yayılır. Direkt ekstansiyon uterin kavite, vageni içerebildiği gibi, mesane ve/veya rektuma uzanım gösterebilir ve bunun sonucunda rektovajinal ya da vezikovajinal fistüller karşımıza çıkabilir. Tümör invazyonuna bağlı üreteral obstrüksiyon ya da periüreteral lenfatiklere tümör basısı sonucu hidroüreter, hidronefrozis, hidronefrotik renal atrofi, pyelonefrit ve renal fonksiyon kaybı görülebilir. Her iki üreterin de obstrüksiyonu üremi ve sonunda ölüm ile sonuçlanır (45). 1970 yılından sonra RT’ nin kullanımı ile üremiden ölüm oranı %28’ den % 6.7’ ye düşmüştür (45). Barsak perforasyonuna bağlı peritonit, pulmoner metastazlara bağlı respiratuar yetmezlik, masif ödem, hemoraji, kardiak yetmezlik, masif venöz tromboz, pulmoner emboli ve RT komplikasyonları ölümün sıklık sırasına göre nedenleri olarak belirtilmiştir.

Servikal kanserde “cerrahi”, “RT ve cerrahi” , “RT” ya da “RT ve kemoterapi (KT)” olmak üzere 4 temel tedavi yöntemi kullanılmaktadır. Evre 1b ve erken evre 2 olgularda RT ile radikal histerektomi ve pelvik lenfadenektomi ile benzer sonuçlar alınmaktadır. Evre 1a1, 1a2 ve 1b1 olgularda tümör boyutu 2 cm altındaysa fertilitiyi korumak için radikal trakelektomi ve laparoskopik pelvik lenfadenektomi genişçe kabul gören tedavidir (45). KT olarak sıklıkla cisplatin yalnız ya da diğer ilaçlarla birlikte kullanılır.

2.1.2. ADENOKARSİNOM

İkinci sıklıkta görülen serviks tümörü olan serviksin AK’ları değişik histolojik paternleri barındıran heterojen bir neoplazi grubudur (Tablo 1). Hücre tiplerinin ve paternlerin sıklıkla karışık olduğundan ötürü bu tümörlerin histolojik klasifikasyonu baskın hücre tipine göre yapılır. Bazı otörlere göre eğer ek histolojik patern %10’ dan fazla bir popülasyonu oluşturuyor ise

baskın hücre türüne göre histolojik tipi yazmaya ek olarak diğer varolan komponentleri de tanının bir parçası olarak yazmak gerekmektedir (45).

Erken 1970 yıllarından beri yayınlanan invaziv SK serilerinde %25-20' lik oranın farklı tiplerde AK' lar ile diğer epiteliyal tümörler olduğu belirtilmiştir (45). Birçok çalışma 40 yaş altındaki kadınlarda AK hızının attığını belirtmektedir.

İnvaziv servikal adenokarsinomun orijininin kolumnar hücre epitelinin pluripotent subkolumnar rezerv hücre olduğu düşünülmektedir . Adenokarsinom gelişimi için olan çok sayıda risk faktörü invaziv SHK için tanımlanan risk faktörleri ile benzerlik göstermektedir (45). Ek olarak on yıldan fazla oral kontraseptif kullanımı invaziv servikal AK için risk faktörü olarak tanımlanmaktadır (45).

Servikal adenokarsinomların en sık semptomu anormal vajinal kanama olup yaklaşık %75 hastada karşımıza çıkmaktadır (45). Çoğu invaziv AK transformasyon zonunda geliştiği için yaklaşık %50 hastanın makroskopik muayenesinde hastalarda polipoid ya da papiller kitle görülür (45). Yaklaşık %15 hastada serviks ya genişlemiştir ya da nodüler görünümde izlenmektedir. Diğer %15 hastada ise makroskopik görülebilen lezyon yoktur. Tanı anında yaklaşık % 80 kadında AK serviksle sınırlıdır (evre 1) ya da parametrium/vajina tutulumu vardır.

Mikroinvaziv adenokarsinomlar, adenokarsinomların %12' sini oluşturur ve ortalama prezentasyon yaşı 39 olup invaziv AK' nın pik yaşından 7 yaş erkendir. Mikroinvaziv AK adenokarsinoma insitu' nun (AIS) histolojik özelliklerini gösteren (pembe, abondan sitoplazmalı, parmak benzeri ekstensiyonu olan epitelin stromaya girmesi) sıklıkla invazyonun ilk histolojik belirtisidir ve mikroinvaziv SHK'ya göre irregüler dağılım ve normal endoservikal kriptlerin servikal stromadaki yapısı erken stromal invazyon ve AIS ayırımını zorlaştırmaktadır (52). Histopatolojik olarak ödem, enflamasyon ve dezmoplaziyi içeren stromal yanıt olabilir ya da olmayabilir. Konfluan glandüler patern ve kompleks gland yapısı invazyonun belirgin paternleridir (52).

İnvaziv adenokarsinomlar çok sayıda değişken patern gösterebilirler ama %75' in üzerindeki tümör göreceli olarak benzer paternlidir. AK usual tip makroskopik olarak papiller ya da polipoid özellikte olurken bazen nodüler ya da ülseratif görünümde olabilir. Histopatolojik olarak servikal adenokarsinomun en sık tipidir. Hücreler kolumnar ve elonge, hiperkromatik nükleuslu olup belirgin atipi ve nükleer pleomorfizm gösterebilir. Ayrıca hücreler sıklıkla

stratifiedir ve amfofilik ya da eozinofilik apikal sitoplazma içerirler. Apoptotik cisimler yanı sıra mitotik figürler sıktır. Kribriform patern oldukça sık görülür. İyi diferansiye tümörler (hacminin % 10' undan az solid tabaka oluşturanlar), orta dereceli diferansiye tümörler (hacminin % 11-50' si solid tabaka oluşturanlar) ve az diferansiye tümörler (%51' inden fazlası solid tabaka oluşturanlar) olarak sınıflandırılır (45).

AK' nın en belirgin prognostik faktörleri tümör çapı, invazyon derinliği, lenfovasküler tutulum, parametrial tutulum, evre, yaş, lenf düğümü metastazlarının varlığı ve yokluğu olarak belirtilmektedir (45). Kötü prognostik faktörler ise 3 cm üzerinde tümör çapı, uterin genişleme ve kötü histolojik dereceyi içerir. Evre 1 az diferansiye tümürlü olgularda 5 yıllık yaşam süresi %41-62 iken iyi diferansiye adenokarsinomlarda bu oran %80-90' a kadar çıkmaktadır (45). Genç tanı yaşı bazı serilerde iyi prognoz ile birlikte (45).

SHK ve AK genellikle benzer tedavi edilirler. Sıklıkla evre 1 ve 2 AK' lara yalnızca RT, RT ile birlikte KT, basit histerektomi sonrası RT ve radikal cerrahi tedavi seçenekleridir (50).

2.1.3. DİĞER EPİTELYAL TÜMÖRLER

İnvaziv SK' larının SHK ve AK dışında kalan diğer epitelyal tümörlerinden kısaca bahsedecek olursak ilk sırada adenoskuamöz hücreli karsinom (ASK) karşımıza çıkar ve histolojik olarak malign skuamöz ve glandüler hücreler içerirler. Glassy hücreli karsinom servikal kanserlerin % 1' inden azını oluşturur ve granüler, yer camı şeklinde sitoplazmayı içeren, üniform, geniş, poligonal hücrelerden oluşan az diferansiye bir ASK' dır. Berrak hücreli ASK ise tümör hücrelerinin en az %70' i vakuole, berrak sitoplazmalı, bol miktarda glikojen taşıyan tümörlerdir (45).

Mukoepidermoid karsinomlar (MEK) DSÖ klasifikasyonunda ayrı bir antite olarak tanımlanmamış olup ASK kategorisine dahil edilmiştir. MEK' nin morfolojik tanı kriterleri servikste de tükrük bezindekiyle aynıdır ve tümör epidermoid, intermediate ve müsin üreten olmak üzere üç hücre tipinden oluşur (45). Bazı çalışmalarda genç hastalarda daha sık olduğu ve artmış lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (45).

Histolojik olarak tükrük bezindeki adenoid kistik karsinoma benzeyen adenoid kistik karsinom (AKK) tüm serviks karsinomlarının % 1' den azını oluşturan 6 ve 7. dekatta, siyahlarda

daha sık karşımıza çıkan bir tümördür. Bu tümörler sık lokal nüks ya da metastatik yayımlı olup agresif davranış gösterirler. Adenoid bazal karsinom (ABK) ise, AKK ile benzer histolojik özellikleri paylaşan ve sıklıkla karışan genelde benign davranışlı bir tümördür ve bu iki antite sıklıkla karışır. ABK' lılar sıklıkla post menopozal, özellikle siyah kadınlarda görülen nadir neoplazilerdir (45).

Rölatif olarak nadir görülen nöroendokrin tümörler akciğerdekine benzer morfolojik özellikler gösterdikleri için DSÖ servikal tümörleri de tipik karsinoid, atipik karsinoid, büyük hücreli nöroendokrin karsinom ve küçük hücreli karsinom olmak üzere akciğerdeki gibi sınıflamıştır. Küçük hücreli karsinomun bazı serilerde SK' nın yaklaşık %1-2'sini oluşturduğu bildirilmektedir (45). Yüksek ölçüde agresif olan bu tümörlerde (45,49) tanı anında % 90 olguda lenfovasküler invazyon dikkati çekmektedir (45).

2.2. İMMUNHİSTOKİMYASAL BELİRLEYİCİLER

2.2.1. GLUT-1:

GLUT-1, hipoksi ilişkili faktör 1' in (HIF-1) hipoksik durumlarda aktive ettiği sodyum bağımlı glikoz taşıyıcıları ailesinin bir üyesidir. Ayrıca büyüme faktörleri, kalsiyum, tiroid hormonu, düşük glikoz konsantrasyonu, onkojenik transformasyon ve oksidatif fosforilasyonun inhibisyonunda da upregüle olur. GLUT-1 metabolizması HIF-1 ekspresyonu ile akut, kronik ya da her iki şekilde düzenlenir. Akut stimülasyonda glikoz transportu GLUT-1' in plazma membranına translokasyonu ve/veya hücre yüzeyinde varolan glikoz transporterlarının aktivasyonu etkileşimi yoluyla gerçekleşir. Bununla birlikte daha fazla uzatılmış stimülasyon transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel mekanizmaları tarafından GLUT-1 mRNA seviyelerinin yükselmesi ile ilişkilendirilmektedir (56).

Ortamda bol miktarda oksijen olmasına rağmen kanser hücreleri glukoz metabolizmalarını oksidatif fosforilasyondan glikolize çevirirler. Bu Warburg etkisi olarak bilinmektedir. Bilindiği gibi oksidatif fosforilasyonla 20'den fazla ATP üretilse de glikoliz ile her bir glukoz molekülü için 2 ATP üretilir. Bu değişim daha az verimli görünse de tümörlerin büyümesinde bir avantaj sağlamaktadır. Çeşitli hipotezlerle açıklanmaya çalışılan durumda en etkili hipotez şudur; bu değişim hipoksik tümör mikroçevresinde büyüme avantajı sağlamaktadır. Tümörler anjiogenez ile damarlanmada artış sağlasa da, normal dokulara kıyasla tümör dokusu hipoksik durumdadır. HIF1 α 'nın aktivasyonu sadece anjiogenezi uyarmakla kalmaz, glikolitik yolaktaki çok sayıda

metabolik enzimin ekspresyonunu arttırırken, oksidatif fosforilasyonda rol alan genleri de down regüle eder. Her bir tümör hücresinin oksijen talebinin azalması sonucu anjiogenez ile daha fazla sayıda tümör hücresi korunabilmektedir. Hipoksik ortamlarda oluşan bu değişiklik hücre içinde sabitlenir ve durum normooksik koşullarda da devam eder (57,58).

Malign tümörlerde genellikle normal dokulara göre glukoz alımı yüksek orandadır. GLUT-1 ekspresyonu ve karsinogenez, tümör gelişimi, kötü prognoz ve histolojik karakterizasyonu arasındaki ilişki odaklı çalışmalar yapılmaktadır (15, 53-56).

2.2.2. MASPİN

Maspin proteaz inhibitörlerinden serpin ailesinin bir üyesi olup tip II tümör baskılayıcı gen olarak tarif edilmiştir (21-24). Zhang ve arkadaşları da maspinin bir anjiyogenez inhibitörü olarak görev yaptığını göstermişlerdir (24). Maspin aberan gen ekspresyonu tiroid, meme, prostat gibi birçok tümörde bildirilmiştir (25-27). Buna ek olarak, bazı tümörlerde maspin ekspresyonunun yüksek seviyelerinin daha iyi prognozla korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (28-29). Ancak buna zıt olarak maspin ekspresyonu epitelial over tümörlerinde kısalmış sağ kalım ile ilişkili bulunmuştur (30). Ayrıca tiroid, akciğer, mesane, mide ve akciğer tümörlerinde lenf nodu metastazı ve kötü prognoz ile korele olduğuna dair yayınlar mevcuttur. (30-34). CIN3, MIKA ve invaziv SHK olgularının değerlendirildiği bir çalışmada maspin ekspresyon farklılıkları değerlendirilmiş ancak klinikopatolojik parametrelerle ilişkisine bakılmamıştır (89).

2.3. MOLEKÜLER ÇALIŞMA

2.3.1. GEN POLİMORFİZMİ

İnsan genomu yaklaşık 3×10^9 baz çiftinden oluşmaktadır ve genetik bilgiyi taşıyan yaklaşık 50,000 gen 46 kromozom içerisinde bulunmaktadır. İnsan DNA'sının yaklaşık %99.9' u iki insan arasında aynıdır ve insanlardaki genetik varyasyon (çesitlilik) DNA zincirindeki küçük

farklardan kaynaklanmaktadır. Bazı DNA sekanslarındaki farklar insan fenotipini etkilememekle birlikte bazıları direkt hastalığa neden olmaktadır. Bu iki uç arasında anatomik, fizyolojik, tedaviye cevap, ilaçlara karşı yan etki, infeksiyonlara yatkınlık, kansere yatkınlık ve kişilik özellikleri gibi genetik farklılıklar yer alır (35).

Bir lokusta birden fazla allelin bulunması şeklindeki DNA nükleotid değişimlerine polimorfizm adı verilir. Allellerin genel popülasyondaki kromozomların %1' inden fazlasında bulunması "genetik polimorfizmi" oluşturur. Allelik sıklığı %1' den küçük ise buna "nadir varyantlar" denir. Genlerin düzenleyici bölgelerinde bulunan polimorfik alleller genlerin transkripsiyonel regülasyonunu etkileyerek fenotipik değişikliklere neden olabilir (35,36).

2.3.2. MYELOPEROKSİDAZ (MPO)

MPO demir içeren bir enzimdir. Monositlerin lizozomunda ve nötrofillerin granüllerinde bulunur. MPO, nötrofil tarafından üretilen hidrojen peroksidi (H₂O₂) kullanır ve hipoklorik asit (HOCl) ve diğer oksidantları üretir (41,42). HOCl, H₂O₂'den 10-20 kat daha fazla proteinleri okside edebilir ve MPO' nun ürettiği kuvvetli oksidan ürünler DNA hasarlanmasına ile sonuçlanabilir. HOCl'i oluşturan tek enzim MPO'dır. Doku matriks metalloproteaz inhibitörü T₁ i (TIMP-1) inhibe ederek matriks metalloproteazın aktivitesini artırır ve matriksin proteinleri yıkılır. Miyeloperoksidaz sistemi önemli bir bakterisidaldir. MPO, ekspresyonu myeloid hücreler tarafından sınırlanan 17. kromozomun uzun koluna 14 kb uzaklıkta olan tek bir gen tarafından kodlanır (43). MPO geninde polimorfik bir bölge bulunmaktadır (-463G/A). MPO geninde -463 tip G polimorfizmi artmış MPO ekspresyonu ve sonucunda akciğer, özefagus, mesane ve over tümörü gibi çeşitli kanser türlerinde artmış risk ile koreledir (63-67). Ancak çelişkili yayınlar da bulunmaktadır (60, 61). Servikal kanserli olguların periferik kan nötrofillerinde MPO aktivitesi gözlenmemiştir ya da düşük gözlenmiştir. Bu da azalmış anti-tümör aktivitesinin servikal kanser gelişmesinde rolü olabileceğini düşündürmektedir (44).

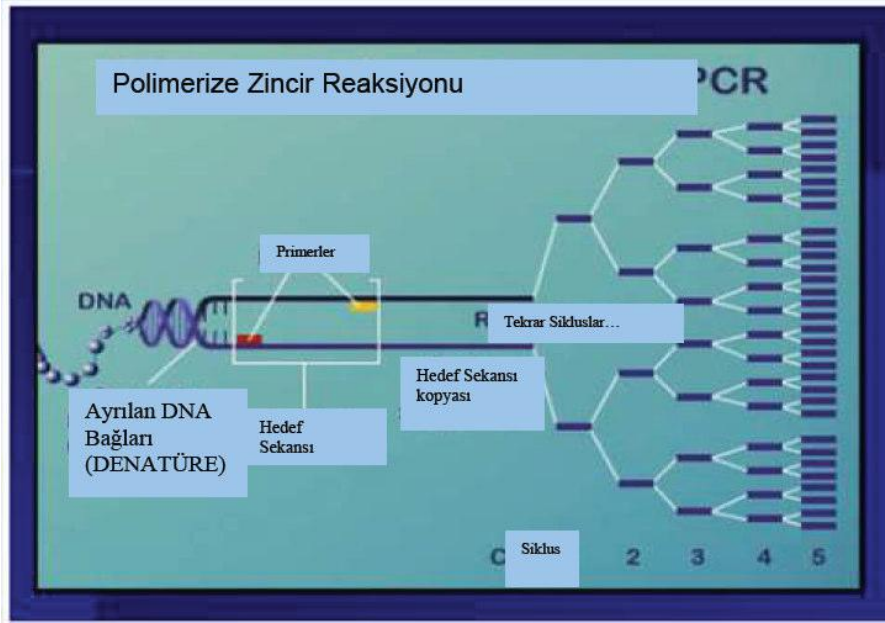
2.3.3. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR)

PCR, herhangi bir DNA fragmanının iki oligonükleotid primer arasındaki kısmının çoğaltılması için ezimatik bir metottur. Primerler bir tanesi bir zincire komplementer diğeri

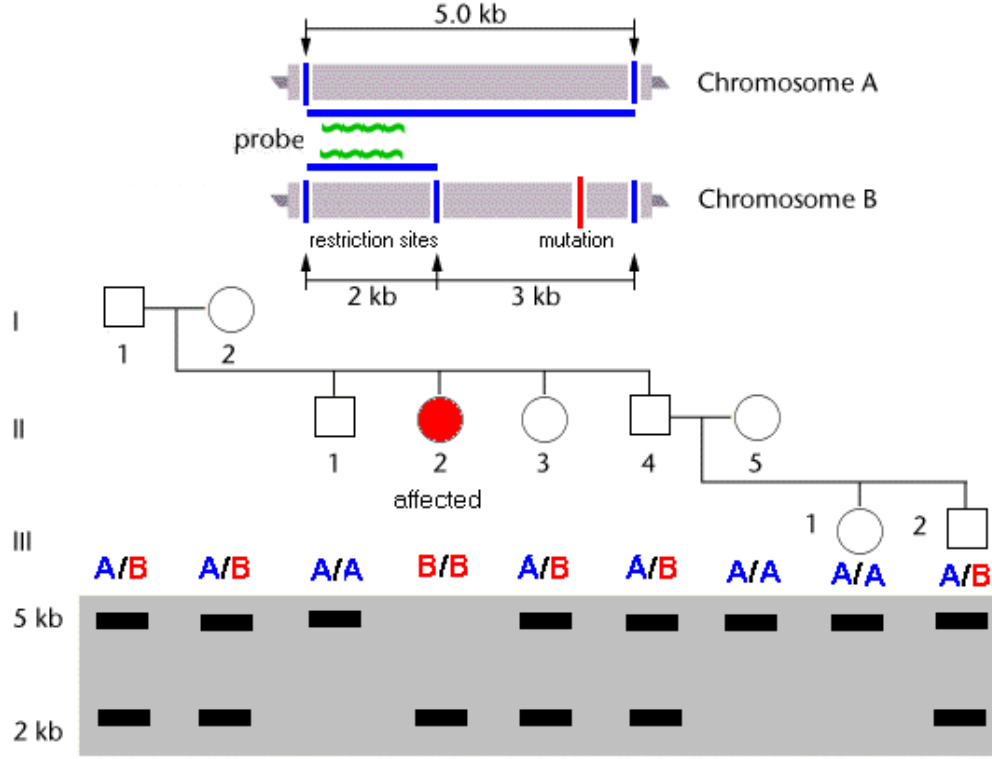
amplifiye edilmesi gereken DNA'nın karşı zincirindeki ters tarafa komplementerdir (Şekil: 1). DNA ısı ile denatüre edilir ve DNA polimeraz her iki zincirde primerler arasındaki bölgenin kopyasını üretir. DNA tekrarlayan miktarda ısı denatürasyonu ve primer hibridizasyonu ile hızlı bir şekilde çoğaltılır (36,59).

2.3.4. RESTRİKSİYON UZUNLUK FRAGMAN POLİMORFİZMİ (Restriction Length Fragment Polymorphism: RLFP) / RESTRİKSİYON ENZİMLERİ

Restriksiyon enzimleri spesifik bir DNA çift sarmal sekansını tanır ve DNA'yi belirli bir bölgeden keser. Genomik DNA'da oluşan sekans değişiklikleri restriksiyon enzimlerinin kesim yerlerini değiştirir ve kesim sonucu oluşan parçaların boyutları değişir (59,60) (Şekil 2).



Şekil 1: PCR ile DNA çoğaltılması



Şekil 2 : PCR-RFLP' nin şematik gösterimi

2.3.5. MYELOPEROKSİDAZ GEN POLİMORFİZMİ

Polimorfizm analizi, geleneksel olarak polimeraz zincir reaksiyonu-bağlantılı restriksiyon fragment polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile yapılmaktadır. Bu yöntem, polimorfizmi ortaya çıkaran baz değişiminin bir restriksiyon enzimi için yeni bir kesim yeri ortaya çıkarması veya mevcut olan bir kesim yerini ortadan kaldırmasına bağlı olarak, polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan fragmentin enzim kesimi sonucunda normal durum ile polimorfik allel arasında uzunluk farklılıklarının (veya polimorfizminin) izlenmesi esasına dayanır. Yöntem, birden fazla ara aşama içermesi, bazı restriksiyon enzimleri ile ilgili sorunların ortaya çıkması gibi dezavantajlara sahiptir. Son zamanlarda, floresan maddelerle işaretli probler kullanılarak, polimeraz zincir reaksiyonunda DNA amplifikasyonunun floresan ölçümü sayesinde eş-zamanlı olarak izlenebildiği polimeraz zincir reaksiyonu yöntemleri ("real-time fluorescence PCR") sıkça kullanılmaktadır. Çalışmamızda olguların MPO 463(G→A) polimorfizminin dağılımı PCR-RFLP yöntemi ile incelenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GENEL BİLGİLER

1992- 2012 yılları arasında DEÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı' nda "Serviks Karsinomu" tanısı olan 114 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Olgulara ait DEÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Preparat ve Blok Arşivi' nde bulunan hazır Hematoksilen& Eozin (H&E) boyalı preparatlardan tümörü demonstre eden preparatlar seçilmiştir. Bu preparatlara ait bloklardan 10 mikron kalınlığında 3 kesit 3 adet steril ve DNA-RNA free ependorf tüplerine alınmıştır. Her olgu değişiminde mikrotom cihazı alkol ile temizlenmiştir. Daha sonra tümörün karakteristik özelliğini en iyi yansıtan 5 mm çapındaki alan işaretlenmiştir. Bu işaretlenen alan seçilen preparatlara ait hazır parafin bloklar üzerinde de işaretlenmiştir. Daha sonra quick ray sistemi kullanılarak dokular korları 5 mm olan ve 20 adet kor içeren doku mikroarray kalıplarına yerleştirilmiştir (Tissue-Tek[®] Quick- Ray[™] 8018). Bu yerleştirme işleminde daha sonraki basamaklarda karışıklığa yol açmamak için hazırlanan her blokta farklı alanlar boş bırakılmıştır. Hazırlanan parafin mikroarray kalıpları etüvde 55 derecede metal nitelikteki mikroarray kalıbının içine yerleştirilerek eritilmiş ve sonrasında kasetlenerek bloklama işlemi tamamlanmıştır. Takiben İHK'sal boyamalar için bu TMA'lardan 4 mikron kalınlıkta kesitler alınmıştır.

3.2. İMMUNHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Alınan kesitlere aşağıdaki protokol ile immunhistokimyasal boyalar uygulanmıştır.

Kesitler etüvde yaklaşık 55⁰C'de bir gece bekletilerek parafin eritildi. Ertesi gün kesitler ksilen ile deparafinize edildi.

1. Kesitler azalan alkol serilerinde rehidrate edildi.
2. Kesitler distile su ile yıkandı.
3. Kesitler endojenöz peroksidaz aktivitesini bloke etmek amaçlı 15 dk süre ile "%0.3 H₂O₂" solüsyonunda bekletildi.
4. Ph: 7 olan EDTA buffer solüsyonunda PT modülde 95 derecede 20 dk kaynatılarak ısı

yardımıyla antijenin açığa çıkması sağlandı.

5. Kesitler oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Daha sonra kesitler Tris buffer solüsyonunda yıkandı.
6. % 3 lük hidrojen peroksit solüsyonunda 15 dk bekletilerek endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Daha sonra kesitler Tris buffer solüsyonunda yıkandı.
7. Ultra V block damlatılıp 5 dk bekletilerek nonspesifik bağlanma reaksiyonları önlendi.
8. Yıkama yapmadan lamaların üzerindeki solüsyonlar dökülerek; üzerine uygun *primer antikor damlatıldı ve 1 saat inkubasyon sağlandı ve antikorun bağlanması sağlandı.

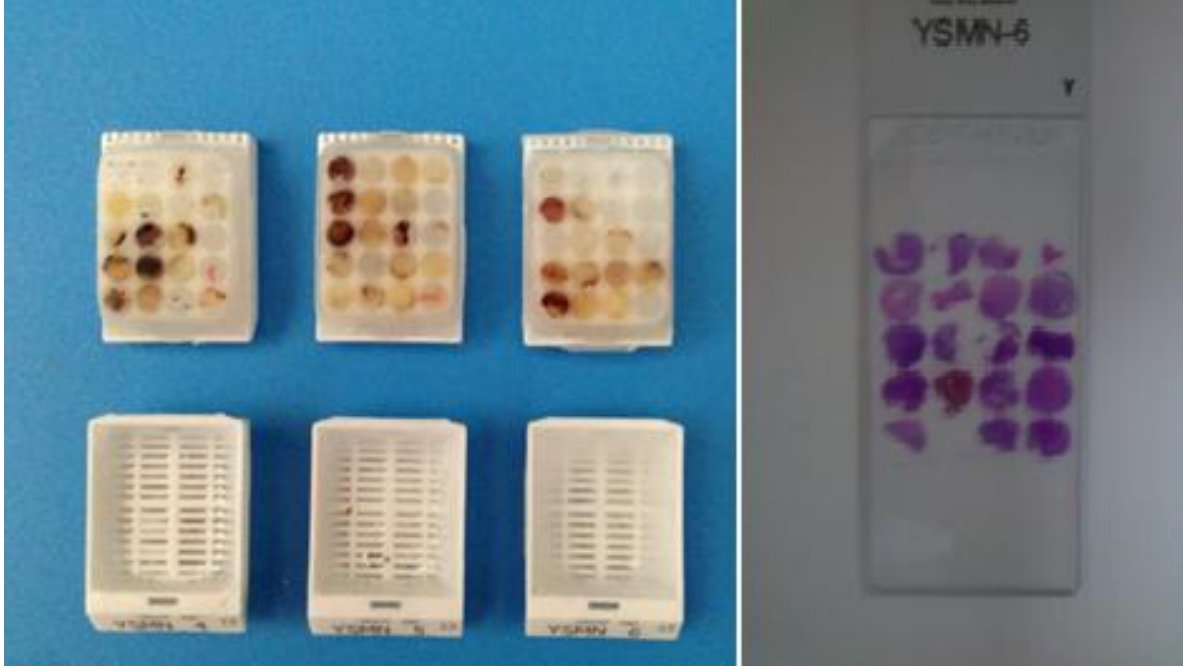
*Primer antikor:

-Maspin (polyclonal rabbit antihuman MASPIN (H-30): sc-22762, Santa Cruz)

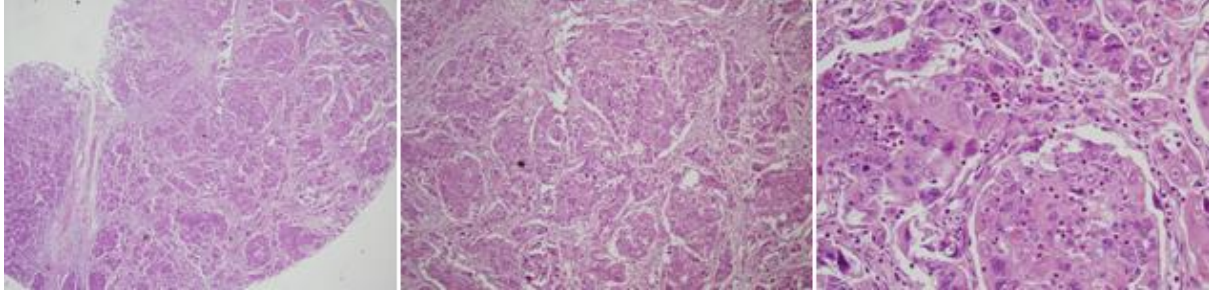
-Anti- GLUT-1 (polyclonal rabbit antihuman GLUT-1, lot number 2043895, MILLIPORE)

9. Daha sonra kesitler Tris buffer solüsyonunda yıkandı.
10. Biotin damlatılarak oda sıcaklığında 10 dk inkübasyon sağlandı. Daha sonra kesitler Tris buffer solüsyonunda yıkandı.
11. Streptavidin damlatılarak oda sıcaklığında 10 dk inkübasyon sağlandı.
12. Daha sonra kesitler Tris buffer solüsyonunda 20 dk bekletildi.
13. 1ml substrata ve 1 damla kromojen eklenerek (1:1) diaminobenzidin (DAB) solüsyonu hazırlandı.
14. Her kesite 2 damla hazırlanan DAB solüsyonundan damlatılarak oda sıcaklığında 5 dk bekletildi.
15. Ardından yaya alınan kesitler çeşme suyunda yıkandı.
16. Mayer's hematoksilende yaklaşık 1dk bekletilerek kontrast boyanma sağlandı.
17. Ardından kesitler çeşme suyunda yıkandı.
18. Yükselen alkol serilerinde her birinde 2 dk bekletilerek geçirilen kesitler daha sonra 10 dk ksilolde bekletildi.
19. Son olarak ise kesitler entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı

Pozitif kontrol dokusu olarak maspin ve GLUT-1 için prostat kullanılmıştır. Kontrol dokularında maspin için sitoplazmik boyanma ve GLUT-1 için membranöz boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir.



Resim 1: Hazırlanan TMA blok ve bu bloklardan alınan H&E boyalı kesit örneği



Resim 2: Tümörlü bir alanın 4x, 10x ve 40x büyütmelerindeki görüntüsü

Olguların tümü mikroskopta değerlendirilir iken nekroz, stroma, normal epitel ve farklı kenar efektleri alanları göz ardı edildi. GLUT-1 için membranöz boyanma, maspin için sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir. GLUT-1 ve maspin için boyanma olmayan ya da zayıf boyanma olan olgular negatif, orta ve kuvvetli boyanma gösteren olgular pozitif kabul edildi (69,79, 83).

3.3. DNA İZOLASYONU VE PCR

Genomik DNA parafin ticari kitler (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Germany) kullanılarak yapıldı. MPO geni (-463) polimorfik bölge, polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) takiben (Biolabs Taq polymerase, M0320S, USA) fragment uzunluklarına göre kesim polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile AciI (Fermentas AciI, ER1791, Lithuania) restriksiyon endonükleaz enzimi kullanılarak gösterildi.

MPO geni (-463)promotor bölge polimorfizmini belirlemek için PCR koşulları:

1 siklus	94 °C için 5 dakika-ön denatürasyon
35 siklus	94 °C için 1 dakika-denatürasyon
	57 °C için 1 dakika-primer bağlanması
	68 °C için 1 dakika-uzama
1 siklus	68 °C için 10 dakika-son uzama

Primer dizisi;

MPO(F) 5' - ACAGGTGAATCGCTGACATGCTGCCT - 3'

MPO(R) 5'- GAGACTCCCTGGAGGAAGAAGTTGAG - 3'

PCR ürünü ve kesim ürünlerinin boyutları;

PCR ürünü ; 350 baz çifti uzunluğu

Kesim ürünleri; AA genotipi ; 289 + 61 baz çifti uzunluğu

AG genotipi ; 289 + 168 + 121 + 61 baz çifti uzunluğu

GG genotipi ; 168 + 121 + 61 baz çifti uzunluğu

Elde edilen PCR ürünleri %2.5'lik agaroz jelde ve enzim kesimi sonrası %2.5'lik agaroz jelde ayrılarak etidyum bromid boyama ile UV ışığında gösterilebilmiştir.

3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İmmunhistokimyasal ve moleküler veriler Statistical Packace For the Social Sciences (SPSS) 15.0 kullanılarak istatistiksel verilere dönüştürülmüştür. Analizlerde verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi uygulanarak kontrol edilmiş sonrasında ki-kare testi, Fisher's exact test, Kaplan Meier ve regresyon analizi kullanılmıştır. Model oluşturabilmek için anlamlılık olmaması nedeni çok değişkenli analiz uygulanamamıştır.

4. BULGULAR

4.1. PATOLOJİK VE KLİNİK BULGULAR

1992- 2012 yılları arasında DEÜTF Tıbbi Patoloji ABD’ de “Serviks Karsinomu” tanısı olan olguların tanı anındaki yaşları 27 ve 80 arasında değişmekte olup ortalama değeri 52.32’dir (\pm 11.911). Olgulardan bölümümüze ulaşan materyal türleri radikal (histerektomi, bilateral salpingooferektomi ve lenf düğümü diseksiyonu), biyopsi, endoservikal küretaj, konizasyon, dış merkez biyopsisinin ve radikal materyallerinin konsültasyonu olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 3). En sık görülen tümör tipi SHK’ dır (%87,7) (Tablo 4). SHK dışındaki olguların sayılarının az olması nedeni ile istatistiksel analizler SHK ve diğer tümörler olarak gruplanarak yapılmıştır (Tablo 5). Tümör boyutunu bildiğimiz 99 olguda en küçük çaplı tümör 2 mm, en büyük çaplı tümör 80 mm olup, ortalama çap 31.91 mm’dir (\pm 15.626). Olguların FIGO Evreleme sistemine göre tümör evreleri tablo 6 ‘te belirtilmiş olup en sık görülen evre I’ dir. İleri evre olguların sayısının azlığı nedeni ile istatistiksel analizler evre I (tümör servikse sınırlı) ve diğer evreler (evre II, evre III, evre IV) (tümör servikse sınırlı değil) olarak gruplanarak yapılmıştır. Radikal cerrahi materyali bulunan olguların sayısı 89 olup diğer olgularda klinik evreleme yapılmıştır. Klinik evreleme yapılan olgularda radikal cerrahi uygulanmadan direkt “RT” ya da “RT ve KT” uygulanmıştır. Radikal materyali olmayan olgularda over, endometrium, parametrium, vajen ve lenf düğümü tutulumları radyolojik olarak değerlendirilmiştir.

Materyal türü	Olgu sayısı (n)	%
Radikal	89	%78,1
Biyopsi	8	%7,9
Endoservikal küretaj	3	%2,6
Konizasyon	2	%1,8
Konsültasyon- biyopsi	10	%8,8
Konsültasyon-radikal	1	%0,9
Toplam	114	%100

Tablo 3: Materyal türleri ve sayıları

Tümör tipi	Olgu sayısı (n)	%
SHK	100	%62.5
AK	4	%3.5
ASK	6	%5.3
ADK	3	%2.6
KS	1	%0.9
Toplam	114	%100

Tablo 4: Tümör tipleri ve sıklıkları

Gruplanmış tümör tipleri	Olgu sayısı (n)	%
SHK	100	%87.7
Diğer *	14	%12.3
Toplam	114	%100

Tablo 5: Tümör tiplerinin gruplanmış tablosu (*Diğer : AK, ASK, ADK, KS)

Evre	Olgu sayısı (n)	%
Evre I	73	%64,1
Evre II	17	%14,9
Evre III	8	%7,0
Evre IV	3	%2,7
Bilinmeyen	13	%11,3
Toplam	114	%100

Tablo 6: Olguların FIGO Evreleme sistemine göre tümör evresi

Klinik Davranış	Var (n / %)	Yok (n / %)	Bilinmiyor	Toplam
Tanı anında uzak metastaz	9 (%7.9)	105 (%92.1)	0 (%0.0)	114 (%100)
Takip süresinde lokal nüks	6 (%5.3)	103 (%90.4)	5 (%4.4)	114 (%100)
Takip süresinde ölüm	4 (%3.5)	104 (%91.2)	6 (%5.3)	114 (%100)

Tablo 7: Toplam 114 olguda klinik davranışı gösteren tablo

Olguların takip süreleri 1-192 ay arasında değişmekte olup ortalama takip süresi 48.28 (±43.907) aydır. Yapılan sağ kalım analizlerinde olguların 5 yıllık yaşam süresi beklentisi yüksek

olup oranı yaklaşık %92' dir . Dört (%3.5) olgu takip süresinde ölmüştür (Tablo 7). Genel sağ kalım eğrisi 1 no'lu grafikte gösterilmektedir. Dokuz (%7.9) olguda tanı anında uzak metastaz saptanmıştır (Tablo 7). Uzak metastaz lokalizasyonları akciğer (n=1), karaciğer (n=1), mediasten (n=1) ve skapuladır (n=1). Takip süresinde 6 olguda (%5.3) lokal nüks ve 5 olguda (%4.4) uzak metastaz saptanmıştır (Tablo 7). Olgular cerrahi, RT, KT ve bu yöntemlerin farklı kombinasyonları ile tedavi edilmişlerdir (Tablo 8).

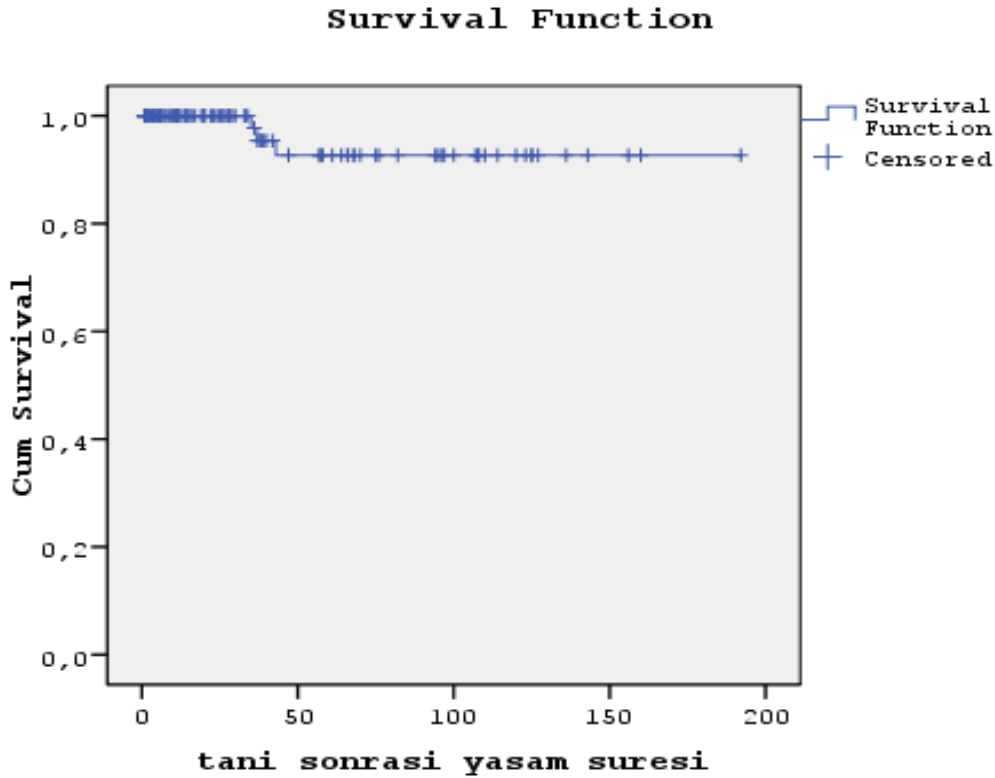
Olguların endometrium (EM), over, parametrum (PM) tutulumları ve lenfovasküler invazyon durumu tablo 9' da gösterilmiştir. Lenf düğümü (LD) tutulumu olan 33 (%28.9) olgu bulunmaktadır. Tutulan LD'lerin lokalizasyonları internal iliak, pelvik ve paraaortiktir. Batın yıkama sıvısı bulunan 80 olgudan 8' inde (%7.0) malign hücre izlenmiştir (Tablo 10). Materyalinde cerrahi sınır bulunan 94 olgudan 10' unda (%8.7) cerrahi sınırdaki tümör izlenmiştir (Tablo 11). 15 (%13.2) olguda vajen tümör ile infiltrasyon izlenirken 5 (%4.4) olguda vajinal intraepitelyal neoplazi (VAIN), 1 (%0.9) olguda karsinoma in-situ gözlenmiştir.

Tedavi türü	Olgu sayısı (n)	%
Tedavi yok	1	%0.9
Cerrahi	31	%27.2
RT	15	%13.2
Cerrahi+RT	50	%43.9
RT+KT	5	%4.4
Cerrahi+RT+KT	8	%7
Bilinmeyen	4	%3.5
Toplam	114	%100

Tablo 8: Olguların tedavi türleri

Patolojik parametreler I	Tutulmuş var (n / %)	Tutulmuş yok (n / %)	Toplam (n / %)
Endometrium	15 (%13.2)	99 (%86.8)	114 (%100)
Over	4 (%3.5)	110 (%96.5)	114 (%100)
Parametrium	22 (%19.3)	92 (%80.7)	114 (%100)

Tablo 9: Patolojik parametrelerin tutulumunu (EM, over, PM) gösteren tablo



Grafik 1. Genel sağ kalım eğrisi

Patolojik parametreler II	Tutulum var	Tutulum yok	Bilinmiyor	Toplam
Lenf düğümü (P/R)	33 (%28.9)	72(%63.2)	9(%7.9)	114 (%100)
Batın yıkama sıvısı	8 (%7.0)	72 (%63.2)	34 (%29.8)	114 (%100)
Vajen (P/R)	15 (%13.2)	99 (86.8)	0 (%0.0)	114 (%100)

Tablo 10: Patolojik parametreler II (LD -radyolojik/patolojik=P/R , batın yıkama sıvısı, vajen-P/R) tutulumunu gösteren tablo

Takiplerde tümörü servikse sınırlı 73 olgudan 1'inde (%1.4) ölüm izlenirken tümörün servikse sınırlı olmadığı 28 olgudan 3'ünde (%10.7) ölüm izlenmiştir. Ancak Fisher's exact test ile karşılaştırılan bu veriler arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.064$) (Tablo 12). Takiplerinde lokal nüks durumu bilinen 98 olgudan; tümörü servikse sınırlı olan 71 olgudan 1'inde (%1) lokal nüks gözlemlenirken tümörü servikse sınırlı olmayan 27 olgudan 5'inde (%5) lokal nüks izlenmiştir. Evre ile lokal nüks arasındaki bu ilişki Fisher's exact test ile anlamlı

bulunmuştur (p=0.006) (Tablo 13). Metastaz durumu bilinen 101 (%88.6) olgudan tümörü servikse sınırlı olan 3 olguda metastaz izlenirken tümörü servikse sınırlı olmayan 5 olguda metastaz karşımıza çıkmaktadır (Tablo 13). Fisher's exact test ile bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.036).

Cerrahi sınır durumu	Olgu sayısı (n)	Yüzde
Cerrahi sınırdaki tümör yok	82	%71.9
Cerrahi sınırdaki tümör var	10	%8.7
Cerrahi sınırdaki intraepitelyal neoplazi var	2	%1.8
Cerrahi sınır bilinmiyor	20	%17.5
Toplam	114	%100

Tablo 11: Cerrahi sınır durumunu gösteren tablo

Evre	Ölüm yok (n / %)	Ölüm var (n / %)	p
Evre I (tümör servikse sınırlı)	72 (%98.6)	1 (%1.4)	=0.064
Diğer (tümör servikse sınırlı değil)	25 (%89.3)	3 (%10.7)	
Toplam	97 (%96)	4 (%4)	

Tablo 12: Evre- ölüm ilişkisini gösteren tablo

114 olgunun 17' sinde (%14.9) lenf düğümü tutulumu bilinmektedir. LD tutulumu olan 14 (%82.4) olgunun tümör tipi SHK olup diğer 3 (%17.6) olgu SHK dışı tümör tanılıdır (Tablo 15). Tümör tipi ve LD tutulumu ile yapılan analizlerde Fisher's exact test istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır (p=0.436). LVI olan 60 (%52.6) olgudan 51' i (%85.0) SHK olup diğer 9' u (%15.0) SHK dışı tümör tanılıdır (Tablo 14). LD ile benzer şekilde tümör tipi ve LVI ile yapılan analizlerde, ki-kare testi ile anlamlılık izlenmemiştir (p=0.403). Ek olarak tümör tipi ile PM, over, EM, CS ve sıvı tutulumu arasında yapılan analizlerde Fisher's exact test ile anlamlılık izlenmemiştir (p değerleri sırasıyla: 0.732; 0.412; 0.393; 0.230; 0.181).

Evre	Evre I (tümör servikse sınırlı) (n / %)	Diğer (tümör servikse sınırlı değil) (n / %)	Toplam (n / %)	p
Lokal nüks var	1 (%1)	5 (%5)	6 (%6)	=0.006
Lokal nüks yok	70 (%71.5)	22 (%22.5)	92 (%94)	
Metastaz var	3 (%3.0)	5 (%5.0)	8 (%7.9)	=0.036
Metastaz yok	70 (%69.3)	23 (%22.7)	93 (%92.1)	

Tablo 13: Evre- lokal nüks ve geç metastaz ilişkisini gösteren tablo

LD durumu	SHK (n / %)	SHK dışı tümörler (n / %)	Toplam (n / %)	p
LD tutulumu var	14 (%82.4)	3 (%17.6)	17 (%14.9)	=0.436
LD tutulumu yok	86(%88.6)	11 (%11.4)	97 (%85.1)	

Tablo 14: Tümör tipi- LD ilişkisini gösteren tablo

Metastaz durumu değerlendirilebilen 109 olgudan metastazı olmayan 97' sinde (%97.0) lokal nüks yokken, 3 (%3.0) olguda lokal nüks izlenmiştir. Bu bulgu Fisher's exact test ile yapılan analizde anlamlı bulunmuştur (p=0.007). Benzer şekilde metastaz ve ölüm arasında da istatistiksel anlamlılık saptanmıştır (p=0.001). Bilinen toplam 6 (%5.5) lokal nüks gösteren olgudan 4' ünde (%66.7) LD tutulumu izlenirken 2' sinde LD tutulumu yoktur. Bu veriler ile yapılan analizde lokal nüks ile LD tutulumu ilişkili bulunmuştur (p=0.005). Benzer şekilde PM tutulumu bilinen 109 olgudan PM tutulumu bulunan 4 (%66.7) olguda lokal nüks izlenirken PM tutulumu bulunmayan 2 (%33.3) olguda lokal nüks gözlenmiştir. Fisher's exact test ile parametrium tutulumu ve lokal nüks arasında ilişki saptanmıştır (p=0.015).

Yapılan logistik regresyon analizlerinde CS pozitifliği gösteren olgularda metastaz açısından 10.5 kat artmış risk saptandı. İleri evre olgularda lokal nüks açısından 13.3 kat artmış risk saptanırken LD tutulumu olan olgularda da yine lokal nüks açısından 10.9 kat artmış risk saptandı.

4.2. İMMUNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

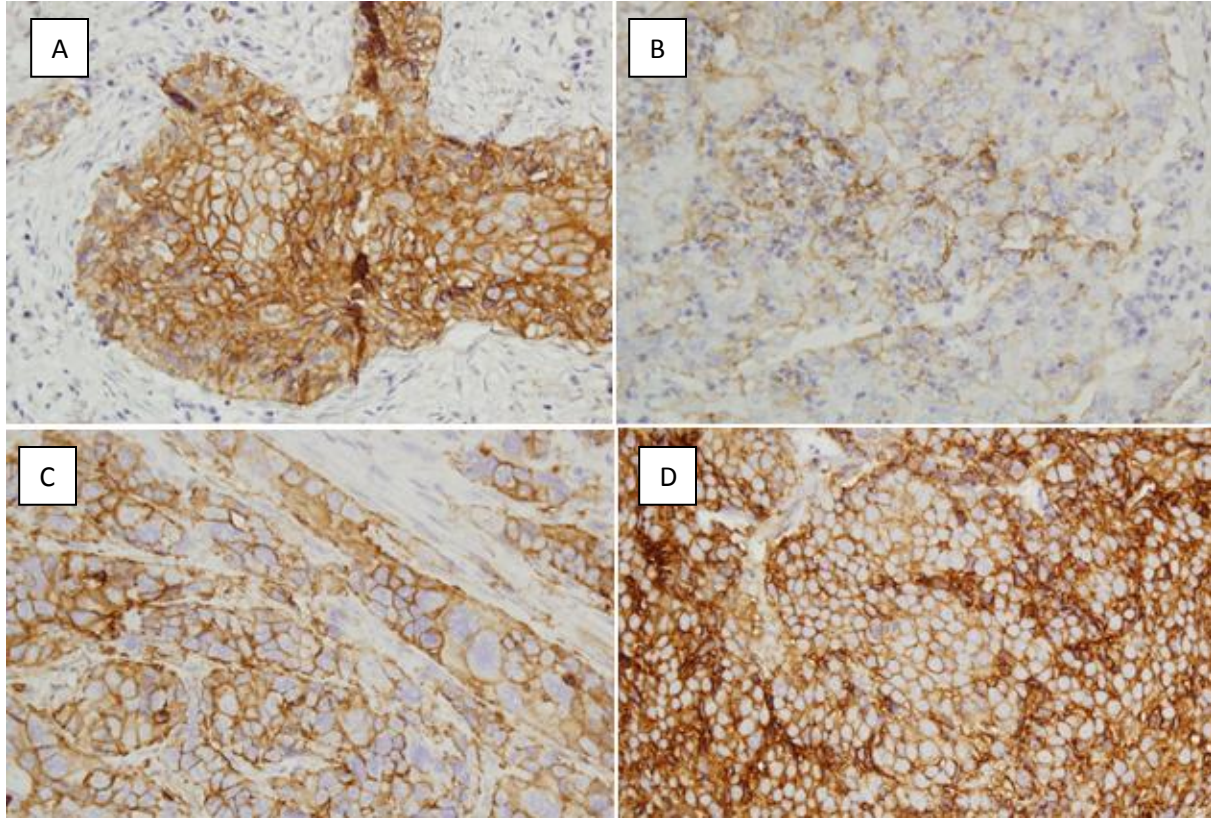
GLUT-1 ve maspin immunhistokimyasal boyamaları sonucu pozitif ve negatif olarak değerlendirilmiştir (Resim 3-5). Kesit alma ve immunhistokimya aşamalarında dökülen dokular nedeni ile 105 olgunun GLUT-1 boyanması değerlendirilebilmiştir. GLUT-1 analizini yapabildiğimiz 105 (%100) olgunun 70' inin (%74.5) tümörü servikse sınırlıdır. Bu 70 (%100) olgunun 20'sinde (%28.6) boyanma olmamıştır. 50 (%71.4) olguda GLUT-1 boyanması saptanmıştır. Tümörü servikse sınırlı olmayan 24 (%25.5) olgu bulunmaktadır. Bu 24 (%100) olgunun 4' ünde (%16.7) boyanma olmaz iken 20 (%83.3) olgu GLUT-1 pozitifliği göstermiştir. Fisher's exact test ile GLUT-1 ve evre arasında istatistiksel anlamlı ilişki izlenmemiştir (p=0.291).

GLUT-1 antikorunu değerlendirebildiğimiz SHK' lı 93 (%88.6) olgu bulunmaktadır. 93 (%100) olgunun 25' inde (%26.9) boyanma olmamıştır. 68 (%73.1) olguda GLUT-1 boyanması saptanmıştır SHK dışı tümörü olan 12 (%11.4) olgu bulunmaktadır. 12 (%100) olgunun 2' si (%16.7) negatif, 10 (%83.3) olgu GLUT-1 pozitif izlenmiştir. GLUT-1 ekspresyonu ile tümör tipi arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmamıştır (p=0.727).

GLUT-1 analizini yapabildiğimiz LD tutulumu olmayan 89 (%84.8) olgu bulunmaktadır. Bu 89 (%100) olgunun 22' sinde (%24.1) boyanma olmamıştır. 67 (%75.9) olguda GLUT-1 boyanması saptanmıştır. LD tutulumu olan 16 (%15.2) olgu bulunmaktadır. Onaltı (%100) olgunun 5' i (%31.3) negatif olup 11 (%68.7) olgu GLUT-1 pozitifliği göstermiştir. GLUT-1 ekspresyonu ile LD tutulumu arasında istatistiksel anlamlı ilişki izlenmemiştir (p=0.551).



Resim 3: Tümörlü bir alanın 20x büyütmede sırasıyla H&E, GLUT-1 ve maspin boyalı görüntüsü



Resim 4: A) GLUT-1 pozitifliği gösteren tümör ve negatif olan stromal alanların görüntüsü, B) Negatif kabul edilen zayıf GLUT-1 pozitifliği alanı, C-D) Pozitif kabul edilen GLUT-1 boyanma alanları

PM tutulumu olmayan 85 (%81.0) olgu bulunmaktadır. Bu 85 (%100) olgunun 24' ünde (%28.2) boyanma olmamıştır. 61 (%71.8) olguda GLUT-1 boyanması saptanmıştır. PM tutulumu olan 20 (%19.0) olgu bulunmaktadır. Bu 20 (%100) olgunun 3' ü (%15.0) negatif olup 17 (%85.0) olgu GLUT-1 pozitifliği göstermiştir. GLUT-1 ekspresyonu ile PM tutulumu arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır (0.269).

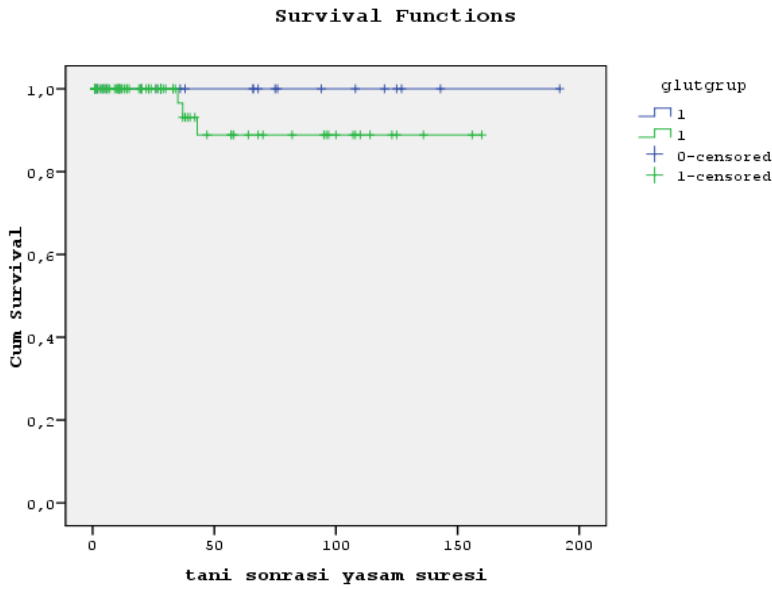
GLUT-1 analizini yapabildiğimiz 105 (%100) olgudan EM tutulumu olmayan 90 (%85.7) olgu bulunmaktadır. Bu 90 (%100) olgunun 26' sında (%28.9) boyanma olmamıştır. 64 (%71.1) olguda GLUT-1 boyanması saptanmıştır. EM tutulumu olan 15 (%14.3) olgu bulunmaktadır. Bu 15 (%100) olgunun 1' i (%6.7) negatif olup 14 (%93.3) olgu GLUT-1 pozitifdir. GLUT-1 ekspresyonu ile EM tutulumu arasında istatistiksel anlamlı ilişki gözlemlenmemiştir (p=0.108).

GLUT-1 analizini yapabildiğimiz over tutulumu olmayan 101 (%96.2) olgu bulunmaktadır. Bu 101 (%100) olgunun 27' sinde (%26.7) boyanma olmamıştır. 74 (%73.3) olguda GLUT-1 boyanması saptanmıştır. Over tutulumu olan 4 (%100) olgunun tümü GLUT-1 pozitifliği göstermiştir. GLUT-1 ekspresyonu ile over tutulumu arasında istatistiksel anlamlı ilişki

izlenmemiştir (0.570).

Vajen, CS ve sıvı tutululmu ile GLUT-1 aradında yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$). Benzer şekilde klinik parametreler olan lokal nüks, metastaz ve ölüm ile de GLUT-1 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlılık izlenmemiştir ($p>0.05$).

GLUT-1 pozitif ve negatif olgularda yapılan Kaplan Meier analizinde sağ kalım ile anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p= 0.222$) (Grafik 2).



Grafik 2: GLUT-1 ekspresyonu ile sağ kalım ilişkisini gösteren eğri

Kesit alma ve immunhistokimya aşamalarında dökülen dokular nedeni ile 106 olgunun maspin boyanması değerlendirilebilmiştir. Maspin analizini yapabildiğimiz 106 (%100) olgunun 71' inin (%74.7) tümörü servikse sınırlıdır. Bu 71 (%100) olgunun 28' inde (%39.5) boyanma olmamıştır. 43 (%60.5) olguda maspin boyanması saptanmıştır. Tümörü servikse sınırlı olmayan 24 (%25.3) olgu bulunmaktadır. Bu 24 (%100) olgunun 4' ünde (%16.7) boyanma saptanmaz iken 20 (%83.3) olgu maspin pozitifliği göstermiştir. Bu bulgular ile maspin ve evre arasında korelasyon saptanmıştır ($p=0.048$). Bu durum servikse sınırlı tümörlerde servikse sınırlı

olmayanlara göre maspin ekspresyonunun artmış olduğunu göstermektedir.

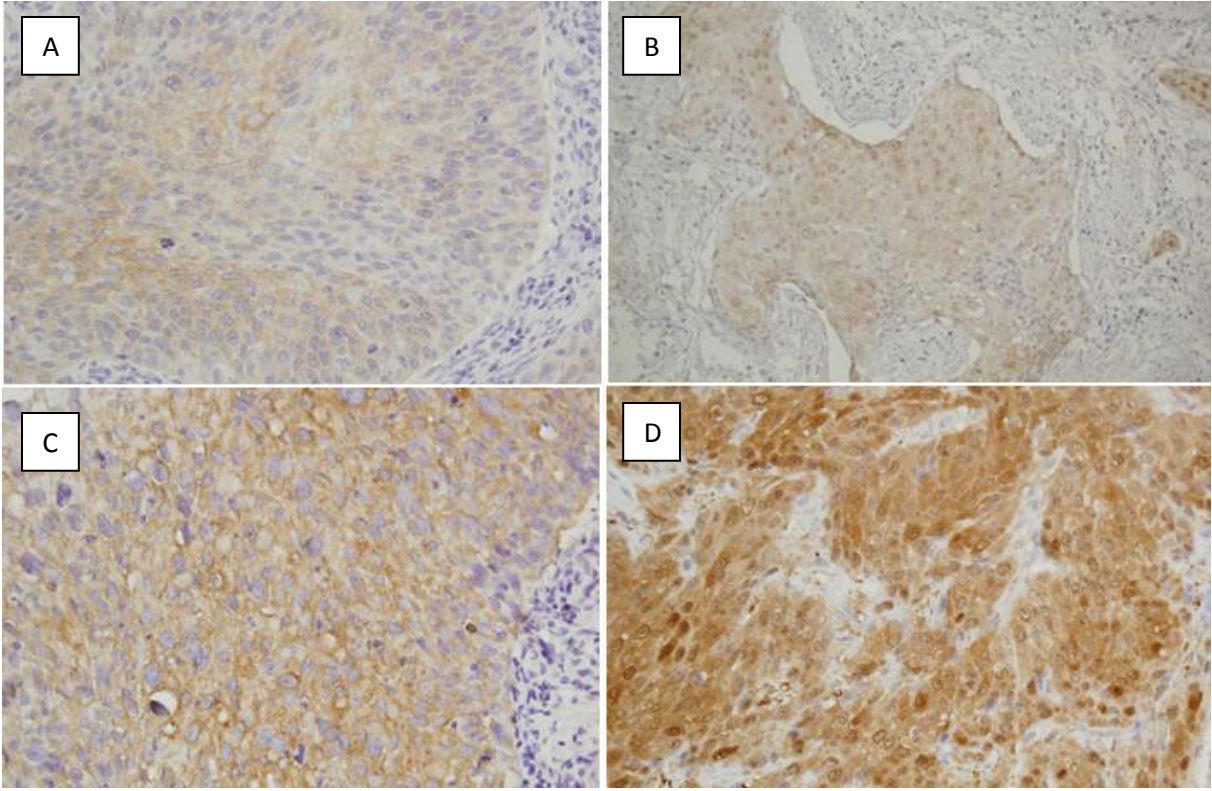
Maspin antikoru değerlendirildiğimiz 106 (%100) olgudan 94' ü (%88.7) SHK'lidir. Bu 94 (%100) olgunun 32' sinde (%34.0) boyanma olmamıştır. 62 (%66.0) olguda maspin boyanması saptanmıştır. SHK dışı tümörü olan 12 (%11.3) olgu bulunmaktadır. Bu 12 (%100) olgunun 4' ünde (%33.3) boyanma olmamış ancak 8 (%66.7) olgu maspin pozitifliği göstermiştir. Maspin ekspresyonu ile tümör tipi arasında istatistiksel anlamlı ilişki izlenmemiştir ($p=1.000$).

Değerlendirilebilen 106 (%100) olgudan LD tutulumu olmayan 90 (%84.9) olgu bulunmaktadır. Bu 90 (%100) olgunun 32' sinde (%35.6) boyanma olmamıştır. 58 (%64.4) olguda maspin boyanması saptanmıştır. LD tutulumu olan 16 (%15.1) olgu bulunmaktadır. Bu 16 (%100) olgunun 4' ü (%25.0) negatif iken 12 (%75.0) olgu maspin pozitifliği göstermiştir. Maspin ekspresyonu ile LD tutulumu arasında istatistiksel anlamlı ilişki izlenmemiştir ($p=0.569$).

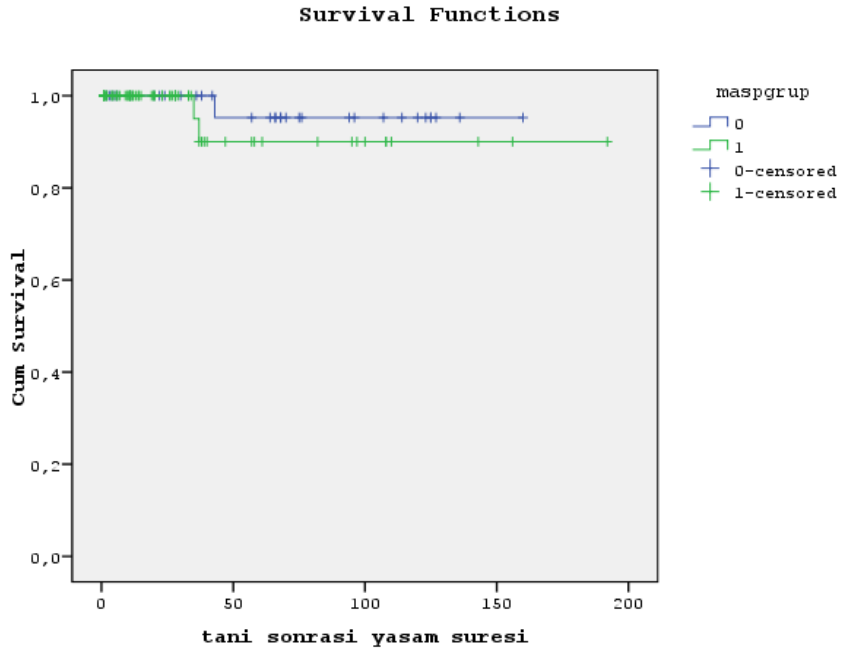
106 olgudan (%100) 86' sinda (%81.9) PM tutulumu izlenmemiştir. PM tutulumu olmayan 86 (%100) olgunun 33' ünde (%38.4) boyanma olmamıştır. 53 (%61.6) olguda maspin boyanması saptanmıştır. PM tutulumu olan 20 (%18.1) olgu bulunmaktadır. Bu 20 (%100) olgunun 3' ü (%15.0) negatif iken 17 (%85.0) olgu maspin pozitifliği göstermiştir. Maspin ekspresyonu ile PM tutulumu arasında istatistiksel anlamlı ilişki izlenmemiştir ($p=0.066$).

Maspin analizini yapabildiğimiz EM tutulumu olmayan 91 (%85.8) olgu bulunmaktadır. Bu 91 (%100) olgunun 32' sinde (%35.2) boyanma olmamıştır. 59 (%64.8) olguda maspin boyanması saptanmıştır. EM tutulumu olan 15 (%14.2) olgu bulunmaktadır. Bu 15 (%100) olgunun 4' ü (%26.7) negatif iken 11 (%73.3) olgu maspin pozitifliği göstermiştir. Maspin pozitifitesi ile EM tutulumu arasında istatistiksel anlamlı ilişki izlenmemiştir ($p=0.769$).

Maspin analizini yapabildiğimiz 106 (%100) olgudan over tutulumu olmayan 102 (%96.2) olgu bulunmaktadır. Bu 102 (%100) olgunun 35' inde (%34.3) boyanma olmamıştır. 67 (%65.7) olguda maspin boyanması saptanmıştır. Over tutulumu 4 (%3.8) olguda bulunmaktadır. Bu 4 (%100) olgunun 1' i (%25.0) negatifken 3 (%75.0) olgu maspin pozitifliği göstermiştir. Maspin pozitifitesi ile over tutulumu arasında istatistiksel anlamlı ilişki izlenmemiştir ($p=1.000$). Benzer şekilde maspin ekspresyonunun vajen, CS, sıvı tutulumu ve klinik parametreler olan lokal nüks, metastaz ve ölüm ile istatistiksel anlamlı ilişkisi saptanmamıştır ($p > 0.05$).



Resim 5: A)Maspin pozitifliği gösteren tümör ve negatif olan stromal alanların görüntüsü, B) Negatif kabul edilen zayıf maspin pozitifliği alanı, C-D) Pozitif kabul edilen maspin boyanma alanları



Grafik 3: Maspin ekspresyonu ile sağ kalım ilişkisini gösteren eğri

Maspin pozitif ve negatif olgularda yapılan Kaplan Meier analizinde sağ kalım ile anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0.419) (Grafik 3)

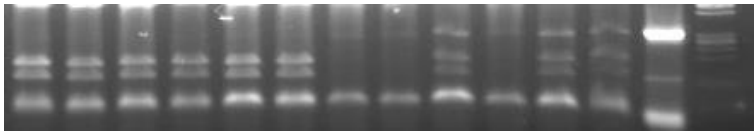
4.3. PCR BULGULARI

114 olgunun 79' unda (%69.3) PCR yöntemi ile analiz yapılabildiği. Bu olguların 29' u (%36.7) AG (Adenin-Guanin), 50' si (%63.3) GG (Guanin-Guanin) genotipindedir (Tablo 21).

Genotip	Olgu sayısı (n)	%
Analiz yapılamayan	35	%30.7
AG	29	%25.4
GG	50	%43.9
Toplam	114	%100.0

Tablo 15: MPO genotip olgu sayısı ve yüzdeleri

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



Resim 6: Etidyum bromid ile boyanmış MPO -463 promotor polimorfizmine ait (AclI enzim kesimi) DNA fragmentlerinin analizine ait kontrol grubuna örnek resim (14=DNA uzunluk cetveli, 13:Kesim uygulanmamış PCR ürünü, 1-6;GG-homozigot normal, 5,9-12;GA-heterozigot mutant, 10;AA-homozigot mutant).

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



Resim 7: Etidyum bromid ile boyanmış MPO -463 promotör polimorfizmine ait (AciI enzim kesimi) DNA fragmentlerinin analizine ait hasta grubuna örnek resim (14=DNA uzunluk cetveli, 13:Kesim uygulanmamış PCR ürünü, 4-8,11;GG-homozigot normal, 1-3,11;GA-heterozigot mutant, 9; Analiz edilemeyen hasta örneği).

Patolojik parametreler ile yapılan analizlerde tümörü serviks sınırlı olguların 18' i (%32.7) AG, 37'si (%67.3) GG genotipinde izlenmiştir. Tümörü serviks sınırlı olmayan olgularda ise bu sayılar AG için 10 (%47.6), GG için 11 (%52.4)' dir. Ki-kare testi ile tümör evresi ve genotip arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=0.229$). SHK tanı olguların 23' ü (%33.8) AG, 45' i (%66.2) GG genotipindedir. SHK dışı tümörlerde ise bu sayılar AG için 6 (%54.6), GG için 5 (%45.5)' tir. Tümör evresine benzer şekilde yapılan istatistiksel değerlendirmede Fisher's exact test ile tümör tipi ve genotip arasında istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır ($p=0.199$). 65 (%82.3) LD tutulumu olmayan olgunun 23' ü (% 35.4) AG, 42' si (%64.6) GG genotipindedir. LD tutulumu olan 14 (%17.7) olguda ise 6 olgu (%42.9) AG, 8 olgu (%57.1) GG genotipinde olup LD tutulumu ve genotip arasında yapılan analizlerde Fisher's exact test ile istatistiksel anlamlılık gözlenmemiştir ($p=0.761$). PM tutulumu olmayan 62 (%78.5) olgunun 22' si (%35.5) AG, 40' ı (%64.5) GG genotipindedir. PM tutulumu olan 17 (%21.5) olgunun ise 7' si (%41.2) AG, 10' u (%58.8) GG genotipindedir. Fisher's exact test ile hesaplanan p değeri PM tutulumu ile genotip arasında ilişki olmadığını göstermektedir ($p=0.778$). Over tutulumu olmayan 75 (%95.0) olgunun 26' sı (%34.7) AG, 49' u (%65.3) GG genotipindeyken over tutulumu olan 4 (%5.0) olgunun 3' ü (%75) AG, 1'i (%25) GG genotipindedir. Genotip ve over tutulumu arasında yapılan analizlerde Fisher's exact test ile istatistiksel anlamlılık izlenmemiştir ($p=0.137$). Bu sonuçlara benzer şekilde AG ve GG genotipleri ile Fisher's exact test ile sıvı tutulumu ($p=0.059$) ve vajen tutulumu ($p=0.738$) arasında istatistiksel anlamlılık izlenmemiştir. EM tutulumu olmayan 68 (%86.1) olgudan AG genotipindeki olgu sayısı 21 (%30.9), GG genotipindeki olgu sayısı 47 (%69.1)' dir. EM tutulumu olan 11 (%13.9) olgudan 8' i (%72.8) AG, 3' ü (%23.2) GG genotipindedir. Yapılan Fisher's exact test ile EM tutulumu ve AG ve GG genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

saptanmıştır (p=0.015).

Klinik parametrelerin değerlendirildiği analizlerde ise takiplerinde 75 (%95.0) ölüm görülmeyen olgunun 27'si (%36.0) AG, 48'i (%64.0) GG fenotipindedir. Ölümün görüldüğü 4 (%100) olguda AG genotipi ve GG genotipi eşit olup 2'şer olgudur (%50.0-%50.0) Yapılan analizlerde genotip ve ölüm arasında ilişki saptanmamıştır (p=0.622). 77 olguda değerlendirilebilen lokal nüks ve metastaz için genotipik yapılan analizlerde Fisher's exact test ile lokal nüks ve geç metastaz ile AG ve GG genotipleri açısından istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0.619, p=1.000).

5. TARTIŞMA

Serviks kanseri (SK) çoğunlukla az gelişmiş ülkelerde ortaya çıkan yıllık yaklaşık 750.000 yeni vaka ile dünya çapında en sık görülen jinekolojik malignite olup Türkiye' de SK kanser nedeni ölümler arasında 13. sıradadır (1-4). SK' ların %75- 85' ini SHK oluşturmaktadır (6). Kompleks bir tedavi protokolüne rağmen %40 oranında relaps görülen invaziv SK' lı olgularda bilinen evre, LD tutulumu, metastaz gibi faktörlerin dışında prognozu tahmin etmeye yarayacak belirteçlere ihtiyaç vardır. Bu nedenle tümör- hipoksi, tümör-tümör supresör gen ilişkisi yanısıra genetik polimorfizm gibi konuların prognostik verilerle ilişkileri incelenmektedir.

5.1. GLUT-1

Malign tümörler çeşitli moleküller aracılığıyla hipoksik durumlara uyum sağlarlar. Hipoksi invazivlik ve metastaz kapasitesi ile ilişkili neovaskülarizasyonu ve glikolitik aktiviteyi uyarır ve literatürdeki çalışmalar birçok tümörde belirgin hipoksi bölgeleri olduğunu göstermiştir (98).

Malign tümör gelişimi ayrıca hücre membranında glikoz taşıyıcı proteinlerin artışı ile sonuçlanan glikoz metabolizmasında artış ile desteklenen enerji bağımlı bir süreçtir. GLUT-1 glikoz alımına aracılık eder ve böylece anaerobik glikolizi kolaylaştırır. Bu protein, normal epitel ve benign tümörlerde çoğunlukla saptanamaz, ancak serviks, akciğer, mide ve kolorektal kanser dahil çeşitli tümörlerde ekspresyonu kötü prognoz ile ilişkili olarak bildirilmiştir (14-16, 98). Yapılan bazı araştırmalarda normal dokularda GLUT-1 ile boyanma olmadığı bildirilmiştir. Örneğin Mateja Legan ve ark. çalışmasında normal safra kesesi dokusunda (epitelyum ve altındaki konnektif dokuda) GLUT-1 immunreaktivitesi olmadığını göstermiştir. Hiperplastik lezyonların displaziye doğru değişiminde , GLUT-1 zayıf ve fokal pozitiflikten başlayıp daha geniş ve kuvvetli pozitifliğe doğru ilerlediği, yüksek dereceli displastik safra kesesi dokusunda daha diffüz bir ekspresyon saptanırken karsinomlarında kuvvetli pozitifliğin dikkati çektiği gösterilmiştir (98). Servikte 51 SHK spesmeni, 20 normal serviks dokusu ve 20 CIN olgusunu içeren çalışmada; 20 normal serviks spesmeninin çoğunun yalnızca bazal tabakalarında GLUT-1 pozitifliği izlenirken, %5 vakada epitelyal komponentte pozitiflik bildirilmiştir. 51 SK spesmeninin 48' inde (%94.1) GLUT-1 overekspresyonu gözlenirken kalan 3 olguda (%5.9) minimal ekspresyon izlendiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada normal servikal epitelyum

yalnızca bazal tabakada ve zayıf olarak GLUT-1 pozitifliği gösterdiği, 31 primer serviks SHK olgusunun tümünün olumlu boyanma gösterdiği belirtilmiştir. 31 olgudan 21' i (%68) orta veya kuvvetli pozitiflik gösterirken tümör stroması GLUT-1 negatiftir. Boyanma yoğunluğunun tüm derecelerdeki displazilere ve normal epitele göre karsinomlarda belirgin olarak artmış izlendiği de saptanmıştır (p=0.001) (72).

Klinik evre, lenf nodu metastazı, tümör boyutu ve invazyon derinliği gibi parametrelerin birçok tümörde önemi olduğu gibi serviks karsinomunda da önemi büyüktür. En önemli parametre olarak görülen evre ve GLUT-1 ilişkisi çeşitli çalışmalarda farklı sonuçlarla karşımıza çıkmaktadır. 2007 yılında baş boyun bölgesinden 8' i iyi diferansiye, 14' ü orta derecede diferansiye, 3' ü az diferansiye toplam 25 SHK olgusunun dahil edildiği çalışmada GLUT-1 immunreaktivitesi hücre membranlarında değerlendirilip boyanma yok, hafif, orta, şiddetli olarak kategorize edilmiştir. Yapılan analizlerde tümörlerin T evresi düşüklüğü ya da yüksekliği ile ilgili istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır (p=0.07) (73). Yine oral kavite SHK'larında yapılan bir araştırmada GLUT-1 ekspresyonu ile tümör evresi arasında ilişki izlenmemiştir (74). Benzer şekilde Özbudak İ. ve ark. pulmoner nöroendokrin karsinomlar üzerinde yaptıkları araştırmada, %47 (75/161) pulmoner nöroendokrin karsinomun GLUT-1 ile immunreaktivite göstermekle birlikte, bu reaktivitenin tümör çapı ya da evresi ile korele olmadığı gösterilmiştir (75). Behrooz A. ve ark. ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterememelerine rağmen evre I-II tümörlere göre erken evreyi geçen tümörlerde daha yüksek seviyede GLUT-1 ekspresyonu gözlemlediklerini rapor etmişlerdir (56). Rektal tümörlerde yapılan çalışmada da GLUT-1 ve tümör evresi arasında ilişki gösterilememiştir (p=0.770) (97). Jinekolojik malignitelerde durum biraz farklılık göstermektedir. Epitelial over karsinomlu 154 spesimde glikoz transporterlarının (GLUT-1, GLUT-3 and GLUT-4) immunhistokimyasal olarak incelendiği bir çalışmada GLUT-1 ve GLUT-4 ekspresyonlarının klinik hastalığın evresi ile korele olduğunu bildirilmiştir (76). FIGO Evre I-IV olan ve total abdominal histerektomi, bilateral salpingooferektomi ve pelvik lenf düğümü diseksiyonu operasyonları uygulanan 100 endometrioid tipte adenokarsinom vakasında yapılan çalışmada tüm olgularda, belirli bir skorlama sistemi kullanılarak immünohistokimyasal olarak GLUT-1 ekspresyonu skorlanmıştır. Farklı evreler, GLUT-1 puanlarına göre karşılaştırıldığında, artan evrelerin yüksek GLUT-1 skorları ile korele olduğu bulunmuştur ve yine farklı evrelerdeki hastaların GLUT-1 skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (p=0.001) (77). 2005 yılında SK

olgularında yapılan çalışmada GLUT-1 ekspresyonunun FIGO evresi ile doğrusal olarak artış gösterdiği bildirilmiştir (p=0.002) (78). Bizim çalışmamız da jinekolojik bir malignite üzerine olmakla birlikte tümör evresi ile GLUT-1 ekspresyonu ile istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0.291). Bu duruma çalışmaya dahil edilen ileri evre olgularının sayısındaki azlık neden olmuş olabilir. Evre gruplarının daha homojen olduğu bir seride farklı sonuçlar elde edilebilir.

Diğer bir önemli parametre olan lenf düğümü tutulumuna dair Mayer A. Ve ark SK ve Eckert A. Ve ark oral SHK' larda yaptıkları farklı çalışmalarında GLUT-1 ekspresyonunun pN evresi ile korelasyon göstermediği saptanmıştır (78, 74). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da LD ile GLUT-1 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlılık izlenmemiştir. (p=0.551). Ancak 1998 yılındaki kolorektal karsinomlarda yapılan bir araştırmada GLUT-1 ekspresyonunun daha yüksek sıklıkta lenf nodu metastazı ile korele olduğunu saptamışlardır (15) . 2007 yılında yayınlanan ve dil SHK' ları üzerine yapılan bir çalışmada da lenf düğümü metastazı yüksek GLUT-1 ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur (p =0.010) (70).

Tedaviye yanıtın önemli bir göstergesi olan lokal nüks ile ilgili oral SHK olgularında yapılan 82 olguyu kapsayan araştırmada 79 olgunun tümörünün GLUT- 1 ile değişken derecelerde boyanma gösterdiği ve GLUT-1 ekspresyonu ve lokal nüks arasında bir korelasyon gözlemlendiği yayınlanmıştır. Aynı çalışmada düşük derecede GLUT-1 ekspresyonu olan olgularda lokal nüks riski %13.3 iken, artmış GLUT-1 ekspresyonu yüksek derecede olan olgularda bu oran %68.4' e ulaştığı raporlanmıştır (p=0.010) (74). Buna karşılık yine oral kaviteyi ilgilendiren ancak dil karsinomları üzerinde yapılan çalışmada tümör lokal nüksünün GLUT-1 ekspresyonu ile anlamlı ilişkisi saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde GLUT-1 ekspresyonu ile lokal nüks arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0.323). Ek olarak biz çalışmamızda GLUT-1 ekspresyonu ile uzak metastazlar arasında istatistiksel anlamlı ilişki gözlemedik (p=0.186). 2003 yılında rektal tümörlerde yapılan çalışmada GLUT-1 ve metastaz arasında ilişki saptanmamıştır (p=0.520) (97). Başka bir yayında ise ileri evre SK'larda GLUT-1 ekspresyonunun hasta yaşı (p=0.018), tümör evresi (p=0.019) ve hastalık derecesinden (p=0.049) sonra metastazsız sağkalımda belirgin bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (68).

Tedaviye yanıtı gösteren bir diğer belirteç olan yaşam süresi ve ölüm göz önüne alındığında genel olarak GLUT-1 ekspresyonunun olumsuz bir gösterge olduğuna dair yayınlar

bulunmaktadır. Haber ve ark. kolon kanseri gidişatı ile GLUT-1 ekspresyonu arasındaki ilişki üzerine yaptıkları çalışmalarında %50' den fazla GLUT-1 pozitifliği olan malign tümör hücrelerini içeren kolon karsinomlarının %50' den az pozitif hücre içerenlere göre mortalite hızının 2.3 kat arttığını bulmuşlardır (15). 93 olgunun dahil edildiği endometrioid endometrial adenokarsinom çalışmasında GLUT-1 olguların 76'sında (%81) membranöz pozitiflik göstermiş ve GLUT-1 ekspresyonu kısılmış hastaliksız sağ kalım ile korele olarak bulunmuştur (p=0.037) (76). 2001 yılındaki SK olgularında yapılan çalışmaya göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte tümörde GLUT-1 ekspresyonu yokken, artmış sağ kalım için anlamlı olmayan bir eğilimin kanıtları gözlenmiştir (p = 0.310) (68). Airley ve ark. servikal AK' lar üzerine yaptıkları yayınlarında GLUT-1 ekspresyon yokluğu ve hastaliksız sağ kalım arasında belirgin bir ilişki göstermişlerdir (11). 2005 yılında yayınlanmış lokal ileri SK olgularını içeren bir çalışmada Univariate Kaplan-Meier sağ kalım analizi tümüyle GLUT-1 negatif tümörlerde belirgin artmış sağkalım (p=0.004) ve lokal nüks olmadan sağ kalım (p=0.007) gösterdiği raporlanmıştır (78). Bu yayınlara zıt olarak dilin SHK' larında 2007 yılında yapılan bir çalışmada GLUT-1 ekspresyonu sağ kalım için bağımsız prognostik önemini göstermek için başarılı olmamıştır (p > 0.05) (70). Benzer şekilde Özbudak İ. ve ark yayınlarında da tek değişkenli analizde GLUT-1 skorunun sağkalım ile korelasyon göstermediği saptanmıştır (75). Bizim çalışmamızda da GLUT-1 ekspresyonu ile sağ kalım arasında ilişki bulunmamıştır (p=0.570) .

5.2. MASPİN

Bir proteaz inhibitörü olan Maspın ayrıca tip II tümör baskılayıcı gen olarak tanımlanmıştır (21-24). Nükleer, sitoplazmik ya da nükleer ve sitoplazmik boyanma yapabileceği çeşitli yayınlarda bildirilen maspinin tümör ile ilişkisi çeşitli yayınlarda farklı şekillerde aktarılmıştır (83-86)

Kolorektal AK' da yapılan bir çalışmada karsinom hücrelerinde tümör içinde diffüz olarak dağılım gösteren değişken seviyelerde nükleer ve sitoplazmik pozitiflik olduğu bilirmiştir. İstatistiksel analizler nonkanseroz mukozadan AK' ya doğru gidildikçe maspin ekspresyonunda artış olduğunu işaret etmektedirler (p<0.05) (84). 41 endometrioid endometrium karsinomunda yapılan çalışmada aberran maspin ekspresyonu 41 endometrioid karsinom olgusunun 27' sinde (% 66) izlenirken normal endometrial glandlarda izlenmemiştir (86). Kumamoto H. ve ark. 2007

yılında yayınladıkları bir araştırmada ameloblastik karsinomda maspin ekspresyonunun azaldığını belirtmişlerdir (87). Başka bir yayında da maspinin histolojik derece ile belirgin düzeyde ilişkili olduğu ($p=0.007$), diferansiasyon azaldıkça maspin ekspresyonunda kayıp ya da azalmanın dikkati çektiği raporlanmıştır (83). Üretelyal karsinomlu 51 mesane tümörlü hastada yapılan çalışmada maspin seviyesinin in vitro ve in vivo mesane tümör hücre hatlarında büyüme hızı ile korelasyon gösterdiği ve hastaların prognozu ile ters yönde korele olduğu bildirilmiştir (88).

Maspin ve invaziv serviks karsinomu ile ilişkili yapılan tek çalışma 2001-2002 yılları arasında CIN3, MIKA ve invaziv SHK olguları dahil edilerek yapılmış olup çalışmada maspin ekspresyonunun CIN3 ve MIKA olgularında invaziv SHK olgularına göre belirgin şekilde kuvvetli olduğu gözlemlenmiştir (Mann-Whitney U/ $p=0.005$ ve $p=0.050$). Diğer klinikopatolojik parametreler değerlendirilmemiştir (89).

Tümör evresi ve LD metastazı ve LVI'nın değerlendirildiği diğer tümörlere ait çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Larinks karsinomlarında yapılan bir araştırma sonucunda maspin ekspresyonu ve LD durumu ($pN0/pN+$) arasındaki istatistiklerde anlamlı korelasyon gözlenmediği rapor edilmiştir ($p=0.71$) (90). Primer küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında yapılan bir araştırmada maspin ekspresyonunun tümör evresi veya LD durumu ile ilişkili olmadığı saptanmıştır (91). Dengfeng Cao ve ark. 2007 yılında yayınladıkları makalede maspin ekspresyonunun tümör patolojik evresi, LD durumu, LVI yada perinöral invazyon ile ilişkili olmadığını belirtmişlerdir (92). Huachuan Zheng ve ark kolorektal neoplazili olgularda yaptıkları çalışmada maspin ekspresyonu tümör boyutu, invazyon derinliği, damarlarda lokal invazyon, metastaz, diferansiasyon ile ilişki göstermediği bildirilmiştir ($p>0.05$) (84). Benzer şekilde Yoshihisa Umetika ve ark. kolorektal karsinomlar üzerine 2006 yılında yayınladıkları çalışmada LD metastazı, LVI ile maspin ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlılık bulmadıklarını belirtmişlerdir (93). Jinekolojik maligniteler söz konusu olduğunda Hang Wun Raymond LI ve ark. 34 endometriod endometrium adenokarsinomlu (FIGO evre I ve III) ve 28 normal endometrium dokusunu dahil ettikleri çalışmalarında normal endometriumla kıyasladıklarında evre I ve III tümörlü olguların maspin ekspresyonlarının daha fazla olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.01$). Ancak aynı ilişki evre I ve evre III arasında gösterilememiştir (94). 237 gastrik karsinom, 23 normal mukoza 38 intestinal metaplazi, 42 adenomun dahil edilerek planlandığı bir araştırmada TMA yapılmış ve maspin ekspresyonu değerlendirilmiştir. Önceki

çalışmaların aksine bu çalışmada invazyon derinliği, LVI, LD metastazı ve TNM evresi ile maspin ekspresyonu arasında pozitif korelasyon saptandığı bildirilmiştir ($p<0.050$) (94). Benign ve malign lezyonlar ile 5 çevre normal tiroid dokusunun kontrol doku olarak dahil edildiği toplam 63 tiroid materyalinin değerlendirildiği bir çalışmada ise maspin pozitifliğinin yalnızca papiller tiroid karsinomunda (PTK) saptandığı rapor edilmiştir (95). Tümör evresinin de dahil olduğu klinikopatolojik parametreler ile maspin pozitif olguların arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadığı bildirilmiştir. Ancak diğer yandan tümör multisentrisitesi ($p=0.01$), LVI ($p=0.03$) ve LD metastazı ile istatistiksel belirgin anlamlılık saptandığı belirtilmiştir (95). Biz çalışmamızda maspin ekspresyonu ile LD metastazı arasında istatistiksel anlamlılık saptamadık ($p=0.569$). Ancak tümör evresi arttıkça maspin ekspresyonunun arttığını ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gördük ($p=0.048$)

Tedavi yanıtı değerlendirmesindeki önemli faktörlerden biri olan lokal nüks ile ilişkili çok fazla yayın bulunmamakla birlikte Jae Hoon Cho ve ark. dil kanserleri üzerine yaptıkları çalışmada bizim çalışmamızla benzer şekilde maspin ekspresyonu ve lokal nüks arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p=0.207$) (96). Bir diğer faktör olan metastaz konusunda Huachuan Zheng ve ark kolorektal neoplazili olgularda yaptıkları çalışmada maspin ekspresyonu kolorektal karsinomun karaciğer metastazı ile negatif olarak ilişkili olduğunu saptamışlardır ($p<0.05$) (84). Ancak biz maspin ekspresyonu ile metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösteremedik ($p>0.05$). Benzer şekilde Tahany M ve ark. 2006 yılındaki çalışmada tiroid papiller karsinomda uzak metastaz olan olgularda maspin ekspresyon kaybı göstermesine rağmen bu verinin istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığını bildirmiştir (95). Over yüzey epitelyal tümörlerinde yapılan bir araştırmada ise %56.3 bilateral olgu, %62.1 metastazlı olgu ve %62.5 yüksek dereceli olgu maspin ekspresyonu göstermesine rağmen bu sonuçların istatistiksel olarak anlamlılığının saptanmadığı rapor edilmiştir (81).

Prognozu değerlendirmekte kullanılan önemli bir belirteç olan sağ kalım da yayınlar arasında çeşitlilik göstermektedir. Meme kanser olgularında 2007 yılında yapılan bir çalışmada tek değişkenli analizde sağ kalımın maspin ekspresyonu ($p=0.007$) ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturduğu gösterilmiştir (79). Yine invaziv meme karsinomlu olgularda TMA yapılarak immunhistokimyasal maspin ekspresyonunun değerlendirildiği çalışmada LD tutulumu olmayan tümürlü olgularda, maspin overekspresyonunun atmış ölüm riski ile ilişkilendirildiği rapor edilmiştir ($p=0.038$) (80). 2007 yılındaki başka bir araştırmada ise tek ve çok değişkenli

analizlerde maspin ekspresyonu ile mide kanseri arasında kümülatif sağ kalım oranları açısından negatif korelasyona gözlenmekle birlikte (<0.050) prognoz için bağımsız bir faktör olmadığı belirtilmiştir (94). 223 pankreatik duktal adenokarsinom olgusunda yapılan çalışmada maspin ekspresyonu daha kısa postoperatif sağ kalım ile ilişkili saptandığı yayınlanmıştır ($p=0.045$) (92). Bu yayınların aksine Solomon L.A. ve ark over karsinomlu olgularda yaptığı çalışmasında da yüksek maspin ekspresyonunun over karsinomlarında uzamış sağ kalım ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (82). Bizim çalışmamızda maspin ekspresyonu ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde 2007 yılında dil kanserleri konulu araştırmada sağkalım eğrileri düşük ve yüksek maspin ekspresyonu ile korelasyon göstermemektedir (97). Huachuan Zheng ve ark kolorektal neoplazili olgularda yaptıkları çalışmada Kaplan-Meier analizine göre maspin ekspresyonu ve olguların sağkalımı arasında ilişki saptanamamışlardır ($p>0.05$) (84). 2005 yılında over tümörleri üzerine yapılan çalışmada da yine sağ kalım ile maspin ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlılık görülmemiştir (91).

5.1. MPO

MPO nötrofillerin ve monositlerin sitoplazmik granüllerinden degradasyon ile salınır. H₂O₂ ile tepkimesi sonucu ortaya çıkan ürünler kuvvetli oksidan maddelerdir. Bu ürünlerin konağın savunmasında bakteri, fungus, virüsler, malign veya malign olmayan hücrelere hasar verme hedefleri gibi önemli rolleri vardır (99-106). Ancak bu oksidan aktivite prokarsinojenleri uyarabilir ve H₂O₂' nin aracılık ettiği DNA hasarı ile sonuçlanabilir (108,109).

MPO geninde polimorfik bir bölge bulunmaktadır (-463G/A). MPO geninde -463 tip G polimorfizmi artmış MPO ekspresyonu ve sonucunda da çeşitli tümör türleriyle karşımıza çıkabilir. 2002 yılında akciğer kanseri histolojik tiplerinde yapılan bir çalışmada MPO -463 A alelinin sigara içen popülasyonda küçük hücreli karsinom için azalmış risk göstergesi olduğu saptanmıştır (63). 91 özefagus tümörü ve 241 tümörsüz olguda yapılan çalışmada MPO -463 A aleli azalmış özefagus kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (64). MPO G-463A homozigot varyantı azalmış mesane kanseri ile ilişkili olarak rapor edilmiştir (65). 125 over tümörlü olgu ve 193 kontrol olgusunun dahil edildiği çalışmada MPO ile over kanseri riski arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (66).

Bizim çalışmamızda SK gelişimi ile ilgili veri bulunmamakla birlikte SK prognozuna dair

klirik veriler ile MPO gen polimorfizminin ilişkisi araştırılmıştır. Literatürde bu konu ile ilgili yapılan ilk çalışmadır. Saptanan 2 genotip olan AG ve GG arasında tümör evresi, tümör tipi, LD durumu, metastaz ve lokal nüks varlığı, PM, over, sıvı, vajen ve CS tutulumları ile istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak yapılan analizlerde Fisher's exact test ile EM tutulumu ve AG ve GG genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.015$).

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamıza tanı anındaki yaşları 27 ve 80 arasında değişen (ortalama:52.32± 11.911) 114 SK' lı olgu dahil edildi.
2. Değerlendirilen materyal türleri radikal (histerektomi, bilateral salphingooferektomi ve lenf düğümü diseksiyonu), biyopsi, endoservikal küretaj, konizasyon dış merkez biyopsisinin ve radikal materyallerinin konsültasyonudur.
3. Olgularda en sık görülen tümör tipi SHK (%87,7) olup diğer tümörler ASK (%5.3), AK(%3.5), az diferansiye karsinom (ADK) (%2.6) ve karsinosarkomdur (KS) (%0.9).
4. GLUT-1 immunhistokimyası değerlendirilebilen 105 olguda patolojik parametreler (tümör tipi, tümör evresi, LD, EM, PM, CS, over, sıvı ve vajen tutulumları) ve klinik parametreler (lokal nüks, metastaz, ölüm) ile GLUT-1 ekspresyonu arasında anlamlı fark saptanmadı.
5. Maspin immunhistokimyası değerlendirilebilen 106 olguda maspin ekspresyonu ile tümör evresi korelasyon gösterirken (p=0.048) diğer patolojik parametreler (tümör tipi, LD, EM, CS, over, sıvı ve vajen tutulumları) ve klinik parametreler (lokal nüks, metastaz, ölüm) ile maspin ekspresyonu arasında anlamlı fark saptanmadı.
6. MPO gen polimorfizmi için PCR uygulanabilen 79 olgudan 29' u (%36.7) AG (Adenin-Guanin), 50' si (%63.3) GG (Guanin-Guanin) genotipinde olduğu belirlendi. Bu olgularda yapılan istatistiksel analizlerde EM tutulumu ve AG / GG genotipleri arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu (p=0.015). Ancak diğer patolojik parametreler (tümör tipi, tümör evresi, LD, PM, CS, over, sıvı ve vajen tutulumları) ve klinik parametreler (lokal nüks, metastaz, ölüm) ile AG / GG genotipleri arasında ilişki saptanmadı.
7. Çalışmamız maspin ve evre ilişkisi dışında literatürde prognostik önemi bildirilen patolojik ve klinik parametreler ile immunhistokimyasal ve moleküler olarak çalıştığımız belirleyiciler arasında ilişki kurmakta zayıf kalmıştır. Daha geniş bir seride ya da daha çok parametre ile çalışma yapılması bu zayıflığı ortadan kaldırabilir.
8. Çalışmamıza dahil olan olgular arasında ölüm nadir görüldüğünden sağ kalım ve GLUT-1, maspin, MPO ilişkisi yeterli değerlendirilememiştir. Daha fazla sayıda ölüm olgusunun olduğu seride çalışmak bu ilişkiyi göstermekte etkin olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Rose PG. Chemoradiotherapy for cervical cancer. *Eur J Cancer*. 2002 Jan;38(2):270-8. Review.
2. Advances in the treatment of cervical cancer. International Network for Cancer Treatment and Research, Brussels, Belgium, 20 April, 2001 Meeting
3. Global cancer statistics. Parkin DM et al. *CA Cancer J Clin* 1999, 49
4. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer*. 1999 Mar 15;80(6):827-41.
5. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin*. 2000 Jan-Feb;50(1):7-33.
6. RJ Kurman. Carcinoma and other tumors of the cervix. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. Edited by RJ Kurman. Wright TC New York, Springer, 2002
7. International Agency for Research on Cancer. Available at: www-dep.iarc.fr/globocan/database.htm.
8. Younes M, Lechago LV, Somoano JR, Mosharaf M, Lechago J. Wide expression of the human erythrocyte glucose transporter Glut1 in human cancers. *Cancer Res*. 1996 Mar 1;56(5):1164-7.
9. Pardridge WM, Boado RJ, Farrell CR. Brain-type glucose transporter (GLUT-1) is selectively localized to the blood-brain barrier. Studies with quantitative western blotting and in situ hybridization. *J Biol Chem*. 1990 Oct 15;265(29):18035-40.
10. Froehner SC, Davies A, Baldwin SA, Lienhard GE. The blood-nerve barrier is rich in glucose transporter. *J Neurocytol*. 1988 Apr;17(2):173-8
11. Airley R, Loncaster J, Davidson S, Bromley M, Roberts S, Patterson A, Hunter R, Stratford I, West C. Glucose transporter glut-1 expression correlates with tumor hypoxia and predicts metastasis-free survival in advanced carcinoma of the cervix. *Clin Cancer Res*. 2001 Apr;7(4):928-34.
12. Kurokawa T, Yoshida Y, Kawahara K, Tsuchida T, Okazawa H, Fujibayashi Y, Yonekura Y, Kotsuji F. Expression of GLUT-1 glucose transfer, cellular proliferation activity and grade of tumor correlate with [F-18]-fluorodeoxyglucose uptake by positron emission tomography in epithelial tumors of the ovary. *Int J Cancer*. 2004 May 10;109(6):926-32

13. Bos R, van Der Hoeven JJ, van Der Wall E, van Der Groep P, van Diest PJ, Comans EF, Joshi U, Semenza GL, Hoekstra OS, Lammertsma AA, Molthoff CF. Biologic correlates of (18)fluorodeoxyglucose uptake in human breast cancer measured by positron emission tomography. *J Clin Oncol.* 2002 Jan 15;20(2):379-87. Expression of facilitative glucose transporters in gastric tumors. Noguchi Y, et al. *Hepatogastroenterology* 1999;46
14. Haber RS, Rathan A, Weiser KR, Pritsker A, Itzkowitz SH, Bodian C, Slater G, Weiss A, Burstein DE. GLUT1 glucose transporter expression in colorectal carcinoma: a marker for poor prognosis. *Cancer.* 1998 Jul 1;83(1):34-40.
15. Zador S. Correspondence re: Ito T, Noguchi Y, Satoh S, Hayashi H, Inayama Y, Kitamura H: Expression of facilitative glucose transporter isoforms in lung carcinomas: its relation to histologic type, differentiation grade, and tumor stage. *Mod Pathol* 1998; 11:437-443. *Mod Pathol.* 1998 Nov;11(11):1146.
16. Nishioka T, Oda Y, Seino Y, Yamamoto T, Inagaki N, Yano H, Imura H, Shigemoto R, Kikuchi H. Distribution of the glucose transporters in human brain tumors. *Cancer Res.* 1992 Jul 15;52(14):3972-9
17. Boado RJ, Black KL, Pardridge WM. Gene expression of GLUT3 and GLUT1 glucose
18. transporters in human brain tumors. *Brain Res Mol Brain Res.* 1994 Nov;27(1):51-7.
19. Mellanen P, Minn H, Grénman R, Härkönen P. Expression of glucose transporters in head-and-neck tumors. *Int J Cancer.* 1994 Mar 1;56(5):622-9.
20. Yamamoto T, Seino Y, Fukumoto H, Koh G, Yano H, Inagaki N, Yamada Y, Inoue K, Manabe T, Imura H. Over-expression of facilitative glucose transporter genes in human cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990 Jul 16;170(1):223-30.
21. Sager R, Sheng S, Pemberton P, Hendrix MJ. Maspin: a tumor suppressing serpin. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1996;213 (Pt 1):51-64. Review.
22. Seftor RE, Seftor EA, Sheng S, Pemberton PA, Sager R, Hendrix MJ. Maspin suppresses the invasive phenotype of human breast carcinoma. *Cancer Res.* 1998 Dec 15;58(24):5681-5.
23. Sheng S, Carey J, Seftor EA, Dias L, Hendrix MJ, Sager R. Maspin acts at the cell membrane to inhibit invasion and motility of mammary and prostatic cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Oct 15;93(21):11669-74.
24. Zhang M, Volpert O, Shi YH, Bouck N. Maspin is an angiogenesis inhibitor. *Nat Med.*

2000 Feb;6(2):196-9.

25. Zou Z, Anisowicz A, Hendrix MJ, Thor A, Neveu M, Sheng S, Rafidi K, Seftor E, Sager R. Maspin, a serpin with tumor-suppressing activity in human mammary epithelial cells. *Science*. 1994 Jan 28;263(5146):526-9.
26. Zou Z, Gao C, Nagaich AK, Connell T, Saito S, Moul JW, Seth P, Appella E, Srivastava S. p53 regulates the expression of the tumor suppressor gene maspin. *J Biol Chem*. 2000 Mar 3;275(9):6051-4.
27. Boltze C, Schneider-Stock R, Quednow C, Hinze R, Mawrin C, Hribaschek A, Roessner A, Hoang-Vu C. Silencing of the maspin gene by promoter hypermethylation in thyroid cancer. *Int J Mol Med*. 2003 Oct;12(4):479-84.
28. Mueller E, Sarraf P, Tontonoz P, Evans RM, Martin KJ, Zhang M, Fletcher C, Singer S, Spiegelman BM. Terminal differentiation of human breast cancer through PPAR gamma. *Mol Cell*. 1998 Feb;1(3):465-70.
29. Jiang WG, Hiscox S, Horrobin DF, Bryce RP, Mansel RE. Gamma linolenic acid regulates expression of maspin and the motility of cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 Aug 28;237(3):639-44.
30. Sood AK, Fletcher MS, Gruman LM, Coffin JE, Jabbari S, Khalkhali-Ellis Z, Arbour N, Seftor EA, Hendrix MJ. The paradoxical expression of maspin in ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2002 Sep;8(9):2924-32.
31. Maass N, Hojo T, Ueding M, Lüttges J, Klöppel G, Jonat W, Nagasaki K. Expression of the tumor suppressor gene Maspin in human pancreatic cancers. *Clin Cancer Res*. 2001 Apr;7(4):812-7.
32. Hirai K, Koizumi K, Haraguchi S, Hirata T, Mikami I, Fukushima M, Yamagishi S, Kawashima T, Okada D, Shimizu K, Kawamoto M. Prognostic significance of the tumor suppressor gene maspin in non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg*. 2005 Jan;79(1):248-53.
33. Ito Y, Yoshida H, Tomoda C, Uruno T, Takamura Y, Miya A, Kobayashi K, Matsuzuka F, Matsuura N, Kuma K, Miyauchi A. Maspin expression is directly associated with biological aggressiveness of thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2004 Jan;14(1):13-8.
34. Sugimoto S, Maass N, Takimoto Y, Sato K, Minei S, Zhang M, Hoshikawa Y, Jünemann KP, Jonat W, Nagasaki K. Expression and regulation of tumor suppressor gene maspin in

- human bladder cancer. *Cancer Lett.* 2004 Jan 20;203(2):209-15.
35. Bidwell J, Keen L, Gallagher G, Kimberly R, Huizinga T, McDermott MF, Oksenberg J, McNicholl J, Pociot F, Hardt C, D'Alfonso S. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun.* 1999 Sep;1(1):3-19.
 36. Winterbourn CC, Kettle AJ. Biomarkers of myeloperoxidase-derived hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med.* 2000 Sep 1;29(5):403-9.
 37. Terashima M, Maesawa C, Oyama K, Ohtani S, Akiyama Y, Ogasawara S, Takagane A, Saito K, Masuda T, Kanzaki N, Matsuyama S, Hoshino Y, Kogure M, Gotoh M, Shirane M, Mori K. Gene expression profiles in human gastric cancer: expression of maspin correlates with lymph node metastasis. *Br J Cancer.* 2005 Mar 28;92(6):1130-6.
 38. Huang SK, Chiu AW, Pu YS, Huang YK, Chung CJ, Tsai HJ, Yang MH, Chen CJ, Hsueh YM. Arsenic methylation capability, myeloperoxidase and sulfotransferase genetic polymorphisms, and the stage and grade of urothelial carcinoma. *Urol Int.* 2009;82(2):227-34.
 39. Li D, Diao Y, Li H, Fang X, Li H. Association of the polymorphisms of MTHFR C677T, VDR C352T, and MPO G463A with risk for esophageal squamous cell dysplasia and carcinoma. *Arch Med Res.* 2008 Aug;39(6):594-600.
 40. Dally H, Gassner K, Jäger B, Schmezer P, Spiegelhalder B, Edler L, Drings P, Dienemann H, Schulz V, Kayser K, Bartsch H, Risch A. Myeloperoxidase (MPO) genotype and lung cancer histologic types: the MPO -463 A allele is associated with reduced risk for small cell lung cancer in smokers. *Int J Cancer.* 2002 Dec 10;102(5):530-5.
 41. Winterbourn CC, Vissers MC, Kettle AJ. Myeloperoxidase. *Curr Opin Hematol.* 2000 Jan;7(1):53-8.
 42. Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev.* 2004 Oct;84(4):1381-478.
 43. Johnson, K. R., Nauseef, W. M. (1991) Molecular biology of myeloperoxidase. In *Peroxidases in Chemistry and Biology* (J. Everse, K. Everse, and M. Grisham, eds.), Boca Raton, FL: CRC Press, 63–82
 44. Blicharski J, Wolska T, Zduńczyk A, Bodzoń A, Lisiewicz J, Piotrowski J, Klimczyk K.

- Enzymes of neutrophils in women with malignant tumors of reproductive organs. *Folia Histochem Cytochem (Krakow)*. 1980;18(3):173-82.
45. RJ Kurman. Carcinoma and other tumors of the cervix. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. Edited by RJ Kurman. Wright TC New York, Springer, 2011
 46. Smith HO, Tiffany MF, Qualls CR, Key CR. The rising incidence of adenocarcinoma relative to squamous cell carcinoma of the uterine cervix in the United States--a 24-year population-based study. *Gynecol Oncol*. 2000 Aug;78(2):97-105
 47. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynaecol Obstet*. 2009 May;105(2):103-4. Erratum in: *Int J Gynaecol Obstet*. 2010 Feb;108(2):176.
 48. Cairns M, Cruickshank M. A review of women with microinvasive cervical cancer in the Grampian region. *J Low Genit Tract Dis*. 2007 Oct;11(4):290-3.
 49. Zivanovic O, Leitao MM Jr, Park KJ, Zhao H, Diaz JP, Konner J, Alektiar K, Chi DS, Abu-Rustum NR, Aghajanian C. Small cell neuroendocrine carcinoma of the cervix: Analysis of outcome, recurrence pattern and the impact of platinum-based combination chemotherapy. *Gynecol Oncol*. 2009 Mar;112(3):590-3.
 50. Peters WA 3rd, Liu PY, Barrett RJ 2nd, Stock RJ, Monk BJ, Berek JS, Souhami L, Grigsby P, Gordon W Jr, Alberts DS. Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix. *J Clin Oncol*. 2000 Apr;18(8):1606-13.
 51. Takeda N, Sakuragi N, Takeda M, Okamoto K, Kuwabara M, Negishi H, Oikawa M, Yamamoto R, Yamada H, Fujimoto S. Multivariate analysis of histopathologic prognostic factors for invasive cervical cancer treated with radical hysterectomy and systematic retroperitoneal lymphadenectomy. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2002 Dec;81(12):1144-51.
 52. Ostör AG. Early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol*. 2000 Jan;19(1):29-38.
 53. Kawamura T, Kusakabe T, Sugino T, Watanabe K, Fukuda T, Nashimoto A, Honma K, Suzuki T. Expression of glucose transporter-1 in human gastric carcinoma: association with tumor aggressiveness, metastasis, and patient survival. *Cancer*. 2001 Aug 1;92(3):634-41.

54. Cantuaria G, Fagotti A, Ferrandina G, Magalhaes A, Nadji M, Angioli R, Penalver M, Mancuso S, Scambia G. GLUT-1 expression in ovarian carcinoma: association with survival and response to chemotherapy. *Cancer*. 2001 Sep 1;92(5):1144-50.
55. Yasuda M, Ogane N, Hayashi H, Kameda Y, Miyagi Y, Iida T, Mori Y, Tsukinoki K, Minematsu T, Osamura Y. Glucose transporter-1 expression in the thyroid gland: clinicopathological significance for papillary carcinoma. *Oncol Rep*. 2005 Dec;14(6):1499-504.
56. Behrooz A, Ismail-Beigi F. Stimulation of Glucose Transport by Hypoxia: Signals and Mechanisms. *News Physiol Sci*. 1999 Jun;14:105-110.
57. Hsu PP, Sabatini DM. Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. *Cell*. 2008 Sep 5;134(5):703-7.
58. Dang CV, Kim JW, Gao P, Yustein J. The interplay between MYC and HIF in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2008 Jan;8(1):51-6.
59. Marshall B, Dunlop G, Ramsay G, Squire GR. Temperature-dependent germination traits in oilseed rape associated with 5'-anchored simple sequence repeat PCR polymorphisms. *J Exp Bot*. 2000 Dec;51(353):2075-84
60. Mäkelä S, Hurme M, Ala-Houhala I, Mustonen J, Koivisto AM, Partanen J, Vapalahti O, Vaheri A, Pasternack A. Polymorphism of the cytokine genes in hospitalized patients with Puumala hantavirus infection. *Nephrol Dial Transplant*. 2001 Jul;16(7):1368-73.
61. Misra RR, Tangrea JA, Virtamo J, Ratnasinghe D, Andersen MR, Barrett M, Taylor PR, Albanes D. Variation in the promoter region of the myeloperoxidase gene is not directly related to lung cancer risk among male smokers in Finland. *Cancer Lett*. 2001 Mar 26;164(2):161-7.
62. Schabath MB, Spitz MR, Zhang X, Delclos GL, Wu X. Genetic variants of myeloperoxidase and lung cancer risk. *Carcinogenesis*. 2000 Jun;21(6):1163-6.
63. Dally H, Gassner K, Jäger B, Schmezer P, Spiegelhalder B, Edler L, Drings P, Dienemann H, Schulz V, Kayser K, Bartsch H, Risch A. Myeloperoxidase (MPO) genotype and lung cancer histologic types: the MPO -463 A allele is associated with reduced risk for small cell lung cancer in smokers. *Int J Cancer*. 2002 Dec 10;102(5):530-5.

64. Matsuo K, Hamajima N, Shinoda M, Hatooka S, Inoue M, Takezaki T, Onda H, Tajima K. Possible risk reduction in esophageal cancer associated with MPO -463 A allele. *J Epidemiol*. 2001 May;11(3):109-14.
65. Hung RJ, Boffetta P, Brennan P, Malaveille C, Gelatti U, Placidi D, Carta A, Hautefeuille A, Porru S. Genetic polymorphisms of MPO, COMT, MnSOD, NQO1, interactions with environmental exposures and bladder cancer risk. *Carcinogenesis*. 2004 Jun;25(6):973-8.
66. Olson SH, Carlson MD, Ostrer H, Harlap S, Stone A, Winters M, Ambrosone CB. Genetic variants in SOD2, MPO, and NQO1, and risk of ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2004 Jun;93(3):615-20.
67. Xu LL, Liu G, Miller DP, Zhou W, Lynch TJ, Wain JC, Su L, Christiani DC. Counterpoint: the myeloperoxidase -463G-->a polymorphism does not decrease lung cancer susceptibility in Caucasians. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002 Dec;11(12):1555-9.
68. Airley R, Loncaster J, Davidson S, Bromley M, Roberts S, Patterson A, Hunter R, Stratford I, West C. Glucose transporter glut-1 expression correlates with tumor hypoxia and predicts metastasis-free survival in advanced carcinoma of the cervix. *Clin Cancer Res*. 2001 Apr;7(4):928-34.
69. Seeber LM, Horr e N, van der Groep P, van der Wall E, Verheijen RH, van Diest PJ. Necrosis related HIF-1alpha expression predicts prognosis in patients with endometrioid endometrial carcinoma. *BMC Cancer*. 2010 Jun 19;10:307.
70. Choi YS, Kim SJ, Kim DS, Park SJ, Park Y, Shin HJ, Jung KY, Baek SK, Shin BK, Choi JW, Kim BS, Shin SW, Kim YH, Kim JS. Glucose transporter-1 expression in squamous cell carcinoma of the tongue. *Cancer Res Treat*. 2007 Sep;39(3):109-15.
71. Yen TC, See LC, Lai CH, Yah-Huei CW, Ng KK, Ma SY, Lin WJ, Chen JT, Chen WJ, Lai CR, Hsueh S. 18F-FDG uptake in squamous cell carcinoma of the cervix is correlated with glucose transporter 1 expression. *J Nucl Med*. 2004 Jan;45(1):22-9.
72. Mendez LE, Mancini N, Cantuaria G, Gomez-Marin O, Penalver M, Braunschweiger P, Nadji M. Expression of glucose transporter-1 in cervical cancer and its precursors. *Gynecol Oncol*. 2002 Aug;86(2):138-43.

73. Li SJ, Guo W, Ren GX, Huang G, Chen T, Song SL. Expression of Glut-1 in primary and recurrent head and neck squamous cell carcinomas, and compared with 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose accumulation in positron emission tomography. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Apr;46(3):180-6.
74. Eckert AW, Lautner MH, Schütze A, Taubert H, Schubert J, Bilkenroth U. Coexpression of hypoxia-inducible factor-1 α and glucose transporter-1 is associated with poor prognosis in oral squamous cell carcinoma patients. *Histopathology.* 2011 Jun;58(7):1136-47.
75. Ozbudak IH, Shilo K, Tavora F, Rassaei N, Chu WS, Fukuoka J, Jen J, Travis WD, Franks TJ. Glucose transporter-1 in pulmonary neuroendocrine carcinomas: expression and survival analysis. *Mod Pathol.* 2009 May;22(5):633-8.
76. Tsukioka M, Matsumoto Y, Noriyuki M, Yoshida C, Nobeyama H, Yoshida H, Yasui T, Sumi T, Honda K, Ishiko O. Expression of glucose transporters in epithelial ovarian carcinoma: correlation with clinical characteristics and tumor angiogenesis. *Oncol Rep.* 2007 Aug;18(2):361-7.
77. Ozbudak IH, Karaveli S, Simsek T, Erdogan G, Pestereli E. Neoangiogenesis and expression of hypoxia-inducible factor 1alpha, vascular endothelial growth factor, and glucose transporter-1 in endometrioid type endometrium adenocarcinomas. *Gynecol Oncol.* 2008 Mar;108(3):603-8.
78. Mayer A, Höckel M, Wree A, Vaupel P. Microregional expression of glucose transporter-1 and oxygenation status: lack of correlation in locally advanced cervical cancers. *Clin Cancer Res.* 2005 Apr 1;11(7):2768-73.
79. Tsoli E, Tsantoulis PK, Papalambros A, Perunovic B, England D, Rawlands DA, Reynolds GM, Vlachodimitropoulos D, Morgan SL, Spiliopoulou CA, Athanasiou T, Gorgoulis VG. Simultaneous evaluation of maspin and CXCR4 in patients with breast cancer. *J Clin Pathol.* 2007 Mar;60(3):261-6.
80. Lee MJ, Suh CH, Li ZH. Clinicopathological significance of maspin expression in breast cancer. *J Korean Med Sci.* 2006 Apr;21(2):309-14.

81. Abd El-Wahed MM. Expression and subcellular localization of maspin in human ovarian epithelial neoplasms: correlation with clinicopathologic features. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2005 Sep;17(3):173-83.
82. Solomon LA, Munkarah AR, Schimp VL, Arabi MH, Morris RT, Nassar H, Ali-Fehmi R. Maspin expression and localization impact on angiogenesis and prognosis in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2006 Jun;101(3):385-9.
83. Mhaweck-Fauceglia P, Dulguerov P, Beck A, Bonet M, Allal AS. Value of ezrin, maspin and nm23-H1 protein expressions in predicting outcome of patients with head and neck squamous-cell carcinoma treated with radical radiotherapy. *J Clin Pathol.* 2007 Feb;60(2):185-9.
84. Zheng H, Tsuneyama K, Cheng C, Takahashi H, Cui Z, Murai Y, Nomoto K, Takano Y. Maspin expression was involved in colorectal adenoma-adenocarcinoma sequence and liver metastasis of tumors. *Anticancer Res.* 2007 Jan-Feb;27(1A):259-65.
85. Nakagawa M, Katakura H, Adachi M, Takenaka K, Yanagihara K, Otake Y, Wada H, Tanaka F. Maspin expression and its clinical significance in non-small cell lung cancer. *Ann Surg Oncol.* 2006 Nov;13(11):1517-23.
86. Murai S, Maesawa C, Masuda T, Sugiyama T. Aberrant maspin expression in human endometrial cancer. *Cancer Sci.* 2006 Sep;97(9):883-8.
87. Kumamoto H, Ooya K. Immunohistochemical detection of uPA, uPAR, PAI-1, and maspin in ameloblastic tumors. *J Oral Pathol Med.* 2007 Sep;36(8):488-94.
88. Beecken WD, Engl T, Engels K, Blumenberg C, Oppermann E, Camphausen K, Shing Y, Reinecke G, Jonas D, Blaheta R. Clinical relevance of maspin expression in bladder cancer. *World J Urol.* 2006 Aug;24(3):338-44.
89. Xu C, Quddus MR, Sung CJ, Steinhoff MM, Zhang C, Lawrence WD. Maspin expression in CIN 3, microinvasive squamous cell carcinoma, and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Mod Pathol.* 2005 Aug;18(8):1102-6.
90. Marioni G, D'Alessandro E, Giacomelli L, De Filippis C, Calgaro N, Sari M, Staffieri A, Blandamura S. Maspin nuclear localization is related to reduced density of tumour-

associated micro-vessels in laryngeal carcinoma. *Anticancer Res.* 2006 Nov-Dec;26(6C):4927-32.

91. Nuclear and cytoplasmic Maspin expression in primary non-small cell lung cancer. Woenckhaus M, et al. *J Clin Pathol.* 2007 May;60
92. Cao D, Zhang Q, Wu LS, Salaria SN, Winter JW, Hruban RH, Goggins MS, Abbruzzese JL, Maitra A, Ho L. Prognostic significance of maspin in pancreatic ductal adenocarcinoma: tissue microarray analysis of 223 surgically resected cases. *Mod Pathol.* 2007 May;20(5):570-8.
93. Expression of maspin in colorectal cancer. Umekita Y. et al *In Vivo.* 2006 Nov-Dec;20
94. Li HW, Leung SW, Chan CS, Yu MM, Wong YF. Expression of maspin in endometrioid adenocarcinoma of endometrium. *Oncol Rep.* 2007 Feb;17(2):393-8
95. Yu M, Zheng H, Tsuneyama K, Takahashi H, Nomoto K, Xu H, Takano Y. Paradoxical expression of maspin in gastric carcinomas: correlation with carcinogenesis and progression. *Hum Pathol.* 2007 Aug;38(8):1248-55.
96. Shams TM, Samaka RM, Shams ME. Maspin protein expression: a special feature of papillary thyroid carcinoma. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2006 Sep;18(3):274-80
97. Cho JH, Kim HS, Park CS, Kim JK, Jung KY, Shin BK, Kim HK. Maspin expression in early oral tongue cancer and its relation to expression of mutant-type p53 and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Oral Oncol.* 2007 Mar;43(3):272-7.
98. Cooper R, Sarioğlu S, Sökmen S, Füzün M, Küpelioglu A, Valentine H, Görken IB, Airley R, West C. Glucose transporter-1 (GLUT-1): a potential marker of prognosis in rectal carcinoma? *Br J Cancer.* 2003 Sep 1;89(5):870-6.
99. Legan M, Tevžič S, Tolar A, Luzar B, Marolt VF. Glucose transporter-1 (GLUT-1) immunoreactivity in benign, premalignant and malignant lesions of the gallbladder. *Pathol Oncol Res.* 2011 Mar;17(1):61-6.)
100. Piedrafita FJ, Molander RB, Vansant G, Orlova EA, Pfahl M, Reynolds WF. An Alu element in the myeloperoxidase promoter contains a composite SP1-thyroid hormone-retinoic acid response element. *J Biol Chem.* 1996 Jun 14;271(24):14412-20.

101. Van Rensburg CE, Van Staden AM, Anderson R, Van Rensburg EJ. Hypochlorous acid potentiates hydrogen peroxide-mediated DNA-strand breaks in human mononuclear leucocytes. *Mutat Res.* 1992 Feb;265(2):255-61.
102. Trush MA, Seed JL, Kensler TW. Oxidant-dependent metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons by phorbol ester-stimulated human polymorphonuclear leukocytes: possible link between inflammation and cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985 Aug;82(15):5194-8
103. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase. *Proc Assoc Am Physicians.* 1999 Sep-Oct;111(5):383-9.
104. Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes (first of two parts). *N Engl J Med.* 1978 Mar 23;298(12):659-68
105. Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Ann Intern Med.* 1980 Sep;93(3):480-9.
106. Johnston RB Jr. Oxygen metabolism and the microbicidal activity of macrophages. *Fed Proc.* 1978 Nov;37(13):2759-64.
107. Weiss SJ, Slivka A. Monocyte and granulocyte-mediated tumor cell destruction. A role for the hydrogen peroxide-myeloperoxidase-chloride system. *J Clin Invest.* 1982 Feb;69(2):255-62.
108. Clark RA, Klebanoff SJ, Einstein AB, Fefer A. Peroxidase-H₂O₂-halide system: Cytotoxic effect on mammalian tumor cells. *Blood.* 1975 Feb;45(2):161-70
109. Clark RA, Klebanoff SJ. Neutrophil-mediated tumor cell cytotoxicity: role of the peroxidase system. *J Exp Med.* 1975 Jun 1;141(6):1442-7.