



1993

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı**

**SERÖZ EPİTELYAL OVER KANSERLERİNDE AQUAPORİN-1**  
**EKSPRESYONU VE KONVANSİYONEL PROGNOSTİK**  
**FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mustafa Kemal TAKAL**

**ANKARA**

**2009**



**1993**

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı**

**SERÖZ EPİTELYAL OVER KANSERLERİNDE AQUAPORİN-1  
EKSPRESYONU VE KONVANSİYONEL PROGNOSTİK  
FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Mustafa Kemal TAKAL**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Ali AYHAN**

**ANKARA  
2009**

Bu tez Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.  
Proje No: KA09/09

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimi sunarken, öncelikle bu tezin hazırlanması sırasında bana yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen ve uzmanlık eğitimime büyük katkıları olan, tez danışmanım Prof. Dr. Ali Ayhan'a, yine uzmanlık eğitimimiz süresince, bizlerin her zaman yanında olan ve eğitimimize olan desteklerini hep sürdüren Prof. Dr. Esra Kuşçu'ya, Prof. Dr. Hulusi B. Zeyneloğlu'na, Doç. Dr. Filiz Yanık'a, Doç. Dr. Derya Eroğlu'na ve Yrd. Doç. Dr. Göğşen M. Önalın'a, tez konumda bana yardımcı olan Doç. Dr. Cem M. Baykal'a ve Uzm. Dr. Polat Dursun'a, tezimin oluşturulmasında yardım ve ilgilerini esirgemeyen, Patoloji Ana Bilim Dalı'ndan Doç. Dr. Özlem Özen'e, Uzm. Dr. Nihan Haberal'a, Dr. Berrin Çaylak'a, asistan arkadaşlarıma ve bölüm çalışanlarına, Dr. Elif Durukan'a, beş yıllık asistanlık süresince her zaman yanımda olan, sevgili dostlarım Dr. Mustafa Derda Kaya'ya ve Dr. Eralp Başer'e ve burada ismen bahsedemediğim tüm asistan arkadaşlarıma ve tüm klinik çalışanlarına, yine geçmişten bugüne hep yanımda olan, dosttan öte Sedat Turan'a ve Dr. Gürkan Kayabaşoğlu'na ve en son olarak da asistanlık hayatımın büyük kısmında yanımda olan, her zaman bana destek olan ve sıkıntılarımı paylaşan, sevgili eşim Çilem'e ve bana olan güvenlerini her zaman dile getiren değerli aileme ve üzerimde büyük emeği olan sevgili Anne ve Babama ve doktor olmamda büyük katkıları olan Ülkü Koparan'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mustafa Kemal TAKAL

## ÖZET

Aquaporin-1 (AQP1)'in esas olarak epitelyal over tümörlerinin mikro damarlarında ve küçük damarlarında lokalize olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Bir çalışmada, AQP1 ekspresyon düzeyi ile tümör içindeki mikro damar sayısı olarak bilinen intratümöral mikro damar dansitesi (IMD) arasında pozitif bir korelasyon olduğu ve AQP1 düzeyi ile FIGO evresi ve asit miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma, primer seröz epitelyal over kanserinde AQP1 ekspresyon düzeyini belirlemek ve konvansiyonel prognostik faktörlerle karşılaştırarak, AQP1 ekspresyon düzeyinin prognozdeki yerini belirlemek amacıyla dizayn edilip uygulanmıştır.

Primer seröz epitelyal over kanseri olan 55 vakada AQP1 ekspresyon düzeyi, IMD ve AQP1/IMD oranı semikantitatif immünohistokimyasal yöntemle belirlenmiştir.

AQP1 proteini primer seröz epitelyal over tümörlerinin hepsinde, mikro damarların ve küçük damarların membranlarında kuvvetli olarak eksprese edilmiştir. AQP1 ekspresyonu, birkaç vakada over kanseri interstisyel hücrelerinin membranında ve tümör hücrelerinde görülmüştür. Tümör hücrelerinin sitoplazmasında görülmemiştir. AQP1 ekspresyonu bakımından FIGO evre I-II ile FIGO evre III-IV arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). AQP1 ile IMD arasında ve asit miktarı arasında bir korelasyon bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Asit miktarı, asit sitolojisi, lenf nodu metastazı, lenfovasküler alan invazyonu (LVSI), preoperatif CA 125 düzeyleri ve performans durumu açısından karşılaştırıldığında da AQP1 ekspresyon düzeyi, IMD ve AQP/IMD oranı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). AQP1 ekspresyon düzeyi ile preoperatif CA 125 düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur ( $R = 0,277, P < 0.05$ ).

Bu çalışmada bulunan değerler, literatürdeki benzer çalışmalardaki değerlerle karşılaştırıldığında, AQP1 ekspresyon düzeyi ile FIGO evresi, asit miktarı ve lenf nodu metastazı arasındaki ilişki, önceki çalışmalarda istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen bu çalışmada tespit edilememiştir. Erken evre vaka sayısının az olması bunda bir etken olabilir. Bu durumun aydınlığa kavuşması için daha geniş vaka serisi bazında çalışmaya devam etmenin yararı olacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Aquaporin-1, seröz epitelyal over tümörleri, IMD, immünohistokimya, asit.

## ABSTRACT

### **Aquaporin-1 Expression in Serous Epithelial Ovarian Cancers and Its Relationship with Conventional Prognostic Factors**

Previous studies have demonstrated that Aquaporin-1 (AQP1) was located mainly in microvessels and small vessels of epithelial ovarian tumors. A recent study reported that there is a positively correlated relationship between AQP1 expression level and intratumoral microvessel density (IMD) which is known as tumor microvessel counts and a statistically significant relationship between expression of AQP1 and FIGO stage and ascites volume. This study was designed and performed with purpose of detecting AQP1 expression level and determining the significance of AQP1 expression level on prognosis with comparing conventional prognostic factors.

The AQP1 expression levels, IMD and AQP1/IMD ratio in 55 cases with primary serous epithelial ovarian cancers were measured by semiquantitative immunohistochemical method.

AQP1 protein was strongly expressed in the membrane of microvessels and small vessels in all primary serous epithelial ovarian tumors. AQP1 expression was observed in the membrane of interstitial cells of ovarian cancer and in tumor cells in a few cases. It was not observed in the cytoplasm of tumor cells. A statistically significant difference was not found between FIGO stage I-II and FIGO stage III-IV for AQP1 expression ( $p > 0.05$ ). A positively correlated relationship was not detected between expression of AQP1 and IMD and between expression of AQP1 and ascites volume ( $p > 0.05$ ). A statistically significant difference was also not found between groups which are compared according to ascites volume, ascites cytology, lymph node metastasis, lymphovascular space invasion (LVSI), preoperative CA 125 levels and performance status for AQP1 expression levels, IMD and AQP1/IMD ratio ( $p > 0.05$ ). It was detected that a positive correlation between preoperative CA 125 levels and expression of AQP1 ( $R:0,277, p < 0.05$ ).

In contrast with previous similar studies in the literature, the relationship between AQP1 expression levels and FIGO stage, lymph node metastasis or ascites volume was not found to be statistically significant in this study. The low number of early stage cases may have had an influence on these results. Thus, it seems reasonable to continue the trial with larger case series for the enlightenment of this situation.

**Keywords:** aquaporin-1, serous epithelial ovarian tumors, IMD, immunohistochemistry, ascites.

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No:

TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT).....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
1. GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Epitelyal Over Kanseri.....	4
2.1.1. İnsidans ve Epidemiyoloji .....	4
2.1.2. Sınıflandırma .....	6
2.1.3. Etiyoloji, Patogenez ve Risk Faktörleri .....	6
2.1.4. Prognostik Faktörler .....	8
2.2. Aquaporin-1 .....	12
2.3. İntratümöral Mikro Damar Dansitesi.....	15
3. GEREÇ ve YÖNTEM .....	16
4. BULGULAR .....	18
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	23
6. KAYNAKLAR.....	25

## TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
<b>Tablo 2.1:</b> Kadınlarda kanser oluşma olasılıkları.....	4
<b>Tablo 2.2:</b> Yaşla ilgili primer ovaryen neoplazmlar.....	5
<b>Tablo 2.3:</b> Over kanserinde prognostik faktörler.....	8
<b>Tablo 4.1:</b> Hasta popülasyonunun parametrelere göre dağılımı.....	19
<b>Tablo 4.2:</b> Klasik prognostik faktörlere göre primer seröz EOK'de AQP1 ekspresyonu, IMD ve AQP/IMD oranı.....	20

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
<b>Şekil 2.1:</b> Malign epitelyal over tümörlerinde evreye göre yaş dağılımı.....	5
<b>Şekil 2.2:</b> Genel aquaporin yapısının şematik görünümü .....	13
<b>Şekil 4.1:</b> Epitelyal over tümörlerinde mikro damarların ve küçük damarların membranlarında kuvvetli AQP1 boyanması.....	21
<b>Şekil 4.2:</b> Epitelyal over tümörlerinde tümör hücre membranlarında AQP1 boyanması .....	21
<b>Şekil 4.3:</b> Epitelyal over tümörlerinde interstisyel hücrelerin membranlarında AQP1 boyanması .....	22

## KISALTMALAR DİZİNİ

Aquaporin	AQP
Epitelyal over kanseri	EOK
Gynecologic Oncology Group	GOG
İnatümöral mikro damar dansitesi	IMD
Lenfovasküler alan invazyonu	LVSI
National Cancer Institute	NCI
International Federation of Gynecology and Obstetrics	FIGO



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Epitelyal over kanseri (EOK), kadın kanserlerinin % 4-6'sını ve jinekolojik kanserlerin % 27'sini oluşturur. Yaklaşık olarak, 70 kadından biri hayatı boyunca over kanseri geliştirmekte ve 100'de biri hastalık nedeniyle ölmektedir. Güvenilir tarama araçlarının eksikliği ve de hastalığın erken evrelerinde hastalığa özgü semptomların yokluğu nedeniyle over kanserlerinin yaklaşık % 68'i tanı konulduğunda ileri evrededir. Prognozları hastaya, tümör biyolojisine ve uygulanan tedavilere bağlı olmakla beraber, günümüzde istenilen düzeyde değildir. Ölümcül bir kanser olup genel 5 yıllık sağ kalım oranı % 31-53 arasında değişmektedir (1-2).

EOK insidansı yaşla ilişkilidir ve genellikle postmenopozal kadınların hastalığıdır. İnsidans 40 yaşından sonra artmaya başlar ve 80 ile 84 yaşları arasında pik yapar. Medyan tanı yaşı 63'tür (3-5). Hastaların en sık başvuru şikayeti genellikle asit varlığı ve intraabdominal tümör yayılımı ile ilişkili olan abdominal şişkinliktir (6-10).

Tanı anındaki yaştan, evrenin, tümörün histolojik derecesinin, hastanın performans durumunun, asit varlığının ve primer sitoredüktif cerrahi sonrası rezidüel lezyonların boyutunun ve sayısının over kanserinde belirgin prognostik önemi olduğu daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (11-19). Preoperatif CA-125 seviyelerinin de prognostik değeri olduğu bildirilmiştir (20-23).

Peritoneal kavitede anormal seviyelerde sıvı varlığı olarak tanımlanan asit, EOK'li hastalarda sık bir bulgudur. Hastaların yaklaşık 1/3'ü tanı anında asit ile başvurur ve daha büyük bir kısmı hastalığın seyri sırasında asit oluşturur (24). Asitin önceki bazı çalışmalarda kötü bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir. Ancak bu genel olarak dünyaca kabul görmüş değildir. Genel sağ kalımı etkileyen asitin mekanizması ve asite neden olan yollar açıklanamamıştır (24-30).

Malign asit oluşumunun altta yatan mekanizması hakkında iki görüş vardır (31). Bazı otörler tümörde ve/veya tümör etrafındaki peritoneal dokularda, ozmotik olarak aktif proteinler nedeniyle kapiller permeabilitede bir artışın aşırı peritoneal sıvı birikimine yol açtığını desteklemiştir. Diğerleri, tümör hücreleri tarafından diafragmatik lenfatiklerin obliterasyonunun normal olarak peritoneal kapillerlerden filtre olan protein absorpsiyonunda bir azalmaya neden olduğunu, böylece asit oluşumuyla sonuçlandığını ileri sürmüştür. Bir başka çalışmada da vasküler permeabilite faktör (VPF)'ün malign asit oluşumu patogenezinde başlatıcı bir faktör olduğu bildirilmiştir (32-33).

Ayhan ve ark.'nın bir çalışmasında, asitin tümör yayılımı ve evresiyle korele olduğu ve EOK'de asitin, hastalığın prognozunda indirekt bir prediktör olduğu bildirilmiştir (34).

Aquaporinler (AQP) sıvı transportuna katılan epitelyal ve endotel hücrelerin çoğunda eksprese edilen bir homolog su kanalları ailesidir (35-37). Memeli Aquaporin ailesi, AQP0'dan AQP10'a kadar her biri ayrı dokuda bulunan 11 üyeden oluşur. Memeli AQP 1, 2, 4, 5 ve 8 su seçiciyken, AQP 3, 7, 9 ve 10 suya ek olarak, gliserol ve diğer küçük çözücüler de taşımaktadırlar. AQP1 proteini kornea, intestinal laktealler ve diğer dokuların endotel hücrelerinde olduğu gibi beyin dışındaki mikrovasküler endotellerin çoğunda kuvvetli şekilde eksprese edilir (38). Neoplastik beyin mikro damarlarında AQP1 ekspresyonunun, kan - beyin bariyerinin su geçirgenliğinin artışına neden olduğu ve bunun da beyin tümörüne bağlı ödem oluşumuna katkıda bulunduğu önceki bazı çalışmalarda gösterilmiştir (39-40). Başka bir çalışmada da AQP1 ekspresyonunun kolon kanserinin erken evresinde indüklendiği ve hastalığın evreleri boyunca devam ettiği gösterilmiştir (41).

Temel ve klinik çalışmalar, bir tümörün büyümesinin anjiogenezise bağlı olduğunu göstermiştir (42-43). Over kanserinde, tümördeki mikro damar miktarı olarak bilinen intratümöral mikro damar dansitesi (IMD) için bir kaç çalışma bildirilmiştir (44-48). Bir çalışmada, EOK'de AQP1 ekspresyonu ile IMD arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (49).

AQP1 proteininin tüm epitelyal over kanserlerinde, mikro damarların ve küçük damarların membranlarında kuvvetli olarak eksprese edildiği önceki bir çalışmada gösterilmiştir. Tümör hücrelerinin sitoplazmasında görülmemiştir. Ek olarak, AQP1 over kanseri interstisyel hücrelerinin membranlarında ve çok nadir olarak tümör hücrelerinin membranlarında gösterilmiştir. AQP1'in bu hücrel dağılımına dayanarak, AQP1'in primer EOK'de, transvasküler su akışında önemli bir rol oynayabileceği ve tümör hücrelerinin sıvı transportunda az miktarda bir etkisi olabileceği bildirilmiştir. Ovaryen malign tümörlerin mikro damarlarındaki AQP1 ekspresyonunun, FIGO evresi ve asit miktarı ile belirgin bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir (49).

Tümördeki mikro damarların sayısı farklı vakalara ve gözlemlenen vasküler noktaya göre değişmektedir ki, bu ölçülen AQP1 ekspresyon düzeyinde bir hata ile sonuçlanabilir. IMD, tümördeki mikro damar sayısı olarak bilindiği için ve AQP1 proteini mikro damarlarda kuvvetli olarak eksprese edildiği için AQP1/IMD oranı, epitelyal over

tümörü mikro damarlarında AQP1 ekspresyon düzeyini daha kesin olarak yansıtabilecek ve subjektif ve objektif hataları azaltacaktır (49).

Bu çalışmada, primer seröz EOK nedeniyle kliniğimizde opere olan hastaların over dokusunda, AQP1 ekspresyon düzeyi semikantitatif immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilmiştir. AQP1 ekspresyon düzeyini, konvansiyonel prognostik faktörlerle (tanın anındaki yaş, FIGO evresi, tümör derecesi, asit miktarı ve sitolojisi, lenf nodu metastazı varlığı, preoperatif CA 125 düzeyleri ve performans durumu) karşılaştırarak AQP1 ekspresyon düzeyinin prognozdeki yerini belirlemek amacıyla bir çalışma dizayn edilip uygulanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Epitelyal Over Kanseri

#### 2.1.1. İnsidans ve Epidemiyoloji

Over kanseri 2. en sık jinekolojik malignansidir. Kadınlarda kansere bağlı ölümlerin 5. en sık nedenidir ve jinekolojik kanserler arasında en ölümcül olanıdır (1). Jinekolojik kanserlerin yaklaşık % 27'si over kökenlidir fakat kadın genital yolu kanserine bağlı tüm ölümlerin % 53'ü over kökenli jinekolojik kanseri olan kadınlarda olur (3-5).

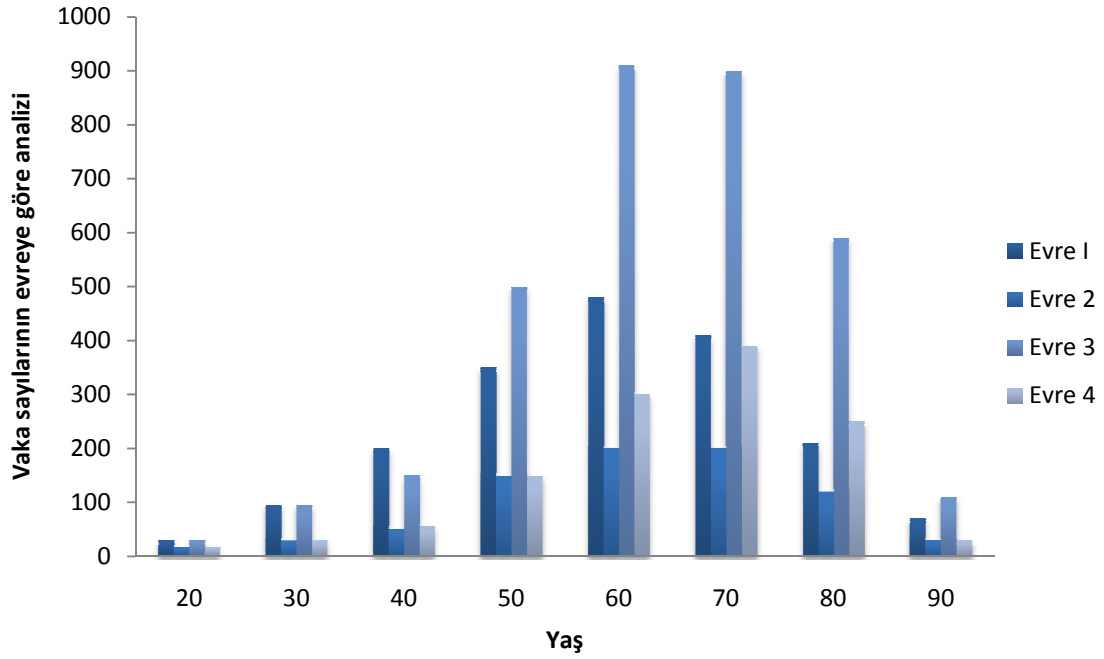
İnsidans oranları geçen 30 yılda hafifçe azalmıştır. SEER (The US Survival, Epidemiology and End Results) kanser veri tabanı, over kanseri olan kadınların ölüm oranında popülasyonun her 100,000'de 10'undan sadece her 100,000'de 9'una küçük bir iyileşme göstermiştir. Cerrahideki gelişmelerin ve kemoterapinin bu düşüşe katkıda bulunup bulunmadığı ve eğer bulduysa bunun ne kadar olduğu belirsizdir. Mortalite oranları 65 yaşından daha genç kadınlarda azalmıştır, buna karşın 65 yaşından daha yaşlı kadınlarda oranlar artmıştır. Bu, genç kadınlarda oral kontraseptiflerin artmış kullanımı, hem de sağ kalım eğrisinde sağa bir kayma nedeniyle olabilir (50-51). Evre yönünden karşılaştırıldığında bile sağ kalım yaşlı kadınlarda daha kötüdür. Bazı yazarlar, bunun yaşlı kadınlarda cerrahi ve kemoterapi ile tedavinin daha az agresif olması nedeniyle olabileceğini öne sürmektedir (4, 52). Genel kadın popülasyonunda hayat boyu ovaryen kanser riski % 1,7'dir ve yaşa göre düzeltilmiş insidans oranı 100,000'de 13,5'tur (Tablo 2.1) (4-5, 53-54).

**Tablo 2.1:** Kadınlarda kanser oluşma olasılıkları.

Tüm bölgeler	1/3
Meme	1/7
Serviks	1/130
Uterin korpus	1/38
Akciğer	1/18
Over	1/68
Kolon-rektum	1/18

NCI. 2004. <http://srab.cancer.gov/devcan>

Overin malign neoplazmları, infantil dönem ve çocukluk çağı da dahil her yaşta olur (Şekil 2.1) (54-55).



**Şekil 2.1:** Malign epitelyal over tümörlerinde evreye göre yaş dağılımı (54-55).

**Şekil kaynağı:** DiSaia PJ, Creasman WT. Clinical gynecologic oncology. 7th ed. Philadelphia, PA: Mosby Elsevier; 2007.

Epitelyal over kanseri tanısının konduğu ortalama yaş 50 ile 60 yaşları arasındadır, borderline tümörler yaklaşık 10 yıl daha erken olur (56).

Majör histolojik tip farklı yaş gruplarında farklı olmaktadır (Tablo 2.2) (54, 57). Premenopozal ve postmenopozal kadınlarda bir adneksal kitlenin genel malignansi riski sırasıyla % 6-11 ve % 29-35'tir (58).

**Tablo 2.2:** Yaşla ilgili primer ovaryen neoplazmlar (54).

Tip	< 20 yaş	20-50 yaş	> 50 yaş
Çöломik epitelyum	% 29	% 71	% 81
Germ hücresi	% 59	% 14	% 6
Özelleşmiş gonadal stroma	% 8	% 5	% 4
Spesifik olmayan mezenkim	% 4	% 10	% 9

**Tablo kaynağı:** DiSaia PJ, Creasman WT. Clinical gynecologic oncology. 7th ed. Philadelphia, PA: Mosby Elsevier; 2007.

Over kanseri tanısında ortalama yaş, herediter ya da ailevi hastalığı olan kadınlarda normal popülasyona göre daha genç yaşlardır. Gilda Radner Ailevi Over Kanseri Kayıt Bankası verileri, tanıda ortalama yaşın genel popülasyonda 61 ve ailevi hastalığı olanlarda 54 olduğunu göstermiştir (59).

### **2.1.2. Sınıflandırma**

Malign over tümörleri epitelyal, germ hücreli, seks-kord stromal ve metastatik olmak üzere dört ana başlıkta toplanmaktadır. Burada sadece çoğunluğu teşkil eden (% 90) ve konumuzu oluşturan epitelyal over kanserlerinden bahsedilecektir.

En popüler ve kullanışlı sınıflandırma modeli halen normal overin histolojik oluşumuna dayanmaktadır (60). Histogenetik sınıflandırma ovaryen neoplazmları çöломik epitelyum, germ hücreleri ve mezenkimden köken almaları bakımından sınıflandırır. Malign ovaryen tümörlerin % 85-90'ı epitelyaldir. Epitelyal over kanserlerinin en sık görülen histolojik tipi seröz kistadenokarsinom olup % 42 oranında görülmektedir. Diğer sık görülen histolojik tiplerin görülme oranları sırasıyla andiferansiye karsinom % 17, endometrioid karsinom % 15, müsinöz kistadenokarsinom % 12 ve berrak hücreli (mezonefroid) karsinom % 6 şeklindedir (54).

### **2.1.3. Etyoloji, Patogenez ve Risk Faktörleri**

EOK, peritoneal mezotelyum ile bitişik olan over yüzey epitelinin malign transformasyonundan köken alır (61).

EOK'nin oluşumuna neden olan moleküler olaylar bilinmemektedir. Over kanserlerinin % 90'ı sporadiktir, % 10'u ise kalıtsal genetik mutasyonlara bağlı olarak gelişmektedir. HER2, c-myc, K-ras ve Akt onkogenlerinin ve p53 tümör baskılayıcı geninin mutasyonları ve/veya aşırı ekspresyonları sporadik over kanserinde görülmüştür. Fakat bunların patogeneze olan katkıları iyi tanımlanmamıştır (62-64). PTEN ve p16 tümör baskılayıcı genlerinin inaktivasyonu da görülebilir. Epigenetik fenomen de tümörigeneziste rol oynar (65).

Familyal herediter over kanserleri, meme-ovaryen kanser sendromu, site-spesifik familyal ovaryen kanser ve Lynch sendromu tip II olmak üzere üç grupta toplanır (54). Site-spesifik ovaryen ve meme-ovaryen kanser sendromları ile ilgili çalışmalar, BRCA1 ve BRCA2 adlarında iki genetik yatkınlık geninin bulunmasına neden olmuştur. Lynch II sendromu ise DNA tamir genleri ailesinde (MSH2, MLH1, PMS1, PMS2) kalıtsal mutasyon nedeniyle olmaktadır. BRCA1 17q kromozomunun uzun kolunda ve BRCA2 13q12 kromozomunda lokalizedir (66-68). Aslında tümör baskılayıcı genler olan BRCA genlerinin mutasyonları, herediter over kanserlerinin % 90'ı kadarından ve tüm over

kanserlerinin yaklaşık % 10'undan sorumlu olabilir. BRCA1 mutasyonları, tüm over kanserlerinin % 5,7'si ile ilişkiliyken BRCA2 mutasyonları % 3,8'i ile ilişkilidir (69). BRCA1 ve BRCA2 taşıyıcılarında yaşam boyu over kanseri gelişme oranları sırasıyla % 40-50 ve % 15-25 şeklindedir. Normal popülasyonda, bu oran % 1,4-1,8 arasındadır (70-72). Lynch II sendromu ise over kanserlerinin % 1'inden sorumludur (73).

EOK'nin patogenezi için iki genel hipotez öne sürülmüştür:

- Devamlı ovulasyon, over epitelinde tekrarlayan travma ve onarıma neden olarak genetik mutasyon ve selüler neoplazi için bir fırsat yaratır (74-75). Bu teori multiparite, oral kontraseptif haplar ve meme emzirme ve süresinin EOK insidansı üzerine koruyucu etkisi tarafından desteklenmektedir. Ovulasyon indüksiyonu ile over kanseri artımı da bu teoriyi desteklemektedir.
- Aşırı gonadotropin sekresyonu, epitelyal proliferasyon ve muhtemelen malign transformasyona neden olan yüksek östrojen konsantrasyonlarını destekler (76). Diğer hormonlar da katkıda bulunabilir.

Diğer teoriler, risk faktörleri olarak yüksek androjen konsantrasyonlarını, inflamasyonu ve stromal hiperaktiviteyi ve progesteronun/progestinlerin koruyucu rolünü içermektedir (77-82). EOK'nin köken aldığı kesin bir hücre bilinmemektedir, overin premalign bir prekürsör lezyonu da tanımlanmamıştır (83-84).

Epidemiyolojik çalışmalar, nulligraviditeyi sürekli olarak EOK için majör risk faktörü olarak tanımlamıştır (85-90). Epidemiyolojik olarak belirlenmiş risk faktörleri şunlardır (91):

- Beyaz ırktan olma veya Avrupalı Yahudi kökenli olma.
- Sanayileşmiş ülkelerde yaşama (Japonya hariç).
- 50 yaştan büyük olma.
- Fazla yağ ve fazla kafein tüketimi, düşük lifli diyet, düşük vitamin A.
- Talk, asbest ve radyasyona maruziyet.
- Erken menarş, geç menopoz ve nulliparite.
- Kabakulak ve rubella virüsü enfeksiyonları.
- Aile hikayesi, BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları.

Ek olarak, oral kontraseptif hapların kullanımı, multiparite, tubal ligasyon, emzirme ve progesteron azalmış over kanseri riski ile ilişkili koruyucu faktörler olarak tanımlanmıştır (54).

### 2.1.4 Prognostik Faktörler

Klinik sonucun tahmini ve en uygun tedavinin seçiminde prognostik faktörlerin kullanımı, over kanseri tanısı almış hastaların yönetiminin önemli parçası haline gelmiştir. Prognostik faktörler, genel sağ kalım ile korele olan fenotipler olarak tanımlanır. Genelde tümörün intrinsik biyolojisini yansıtırlar ve histolojik alt tipi, tümör derecesini, hastalığın yaygınlığını ve tümör ve tümör tedavisi ile ilişkili morbidite ile hastanın başa çıkma kapasitesini kapsar. Klinik bir araç olarak prognostik faktörler, hastalar için bireyselleştirilmiş tedavi planlamasının kolaylaştırılmasına yardım edebilirler (Tablo 2.3) (92).

**Tablo 2.3:** Over kanserinde prognostik faktörler (92).

- 
- Yaş
  - Performans durumu
  - FIGO\* evresi
  - Hastalığın yaygınlığı
  - Histolojik alt tip
  - Tümör derecesi
  - Asit varlığı
  - Tümör DNA ploidi
  - Başlangıç serum CA 125 düzeyi
  - Sitoredüktif cerrahi sonrası rezidüel hastalık
  - Platin duyarlılığı/direnci
- 

\*FIGO: The International Federation of Gynecology and Obstetrics

**Tablo kaynağı:** Levenback C. Prognostic and predictive factors in gynecologic cancers. Levenback C, editor: Informa; 2007.

### Tümör Evresi

Over kanserinden şüphelenilen hastaların doğru klinik yönetimi tanıyı doğrulamak, hastalığın yaygınlığını tam olarak değerlendirmek ve evreyi belirlemek ve geniş hacimli hastalığı olan hastalarda sitoredüksiyonla minimal rezidüel hastalığa ulaşmak için gerekli olan cerrahi ile başlar (93).

Tanı anında tümörün yaygınlığı ve yayılımı, over kanseri olan hastanın prognozunu etkileyen en önemli değişkendir. Hastalığın yaygınlığı geleneksel olarak FIGO (The



International Federation of Gynecology and Obstetrics) evresine göre ifade edilir. Tanı anındaki evreye göre over kanserli hastaların dağılımı evre I (%23-33), evre II (% 9-13), evre III (% 46-47) ve evre IV (% 12-16) şeklindedir (94-95). Doğru cerrahi evreleme ile evre I hastalık için 5 yıllık sağ kalım oranı yaklaşık % 90'dır (96-97). Evre II hastalıkta 5 yıllık sağ kalım oranı % 68-79 arasındadır. Evre IIIA, IIIB ve IIIC için 5 yıllık sağ kalım oranı sırasıyla % 49,2, % 40,8 ve % 28,9'dur. Evre IV hastalar için 5 yıllık sağ kalım oranı ise % 13,4'dür (2).

### **Rezidüel Hastalığın Boyutu**

1983 yılında, Hacker ve ark. ileri evre over kanseri için cerrahi yapılan 47 hastalık bir seri bildirmişlerdir ve primer sitoredüksiyon sonrası rezidüel hastalığı < 0,5 cm olan hastalarda medyan sağ kalım zamanının 40 ay olduğunu, ancak 0,5-1,5 cm ölçülen daha geniş rezidüel tümör varlığında sağ kalım zamanının 18 aya düştüğünü gözlemlemişlerdir. Büyük rezidüel tümörü (> 1,5 cm) kalan hastalarla karşılaştırıldığında (medyan sağ kalım 6 ay; p< 0,001), her iki grubun da daha iyi sağ kalıma sahip olduğu bildirilmiştir (98). Daha sonraki çalışmalarda devamlı olarak sitoredüktif cerrahi sonrası kalan rezidüel hastalık hacminin, hastalığın evresinde ve tümör diferansiasyonunun derecesinde olduğu gibi sağ kalımla ters ilişkili olduğu gösterilmiştir (99-105). Tümör evresi ve diferansiasyonu değiştirilememesine rağmen rezidüel hastalığın hacmi cerrahın kontrolündedir.

Optimal olarak rezeke edilmiş hastalık için değişik tanımlar önerilmiştir (102, 106-107). Jinekolojik Onkoloji Grubu (Gynecologic Oncology Group - GOG), optimal sitoredüksiyonu maksimum tümör çapının 1 cm'den daha küçük olduğu rezidüel hastalık olarak tanımlamaktadır. Ancak bu eşik değerinin doğruluğu tartışılmıştır. Artan miktarda literatür, sitoredüksiyon sonrası < 1mm veya gözle görülmeyen hastalık ile iyileşmiş kemoterapi yanıtı, daha az platin direnci ve iyileşmiş sağ kalım arasında bir ilişki olduğunu bildirmektedir (102, 108-109).

### **Histolojik Derece**

Histopatoloji, kanseröz hücrelerin mikroskopik düzeyde değerlendirilmesidir ve tümör derecelendirmesinin, hücrelerin diferansiasyon derecesine ve matüritesine dayalı olarak belirlenmesinin temelidir. Tümörler, 1'den 3'e kadar olan bir ölçekte derecelendirilir. Derece 1 (iyi diferansiye) tümörler çoğunlukla normal doku gibi görünür, derece 2 (orta derece diferansiye) tümörler bir miktar normal doku gibi görünür, derece 3 (kötü diferansiye) tümörler çok anormal görünür. Derece 1 tümörler en iyi ve derece 3 tümörler en kötü prognoza sahiptir (92). Günümüzde over kanserinin derecelendirmesi evre I hastalar için önemli bir prognostik faktördür. Bir çalışmada, derece 1 veya derece 2

tümörü olan evre I hastaların sadece cerrahi ile tedavi edildiklerinde % 90'ın üzerinde bir sağ kalıma sahip oldukları gösterilmiştir (110). Aksine evre I ve derece 3 histolojisi olan hastalar belirgin şekilde daha kötü sağ kalıma sahiptir ve ileriye dönük tedavi endikedir (27, 111-112).

### **Tümör DNA'sının Ploidisi**

Son yıllarda çoğu çalışma DNA ploidisinin veya DNA indeksinin (akım sitometrisinden elde edilen histogramlardaki anöplid pik ile diploid pik arasındaki oran), erken ve ileri evre over kanserinde, diğer klinik ve patolojik değişkenlerden bağımsız olarak yararlı prognostik bilgiler sağladığına işaret etmiştir (112). Bir çalışmada, over kanserinde anöplid DNA içeriğinin daha agresif biyolojik davranış ve dolayısıyla daha kötü bir klinik seyir ile korele olduğu belirtilmiştir (113).

### **CA 125 Düzeyi**

CA 125 ilk olarak 1981 yılında bulunmuştur ve o günden beri over kanseri olan hastaların yönetiminde en çok çalışılan biyolojik belirteç olmuştur. CA 125, OC 125 monoklonal antikor ile tanınan, büyük molekül ağırlıklı, glikoprotein yapısında bir yüzey antijenidir (114). Genel olarak, epitelyal over kanseri olan hastaların yaklaşık % 83'ü > 35 U/mL CA 125 düzeyine sahiptir (115). CA 125'in sensitivitesi evre I hastalıkta (% 50), evre II veya daha ileri evre hastalıktan (% 90) daha düşüktür ve histolojiye göre de değişir (87). Diğer taraftan CA 125 EOK için spesifik değildir. Endometrial kanser ve belli bazı pankreatik kanserler dahil başka malignansileri olan hastalarda; endometriozis, uterin leiomyom ve pelvik inflamatuvar hastalık gibi çeşitli benign durumlarda ve sağlıklı kadınların yaklaşık % 1'inde de yükselir. Serum değerleri menstrüel siklus sırasında dalgalanma gösterir fakat benign durumu olan hastalarda nadir olarak 100-200 U/mL'den yüksektir (116-117). EOK olan hastalarda, preoperatif CA 125 düzeylerinin tümör evresi, tümör yükü ve histolojik derece ile korele olduğu bulunmuştur. Çok değişkenli analizde, preoperatif CA 125 düzeylerinin bağımsız prognostik öneme sahip olmadığı gösterilmiştir. Primer cerrahi sonrası rezidüel hastalığı olan hastalarda, postoperatif > 35 U/mL CA 125 düzeylerinin ve rezidüel hastalığı olanlarda > 65 U/mL CA 125 düzeylerinin sağ kalım için bağımsız bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (118). Bir çalışmada, epitelyal over kanserlerinde yüksek preoperatif serum CA 125 düzeylerinin azalmış sağ kalım süresini predikte ettiği bildirilmiştir (20).

## Asit Varlığı

Malignansi tüm asit vakalarının % 10'undan sorumludur (119). Malign asit, National Cancer Institute (NCI) tarafından kanser hücreleri içeren sıvının abdomende toplandığı bir durum olarak tanımlanır. Bu, peritoneal karsinomatozisteki gibi peritona direk invazyon yoluyla olabilir veya tümörün lokal biyolojik etkisine ya da vena kaval kompresyona ikincil olarak olabilir. Malign asiti olan hastaların % 60'ı abdominal şişkinlik (% 55), abdominal ağrı (% 53), bulantı (% 37), iştahsızlık (% 36), kusma (% 25) ve halsizlik (% 17) semptomlarını içeren semptomlarla başvurur (120). En sık altta yatan kanserler ovaryen kanser (% 37), pankreatikobiliyer kanser (% 21), gastrik kanser (% 18), özofageal kanser (% 4), kolorektal kanser (% 4) ve meme (% 3) kanseridir (120).

Asit gelişimi multifaktöriyeldir. Sıvı üretimi ve su rezorpsiyonu arasında portal basınç, onkotik basınç, lenfatik rezorpsiyon ve mikrovasküler geçirgenlik gibi faktörler tarafından etkilenen bir dengesizlik vardır (121).

- Mekanizmalardan biri, tümör hücreleri tarafından venöz ve lenfatik obstrüksiyon nedeniyle peritoneal sıvı içeriğinin bozulmuş drenajıdır (122).
- Malignansi hastada intravasküler proteinin azalmış olduğu bir katabolik duruma yatkınlık yaratır, dolayısıyla asit birikimine neden olan bir onkotik basınç gradientine katkıda bulunur (123).
- Kapiller geçirgenlik sitokin salınımı nedeniyle artar. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), vasküler permeabilite faktörü (VPF), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör (TNF) gibi moleküller rol oynayabilir. Artmış vasküler geçirgenlik, ozmotik partiküllerin ve sıvının peritona salgılanmasına neden olur (124).
- Hormonal faktörler de rol oynar. Asit, karşı düzenleyici olan renin ve aldosteronun yükselmesi ile sonuçlanan azalmış intravasküler volüm ile ilişkilidir. Bu daha sonra idrar çıkışının azalmasına ve asit birikiminin artmasına neden olur (125).

Önceki birçok çalışmada, asitin EOK'de bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir. Ancak bazıları, hasta sağ kalımında asitin önemini reddetmiştir. Bir çalışmada, evre I hastalıkta asitin bağımsız bir prognostik faktör olduğu belirtilmiştir (24). Ayhan ve ark.'nın bir çalışmasında asit varlığının veya hacminin ve de sitolojik pozitifliğinin sağ kalım için bağımsız bir prognostik faktör olmadığı bildirilmiştir. Ancak asitin tümör yaygınlığı ve evresi ile korele olduğu, direkt veya indirekt olarak EOK'de prognoz tahmininde önemli olduğu ve tümör yayılımı ve büyümesine neden olabileceği belirtilmiştir (34).

Kitlesizleştirme cerrahisi ve kemoterapi kürleri sonrasında, hastalığın başlangıcında gözlenen asit miktarında daima azalma gözlenir. Persistan asit ise kötü prognozu gösterir ve yönetimi oldukça zordur. Asitin en iyi tedavi şekli tekrarlayan parasentezler ve kemoterapidir (126).

### **Diğer Prognostik Faktörler**

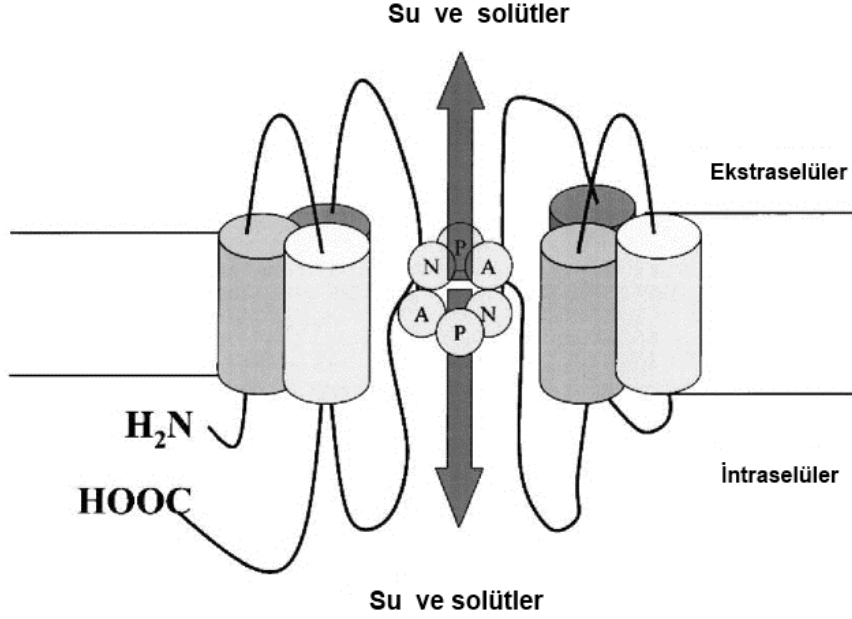
Over kanseri olan hastalarda sağ kalımı etkileyen diğer faktörler yaş ve performans durumu içerir. 69 yaşından daha yaşlı hastalar, evre, rezidüel hastalık ve performans durumu için düzeltme yapıldıktan sonra bile daha genç olan hastalardan belirgin şekilde daha kısa sağ kalıma sahiptirler (127).

Sonuç olarak, olumlu ve düşük riskli prognostik faktörler erken evreyi, iyi diferansiye tümörü, berrak hücreli veya müsinöz olmayan histolojiyi, asit yokluğunu, sitoredüktif cerrahi sonrası hiç rezidüel hastalık olmamasını veya minimal rezidüel hastalık (< 1 cm) olmasını, daha genç yaşı ve iyi performans durumunu içerir (128).

### **2.2. Aquaporin-1**

Aquaporinler (AQP) sıvı transportuna katılan çoğu epitelyal ve endometrial hücre tiplerinde eksprese olan homolog bir su kanalları ailesidir (35-37). Biyolojik hücrelerin membranında porlar oluşturan geniş major intrinsik proteinler (MIP) ailesinden olan integral membran proteinleridir (129). Altı transmembran bölgesi ve intraselüler NH<sub>2</sub>- ve COOH- uçları olan ortak bir yapıya sahiptirler (Şekil 2.2) (130). Su kanalı üst familyasının üyeleri bakteriden insana kadar çeşitli hücre tiplerinde bulunmuştur. Memeli Aquaporin ailesi AQP0'dan AQP10'a kadar her biri ayrı dokuda bulunan 11 üyeden oluşur. Fonksiyonel olarak AQP'ler iki alt gruba ayrılabilir (35, 131):

- Aquaporinler - AQP0–AQP2, AQP4–AQP6 ve AQP8 suya geçirgenlerdir fakat küçük organik ve inorganik moleküllere geçirgen değildirler (132).
- Aquagliseroproteinler - AQP3, AQP7, AQP9 ve AQP10 hem suya hem de gliserol ve üre gibi küçük nonpolar moleküllere geçirgendirler (35, 131-132).



**Şekil 2.2:** Genel aquaporin yapısının şematik görünümü (130).

**Şekil kaynağı:** Badaut J, Lasbennes F, Magistretti PJ, Regli L. Aquaporins in brain: distribution, physiology, and pathophysiology. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2002;22(4):367-378.

Kanalların her iki grubu da fizyolojik fonksiyonların çoğunda aktif rol alır (37). Aquaporinler, ozmotik gradiente yanıt olarak hücre membranlarından suyun hızlı transportunu kolaylaştırırlar. Bu kanalların böbreklerde su tutulumu, nöro-homeostaz, sindirim, vücut ısısının düzenlenmesi ve üreme dahil pek çok fizyolojik sürece katıldığına inanılmaktadır. Sıvıların transportu ve ozmotik dengenin düzenlenmesi gibi klasik, iyi anlaşılan rolleri yanında AQP'ler hücre göçünü kolaylaştırmaya, yağ metabolizmasının düzenlenmesine ve nöral sinyal iletimine katılabilirler (133).

AQP1 ilk olarak eritrositlerde ve renal proksimal tübüllerde bulunmuştur (134-135). AQP1 su kanalları, suyun hücre membranlarından serbestçe ve çift yönlü olarak hareketine izin verirken protonlar dahil iyonların hareketine izin vermezler (132, 136). Kanal üç topolojik elemandan oluşur, bir ekstraselüler ve bir sitoplazmik geçit, uzamış dar bir por veya seçicilik filtresi ile birbirlerine bağlanır. Seçicilik filtresi içinde, 4 su molekülü, kendisi dışında aşırı derecede hidrofobik por segmentini gösteren 3 hidrofilik daralma yeri boyunca lokalize olur. Uzun hidrofobik bir por ve az sayıda solut bağlayan bölgelerin bu olağan dışı kombinasyonu hızlı su transportunu kolaylaştırır. Daralma yeri rezidüleri, özellikle de bilinen tüm suya spesifik kanallarda bulunan histidin 182, su spesifitesinin oluşumunda önemlidir. Bu kanaldan protonların taşınması enerjik olarak oldukça elverişsizdir (137).

AQP1, beyin dışındaki mikro damar endotellerinin çoğunda, hem de korneadaki, intestinal lakteallerdeki ve diğer dokulardaki endotelial hücrelerde kuvvetli şekilde eksprese olan 28-kDa bir proteindir (38). AQP1 delesyonunun, alveolar-kapiller ozmotik su geçirgenliğini 10 kat azaltabileceği ve AQP1'in, insan akciğerinde vasküler geçirgenliğin bir belirleyicisi olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir (138-139). AQP1'in, tüm normal dokuların kapiller endotelinde eksprese edildiği ve ekspresyonunun, prostat ve over tümörlerinin mikrovasküler yapılarında hafifçe daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, AQP1 tümör mikro damar ağının mükemmel bir belirteçidir, fakat farklı insan tümörlerinde, farklı şekilde eksprese edilmektedir (140). AQP1 çalışmaz hale getirilmiş olan farelerde, tümör büyümesinin belirgin şekilde yavaşladığı ve tümör vaskülaritesinin dramatik olarak azaldığı gösterilmiştir. Bu, tümör vaskülarizasyonunun ve büyümesinin endojen AQP1 tarafından düzenlendiğine işaret etmektedir (141). Lewis akciğer kanseri modelinde, vasküler endotellerde AQP1 düzeyi ve akciğer metastazlarının sayısı dramatik olarak ve aynı anda asetazolamid veya topiramid kullanımıyla azalmıştır. Bu, AQP1'in angiogenezisi düzenleyerek tümör oluşumunda kritik bir rol oynayabileceğini desteklemektedir (142-143).

Günümüzde AQP'in epitelyal over tümörlerinde dağılım ve ekspresyonu belirsizdir. Daha önceki bir çalışmada AQP1'in tüm ovaryen epitelyal tümörler içindeki mikro damarların ve küçük damarların membranında kuvvetli olarak ve tümör hücrelerinin membranında nadir olarak eksprese olduğu gösterilmiştir. AQP1'in bu hücrel dağılımı, AQP1'in primer EOK'de transvasküler su akımında önemli bir rol oynadığını ve tümör hücrelerinin su transportunda küçük bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. AQP1 ekspresyonu malign over tümörlerinde, borderline ve benign over tümörlerinden daha yüksek bulunmuştur. AQP1 aşırı ekspresyonunun belki de EOK'de asitin majör nedeni olan mikro damar su geçirgenliğinde artışa neden olduğuna inanılmaktadır. EOK'de mikro damarlardaki AQP1 ekspresyonunun FIGO evresi ve lenf nodu metastazları ile belirgin bir ilişkisi olduğu daha önce gösterilmiştir. Bu bulgular, AQP1 ekspresyonunun hastalığın erken evrelerinde artabileceğini ve over kanserlerinin progresyon ve prognozuna katkıda bulunabileceğini göstermektedir (49).

Başka bir çalışmada, AQP1'in EOK'de mikro damarların ve küçük damarların epitelyal hücrelerinde lokalize olduğu gösterilmiştir. AQP1 proteininin ve mRNA'sının ekspresyonunun over kanserlerinde ve borderline tümörlerde, benign over tümörlerine ve normal over dokusuna göre belirgin olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. Tüm over kanserlerinde AQP1 ekspresyonunun, asit miktarı  $\geq 1000$  mL olan hastalarda  $< 500$  mL

olanlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, AQP1 aşırı ekspresyonunun epitelyal over tümörlerinin gelişiminde önemli bir rol oynadığı ve over kanserinde asit oluşumuyla ilişkili olabileceği ifade edilmiştir (144).

### **2.3 İntratümöral Mikro Damar Dansitesi**

Bir tümörün büyümesi ve metastazı tümörün anjiogenezisine bağlıdır. Tümör anjiogenezisi, tümör içine ve tümöre doğru yeni damarların büyümesi olarak adlandırılır. Tümör anjiogenezisi olana kadar tümörler 2-4 mm çapından daha fazla büyümmezler (145). Çoğu malign neoplazmların neovaskülarizasyonu indüklediği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (42-43). Tümördeki mikro damarların sayısı olarak bilinen intratümöral mikro damar dansitesinin (IMD) malgin epitelyal over tümörlerinde borderline tümörlere göre ve borderline tümörlerde de benign tümörlere göre daha yüksek olduğu önceki bazı çalışmalarda saptanmıştır. Ancak over kanserinde anjiogenezisin klinikopatolojik önemi hala tartışmalıdır (49, 146).

Anti-CD34 antikoru, kötü diferansiye endotelial hücreleri tanımlamada ve sensitivitede, anti-CD31 antikoru ve faktör VIII ilişkili antijene göre daha üstündür (147-148). Bu nedenle, IMD, çalışmamızda CD34 sayımıyla değerlendirilmiştir. Bir çalışmada IMD'nin histolojik tiple, tümör derecesiyle, FIGO evresiyle, lenfatik metastazla ve asit miktarıyla anlamlı ilişkisi olmadığı bulunmuştur. IMD'nin ovaryen karsinogenezde önemli bir rol oynayabileceği ancak klinikopatolojik değişkenlerle bir ilişkisi olmadığı belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada, IMD ile AQP1 ekspresyonu arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır (49).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu'nun bilimsel ve etik açılardan onayı (Onay no: KA09/09) alınarak planlanmıştır. Başkent Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Jinekolojik Onkoloji Bölümü'nde Nisan 2007 ile Haziran 2009 tarihleri arasında FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) evreleme sistemine uygun cerrahi evreleme yapılan ve optimal sitoredüktif cerrahi uygulanan ( Hacker ve ark.'nın tanımına göre (98) primer sitoredüktif cerrahi sonrası rezidüel hastalığı < 0,5 cm olan ) 55 primer seröz epitelyal over kanserli olgu çalışma için retrospektif olarak seçilmiştir. Düşük malign potansiyelli hastalığı olan hastalar ve kliniğimize başvurmadan önce preoperatif kemoterapi almış olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Tüm hastaların ilk cerrahisi aynı cerrah tarafından yapılmıştır. Olguların patoloji raporlarına bilgisayar sistemi ve yazılı raporlardan ulaşılmıştır. Aynı zamanda, hastaların hastane arşivinde bulunan dosyaları taranarak çalışma için gerekli klinik bilgiler elde edilmiştir. Hastaların performans durumu, GOG (Gynecologic Oncology Group) performans durumu skalası baz alınarak belirlenmiştir.

Başkent Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı Bölümü'nde, olgulara ait parafine gömülü over tümörü spesimenleri, AQP1 ekspresyonu ve IMD (CD34 sayımı) açısından immünohistokimyasal yöntemle semikantitatif olarak incelenmiştir. Parafine gömülü, 4-µm kalınlığında doku kesitleri ksilende deparafinize edilmiş ve derecelenmiş alkolle rehidrate edilmiştir. Endojen peroksidaz, % 10 hidrojen peroksidazla engellenmiştir ve antijen geri alma reaksiyonu 1,5 dakika boyunca kaynayan 10 mM sodyum sitrat tamponu (pH 6.0) ile yapılmıştır ve spesifik olmayan bağlanma normal non-immün serumla azaltılmıştır. Örnekler primer antikor AQP1 (1:500 dilüsyon; klon: 1/A5F6, monoklonal ab, GeneTex, Inc.) ve CD34 (1:100 dilüsyon; klon: Q Bend/10, mouse monoklonal ab, ScyTek Lab.) ile oda sıcaklığında, 60 dakika boyunca ve sonra sekonder antikor (PicTure™ Kits; Zymed) ile oda sıcaklığında, 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Reaksiyon vizüalizasyonu diaminobenzidin ile yapılmış ve preparatların ikinci boyaması hematoksilin ile yapılmıştır. Bu çalışmada uygulanan tüm immünohistokimyasal reaksiyonlarda pozitif reaksiyon kontrolleri (AQP1 antikorlarına reaktif olduğu bilinen böbrek dokuları) ve negatif reaksiyon kontrolleri (primer antikor ile inkübe edilmeyen over tümörü dokuları) kullanılmıştır.



CD34 için immün boyanma ile değerlendirilen IMD Weidner'e göre belirlenmiştir (145). Küçük büyütmede (X 40) immün boyanmış kesitler incelendikten sonra belirgin biçimde boyanmış en çok sayıda mikro damarların olduğu tümör içindeki veya direkt olarak tümör oluşumuna komşu bölge ('sıcak nokta') seçilmiştir. Daha sonra, IMD büyük büyütmede (X 400) tüm damarların sayılmasıyla belirlenmiştir. Boyanma reaksiyonlarının belirlenmesi tam olarak en çok IMD'nin (sıcak nokta) olduğu bölgeye sınırlandırılmıştır. Her bir boyanmış lümen tek bir sayılabilir mikro damar olarak kabul edilmiştir. Eğer lümen yoksa ve sadece tek bir pozitif hücre görülüyorsa, bu hücre de temsil edilen bir mikro damar olarak yorumlanmıştır. İmmünohistokimya analizi iki bağımsız patoloğ tarafından gerçekleştirilmiştir. Her iki patoloğun verdiği sonuçların ortalama değeri daha sonraki tüm hesaplamalarda kullanılmıştır. İki patoloğ arasında % 30'dan fazla fark olduğunda, bu preparatlar her iki patoloğ tarafından tekrar değerlendirilmiştir.

Tümör mikro damarlarındaki AQP1 ekspresyonu da aynı yöntemle tespit edilmiştir. Tümördeki mikro damarların sayısı farklı vakaya ve gözlemlenen vasküler noktaya göre değişmektedir ve bu ölçülen AQP1 düzeylerinde bir hatayla sonuçlanmaktadır. Bu hatayı azaltmak için AQP1/IMD oranı, ovaryen epitelyal tümörlerin mikro damarlarındaki AQP1 ekspresyon düzeyini temsil etmesi için kullanılmıştır.

Çalışma verileri SPSS versiyon 17.0 istatistik paket programına (Statistical Package for the Social Sciences, version 17.0, SPSS Inc, Chicago, III, USA) aktarılarak analiz edilmiştir. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde cinsinden, sürekli değişkenler ise ortalama  $\pm$  SD cinsinden sunulmuştur. Klinik ve prognostik parametreler (hastanın tanı anındaki yaşı, FIGO evresi, tümör derecesi, asit miktarı, asit sitolojisi, lenf nodlarının tutulum durumu, GOG performans durumu, lenfovasküler alan invazyonu (LVSI) durumu, preoperatif CA 125 düzeyi) ile AQP1 ekspresyon düzeyi, IMD ve AQP1/IMD oranı arasındaki ilişkinin tespitinde, iki grubun karşılaştırıldığı durumlarda t testi ve üç ve üzeri grubun karşılaştırıldığı durumlarda da tek yönlü varyans analizi (Kruskal Wallis Testi) kullanılmıştır. Korelasyonların incelendiği durumlarda Pearson korelasyon kat sayısı hesaplanmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak belirlenmiştir.

#### 4. BULGULAR

Hastaların tanı anındaki ortalama yaşı  $56,6 \pm 10,8$  (31-83) idi. 55 hastanın 17 (% 30,9)'si premenopozal dönemde ve 38 (% 69,1)'i postmenopozal dönemdeydi. FIGO evresine göre erken evrede (evre I-II) olan 5 (% 9,1) hasta ve ileri evrede (evre III-IV) olan 50 (% 90,9) hasta vardı. Hastaların 9 (% 16,4)'ünün tümör derecesi, derece 2 ve 46 (%83,6)'sının tümör derecesi, derece 3 idi, derece 1 olan hasta yoktu. Preoperatif CA 125 düzeyi 1 (% 1,8) hastada  $< 35$  U/mL, 22 (% 40) hastada 35-499 U/mL ve 32 (% 58,2) hastada  $\geq 500$  U/mL idi. Asit miktarı  $< 500$  mL olan 17(% 30,9) hasta, 500-999 mL olan 10 (% 18,2) hasta ve  $\geq 1000$  olan 28 (% 50,9) hasta vardı. Hastaların 24 (% 43,6)'ünde asit sitolojisi negatifken 31(% 56,4)'inde malignite açısından sitoloji pozitifti. GOG performans durumuna göre, 13 (% 23,6) hasta GOG 1, 10 hasta (% 18,2) GOG 2, 21 hasta (% 38,2) GOG3 ve 11 hasta (% 20) GOG 4 statüsündeydi. Lenf nodu metastazı vakaların 18 (%32,7)'inde yokken, 37 (% 67,3)'sinde mevcuttu. Lenfovasküler alan invazyonu (LVSI) negatif olan hasta sayısı 23 (% 41,8) iken pozitif olan hasta sayısı 32 (% 58,2) idi (Tablo 4.1).

AQP1 proteini primer seröz epitelyal over tümörlerinin hepsinde, mikro damarların ve küçük damarların membranlarında kuvvetli olarak eksprese edilmiştir (Şekil 4.1). AQP1 ekspresyonu birkaç vakada over kanseri interstisyel hücrelerinin membranında ve tümör hücrelerinde de görülmüştür (Şekil 4.2 ve 4.3). Tümör hücrelerinin sitoplazmasında görülmemiştir.

AQP1 ekspresyon düzeyi, IMD, AQP1/IMD oranı evre I-II ve evre III-IV hastalarda sırasıyla  $31,8 \pm 27,5$ ,  $24,6 \pm 7,4$ ,  $1,58 \pm 1,87$  ve  $32,7 \pm 29,5$ ,  $32,5 \pm 19,8$ ,  $1,27 \pm 0,90$  olarak bulunmuştur. Bu bulgular derece 2 tümörü olan hastalarda sırasıyla  $41,7 \pm 34,0$ ,  $28,7 \pm 11,6$ ,  $1,76 \pm 1,66$  iken derece 3 tümörü olanlarda  $30,8 \pm 15,2$ ,  $32,3 \pm 20,3$ ,  $1,20 \pm 0,81$  idi. Primer seröz epitelyal over tümörlerinin mikro damarlarındaki AQP1 ekspresyonu ile FIGO evreleri ve tümör dereceleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). IMD ve AQP1/IMD oranı açısından da evreler ve tümör dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Asit miktarı açısından bakıldığında ise AQP1/IMD oranı,  $< 500$  mL asiti olan hastalarda  $1,15 \pm 1,07$ , 500-999 mL asiti olan hastalarda  $1,30 \pm 1,14$  ve  $\geq 1000$  mL asiti olanlarda  $1,38 \pm 0,94$  olarak bulunmuştur. Asit sitolojisine göre, sitolojisi pozitif olanlarda AQP1/IMD oranı  $1,30 \pm 0,82$  iken sitolojisi negatif olan hastalarda  $1,24 \pm 1,21$  idi. AQP/IMD oranı lenf nodu metastazı olan hastalarda  $1,29 \pm 0,84$  olarak ve lenf nodu

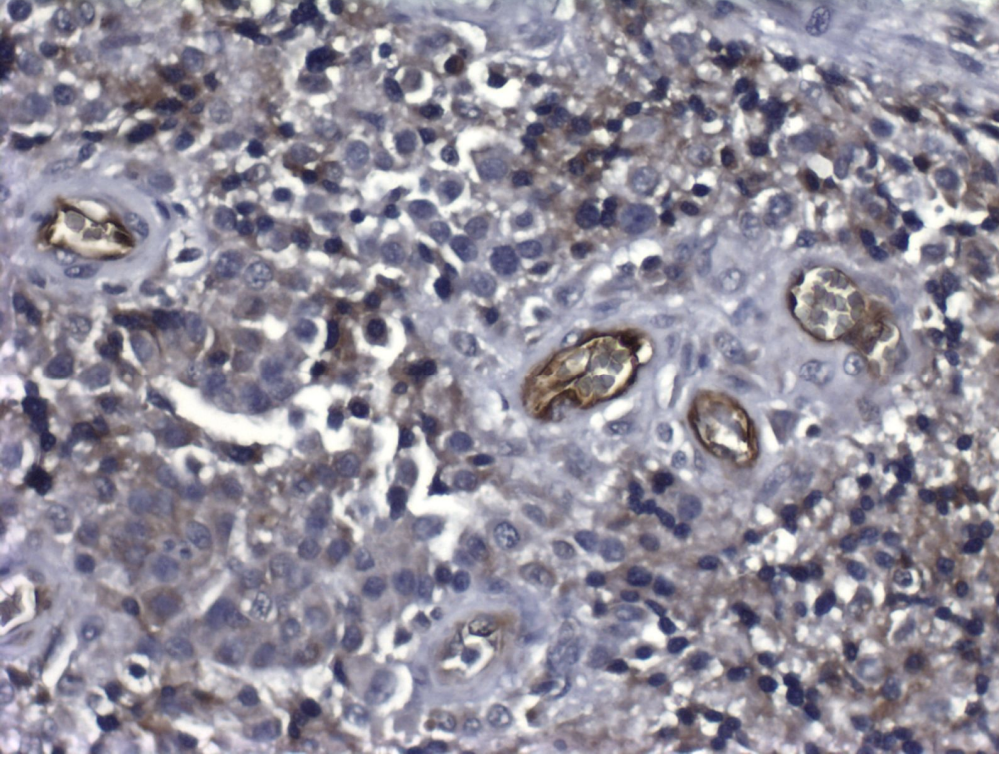
metastazı olmayanlarda  $1,31\pm 1,30$  olarak saptanmıştır. LVSI pozitif olanlarda AQP/IMD  $1,17\pm 0,86$  iken negatif olanlarda  $1,47\pm 1,17$  idi. Preoperatif CA 125 düzeylerine göre AQP/IMD oranı, CA 125 düzeyi  $< 35$  U/mL bir hastada 0,62, 35-499 U/mL olan hastalarda  $1,30\pm 0,98$  ve  $\geq 500$  U/mL olanlarda  $1,31\pm 1,04$  olarak bulunmuştur. GOG performans durumuna göre bakıldığında, GOG 1, GOG 2, GOG 3 ve GOG 4 performans statüsünde olan hastalarda AQP1/IMD oranı sırasıyla  $1,53\pm 1,50$ ,  $1,16\pm 0,74$ ,  $1,26\pm 0,67$  ve  $1,20\pm 1,11$  şeklinde bulunmuştur. Asit miktarı, asit sitolojisi, lenf nodu metastazı, LVSI, preoperatif CA 125 düzeyleri ve performans durumu açısından karşılaştırıldığında da AQP1 ekspresyon düzeyi, IMD ve AQP/IMD oranı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4.2).

**Tablo 4.1:** Hasta popülasyonunun parametrelere göre dağılımı.

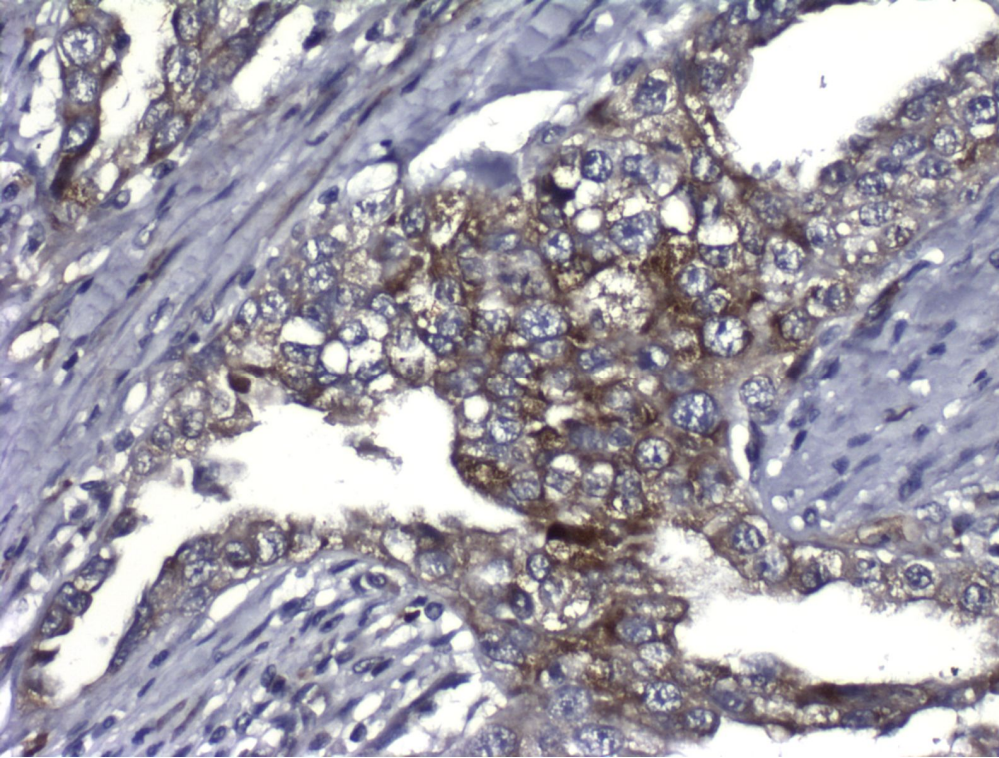
Parametre	Hasta sayısı (n = 55)	Hasta yüzdesi ( %)
<b>FIGO evresi</b>		
I-II	5	9,1
III-IV	50	90,9
<b>Tümör derecesi</b>		
Derece 1	0	0
Derece 2	9	16,4
Derece 3	46	83,6
<b>Preoperatif CA 125 düzeyi (U/mL)</b>		
$< 35$	1	1,8
35-499	22	40,0
$\geq 500$	32	58,2
<b>Asit miktarı (mL)</b>		
$< 500$	17	30,9
500-999	10	18,2
$\geq 1000$	28	50,8
<b>Asit sitolojisi</b>		
Negatif	24	43,6
Pozitif	31	56,4
<b>Lenf nodu metastazı</b>		
Yok	18	32,7
Var	37	67,3
<b>LVSI</b>		
Yok	23	41,8
Var	32	58,2
<b>GOG performans durumu</b>		
GOG 1	13	23,6
GOG 2	10	18,2
GOG 3	21	38,2
GOG 4	11	20,0

**Tablo 4.2:** Klasik prognostik faktörlere göre primer seröz EOK'de AQP1 ekspresyonu, IMD ve AQP/IMD oranı.

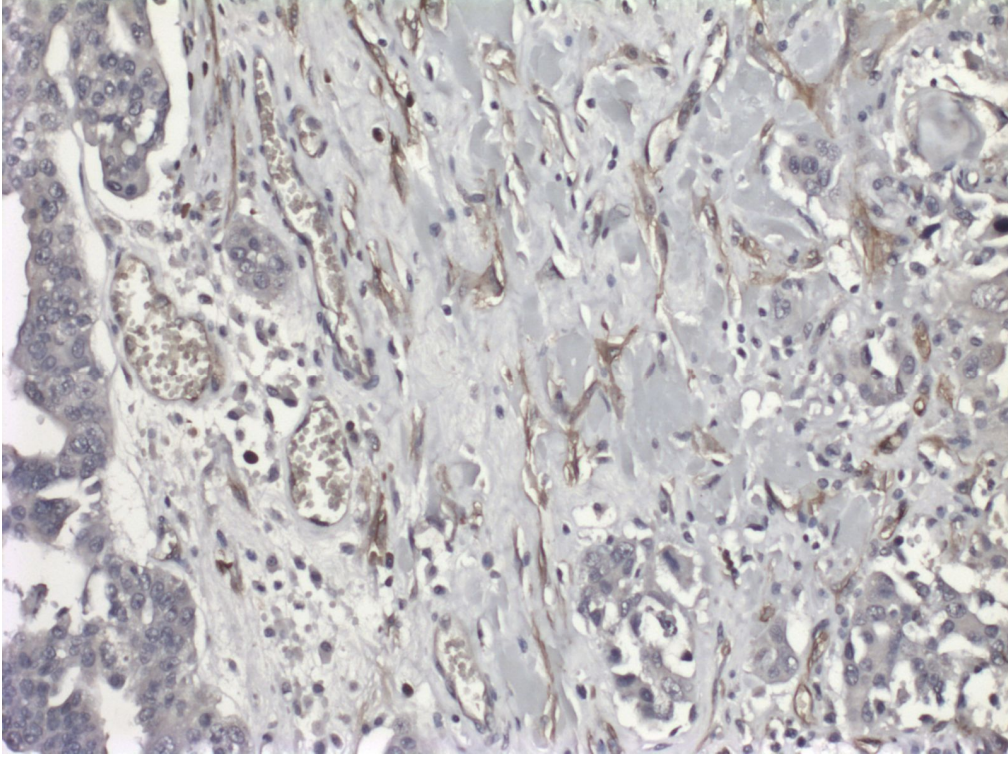
	Hasta sayısı (n)	AQP1	p değeri	IMD	p değeri	AQP1/IMD	p değeri
<b>FIGO evresi</b>							
I-II	5	31,8±27,4		24,6±7,4		1,58±1,87	
III-IV	50	32,7±18,9	>0.05	32,5±19,8	>0.05	1,26±0,90	>0.05
<b>Tümör derecesi</b>							
Derece 2	9	41,7±34,0		28,7±11,6		1,76±1,66	
Derece 3	46	30,8±15,2	>0.05	32,3±20,3	>0.05	1,20±0,81	>0.05
<b>Lenf nodu metastazı</b>							
Yok	18	29,8±18,1		31,1±17,2		1,31±1,30	
Var	37	34,0±20,2	>0.05	32,1±20,2	>0.05	1,29±0,84	>0.05
<b>LVSI</b>							
Yok	23	33,5±18,7		27,6±14,7		1,47±1,17	
Var	32	32,0±20,4	>0.05	34,7±21,6	>0.05	1,17±0,86	>0.05
<b>Asit miktarı (mL)</b>							
< 500	17	28,2±16,1		30,9±16,6		1,15±1,07	
500-999	10	33,2±30,1		31,5±15,0		1,30±1,14	
≥ 1000	28	35,1±16,9	>0.05	32,3±22,2	>0.05	1,38±0,94	>0.05
<b>Asit sitolojisi</b>							
Negatif	24	32,2±24,3		35,8±26,6		1,24±1,21	
Pozitif	31	31,7±13,9	>0.05	28,6±10,0	>0.05	1,30±0,82	>0.05
<b>Preoperatif CA 125 düzeyi (U/mL)</b>							
< 35	1	22		35		0,62	
35-499	22	30,8±15,1		30,1±16,5		1,30±0,98	
≥ 500	32	34,2±22,4	>0.05	32,7±21,2	>0.05	1,31±1,04	>0.05
<b>GOG performans statüsü</b>							
GOG 1	13	37,6±31,7		31,0±15,1		1,53±1,50	
GOG 2	10	34,3±15,5		36,5±19,4		1,16±0,74	
GOG 3	21	30,4±13,4		31,0±24,8		1,26±0,67	
GOG 4	11	29,5±14,8	>0.05	29,9±10,4	>0.05	1,20±1,11	>0.05



**Şekil 4.1:** Epitelyal over tümörlerinde mikro damarların ve küçük damarların membranlarında kuvvetli AQP1 boyanması (X 400).



**Şekil 4.2:** Epitelyal over tümörlerinde tümör hücre membranlarında AQP1 boyanması (X 400).



**Şekil 4.3:** Epitelyal over tümörlerinde interstisyel hücrelerin membranlarında AQP1 boyanması (X 400).

Bu çalışmada AQP1 ekspresyonu ile IMD arasında bir korelasyon saptanmamıştır. Yine AQP1 ile tanı anındaki yaş arasında ve asit miktarı arasında bir korelasyon bulunmamıştır. AQP1/IMD oranı ile asit miktarı ve FIGO evresi arasında da bir ilişki tespit edilmemiştir. AQP1 ekspresyon düzeyi ile preoperatif CA 125 düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur ( $R = 0,277$ ,  $p < 0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

EOK kadın kanserlerinin % 4-6'sını ve jinekolojik kanserlerin % 27'sini oluşturur. Prognozları hastaya, tümör biyolojisine ve uygulanan tedavilere bağlı olmakla beraber günümüzde istenilen düzeyde değildir. Ölümcül bir kanser olup genel 5 yıllık sağ kalım oranı % 31-53 arasında değişmektedir (1-2).

Daha önceki çalışmalarda, AQP1'in EOK'de mikro damarların ve küçük damarların epitelyal hücrelerinde lokalize olduğu gösterilmiştir (49, 144). Mikro damarların sayısı farklı vakalara ve gözlemlenen vasküler noktaya göre değişmektedir. Bu durum, ölçülen AQP1 ekspresyon düzeylerinde hatalı sonuçlara neden olabilir. IMD, tümördeki mikro damarların sayısı olarak bilindiği ve AQP1 proteini de mikro damarlarda kuvvetli olarak eksprese edildiği için AQP1/IMD oranı, epitelyal over tümörlerinin mikro damarlarındaki AQP1 ekspresyon düzeyini daha kesin yansıtabilecek ve subjektif ve objektif hataları azaltabilecektir (49).

Bu çalışmada AQP1 proteininin primer seröz epitelyal over tümörlerinin hepsinde, mikro damarların ve küçük damarların membranlarında kuvvetli olarak eksprese edildiği saptanmıştır. AQP1 ekspresyonu, birkaç vakada over kanseri interstisyel hücrelerinin membranında ve tümör hücrelerinde de görülmüştür. Tümör hücrelerinin sitoplazmasında görülmemiştir. Bu bulgular, literatürdeki daha önceki çalışmalarla uyum içerisindedir ve AQP1'in primer EOK'de, transvasküler su akışında önemli bir rol oynayabileceğini ve tümör hücrelerinin sıvı transportunda da bir etkisinin olabileceğini desteklemektedir (49, 144). Aynı zamanda, bu bulgu malign over tümörlerinin, diğer tümörler gibi yüksek vasküler geçirgenliğe sahip olduğunu desteklemektedir (149).

Önceki çalışmalarda, epitelyal over tümörü mikro damarlarındaki AQP1 ekspresyonunun asit miktarı, FIGO evresi ve lenf nodu metastazı ile belirgin ilişkisi olduğu ancak, histolojik tip ve tümör derecesi ile anlamlı bir ilişkisi olmadığı gösterilmiştir. Bu bulgulara dayanılarak AQP1 ekspresyonunun, asit oluşumunda önemli bir rol oynayabileceği ve over kanserinin progresyon ve prognozuna katılabileceği savunulmuştur. Ayrıca AQP1 ve IMD arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptanmış ve dolayısıyla, AQP1 ekspresyonunun anjiogenezisle de korele olabileceği öne sürülmüştür (49). Bu çalışmada AQP1 ekspresyonu, IMD ve AQP1/IMD oranı ile FIGO evresi, lenf nodu metastazı, asit miktarı ve tümör derecesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ayrıca, diğer prognostik parametreler olan yaş, performans durumu ve preoperatif CA 125 düzeyleri ile de bir ilişki tespit edilmemiştir. AQP1 ekspresyonu ile IMD arasında bir

korelasyon saptanmamıştır. AQP1 ekspresyon düzeyi ile preoperatif CA 125 düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Bu bulgular ışığında, EOK'de AQP1 ekspresyon düzeyinin, hastalığın progresyonuna ve prognozuna ya da asit oluşumuna bir katkısı var gibi görünmemektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada bulunan değerler, literatürdeki benzer çalışmalardaki değerlerle karşılaştırıldığında, AQP1 ekspresyon düzeyi ile FIGO evresi, asit miktarı ve lenf nodu metastazı arasındaki ilişki, önceki çalışmalarda istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen bu çalışmada tespit edilememiştir. Erken evre vaka sayısının az olması bunda bir etken olmuş olabilir. Bu durumun aydınlığa kavuşması için daha geniş vaka serisi bazında çalışmaya devam etmenin yararı olacaktır.



## 6. KAYNAKLAR

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 59(4):225-249, 2009.
2. Heintz AP, Odicino F, Maisonneuve P, Quinn MA, Benedet JL, Creasman WT, Ngan HY, Pecorelli S, Beller U. Carcinoma of the ovary. FIGO 6th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 95 Suppl 1:S161-192, 2006.
3. Yancik R, Ries LG, Yates JW. Ovarian cancer in the elderly: an analysis of Surveillance, Epidemiology, and End Results Program data. *Am J Obstet Gynecol* 154(3):639-647, 1986.
4. SEER, Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. Bethesda, MD.: U.S. Dept. of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute; 2005.
5. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 55(2):74-108, 2005.
6. Boente MP, Chi DS, Hoskins WJ. The role of surgery in the management of ovarian cancer: primary and interval cytoreductive surgery. *Semin Oncol* 25(3):326-334, 1998.
7. Flam F, Einhorn N, Sjøvall K. Symptomatology of ovarian cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 27(1):53-57, 1988.
8. Granberg S, Noren H, Friberg LG. Ovarian cancer stages I and II: predictions and 5-year survival in two decades. *Gynecol Oncol* 35(2):204-208, 1989.
9. Harlan LC, Clegg LX, Trimble EL. Trends in surgery and chemotherapy for women diagnosed with ovarian cancer in the United States. *J Clin Oncol* 21(18):3488-3494, 2003.
10. Randall TC, Rubin SC. Surgical management of ovarian cancer. *Semin Surg Oncol* 17(3):173-180, 1999.
11. Hoskins WJ, Bundy BN, Thigpen JT, Omura GA. The influence of cytoreductive surgery on recurrence-free interval and survival in small-volume stage III epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 47(2):159-166, 1992.
12. Hoskins WJ, McGuire WP, Brady MF, Homesley HD, Creasman WT, Berman M, Ball H, Berek JS. The effect of diameter of largest residual disease on survival after primary cytoreductive surgery in patients with suboptimal residual epithelial ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 170(4):974-979; discussion 979-980, 1994.
13. Lund B, Williamson P, van Houwelingen HC, Neijt JP. Comparison of the predictive power of different prognostic indices for overall survival in patients with advanced ovarian carcinoma. *Cancer Res* 50(15):4626-4629, 1990.
14. Marsoni S, Torri V, Valsecchi MG, Belloni C, Bianchi U, Bolis G, Bonazzi C, Colombo N, Epis A, Favalli G, et al. Prognostic factors in advanced epithelial ovarian cancer. (Gruppo Interregionale Cooperativo di Oncologia Ginecologica (GICO)). *Br J Cancer* 62(3):444-450, 1990.
15. Neijt JP, ten Bokkel Huinink WW, van der Burg ME, van Oosterom AT, Willemse PH, Vermorken JB, van Lindert AC, Heintz AP, Aartsen E, van Lent M, et al. Long-term survival in ovarian cancer. Mature data from The Netherlands Joint Study Group for Ovarian Cancer. *Eur J Cancer* 27(11):1367-1372, 1991.
16. Omura GA, Brady MF, Homesley HD, Yordan E, Major FJ, Buchsbaum HJ, Park RC. Long-term follow-up and prognostic factor analysis in advanced ovarian carcinoma: the Gynecologic Oncology Group experience. *J Clin Oncol* 9(7):1138-1150, 1991.

17. Puls LE, Duniho T, Hunter JE, Kryscio R, Blackhurst D, Gallion H. The prognostic implication of ascites in advanced-stage ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 61(1):109-112, 1996.
18. Schildkraut JM, Halabi S, Bastos E, Marchbanks PA, McDonald JA, Berchuck A. Prognostic factors in early-onset epithelial ovarian cancer: a population-based study. *Obstet Gynecol* 95(1):119-127, 2000.
19. van Houwelingen JC, ten Bokkel Huinink WW, van der Burg ME, van Oosterom AT, Neijt JP. Predictability of the survival of patients with advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol* 7(6):769-773, 1989.
20. Geisler JP, Miller GA, Lee TH, Harwood RM, Wiemann MC, Geisler HE. Relationship of preoperative serum CA-125 to survival in epithelial ovarian carcinoma. *J Reprod Med* 41(3):140-142, 1996.
21. Parker D, Bradley C, Bogle SM, Lay J, Masood M, Hancock AK, Naylor B, Price JJ. Serum albumin and CA125 are powerful predictors of survival in epithelial ovarian cancer. *Br J Obstet Gynaecol* 101(10):888-893, 1994.
22. Schneider D, Halperin R, Halperin D, Bukovsky I, Hadas E. Prediction of the survival of patients with advanced ovarian cancer according to a risk model based on a scoring system. *Eur J Gynaecol Oncol* 19(6):547-552, 1998.
23. Warwick J, Kehoe S, Earl H, Luesley D, Redman C, Chan KK. Long-term follow-up of patients with advanced ovarian cancer treated in randomised clinical trials. *Br J Cancer* 72(6):1513-1517, 1995.
24. Sorbe B, Frankendal B. Prognostic importance of ascites in ovarian carcinoma. *Acta Obstet Gynecol Scand* 62(5):415-418, 1983.
25. Chi DS, Liao JB, Leon LF, Venkatraman ES, Hensley ML, Bhaskaran D, Hoskins WJ. Identification of prognostic factors in advanced epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 82(3):532-537, 2001.
26. Clark TG, Stewart ME, Altman DG, Gabra H, Smyth JF. A prognostic model for ovarian cancer. *Br J Cancer* 85(7):944-952, 2001.
27. Dembo AJ, Davy M, Stenwig AE, Berle EJ, Bush RS, Kjorstad K. Prognostic factors in patients with stage I epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 75(2):263-273, 1990.
28. Einhorn N, Nilsson B, Sjovall K. Factors influencing survival in carcinoma of the ovary. Study from a well-defined Swedish population. *Cancer* 55(9):2019-2025, 1985.
29. Hirabayashi K, Graham J. Genesis of ascites in ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 106(4):492-497, 1970.
30. Kosary CL. FIGO stage, histology, histologic grade, age and race as prognostic factors in determining survival for cancers of the female gynecological system: an analysis of 1973-87 SEER cases of cancers of the endometrium, cervix, ovary, vulva, and vagina. *Semin Surg Oncol* 10(1):31-46, 1994.
31. Shen-Gunther J, Mannel RS. Ascites as a predictor of ovarian malignancy. *Gynecol Oncol* 87(1):77-83, 2002.
32. Nagy JA, Herzberg KT, Masse EM, Zientara GP, Dvorak HF. Exchange of macromolecules between plasma and peritoneal cavity in ascites tumor-bearing, normal, and serotonin-injected mice. *Cancer Res* 49(19):5448-5458, 1989.
33. Nagy JA, Herzberg KT, Dvorak JM, Dvorak HF. Pathogenesis of malignant ascites formation: initiating events that lead to fluid accumulation. *Cancer Res* 53(11):2631-2643, 1993.
34. Ayhan A, Gultekin M, Taskiran C, Dursun P, Firat P, Bozdag G, Celik NY, Yuce K. Ascites and epithelial ovarian cancers: a reappraisal with respect to different aspects. *Int J Gynecol Cancer* 17(1):68-75, 2007.

35. Borgnia M, Nielsen S, Engel A, Agre P. Cellular and molecular biology of the aquaporin water channels. *Annu Rev Biochem* 68:425-458, 1999.
36. Ishibashi K, Kuwahara M, Sasaki S. Molecular biology of aquaporins. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 141:1-32, 2000.
37. Verkman AS, Mitra AK. Structure and function of aquaporin water channels. *Am J Physiol Renal Physiol* 278(1):F13-28, 2000.
38. Verkman AS. Aquaporin water channels and endothelial cell function. *J Anat* 200(6):617-627, 2002.
39. Papadopoulos MC, Saadoun S, Davies DC, Bell BA. Emerging molecular mechanisms of brain tumour oedema. *Br J Neurosurg* 15(2):101-108, 2001.
40. Saadoun S, Papadopoulos MC, Davies DC, Bell BA, Krishna S. Increased aquaporin 1 water channel expression in human brain tumours. *Br J Cancer* 87(6):621-623, 2002.
41. Moon C, Soria JC, Jang SJ, Lee J, Obaidul Hoque M, Sibony M, Trink B, Chang YS, Sidransky D, Mao L. Involvement of aquaporins in colorectal carcinogenesis. *Oncogene* 22(43):6699-6703, 2003.
42. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 339(6219):58-61, 1989.
43. Liotta LA, Stetler-Stevenson WG. Tumor invasion and metastasis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cancer Res* 51(18 Suppl):5054s-5059s, 1991.
44. Schoell WM, Pieber D, Reich O, Lahousen M, Janicek M, Guecer F, Winter R. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in ovarian carcinoma: quantification of endothelial immunoreactivity by image analysis. *Cancer* 80(12):2257-2262, 1997.
45. Sonmezer M, Gungor M, Ensari A, Ortac F. Prognostic significance of tumor angiogenesis in epithelial ovarian cancer: in association with transforming growth factor beta and vascular endothelial growth factor. *Int J Gynecol Cancer* 14(1):82-88, 2004.
46. Raspollini MR, Amunni G, Villanucci A, Baroni G, Boddi V, Taddei GL. Prognostic significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor expression in advanced ovarian serous carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 14(5):815-823, 2004.
47. Nakayama K, Kanzaki A, Takebayashi Y, Toi M, Bando H, Nabei T, Miyazaki K, Fukumoto M. Different features of angiogenesis between ovarian and breast carcinoma. *Cancer Lett* 170(2):161-167, 2001.
48. Abulafia O, Ruiz JE, Holcomb K, Dimaio TM, Lee YC, Sherer DM. Angiogenesis in early-invasive and low-malignant-potential epithelial ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol* 95(4):548-552, 2000.
49. Yang JH, Shi YF, Chen XD, Qi WJ. The influence of aquaporin-1 and microvessel density on ovarian carcinogenesis and ascites formation. *Int J Gynecol Cancer* 16 Suppl 1:400-405, 2006.
50. Hankinson SE, Colditz GA, Hunter DJ, Spencer TL, Rosner B, Stampfer MJ. A quantitative assessment of oral contraceptive use and risk of ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 80(4):708-714, 1992.
51. Gross TP, Schlesselman JJ. The estimated effect of oral contraceptive use on the cumulative risk of epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 83(3):419-424, 1994.
52. Guppy AE, Nathan PD, Rustin GJ. Epithelial ovarian cancer: a review of current management. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 17(6):399-411, 2005.
53. Ries LAG, U.S. Department of Health and Human Services., U.S. National cancer institute. Division of cancer control and population sciences Surveillance research program. SEER cancer statistics review, 1973-1996. Bethesda, MD,: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health; 1999.

54. DiSaia PJ, Creasman WT. Clinical gynecologic oncology. 7th ed. Philadelphia, PA: Mosby Elsevier; 2007.
55. Annual report on the results of treatment in gynecological cancer. Twenty-first volume. Statements of results obtained in patients treated in 1982 to 1986, inclusive 3 and 5-year survival up to 1990. *Int J Gynaecol Obstet* 36 Suppl:1-315, 1991.
56. Memarzadeh S, Berek JS. Advances in the management of epithelial ovarian cancer. *J Reprod Med* 46(7):621-629; discussion 629-630, 2001.
57. Heintz AP, Hacker NF, Lagasse LD. Epidemiology and etiology of ovarian cancer: a review. *Obstet Gynecol* 66(1):127-135, 1985.
58. Kinkel K, Lu Y, Mehdizade A, Pelte MF, Hricak H. Indeterminate ovarian mass at US: incremental value of second imaging test for characterization--meta-analysis and Bayesian analysis. *Radiology* 236(1):85-94, 2005.
59. Piver MS. Hereditary ovarian cancer. Lessons from the first twenty years of the Gilda Radner Familial Ovarian Cancer Registry. *Gynecol Oncol* 85(1):9-17, 2002.
60. Scully RE, Sobin LH, Serov SF. Histological typing of ovarian tumours. 2nd ed. Berlin ; New York: Springer; 1999.
61. Cannistra SA. Cancer of the ovary. *N Engl J Med* 351(24):2519-2529, 2004.
62. Aunoble B, Sanches R, Didier E, Bignon YJ. Major oncogenes and tumor suppressor genes involved in epithelial ovarian cancer (review). *Int J Oncol* 16(3):567-576, 2000.
63. Havrilesky L, Darcy M, Hamdan H, Priore RL, Leon J, Bell J, Berchuck A. Prognostic significance of p53 mutation and p53 overexpression in advanced epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 21(20):3814-3825, 2003.
64. Verri E, Guglielmini P, Puntoni M, Perdelli L, Papadia A, Lorenzi P, Rubagotti A, Ragni N, Boccardo F. HER2/neu oncoprotein overexpression in epithelial ovarian cancer: evaluation of its prevalence and prognostic significance. Clinical study. *Oncology* 68(2-3):154-161, 2005.
65. Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics. *Trends Genet* 16(4):168-174, 2000.
66. Struewing JP, Abeliovich D, Peretz T, Avishai N, Kaback MM, Collins FS, Brody LC. The carrier frequency of the BRCA1 185delAG mutation is approximately 1 percent in Ashkenazi Jewish individuals. *Nat Genet* 11(2):198-200, 1995.
67. Abeliovich D, Kaduri L, Lerer I, Weinberg N, Amir G, Sagi M, Zlotogora J, Heching N, Peretz T. The founder mutations 185delAG and 5382insC in BRCA1 and 6174delT in BRCA2 appear in 60% of ovarian cancer and 30% of early-onset breast cancer patients among Ashkenazi women. *Am J Hum Genet* 60(3):505-514, 1997.
68. Ford D, Easton DF, Peto J. Estimates of the gene frequency of BRCA1 and its contribution to breast and ovarian cancer incidence. *Am J Hum Genet* 57(6):1457-1462, 1995.
69. Boyd J. Specific keynote: hereditary ovarian cancer: what we know. *Gynecol Oncol* 88(1 Pt 2):S8-10; discussion S11-13, 2003.
70. Struewing JP, Hartge P, Wacholder S, Baker SM, Berlin M, McAdams M, Timmerman MM, Brody LC, Tucker MA. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 336(20):1401-1408, 1997.
71. Prevalence and penetrance of BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of breast cancer cases. Anglian Breast Cancer Study Group. *Br J Cancer* 83(10):1301-1308, 2000.

72. Brose MS, Rebbeck TR, Calzone KA, Stopfer JE, Nathanson KL, Weber BL. Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers identified in a risk evaluation program. *J Natl Cancer Inst* 94(18):1365-1372, 2002.
73. Rubin SC, Blackwood MA, Bandera C, Behbakht K, Benjamin I, Rebbeck TR, Boyd J. BRCA1, BRCA2, and hereditary nonpolyposis colorectal cancer gene mutations in an unselected ovarian cancer population: relationship to family history and implications for genetic testing. *Am J Obstet Gynecol* 178(4):670-677, 1998.
74. Casagrande JT, Louie EW, Pike MC, Roy S, Ross RK, Henderson BE. "Incessant ovulation" and ovarian cancer. *Lancet* 2(8135):170-173, 1979.
75. Fathalla MF. Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia? *Lancet* 2(7716):163, 1971.
76. Cramer DW, Welch WR. Determinants of ovarian cancer risk. II. Inferences regarding pathogenesis. *J Natl Cancer Inst* 71(4):717-721, 1983.
77. Risch HA. Hormonal etiology of epithelial ovarian cancer, with a hypothesis concerning the role of androgens and progesterone. *J Natl Cancer Inst* 90(23):1774-1786, 1998.
78. Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Gordon GB, Longcope C, Bush TL, Hoffman SC, Comstock GW. Serum gonadotropins and steroid hormones and the development of ovarian cancer. *JAMA* 274(24):1926-1930, 1995.
79. Ness RB, Grisso JA, Cottreau C, Klapper J, Vergona R, Wheeler JE, Morgan M, Schlesselman JJ. Factors related to inflammation of the ovarian epithelium and risk of ovarian cancer. *Epidemiology* 11(2):111-117, 2000.
80. McSorley MA, Alberg AJ, Allen DS, Allen NE, Brinton LA, Dorgan JF, Pollak M, Tao Y, Helzlsouer KJ. C-reactive protein concentrations and subsequent ovarian cancer risk. *Obstet Gynecol* 109(4):933-941, 2007.
81. Cramer DW, Barbieri RL, Fraer AR, Harlow BL. Determinants of early follicular phase gonadotrophin and estradiol concentrations in women of late reproductive age. *Hum Reprod* 17(1):221-227, 2002.
82. Modugno F. Ovarian cancer and high-risk women-implications for prevention, screening, and early detection. *Gynecol Oncol* 91(1):15-31, 2003.
83. Casey MJ, Bewtra C, Hoehne LL, Tatpati AD, Lynch HT, Watson P. Histology of prophylactically removed ovaries from BRCA1 and BRCA2 mutation carriers compared with noncarriers in hereditary breast ovarian cancer syndrome kindreds. *Gynecol Oncol* 78(3 Pt 1):278-287, 2000.
84. Barakat RR, Federici MG, Saigo PE, Robson ME, Offit K, Boyd J. Absence of premalignant histologic, molecular, or cell biologic alterations in prophylactic oophorectomy specimens from BRCA1 heterozygotes. *Cancer* 89(2):383-390, 2000.
85. Mink PJ, Sherman ME, Devesa SS. Incidence patterns of invasive and borderline ovarian tumors among white women and black women in the United States. Results from the SEER Program, 1978-1998. *Cancer* 95(11):2380-2389, 2002.
86. Whittemore AS, Harris R, Itnyre J. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. IV. The pathogenesis of epithelial ovarian cancer. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol* 136(10):1212-1220, 1992.
87. Carlson KJ, Skates SJ, Singer DE. Screening for ovarian cancer. *Ann Intern Med* 121(2):124-132, 1994.
88. Hemminki K, Granstrom C. Familial clustering of ovarian and endometrial cancers. *Eur J Cancer* 40(1):90-95, 2004.

89. Negri E, Franceschi S, Tzonou A, Booth M, La Vecchia C, Parazzini F, Beral V, Boyle P, Trichopoulos D. Pooled analysis of 3 European case-control studies: I. Reproductive factors and risk of epithelial ovarian cancer. *Int J Cancer* 49(1):50-56, 1991.
90. Shu XO, Brinton LA, Gao YT, Yuan JM. Population-based case-control study of ovarian cancer in Shanghai. *Cancer Res* 49(13):3670-3674, 1989.
91. Bristow RE. *Surgery for ovarian cancer - principles and practice*. 1st Ed. ed: Taylor & Francis; 2006.
92. Levenback C. *Prognostic and predictive factors in gynecologic cancers*. Levenback C, editor: Informa; 2007.
93. NIH consensus conference. Ovarian cancer. Screening, treatment, and follow-up. NIH Consensus Development Panel on Ovarian Cancer. *JAMA* 273(6):491-497, 1995.
94. FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) annual report on the results of treatment in gynecological cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 83 Suppl 1:ix-xxii, 1-229, 2003.
95. Heintz AP, Odicino F, Maisonneuve P, Beller U, Benedet JL, Creasman WT, Ngan HY, Sideri M, Pecorelli S. Carcinoma of the ovary. *J Epidemiol Biostat* 6(1):107-138, 2001.
96. Pecorelli S. FIGO annual report on the results of treatment in gynaecological cancer. *Epidemiol Biostat* (23):1-168, 1998;.
97. Munoz KA, Harlan LC, Trimble EL. Patterns of care for women with ovarian cancer in the United States. *J Clin Oncol* 15(11):3408-3415, 1997.
98. Hacker NF, Berek JS, Lagasse LD, Nieberg RK, Elashoff RM. Primary cytoreductive surgery for epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 61(4):413-420, 1983.
99. Bristow RE, Tomacruz RS, Armstrong DK, Trimble EL, Montz FJ. Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 20(5):1248-1259, 2002.
100. Eisenkop SM, Friedman RL, Wang HJ. Complete cytoreductive surgery is feasible and maximizes survival in patients with advanced epithelial ovarian cancer: a prospective study. *Gynecol Oncol* 69(2):103-108, 1998.
101. Allen DG, Heintz AP, Touw FW. A meta-analysis of residual disease and survival in stage III and IV carcinoma of the ovary. *Eur J Gynaecol Oncol* 16(5):349-356, 1995.
102. Chi DS, Eisenhauer EL, Lang J, Huh J, Haddad L, Abu-Rustum NR, Sonoda Y, Levine DA, Hensley M, Barakat RR. What is the optimal goal of primary cytoreductive surgery for bulky stage IIIC epithelial ovarian carcinoma (EOC)? *Gynecol Oncol* 103(2):559-564, 2006.
103. Winter WE, 3rd, Maxwell GL, Tian C, Carlson JW, Ozols RF, Rose PG, Markman M, Armstrong DK, Muggia F, McGuire WP. Prognostic factors for stage III epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 25(24):3621-3627, 2007.
104. Wimberger P, Lehmann N, Kimmig R, Burges A, Meier W, Du Bois A. Prognostic factors for complete debulking in advanced ovarian cancer and its impact on survival. An exploratory analysis of a prospectively randomized phase III study of the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group (AGO-OVAR). *Gynecol Oncol* 106(1):69-74, 2007.
105. Teramukai S, Ochiai K, Tada H, Fukushima M. PIEPOC: a new prognostic index for advanced epithelial ovarian cancer--Japan Multinational Trial Organization OC01-01. *J Clin Oncol* 25(22):3302-3306, 2007.
106. Hoskins WJ. *Epithelial ovarian carcinoma: principles of primary surgery*. *Gynecol Oncol* 55(3 Pt 2):S91-96, 1994.

107. Eisenkop SM, Spirtos NM, Lin WC. "Optimal" cytoreduction for advanced epithelial ovarian cancer: a commentary. *Gynecol Oncol* 103(1):329-335, 2006.
108. Winter WE, 3rd, Maxwell GL, Tian C, Sundborg MJ, Rose GS, Rose PG, Rubin SC, Muggia F, McGuire WP. Tumor residual after surgical cytoreduction in prediction of clinical outcome in stage IV epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 26(1):83-89, 2008.
109. Eisenhauer EL, Abu-Rustum NR, Sonoda Y, Aghajanian C, Barakat RR, Chi DS. The effect of maximal surgical cytoreduction on sensitivity to platinum-taxane chemotherapy and subsequent survival in patients with advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 108(2):276-281, 2008.
110. Young RC, Walton LA, Ellenberg SS, Homesley HD, Wilbanks GD, Decker DG, Miller A, Park R, Major F, Jr. Adjuvant therapy in stage I and stage II epithelial ovarian cancer. Results of two prospective randomized trials. *N Engl J Med* 322(15):1021-1027, 1990.
111. Ahmed FY, Wiltshaw E, A'Hern RP, Nicol B, Shepherd J, Blake P, Fisher C, Gore ME. Natural history and prognosis of untreated stage I epithelial ovarian carcinoma. *J Clin Oncol* 14(11):2968-2975, 1996.
112. Vergote IB, Kaern J, Abeler VM, Pettersen EO, De Vos LN, Trope CG. Analysis of prognostic factors in stage I epithelial ovarian carcinoma: importance of degree of differentiation and deoxyribonucleic acid ploidy in predicting relapse. *Am J Obstet Gynecol* 169(1):40-52, 1993.
113. Gajewski WH, Fuller AF, Jr., Pastel-Ley C, Flotte TJ, Bell DA. Prognostic significance of DNA content in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 53(1):5-12, 1994.
114. Crombach G, Zippel HH, Wurz H. Clinical significance of cancer antigen 125 (CA 125) in ovarian cancer. *Cancer Detect Prev* 8(1-2):135-139, 1985.
115. Canney PA, Moore M, Wilkinson PM, James RD. Ovarian cancer antigen CA125: a prospective clinical assessment of its role as a tumour marker. *Br J Cancer* 50(6):765-769, 1984.
116. Bast RC, Jr., Klug TL, St John E, Jenison E, Niloff JM, Lazarus H, Berkowitz RS, Leavitt T, Griffiths CT, Parker L, Zurawski VR, Jr., Knapp RC. A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med* 309(15):883-887, 1983.
117. Bast RC, Jr., Siegal FP, Runowicz C, Klug TL, Zurawski VR, Jr., Schonholz D, Cohen CJ, Knapp RC. Elevation of serum CA 125 prior to diagnosis of an epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 22(1):115-120, 1985.
118. Makar AP, Kristensen GB, Kaern J, Borner OP, Abeler VM, Trope CG. Prognostic value of pre- and postoperative serum CA 125 levels in ovarian cancer: new aspects and multivariate analysis. *Obstet Gynecol* 79(6):1002-1010, 1992.
119. Runyon BA. Care of patients with ascites. *N Engl J Med* 330(5):337-342, 1994.
120. Ayantunde AA, Parsons SL. Pattern and prognostic factors in patients with malignant ascites: a retrospective study. *Ann Oncol* 18(5):945-949, 2007.
121. Heuser LS, Miller FN. Differential macromolecular leakage from the vasculature of tumors. *Cancer* 57(3):461-464, 1986.
122. Holm-Nielsen P. Pathogenesis of ascites in peritoneal carcinomatosis. *Acta Pathol Microbiol Scand* 33(1):10-21, 1953.
123. Enck RE. Malignant ascites. *Am J Hosp Palliat Care* 19(1):7-8, 2002.
124. Smith EM, Jayson GC. The current and future management of malignant ascites. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 15(2):59-72, 2003.
125. Chung M, Kozuch P. Treatment of malignant ascites. *Curr Treat Options Oncol* 9(2-3):215-233, 2008.

126. Fortner KB, Johns Hopkins University. Dept. of Gynecology and Obstetrics. The Johns Hopkins manual of gynecology and obstetrics. 3rd ed. Philadelphia, Pa.: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
127. Thigpen T, Brady MF, Omura GA, Creasman WT, McGuire WP, Hoskins WJ, Williams S. Age as a prognostic factor in ovarian carcinoma. The Gynecologic Oncology Group experience. *Cancer* 71(2 Suppl):606-614, 1993.
128. Loizzi V, Chan JK, Osann K, Cappuccini F, DiSaia PJ, Berman ML. Survival outcomes in patients with recurrent ovarian cancer who were treated with chemoresistance assay-guided chemotherapy. *Am J Obstet Gynecol* 189(5):1301-1307, 2003.
129. Agre P. The aquaporin water channels. *Proc Am Thorac Soc* 3(1):5-13, 2006.
130. Badaut J, Lasbennes F, Magistretti PJ, Regli L. Aquaporins in brain: distribution, physiology, and pathophysiology. *J Cereb Blood Flow Metab* 22(4):367-378, 2002.
131. Ishibashi K, Kuwahara M, Gu Y, Tanaka Y, Marumo F, Sasaki S. Cloning and functional expression of a new aquaporin (AQP9) abundantly expressed in the peripheral leukocytes permeable to water and urea, but not to glycerol. *Biochem Biophys Res Commun* 244(1):268-274, 1998.
132. Meinild AK, Klaerke DA, Zeuthen T. Bidirectional water fluxes and specificity for small hydrophilic molecules in aquaporins 0-5. *J Biol Chem* 273(49):32446-32451, 1998.
133. Verkman AS. More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins. *J Cell Sci* 118(Pt 15):3225-3232, 2005.
134. Agre P, Preston GM, Smith BL, Jung JS, Raina S, Moon C, Guggino WB, Nielsen S. Aquaporin CHIP: the archetypal molecular water channel. *Am J Physiol* 265(4 Pt 2):F463-476, 1993.
135. Denker BM, Smith BL, Kuhajda FP, Agre P. Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules. *J Biol Chem* 263(30):15634-15642, 1988.
136. Zeidel ML, Nielsen S, Smith BL, Ambudkar SV, Maunsbach AB, Agre P. Ultrastructure, pharmacologic inhibition, and transport selectivity of aquaporin channel-forming integral protein in proteoliposomes. *Biochemistry* 33(6):1606-1615, 1994.
137. Sui H, Han BG, Lee JK, Walian P, Jap BK. Structural basis of water-specific transport through the AQP1 water channel. *Nature* 414(6866):872-878, 2001.
138. Bai C, Fukuda N, Song Y, Ma T, Matthay MA, Verkman AS. Lung fluid transport in aquaporin-1 and aquaporin-4 knockout mice. *J Clin Invest* 103(4):555-561, 1999.
139. King LS, Nielsen S, Agre P, Brown RH. Decreased pulmonary vascular permeability in aquaporin-1-null humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(2):1059-1063, 2002.
140. Mobasher A, Airley R, Hewitt SM, Marples D. Heterogeneous expression of the aquaporin 1 (AQP1) water channel in tumors of the prostate, breast, ovary, colon and lung: a study using high density multiple human tumor tissue microarrays. *Int J Oncol* 26(5):1149-1158, 2005.
141. Saadoun S, Papadopoulos MC, Hara-Chikuma M, Verkman AS. Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted aquaporin-1 gene disruption. *Nature* 434(7034):786-792, 2005.
142. Xiang Y, Ma B, Li T, Yu HM, Li XJ. Acetazolamide suppresses tumor metastasis and related protein expression in mice bearing Lewis lung carcinoma. *Acta Pharmacol Sin* 23(8):745-751, 2002.
143. Ma B, Xiang Y, Li T, Yu HM, Li XJ. Inhibitory effect of topiramate on Lewis lung carcinoma metastasis and its relation with AQP1 water channel. *Acta Pharmacol Sin* 25(1):54-60, 2004.



144. Yang JH, Shi YF, Cheng Q, Qian YL. [Protein and mRNA expression of aquaporin-1 in epithelial ovarian tumors and its clinic significance]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 40(9):623-626, 2005.
145. Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors. *Breast Cancer Res Treat* 36(2):169-180, 1995.
146. Brustmann H, Riss P, Naude S. The relevance of angiogenesis in benign and malignant epithelial tumors of the ovary: a quantitative histologic study. *Gynecol Oncol* 67(1):20-26, 1997.
147. Tanigawa N, Amaya H, Matsumura M, Lu C, Kitaoka A, Matsuyama K, Muraoka R. Tumor angiogenesis and mode of metastasis in patients with colorectal cancer. *Cancer Res* 57(6):1043-1046, 1997.
148. Vieira SC, Zeferino LC, Da Silva BB, Aparecida Pinto G, Vassallo J, Carasan GA, De Moraes NG. Quantification of angiogenesis in cervical cancer: a comparison among three endothelial cell markers. *Gynecol Oncol* 93(1):121-124, 2004.
149. Yuan F, Leunig M, Huang SK, Berk DA, Papahadjopoulos D, Jain RK. Microvascular permeability and interstitial penetration of sterically stabilized (stealth) liposomes in a human tumor xenograft. *Cancer Res* 54(13):3352-3356, 1994.