DOI: 10.14753/SE.2013.1793

A petefészektumorok prognózisának előrejelzése microarray génexpressziós adatok felhasználásával

Doktori értekezés

Dr. Fekete Tibor

Semmelweis Egyetem
Patológiai Tudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezetője: Dr. Kopper László, egyetemi tanár, az orvostudományok doktora I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet.

Témavezető: Dr. Győrffy Balázs, tudományos főmunkatárs, PhD

Hivatalos bírálók: Dr. Lacza Zsombor, PhD
Dr. Gundy Sarolta, PhD

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Szabó András, az MTA doktora
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Tiba János, PhD
Dr. Hauser Péter PhD

Budapest

2012

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS 5
1.1. Petefészek tumorok 5
1.1.1. A petefészek tumorok típusai 5
1.1.2. Az ovarium daganatok kialakulás 6
1.1.3. Klinikai kép 7
1.1.4. Szűrés 7
1.1.5. Stádium beosztás és grading 7
1.2. Szövettani típusok 9
1.2.1. A felszíni coeloma hámból származó, malignus epithelialis tumorok 9
1.2.2. Mucinosus tumorok 10
1.2.3. Endometroid tumorok 11
1.2.4. Világos sejtes tumorok 11
1.2.5. A tumorkeletkezés folyamata 12
1.3. Petefészekrák kezelése 12
1.3.1. Műtéti kezelés 12
1.3.2. Sugárkezelés 13
1.3.3. Kemoterápia 13
1.3.3.1. Ovárium tumorok kemoterápiájának általános elvei 13
1.3.3.2. Intraperitoneális kemoterápia 16
1.3.3.3. Biológia választ módosító hatóanyagok 16
1.3.3.4. Hormonok 16
1.3.3.5. Célzott terápiás szerek 16
1.4. Kezelés utáni nyomonkövetés 17
1.4.1. A betegség kiújulása 17
1.4.2. Második vonal (second line) kemoterápia 17
1.5. Az ovárium carcinomák prognosztikai faktorai 18
1.5.1. Klinikai paraméterek 18
1.5.2. A petefészekrák génexpresszió alapú biomarkerei 19
1.5.2.1. CA-125 19
1.5.2.2. KRT19 20
1.5.2.3. HE4 21
1.5.2.4. CDKN1 (p21), CDKN1B (p27), ciklinek, TP53 (p53) 21
1.5.2.5. BRCA 22
1.5.2.6. Egyéb monogénes markerek 23

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

2. CÉLKITŰZÉSEK 25

3. MÓDSZEREK 27

3.1. Microarray rendszerek 27
3.1.1. Affymetrix 27
3.1.2. GEO: microarray lerakatok 28
3.1.3. Microarray adatbank felépítése 28
3.2. Statisztikai analízis 30
3.3. Klinikai mintagyűjtés 30
3.4. RNS izolálás és minőségi kontroll 31
3.5. TaqMan RT-PCR mérések 33
3.6. A RT-PCR mérések adatainak feldolgozása 33
4. EREDMÉNYEK 34

4.1. A microarray adatok meta-analízise 34
4.2. Klinikai adatok feldolgozása 44
4.3. TaqMan RT-PCR mérések 44
4.4. Túlélési elemzések 44
5. MEGBESZÉLÉS 49

5.1. Multigénes markerek klinikai alkalmazhatósága 49
5.2. A szövettani osztályozás monogénes markerei 51
5.3. A túlélés előrejelzése 52
6. KÖVETKEZTETÉSEK 55

7. ÖSSZEFOGLALÁS 56

8. SUMMARY 58

9. IRODALOMJEGYZÉK 60

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE 73

Disszertációhoz kapcsolódó közlemények 73
Független közlemények 73
Könyvfejezetek 76
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS 77

FÜGGELÉK 78

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

Rövidítések jegyzéke

TAH	(transabdominal hysterectomy) transabdominalis hysterectomia
BSO	(bilateral salpingo-oophorectomy) kétoldali adnexectomia
GEO	Gene Expression Omnibus
MAS	Microarray Analysis Suite (microarray elemző csomag)
RT-PCR	(real time polimerase chain reaction) valós idejű PCR
IHC	Immunhisztokémia
FDR	False Discovery Rate (hibás találati arány)
SAM	Signficancer Analysis of Microarrays
FIGO	International Federation of Gynecology and Obsterics
WHO	World Health Organisation
LMP	(low malignant potential) alacsony malignitású daganat
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
GAS1	growth arrest-specific 1 fehérje
WT1	Wilms tumor 1
MSLN	mesothelin
TSPAN8	tetraspanin 8
NPR1	natriuretic peptide receptor A/guanylatecyclase A
ARHGAP29	Rho GTPase activating protein
MUC16	mucin 16, cell surface associated
ZYX	ESP-2, HED-2
MYO9B	myosin IXB
SNCG	synuclein, gamma/breast cancer-specific protein 1
TUBB1	tubulin, beta 1
MAP4	microtubule-associated protein 4
TUBA1B	tubulin, alpha 1b
TOP2A	topoisomerase (DNS) II alpha
ESR2	ösztrogén receptor 2 (ER béta)
PGR	progeszteron receptor
MAPT	microtubule-associated protein tau

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

1. BEVEZETÉS

1.1. Petefészek tumorok

1.1.1. A petefészek tumorok típusai

A petefészek tumorok a női daganatok legrosszindulatúbb csoportját alkotják. A nőknél ez a nyolcadik leggyakrabban előforduló daganat. Európában közel 43.000, az Egyesült Államokban közel 22.000 új daganatos megbetegedést ismernek fel évente [1]. Magyarországon évi 1200 új daganatos megbetegedéssel és 600, a daganat következtében kialakult halálesettel számolhatunk [2]. Bár az elmúlt évtizedekben a kezelés hatékonysága fokozatosan javult, a kezelést követő 5 éves túlélés még mindig 30% alatt marad.

A petefészek daganatai klinikailag nagyon hasonló megjelenésűek, tünetszegények, sokféle nem daganatos betegség is utánozhatja a tüneteiket. Ez megnehezíti a diagnózis felállítását. Sokféleségük annak köszönhető, hogy olyan sejtekből indulnak ki, amelyek nagyon változatos szöveti szerkezetté tudnak differenciálódni. Tumorok keletkezhetnek az ováriumot borító coelomahám eredetű epitheliumból, a csírasejtekből, az ivarléc speciális mesenchymájából, ezen felül áttétes daganatok is előfordulhatnak az ovariumokban. A daganatok nemcsak szövettanilag sokfélék, hanem morfológiailag (cystikus és solid tumorok) és funkcionálisan (hormontermelő és hormonálisan inaktív daganatok) is.

A női kismedencei szervek rosszindulatú daganatainak 25%-a indul ki a petefészekből [2]. Ezzel a malignus genitális daganatok között Magyarországon előfordulását tekintve a harmadik leggyakoribb, a daganatos halálozást tekintve azonban az első. Ez annak köszönhető, hogy felismerése általában csak késői stádiumban történik meg, amikor már a terápiás lehetőségek korlátozottak. Ez főleg a rosszindulatú daganatok 80-90%-át kitevő epitheliális tumorokra vonatkozik [3].

Az ovárium tumor az életkor előre haladtával egyre gyakrabban fordul elő, 55 és 60 év között a leggyakoribb. A daganat gyanúja tulajdonképpen műtéti javallatot jelent, mivel csak a szövettani vizsgálat ad biztos diagnózist. A döntést sokszor nehezíti, hogy számos jóindulatú, beavatkozást nem igénylő elváltozás is utánozhatja petefészek daganat képét. Mivel ma még nem ismerünk egyetlen rákmegelőző állapotot sem, melyre hatékony szűrőprogramot lehetne építeni, csak a daganat minél korábbi

stádiumban való felismerésétől, illetve a kezelések hatékonyabbá tételétől várhatunk kedvezőbb eredményeket.

1.1.2. Az ovarium daganatok kialakulás

A petefészek hámeredetű daganatainak kialakulása az esetek többségében ismeretlen. Ovulációkor a petefészekhám felszíne sérül, a hám helyreállításához fokozott proliferáció szükséges. Ekkor valószínűleg nagyobb esély van a sejtosztódást szabályozó gének mutációjára, mely tumor képződéshez vezet. Azok az állapotok, melyekben az ovulációk száma kisebb, csökkentik a hám eredetű daganatok kialakulásának valószínűségét.

A krónikus anovuláció, a terhesség és a szoptatás is csökkenti a daganat kialakulását, ennek megfelelően fogamzásgátló tartós szedése is véd a daganat kialakulásával szemben. Ugyanakkor meddőség, nulliparitás és ovuláció-indukciós kezelések növelik a kockázatot [4, 5]. Ezen kívül a genitális csatornán keresztül hasüregbe jutó idegen anyagok (pl. talkum) is képesek a daganat kiváltására.

Az epithelialis tumorok 10 %-ában családi halmozódás figyelhető meg [6]. A familiáris daganatok három csoportja ismert. Egyes családokban a nők között az átlagosnál gyakrabban fordul elő petefészekrák. Minél több eset fordul elő a vér szerinti rokonságban, annál nagyobb a valószínűsége a daganat kialakulásának. Ez a forma csak a betegség kialakulására hajlamosít, ezért **helyspecifikus** (site-specific) **familiáris petefészekrák**nak nevezzük. A daganat általában fiatalabb életkorban jelentkezik, mint a sporadikusan előforduló tumorok, gyakran kétoldali, családfa analízis alapján autoszomális domináns öröklődés igazolható [7].

Vannak olyan családok, ahol a petefészekrák mellett az emlő malignus tumorai is halmozódnak, sokszor egy betegen is mindkét betegség kialakul [7]. A daganatok fiatal életkorban jelentkeznek. Mind az emlő, mind a petefészekrák gyakran kétoldali kiindulású. A **familiáris emlő/petefészekrák** szindrómát a 17. kromoszómán lévő BRCA1, ritkábban a 13. kromoszómán elhelyezkedő BRCA2 tumorszupresszor gén mutációja okozza. A betegség autoszomális domináns módon öröklődik. A hibás gén hordozása esetén az emlőrák kockázata 85%, míg a petefészekrák kialakulásának valószínűsége 46% [8]. Ezeknél a betegeknél az Egyesült Államokban kétoldali mastectomiát és oophorectomiát javasolnak [9].

A harmadik örökletes forma a **Lynch** szindróma II. A betegségben a vastagbél, petefészek, emlő és méhtestrák családi halmozódása figyelhető meg. Egyes családokban a 2. kromoszómán található MSH2 és MSH6, másoknál a 3. kromoszómán lévő MLH1 gén mutációja figyelhető meg. A genetikai eltérés hordozásánál a daganat kialakulásának valószínűsége 12% [8].

1.1.3. Klinikai kép

A petefészekrák sokáig tünetmentes, korai stádiumban csak aspecifikus tüneteket okoz. Előrehaladott stádiumban a daganat a kismedencei szerveket nyomja, vizelési, székelési ingert, esetleg székrekedést okoz. Alhasi fájdalom, feszülés is jelentkezhet. Később ascites jön létre, mely puffadást, teltségérzetet, hányingert, hányást okoz. A beteg legyengül, lefogy, cahexiássá válik. A kismedencei idegek összenyomása erős, alsó végtagba sugárzó fájdalmat, a vénák kompressziója alsó végtagi ödémát, trombózist okozhat. Ritkán vérzészavar is lehet a betegség tünete. A jó és rosszindulatú daganatok tünetei azonosak, a panaszok alapján nem lehet különbséget tenni közöttük [10].

1.1.4. Szűrés

A petefészek elhelyezkedése és a daganat biológiai viselkedése miatt a szűrés nem megoldott. A petefészek vizsgálatában leginkább elterjedt módszer a kismedence transvaginális vizsgálata, különösen Doppler flowmetriával kombinálva. A módszert szérum CA-125 tumormarker vizsgálattal szokták kiegészíteni *(a CA-125 részletes leírását lásd később)*. Azonban nagy esetszámú multicentrikus vizsgálatok nem igazolták a módszer hatékonyságát szűrővizsgálat formájában. Az Egyesült Államokban végzett PLCO ("Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening") vizsgálat keretében több mint 78.000 nőben végezték el szűrés keretében a vizsgálatot, azonban úgy találták, hogy a módszer nem javította a betegség mortalitását [11].

1.1.5. Stádium beosztás és grading

A petefészekrák prognózisának előrejelzésére, valamint a pontos kezelés megválasztására a FIGO (International Federation of Gynecology and Obsterics) stádiumbeosztása használatos, amely 1997 óta nem változott. Ezen kívül a tumor differenciáltsága (grading) is meghatározó tényező a daganat beosztásában. E két

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

tényező alapján döntünk a daganat primer kezeléséről a klinikai gyakorlatban, amit az **1. sz. táblázat**ban foglaltam össze.

1. táblázat: A petefészekrák FIGO stádium beosztása és elsődleges kezelése (Az Egészségügyi Minisztérium: A petefészek daganatok ellátásáról című szakmai protokollja alapján)

FIGO	A daganat kiterjedése	Felfedezett esetek %-os aránya	5 éves túlélés %	Teendő
I	Ováriumra korlátozódik	15	80	
Ia	Csak az egyik ováriumban. A tok ép.			Egyoldali adnexectomia
Ib	Mindkét ováriumban. A tok ép.			TAH + BSO + cseplesz resectio + KEMO
Ic	Daganat az ovárium felszínén, és/vagy a tok megrepedt, és/vagy daganat sejtek a hasi mosófolyadékban			TAH + BSO + cseplesz resectio + KEMO
II	Egy, vagy kétoldali tumor, mely a környezetét infiltrálja, de nem terjed túl a kismedencén	15	60	
IIa	Daganat az uterusban vagy a tubában			TAH + BSO + cseplesz resectio + KEMO
IIb	A daganat az egyéb kismedencei szövetekre terjed			Radikális megoldás + KEMO
IIc	T2a/T2b + daganat sejtek az ascitesben vagy a hasi mosófolyadékban			Radikális megoldás + KEMO
III	Áttétek a kismedencén kívül és/vagy a peritoneumon és/vagy a retroperitoneális nyirokcsomókban.	65	30	
IIIa	Tumor a kismedencében van, nincs pozitív nyirokcsomóáttét. Szövettanilag igazolt mikroszkópos peritoneális metasztázisok.			TAH + BSO + cseplesz resectio + KEMO
IIIb	Mint IIIa, de <2 cm-es makroszkópos peritoneális metasztázisok.			Radikális megoldás + KEMO
IIIc	Peritoneális áttét> 2 cm és/vagy pozitív retroperitoneális nyirokcsomó, illetve ingvinális metasztázis.			Radikális megoldás + KEMO
IV	Távoli (kivéve peritoneális) metasztázisok. Pozitív mellkas citológia, máj parenchyma, távoli superficialis nyirokcsomó metasztázis.	5	5	Radikális megoldás + KEMO

1.2. Szövettani típusok

Az ovárium daganatok szövettani klasszifikációja, a WHO ajánlása szerint, figyelembe veszi a daganat kiindulási helyét. E szerint megkülönböztetünk felszíni (coeloma v. germinalis) hám, ivarléc (sex cord), csírasejt, illetve speciális ovariális stroma kiindulású tumorokat.

Mivel a szövettani osztályozás saját munkám során is az egyik kulcsfontosságú lépés volt, ezért a legfontosabb csoportokat az alábbiakban részletesen is tárgyalom.

1.2.1. A felszíni coeloma hámból származó, malignus epithelialis tumorok

A petefészek valódi daganatainak 80-90%-a indul ki az embrionális coelomahám multipotens sejtjeiből származó ovariális felszíni hámból [3], illetve a felszíni hám stromába nyomult apró inclusiós cystáiból. Mivel a Müller cső is a coeloma hámból származik, az ovariális hám multipotens sejtjei a felső genitális traktus valamennyi hámfélesége irányába differenciálódhatnak [12]. Ennek megfelelően a hám eredetű petefészek daganatok szövettani sokfélesége figyelhető meg. Biológiai viselkedésüket és szövettani képüket tekintve a daganatok lehetnek benignusak, malignusak, és borderline (low malignant potential – LMP) tumorok.

A benignus daganatok hámja egy sejtrétegből áll, a sejtmagok egy sorban helyezkednek el, sejtatípia nincs. Bármely életkorban előfordulhatnak.

A borderline tumorokban a hám fokozott proliferációja észlelhető, papilláris növedékek képződnek, a sejtek több sorban helyezkednek el, az atípia jeleit mutatják. A sejtmagok szabálytalanok, több oszló alak is megfigyelhető, de stroma-invázió nincsen. A borderline tumorok sokáig csak a petefészekre korlátozódnak, majd később túlterjednek rajta és peritoneális implantációkat képezhetnek.

A malignus daganatok hámja többrétegű, a sejtek atípusosak, sok mitózis figyelhető meg. Legfontosabb jellemzőjük, hogy a tumorsejtek infiltrálják a petefészek stroma állományát. Leggyakrabban menopauza után fordulnak elő.

A malignus ovárium tumorok háromnegyed része epithelialis eredetű, egy részük stroma komponenst is tartalmaz. Az ezen malignus potenciállal rendelkező serosus tumoroknak fő csoportjait a borderline tumorok és az egyértelműen malignus carcinomák alkotják.

Az alacsony malignitási potenciállal rendelkező **serosus borderline** tumorban a jóindulatú serosus cystadenománál nagyobb mértékű atípusos hámproliferáció van jelen, stroma invázió nélkül. Jó prognózisú tumor, de felszínes terjedésre hajlamos, gyakran kétoldali, és 10-15 év után is kiújulhat.

Prognosztikailag a fentivel egyező kategória a **serosus borderline tumor mikroinvázióval**. A stromában fellelhető infiltratív sejtek, sejtcsoportok nagysága nem haladhatja meg a 10 mm^2-t.

A **serosus adenocarcinoma** a leggyakoribb ovárium tumor. Az esetek 50%-ában kétoldali. A szövettani differenciáltság fokától („grade") függően változik a prognózis, a szövettanilag kevésbé differenciált daganatok kedvezőtlenebb kórlefolyásúak. Többféle rendszer szerint osztályozzák a differenciáltságot, a legelterjedtebb a **FIGO** háromfokozatú skálája:

- **Grade I**.: kevesebb, mint 10% a szolid elem.
- **Grade II**.: 10-50% a szolid elem.
- **Grade III**.: több mint 50% a szolid elem.

1.2.2. Mucinosus tumorok

A mucinosus tumorok közös szövettani jellemzője a hámsejtek nyáktermelő képessége. A malignus potenciállal rendelkező mucinosus tumorok két nagy csoportját a serosus tumorokhoz hasonlóan a borderline tumorok és az egyértelműen malignus carcinomák adják. Ritkábbak, mint a serosus típus. A mucinosus tumorokban a malignitási potenciál növekedésével párhuzamosan egyre nagyobb arányban mutatható ki a K-RAS gén mutációja.

A mucinosus borderline tumorokban a benignus cystadenomákhoz képest nagyobb mérvű hám proliferáció és atípia van jelen, ugyanakkor nincs stroma invázió. Szövetileg két altípus, a gyakoribb intestinalis típusú és a lényegesen ritkább endocervicalis típusú különíthető el. Együttes prevalenciájuk is jóval alacsonyabb, mint a serosus ovarium carcinomáé. Az intestinalis altípus csak az esetek 5%-ában kétoldali, és általában nagy, cysticus képlet formájában jelentkezik. Az endocervicalis altípus esetében a kétoldaliság gyakoribb, 40% körüli. A mucinosus borderline tumorok prognózisa kedvező, ugyanakkor szövődményt jelenthetnek a hasüregben, kismedencében kialakuló invazív és nem-invazív implantátumok. A peritoneum

pseudomyxomájaként ismert elváltozás esetében általában az elsődleges tumor az appendixben helyezkedik el, az ováriumok érintettsége másodlagos.

A mucinosus adenocarcinoma az összes primer ovárium tumor 10%-át adja, és az esetek ötödében kétoldali. A borderline mucinosus tumoroktól eltérően egyértelmű stroma invázióval járó daganat. A serosus adenocarcinománál jobb prognózisú, különösen I-es stádiumban. Extraovarialis terjedés esetén a prognózis drámaian romlik.

1.2.3. Endometroid tumorok

Malignus potenciállal a borderline endometroid tumor és a szövettanilag egyértelmű malignitást hordozó endometroid adenocarcinomák rendelkeznek. Az esetek kis részében endometriózishoz társultan alakulnak ki, azonban ez nem diagnosztikus kritérium. Szövettanilag az endometrium carcinomákhoz hasonló képet mutatnak.

Borderline endometroid tumorok ritkán fordulnak elő, az atípusos hámburjánzás mellett nincs stroma-invázió. A daganat szerkezete atípusos, cysticus méhnyálkahártyára emlékeztető.

Az endometroid carcinoma a második leggyakoribb ovárium tumor, részaránya 20%, és az esetek felében kétoldali. Az endometrium rákkal azonos szöveti szerkezetű, és gyakran fordul elő benne laphám-metaplasia. 20%-ban jár együtt endometrium rákkal, utóbbit régebben áttétnek tartották. A differenciáltság mértékét az endometrium rákjaival azonos módon kell meghatározni, a prognózis a differenciáltságtól és a stádiumtól nagymértékben függ.

1.2.4. Világos sejtes tumorok

Az ovárium tumorok 10%-át adják. Peri- és postmenopausában gyakoriak és 40%-ban kétoldaliak. Jellegzetes világos színű, bakancsszeg alakra emlékeztető sejtekből épülnek fel, nem ritkán nagy tömegű, benignus megjelenésű fibromatosus komponenssel.

A borderline világos sejtes adenofibromatosus tumor alacsony malignitású potenciállal bíró elváltozás, atípusos világos sejtekből álló mirigyekből és bőséges fibrosus stromából felépülve. Stroma-invázió nincs. A prognózis oophorectomia után igen jó.

A világos sejtes adenocarcinoma gyakran társul endometriózissal. Lehet szolid, gyakrabban cystikus, papillaris, tubularis. A magok általában kifejezetten atípusosak,

míg a struktúra lehet jól differenciált, így a differenciáltság (grade) megállapítása nem alkalmazható.

1.2.5. A tumorkeletkezés folyamata

A genomikus vizsgálatok azt mutatják, hogy mucinosus adenocarcinomák, a borderline tumorok és benignus cystadenomák [13, 14] genetikai összetétele rendkívül hasonlít egymásra. E mellett a K-RAS mutációk specifikusak a borderline tumorokra, a low-grade tumorokra, valamint a mucinosus adenocarcinomákra [15]. A fenti megállapításokból kézenfekvően következik, hogy a karcinogenezis inkább az adenoma – borderline tumor – invazív adenocarcinoma [13, 14] vonalat követheti.

1.3. Petefészekrák kezelése

1.3.1. Műtéti kezelés

Az ovárium tumorok elsődleges kezelése sebészi. A műtéti beavatkozás célja egyrészt a stádium pontos megállapítása, a tumor maximális eltávolítása, valamint szövettani vizsgálatra anyagminta vétele.

A műtét típusa transabdominalis hysterectomia (TAH: transabdominal hysterectomy) kétoldali adnexectomiával (BSO: bilateral salpingo-oophorectomy) és cseplesz resectióval, ettől csak kivételes esetekben lehet eltérni [16-18]. Amennyiben cél a fertilitás megőrzése, és a daganat csak az egyik petefészekben található meg, továbbá a sebészi staging a hasban sehol máshol nem igazol daganatot, akkor szóba jön az egyoldali adnexectomia is [19].

Az elvégzett műtét értékelése szerint megkülönböztetünk optimális, szuboptimális műtétet, biopsziát és palliatív műtétet [20]. **Optimális** a műtét, ha daganatos szövet nem maradt vissza, vagy a visszamaradt daganat szövet legnagyobb átmérője <1cm. **Szuboptimális** műtétről beszélünk, ha a visszamaradt daganat szövet legnagyobb átmérője >1cm. **Biopszia** során csak szövettani anyagvétel történik. **Palliatív** műtétet a beteg életminőségének javítása céljából végezzük (pl.: anus praeter naturalis), a daganat megkisebbítése nélkül.

A sebészi kezelés típusait a stádium beosztás figyelembe vételével a korábban bemutatott **1. sz. táblázat** (8. oldal) tartalmazza.

1.3.2. Sugárkezelés

A petefészektumorok sugárkezelésének indikációja az utóbbi évtizedekben sokat változott, jelenleg kiegészítő eljárásként jön szóba, vagy recidíva, metastasis ellátása során alkalmazzák. Brachyterápia az elvégzett műtét, illetve kemoterápia után jelentkező centrális, hüvelycsonkba törő recidíva, illetve az igen ritka hüvelyi lymphatikus metastasis ellátására szolgál [21].

1.3.3. Kemoterápia

1.3.3.1. Ovárium tumorok kemoterápiájának általános elvei

Ia és Ib grade 1 típusú daganatoknál önmagában elégséges a sebészi kezelés. Ezeknél magasabb stádiumú betegségek esetében mindenképpen javasolt az intravénás vagy intraperitoneális neoadjuváns kemoterápiás kezelés [22].

Minden hámeredetű ovárium tumoros betegnél a taxol-platina alapú kombinált kemoterápia az elsőként választandó kezelés (Ib szintű evidencia, A-típusú ajánlás) ennek formája tartalmazhat paclitaxel-carboplatin [23], docetaxel-carboplatin [24] vagy paclitaxel-cisplatin kombinációkat [25].

A kemoterápiás ciklusok számát elsősorban a daganat stádiuma határozza meg. Korai stádium esetén 3-6 ciklus, míg előrehaladottabb stádiumban 6-8 kezelési ciklus ajánlott [26]. Nem javítja a betegség kimenetelét, ha a beteg 6 helyett 12 kezelési ciklust kap, ezért általánosságban hat kezeléssel számolunk (Ib szintű evidencia, B-típusú ajánlás). Ez vonatkozik a heti taxán kezelésekre is. Azonban tumormarkert termelő daganatok esetén a negatív marker szint elérése után még két ciklus adása ajánlható. Amennyiben a daganat tumormarkert nem termel, úgy a kemoterápiás kezelés megkezdése előtt elvégzett CT lelet eredményét hasonlítjuk össze a 6. kezelés után végzett CT lelettel. A két érték alapján döntünk a további kezelésről (kezelés befejezése, folytatása, protokollmódosítás) [26].

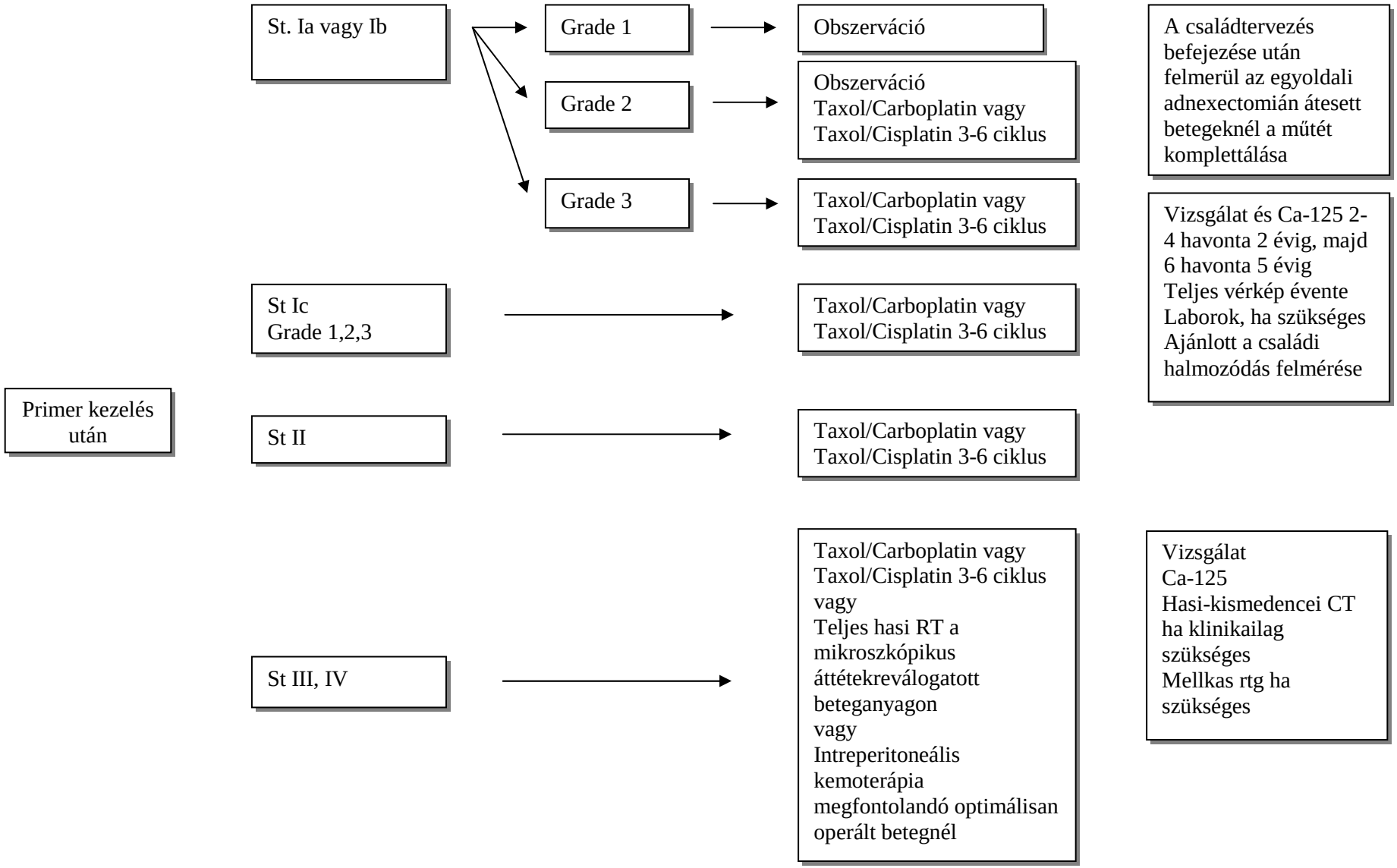
Az alkalmazott kemoterápiás szerek eltérő mellékhatás-profillal rendelkeznek. A docetaxel-carboplatin általában neutropeniát okozhat. A paclitaxel-carboplatin kezelés szenzoros perifériás neuropathiát válthat ki. A paclitaxel önmagában a dózis emelésével az anaemia kockázatát fokozza [24, 27, 28].

Miután az életminőség a daganatos betegek kezelése során alapvető szempont, fontos megjegyezni, hogy a carboplatin-paclitaxel kombináció szignifikánsan jobban

tolerálható, mint a cisplatin tartalmú, azonban a cisplatin kezelés sokkal olcsóbb. Hazánkban ovárium daganatos betegek kezelésére, első vonal kezelésként 1999-ig carboplatin/cisplatin kombinációt alkalmaztunk. Az egészségügyi kormányzat döntése alapján 1999-től a carboplatinnal vagy cisplatinnal kombinált paclitaxel kezelést is bevezettük. A magyar kezelési protokollt az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja alapján a **1. sz. ábra** mutatja be.

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

1. ábra: petefészekrák neoadjuváns kemoterápiás kezelése a stádiumbeosztás figyelembe vételével hazánkban (Az Egészségügyi Minisztérium A petefészek daganatok ellátásáról című szakmai protokollja alapján)



1.3.3.2. Intraperitoneális kemoterápia

Az intraperitoneális kemoterápiát olyan betegeknél alkalmazhatjuk, ahol miliaris szórás maradt vissza az egyébként helyesen elvégzett primer műtét után, vagy a visszamaradt tumor mérete nem haladja meg a 2 cm-t [22]. Egyidejűleg intravénás kemoterápia is adható.

1.3.3.3. Biológia választ módosító hatóanyagok

Biológiai választ módosító anyagok alatt értjük mindazokat a hatóanyagokat, amelyek a gazdaszervezet válaszkészségét az ovárium tumorral szemben kedvezően befolyásolják. Ezek közül sok (interferon, thymus hormon, BCG, Coryneobacterium parvum, levamisol, tumor vakcinák, monoclonális antitestek, cytotoxinok, TNF) nem vált a mindennapi gyakorlat részévé. Ugyanakkor más, nem kifejezetten ebbe csoportba tartózó vegyület elsősorban a kemoterápia okozta mellékhatások kivédésében, vagy a gyors felépülés biztosítása révén nyújtott szerepük miatt rutin kiegészítő eleme az ovárium daganatos betegek kezelésének (GSF, erythropoetin származékok, amyphostin).

1.3.3.4. Hormonok

Az ovárium tumorok csaknem 75%-a receptor pozitív, ezért a progesztagének, illetve az antiösztrogének potenciális alkotó elemei az ovárium daganatok kezelésének [29]. Az ugyancsak megfigyelt androgén receptor pozitivitás további terápiás megfontolásokat vethet fel *(lásd később)*.

1.3.3.5. Célzott terápiás szerek

Petefészekrák célzott kezelésében jelenleg az egyetlen vizsgált szer a bevacizumab, amely egy rekombináns humán monoclonális antitest, mely megköti a vasculáris epitheliális növekedési faktort (VEGF), ezzel gátolja a daganat által kiváltott érképződést, és ezen keresztül a tumor vérellátását és növekedését is. A szervezetben csak lassan bomlik le, hosszú a vérben a felezési ideje, így elég 2-3 hetente adni. A bavacizumabot a szokásos kemoterápia mellett kiegészítő kezelésként adják. A szer jelenleg fázis III kísérleti stádiumban van [30].

1.4. Kezelés utáni nyomonkövetés

A petefészekrák sebészi kezelését, majd a neoadjuváns kemoterápiáját követően, komplett remisszió esetén is, a stádiumtól függetlenül javasolt a beteg obszervációja és nyomon követése. A komplett klinikai remissziót következőképpen definiáljuk: negatív fizikális státusz, negatív CA-125 szint, valamint CT vizsgálattal nem látható 1 cm-nél nagyobb kismedencei nyirokcsomó. A javasolt vizsgálómódszerek: mellkas, has, kismedencei CT, MR, esetleg PET-CT vizsgálat, valamint mellkas röntgen végzése [31].

Amennyiben a kezelést megelőzően a serum CA-125 szintje emelkedett volt, a tumormarker rendszeres ellenőrzése is elengedhetetlen [32]. Emelkedő CA-125 szint (biokémiai relapszus) minden más vizsgálatot 2-6 hónappal megelőzve képes előre jelezni a betegség klinikai kiújulását [33].

1.4.1. A betegség kiújulása

Nagyon rossz a várható prognózis, ha a daganat 2 kemoterápiás kezelést követően nem húzódik vissza, illetve ha a daganat kiújulását 6 hónapon belül észleljük. Ezekben az esetekben (figyelembe véve a jelenlegi protokollokat) platina rezisztens tumorról beszélünk [34]. Miután ezek a betegek az elsővonalbeli kezelésre nem reagáltak, további platina és paclitaxel kezelésnek nincs értelme. Ezekben az esetekben másodvonalbeli kemoterápiát alkalmazhatunk [35].

Azokban az esetekben, ahol a betegség kiújulása több mint 6 hónap után következik be, platina szenzitív betegcsoportot alkotnak, ezért platina alapú kombinált kezelésben részesülnek [35]. Hosszú betegség-mentes periódust követő recidíva esetében a másodlagos cytoreduktív sebészeti kezelés egyértelműen növeli a túlélést, ezért ezekben az esetekben érdemes ismételt műtétet végezni [36].

1.4.2. Második vonal (second line) kemoterápia

A primer kezelésre nem reagáló vagy recidíváló tumorok kezelése ellentmondásos. Több kipróbált vegyület közül a liposomalis doxorubicin, etoposid, gemcitabine, paclitaxel, platina, topotecan, vinorelbin és az ifosphamid javasolható.

Ha a daganat a platinát is tartalmazó kombinált kezelésre nem reagál újabb platina alapú kombinációktól esély nem várható, más típusú kezelés alkalmazása szükséges. Ha a recidíva a kezelés befejezése után egy évvel alakult ki (platina

szenzitív) és a daganat a primer platina alapú kombinációra jól reagált, nagy dózisú platina monoterápia mérlegelhető. Számolnunk kell továbbá azzal, hogy a magas dózisú második vonalbeli platinaadagolás olyan mértékben károsíthatja a veseszövetet, ami akadályát képezheti teljes dózisú kemoterápia végzésének.

A magyar kezelési protokollt az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja alapján a **2. sz. táblázat** tartalmazza.

2. táblázat. Recidív ovárium daganatok kezelésben használható kezelési sémák.

Hatóanyag	Dózis
Paclitaxel	80 mg/m^2 hetente
Docetaxel	30 mg/m^2 3-4 hetente
Topotecan	4 mg/m^2 hetente
Liposomalis doxorubicin	40 mg/m^2 havonta
Gemcitabine	1000 mg/m^2 1. és 8. napon 21 naponként

1.5. Az ovárium carcinomák prognosztikai faktorai

1.5.1. Klinikai paraméterek

A petefészekrákok 70%-a előrehaladott stádiumban (FIGO III-IV.) kerül felismerésre, prognózisuk ezért rossz, az átlagos túlélés 40-45%.

A legfontosabb prognosztikai faktor a tumor FIGO beosztás szerinti stádiuma. I. stádiumban az 5 éves túlélés 90-95%, II. stádiumban 70-75%, IIIa stádiumban 30-40%, IIIb stádiumban 20-30%, míg IIIc és IV. stádiumban 5% alatti. Az adatok az Egyesült Államok National Cancer Institute Surveillance Epidemiology and End Results adatbázisából származnak.

A prognózist befolyásolja az életkor, a fiatalabb korban előforduló tumorok prognózisa jobb [37]. Befolyásoló tényező még a beteg általános állapota, testsúlya [38], a tumor szövettani típusa, a differenciáltság foka (grade), a cytoreductív műtétet követően visszamaradt reziduális daganat mérete [39], a cytostaticumokkal szembeni rezisztencia mértéke [40], valamint az ascites jelenléte [41]. Az aneuploid tumorok prognózisa általában rosszabb [42].

1.5.2. A petefészekrák génexpresszió alapú biomarkerei

Feltételezték, hogy petefészekrákból készített génexpressziós vizsgálattal nemcsak azonosítani lehet a hibásan működő géneket, de ezeket a géneket molekuláris markerként is fel lehet használni a betegség viselkedésének leírására. A hibásan működő géneken keresztül meghatározhatjuk a betegség molekuláris karakterisztikáját, megérthetjük a betegség kifejlődését, és ezen keresztül új módszereket fejleszthetünk ki a betegség felismerésére, illetve célzott kezelésére. A génexpressziós analízissel azonosítani lehet a petefészekrák karcinogenezisét [43-63], különböző szövettani szubtípusait [45, 52, 64, 65], a kezelésre adott választ [66-72], a prognózist és a progressziót [54, 57, 73-77].

A klinikai gyakorlatban azonban a monogénes markerek felhasználása könnyebben megvalósítható. Ezeket tumormarkerként lehet használni, amelyekkel a betegség nyomonkövetése is megoldható. Az alábbiakban ezeket részletesebben is áttekintem.

1.5.2.1. CA-125

A klinikai gyakorlatban legismertebb a Ca-125 tumormarker. Ez a tumorsejtek által termelt glicoprotein, melynek szintje megemelkedik a beteg vérében. Sajnos ez sem elég érzékeny a korai stádiumú daganat kimutatására, néha az előrehaladottabb daganatok esetében sem mutat emelkedést. Ugyanakkor számos, főleg a menopauza környékén előforduló betegség is megemelheti a szérumkoncentrációt, ezáltal sok az álpozitív eset. Ilyenek például a gyulladás, endometriózis, leiomyoma, máj és vesebetegség, pancreatitis, colitis, diabetes, diverticulitis, pericarditis, pneumonia, systemás lupus erythematosus.

A Ca-125 glicoproteint az embrionális korban az amnion sejtek termelik a 7. terhességi héttől kezdve, felnőtt korban a Müller-csőből kialakult szervek felszíni epithelium sejtjei állítják elő. Normális értéke 35 U/ml alatt van az egészséges felnőttek 99%-ban. Epitheliális eredetű petefészekrák esetében a betegek 83%-nál észleljük megemelkedését a serumban. A Ca-125 meghatározás kezdete 1981-re nyúlik vissza, amikor Bast és munkatársai monoclonális antitesteket fejlesztettek ki kimutatására. A szérumszint nagysága egyenes összefüggésben van a daganat előrehaladott voltával, szövettani típusával, malignitásával, valamint a differenciáltság fokával [78].

Megfigyelték, hogy a Ca-125 szint emelkedését leginkább serosus szövettani típusban észlelik. Szérum szintje szignifikánsan magasabb előrehaladottabb, III/IV stádiumú daganat esetében. Ugyancsak magasabb értéket kapunk grade 3 differenciáltsági fokú daganatnál, valamint ascites jelenlétében. Amennyiben a sebészi kezelés során a tumormaradvány mérete meghaladja az 1 cm^3-t, szérumszintje szignifikánsan magasabb marad. Az optimális cytoredukcióra vonatkoztatott pozitív prediktív értéke 82%, míg negatív prediktív értéke 48%. A Ca-125 szérumszintjének magassága mind kezelés előtt, mind kezelés után egyenes összefüggésben van a várható élettartammal [79].

A fentiekből látszik, hogy a Ca-125 kiválóan alkalmas a betegség nyomon követésére, valamint a sebészi kezelést követően a reziduális daganat megítélésére (természetesen csak azon esetekben, ahol már a kezelés előtt is emelkedett szérum-koncentrációt észleltünk). Amennyiben a sebészi kezelést követően a Ca-125 szérumszintje normalizálódik, biztosak lehetünk benne, hogy nem maradt vissza jelentős reziduális daganat. Ugyanilyen összefüggés érvényes a kemoterápiás kezelésre is: ha a neoadjuváns kezelést követően a Ca-125 szintje csökken, vagy normalizálódik, az a kezelés hatásosságát jelzi. A kezelés utáni monitorizálásban is hasznos szerepet kap: amennyiben a serum szint növekedését észleljük, az már jóval a képalkotó eljárások előtt jelzi a betegség kiújulását [80].

1.5.2.2. KRT19

Az előzőekből kitűnt, hogy a Ca-125 bizonyos esetekben alkalmas ugyan a nyomon követésre, azonban szűrőmódszernek nem tökéletes, mert számos más betegségben is emelkedett a szérumszintje. Ezért számos más biomarker is intenzív vizsgálat alatt áll, közülük az egyik legígéretesebb a KRT19 gén által termelt Cytokeratin 19.

A serumban keringő cytokeratin 19 fragmentumok kimutatását a CYFRA 21-1 assay segítségével végezhetjük. 41%-os szenzitivitásával és 95%-os specificitásával a CYFRA 21-1 nem alkalmas szűrőmódszernek, de kiválóan alkalmas a benignus és malignus petefészek-folyamatok elkülönítésére (egyváltozós regressziós modellben p=0,0001). A Ca-125-tel ellentétben serumszintje nem emelkedik meg endometriózisban és kismedencei gyulladásos betegségekben. A betegség nyomon követésében nem jelent előnyt a Ca-125-höz képest, azonban a rák kezelését megelőző

szérum szintek kiválóan alkalmasak az összesített és recidíva-mentes túlélés előrejelzésére [81]. Továbbá a preoperatív szérumszintből megjósolható a kemoterápiára adott válasz is [82].

1.5.2.3. HE4

A human epididymal secretory protein E4 (HE4) szintén egy ígéretes biomarker. A gold standardnak számító Ca-125 serumszintje megemelkedik mind epitheliális eredetű serosus petefészekrák, mind a benignus elváltozásnak tekintett kismedencei endometriózis esetén, ugyanakkor negatív marad endometriális típusú ovárium carcinoma esetén. A HE4 szintje nem emelkedik meg endometriózisnál, ezért a CA-125-nél specifikusabb biomarker mind serosus, mind endometriális petefészekrák esetén.

Részletes multicentrikus prospektív tanulmányok igazolták, hogy ha meghatározzák a Ca 125 és HE4 koncentrációját a serumban, 92,3%-os szenzitivitással fel lehet ismerni az epitheliális eredetű petefészekrákra magas kockázatú betegeket. A benignus adnex tumorokat a módszer 75%-os szenzitivitással képes azonosítani [83-85].

1.5.2.4. CDKN1 (p21), CDKN1B (p27), ciklinek, TP53 (p53)

A p21, p27, ciklinek és a p53 mind a sejtosztódás szabályozásában játszanak szerepet. A legkülönfélébb daganatokban azonosították már hibás működésüket, részletesen vizsgálták szerepüket epitheliális eredetű petefészek daganatokban is.

A **p21**WAF1/CIP1 fehérje egy cyclin-dependens kináz gátló, amely meggátolja a CDK2/cyclin E által okozott retinoblastoma fehérje (pRB) foszforilációját. Ezzel lassítja a sejt osztódását a G1-es fázisban. Petefészekrákban alacsony a génexpressziós szintje, ami rontja a betegség prognózisát [86, 87].

A **p21** és **p27** fehérjéket kódoló gének magasabb génexpresszióját figyelték meg alacsony stádiumú tumorokban, valamint ezekben a daganatokban a kemoterápiát követő recidíva-mentes túlélés jóval hosszabb. Előrehaladottabb rák esetén mennyiségük szignifikánsan kisebb, és a recidíva-mentes túlélés is jelentősen lerövidül [88].

A **ciklinek** a sejtosztódás irányításában résztvevő fehérjék, így nem meglepő módon szoros összefüggést mutatnak a daganatok fenotípusában megjelenő változásokkal. A cyclin D1 pozitív tumorok esetében szignifikánsan rövidebb a túlélés,

magasabb a daganat stádiuma, valamint nagyobb a sebészi kezelést követő reziduális tumor mérete [89]. A cyclin D3 fordított összefüggést mutat az előzőekkel: minél magasabb koncentrációban van jelen, annál kevésbé viselkedik malignusan a tumor. Ahogy haladunk az adenomától a borderline tumoron keresztül az agresszív carcinoma felé, úgy csökken a szintje a petefészek szövetben [90]. A cyclin E2 szintje egyenes arányban növekszik a tumor agresszivitásával [91].

Az apopotózis és senescence szabályozási rendszerben kulcsfontosságú **p53** fehérje viselkedése intenzív vizsgálatok tárgya. A humán tumorokban a leggyakoribb hibák közé tartozik a p53 funkciózavara, aminek következményeként a daganatsejt képes génhibával együtt is osztódni. A sejt a hibát átörökíti utódaiba is, ezzel súlyosbíthatja a genom instabilitását. Ezt leggyakrabban mutáció okozza. A p53 szintjében nincs változás a normálishoz képest az alacsony malignus ponteciálú daganatok (LMP tumorok) esetében, azonban agresszív daganatokban a differenciáltság fokával együtt a fehérje szintézise is drasztikusan növekszik [92]. Cisplatin és carboplatin kemoterápiás szerekkel szembeni rezisztencia valószínűsége szignifikánsan nagyobb p53 mutációja, illetve fokozottabb expressziója esetén [93].

Megfigyelték, hogy amennyiben a **cyclin D1** és **p53** expressziója fokozott, és a **p21** és **p27** expressziója csökkent, akkor a betegség prognózisa rossz, a betegség túlélési ideje jelentősen lecsökken [94]. Ez vonatkozik a recidíva-mentes és összesített túlélésre is.

1.5.2.5. BRCA

A **BRCA** gének talán a köztudatban a legelterjedtebbek az örökletes emlőrákkal kapcsolatban, és a petefészekrák kialakulásában betöltött szerepét jelentősen alábecsülik. Eközben minden hetedik petefészektumor BRCA mutációra vezethető vissza [95, 96], és ezért az aktuális NCCN (www.nccn.org) útmutató valamennyi petefészekturmoros beteg és családtagjaik számára is ajánlja a BRCA státusz felmérését. A gén egy tumorszupresszor, amelynek kiesése örökletes, és a családi halmozódású petefészek- és emlőrák kialakulására hajlamosít. A petefészektumoros betegek 12%-ánál (ahol nem volt korábban BRCA mutáció szűrés) az egyik közvetlen hozzátartozónál is érintettséget mutatott ki [97]. Önálló markerként szignifikánsan alacsonyabb expresszióját találták agresszív viselkedésű, előrehaladott stádiumú

petefészekrákban. A differenciáltság fokában nem lehet eltérést kimutatni. Minimális BRCA1 expresszió is védőhatással bír a túlélés tekintetében [98].

1.5.2.6. Egyéb monogénes markerek

A fentieken kívül számos más monogénes markert is leírtak, melyek hatással lehetnek a petefészekrák viselkedésére, illetve progressziójára. Ezeket a **3. sz. táblázatban** foglaltam össze.

A bevezetés megírásához a jelzett hivatkozásokon kívül felhasználtam még a Szülészet-Nőgyógyászat 2008 (szerk: Papp Zoltán) tankönyvet, valamint az Egészségügyi Minisztérium A petefészek daganatok ellátásáról című szakmai protokollját.

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

3. táblázat: A petefészekrák monogénes markerei

Jelölés	Gén	Referencia	Jelölés	Gén	Referencia
CA125	CA 125	**[79, 99-101]**	**E2F4**	E2F4	**[122]**
KRT19	Cytokeratin 19	**[81, 82]**	**TP53**	p53	**[92, 93]**
KLK6	Kallikrein 6	**[102]**	**TP73**	p73	**[123]**
KLK10	Kallikrein 10	**[103]**	**BAX**	bax	**[124, 125]**
IL6	Interleukin-6	**[104]**	**BCL2L1**	Bcl-xl	**[126]**
IL7	Interleukin-7	**[105]**	**BIRC2**	cIAP	**[127]**
IFNG	γ-interferon	**[106]**	**BIRC5**	Survivin	**[128]**
FAS	sFas	**[107, 108]**	**TERT**	hTERT	**[129]**
VEGFR	VEGFR	**[109]**	**EGFR**	ERBB1	**[130, 131]**
CCND1	Cyclin D1	**[89, 94]**	**ERBB2**	ERBB2	**[132]**
CCND3	Cyclin D3	**[90]**	**MET**	c-Met	**[133]**
CCNE	Cyclin E	**[91, 110-112]**	**MMP2**	MMP-2	**[134]**
P15	p15	**[113]**	**MMP9**	MMP-9	**[135]**
P16	p16	**[114, 115]**	**MMP14**	MT1-MMP	**[136]**
CDKN1A	p21	**[86, 87, 94]**	**WFDC2**	Epididymis	**[83-85]**
CDKN1B	p27	**[88, 116-118]**	**(HE4)**	protein 4	
RB1	pRB	**[119, 120]**	**SERPINB5**	Maspin	**[137]**
E2F1	E2F1	**[121]**	**BRCA1**	BRCA1	**[98]**
E2F2	E2F2	[122]	**ERCC1**	**ERCC1**	**[138]**

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

2. CÉLKITŰZÉSEK

Régóta feltételezik, hogy egy sejt, vagy szövet génexpressziós mintázata egyértelműen meghatározza a sejt, illetve a szövet biológiai viselkedését. Ugyanezt feltételezzük daganatok esetében is, tehát ha meghatározzuk a daganatszövetben jelen lévő aktivált géneket, ezek alapján meg tudjuk mondani a daganat szövettani felépítését, biológiai viselkedését, a klinikai kezelésre adott válaszát, valamint előre tudjuk jelezni a betegség lefolyását, esetleges túlélését. Munkámban célom volt ezeket a géneket meghatározni petefészekrák esetében.

A daganatszövetekben meg lehet határozni az összes aktív gént is, de ez rendkívüli anyagi ráfordítást igényel. Ahhoz, hogy a klinikumban ésszerű keretek között lehessen genetikai vizsgálatokat végezni, meg kell határozni azokat az úgynevezett csúcsgéneket, amelyek génexpresszióját érdemes vizsgálni a daganatszövetben. Ennek meghatározására két útvonalon indultam el. Először is léteznek olyan nyilvános génbankok, melyek tudományos kutatás céljára hozzáférhetővé teszik különböző normál szövetekből és betegségekből, köztük petefészekrákból származó minták teljes génexpressziós vizsgálatának eredményeit, a pontos szövettani típusát, illetve számos esetben hozzáférhetők még a mintához tartozó klinikai adatok is, például a betegség kezelése, illetve a daganat kezelésre adott válasza, a beteg túlélése is. Ezeket az adatokat megkerestem, illetve táblázatos formátumban letöltöttem.

E mellett az irodalomban vannak tanulmányok, melyek konkrét gének expresszióját vizsgálták petefészekrák esetében. Ezeket a tanulmányokat megkerestem, és összehasonlítottam a leírt géneket a nyilvános génbankokból származó adatokkal.

A fenti két módszer alapján kigyűjtött adatokat a megfelelő statisztikai módszerekkel feldolgoztam, és minden esetben meghatároztam azokat a csúcsgéneket, melyek a legnagyobb valószínűséggel határozzák meg a daganat viselkedését.

A meghatározott csúcsgéneket ezt követően klinikai mintákon teszteltem. Petefészekrákból származó szövetmintákat gyűjtöttem az I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán, valamint az Országos Onkológiai Intézetben. Összegyűjtöttem a mintákhoz tartozó klinikai adatokat is. Ezt követően megvizsgáltam, hogy a korábban meghatározott csúcsgéneknek tényleg igazolható-e szerepe a klinikai mintákban is.

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

Összefoglalva vizsgálataim során a következő kérdésekre kerestem választ:

1. Az irodalomban leírt a **petefészekrák szövettani osztályozásával** összefüggésbe hozott génlisták közül melyik képes független adathalmazokon is hatásos osztályozásra?
2. Az irodalomban leírt a **petefészekrák prognózisával** összefüggésbe hozott génlisták közül melyik képes független adathalmazokon is hatásos osztályozásra?
3. Daganatos petefészek szövetminták microarray alapú génexpressziós mintázatának elemzésével azonosítani lehet-e olyan géneket, amelyek **expressziója összefüggésben van a betegség progressziójával**?
4. Daganatos petefészek szövetminták microarray alapú génexpressziós mintázatának elemzésével azonosítani lehet-e olyan géneket, amelyek **expressziója összefüggésben van a tumor szövettani típusával**?

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

3. MÓDSZEREK

3.1. Microarray rendszerek

Munkám során génexpressziót vizsgáltam, amely a microarray technikán alapul. Ezért az alábbiakban röviden bemutatom a technológia lényegét.

A microarray technika a DNS és RNS szálak **hibridizáció**ján alapul. A DNS/RNS szálakon elhelyezkedő nukleinsavak, a nukleotid bázispárokon keresztül hidrogénkötésekkel kapcsolódnak egymáshoz. Minél több bázispár egyezik meg egymással két nukleinsav láncon, annál erősebb kötéssel kapcsolódnak egymáshoz. Ha a mintát átmossuk egy nem specifikusan kötő nukleotid reagenssel, csak az erős egyezést mutató nukleinsav láncok maradnak egymáshoz kötődve (hibridizálva). Ha fluorescensen jelölt cél-szekvenciákat kapcsolunk a mintákhoz, meg tudjuk határozni azokat a helyeket, ahova a DNS/RNS szálak kötődnek, illetve a mintában lévő DNS/RNS mennyiségére is kaphatunk információt.

A microarray technikánál az oligonukleotidok egy szilárd felszínre, általában szilikon alapú felszínre csatlakoznak. Az egyes „helyek” (spot) picomolnyi specifikus DNS/RNS szekvenciát tartalmaznak, ezeket próbáknak (probe) nevezzük. A próba tulajdonképpen egy génnek egy rövid szakasza, mely hibridizálni képes a specifikus génnel. Ezzel lehetőség nyílik az adott gén azonosítására. Egy szilikon felszínre gyakorlatilag bármennyi oligonukleotid próbát fel lehet vinni, ezzel egymással párhuzamosan több gén vizsgálatára is lehetőség nyílik.

3.1.1. Affymetrix

Az Affymetrix egy vállalat, amely DNS microarray-ket gyárt. 1992-ben alapították az Egyesült Államokban a Kaliforniai Santa Clara-ban. Az üzem kezdte el gyártani a félvezető technikán alapuló úgynevezett gén chipeket (GeneChips). Ezek arra szolgálnak, hogy egy biológiai mintán gyorsan és precízen azonosítani tudjuk az előre meghatározott egyes géneket. Ehhez oligonukleotid microarray-eket használnak. Ez azt jelenti, hogy a szilikon chipre specifikus, előre meghatározott mRNS oligonukleotid próbákat visznek fel, ezt hozzák össze a biológiai mintából származó RNS fragmentumokkal, amiket a gén chip photolithography-kus módszerrel azonosít, valamint mennyiségileg is analizál. Fontos, hogy a chipen lévő oligonukleotidokat, vagyis azt, hogy milyen géneket kívánunk azonosítani, előre meg kell határoznunk.

Az Affymetrixen kívül más technikák is léteznek a génexpresszió vizsgálatára, de a tudományos életben ez a leginkább elfogadott módszer.

3.1.2. GEO: microarray lerakatok

Gene expression omnibus vagy rövidítve GEO a National Center for Biotechnology Information (NCBI) által létrehozott nyilvános adatbázis. Az intézet az Egyesült Államokban a Maryland-i Bethesdában található, melyet 1988-ban az amerikai Claude Pepper szenátor vezetésével hoztak létre. Ez működteti a korábban említett génbankot, valamint a tudományos életben közismert PubMed-et is. Ezek az interneten elérhető, nyilvános és ingyenes adatbázisok.

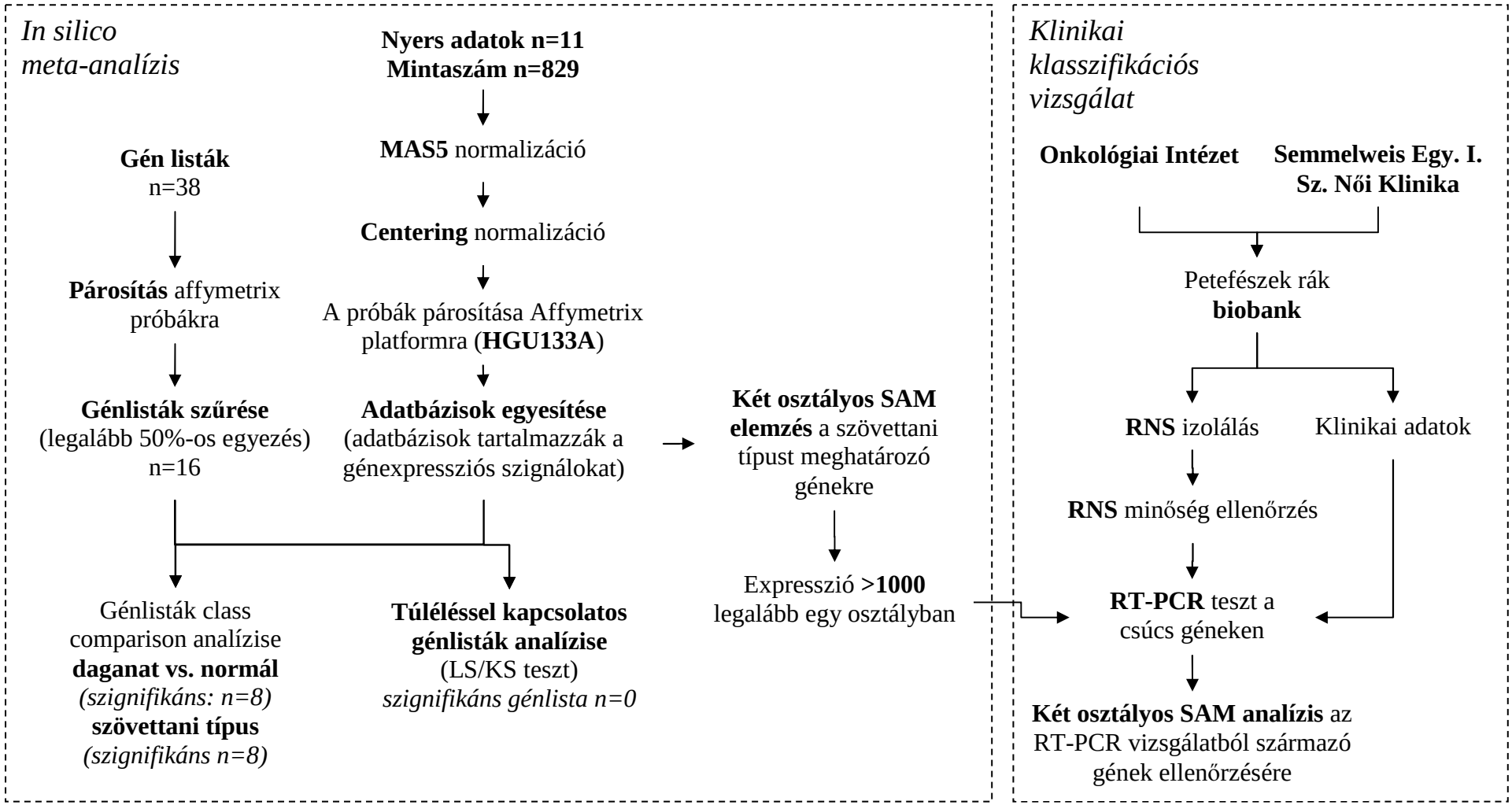
A génbankot 1992-ben hozták létre. Több független kisebb laboratórium mellett az európai székhelyű European Molecular Biology Laboratory (EMBL) és a japán DNA Data Bank of Japan (DDBJ) adatbázisát is koordinálja. A laboratóriumok adatbázisa elektronikusan össze van kötve, melyet napi szinten frissítenek. 2011 áprilisában 135.440.924 génszekvenciát tartalmazott, ezek között különféle fajok, így az ember génállománya, illetve normális és mindenféle betegségből, köztük tumoros szövetekből származó minták teljes génexpressziós mintázata is elérhető. A minták mellett sokszor elérhető az ehhez tartozó klinikai adatbázis is, bizonyos esetekben a betegség kezelése és kimenetele is nyilvános.

3.1.3. Microarray adatbank felépítése

A vizsgálat kezdetén szükséges volt egy elegendően nagy, génexpressziós és klinikai adatokat tartalmazó adatbank felépítése. Ehhez szisztematikusan átvizsgáltam a Pubmed (http://www.pubmed.com) és a GEO adatbázist (Gene Expression Omnibus) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/). A felhasznált keresőszavak a következők voltak: “ovarian”, “normal”, “cancer” and “GPL96” and “GPL570” (ezen utolsó kettő az Affymetrix HGU133A és HGU133A+2 microarray platformok hozzáférési nevei). Csak azokat a tanulmányokat használtam fel, ahol hozzáférhetőek voltak az eredeti, nyers microarray adatok és a klinikai adatok is. A vizsgálat teljes folyamatát, valamint a vizsgálati utakat az **2. sz. ábrán** mutatom be.

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

2. ábra: A vizsgálat folyamatának áttekintése



3.2. Statisztikai analízis

A letöltött nyers microarray adatokat MAS 5.0 algoritmussal normalizáltuk az R statisztikai környezetben (http://www.R-project.org), amihez a Bioconductor Affy csomagját használtuk fel (http://www.bioconductor.org). Ezután a GPL570-es microarray platformot összefésültük a GPL96 platformmal. Ehhez a Netaffx analízis centrum (http://www.affymetrix.com) microarray táblázatait használtuk (mivel a GPL570-es platform valamennyi GPL96-os próbát tartalmazza, az összefésülés során lényegében a GPL96-on nem szereplő próbákat távolítottuk el a GPL570-es mintákból).

Ezt követően a génexpressziós adatokat a BRB-ArrayTools 3.7.0 (Dr. Richard Simon és Amy Peng Lam által fejlesztett, kutatási célra ingyen hozzáférhető statisztikai program, http://linus.nci.nih.gov/BRB-ArrayTools.html) programba importáltuk. A génhalmazok összehasonlítását elvégeztük a különböző szövettani típusokra, valamint a normális petefészek szövetre is. A szignifikancia szintjét 0,01-ben határoztuk meg. A vizsgálat eredményeképpen egy rangsort kaptam a teljes genetikai állományra nézve, amely megmutatja, hogy melyik gének a legfontosabbak a petefészekrák kialakulása szempontjából.

3.3. Klinikai mintagyűjtés

A validációs vizsgálathoz petefészekrákból származó szövettani mintákat gyűjtöttem a Semmelweis Egyetem I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján, valamint az Országos Onkológiai Intézet Nőgyógyászati Osztályán. A mintagyűjtéseket az intézmények etikai bizottsága felügyelte. Petefészekrákra gyanús betegeknél a műtét kapcsán eltávolított ováriumokból kb. 1 cm^3-es mintát vettünk. A nyert anyagokat az eltávolításukat követően azonnal -80 ºC-ra hűtöttük le, és ezen a hőmérsékleten tároltuk az RNS izolálásáig.

2000 és 2005 között összesen 124 petefészekrákból származó mintát gyűjtöttem össze. Ezekből csak azokat a mintákat és klinikai adatokat használtam fel, amelyeknél kiváló minőségű RNS-t sikerült izolálni, valamint a szövettani vizsgálat egyértelműen petefészekből származó daganatot igazolt. A fenti kritériumok figyelembe vételével 64 használható mintát kaptam.

3.4. RNS izolálás és minőségi kontroll

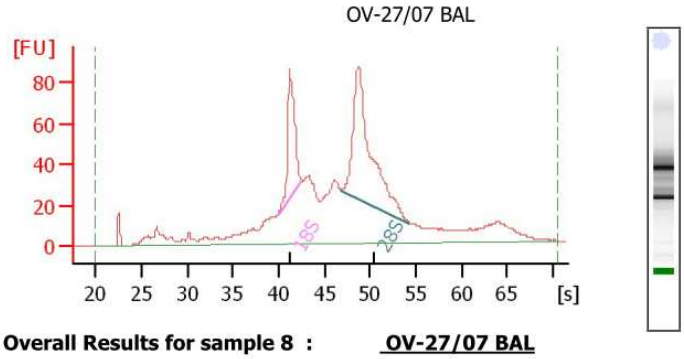
Az RNS-t Qiagen RNeasy kit (Qiagen, Hilden, Germany) segítségével izoláltam. A mintákat lizáltam és homogenizáltam 300µl GITC tartalmú lízis pufferrel és 3µl β-mercaptoethanol tartalmú oldattal. Az így nyert mintát Polytron homogenizátorral centrifugáltam 30-40 másodpercig, majd Proteinase K oldattal emésztettem 55 ºC-on 10 percen keresztül. Az oldatot szilikon membránon átszűrtem, majd DNase I. kezelésnek vetettem alá, hogy teljes egészében eltávolítsam belőle a genomikus DNS-t. A nyert RNS-t feloldottam 50 µl RNáz-mentes desztillált vízben.

A mennyiségi és minőségi analízist Nanodrop1000-es készülékkel (BCM, Houston, TX, USA) és gélelektroforézissel végeztem (Agilent Bioanalyzer System, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA). Az RNS A260 és A280 fehérjekoncentrációt és ezek arányát, vagyis a minta tisztaságát ugyancsak megmértem. Csakis a jó minőségű, sérülésmentes RNS-t tartalmazó mintákat fogadtam el, melyek normális 18S és 28S riboszomális RNS csíkokat mutattak a Bioanalyzer analízissel. A nyert RNS-t -80 ºC-ra fagyasztottam le az RT-PCR mérések elvégzéséig (lásd **3. sz. ábra**).

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

3. ábra: Az RNS minőségi és mennyiségi elemzése az OV-27/07 BAL (**A**) és OV31/07 BAL (**B**) mintáknál. A jól kivehető 18S és 28S riboszomális RNS-re vonatkozó csúcsok megbízhatóan mutatják a minta jó minőségét.

A



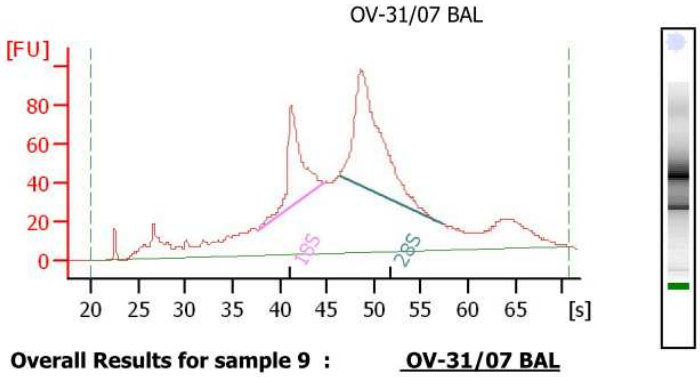
Overall Results for sample 8 : OV-27/07 BAL

RNA Area:	1,456.0
RNA Concentration:	672 ng/µl
rRNA Ratio [28s / 18s]:	2.3
RNA Integrity Number (RIN):	8.3 (B.02.06)
Result Flagging Color:	
Result Flagging Label:	RIN: 8.30

Fragment table for sample 8 : OV-27/07 BAL

Name	Start Time [s]	End Time [s]	Area	% of total Area
18S	39.94	42.55	130.4	9.0
28S	46.79	54.26	293.9	20.2

B



Overall Results for sample 9 : OV-31/07 BAL

RNA Area:	2,287.4
RNA Concentration:	1,056 ng/µl
rRNA Ratio [28s / 18s]:	2.0
RNA Integrity Number (RIN):	8.2 (B.02.06)
Result Flagging Color:	
Result Flagging Label:	RIN: 8.20

Fragment table for sample 9 : OV-31/07 BAL

Name	Start Time [s]	End Time [s]	Area	% of total Area
18S	37.77	44.74	207.2	9.1
28S	46.33	57.25	415.6	18.2

3.5. TaqMan RT-PCR mérések

TaqMan real-time PCR méréseket végeztünk az előzetesen kiválasztott 40 gén expressziós mintázatának meghatározására. A méréseket Micro Fluidic Card System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) segítségével végeztük. A 40 vizsgált gén között szerepet kaptak a túlélés előrejelzésében és a szövettani típus meghatározásában szerepet játszó gének is. Vizsgáltuk még a kemoterápiás rezisztencia kialakulásában szerepet játszó géneket (tubulinok és ABC transzporterek), az emlőrák kialakulásáért felelős géneket (mammaglobin-A és synuclein gamma), valamint két housekeeping gént, amelyek a későbbi minőségi kontroll szempontjából voltak fontosak. A housekeeping gének meghatározására azért volt szükség, mert ezeknek minden élő sejtben működniük kell. Hiányukban a sejt elpusztúl, így meghatározásuk kontrollként szerepel a tanulmányban. A vizsgált géneket a **8. sz. táblázat**ban (47. oldal) foglaltam össze. A méréseket az ABI PRISM® 7900HT Sequence Detection System segítségével végeztük, a készülék technológiai leírásának megfelelően.

3.6. A RT-PCR mérések adatainak feldolgozása

A mérési adatok feldolgozására az Applied Biosystem s által fejlesztett SDS 2.2 szoftvert használtam. A kivont delta Ct értékeket a klinikai adatok szerint csoportokba rendeztem és párosítottam őket. (A delta Ct érték az adott génexpresszióra normalizált érték, mely a mintában található ribosomális 18S és RPLP0 átlagos expressziójához került normalizálásra.) A klinikai adatokból a recidíva-mentes és teljes túlélést, valamint a szövettani típusokat használtam fel csoportosításra.

Ezt követően a két csoporton túlélési vizsgálatot (survival analysis) végeztem Significance Analysis of Microarrays (SAM) [139] segítségével. Kaplan-Meier túlélési elemzést a WinSTAT 2007 for Microsoft Excel program (Robert K. Fitch Software, Germany) segítségével végeztem.

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

4. EREDMÉNYEK

4.1. A microarray adatok meta-analízise

Összesen 829 petefészek-minta microarray adatait töltöttem le. Ebből 806 petefészekrákból származó minta (GSE9891, GSE14001, GSE2109, GSE6008, GSE14764, GSE3149 és GSE15578 adatbázisok), valamint 23 egészséges petefészekből származó minta (GSE15578, GSE14001, GSE3526, GSE1133, GSE2361, GSE7307 és GSE6008 adatbázisok) adatait használtam fel. A teljes normalizált adatbázis, mely tartalmazza a MAS5 expressziós értékeket és a mintákhoz tartozó klinikai adatokat, a http://www.kmplot.com/ovar/@ovary_normalized.txt honlapon érhetők el.

Ezen kívül felhasználtam a 38 korábbi petefészekrákkal kapcsolatban publikált génlistákat is, amelyeket a **4. sz. táblázatban** foglaltam össze. A publikált génlistákat Affymetrix microarray adatokra konvertáltam (ehhez az Affymetrix által, a microarray-on levő próbák génekkel való kombinálására készített táblázatot használtam). Csak azokat a tanulmányokat használtam fel, ahol a gének legalább 50%-át meg lehetett feleltetni Affimetrix próbáknak (n=16). A tanulmányokból kapott génlistáknál megnéztem, mennyire képesek előre jelezni független analízissel a különbséget normális és daganatos folyamat között, illetve a különböző szövettani típusok között. $P<0.005$-es szignifikancia értéknél összesen nyolc publikációból származó génlistát találtam alkalmasnak a fentiek elkülönítésére. A tanulmányokat az **5. sz. táblázatban** foglaltam össze.

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

4. táblázat: A 2000 és 2010 között megjelent, az ovárium tumor klinikai paramétereit vizsgáló tanulmányokból származó génlisták összefoglalása. #: Gének száma, V: validált gének száma

Tanulmány	Platform	#	V	Mintagyűjtés
Ovárium karcinogenezis				
Ono, 2000 [140]	custom, 9121 gén	103	RT-PCR (9)	9 ovárium tumor összehasonlítása normál mintával
Mok, 2001 [44]	Micromax	30	RT-PCR and IHC (1)	3 ovárium tumor sejtvonal vs. 3 normális ovárium epithelialis sejtekkel
Welsh, 2001 [47]	AffymetrixHuGeneFl	18	RT-PCR (3)	24 malignus és 4 egészséges szövetminta
Tonin, 2001 [46]	Affymetrix Hs6000	17	Northern blot (5)	4 petefészekrákból származó sejtvonal vs. 1 normális petefészekből származó epithelialis sejtek
Bayani, 2002 [141]	custom, 1718 gén	26	RT-PCR (3)	17 tumor 13 betegből
Zhang, 2003 [48]	512 cancer gén	30	-	ovárium carcinoma vs. normál ovárium szövet
Donninger, 2004 [51]	Affymetrix HGU133A +2	1150	RT-PCR (14)	37 előrehaladott stádiumú papillaris serosus petefészek rák
Lancaster, 2004 [54]	AffymetrixHuGeneFL	45	RT-PCR (2)	31 serosus petefészek rák minta vs. 3 normális petefészek minta
Santin, 2004 [59]	Affymetrix HGU95Av2	114	RT-PCR (2)	uterusból és ováriumból származó serosus papillaris carcinomákat elkülönítő gének vizsgálata

Warrenfeltz, 2004 [142]	Affymetrix, U95Av2	163	RT-PCR	18 ovárium tumor
Zhang, 2005 [63]	custom, 512 gén	39	IHC (1)	ovárium carcinoma vs. normális ovárium szövet
Le Page, 2006 [55]	AffymetrixHuGeneFL 6800	126	RT-PCR (13)	65 szövettenyészet normális ovárium epitheliumból, valamint petefészekrákból
Bignotti, 2006 [49]	Affymetrix HGU133A	140	RT-PCR (6)	19 frissen fagyasztott serosus papillaris ovárium carcinoma vs. 15 normális ovárium
Heinzelmann-Schwarz, 2004 [52]	Affymetrix custom: EosHu03	72	RT-PCR (11)	49 petefészek rák és normális petefészek szövetminta
Mougeot, 2006 [57]	Affymetrix HGFA chips	54	-	61 ovárium minta egészséges, valamint különféle szövettani típusú petefészek rákok
Jianduan Li, 2008 [56]	-	23	RT-PCR	2 human OSE és 2 ovárium carcinoma sejtvonal
Lin Zhang, 2006 [143]	array-based CGH	5	RT-PCR	89 petefészek rák
Sunde JS, 2006 [144]	Affymetrix	7	RT-PCR	37 undissectiós, 68 microdissectiós előrehaladott, és 14 microdissectiós korai serosus carcinoma
Lin Zhang, 2007 [61]	-	6	RT-PCR	89 petefészek carcinoma
Grisaru, 2007 [145]	cDNA microarrays	329	RT-PCR	7 normál ovárium vs. 26 serosus ovárium carcinoma
Klinck, 2008 [146]	LISA	48	RT-PCR	25 normál és 21 serosus ovárium carcinoma
Crijns, 2009 [50]	GEO GSE 13876	86	RT-PCR	157 előrehaladott serosus ovárium carcinoma
Park, 2008 [58]	Affymetrix U133+2	33	RT-PCR	62 minta III stádiumú, high-grade serosus carcinoma

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

Fedorowicz, 2009 [147]	RT-PCR	58	RT-PCR	5 serosus adenocarcinoma
Quinn, 2009 [148]	Affymetrix U133A	93	RT-PCR	normál ováriumból sejtvonal, fagyasztott petefészek rákból származó szövetminták
Szövettani típus				
Ono, 2000 [140]	custom, 9121 gén	115	RT-PCR (9)	5 serosus vs. 4 mucinosus adenocarcinoma
Moreno-Bueno, 2003 [149]	custom, 6386 gén	66	RT-PCR (6)	24 endometroid vs. 11 nonendometroid carcinoma
Zheng, 2004 [65]	custom cDNA array	9	-	serosus borderline és endometroid carcinoma
Heinzelmann-Schwarz, 2004 [52]	Affymetrix custom: EosHu03	273	RT-PCR (11)	49 különféle típusú petefészek carcinoma
Kezelésre adott válasz				
Sugimura, 2004 [66]	Toyobo arrays	45	RT-PCR (4)	KF ovárium carcinoma sejtvonal
Lamendola, 2003 [150]	Affymetrix HGU95Av2	18	-	paclitaxel rezisztens sejtvonal összehasonlítása parental SKOV-3 sejtvonallal
Selvanayagam, 2004 [68]	custom, 10692 gén	16	-	8 petefészek carcinoma minta
Macleod, 2005 [151]	Clontech Atlas human cancer chip 1.2	108	RT-PCR (14)	cisplatin rezisztens PE01CDDP összehasonlítása PE01 sejtvonallal
Samimi, 2005 [70]	Stanford microarrays	272	-	oxaliplatin szenzitív és rezisztens sejtvonalak

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

Bild, 2006 [71]	Affymetrix HGU133A plus 2.0	165	-	rekombináns adenovírus által transzformált emlő és petefészek rák sejtvonalak
Cheng, 2006 [72]	Stanford microarrays	25	RT-PCR (5)	6 pár cisplatin rezisztens és szenzitív sejtvonal
Prognózis és progresszió				
Xu, 2002 [73]	BioDoor 4096 array	22	-	magas és alacsony metesztatikus daganatok és normális petefészekszövet
Adib, 2004 [74]	Affymetrix HGU95Av2	42	RT-PCR (4)	III. stádiumú serosus adenocarcinoma vs. normális ovárium szövet
De Cecco, 2004 [75]	custom, 4451 cancer-related gén	30	RT-PCR (10)	III-IV. stádiumú petefészekrákokat elkülönítő gének
Lancaster, 2004 [54]	AffymetrixHuGeneFL	40	RT-PCR (2)	31 serosus petefészek carcinoma
Ouellet, 2005 [76]	AffymetrixHuGeneFL	45	RT-PCR (8)	37 alacsony malignitású és invazív petefészek tumor
Motamed-Khorasani, 2007 [77]	custom, 19200 gén	17	RT-PCR	androgén kezelésre adott válasz gén szabályozása 149 betegnél
Mougeot, 2006 [57]	Affymetrix HGFA chips	61	-	27 petefészek carcinoma

5. táblázat: Az irodalomban fellelhető szignifikáns génlisták, melyek képesek a normális petefészek szövetet a daganatostól elkülöníteni (**A**), valamint a különböző ovárium daganatok szövettani típusait elkülönítő génlisták (**B**). A feldolgozást a GEO adatbázisból származó adatokkal végeztük: GSE1133, GSE2361, GSE2109, GSE3149, GSE3526, GSE6008, GSE7307, GSE9891, GSE14001, GSE14764 és GSE15578. **Kiemelés:** p <0.005.

	Tanulmány	Gének száma	p-érték
A, normális petefészek szövet és daganat elkülönítése			
1	Bignotti, 2006 [49]	116	**< 0,0001**
2	Donninger, 2004 [51]	659	**< 0,0001**
3	Fedorowicz, 2009 [147]	28	**< 0,0001**
4	Heinzelmann, 2006 [13]	20	**< 0,0001**
5	Warrenfeltz, 2004 [142]	127	**< 0,0001**
6	Welsh, 2001 [47]	17	**< 0,0001**
7	Grisaru, 2007 [145]	68	**< 0,0001**
8	Quinn, 2009 [148]	71	**< 0,0001**
9	Santin, 2004 [59]	4	0,005
10	Zhang, 2007 [61]	7	0,007
11	Klinck, 2008 [146]	37	0,009
12	Park, 2008 [58]	26	0,048
B, szövettani típusok elkülönítése			
1	Bignotti, 2006 [49]	116	**< 0,0001**
2	Donninger, 2004 [51]	659	**< 0,0001**
3	Heinzelmann, 2006 [13]	20	**< 0,0001**
4	Welsh, 2001 [47]	17	**< 0,0001**
5	Quinn, 2009 [148]	71	**< 0,0001**
6	Warrenfeltz, 2004 [142]	127	**0,0001**
7	Santin, 2004 [59]	4	**0,0009**
8	Mougeot, 2006 [57]	53	**0,0021**
9	Fedorowicz, 2009 [147]	28	0,037

Túléléssel kapcsolatos adatokat két korábbi tanulmányban találtam (GSE3149 és GSE14764). Ezek összesen 199 mintát tartalmaznak. A korábban publikált génlisták egyike sem volt képes szignifikánsan előre jelezni a túlélést ezekben a betegekben.

A letöltött és összekombinált microarray adatbázisok alkalmasak voltak a túlélést és szövettani típust meghatározó gének elkülönítésére. A szövettani típus meghatározásában legfontosabb szignifikáns géneket a **6. sz. táblázatban** tüntettem fel. A túlélést meghatározó géneket a **7. sz. táblázat** tartalmazza.

6. táblázat. A táblázatban a legfontosabb gének láthatók, melyek képesek elkülöníteni a petefészekrák különböző szövettani típusait. Az eredmények 829 microarray adat felhasználásával készültek.

A Serosus carcinoma (2) vs. minden más carcinoma (1) átlaga

1	2	Relatív változás	Affy próba	Gén	Kódoló fehérje leírása
1251	298	4,19	203824_at	TSPAN8	tetraspanin 8
505	4329	0,11	206067_s_at	WT1	Wilms tumor 1
234	1006	0,23	32625_at	NPR1	natriuretic peptide receptor A/guanylate cyclase A
455	2620	0,17	204885_s_at	MSLN	mesothelin
530	2135	0,24	204457_s_at	GAS1	growth arrest-specific 1
370	2504	0,14	220196_at	MUC16	mucin 16, cell surface associated
1987	7328	0,27	209436_at	SPON1	spondin 1, extracellular matrix protein
265	1471	0,18	212909_at	LYPD1	LY6/PLAUR domain containing 1

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

B Endometroid carcinoma (2) vs. minden más carcinoma (1) átlaga

1	2	Relatív változás	Affy próba	Gén	Kódoló fehérje leírása
3163	525	6,02	206067_s_at	WT1	Wilms tumor 1
1809	413	4,37	204457_s_at	GAS1	growth arrest-specific 1
1216	461	2,63	218847_at	IGF2BP2	insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 2
2633	1264	2,08	203910_at	ARHGAP29	Rho GTPase activating protein 29
1098	457	2,40	202177_at	GAS6	growth arrest-specific 6
1988	544	3,65	204885_s_at	MSLN	mesothelin
1501	5268	0,28	205979_at	SCGB2A1	secretoglobin, family 2A
1138	2156	0,52	218211_s_at	MLPH	melanophilin

C Világos sejtes carcinoma (2) vs. minden más carcinoma (1) átlaga

1	2	Relatív változás	Affy próba	Gén	Kódoló fehérje leírása
2251	522	4,30	212148_at	PBX1	pre-B-cell leukémia homeobox 1
2698	698	3,86	212151_at	PBX1	pre-B-cell leukémia homeobox 1
3370	499	6,75	204069_at	MEIS1	Meis homeobox 1
1052	104	10,085	213317_at	CLIC5	chloride intracellular channel 5
3456	860	4,01	203917_at	CXADR	coxsackie vírus receptor
2728	200	13,62	206067_s_at	WT1	Wilms tumor 1
1032	340	3,03	216035_x_at	TCF7L2	transcription factor 7-like 2 (T-cell specific, HMG-box)
86	1157	0,074	205674_x_at	FXYD2	FXYD domain containing ion transport regulator 2
139	1721	0,081	205799_s_at	SLC3A1	solute carrier family 3 member 1

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

D Mucinosus carcinoma (2) vs. minden más carcinoma (1) átlaga

1	2	Relatív változás	Affy próba	Gén	Kódoló fehérje leírása
1415	100	14,01	221950_at	EMX2	empty spiracles homeobox 2
1477	124	11,85	209395_at	CHI3L1	chitinase 3-like 1
4071	289	14,05	222281_s_at	NA	NA
1447	198	7,29	209552_at	PAX8	paired box 8
1495	175	8,51	209396_s_at	CHI3L1	chitinase 3-like 1
115	5674	0,02	205009_at	TFF1	trefoil factor 1
79	3073	0,02	206239_s_at	SPINK1	serine peptidase gátló, Kazal type 1
236	7305	0,03	211657_at	CEACAM6	carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6
207	6860	0,03	204623_at	TFF3	trefoil factor 3 (intestinal)

7. táblázat: A 15 legfontosabb gén, mely alkalmas a petefészekrák túlélésének előrejelzésére. Az eredmények 199 microarray adat felhasználásával születtek.

	p-érték	FDR	HR	Affy próba	Gén	Kódoló fehérje leírása
1	6e-07	0,0128	0,406	203401_at	PRPS2	phosphoribosyl pyrophosphate synthetase 2
2	3,7e-06	0,0395	2,164	200808_s_at	ZYX	zyxin
3	6,8e-06	0,0422	2,665	205248_at	DOPEY2	dopey család 2. tag
4	7,9e-06	0,0422	2,538	216606_x_at	PHF1	PHD finger fehérje 1
5	1,06e-05	0,0453	0,668	209512_at	HSDL2	hydroxysteroid dehydrogenase-szerű 2
6	1,42e-05	0,0470	0,476	218397_at	FANCL	Fanconi anemia, complementation csoport L
7	1,67e-05	0,0470	2,303	215566_x_at	LYPLA2	lysophospholipase II
8	1,76e-05	0,0470	3,021	214780_s_at	MYO9B	myosin IXB
9	2,23e-05	0,0529	0,616	209525_at	HDGFRP3	hepatoma-derived growth factor, related fehérje 3
10	3,37e-05	0,0720	0,766	214156_at	MYRIP	myosin VIIA and Rab interacting fehérje
11	5,37e-05	0,1043	1,435	220388_at	NA	NA
12	7,35e-05	0,1213	1,836	207525_s_at	GIPC1	GIPC PDZ domain containing család,1. tag
13	7,38e-05	0,1213	1,464	204535_s_at	REST	RE1-silencing transcription factor
14	8,49e-05	0,1296	0,61	218694_at	ARMCX1	armadillo repeat containing, X-linked 1
15	9,31e-05	0,1326	0,529	202468_s_at	CTNNAL1	catenin, alpha-like 1

4.2. Klinikai adatok feldolgozása

A klinikai adatokból vizsgáltam a daganat szövettani típusát, a betegség stádiumát, a daganat differenciáltsági fokát (grade), a recidívát, a recidíva-mentes túlélést, az összesített túlélést, az alkalmazott kemoterápia típusát, valamint a másodlagosan kialakuló emlőrákot.

A betegek átlagos életkora 60±11 év volt. Az átlagos visszaesés-mentes túlélés 24,5 hónap volt. Összesen 31 visszaesés volt. Beteganyagunkban az átlagos túlélés 29 hónap volt (23 halálesettel). Negyvennégy betegnél alacsony differenciáltságú serosus, háromnál magas differenciáltságú serosus daganatot, hat esetben határeset (borderline) serosus tumort találtunk. Négy betegnél alakult ki a kezelést követően másodlagos emlőrák. A pontos klinikai adatokat egyes betegekre lebontva a **függelék 1. sz. táblázata** tartalmazza.

4.3. TaqMan RT-PCR mérések

Tanulmányunk egyik célja volt a meta-analízis által meghatározott legfontosabb gének tesztelése TaqMan analízis segítségével klinikai mintákon. A meta-analízis segítségével meghatározott csúcs-gének mellett az irodalomban fellelhető petefészekrákkal kapcsolatos géneket is teszteltük.

A kiválasztott gének expresszióját három fő szempont köré csoportosítottuk. Ennek megfelelően a túlélést meghatározó gének, a szövettani típust meghatározó gének és a kezelést követően másodlagosan kialakuló emlőrákért felelős gének kerültek független analízisre. A viszonylag alacsony klinikai mintaszám miatt csak a high-grade serosus szövettani típust tudtuk összehasonlítani az összes többi szövettani típusból képzett csoporttal. A génlisták megkülönböztető erejét az **8. sz. táblázat** tartalmazza. A klinikai változókból egyedül a daganat stádiumát lehet összefüggésbe hozni a túlélési adatokkal (p=0,02).

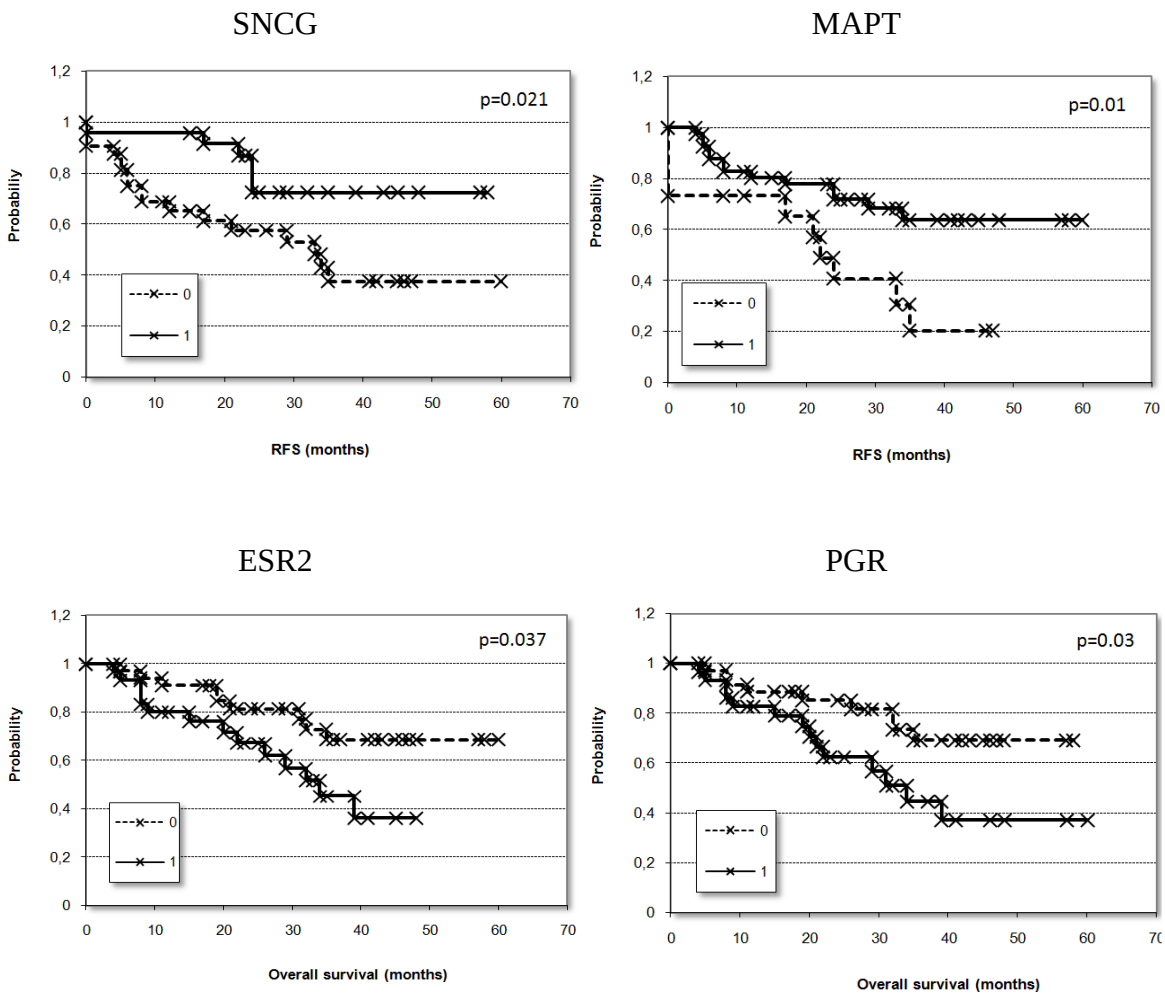
4.4. Túlélési elemzések

A túléléssel kapcsolatos géneket Kaplan-Meier elemzéssel dolgoztuk fel. Az adatfeldolgozásban az átlagos génexpresszió szempontjából két csoportot különítettünk el. Az egyik csoportot az átlagosnál alacsonyabb génexpresszió (0), a másik csoportot az átlagoshoz képest magasabb génexpresszió (1) minták alkották. Az adatelemzést

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

elvégeztük a recidíva-mentes túlélésre és a teljes túlélésre is. A Kaplan-Meier plots analízis eredményét a négy legfontosabb génre a **4. sz. ábra** tartalmazza.

4. ábra. Az RT-PCR vizsgálatokból származó csúcsgének diszkriminatív ereje a 64 klinikai vizsgálatból származó mintán. Kaplan-Meier elemzés mutatja a visszaesés-mentes túlélést (RFS) az SNCG és MAPT génekre csoportosítva. Ez alatt az összesített túlélést láthatjuk az ESR2 és PGR génekre csoportosítva. Az ábrákon az átlagos génexpressziós értékeket láthatjuk (0: génexpresszió az átlagosnál kisebb, 1: génexpresszió az átlagosnál magasabb).



DOI: 10.14753/SE.2013.1793

8. táblázat: Azon gének, melyek az RT-PCR vizsgálatok alapján képesek a túlélés és a szövettani típusok meghatározására.

Assay ID	Gén	Gén neve	SAM	q érték	Gén összefüggésbe hozható
összesített túlélés (n=64)					
Hs00172183_m1	**PGR**	progeszteron receptor	1,62	<0,01	hormon receptor
Hs01105519_m1	**ESR2**	ösztrogén receptor 2 (ER beta)	1,55	<0,01	hormon receptor
Hs00610327_m1	**TSPAN8**	tetraspanin 8	1,54	<0,01	szövettani típus
recidíva-mentes túlélés (n=64)					
Hs00902188_m1	**MAPT**	microtubule-associated protein tau	-1,61	<0,01	kemoterápiás válasz
Hs00268306_m1	**SNCG**	synuclein, gamma	-1,67	<0,01	emlőrákra specifikus
recidíva-mentes túlélés a taxol+carboplatin kezelésen átesett betegeken (n=51)					
Hs00539278_m1	**MYRIP**	myosin VIIA and Rab interacting protein	-1,61	<0,01	túlélés
Hs00268306_m1	**SNCG**	synuclein, gamma	-1,77	<0,01	emlőrákra specifikus
high-grade serosus daganat vs. más szövettani típus (n=64)					
Hs00266715_s1	**GAS1**	growth arrest-specific 1	2,35	<0,01	szövettani típus
Hs01103751_m1	**WT1**	Wilms tumor 1	2,86	<0,01	szövettani típus
Hs00245879_m1	**MSLN**	mesothelin	1,74	<0,01	szövettani típus
Hs00418568_m1	**NPR1**	natriuretic peptide receptor A	2,37	<0,01	szövettani típus
Hs00610327_m1	**TSPAN8**	tetraspanin 8	-3,71	<0,01	szövettani típus
Hs00181323_m1	**GAS6**	growth arrest-specific 6	0,94	2,53	szövettani típus
Hs00191351_m1	**ARHGAP29**	Rho GTPase activating protein 29	1,38	<0,01	szövettani típus
Hs01065189_m1	**MUC16**	mucin 16, cell surface associated	1,73	<0,01	szövettani típus

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

Hs00170299_m1	**ZYX**	ESP-2, HED-2	1,53	<0,01	szövettani típus
Hs00188109_m1	**MYO9B**	myosin IXB	1,68	<0,01	szövettani típus
Hs00256958_m1	**PHF1**	PHD finger protein 1	0,86	2,53	szövettani típus
Hs00274988_m1	**HDGFRP3**	hepatoma-derived growth factor related protein 3	0,94	2,53	szövettani típus
Hs00268306_m1	**SNCG**	synuclein, gamma	2,49	<0,01	emlőrákra specifikus
Hs01046815_m1	**ESR1**	ösztrogén receptor 1	0,87	2,53	hormon receptor
Hs00160607_m1	**PSMB7**	proteasome subunit, beta type, 7	0,89	2,53	kemoterápiás válasz
Hs00258236_m1	**TUBB1**	tubulin, beta 1	1,41	<0,01	kemoterápiás válasz
Hs00362387_m1	**TUBA1A**	tubulin alpha 1a	0,96	2,53	kemoterápiás válasz
Hs00737065_m1	**MAP4**	microtubule-associated protein 4	1,62	<0,01	kemoterápiás válasz
Hs00742533_s1	**TUBB2A**	tubulin, beta 2A	1,05	2,53	kemoterápiás válasz
Hs00744842_sH	**TUBA1B**	tubulin, alpha 1b	1,46	<0,01	kemoterápiás válasz
Hs00893144_g1	**TUBB4**	tubulin, beta 4	1,13	2,53	kemoterápiás válasz
Hs00902188_m1	**MAPT**	microtubule-associated protein tau	0,98	2,53	kemoterápiás válasz
high-grade serosus vs. serosus borderline és low-grade daganat					
Hs00267190_m1	**SCGB2A2**	secretoglobin, family 2A, member 2	1,14	4,09	szövettani típus
Hs00245879_m1	**MSLN**	mesothelin	1,45	4,09	szövettani típus
Hs03063307_m1	**TOP2A**	topoisomerase (DNA) II alpha	2,88	<0,01	túlélés
Hs00188109_m1	**MYO9B**	myosin IXB	1,41	4,09	túlélés
Hs00267624_m1	**PRPS2**	phosphoribosyl pyrophosphate synthetase 2	0,68	5,57	túlélés
Hs00194807_m1	**GIPC1**	GIPC PDZ domain containing family, member 1	1,30	4,09	túlélés

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

Hs00192885_m1	**DOPEY2**	dopey family member 2	0,93	5,57	túlélés
Hs00855445_g1	**LYPLA2**	lysophospholipase II	1,17	4,09	túlélés
Hs00268306_m1	**SNCG**	synuclein, gamma	1,79	4,09	emlőrákra specifikus
Hs00744842_sH	**TUBA1B**	tubulin, alpha 1b	1,86	4,09	kemoterápiás válasz
Hs00742533_s1	**TUBB2A**	tubulin, beta 2A	1,62	4,09	kemoterápiás válasz
Hs00760066_s1	**TUBB4**	tubulin, beta 4	1,67	4,09	kemoterápiás válasz
Hs00737065_m1	**MAP4**	microtubule-associated protein 4	1,52	4,09	kemoterápiás válasz
Hs00258236_m1	**TUBB1**	tubulin, beta 1	0,93	5,57	kemoterápiás válasz
Hs00733770_m1	**TUBA1C**	tubulin, alpha 1c	1,57	4,09	kemoterápiás válasz
Hs00902188_m1	**MAPT**	microtubule-associated protein tau	1,18	4,09	kemoterápiás válasz
Hs00160607_m1	**PSMB7**	proteasome subunit, beta type, 7	1,08	4,09	kemoterápiás válasz
Hs00219905_m1	**ABCC1**	ATP-binding cassette, sub-family C, member 1	1,12	4,09	kemoterápiás válasz

5. MEGBESZÉLÉS

A petefészekrák molekuláris genetikai vizsgálata új megvilágításba helyezi a betegség kialakulását. Az irodalomban fellelhető korábbi vizsgálatok korlátait átlépve a Gene Expression Omnibus által elérhető nyilvános adatok segítségével valódi meta-analízist végeztem. Összegyűjtöttem az összes fellelhető korábbi publikációt, mely a petefészek karcinogenezisével, szövettani típusaival és prognózisának előrejelzésével foglalkozott. A meta-analízis alapján azonosított új géneket RT-PCR vizsgálattal validáltam 64 petefészek daganatban szenvedő páciens mintáin

5.1. Multigénes markerek klinikai alkalmazhatósága

Munkám során először megvizsgáltam az irodalomban fellelhető összes génexpressziós vizsgálatot, amely a petefészekrákkal kapcsolatban állhat. A különböző vizsgálatok különböző microarray technikákkal készültek. Ezek alapján összesen 463 gént találtam, melyek összefüggésbe hozhatók a petefészekrák szövettani típusaival. Ugyanakkor egyetlen olyan gént sem találtam köztük, melyet azonosítottak volna legalább két különböző vizsgálatban [152].

A génexpressziós analízissel azonosítani lehet az ovárium karcinogenezisét [43-63], a különböző szövettani szubtípusait [45, 52, 64, 65], a kezelésre adott választ [66-72], a prognózist és progressziót [54, 57, 73-77]. Az idézett tanulmányok azonban rendkívül heterogének, a legtöbb esetben alacsony mintaszámon, eltérő géneket vizsgáltak. Az alábbiakban a tanulmányokból kiemelem azokat, ahol olyan génlistákat azonosítottak, amelyeknél a metaanalízis segítségével is szignifikánsan igazolni tudtam a gének jelentőségét.

Bignotti és munkatársai [49] 19 serosus papillaris petefészek rákból származó fagyasztott szövetmintát hasonlítottak össze 15 normális petefészek epithelium sejtvonalból származó mintával. Munkájukhoz quantitativ RT-PCR és oligonukleotid microarray technikát használtak. Összesen 142 gént azonosítottak, melynek expressziójában különbség volt a normális és rákos sejtek között. Eredményeiket nekem is sikerült igazolnom, az általuk közölt génlistákkal szignifikánsan el lehetett különíteni a metaanalízis alapján nyert adatok szerint is a serosus ovárium carcinomát.

Donninger és munkatársai [51] 37 előrehaladott stádiumú serosus papillaris rákból származó szövetet vizsgáltak oligonukleotid microarray technikával. 1191 gént

azonosítottak, melynek expressziójában eltérés volt a normálishoz képest. Ezeket RT-PCR vizsgálattal validálták, majd 14 csúcsgént határoztak meg. Ezek jelentőségét nekem is sikerült igazolnom.

Fedorowicz és munkatársai [147] 100 gén expresszióját hasonlították össze öt formalinban fixált, paraffinba ágyazott, öt azonnal lefagyasztott serosus petefészekrákban, valamint normális petefészek szöveten. A vizsgálatban teljes genom Agilent microarray technikát alkalmaztak. Bár volt különbség a frissen fagyasztott, valamint a beágyazott szövetminták RNS minőségében, mindkettőt szignifikánsan el lehetett különíteni a normálishoz képest. A legfontosabb gének klinikai értékét nekem is sikerült igazolni.

Heinzelmann és munkatársai [13] 49 különféle szövettani típusú, de petefészek eredetű epitheliális carcinomát hasonlítottak össze oligonukleotid microarray technikával. Vizsgálatukban a mucinosus rákra fókuszáltak, és 20 gént azonosítottak, amelyek szignifikánsan elkülönítették őket más szövettani típusoktól. Ezeket a géneket nekem is sikerült azonosítani.

Warrenfeltz és munkatársai [142] 18 petefészek tumorból származó mintát vizsgáltak Affymetrix próbákon, melyek között volt benignus, borderline, alacsony és magas malignus potenciállal rendelkező daganat is. A kemoterápiára adott válasz szempontjából is vizsgálták a géneket. 163 gén expressziójában sikerült különbségeket kimutatniuk a különböző tumorok esetében. Metaanalízisem alapján a különféle szövettani típusokat szignifikánsan elkülöníti a javasolt génlistájuk, azonban a kemoterápiás válasz előrejelzésében nem bizonyultak használhatónak a tanulmányban azonosított gének. Valószínűleg a vizsgálatukban felhasznált mintaszám túl alacsonynak bizonyult valódi összefüggések levonásához.

Welsh és munkatársai [47] 24 malignus és 4 egészséges szövetmintán oligonukleotid microarray technikával és RT-PCR validációval 6000 gén közül 19-et azonosítottak, melyek képesek voltak elkülöníteni a daganatos szövetet a normálistól. Ezek a metaanalízisem alapján is szignifikáns géneknek bizonyultak.

Grisaru és munkatársai [145] 7 normális és 26 serosus petefészek rák génexpresszióját hasonlították össze RT-PCR és microarray technika segítségével. 329 gén esetében mutattak ki szignifikáns összefüggést. Vizsgálataimban a 329 génből a legerősebb szignifikanciával rendelkező géneket nekem is sikerült kimutatnom.

Quinn és munkatársai [148] mRNS microarray génexpresszión alapuló Ziplex technikát hasonlították össze az Affymetrix gén chip platformon alapuló technikával. Normál ováriumból származó sejtvonalat, valamint fagyasztott petefészek rákból származó szövetmintákat, illetve sejtvonalakat használtak fel. 93 gént vizsgáltak, melyek különböztek a normális és kóros mintákban, ezek közül 75 gén volt, amely mindkét platform esetén egyező eredményt adott. Ezekből a legerősebb szignifikanciával rendelkezőket nekem is sikerült kimutatnom.

Összefoglalva elmondható, hogy vizsgálatommal nem sikerült alátámasztanom több, az irodalomban fellelhető, és a petefészekrákkal kapcsolatos géneket azonosító tanulmány klinikai jelentőségét. A 16 korábban megjelent génlistából mindössze 8 esetben sikerült szignifikáns összefüggést találni a kórkép viselkedésével kapcsolatban, és egyik génlista sem bizonyult szignifikánsnak a kezelést követő túlélés előrejelzésére. A legvalószínűbb magyarázata annak, hogy a vizsgálatokat nem tudtam reprodukálni, az lehet, hogy a korábbi vizsgálatokban csak alacsony esetszámokat használtak fel. Szerepet játszhat még az is, hogy nem azonos kliniko-patológiai paramétereket hasonlítottak össze, a nyers klinikai adatok feldolgozására különféle adatfeldolgozási módszereket használtak, valamint egyes tanulmányok in vitro vizsgálatok során nyert adatokat dolgoztak fel. A vizsgálatokhoz felhasznált microarray platformok is rendkívül különbözőek voltak. Például a Donninger tanulmányban [51] azonosított 1191 gén közül mindössze 659 gént lehetett Affymetrix platformhoz hozzárendelni. Érdekes módon azon tanulmányok, amelyek alkalmasak voltak a normális és daganatos petefészek szövet elkülönítésére, a különböző szövettani típusok elkülönítésére is alkalmasak voltak.

5.2. A szövettani osztályozás monogénes markerei

Vizsgálatomban sikerült azonosítani és validálni a petefészekrák különféle szövettani típusait meghatározó géneket, és ezzel sikerült alátámasztani azt a korábbi elméletet, hogy a daganat génexpresszós mintázata alkalmas a szövettani típus megállapítására. A magas malignitással rendelkező serosus ovárium carcinomát klinikai mintákon is egyértelműen azonosítani lehet a következő génekkel: **GAS1** (growth arrest-specific 1 fehérje), **WT1** (Wilms tumor 1), **MSLN** (mesothelin), **NPR1** (natriuretic peptide receptor A/guanylatecyclase A), **TSPAN8** (tetraspanin 8),

ARHGAP29 (Rho GTPase activating protein 29), **MUC16** (mucin 16, cell surface associated), **ZYX** (ESP-2, HED-2), **MYO9B** (myosin IXB), **SNCG** (synuclein, gamma/breast cancer-specific protein 1), **TUBB1** (tubulin, beta 1), **MAP4** (microtubule-associated protein 4), **TUBA1B** (tubulin, alpha 1b).

Vizsgálataim alapján a **TOP2A** gén (topoisomerase (DNS) II alpha) képes elkülöníteni a magas malignitású serosus tumort az alacsony malignitású borderline daganattól. A gén a sejtciklus szabályozásában, illetve a sejt proliferációban játszik szerepet. A gén a 17-es kromoszóma q12-q21 régiójában helyezkedik el a BRCA1 gén közvetlen közelében [153]. Egyes tanulmányok a TOP2A expressziójának fokozódását mutatták ki malignus petefészek daganat esetében [154], illetve feltételezik szerepét a kemorezisztencia kialakulásában is [155]. Platina alapú kemoterápiás kezelést követően, amennyiben a daganat recidivál, a gén csökkent expresszióját lehet kimutatni a recidív tumorban, illetve a recidív daganat kemoterápiára rezisztenssé válik, amennyiben a TOP2A gén expressziója csökkent [156, 157]. A fenti tanulmányok egyike sem vizsgálta, hogy van-e különbség a génexpresszió mértékében a borderline és malignus daganatok között. Ezt elsőnek nekem sikerült leírni.

5.3. A túlélés előrejelzése

Beteganyagunkban három gént sikerült azonosítani (**ESR2** ösztrogén receptor 2 (ER beta), **PGR** progeszteron receptor és **TSPAN8** tetraspanin 8) mely alkalmas a kezelést követő teljes túlélés előrejelzésére, valamint két gént sikerült kimutatni (**MAPT** microtubule-associated protein tau és **SNCG** synuclein, gamma (breast cancer-specific protein 1)) amik a recidíva-mentes túlélést jelezhetik előre.

Az **ESR2** (ösztrogén receptor 2) a sejt proliferációban és az apoptózis szabályozásában játszik szerepet. Lurie és munkatársai [158] bebizonyították, hogy bizonyos génpolimorfizmus esetén a petefészekrák kialakulásának esélye megnő. Ugyanezt populációs szinten más munkacsoport is igazolta [159].

Korábbi vizsgálatok arra utaltak, hogy alacsony malignus potenciállal rendelkező, valamint low-grade petefészek rákok esetében az ösztrogén receptor nagyobb arányban fordul elő. Ez azt sugallja, hogy ezen daganatok esetében a kezelésében nagyobb szerepet kaphat a hormonális kezelés [160]. Tanulmányunkban a microarray adatok azt mutatták, hogy az ösztrogén receptort kódoló gén (**ESR2**) expressziójában kimutatható különbség volt az alacsony és magas malignus potenciállal

rendelkező daganatok esetében. Amennyiben a daganat ösztrogén receptor (**ESR2**) és/vagy progeszteron receptor (**PGR**) pozitív, a várható túlélés is magasabb. Hasonló összefüggést sikerült kimutatnia Sinn munkacsoportjának [161] is. Cikküket azonban már a mi közleményünk után, 2011 novemberében publikálták.

Az, hogy a túléléssel kapcsolatos gének között két hormonreceptor is van (az ösztrogén és progeszteron receptora), arra utalhat, hogy a petefészekrák kezelésében nagyobb hangsúlyt kell fordítani a receptor státusz vizsgálatára, és az esetleges hormonkezelésre. 2012 januárjában jelent meg Lee és munkatársai tanulmánya [162], melyben sejtvonalakon tesztelték az antiösztrogén tamoxifen és progeszteron adásának hatását. Mindkét szer önmagában is növelte a sejtciklus G1 fázisában szabályozó szerepet játszó p21, p27, p16 és phospho-pRb szintjét, melyek a sejtosztódás leállításában játszanak szerepet. Ezek pontos hatását és biomarkerként való esetleges felhasználását a "Petefészekrák génexpresszió alapú biomarkerei" fejezetben írtam le. Amikor a sejtkultúrát külön-külön, illetve egyszerre kezelték tamoxifennel és progeszteronnal, a sejtosztódást gátló hatásban nem volt kimutatható különbség.

Tanulmányomban még a tetraspanin 8 **(TSPAN8)** szerepét sikerült igazolnom a túlélés előrejelzésében. A gén egy fehérjét kódol, mely a transzmembrán szupercsalád 4 része. Ennek megfelelően egy olyan transzmembrán fehérje, mely jelátviteli folyamatokban játszik közvetítő szerepet a sejtfelszín két oldala között. Szerepet játszik a sejt fejlődésében, aktivitásában, növekedésében és motilitásában. Ugyancsak képes komplexet alkotni a sejtfelszíni integrinekkel, melyek a sejt extracelluláris mátrixhoz kötődésében játszanak szerepet. A tetraspanin 8 szerepét petefészek daganatokban még senki sem vizsgálta.

A recidíva-mentes túlélést vizsgálatomban a **MAPT** (microtubule-associated protein tau) és az **SNCG** (synuclein gamma) volt képes előre jelezni.

A **MAPT** a microtubulusok stabilizálásában játszik kulcsszerepet. A tubulinok alfa és béta alegysége dimereket alkot, majd ezek a dimerek kapcsolódnak össze mikrotubulusokká, melyek a sejtek belső vázát alkotják. Ezt a folyamatot irányítja a MAPT gén. A MAPT legnagyobb arányban a központi idegrendszert felépítő neuronokban aktív, az axonális microtubulusok stabilizálásáért és flexibilitásáért felelős. Hibás működése esetén a microtubulusok szétesnek, ami dementiához és Alzheimer kórhoz vezet [163]. A gén a 17-es kromoszóma q21 régiójában helyezkedik el, a

korábban említett TOP2A és BRCA1 gének közvetlen közelében. A **MAPT** szerepét petefészek daganatokban még senki sem vizsgálta.

A gamma synuclein **SNCG** (breast cancer-specific protein 1) szerepe a normális sejtműködésben nagyrészt még jelenleg is ismeretlen. Biztos, hogy fontos szerepet játszik a neurális folyamatokban, kóros működése Alzheimer és Parkinson kór kialakulásához vezet [164]. A génnek fontos szerepe van még az emlőrák progressziójában is, innen is származik második neve (breast cancer-specific protein 1). Jiang és munkatársai [165] kimutatták, hogy a gén működése erősen stimulálja a ligand függő transkripciós aktivitását az ösztrogén receptor 1-nek emlőrákból származó sejtekben. Az SNCG aktivitás növelése egyértelműen fokozta az ösztrogén receptorok képződését és a sejtnövekedést. Szintjének csökkentése az ösztrogénfüggő sejtosztódás gátlását váltotta ki. A synuclein által kiváltott sejtosztódást antiösztrogének hatékonyan gátolták. Gupta és munkatársai [166] a gén metilációját vizsgálták emlő és petefészekrák sejtvonalakon (normális emlő és petefészek epitheliális sejtekben a gén inaktív állapotban van). A gén metilációs mintázata szövetspecifikusnak bizonyult, vagyis más régiókban volt kimutatható az emlő, mint a petefészek sejtekben. Mindkét daganatféleségben a sejtosztódás gátlása az SNCG hypermelilációjához vezetett, ezzel a gén expressziója gátolva volt. A gén hypometilációja a génaktivitás fokozódásához, illetve a sejtosztódás felgyorsulásához vezetett.

Értekezésemből egyértelműen látszik, hogy a petefészekrák genetikai vizsgálata még korántsem letisztult tudomány. Jelenleg a betegség kialakulásában és viselkedésében szerepet játszó gének meghatározásánál tartunk. Ebben képvisel előrelépést dolgozatom. Új jövőbeli módszerek, mint például az RNS-szekvenálás, várhatóan lehetővé fogják tenni, hogy különböző adatokat, mint genotípus, génexpresszió és fenotípus egymással összekössünk, és ezáltal egy olyan komplex metaanalízis lehetőségét teremtsük meg, amely a biológiai folyamatok különböző szintjeit is összekapcsolják egymással.

Statisztikai eredményeink alapján még meg kell jegyeznem, hogy a jövőben csak nagyobb, kb. 1000 beteget magába foglaló klinikai mintán lehet ennél erősebb prediktív értékű vizsgálatot végezni.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

A Gene Expression Omnibus által elérhető nyilvános adatok segítségével végzett meta-analízis eredményét teszteltem az irodalomban fellelhető összes korábbi publikációval, mely a petefészek karcinogenezisével, szövettani típusaival és prognózisának előrejelzésével foglalkozott. A kapott génlistákat ezt követően petefészek rákban szenvedő betegek klinikai mintáin validáltam RT-PCR segítségével.

Munkám alapján a következő következtetéseket lehet levonni:

A magas malignitással rendelkező serosus ovárium carcinomát egyértelműen azonosítani lehet a következő génekkel: GAS1 (growth arrest-specific 1 fehérje, $p<0,01$), WT1 (Wilms tumor 1, $p<0,01$), MSLN (mesothelin, $p<0,01$), NPR1 (natriuretic peptide receptor A/guanylatecyclase A, $p<0,01$), TSPAN8 (tetraspanin 8, $p<0,01$), ARHGAP29 (Rho GTPase activating protein 29, $p<0,01$), MUC16 (mucin 16, cell surface associated, $p<0,01$), ZYX (ESP-2, HED-2, $p<0,01$), MYO9B (myosin IXB, $p<0,01$), SNCG (synuclein, gamma/breast cancer-specific protein 1, $p<0,01$), TUBB1 (tubulin, beta 1, $p<0,01$), MAP4 (microtubule-associated protein 4, $p<0,01$), TUBA1B (tubulin, alpha 1b, $p<0,01$).

A TOP2A-t (topoisomerase (DNA) II alpha, $p<0,01$) gén képes elkülöníteni a magas malignitású serosus tumort az alacsony malignitású borderline daganattól.

Három gént azonosítottam (ESR2 ösztrogén receptor 2 (ER beta, $p<0,01$), PGR (progeszteron receptor, $p<0,01$) és TSPAN8 (tetraspanin 8, $p<0,01$), mely alkalmas a kezelést követő túlélés előrejelzésére.

Két gént mutattam ki (MAPT microtubule-associated protein tau, $p<0,01$ és SNCG synuclein, gamma (breast cancer-specific protein 1, $p<0,01$)), melyek a recidíca-mentes túlélést jelezhetik előre.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A Gene Expression Omnibus által elérhető nyilvános adatok segítségével valódi meta-analízist végeztem. Összesen 829 petefészekrákból származó minta (11 adatbázis) felhasználásával egy teljes, normalizált adatbázist hoztam létre, mely tartalmazza a génexpressziós értékeket és a mintákhoz tartozó klinikai adatokat. Összegyűjtöttem az irodalomban fellelhető összes korábbi publikációt, mely a petefészek karcinogenezisével, szövettani típusaival és prognózisának előrejelzésével foglalkozott. Ezeken megvizsgáltam, hogy képesek-e előre jelezni független analízissel a különbséget normális és daganatos folyamat között, illetve a különböző szövettani típusok között. A 38 korábbi tanulmányból összesen 8 tudta a petefészekrák szövettani típusát előre jelezni.

A meta-analízisből származó adatbank felhasználásával sikerült meghatározni új, a betegséggel kapcsolatba hozható géneket. Ezeket petefészek rákban szenvedő betegek klinikai mintáin validáltam RT-PCR segítségével. 2000 és 2005 között az Onkológiai Intézetben és az I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán mintagyűjtést végeztem. Összesen 64 jó minőségű mintát nyertem. Vizsgáltam a betegség szövettani típusát, stádiumát, differenciáltsági fokát (grade), a recidíva-mentes és összesített túlélést, a kemoterápia típusát és a kezelésre adott választ, valamint másodlagosan kialakuló emlőrák bekövetkeztét.

Azt találtam, hogy a magas malignitással rendelkező serosus ovárium carcinomát egyértelműen azonosítani lehet a következő génekkel: GAS1 (growth arrest-specific 1 fehérje, $p<0,01$), WT1 (Wilms tumor 1, $p<0,01$), MSLN (mesothelin, $p<0,01$), NPR1 (natriuretic peptide receptor A/guanylatecyclase A, $p<0,01$), TSPAN8 (tetraspanin 8, $p<0,01$), ARHGAP29 (Rho GTPase activating protein 29, $p<0,01$), MUC16 (mucin 16, cell surface associated, $p<0,01$), ZYX (ESP-2, HED-2, $p<0,01$), MYO9B (myosin IXB, $p<0,01$), SNCG (synuclein, gamma/breast cancer-specific protein 1, $p<0,01$), TUBB1 (tubulin, beta 1, $p<0,01$), MAP4 (microtubule-associated protein 4, $p<0,01$), TUBA1B (tubulin, alpha 1b, $p<0,01$). Valamint találtam egy gént, a TOP2A-t (topoisomerase (DNA) II alpha, $p<0,01$), mely képes elkülöníteni a magas malignitású serosus tumort az alacsony malignitású borderline daganattól.

Három gént sikerült azonosítani (ESR2 ösztrogén receptor 2 (ER beta, $p<0,01$), PGR (progeszteron receptor, $p<0,01$) és TSPAN8 (tetraspanin 8, $p<0,01$) mely alkalmas

a kezelést követő túlélés előrejelzésére, valamint két gént sikerült kimutatni (MAPT microtubule-associated protein tau, p<0,01 és SNCG synuclein, gamma (breast cancer-specific protein 1, p<0,01)) amik a recidíva-mentes túlélést jelezhetik előre.

Röviden:

1. Vizsgálatom szerint a korábban megjelent tanulmányok közül **Bignotti** [49], **Donninger** [51], **Heinzelmann** [13], **Warrenfeltz** [142], **Welsh** [47], **Quinn** [148], **Santin** [59], **Mougeot** [57] és **Fedorowicz** [147] munkái képesek elkülöníteni génexpressziós mintázat alapján a petefészekrák különböző szövettani típusait egymástól.
2. Az irodalomban leírt, petefészekrák prognózisával összefüggésbe hozott génlisták közül egy sem volt képes független adathalmazokon is hatásos osztályozásra.
3. Daganatos petefészek szövetminták génexpressziós mintázatának vizsgálatával három gént sikerült azonosítani (**ESR2**, **PGR** és **TSPAN8)** mely alkalmas a kezelést követő **teljes túlélés előrejelzésére**, valamint két gént sikerült kimutatni (**MAPT** és **SNCG**), amelyek a **recidíva-mentes túlélést** jelezhetik előre. Ezen összefüggéseket független mintákon RT-PCR-rel is igazoltam.
4. Daganatos petefészek szövetminták génexpressziós mintázatának elemzésével azonosítottam és RT-PCR-rel igazoltam **tizenhárom olyan gént, amelyek expressziója összefüggésben van a tumor szövettani típusával**. Végezetül azonosítottam egy gént (**TOP2A**), mely képes elkülöníteni a **magas malignitású serosus tumort az alacsony malignitású borderline daganattól**.

8. SUMMARY

Transcriptomic analysis of global gene expression in ovarian carcinoma can identify dysregulated genes capable to serve as molecular markers for histology subtypes and survival. To overcome limitations of previous studies due to low sample sizes I gathered several datasets from Gene Expression Omnibus to perform a true meta-analysis of ovarian-cancer signatures. 829 samples (11 datasets) were downloaded. Than I collected all the previous publications concerning ovarian cancer carcinogenesis. The predictive power of 38 previously published gene sets was assessed. Of these, only 8 were capable to discriminate histology subtypes.

To overcome the differences in previous studies, new predictors were identified using the 829 samples. Between 2000 and 2005 I collected ovarian cancer samples in the 1st Department of Obstetrics and Gynecology of the Semmelweis University in collaboration with the National Institute of Oncology. Overall 64 samples were capable for further examinations (median relapse-free survival 24.5 months, median overall survival 29 months, 51 had serous histology, the average age 60 years) and performed TaqMan RT-PCR analysis for the best 40 genes associated with histology subtypes and survival.

Over 90% of subtype-associated genes were confirmed by the RT-PCR results. These include GAS1 (growth arrest-specific 1 protein, p<0,01), WT1 (Wilms tumor 1, p<0,01), MSLN (mesothelin, p<0,01), NPR1 (natriuretic peptide receptor A/guanylatecyclase A, p<0,01), TSPAN8 (tetraspanin 8, p<0,01), ARHGAP29 (Rho GTPase activating protein 29, p<0,01), MUC16 (mucin 16, cell surface associated, p<0,01), ZYX (ESP-2, HED-2, p<0,01), MYO9B (myosin IXB, p<0,01), SNCG (synuclein, gamma/breast cancer-specific protein 1, p<0,01), TUBB1 (tubulin, beta 1, p<0,01), MAP4 (microtubule-associated protein 4, p<0,01), TUBA1B (tubulin, alpha 1b, p<0,01). TOP2A-t (topoisomerase (DNA) II alpha, p<0,01) was able to differentiate between high grade malignant serous and low grade borderline serous tumors.

Overall survival was effectively predicted by the hormone receptors ESR2 estrogen receptor 2 (ER beta, p<0,01), PGR (progesterone receptor, p<0,01) and TSPAN8 (tetraspanin 8, p<0,01). Relapse-free survival was predicted by MAPT microtubule-associated protein tau, p<0,01 and SNCG synuclein, gamma (breast cancer-specific protein 1, p<0,01).

In brief:

1. I have evaluated previously published gene sets. Of these, the genes of **Bignotti** [49], **Donninger** [51], **Heinzelmann** [13], **Warrenfeltz** [142], **Welsh** [47], **Quinn** [148], **Santin** [59], **Mougeot** [57] and **Fedorowicz** [147] delivered significant power to discriminate histology subtypes of ovarian cancer in independent samples.
2. No one previously published gene set was capable to predict prognosis in an independent set of samples.
3. By investigating gene expression signatures of ovarian cancer samples I have identified three genes (**ESR2**, **PGR** and **TSPAN8**) capable to **predict overall survival** and two genes (**MAPT** and **SNCG**) capable to **predict relapse-free survival**. I have also validated these correlations by RT-PCR in independent samples.
4. By investigating gene expression signatures of ovarian cancer samples I have identified 13 genes associated with histology subtypes of ovarian cancer. Finally, I have identified one gene (**TOP2A**) capable to discriminate **high grade serous tumors and low grade borderline tumors.**

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ: Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009, 59(4):225-249.
2. Kasler M, Otto S: [European and Hungarian national tasks in oncology]. *Magy Onkol* 2008, 52(1):21-33.
3. Chan JK, Cheung MK, Husain A, Teng NN, West D, Whittemore AS, Berek JS, Osann K: Patterns and progress in ovarian cancer over 14 years. *Obstet Gynecol* 2006, 108(3 Pt 1):521-528.
4. Morch LS, Lokkegaard E, Andreasen AH, Kruger-Kjaer S, Lidegaard O: Hormone therapy and ovarian cancer. *JAMA* 2009, 302(3):298-305.
5. van Leeuwen FE, Klip H, Mooij TM, van de Swaluw AM, Lambalk CB, Kortman M, Laven JS, Jansen CA, Helmerhorst FM, Cohlen BJ *et al*: Risk of borderline and invasive ovarian tumours after ovarian stimulation for in vitro fertilization in a large Dutch cohort. *Hum Reprod* 2011, 26(12):3456-3465.
6. Finch A, Beiner M, Lubinski J, Lynch HT, Moller P, Rosen B, Murphy J, Ghadirian P, Friedman E, Foulkes WD *et al*: Salpingo-oophorectomy and the risk of ovarian, fallopian tube, and peritoneal cancers in women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. *JAMA* 2006, 296(2):185-192.
7. Daly MB, Axilbund JE, Buys S, Crawford B, Farrell CD, Friedman S, Garber JE, Goorha S, Gruber SB, Hampel H *et al*: Genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian. *J Natl Compr Canc Netw* 2010, 8(5):562-594.
8. Lancaster JM, Powell CB, Kauff ND, Cass I, Chen LM, Lu KH, Mutch DG, Berchuck A, Karlan BY, Herzog TJ: Society of Gynecologic Oncologists Education Committee statement on risk assessment for inherited gynecologic cancer predispositions. *Gynecol Oncol* 2007, 107(2):159-162.
9. Domchek SM, Friebel TM, Singer CF, Evans DG, Lynch HT, Isaacs C, Garber JE, Neuhausen SL, Matloff E, Eeles R *et al*: Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers with cancer risk and mortality. *JAMA* 2010, 304(9):967-975.
10. Goff BA, Mandel LS, Drescher CW, Urban N, Gough S, Schurman KM, Patras J, Mahony BS, Andersen MR: Development of an ovarian cancer symptom index: possibilities for earlier detection. *Cancer* 2007, 109(2):221-227.
11. Buys SS, Partridge E, Black A, Johnson CC, Lamerato L, Isaacs C, Reding DJ, Greenlee RT, Yokochi LA, Kessel B *et al*: Effect of screening on ovarian cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Randomized Controlled Trial. *JAMA* 2011, 305(22):2295-2303.
12. Collins IM, Domchek SM, Huntsman DG, Mitchell G: The tubal hypothesis of ovarian cancer: caution needed. *Lancet Oncol* 2011, 12(12):1089-1091.
13. Heinzelmann-Schwarz VA, Gardiner-Garden M, Henshall SM, Scurry JP, Scolyer RA, Smith AN, Bali A, Vanden Bergh P, Baron-Hay S, Scott C *et al*: A distinct molecular profile associated with mucinous epithelial ovarian cancer. *Br J Cancer* 2006, 94(6):904-913.
14. Wamunyokoli FW, Bonome T, Lee JY, Feltmate CM, Welch WR, Radonovich M, Pise-Masison C, Brady J, Hao K, Berkowitz RS *et al*: Expression profiling of mucinous tumors of the ovary identifies genes of clinicopathologic importance. *Clin Cancer Res* 2006, 12(3 Pt 1):690-700.

15. Suzuki M, Saito S, Saga Y, Ohwada M, Sato I: Mutation of K-RAS protooncogene and loss of heterozygosity on 6q27 in serous and mucinous ovarian carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet* 2000, 118(2):132-135.
16. Giede KC, Kieser K, Dodge J, Rosen B: Who should operate on patients with ovarian cancer? An evidence-based review. *Gynecol Oncol* 2005, 99(2):447-461.
17. Earle CC, Schrag D, Neville BA, Yabroff KR, Topor M, Fahey A, Trimble EL, Bodurka DC, Bristow RE, Carney M *et al*: Effect of surgeon specialty on processes of care and outcomes for ovarian cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2006, 98(3):172-180.
18. du Bois A, Quinn M, Thigpen T, Vermorken J, Avall-Lundqvist E, Bookman M, Bowtell D, Brady M, Casado A, Cervantes A *et al*: 2004 consensus statements on the management of ovarian cancer: final document of the 3rd International Gynecologic Cancer Intergroup Ovarian Cancer Consensus Conference (GCIG OCCC 2004). *Ann Oncol* 2005, 16 Suppl 8:viii7-viii12.
19. Schlaerth AC, Chi DS, Poynor EA, Barakat RR, Brown CL: Long-term survival after fertility-sparing surgery for epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2009, 19(7):1199-1204.
20. Fader AN, Rose PG: Role of surgery in ovarian carcinoma. *J Clin Oncol* 2007, 25(20):2873-2883.
21. Tinger A, Waldron T, Peluso N, Katin MJ, Dosoretz DE, Blitzer PH, Rubenstein JH, Garton GR, Nakfoor BA, Patrice SJ *et al*: Effective palliative radiation therapy in advanced and recurrent ovarian carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001, 51(5):1256-1263.
22. Cristea M, Han E, Salmon L, Morgan RJ: Practical considerations in ovarian cancer chemotherapy. *Ther Adv Med Oncol* 2010, 2(3):175-187.
23. Ozols RF, Bundy BN, Greer BE, Fowler JM, Clarke-Pearson D, Burger RA, Mannel RS, DeGeest K, Hartenbach EM, Baergen R: Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol* 2003, 21(17):3194-3200.
24. Vasey PA, Jayson GC, Gordon A, Gabra H, Coleman R, Atkinson R, Parkin D, Paul J, Hay A, Kaye SB: Phase III randomized trial of docetaxel-carboplatin versus paclitaxel-carboplatin as first-line chemotherapy for ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2004, 96(22):1682-1691.
25. McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, Kucera PR, Partridge EE, Look KY, Clarke-Pearson DL, Davidson M: Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. *N Engl J Med* 1996, 334(1):1-6.
26. Bell J, Brady MF, Young RC, Lage J, Walker JL, Look KY, Rose GS, Spirtos NM: Randomized phase III trial of three versus six cycles of adjuvant carboplatin and paclitaxel in early stage epithelial ovarian carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 2006, 102(3):432-439.
27. Pignata S, Scambia G, Ferrandina G, Savarese A, Sorio R, Breda E, Gebbia V, Musso P, Frigerio L, Del Medico P *et al*: Carboplatin plus paclitaxel versus carboplatin plus pegylated liposomal doxorubicin as first-line treatment for patients with ovarian cancer: the MITO-2 randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2011, 29(27):3628-3635.

28. Katsumata N, Yasuda M, Takahashi F, Isonishi S, Jobo T, Aoki D, Tsuda H, Sugiyama T, Kodama S, Kimura E *et al*: Dose-dense paclitaxel once a week in combination with carboplatin every 3 weeks for advanced ovarian cancer: a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2009, 374(9698):1331-1338.
29. Eeles RA, Tan S, Wiltshaw E, Fryatt I, A'Hern RP, Shepherd JH, Harmer CL, Blake PR, Chilvers CE: Hormone replacement therapy and survival after surgery for ovarian cancer. *BMJ* 1991, 302(6771):259-262.
30. Lai GG, Penson RT: Bevacizumab and ovarian cancer. *Drugs Today (Barc)* 2011, 47(9):669-681.
31. Fulham MJ, Carter J, Baldey A, Hicks RJ, Ramshaw JE, Gibson M: The impact of PET-CT in suspected recurrent ovarian cancer: A prospective multi-centre study as part of the Australian PET Data Collection Project. *Gynecol Oncol* 2009, 112(3):462-468.
32. Miller RE, Rustin GJ: How to follow-up patients with epithelial ovarian cancer. *Curr Opin Oncol* 2010, 22(5):498-502.
33. Rustin G, van der Burg M, Griffin C, Qian W, Swart AM: Early versus delayed treatment of relapsed ovarian cancer. *Lancet* 2011, 377(9763):380-381.
34. Griffiths RW, Zee YK, Evans S, Mitchell CL, Kumaran GC, Welch RS, Jayson GC, Clamp AR, Hasan J: Outcomes after multiple lines of chemotherapy for platinum-resistant epithelial cancers of the ovary, peritoneum, and fallopian tube. *Int J Gynecol Cancer* 2011, 21(1):58-65.
35. Fung-Kee-Fung M, Oliver T, Elit L, Oza A, Hirte HW, Bryson P: Optimal chemotherapy treatment for women with recurrent ovarian cancer. *Curr Oncol* 2007, 14(5):195-208.
36. Bristow RE, Puri I, Chi DS: Cytoreductive surgery for recurrent ovarian cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol* 2009, 112(1):265-274.
37. Chan JK, Tian C, Monk BJ, Herzog T, Kapp DS, Bell J, Young RC: Prognostic factors for high-risk early-stage epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 2008, 112(10):2202-2210.
38. Backes FJ, Nagel CI, Bussewitz E, Donner J, Hade E, Salani R: The impact of body weight on ovarian cancer outcomes. *Int J Gynecol Cancer* 2011, 21(9):1601-1605.
39. Elattar A, Bryant A, Winter-Roach BA, Hatem M, Naik R: Optimal primary surgical treatment for advanced epithelial ovarian cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2011(8):CD007565.
40. Suh DH, Kim MK, No JH, Chung HH, Song YS: Metabolic approaches to overcoming chemoresistance in ovarian cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2011, 1229:53-60.
41. Lane D, Matte I, Rancourt C, Piche A: Prognostic significance of IL-6 and IL-8 ascites levels in ovarian cancer patients. *BMC Cancer* 2011, 11:210.
42. Capo-chichi CD, Cai KQ, Simpkins F, Ganjei-Azar P, Godwin AK, Xu XX: Nuclear envelope structural defects cause chromosomal numerical instability and aneuploidy in ovarian cancer. *BMC Med* 2011, 9:28.
43. Bayani J, Brenton JD, Macgregor PF, Beheshti B, Albert M, Nallainathan D, Karaskova J, Rosen B, Murphy J, Laframboise S *et al*: Parallel analysis of sporadic primary ovarian carcinomas by spectral karyotyping, comparative

genomic hybridization, and expression microarrays. *Cancer Research* 2002, 62(12):3466-3476.

44. Mok SC, Chao J, Skates S, Wong K, Yiu GK, Muto MG, Berkowitz RS, Cramer DW: Prostasin, a potential serum marker for ovarian cancer: identification through microarray technology. *J Natl Cancer Inst* 2001, 93(19):1458-1464.
45. Ono K, Tanaka T, Tsunoda T, Kitahara O, Kihara C, Okamoto A, Ochiai K, Takagi T, Nakamura Y: Identification by cDNA microarray of genes involved in ovarian carcinogenesis. *Cancer Research* 2000, 60(18):5007-5011.
46. Tonin PN, Hudson TJ, Rodier F, Bossolasco M, Lee PD, Novak J, Manderson EN, Provencher D, Mes-Masson AM: Microarray analysis of gene expression mirrors the biology of an ovarian cancer model. *Oncogene* 2001, 20(45):6617-6626.
47. Welsh JB, Zarrinkar PP, Sapinoso LM, Kern SG, Behling CA, Monk BJ, Lockhart DJ, Burger RA, Hampton GM: Analysis of gene expression profiles in normal and neoplastic ovarian tissue samples identifies candidate molecular markers of epithelial ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001, 98(3):1176-1181.
48. Zhang XY, Li XP, Lai J, Feng J: [Screening for ovarian cancer-associated genes with cDNA microarrays]. *Ai Zheng* 2003, 22(9):943-947.
49. Bignotti E, Tassi RA, Calza S, Ravaggi A, Romani C, Rossi E, Falchetti M, Odicino FE, Pecorelli S, Santin AD: Differential gene expression profiles between tumor biopsies and short-term primary cultures of ovarian serous carcinomas: identification of novel molecular biomarkers for early diagnosis and therapy. *Gynecol Oncol* 2006, 103(2):405-416.
50. Crijns AP, Fehrmann RS, de Jong S, Gerbens F, Meersma GJ, Klip HG, Hollema H, Hofstra RM, te Meerman GJ, de Vries EG *et al*: Survival-related profile, pathways, and transcription factors in ovarian cancer. *PLoS Med* 2009, 6(2):e24.
51. Donninger H, Bonome T, Radonovich M, Pise-Masison CA, Brady J, Shih JH, Barrett JC, Birrer MJ: Whole genome expression profiling of advance stage papillary serous ovarian cancer reveals activated pathways. *Oncogene* 2004, 23(49):8065-8077.
52. Heinzelmann-Schwarz VA, Gardiner-Garden M, Henshall SM, Scurry J, Scolyer RA, Davies MJ, Heinzelmann M, Kalish LH, Bali A, Kench JG *et al*: Overexpression of the cell adhesion molecules DDR1, Claudin 3, and Ep-CAM in metaplastic ovarian epithelium and ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2004, 10(13):4427-4436.
53. Klinck R, Bramard A, Inkel L, Dufresne-Martin G, Gervais-Bird J, Madden R, Paquet ER, Koh C, Venables JP, Prinos P *et al*: Multiple alternative splicing markers for ovarian cancer. *Cancer Research* 2008, 68(3):657-663.
54. Lancaster JM, Dressman HK, Whitaker RS, Havrilesky L, Gray J, Marks JR, Nevins JR, Berchuck A: Gene expression patterns that characterize advanced stage serous ovarian cancers. *J Soc Gynecol Investig* 2004, 11(1):51-59.
55. Le Page C, Ouellet V, Madore J, Ren F, Hudson TJ, Tonin PN, Provencher DM, Mes-Masson AM: Gene expression profiling of primary cultures of ovarian epithelial cells identifies novel molecular classifiers of ovarian cancer. *Br J Cancer* 2006, 94(3):436-445.

56. Li J, Olson LM, Zhang Z, Li L, Bidder M, Nguyen L, Pfeifer J, Rader JS: Differential display identifies overexpression of the USP36 gene, encoding a deubiquitinating enzyme, in ovarian cancer. *Int J Med Sci* 2008, 5(3):133-142.
57. Mougeot JL, Bahrani-Mostafavi Z, Vachris JC, McKinney KQ, Gurlov S, Zhang J, Naumann RW, Higgins RV, Hall JB: Gene expression profiling of ovarian tissues for determination of molecular pathways reflective of tumorigenesis. *J Mol Biol* 2006, 358(1):310-329.
58. Park DC, Yeo SG, Wilson MR, Yerbury JJ, Kwong J, Welch WR, Choi YK, Birrer MJ, Mok SC, Wong KK: Clusterin interacts with Paclitaxel and confer Paclitaxel resistance in ovarian cancer. *Neoplasia* 2008, 10(9):964-972.
59. Santin AD, Zhan F, Bellone S, Palmieri M, Cane S, Gokden M, Roman JJ, O'Brien TJ, Tian E, Cannon MJ *et al*: Discrimination between uterine serous papillary carcinomas and ovarian serous papillary tumours by gene expression profiling. *Br J Cancer* 2004, 90(9):1814-1824.
60. Sunde JS, Donninger H, Wu K, Johnson ME, Pestell RG, Rose GS, Mok SC, Brady J, Bonome T, Birrer MJ: Expression profiling identifies altered expression of genes that contribute to the inhibition of transforming growth factor-beta signaling in ovarian cancer. *Cancer Research* 2006, 66(17):8404-8412.
61. Zhang L, Huang J, Yang N, Greshock J, Liang S, Hasegawa K, Giannakakis A, Poulos N, O'Brien-Jenkins A, Katsaros D *et al*: Integrative genomic analysis of phosphatidylinositol 3'-kinase family identifies PIK3R3 as a potential therapeutic target in epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2007, 13(18 Pt 1):5314-5321.
62. Zhang L, Huang J, Yang N, Liang S, Barchetti A, Giannakakis A, Cadungog MG, O'Brien-Jenkins A, Massobrio M, Roby KF *et al*: Integrative genomic analysis of protein kinase C (PKC) family identifies PKCiota as a biomarker and potential oncogene in ovarian carcinoma. *Cancer Research* 2006, 66(9):4627-4635.
63. Zhang X, Feng J, Cheng Y, Yao Y, Ye X, Fu T, Cheng H: Characterization of differentially expressed genes in ovarian cancer by cDNA microarrays. *Int J Gynecol Cancer* 2005, 15(1):50-57.
64. Moreno-Bueno G, Sanchez-Estevez C, Cassia R, Rodriguez-Perales S, Diaz-Uriarte R, Dominguez O, Hardisson D, Andujar M, Prat J, Matias-Guiu X *et al*: Differential gene expression profile in endometrioid and nonendometrioid endometrial carcinoma: STK15 is frequently overexpressed and amplified in nonendometrioid carcinomas. *Cancer Research* 2003, 63(18):5697-5702.
65. Zheng M, Simon R, Kononen J, Sauter G, Mihatsch MJ, Moch H: [Analysis of gene expression profiles among 3 epithelial ovarian tumor subtypes using cDNA and tissue microarrays]. *Ai Zheng* 2004, 23(7):771-776.
66. Sugimura M, Sagae S, Ishioka S, Nishioka Y, Tsukada K, Kudo R: Mechanisms of paclitaxel-induced apoptosis in an ovarian cancer cell line and its paclitaxel-resistant clone. *Oncology* 2004, 66(1):53-61.
67. Lamendola DE, Duan Z, Yusuf RZ, Seiden MV: Molecular description of evolving paclitaxel resistance in the SKOV-3 human ovarian carcinoma cell line. *Cancer Research* 2003, 63(9):2200-2205.
68. Selvanayagam ZE, Cheung TH, Wei N, Vittal R, Lo KW, Yeo W, Kita T, Ravatn R, Chung TK, Wong YF *et al*: Prediction of chemotherapeutic response

in ovarian cancer with DNA microarray expression profiling. *Cancer Genet Cytogenet* 2004, 154(1):63-66.

69. Macleod K, Mullen P, Sewell J, Rabiasz G, Lawrie S, Miller E, Smyth JF, Langdon SP: Altered ErbB receptor signaling and gene expression in cisplatin-resistant ovarian cancer. *Cancer Research* 2005, 65(15):6789-6800.
70. Samimi G, Manorek G, Castel R, Breaux JK, Cheng TC, Berry CC, Los G, Howell SB: cDNA microarray-based identification of genes and pathways associated with oxaliplatin resistance. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005, 55(1):1-11.
71. Bild AH, Yao G, Chang JT, Wang Q, Potti A, Chasse D, Joshi MB, Harpole D, Lancaster JM, Berchuck A *et al*: Oncogenic pathway signatures in human cancers as a guide to targeted therapies. *Nature* 2006, 439(7074):353-357.
72. Cheng TC, Manorek G, Samimi G, Lin X, Berry CC, Howell SB: Identification of genes whose expression is associated with cisplatin resistance in human ovarian carcinoma cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006, 58(3):384-395.
73. Xu S, Mou H, Lu G, Zhu C, Yang Z, Gao Y, Lou H, Liu X, Cheng Y, Yang W: Gene expression profile differences in high and low metastatic human ovarian cancer cell lines by gene chip. *Chin Med J (Engl)* 2002, 115(1):36-41.
74. Adib TR, Henderson S, Perrett C, Hewitt D, Bourmpoulia D, Ledermann J, Boshoff C: Predicting biomarkers for ovarian cancer using gene-expression microarrays. *Br J Cancer* 2004, 90(3):686-692.
75. De Cecco L, Marchionni L, Gariboldi M, Reid JF, Lagonigro MS, Caramuta S, Ferrario C, Bussani E, Mezzanzanica D, Turatti F *et al*: Gene expression profiling of advanced ovarian cancer: characterization of a molecular signature involving fibroblast growth factor 2. *Oncogene* 2004, 23(49):8171-8183.
76. Ouellet V, Provencher DM, Maugard CM, Le Page C, Ren F, Lussier C, Novak J, Ge B, Hudson TJ, Tonin PN *et al*: Discrimination between serous low malignant potential and invasive epithelial ovarian tumors using molecular profiling. *Oncogene* 2005, 24(29):4672-4687.
77. Motamed-Khorasani A, Jurisica I, Letarte M, Shaw PA, Parkes RK, Zhang X, Evangelou A, Rosen B, Murphy KJ, Brown TJ: Differentially androgen-modulated genes in ovarian epithelial cells from BRCA mutation carriers and control patients predict ovarian cancer survival and disease progression. *Oncogene* 2007, 26(2):198-214.
78. Durdevic S, Stojanovic S, Marijana BN, Maksimovic M: [Rational application of tumor marker CA 125 in gynecological oncology]. *Med Pregl* 2010, 63(3-4):195-199.
79. Cooper BC, Sood AK, Davis CS, Ritchie JM, Sorosky JI, Anderson B, Buller RE: Preoperative CA 125 levels: an independent prognostic factor for epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 2002, 100(1):59-64.
80. Coussy F, Chereau E, Darai E, Dhombres F, Lotz JP, Rouzier R, Selle F: [Interest of CA 125 level in management of ovarian cancer]. *Gynecol Obstet Fertil* 2011, 39(5):296-301.
81. Tempfer C, Hefler L, Heinzl H, Loesch A, Gitsch G, Rumpold H, Kainz C: CYFRA 21-1 serum levels in women with adnexal masses and inflammatory diseases. *Br J Cancer* 1998, 78(8):1108-1112.

82. Gadducci A, Ferdeghini M, Cosio S, Fanucchi A, Cristofani R, Genazzani AR: The clinical relevance of serum CYFRA 21-1 assay in patients with ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2001, 11(4):277-282.
83. Moore RG, Jabre-Raughley M, Brown AK, Robison KM, Miller MC, Allard WJ, Kurman RJ, Bast RC, Skates SJ: Comparison of a novel multiple marker assay vs the Risk of Malignancy Index for the prediction of epithelial ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Am J Obstet Gynecol* 2010, 203(3):228 e221-226.
84. Huhtinen K, Suvitie P, Hiissa J, Junnila J, Huvila J, Kujari H, Setala M, Harkki P, Jalkanen J, Fraser J *et al*: Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts. *Br J Cancer* 2009, 100(8):1315-1319.
85. Moore RG, McMeekin DS, Brown AK, DiSilvestro P, Miller MC, Allard WJ, Gajewski W, Kurman R, Bast RC, Jr., Skates SJ: A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol* 2009, 112(1):40-46.
86. Ferrandina G, Stoler A, Fagotti A, Fanfani F, Sacco R, De Pasqua A, Mancuso S, Scambia G: p21WAF1/CIP1 protein expression in primary ovarian cancer. *Int J Oncol* 2000, 17(6):1231-1235.
87. Plisiecka-Halasa J, Karpinska G, Szymanska T, Ziolkowska I, Madry R, Timorek A, Debniak J, Ulanska M, Jedryka M, Chudecka-Glaz A *et al*: P21WAF1, P27KIP1, TP53 and C-MYC analysis in 204 ovarian carcinomas treated with platinum-based regimens. *Ann Oncol* 2003, 14(7):1078-1085.
88. Schmider-Ross A, Pirsig O, Gottschalk E, Denkert C, Lichtenegger W, Reles A: Cyclin-dependent kinase inhibitors CIP1 (p21) and KIP1 (p27) in ovarian cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006, 132(3):163-170.
89. Barbieri F, Lorenzi P, Ragni N, Schettini G, Bruzzo C, Pedulla F, Alama A: Overexpression of cyclin D1 is associated with poor survival in epithelial ovarian cancer. *Oncology* 2004, 66(4):310-315.
90. Levidou G, Korkolopoulou P, Thymara I, Vassilopoulos I, Saetta AA, Gakiopoulou H, Konstantinidou A, Kairi-Vassilatou E, Pavlakis K, Patsouris E: Expression and prognostic significance of cyclin D3 in ovarian adenocarcinomas. *Int J Gynecol Pathol* 2007, 26(4):410-417.
91. Sui L, Dong Y, Ohno M, Sugimoto K, Tai Y, Hando T, Tokuda M: Implication of malignancy and prognosis of p27(kip1), Cyclin E, and Cdk2 expression in epithelial ovarian tumors. *Gynecol Oncol* 2001, 83(1):56-63.
92. Buttitta F, Marchetti A, Gadducci A, Pellegrini S, Morganti M, Carnicelli V, Cosio S, Gagetti O, Genazzani AR, Bevilacqua G: p53 alterations are predictive of chemoresistance and aggressiveness in ovarian carcinomas: a molecular and immunohistochemical study. *Br J Cancer* 1997, 75(2):230-235.
93. Reles A, Wen WH, Schmider A, Gee C, Runnebaum IB, Kilian U, Jones LA, El-Naggar A, Minguillon C, Schonborn I *et al*: Correlation of p53 mutations with resistance to platinum-based chemotherapy and shortened survival in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2001, 7(10):2984-2997.
94. Bali A, O'Brien PM, Edwards LS, Sutherland RL, Hacker NF, Henshall SM: Cyclin D1, p53, and p21Waf1/Cip1 expression is predictive of poor clinical outcome in serous epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2004, 10(15):5168-5177.

95. Pal T, Permuth-Wey J, Betts JA, Krischer JP, Fiorica J, Arango H, LaPolla J, Hoffman M, Martino MA, Wakeley K *et al*: BRCA1 and BRCA2 mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases. *Cancer* 2005, 104(12):2807-2816.
96. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, Rosen B, Bradley L, Kwan E, Jack E, Vesprini DJ, Kuperstein G, Abrahamson JL *et al*: Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet* 2001, 68(3):700-710.
97. Daniels MS, Urbauer DL, Stanley JL, Johnson KG, Lu KH: Timing of BRCA1/BRCA2 genetic testing in women with ovarian cancer. *Genet Med* 2009, 11(9):624-628.
98. Thrall M, Gallion HH, Kryscio R, Kapali M, Armstrong DK, DeLoia JA: BRCA1 expression in a large series of sporadic ovarian carcinomas: a Gynecologic Oncology Group study. *Int J Gynecol Cancer* 2006, 16 Suppl 1:166-171.
99. Gadducci A, Cosio S, Fanucchi A, Negri S, Cristofani R, Genazzani AR: The predictive and prognostic value of serum CA 125 half-life during paclitaxel/platinum-based chemotherapy in patients with advanced ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2004, 93(1):131-136.
100. Gadducci A, Zola P, Landoni F, Maggino T, Sartori E, Bergamino T, Cristofani R: Serum half-life of CA 125 during early chemotherapy as an independent prognostic variable for patients with advanced epithelial ovarian cancer: results of a multicentric Italian study. *Gynecol Oncol* 1995, 58(1):42-47.
101. Riedinger JM, Wafflart J, Ricolleau G, Eche N, Larbre H, Basuyau JP, Dalifard I, Hacene K, Pichon MF: CA 125 half-life and CA 125 nadir during induction chemotherapy are independent predictors of epithelial ovarian cancer outcome: results of a French multicentric study. *Ann Oncol* 2006, 17(8):1234-1238.
102. Diamandis EP, Scorilas A, Fracchioli S, Van Gramberen M, De Bruijn H, Henrik A, Soosaipillai A, Grass L, Yousef GM, Stenman UH *et al*: Human kallikrein 6 (hK6): a new potential serum biomarker for diagnosis and prognosis of ovarian carcinoma. *J Clin Oncol* 2003, 21(6):1035-1043.
103. Luo LY, Katsaros D, Scorilas A, Fracchioli S, Piccinno R, Rigault de la Longrais IA, Howarth DJ, Diamandis EP: Prognostic value of human kallikrein 10 expression in epithelial ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001, 7(8):2372-2379.
104. Scambia G, Testa U, Benedetti Panici P, Foti E, Martucci R, Gadducci A, Perillo A, Facchini V, Peschle C, Mancuso S: Prognostic significance of interleukin 6 serum levels in patients with ovarian cancer. *Br J Cancer* 1995, 71(2):354-356.
105. Lambeck AJ, Crijns AP, Leffers N, Sluiter WJ, ten Hoor KA, Braid M, van der Zee AG, Daemen T, Nijman HW, Kast WM: Serum cytokine profiling as a diagnostic and prognostic tool in ovarian cancer: a potential role for interleukin 7. *Clin Cancer Res* 2007, 13(8):2385-2391.
106. Marth C, Fiegl H, Zeimet AG, Muller-Holzner E, Deibl M, Doppler W, Daxenbichler G: Interferon-gamma expression is an independent prognostic factor in ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 2004, 191(5):1598-1605.
107. Konno R, Takano T, Sato S, Yajima A: Serum soluble fas level as a prognostic factor in patients with gynecological malignancies. *Clin Cancer Res* 2000, 6(9):3576-3580.

108. Hefler L, Mayerhofer K, Nardi A, Reinthaller A, Kainz C, Tempfer C: Serum soluble Fas levels in ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 2000, 96(1):65-69.
109. Hefler LA, Zeillinger R, Grimm C, Sood AK, Cheng WF, Gadducci A, Tempfer CB, Reinthaller A: Preoperative serum vascular endothelial growth factor as a prognostic parameter in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2006, 103(2):512-517.
110. Farley J, Smith LM, Darcy KM, Sobel E, O'Connor D, Henderson B, Morrison LE, Birrer MJ: Cyclin E expression is a significant predictor of survival in advanced, suboptimally debulked ovarian epithelial cancers: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer Res* 2003, 63(6):1235-1241.
111. Rosen DG, Yang G, Deavers MT, Malpica A, Kavanagh JJ, Mills GB, Liu J: Cyclin E expression is correlated with tumor progression and predicts a poor prognosis in patients with ovarian carcinoma. *Cancer* 2006, 106(9):1925-1932.
112. Bedrosian I, Lee C, Tucker SL, Palla SL, Lu K, Keyomarsi K: Cyclin E-associated kinase activity predicts response to platinum-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2007, 13(16):4800-4806.
113. Kudoh K, Ichikawa Y, Yoshida S, Hirai M, Kikuchi Y, Nagata I, Miwa M, Uchida K: Inactivation of p16/CDKN2 and p15/MTS2 is associated with prognosis and response to chemotherapy in ovarian cancer. *Int J Cancer* 2002, 99(4):579-582.
114. Katsaros D, Cho W, Singal R, Fracchioli S, Rigault De La Longrais IA, Arisio R, Massobrio M, Smith M, Zheng W, Glass J *et al*: Methylation of tumor suppressor gene p16 and prognosis of epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2004, 94(3):685-692.
115. Kommoss S, du Bois A, Ridder R, Trunk MJ, Schmidt D, Pfisterer J, Kommoss F: Independent prognostic significance of cell cycle regulator proteins p16(INK4a) and pRb in advanced-stage ovarian carcinoma including optimally debulked patients: a translational research subprotocol of a randomised study of the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group. *Br J Cancer* 2007, 96(2):306-313.
116. Masciullo V, Ferrandina G, Pucci B, Fanfani F, Lovergine S, Palazzo J, Zannoni G, Mancuso S, Scambia G, Giordano A: p27Kip1 expression is associated with clinical outcome in advanced epithelial ovarian cancer: multivariate analysis. *Clin Cancer Res* 2000, 6(12):4816-4822.
117. Korkolopoulou P, Vassilopoulos I, Konstantinidou AE, Zorzos H, Patsouris E, Agapitos E, Davaris P: The combined evaluation of p27Kip1 and Ki-67 expression provides independent information on overall survival of ovarian carcinoma patients. *Gynecol Oncol* 2002, 85(3):404-414.
118. Newcomb EW, Sosnow M, Demopoulos RI, Zeleniuch-Jacquotte A, Sorich J, Speyer JL: Expression of the cell cycle inhibitor p27KIP1 is a new prognostic marker associated with survival in epithelial ovarian tumors. *Am J Pathol* 1999, 154(1):119-125.
119. Dong Y, Walsh MD, McGuckin MA, Cummings MC, Gabrielli BG, Wright GR, Hurst T, Khoo SK, Parsons PG: Reduced expression of retinoblastoma gene product (pRB) and high expression of p53 are associated with poor prognosis in ovarian cancer. *Int J Cancer* 1997, 74(4):407-415.
120. Konstantinidou AE, Korkolopoulou P, Vassilopoulos I, Tsenga A, Thymara I, Agapitos E, Patsouris E, Davaris P: Reduced retinoblastoma gene protein to Ki-

67 ratio is an adverse prognostic indicator for ovarian adenocarcinoma patients. *Gynecol Oncol* 2003, 88(3):369-378.

121. Suh DS, Yoon MS, Choi KU, Kim JY: Significance of E2F-1 overexpression in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2008, 18(3):492-498.
122. Reimer D, Sadr S, Wiedemair A, Stadlmann S, Concin N, Hofstetter G, Muller-Holzner E, Marth C, Zeimet AG: Clinical relevance of E2F family members in ovarian cancer--an evaluation in a training set of 77 patients. *Clin Cancer Res* 2007, 13(1):144-151.
123. Becker K, Pancoska P, Concin N, Vanden Heuvel K, Slade N, Fischer M, Chalas E, Moll UM: Patterns of p73 N-terminal isoform expression and p53 status have prognostic value in gynecological cancers. *Int J Oncol* 2006, 29(4):889-902.
124. Skirnisdottir I, Sorbe B, Seidal T: P53, bcl-2, and bax: their relationship and effect on prognosis in early stage epithelial ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2001, 11(2):147-158.
125. Tai YT, Lee S, Niloff E, Weisman C, Strobel T, Cannistra SA: BAX protein expression and clinical outcome in epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1998, 16(8):2583-2590.
126. Materna V, Surowiak P, Markwitz E, Spaczynski M, Drag-Zalesinska M, Zabel M, Lage H: Expression of factors involved in regulation of DNA mismatch repair- and apoptosis pathways in ovarian cancer patients. *Oncol Rep* 2007, 17(3):505-516.
127. Psyrri A, Yu Z, Bamias A, Weinberger PM, Markakis S, Kowalski D, Camp RL, Rimm DL, Dimopoulos MA: Evaluation of the prognostic value of cellular inhibitor of apoptosis protein in epithelial ovarian cancer using automated quantitative protein analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006, 15(6):1179-1183.
128. Sui L, Dong Y, Ohno M, Watanabe Y, Sugimoto K, Tokuda M: Survivin expression and its correlation with cell proliferation and prognosis in epithelial ovarian tumors. *Int J Oncol* 2002, 21(2):315-320.
129. Brustmann H: Immunohistochemical detection of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) and c-kit in serous ovarian carcinoma: a clinicopathologic study. *Gynecol Oncol* 2005, 98(3):396-402.
130. Skirnisdottir I, Seidal T, Sorbe B: A new prognostic model comprising p53, EGFR, and tumor grade in early stage epithelial ovarian carcinoma and avoiding the problem of inaccurate surgical staging. *Int J Gynecol Cancer* 2004, 14(2):259-270.
131. Psyrri A, Kassar M, Yu Z, Bamias A, Weinberger PM, Markakis S, Kowalski D, Camp RL, Rimm DL, Dimopoulos MA: Effect of epidermal growth factor receptor expression level on survival in patients with epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2005, 11(24 Pt 1):8637-8643.
132. Lassus H, Leminen A, Vayrynen A, Cheng G, Gustafsson JA, Isola J, Butzow R: ERBB2 amplification is superior to protein expression status in predicting patient outcome in serous ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2004, 92(1):31-39.
133. Sawada K, Radjabi AR, Shinomiya N, Kistner E, Kenny H, Becker AR, Turkyilmaz MA, Salgia R, Yamada SD, Vande Woude GF *et al*: c-Met overexpression is a prognostic factor in ovarian cancer and an effective target for

inhibition of peritoneal dissemination and invasion. *Cancer Res* 2007, 67(4):1670-1679.

134. Torng PL, Mao TL, Chan WY, Huang SC, Lin CT: Prognostic significance of stromal metalloproteinase-2 in ovarian adenocarcinoma and its relation to carcinoma progression. *Gynecol Oncol* 2004, 92(2):559-567.
135. Sillanpaa S, Anttila M, Voutilainen K, Ropponen K, Turpeenniemi-Hujanen T, Puistola U, Tammi R, Tammi M, Sironen R, Saarikoski S *et al*: Prognostic significance of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2007, 104(2):296-303.
136. Kamat AA, Fletcher M, Gruman LM, Mueller P, Lopez A, Landen CN, Jr., Han L, Gershenson DM, Sood AK: The clinical relevance of stromal matrix metalloproteinase expression in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2006, 12(6):1707-1714.
137. Secord AA, Lee PS, Darcy KM, Havrilesky LJ, Grace LA, Marks JR, Berchuck A: Maspin expression in epithelial ovarian cancer and associations with poor prognosis: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 2006, 101(3):390-397.
138. Darcy KM, Tian C, Reed E: A Gynecologic Oncology Group study of platinum-DNA adducts and excision repair cross-complementation group 1 expression in optimal, stage III epithelial ovarian cancer treated with platinum-taxane chemotherapy. *Cancer Res* 2007, 67(9):4474-4481.
139. Tusher VG, Tibshirani R, Chu G: Significance analysis of microarrays applied to the ionizing radiation response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001, 98(9):5116-5121.
140. Ono K, Tanaka T, Tsunoda T, Kitahara O, Kihara C, Okamoto A, Ochiai K, Takagi T, Nakamura Y: Identification by cDNA microarray of genes involved in ovarian carcinogenesis. *Cancer Res* 2000, 60(18):5007-5011.
141. Bayani J, Brenton JD, Macgregor PF, Beheshti B, Albert M, Nallainathan D, Karaskova J, Rosen B, Murphy J, Laframboise S *et al*: Parallel analysis of sporadic primary ovarian carcinomas by spectral karyotyping, comparative genomic hybridization, and expression microarrays. *Cancer Res* 2002, 62(12):3466-3476.
142. Warrenfeltz S, Pavlik S, Datta S, Kraemer ET, Benigno B, McDonald JF: Gene expression profiling of epithelial ovarian tumours correlated with malignant potential. *Mol Cancer* 2004, 3:27.
143. Zhang L, Huang J, Yang N, Liang S, Barchetti A, Giannakakis A, Cadungog MG, O'Brien-Jenkins A, Massobrio M, Roby KF *et al*: Integrative genomic analysis of protein kinase C (PKC) family identifies PKCiota as a biomarker and potential oncogene in ovarian carcinoma. *Cancer Res* 2006, 66(9):4627-4635.
144. Sunde JS, Donninger H, Wu K, Johnson ME, Pestell RG, Rose GS, Mok SC, Brady J, Bonome T, Birrer MJ: Expression profiling identifies altered expression of genes that contribute to the inhibition of transforming growth factor-beta signaling in ovarian cancer. *Cancer Res* 2006, 66(17):8404-8412.
145. Grisaru D, Hauspy J, Prasad M, Albert M, Murphy KJ, Covens A, Macgregor PF, Rosen B: Microarray expression identification of differentially expressed genes in serous epithelial ovarian cancer compared with bulk normal ovarian tissue and ovarian surface scrapings. *Oncol Rep* 2007, 18(6):1347-1356.

146. Klinck R, Bramard A, Inkel L, Dufresne-Martin G, Gervais-Bird J, Madden R, Paquet ER, Koh C, Venables JP, Prinos P *et al*: Multiple alternative splicing markers for ovarian cancer. *Cancer Res* 2008, 68(3):657-663.
147. Fedorowicz G, Guerrero S, Wu TD, Modrusan Z: Microarray analysis of RNA extracted from formalin-fixed, paraffin-embedded and matched fresh-frozen ovarian adenocarcinomas. *BMC Med Genomics* 2009, 2:23.
148. Quinn MC, Wilson DJ, Young F, Dempsey AA, Arcand SL, Birch AH, Wojnarowicz PM, Provencher D, Mes-Masson AM, Englert D *et al*: The chemiluminescence based Ziplex automated workstation focus array reproduces ovarian cancer Affymetrix GeneChip expression profiles. *J Transl Med* 2009, 7:55.
149. Moreno-Bueno G, Sanchez-Estevez C, Cassia R, Rodriguez-Perales S, Diaz-Uriarte R, Dominguez O, Hardisson D, Andujar M, Prat J, Matias-Guiu X *et al*: Differential gene expression profile in endometrioid and nonendometrioid endometrial carcinoma: STK15 is frequently overexpressed and amplified in nonendometrioid carcinomas. *Cancer Res* 2003, 63(18):5697-5702.
150. Lamendola DE, Duan Z, Yusuf RZ, Seiden MV: Molecular description of evolving paclitaxel resistance in the SKOV-3 human ovarian carcinoma cell line. *Cancer Res* 2003, 63(9):2200-2205.
151. Macleod K, Mullen P, Sewell J, Rabiasz G, Lawrie S, Miller E, Smyth JF, Langdon SP: Altered ErbB receptor signaling and gene expression in cisplatin-resistant ovarian cancer. *Cancer Res* 2005, 65(15):6789-6800.
152. Gyorffy B, Dietel M, Fekete T, Lage H: A snapshot of microarray-generated gene expression signatures associated with ovarian carcinoma. *International Journal of Gynecological Cancer* 2008, 18(6):1215-1233.
153. Abel KJ, Boehnke M, Prahalad M, Ho P, Flejter WL, Watkins M, VanderStoep J, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Glover TW *et al*: A radiation hybrid map of the BRCA1 region of chromosome 17q12-q21. *Genomics* 1993, 17(3):632-641.
154. Zajchowski DA, Karlan BY, Shawver LK: Treatment-related protein biomarker expression differs between primary and recurrent ovarian carcinomas. *Mol Cancer Ther* 2011.
155. L'Esperance S, Popa I, Bachvarova M, Plante M, Patten N, Wu L, Tetu B, Bachvarov D: Gene expression profiling of paired ovarian tumors obtained prior to and following adjuvant chemotherapy: molecular signatures of chemoresistant tumors. *Int J Oncol* 2006, 29(1):5-24.
156. Chekerov R, Klaman I, Zafrakas M, Konsgen D, Mustea A, Petschke B, Lichtenegger W, Sehouli J, Dahl E: Altered expression pattern of topoisomerase IIalpha in ovarian tumor epithelial and stromal cells after platinum-based chemotherapy. *Neoplasia* 2006, 8(1):38-45.
157. Helleman J, Jansen MP, Span PN, van Staveren IL, Massuger LF, Meijer-van Gelder ME, Sweep FC, Ewing PC, van der Burg ME, Stoter G *et al*: Molecular profiling of platinum resistant ovarian cancer. *Int J Cancer* 2006, 118(8):1963-1971.
158. Lurie G, Wilkens LR, Thompson PJ, McDuffie KE, Carney ME, Terada KY, Goodman MT: Genetic polymorphisms in the estrogen receptor beta (ESR2) gene and the risk of epithelial ovarian carcinoma. *Cancer Causes Control* 2009, 20(1):47-55.

159. Leigh Pearce C, Near AM, Butler JL, Van Den Berg D, Bretsky P, Conti DV, Stram DO, Pike MC, Hirschhorn JN, Wu AH: Comprehensive evaluation of ESR2 variation and ovarian cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008, 17(2):393-396.
160. Abu-Jawdeh GM, Jacobs TW, Niloff J, Cannistra SA: Estrogen receptor expression is a common feature of ovarian borderline tumors. *Gynecol Oncol* 1996, 60(2):301-307.
161. Sinn BV, Darb-Esfahani S, Wirtz RM, Budczies J, Sehouli J, Chekerov R, Dietel M, Denkert C: Evaluation of a hormone receptor-positive ovarian carcinoma subtype with a favourable prognosis by determination of progesterone receptor and oestrogen receptor 1 mRNA expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Histopathology* 2011, 59(5):918-927.
162. Lee JY, Shin JY, Kim HS, Heo JI, Kho YJ, Kang HJ, Park SH: Effect of combined treatment with progesterone and tamoxifen on the. *Oncol Rep* 2012, 27(1):87-93.
163. Shin RW, Iwaki T, Kitamoto T, Tateishi J: Hydrated autoclave pretreatment enhances tau immunoreactivity in formalin-fixed normal and Alzheimer's disease brain tissues. *Lab Invest* 1991, 64(5):693-702.
164. George JM: The synucleins. *Genome Biol* 2002, 3(1):REVIEWS3002.
165. Jiang Y, Liu YE, Lu A, Gupta A, Goldberg ID, Liu J, Shi YE: Stimulation of estrogen receptor signaling by gamma synuclein. *Cancer Res* 2003, 63(14):3899-3903.
166. Gupta A, Godwin AK, Vanderveer L, Lu A, Liu J: Hypomethylation of the synuclein gamma gene CpG island promotes its aberrant expression in breast carcinoma and ovarian carcinoma. *Cancer Res* 2003, 63(3):664-673.

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Összesített impakt faktor: **19,587**.

Ezekből az értekezés témájához közvetlenül kapcsolódó közlemények impakt faktora: **6,858**.

Disszertációhoz kapcsolódó közlemények

1. **Fekete T**, Rásó E, Pete I, Tegze B, Liko I, Munkácsy G, Sipos N, Rigó J jr, Győrffy B. Meta-analysis of gene expression profiles associated with histological classification and survival in 829 ovarian cancer samples. Int J Cancer. 2011 Aug 19. doi: 10.1002/ijc.26364. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21858809. **IF: 4,926**

2. Győrffy B, Dietel M, **Fekete T**, Lage H. A snapshot of microarray-generated gene expression signatures associated with ovarian carcinoma. Int J Gynecol Cancer 2008;18:1215-1233. **IF: 1,932**

Független közlemények

1. Szél Á, Lukáts Á, **Fekete T**, Petry HM, Somogyi J, Cooper HM, Röhlich P. Visual pigment coexpression in cone cells. Med. Sci. Mon 1998. 4, 45-46. IF: 0

2. Szél Á, Lukáts Á, **Fekete T**, Szepessy Zs, Röhlich P. Photoreceptor distribution in the retinas of subprimate mammals. J Opt Soc Am A. 2000. 17, 568-579 **IF: 1,481**

3. Szepessy Zs, Lukáts Á, **Fekete T**, Barsi Á, Röhlich P, Szél Á. Cone differentiation with no photopigment coexpression. Invest Ophthalmol Vis Sci 2000. 41, 3171-3175 **IF: 4,373**

4. Szabó I, Csabay L, Belics Z, **Fekete T**, Papp Z. A méh vérkeringésének transvaginalis színes Doppler-ultrahangvizsgálata méhen kívüli terhességben. Magy. Nőorv. L. 2002. 65, 259-265. IF: 0

5. **Fekete T**, Tóth Z, Szabó I, Csabay L, Papp Z. Quality control in prenatal ultrasonography in Hungary. XVIIIth International Congress of the Society of The Fetus as a Patient. Budapest, 2002. április 25-28. Fetal Diagn. Ther. 17 Suppl. 1 2002. 97-98. **IF: 1.142**

6. Belics Z, Csabay L, Beke A, Szabó I, **Fekete T**, Papp Z. Az ossa ilii által bezárt szög mérésével szerzett tapasztalataink a 18-as trisomia ultrahang-szűrésében. Magy. Nőorv. L. 2003. 66, 163-166. IF: 0
7. **Fekete T.** Ultrasound imaging of early extraembryonic structures. Ultrasound Rev. Obstet. Gynecol. 2003. 3, 240-243. IF: 0
8. Papp Z, **Fekete T.** The evolving role of ultrasound in obstetrics/gynecology practice. Int. J. Gynecol. Obstet. 2003. 82, 339-346. **IF: 0,800**
9. Szabó I, Csabay L, Belics Z, **Fekete T**, Papp Z. Assessment of uterine circulation in ectopic pregnancy by transvaginal color Doppler. Eur. J. Obstet. Gynec. Reprod. Biol. 2003. 106, 203-208. **IF: 1,002**
10. Gávai M, Papp Z, Inovay J, **Fekete T.**: Myomectomy as an alternative to hysterectomy in cases with uterine fibroids. J. Perinat. Med. 31 Suppl. 1 2003. 149 - 150. **IF: 0,866**
11. Beke A, Joó JG, Csaba Á, Papp Cs, Tóth-Pál E, Bán Z, Belics Z, **Fekete T**, Barakonyi E, Papp Z. Ultrasound minor and major anomalies detected in fetuses with aneuploidies in second trimester. In: Perinatal Medicine. Ed. Antsaklis, Medimond International, Bologna, 2004. pp. 109-113. IF: 0
12. Belics Z, Csabay L, Szabó I, Beke A, **Fekete T**, Halmos A, Papp Z. Prenatal sonographic measurement of the fetal iliac angle during the second trimester of the pregnancy. Medimond Monduzzi Editore, Bologna, 2004. pp. 115-118. IF: 0
13. Belics Z, Csabay L, Szabó I, Beke A, **Fekete T**, Halmos A, Jenei K, Papp Z. Association between the sonographic measurement of the fetal iliac angle and most common fetal aneuploides. In: Perinatal Medicine. Ed. A. Kurjak and F.A. Chervenak, Medimond Publisher, Bologna, 2005. pp. 241-245. IF: 0
14. **Fekete T.** A Müller-cső rendellenességeinek ultrahangvizsgálata. Nőgyógyászati és Szülészeti Továbbképző Szemle. 2005. 7, 351-353. IF: 0
15. **Fekete T**, Belics Z, Halmos A, Jenei K, Hargitai B, Csabay L, Szabó I, Papp Z. Exomphalos complicated with umbilical cord teratoma. In: Perinatal Medicine. Ed. A. Kurjak and F.A. Chervenak, Medimond Publisher, Bologna, 2005. pp. 401-403. IF: 0

16. Halmos A, **Fekete T**, Csabay L, Belics Z, Szabó I, Csapó Zs. Chorionangiomával szövődött terhességek klinikánk 15 éves anyagában. Magy. Nőorv. L. 2006. 69, 115-119. IF: 0
17. Gavai M, Berkes E, Lazar L, **Fekete T**, Takacs ZF, Urbancsek J, Papp Z. Factors affecting reproductive outcome following abdominal myomectomy. (Journal Article) Journal of assisted reproduction and genetics, 2007. 24(11): p525-31. **IF:0.913**
18. Somos P, Rab A, **Fekete T**, Belics Z, Szabó I. A hysterosalpingographia és a 2D/3D ultrahangvizsgálat értéke a méh kettőződési rendellenességeinek diagnosztikájában (Journal Article) Magyar Nőorvosok Lapja, 2007. 70: p295-303. IF: 0
19. Gavai M, Berkes E, **Fekete T**, Lazar L, Takacs ZF, Papp Z. Analysis of perioperative morbidity according to whether the uterine cavity is opened or remains closed during abdominal myomectomy--results of 423 abdominal myomectomy cases. Clin Exp Obstet Gynecol. 2008;35(2):107-12. IF: 0
20. Belics Z, **Fekete T**, Beke A, Szabó I. Prenatal ultrasonographic measurement of the fetal iliac angle during the first and second trimester of pregnancy Prenat Diagn 2011; 31: 351-355. **IF: 2,152**

Könyvfejezetek

1. Papp Z, **Fekete T.** A szülészet-nőgyógyászati ultrahangvizsgálatok etikai és jogi vonatkozásai. In: Szülészet-nőgyógyászati ultrahang-diagnosztika. Szerk. Tóth Z, Papp Z. White Golden Book Kiadó, Budapest, 2001. pp. 441-448.
2. **Fekete T.** A méhlepény és a köldökzsinór rendellenességei. A várandós nő gondozása. Szerk. Rigó J. Jr., Papp Z. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest 2005. pp. 197-200.
3. **Fekete T**, Papp Z. Ultrasound imaging of early extraembryonic structures. In: Kurjak A, Arenas JB. ed. Donald School Textbook of Transvaginal Sonography. 2005. pp. 55-62.
4. Belics Z, **Fekete T**, Szabó I, Papp Z. Urethral obstruction sequence. In: Donald School Atlas of Fetal Anomalies. Ed. A. Kurjak, FA. Chervenak, J.M. Carrera. Jaypee Brothers, New-Delhi, 2006. pp. 293-295.
5. **Fekete T**, Belics Z, Papp Z. Extraembryonic structures in early pregnancy. In: Donald School Atlas of Fetal Anomalies. Ed. A. Kurjak, FA. Chervenak, J.M. Carrera. Jaypee Brothers, New-Delhi, 2006. pp. 296-304.
6. Papp Z, **Fekete T.** Szülészet-nőgyógyászati ultrahangvizsgálatok etikai és jogi vonatkozása. In: Szülészet-nőgyógyászati ultrahang-diagnosztika. Szerk. Tóth Z., Papp Z. White Golden Book Kiadó, Budapest. 2006. pp. 545-554.
7. **Fekete T**, Belics Z, Papp Z. Hígado fetal y árbol biliar. In: José M Carrera, Asim Kurjak (szerk.) Ecografia en diagnóstico prenatal. Amsterdam: Elsevier, 2008. pp. 319-323.
8. Belics Z, **Fekete T**, Papp Z. Anomalias gastrointestinales. In: José M Carrera, Asim Kurjak (szerk.) Ecografia en diagnóstico prenatal. Amsterdam: Elsevier, 2008. pp. 299-318.

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, Dr. Győrffy Balázsnak, akivel többször is, akár hétvégenként át lelkesen elemeztük a kapott eredményeket.

Köszönöm Dr. Szél Ágoston professzor úrnak, hogy egyetemi tanulmányaim mellett tudományos diákköröseként megismertette velem a kutatás szeretetét.

Köszönettel tartozom volt munkahelyi vezetőmnek Dr. Papp Zoltán professzor úrnak, hogy ösztönzött a tudományos munka végzésére.

Köszönettel tartozom Dr. Rigó János professzor úrnak, hogy lehetővé tette a tanulmány elvégzését.

Hálásan köszönöm Dr. Pete Imrének és az Onkológiai Intézet munkatársainak a minta és adatgyűjtésben nyújtott segítségüket.

Nagyon köszönöm Dr. Sipos Norbertnek, Dr. Szánthó Andrásnak és az Onkológiai Osztály dolgozóinak a minta és adatgyűjtésben nyújtott segítségüket.

Köszönöm Likó Istvánnak és a Richter Gedeon Gyógyszergyár tudományos részlegének a segítséget és az infrastruktúrájukhoz való hozzáférést.

Hálásan köszönöm családomnak a támogatását és türelmét.

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

FÜGGELÉK

1. táblázat. A klinikai adatok összefoglalása.

minta	kor	származ	szövettan	stádium	grade	recidíva=1	RFS_hónap	halál=1	túlélés_hónap	kemoterápia	kezelésre adott válasz
OVAR1	61	NOI1	serosus	IV	1	1	0	0	12	TXL/CRB	PR
OVAR2	71	NOI1	serosus	0	0	0	11	0	11	0	PCR
OVAR3	77	NOI1	serosus	0	0	0	17	0	17	0	PCR
OVAR5	64	NOI1	endometroid	I/A	1	0	11	0	11	0	PCR
OVAR6	76	NOI1	serosus	III/C	3	1	0	1	4	TXL/CRB	PD
OVAR7	53	OOI	serosus	IV/B	3	0	32	0	32	TXL/CRB	PCR
OVAR8	73	OOI	serosus	III/C	2	1	33	0	41	TXL/CRB	PCR
OVAR9	62	OOI	serosus	III/C	2	0	35	0	35	TXL/CRB	PCR
OVAR10	41	OOI	serosus	III/C	3	0	33	0	33	TXL/CRB	PCR
OVAR11	73	OOI	serosus	III/C	3	0	8	1	8	TXL/CRB	PCR
OVAR12	48	OOI	serosus	III/C	3	1	35	0	41	TXL/CRB	PCR
OVAR13	70	OOI	serosus	II/C	3	0	23	0	23	Zitazonium	PCR
OVAR14	49	OOI	serosus	III/C	3	1	17	1	39	TXL/CRB	PCR
OVAR15	59	OOI	endometroid	III/C	1	1	17	1	21	TXL/CRB	PCR
OVAR16	58	OOI	endometrium ca. ov. metastasis	III/C	3	1	0	1	5	TXL/CRB	PD
OVAR17	58	OOI	serosus	III/C	3	0	23	1	34	TXL/CRB	PCR
OVAR18	30	OOI	serosus borderline	I/C	0	0	57	0	57	TXL/CRB	PCR
OVAR19	77	OOI	serosus	I/B	3	0	26	1	26	CEP	PCR
OVAR20	67	OOI	endometrium ca. ov. metastasis	III/C		0	57	0	57	CEP	PCR
OVAR21	67	OOI	serosus	III/C	3	1	8	1	9	TXL/CRB	PCR
OVAR22	52	OOI	serosus	III/C	3	0	48	0	48	TXL/CRB	PCR

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

OVAR23	60	OOI	endometroid	III/C	3	0	47	0	47	TXL/CRB	PCR
OVAR24	61	OOI	serosus	III/C	2	0	41	0	41	TXL/CRB	PCR
OVAR25	53	OOI	serosus	III/C	2	0	35	0	35	TXL/CRB	PCR
OVAR26	67	OOI	serosus	III/C	3	1	29	0	37	TXL/CRB	PCR
OVAR27	50	OOI	serosus	III/C	3	1	8	0	46	TXL/CRB	PCR
OVAR28	76	OOI	serosus	III/C	3	0	42	0	42	TXL/CRB	PCR
OVAR29	69	OOI	serosus		3	0	46	0	46	TXL/CRB	PCR
OVAR30	63	OOI	serosus	III/C	2	0	45	0	45	TXL/CRB	PCR
OVAR31	40	OOI	serosus	III/C	3	0	60	0	60	TXL/CRB	PCR
OVAR32	47	OOI	serosus borderline	0	0	0	48	0	48	0	PCR
OVAR33	61	OOI	serosus	IV/A	2	1	0	1	5	TXL/CRB	PD
OVAR34	65	OOI	serosus	III/C	2	1	12	1	15	TXL/CRB	PCR
OVAR35	55	OOI	serosus	III/C	3	1	0	1	22	TXL/CRB	PD
OVAR36	61	OOI	serosus	III/C	1	0	29	0	29	TXL/CRB	PCR
OVAR37	44	OOI	serosus		3	0	32	1	32	TXL/CRB	PCR
OVAR38	24	OOI	serosus borderline		0	0	58	0	58	0	PCR
OVAR39	85	NOI1	serosus	III/C	3	1	0	0	11	TXL/CRB	PR
OVAR40	75	NOI1	cystadenoma serosum		0	0	29	0	29	0	PCR
OVAR41	64	NOI1	serosus	III/C	3	1	5	0	17	TXL/CRB	PR
OVAR42	71	NOI1	serosus	IV	3	1	0	1	8	TXL/CRB	PR
OVAR43	69	NOI1	serosus	IV	3	1	4	0	22	TXL/CRB	PR
OVAR44	58	NOI1	serosus	III/C	3	0	24	0	24	TXL/CRB	PCR
OVAR45	39	NOI1	serosus borderline	0	1	0	28	0	28	TXL/CRB	PCR
OVAR46	69	NOI1	serosus	III/C	3	1	0	1	19	TXL/CRB	PR
OVAR47	59	OOI	endometrium ca. ov. metastasis	III/A	1	0	43	0	43	CEP	PCR
OVAR48	70	NOI1	serosus	III	3	0	15	0	15	TXL/CRB	PCR
OVAR49	61	NOI1	serosus borderline	I/C	0	0	15	0	15	TXL/CRB	PCR
OVAR50	65	NOI1	serosus	IV	2	1	0	1	8	TXL/CRB	PD
OVAR51	55	NOI1	serosus	III/C	2	1	21	0	35	TXL/CRB	PCR
OVAR52	51	NOI1	serosus	III/C	1	1	0	0	18	TXL/CRB	PD

DOI: 10.14753/SE.2013.1793

OVAR53	76	OOI	mucinosus	I/C	3	1	24	0	25	CEP	PR
OVAR54	38	OOI	serosus	III/C	3	1	0	1	11	PEV	PD
OVAR55	62	OOI	serosus	III/C	3	0	25	0	25	TXL/CRB	PCR
OVAR56	58	OOI	serosus borderline	III/C	2	1	34	0	36	TXL/CRB	PCR
OVAR57	57	OOI	serosus	III/C	3	0	39	0	39	TXL/CRB	PCR
OVAR58	73	OOI	serosus	III/C	3	1	22	1	35	TXL/CRB	PR
OVAR59	65	OOI	endometroid	III/C	3	1	6	1	8	TXL/CRB	PCR
OVAR60	54	OOI	nem differenciált	III/C	3	1	24	1	32	TXL/CRB	PCR
OVAR61	58	OOI	serosus	III/C	2	1	6	1	20	TXL/CRB	PCR
OVAR62	56	OOI	serosus	III/C	2	1	24	1	31	TXL/CRB	PCR
OVAR63	60	OOI	más			1	0	1	29		PD
OVAR64	63	OOI	serosus	III/C	3	1	5	1	19	TXL/CRB	PCR
OVAR65	48	OOI	serosus	III/C	2	0	45	0	45	TXL/CRB	PCR

(rövidítések: NOI1= Semmelweis Egyetem I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, OOI=Onkológiai Intézet, RFS= recidíva-mentes túlélés, TXL= taxol, CRB= carboplatin, PCR=teljes gyógyulás, PR=részleges gyógyulás, PD=nincs gyógyulás)