

تعبير وتضخيم الـ Her2/neu في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض وتترافقه مع واسم التكاثر النووي Ki67

Her2/neu expression and amplification in ovarian surface epithelial carcinomas, association with Ki67

بحث علمي أعد لنيل شهادة الدكتوراة في التشريح المرضي - الباثولوجيا العامة
في قسم التشريح المرضي بكلية الطب جامعة دمشق

إعداد الدكتور : حبيب جربوع

ومشاركة أ. د. أيمن صمون

بإشراف أ. د. وليد الصالح

ورئاسة أ. د. أيمن صمون

٢٠١٦ - ٢٠١٧

كلمة شكر وتقدير (Acknowledgment) :

بعد مسيرة حوالي ثلاث سنوات في تحضير بحث الدكتوراة وقبلها حوالي ٤ سنوات في الدراسات العليا وحوالي سنتين في المعيدية في قسم التشريح المرضي لا أملك إلا أن أتقدم بكلمة شكر متواضعة لكل أساتذتي ولكل العاملين والزملاء في قسم التشريح المرضي .

كما أخص بالشكر :

الأستاذ الدكتور وليد الصالح الذي تفضل مشكوراً بالإشراف على بحثي وأعطاني من وقته وعلمه الكثير ولم يتوقف عن الدعم والتشجيع الدائم وكان بمثابة القدوة لي في الحرص والاهتمام .

كما أتقدم بالشكر للأستاذ الدكتور **أيمن صمون رئيس قسم التشريح المرضي** الذي تفضل مشكوراً بالمشاركة في الإشراف على بحثي منذ بداية البحث وحتى نهايته وكان بمثابة المرجع لي خصوصاً فيما يتعلق بالمراحل الجزيئية والتقنية من البحث وذلك لخبرته العالية والمشهود لها في هذا المجال .

كما أشكر أستاذنا الكبير الأستاذ الدكتور **محمد إياد الشطي** تلك الشخصية النادرة والقيمة العلمية والأخلاقية الكبيرة والتي من الصعب أن تتكرر والذي أفاض علي وعلى كل أعضاء القسم بعلمه الوفير ونصائحه وتوجيهاته الحكيمة والذي تفضل مشكوراً بتحكيم هذه الرسالة أطل الله لنا في عمره .

وأشكر أيضاً كل من الأستاذ الدكتور **موسى ملحم الموسى** والأستاذ الدكتور **كنعان السقا** والأستاذ الدكتور **زهير الشهابي** والأستاذ الدكتور **ياسر السيد علي** والأستاذة الدكتورة **رائدة الخاني** والأستاذ الدكتور **جميل طالب** الذين تفضلوا أيضاً مشكورين بتحكيم الرسالة وتكرموا علينا بوقتهم .

وخالص الشكر **للسيد طلال قاسم** ذلك الإنسان المخلص والصادق في عمله والذي كان له الدور الأساس بعمله الرائع في المرحلة العملية من البحث .

وأخيراً لا يسعني إلا التقدم بالشكر لعميد كلية الطب البشري **الأستاذ الدكتور حمود حامد الداعم** دائماً للبحث العلمي ومشجعه الدائم .

تصريح البحث (Declaration) :

أصرح بأنني الوحيد الذي قمت بإجراء البحث وكتابة الأطروحة وقد قمت بمراجعة جميع المراجع المذكورة في نهاية الأطروحة .

إن العمل ونتائج البحث المسجلة في هذه الأطروحة قد قمت بها لوحدي ولم يتم قبولها من أي جهة للحصول على شهادة عليا في القطر ، إن جميع الأشخاص الذين ساعدوا في إخراج هذه الأطروحة قد تم التنويه عنهم في كلمة التقدير والشكر .

د. حبيب جربوع

كتاب الأستاذ المشرف (Statement of supervisor) :

أنا المشرف على أطروحة الدكتوراة للطالب حبيب جربوع تحت عنوان (تعبير وتضخيم الـ Her2/neu في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض وترافقه مع واسم التكاثر النووي Ki67) .

أعلن وأصرح بأنه شخصياً قد قام بعمل وإنجاز هذا البحث وأكثر من ذلك لقد أتم الدكتور حبيب جربوع المدة المطلوبة لإنجاز البحث وكافة الإجراءات والالتزامات الواجبة عليه للحصول على شهادة الدكتوراة من كلية الطب البشري جامعة دمشق .

الأستاذ المشرف
أ. د. وليد الصالح

الفهرس :

٧	- الملخص
٧	* المقدمة
٨	* الدراسة العملية
٨	* النتائج
٩	* الاستنتاج
٩	- الجزء الأول : الدراسة النظرية
٩	* التكون الجنيني للمبيض
١٠	* التشريح الوصفي للمبيض
١٢	* البنية النسيجية للمبيض
١٢	* الظهارة السطحية
١٥	* خزعات المبيض
١٥	* تصنيف أورام المبيض
١٨	* السبببات
١٩	* العوامل التي تزيد من خطورة حدوث سرطانة المبيض
٢١	* العوامل التي تقلل من خطورة حدوث سرطانة المبيض
٢١	* أورام الظهارة السطحية للمبيض
٢١	* مبادئ عامة
٢٥	* الأورام المصلية
٢٧	* الأورام المخاطية
٣٠	* الأورام الشبيهة بباطن الرحم
٣٢	* أورام الوريقة المتوسطة المختلطة الخبيثة
٣٣	* ساركومات الوريقة المتوسطة الغدية (موليريان)
٣٤	* الساركومات اللحمية المشبهة بباطن الرحم
٣٥	* أورام الخلية الرائقة
٣٧	* أورام الخلية الانتقالية
٤٠	* أورام الخلية الشائكة
٤١	* الأورام الظهارية المختلطة
٤١	* السرطانة غير المميزة
٤٢	* السرطانة صغيرة الخلايا، النموذج الرئوي
٤٢	* السرطانة الغدية الصماوية ذات النمط غير صغير الخلايا
٤٢	* ما هو التهجين في المكان
٤٣	* التهجين بالمكان اللوني مع المجهر الضوئي (CISH)
٤٤	* ما هو البروتين المحرض الورمي Her2/neu
٤٥	* كيف يتم تقييم الـ Her2/neu
٤٧	* ما هو واسم التكاثر النووي Ki-67
٤٧	* الدراسات الوراثية المتعلقة بالمبيض
٤٩	* الوراثة الخلوية Cytogenetics
٤٩	* الوراثة الخلوية المورفولوجية
٥٣	* الوراثة الخلوية الجزيئية
٥٧	* الجينات والبروتينات المسببة
٥٩	* الجينات المثبطة للورم

٥٩	* الجينات المحرصة للورم
٦١	- الجزء الثاني : الدراسة العملية
٦١	* مبررات البحث
٦١	* هدف البحث
٦٢	* العينة المدروسة
٦٢	* مكان العمل
٦٢	* المتغيرات المدروسة
٦٢	* مضامين البحث
٦٢	* الاعتبارات الأخلاقية
٦٢	* طريقة العمل
٦٧	* تفسير النتائج بالمجهر الضوئي
٦٧	* الدراسة الإحصائية
٦٧	* النتائج
٩٠	* تفسير النتائج
٩١	* المناقشة
٩٣	* بعض الدراسات العالمية الحديثة المنشورة في هذا الخصوص
٩٩	* الاستنتاجات
١٠٠	* بعض صور نتائج التلوينات المناعية والجزيئية في دراستنا
١٠٤	- المراجع

الملخص :

المقدمة :

تعتبر مورثة الـ ERBB2 proto-oncogene عامل مرمر لمستقبل التيروزين كيناز البروتيني الغشائي المتورط في نشوء وتطور العديد من السرطانات بما فيها سرطان المبيض (٣٢٤، ٣٢٥) ، إذ يعتبر الـ Her2 عضو من عائلة عوامل النمو الظهارية لمستقبلات التيروزين كيناز وتفعيله يحفز شلال من الاستجابات الخلوية تؤثر في التكاثر الخلوي والنمو الوعائي والنقائل (٣٢٦، ٣٢٧).

إن اضطراب إشارة الـ Her2 في سرطانات المبيض ينتج إما من التضخيم الجيني amplification (وجود نسخ أكثر من العدد الطبيعي لمورثة الـ Her2 في الخلايا) أو من زيادة التعبير overexpression (تراكم بروتين الـ Her2 ضمن الخلية وبالتالي زيادة عدد المستقبلات على سطح الخلية) ويؤدي إلى نمو خلوي أسرع (٣٢٨) ، خلل في إصلاح الـ DNA (٣٢٩) ، وزيادة تشكل النسيطة (٣٣٠) . وبناء عليه فإن زيادة تعبير الـ Her2 يترافق مع زيادة خطر تطور المرض والموت خصوصاً بين النساء اللواتي لديهن سرطان مبيض مرحلة I و II حسب FIGO (٣٣١) . على كل حال ، لا يوجد ارتباط بين وجود زيادة تعبير الـ Her2 والمرحلة حسب FIGO ، وهذا يقترح أن تفعيل زيادة تعبير الـ Her2 واسع النطاق ويمكن أن يحدث في كل من المراحل الباكرة والمتأخرة للمرض (٣٣٢) ، هذه الصفات يبدو أنها تجعل الـ Her2 جزيء جذاب للمعالجات المناعية الهدفية في النساء اللواتي لديهن سرطان مبيض إيجابي للـ Her2 ، حيث من الطبيعي ملاحظة حدوث استجابة الخلايا التائية CD4+ و CD8+ (٣٣٣) .

إن أكثر طرق كشف تعبير بروتين الـ Her2 شيوعاً هي طريقة التحليل الكمي المناعي Semi-quantitative IHC على الأنسجة المدمجة بالبارافين وذلك باستخدام البروتوكولات المستخدمة في تقييم مريضات سرطان الثدي المرشحات للعلاج بمضادات الـ Her2 أي الـ Herceptin (٣٣٤) (trastuzumab) . أما إلى أي حد يكون تعبير الـ

Her2 في سرطانات المبيض يبقى مثيراً للجدل ، حيث أن نسبة إيجابية الـ Her2 في سرطان المبيض المسجلة في الأدب الطبي تتراوح من ٤,٩% إلى ٥٢,٥% (٣٣١، ٣٣٢، ٣٣٥، ٣٣٦، ٣٣٧، ٣٣٨، ٣٣٩، ٣٤٠) .

إن نسبة مهمة من سرطانات الظهارة السطحية للمبيض وخصوصاً المخاطية تكون حدية أو مرحلة I ، والإنذار عادة يكون ممتازاً بالنسبة للمريضات في المراحل الباكرة من سرطانات الظهارة السطحية للمبيض ، بينما يكون الإنذار في المريضات المنتشر السرطان لديهن خارج المبيض سيء . وبما أن نسبة الاستجابة للمعالجات الكيميائية في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض تعتبر منخفضة (٣٤١، ٣٤٢) فإن البحث عن علاجات أكثر نوعية وهدفية ضروري . يشاهد تضخيم وفرط تعبير الـ Her2 في حوالي ١٥% من مريضات سرطان الثدي ويتراق مع إنذار سيء (٣٤٣، ٣٤٤) ، وتعتبر المعالجات الداعمة باستخدام الجسم المضاد وحيد النسيلة ضد بروتين الـ Her2 أي (trastuzumab) فعالة لوحدها وبالتشارك مع العلاجات الكيميائية الأخرى في مريضات سرطان الثدي اللواتي يظهرن تضخيم الـ Her2 (٣٤٥، ٣٤٦) . وبالعكس فإن أهمية فرط تعبير وتضخيم الـ Her2 في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض يبدو أقل وضوحاً ، فالتواتر المسجل لفرط تعبير الـ Her2 في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض يتراوح من ٥ - ٦٦% (٣٣٧، ٣٤٧) ، بالرغم من أن الدراسات الأكثر حداثة المستخدمة لتقنيات مثبتة لتحري فرط تعبير وتضخيم الـ Her2 تظهر نتائج في الحدود الدنيا لهذا المدى (٣٣٩، ٣٤٨) . هناك زيادة في إدراك الفروقات الجزيئية بين مختلف الأنماط النسيجية لسرطانات الظهارة السطحية للمبيض (٣٤٩، ٣٥٠) ، فقد وصفت اختلافات في الأعراض الأولية ، النقائل ، الاستجابة للعلاج ، والإنذار بشكل عام ، وهناك انتقادات للمقاربة الاعتيادية لعلاج سرطانات الظهارة السطحية للمبيض (٣٥١) فمعظم الدراسات التحليلية لتعبير الـ Her2 في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض لم تنجز

التحليل تحت النمطي اعتماداً على النمط النسيجي (٣٣٧، ٣٣٩، ٣٤٧، ٣٥٢، ٣٥٣).

التلوينات على كل العينات ومن ثم تم إجراء الدراسة الإحصائية .

النتائج :

من أصل ٩٩ عينة سرطان ظهارة سطحية للمبيض تم تلوينها مناعياً كان الـ Her2/neu +٣ في ٢٣ حالة (٢٣,٢%) وكان +٢ في ١٩ حالة (١٩,٢%) وكان تعبيره صفر أو +١ في ٥٧ حالة (٥٧,٦%) ، أي أنه مناعياً لوحظ وجود فرط تعبير لمورثة الـ Her2/neu بنسبة ٢٣,٢% من سرطانات الظهارة السطحية للمبيض بشكل عام ، وجزئياً ٣٥ عينة من أصل ٩٩ أبدت تضخيم الـ Her2/neu بتقنية الـ CISH (٢٢ من ٢٣ عينة أبدت درجة +٣ مناعياً و ١٠ من ١٩ عينة أبدت درجة +٢ مناعياً و ٢ من ٢٥ عينة أبدت درجة +١ مناعياً و ١ من ٣٢ عينة أبدت درجة ٠ مناعياً) ، لوحظ تطابق جيد بين تعبير البروتين مناعياً وتضخيم الجينة جزيئياً للعينات ذوات الدرجة +٣ وصفر/+١ بالتلوين المناعي في دراستنا ، بينما ٥٢,٦% من العينات الملتبسة (درجة +٢ بالتلوين المناعي) ضخمت جينة الـ Her2/neu . ٣٥ حالة اعتبرت إيجابية (٢٢ حالة درجة +٣ بالتلوين المناعي ، و ١٠ حالات درجة +٢ و ٣ حالات درجة +١/٠ بالتلوين المناعي أبدت تضخيم بتقنية الـ CISH) أي أن نسبة الإيجابية للـ Her2/neu في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض بشكل عام في دراستنا كانت ٣٥,٣% ، وكان التوافق بين النتائج المناعية والجزيئية حقيقياً وذلك بحسب المعيار الإحصائي كبا 0.96 : k value .

بالتلوين النسيجي الكيميائي المناعي كان متوسط مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 (mean Ki-67 index) بشكل عام هو ٢٠,٢ . للسرطانة المصلية كان المشعر ٢٢,٦ ، وللسرطانة المخاطية ٢٨ ، وللسرطانة المشبهة بباطن الرحم ١,٦ ، وللسرطانة رقيقة الخلايا ٠ ، ولورم برنر الخبيث ٠ ، وكان متوسط مشعر الـ Ki-67 في أورام الدرجة I ٢٩ ، وفي أورام الدرجة II ١٦,٩ ، وفي أورام الدرجة III ٢٠,٢ ، وكان متوسط المشعر في الأورام

هناك استنتاجات تبدي تشابه نسيجي ومناعي بين أورام الظهارة السطحية للمبيض وأورام السبيل المعدي المعوي العلوي (٣٥٤، ٣٥٥) ، وبما أن ٧ - ١٥% تقريباً من سرطانات المري والمعدة الغدية تظهر تضخيم الـ Her2 وقد أثبتت فعالية الـ trastuzumab في علاج سرطانات المري والمعدة (٣٥٦، ٣٥٧) ، فإن هذا يحفز استقصائنا لتعبير الـ Her2 في مرضى سرطانات الظهارة السطحية للمبيض .

الدراسة العملية :

• الهدف من البحث :

١. تقييم حالة فرط التعبير والتضخيم الجيني لبروتين الـ Her2 مناعياً (IHC) وجزئياً (CISH) لدى المريضات المشخص لديهن سرطان الظهارة السطحية للمبيض .
٢. تقييم العلاقة بين تعبير الـ Her2 مناعياً وبين التضخيم الجيني له .
٣. تحديد فيما إذا كانت حالة تعبير وتضخيم الـ Her2 تتغير بحسب تغير درجة ونوع الورم .
٤. البحث عن وجود علاقة بين تعبير وتضخيم الـ Her2 من جهة وبين الحالة المناعية لواسم التكاثر النووي Ki67 من جهة أخرى .

• نوع البحث : تم جمع العينات بشكل راجع وشملت ٩٩ عينة سرطان ظهارة سطحية للمبيض محفوظة بالشمع واردة إلى مخبر قسم التشريح المرضي في مشفى التوليد الجامعي. تمت الدراسة في قسم التشريح المرضي في كلية الطب البشري بجامعة دمشق . تم إجراء مقطع تلوين روتيني هيماتوكسولين إيوزين لكل عينة وتم تحديد المركبة الغازية ، ثم تم إجراء مقطعين وتم تطبيق تقنية التلوينات المناعية النسيجية لكل من الـ Her2 والـ Ki67 على كل مقطع ، ومن ثم تم إجراء مقطع آخر وتم تطبيق تقنية التهجين بالمكان اللوني بالكروموجين عليه ، تم تقييم نتائج التلوينات الثلاثة لكل عينة على حدة ومن ثم مقارنة نتائج

كما كانت نتائجنا متوافقة مع معظم الدراسات العالمية المطروحة في هذا المجال .

الاستنتاج :

نتائجنا أظهرت أن النظام المنهجي المتبع عادة في سرطان الثدي (التلوين النسيجي الكيميائي المناعي IHC كاختبار تقصي يتبع بإثبات النتائج الملتبسة بتقنية الـ FISH أو الـ CISH) من المناسب تطبيقه في سرطانات المبيض ، كما أظهرت نتائجنا أن قيمة مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 كانت أعلى في الأورام متقدمة المرحلة منها في الأورام منخفضة المرحلة ، وهكذا فإن ارتفاع مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 يشير إلى السلوك الغازي للورم وسوء الإنذار وسوء النتائج السريرية للورم.

منخفضة المرحلة ٣,٥ ، بينما كان في الأورام عالية المرحلة ٢٩,٨ . وبحسب المعيار الإحصائي كبا كان التوافق بين متوسط مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 وبين مرحلة الورم أهم من التوافق بين متوسط المشعر ودرجة الورم (بالنسبة لمرحلة الورم كانت قيمة كبا 0.606 بينما في درجة الورم كانت القيمة 0.252). وأيضاً إحصائياً عبر قيمة كبا تبين أن الارتباط بين قيمة مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 وإيجابية مورثة الـ Her2/neu كان أقوى في النتائج الجزئية منه في نتائج التلوين المناعي حيث كانت قيمة كبا بمقارنة قيمة متوسط مشعر واسم التكاثر النووي مع نتائج التلوين الجزئي بتقنية الـ CISH 0.606 بينما كانت قيمة كبا بمقارنة قيمة متوسط مشعر الواسم مع نتائج التلوين المناعي IHC 0.303 .

الجزء الأول : الدراسة النظرية

المبيض Ovary :

التكون الجنيني للمبيض Embryology :

وتدعى الآن الخلايا البيضية الأولية (primary oocytes) (١٢٠ ، ١٢١ ، ١٢٢) .

في الشهر الثاني للحمل ، الأفتاد البدئية تلاحظ على أنها مبيض ، على عكس الخصى ، فإنها تبقى بشكل أساسي بدون تغيير . في الأسبوع السابع إلى التاسع من الحمل ، المنطقة الخارجية من المبيض تتضخم لتشكل القشرة المحددة ، والتي تتألف من صفائح مدمجة من خلايا إنتاشية بدئية تمتزج بشكل عشوائي مع أعداد أقل من الخلايا ما قبل الحبيبية الأصغر (١٢١ ، ١٢٣) . في الأسبوع ١٢ إلى الأسبوع ١٥ من الحمل ، تبدأ حجب النسيج الضام الوعائي بالتشعب من اللحمية المتوسطة اللبية باتجاه الجزء الداخلي من القشر ، وتمتد باتجاه القسم السطحي من القشر في الأسبوع ٢٠ (١٢٢ ، ١٢٣) . وهكذا يصبح القشر مقسماً إلى مجموعات خلوية مؤلفة من خلايا بيضية أولية وخلايا ما قبل حبيبية (الحبال الجنسية) . وبالتوازي ، تبدأ الخلايا ما قبل الحبيبية بالإحاطة بالخلايا الإنتاشية المفردة لتشكل الجريبات الابتدائية . يبدأ تشكل الأجرية في القسم الداخلي من القشر من الأسبوع ١٤ إلى الأسبوع ٢٠ من الحمل

تقريباً خمسة أسابيع بعد الإلقاح ، تتشكل ثخانة في ظهارة الجوف العام (الظهارة المتوسطة) على طول الحافة الأنسية والبطنية للكلوة الجنينية الموصلة تقود إلى تشكيل الحرف التناسلي . تتشكل مشابهات الأفتاد كنتيجة لاستمرار تكاثر هذه الظهارة واللحمية المتوسطة المجاورة (١١٨) . وبالتوازي ، تهاجر الخلايا الإنتاشية البدئية إلى الأفتاد من الأديم الباطن للكيس المحي ، وتصل للحرف التناسلي خلال الأسبوعين الخامس والسادس من الحياة الجنينية (١١٩) . هذه الخلايا (بذرة البيضة oogonia) تخضع لفعالية انقسامية وتصبح أكثر عدداً في منتصف الحمل ، ثم في هذه الخلايا يصيبه رتق (atresia) في نهاية الحمل (١٢٠ ، ١١٨) . في الأسبوع ١٢ إلى الأسبوع ١٥ من الحمل ، تصبح خلايا بذرة البيضة في طور الانقسام المنصف وتتوقف في طور الأول (طليعة الانقسام) الانتصافي ،

(١١٩، ١٢٠، ١٢٢، ١٢٤) ، وبالتدرج يمتد إلى القسم الخارجي من القشر في الفترة البكرة بعد الولادة (١٢٥) . إن الجريبات القليلة التي تنضج إلى الجريبات ما قبل الغارية (الجيبية) والجريبات الغارية (antral) في نهاية الحمل تصبح محاطة بتكثف من خلايا لحمية متوسطة تصبح الصندوق الباطنة (١٢١، ١٢٤) . توجد الشبكة الضفيرة للمبيض في السرة باكراً في الأسبوع ١٢ من الحمل (١٢٢) .

إن منشأ الحبال الجنسية للأقناد (الخلايا ما قبل الحبيبية في المبيض وخلايا سيرتولي في الخصي) مختلف عليه . يعتقد بعض الباحثين (١١٩، ١٢١، ١٢٥، ١٢٦) بأنها تشتق من ظهارة الجوف العام ، بينما يرجح البعض الآخر (١٢٧) نشوءها من اللحمية المتوسطة . ولا يزال يعتقد البعض الآخر (١٢٨، ١٢٩) بأن المادة الأرومية أو الجذعية للأقناد غير متميزة بشكل كبير لتصنف كظهارة أو كلحمية متوسطة . تشير الأبحاث الأحدث إلى أن الحبال الجنسية تبدو أنها تنشأ من الكلوة الجنينية (١٠٢، ١٣٠، ١٣١، ١٣٢) . وجد الباحث ساتو (١٠٢) أن بقايا البنى الشبيهة بالحبال بالرغم من كونها تنشأ من الخلايا الظهارية للجوف العام ، إلا أنها تختفي قبل أن تتابع بتشكيل الحبال الجنسية النهائية، والتي تشتق من خلايا تنشأ من الكلوة الجنينية المتوسطة.

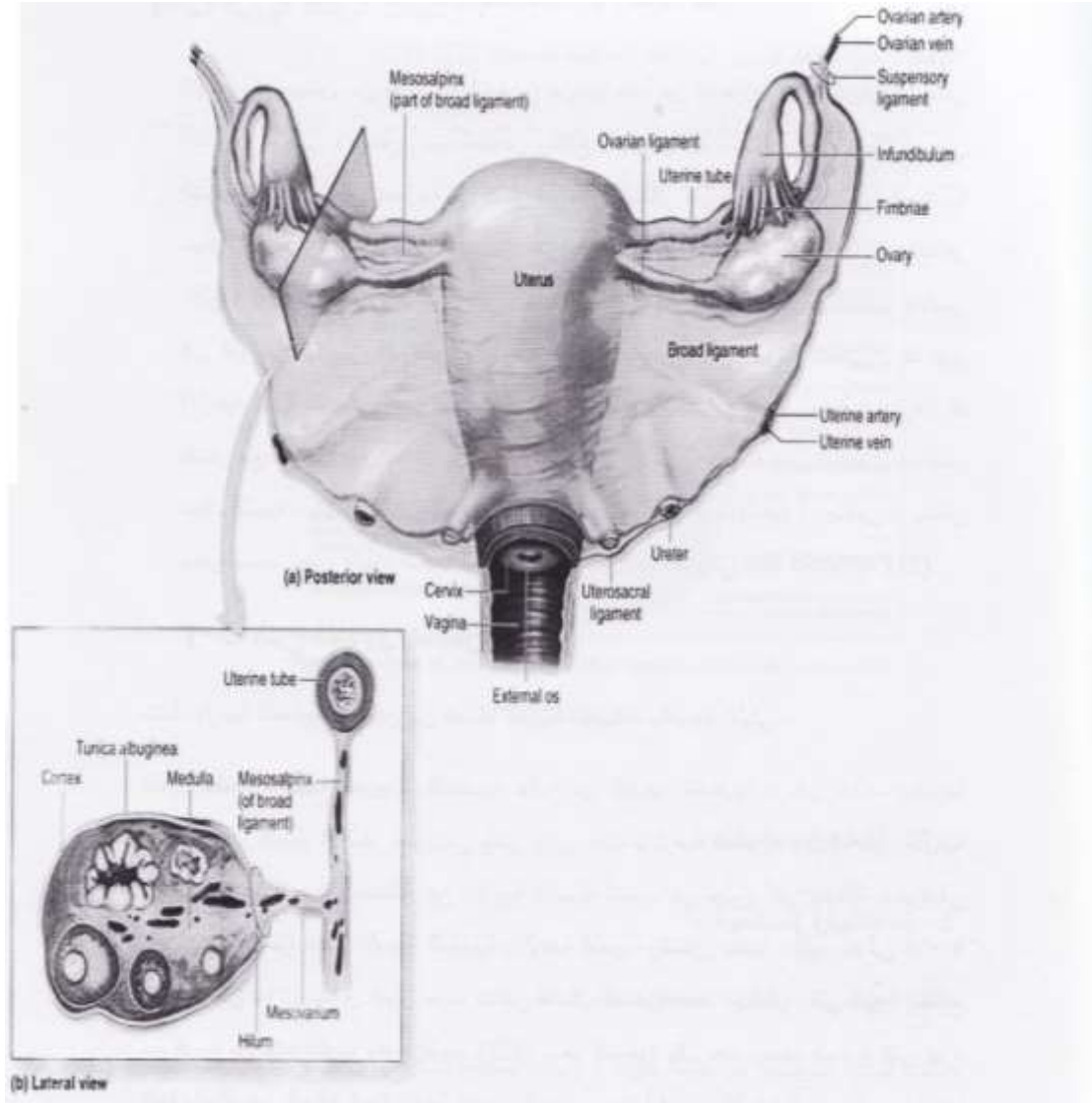
التشريح الوصفي للمبيض Gross Anatomy :

المبايض عبارة عن زوج من الأعضاء الحوضية تتوضع على كلا طرفي الرحم بالقرب من جدار الحوض الوحشي،

خلف الرباط العريض وأمام المستقيم . كل مبيض يتصل على طول حافته الأمامية (السرية) بالوجه الخلفي للرباط العريض بواسطة ثنية بريتوانية مضاعفة تسمى مسراق المبيض ، ويتصل بقطبه الأنسي بالقرن الرحمي ذو الجهة المماثلة بواسطة الرباط المبيضي (أو الرحمي - المبيضي)، ويتصل من الوجه العلوي لقطبه الوحشي بجدار الحوض الوحشي بواسطة الرباط القمعي الحوضي (أو المعلق) . إن توضع المبيض خلف الرباط العريض وتشابهه علاقة رباط المبيض بأنبوب فالوب الرحمي في الجهة المماثلة يساعد في تحديد جهة عينة استئصال الملحقات (المبيض والبوب) .

المبيض قبل البلوغ Prepubertal Ovary :

يكون المبيض في الولدان عبارة عن بنية مصطبغة ، متطاولة ، ومسطحة تتوضع فوق الحوض الحقيقي . في بعض الأحيان يكون له مظهر مفصص مع حواف غير منتظمة . يقيس تقريباً ١,٣ x ٠,٥ x ٠,٣ سم ، ويزن أقل من ٠,٣ غرام (١٣٣، ١٣٤، ١٣٥) . خلال فترة الطفولة والصبا، يتضخم المبيض ، ويزيد وزنه ٣٠ ضعف ، ويتغير شكله ، وهكذا في وقت البلوغ يأخذ حجمه ووزنه وشكله ، المبيض البالغ ، ويتوضع ضمن الحوض الحقيقي (١٣٤، ١٣٥) . إن تأمل سطح المبيض الخارجي وسطح قطعه ، خصوصاً خلال الأشهر الأولى من الحياة وعند البلوغ ، يمكن أن يبدي جريبات كيسية مسيطرة (١٣٦) مشابهة لتلك المشاهدة في داء المبيض متعدد الكيسات .



الشكل ١ التوضع التشريحي للمبيض ومقطع عرضي فيه

مأخوذ من www.academic.kellogg.cc.mi.us/herbrandsonc/bio201

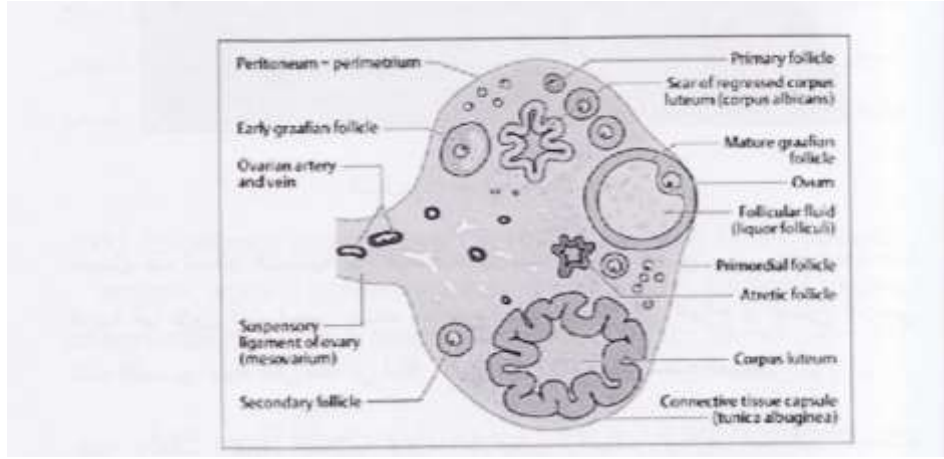
المبيض البالغ Adult Ovary : البنى الجريبية (الجريبات الكيسية ، الأجسام الصفراء ، والأجسام البيضاء) ترى نموذجياً في القشر واللب .
المبيض بعد سن اليأس Postmenopausal Ovary : بعد سن اليأس ، ينكمش المبيض نموذجياً ويصل تقريباً لنصف الحجم الذي كان عليه خلال فترة النشاط التناسلي (١٣٧) . يختلف حجمه بشكل ملحوظ على كل حال باختلاف أعداد خلايا اللحمة المبيضية والأجسام البيضاء غير الممتصة (١٣٨) . معظم المبايض بعد سن اليأس لها مظهر خارجي منكمش وذو تلافيف ، بينما القليل منها يكون أملس ومتماثل الشكل . له قوام صلب ويكون سطح

المبيض البالغ يكون بيضوي مع أبعاد تقريباً ٣ إلى ٥ سم x ١,٥ إلى ٣ سم x ٠,٦ إلى ١,٥ سم ويوزن من ٥ إلى ٨ غرامات . حجمه ووزنه على كل حال يتنوع بشكل ملحوظ وذلك اعتماداً على محتواه من مشتقات الأجنة . له مظهر خارجي وردي إلى أبيض ، والذي يكون عادة أملس في فترة النشاط التناسلي الباكرا ، لكن بعد ذلك يزيد النفاذه والتواءه . يميز على سطح القطع ثلاث مناطق محددة بشكل غير واضح وهي : القشرة الخارجية ، اللب الداخلي ، والسرة .

البنية النسيجية للمبيض Histology :

يتألف المبيض نسيجياً من الأقسام التالية : الظهارة السطحية ، اللحمية ، الجريبات الابتدائية ، الجريبات الناضجة ، الأجسام الصفراء ، الأجسام البيضاء ، جريبات راتقة ، خلايا السرة ، والشبكة الضفيرية المبيضية . وسنتناول هنا بالتفصيل الظهارة السطحية كونها موضوع بحثنا .

قطعه مصمت وشاحب بشكل مسيطر ، بالرغم من وجود بعض الأكياس التي تقيس بضعة ملليمترات قطراً (أكياس احتباسية) ضمن القشر . توجد ندبات صغيرة بيضاء (الأجسام البيضاء) نموذجياً ضمن اللب . يمكن أن تشاهد أوعية دموية ثخينة الجدر ضمن اللب والسرة .



الشكل ٢ البنية النسيجية للمبيض

هذه الظهارة تكون هشة بشكل كبير وتقريباً دائماً ما تتسلخ في عينات استئصال المبيض بسبب حك السطح من قبل الجراح والمشرح المرضي ، بالإضافة إلى عدم التثبيت بشكل مباشر مما يؤدي للجفاف . الظهارة المحافظ عليها تكون موجودة غالباً في المناطق المحمية بالالتصاقات السطحية أو المبطنة للأثلام .

الظهارة السطحية Surface Epithelium :

نسيجياً Histology :

تتألف الظهارة السطحية للمبيض من طبقة مفردة ، مطبقة بشكل بؤري ، من خلايا برينوانية معدلة . تتنوع الخلايا من مسطحة إلى مكعبة إلى اسطوانية ويمكن أن تشاهد عدة أنماط في مناطق مختلفة من نفس المبيض . تتفصل الخلايا السطحية عن اللحمية تحتها بغشاء قاعدي واضح .



الشكل ٣ ظاهرة المبيض السطحية

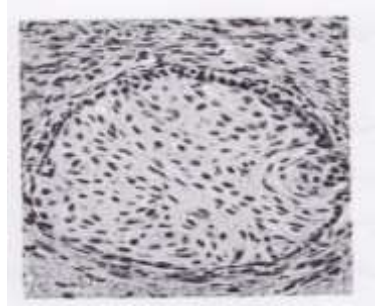
صغيرة ضمن القشرة السطحية ، وبشكل أقل شيوعاً ، تمتد إلى القشرة العميقة أو إلى لحمة اللب . تكون الغدد والأكياس الاحتباسية الظهارية مبطنة بشكل نموذجي بطبقة مفردة من خلايا مهدبة اسطوانية نموذج أنبوبي ، وتوجد أحياناً أجسام بساموما ضمن لمعتها أو في اللحمة المجاورة. إن وجود غدد مشابهة مترافقة أو غير مترافقة مع أجسام بساموما على سطح المبيض ، أو ضمن الالتصاقات حول المبيض ، أو على سطوح البريتوان والثرب خارج المبيض تسمى endosalpingiosis^(١٤٩) . وبشكل أقل شيوعاً ، يمكن أن تبطن الغدد والأكياس الاحتباسية الظهارية بظهارة نمط موليريان أخرى (مشبهة بباطن الرحم ، مخاطية) ، أو خلايا اسطوانية غير نوعية أو خلايا مسطحة^(١٥٠) .^(١٥١) من المحتمل أن تكون الغدد والأكياس الاحتباسية الظهارية مكان نشوء معظم الأورام الظهارية السطحية الكيسية^(٨) . وجدت إحدى الدراسات^(١٥٢) أن الغدد والأكياس الاحتباسية الظهارية كانت أكثر شيوعاً في مبيض الجهة الأخرى لسرطان المبيض وحيد الجهة وكانت على الغالب مبطنة بظهارة مصلية أكثر من النساء ذوات نفس العمر ولكن بدون سرطان مبيض . وصفت أيضاً تغيرات سوء تصنع ضمن الغدد والأكياس الاحتباسية الظهارية^(٨) .^(١١٧)

إن وجود علاقة نسيجية بين ظاهرة المبيض السطحية ، والغدد والأكياس الاحتباسية الظهارية ، وأورام المبيض الظهارية أثبت بوجود واسمات مترافقة مع أورام المبيض

بينت الدراسات النسيجية الكيميائية وجود الغليكوجين بالإضافة لعددات السكاريد المخاطية والمعتدلة ضمن خلايا الظهارة السطحية^(١٣٩، ١٤٠) . وأيضاً لوحظ وجود فعالية ١٧ - بيتا هيدروكسي ستيرونيد ديهدروجيناز ، والتي تكون غائبة في الخلايا الميزوتليالية خارج المبيض^(١٣٩) . خلايا الظهارة السطحية تبدي ارتكاس مناعي للسينوكيراتين ، Ber-EP4 ، جينة ورم ويلمس (WT1) ، كالريتينين ، ديزموبلاكين ، فيمانتين ، عامل النمو المحول ألفا ، إنترجرين ، كاتينين ، ومستقبلات الأستروجين والبروجسترون والهرمون المحرض للأجربة FSH ، وعامل النمو البشري EGF^(١٠٣، ١٠٤، ١٤١، ١٤٢، ١٤٣، ١٤٤، ١٤٥) .^(١٤٦)

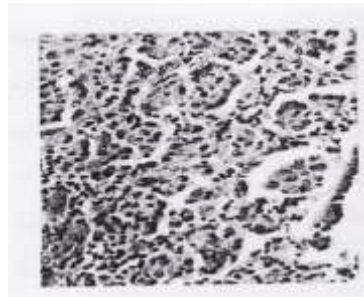
تنشأ الغدد الاحتباسية الظهارية من انغمادات قشرة الظهارة السطحية والتي تفقد ارتباطها مع السطح . غالباً ما تصبح كيسية ، وينتج عنها الأكياس الاحتباسية الظهارية ، والتي يمكن أن تلاحظ بالفحص العياني ، واقتُرِح قطر ١ سم للتفريق بين هذه الأكياس الاحتباسية الظهارية وبين الأدينومات الغدية الكيسية الصغيرة . وجدت الغدد الاحتباسية الظهارية بالفحص المجهرى للمبايض في كل الفئات العمرية بما فيها الأجنة ، الأطفال ، والمراهقين^(١٤٧) .^(١٤٨) . تصبح الغدد والأكياس الاحتباسية الظهارية أكثر عدداً مع التقدم بالعمر ، وتكون موجودات شائع تصادفها في سن النشاط التناسلي المتأخر وبعد سن اليأس . تكون بشكل نموذجي متعددة ، مبعثرة بشكل مفرد أو بشكل عناقيد

الظهارية وضمن الخلايا الظهارية السطحية الطبيعية و/أو الخلايا المبطنة للغدد الاحتباسية الظهارية . هذه الواسمات تتضمن CA125 ، p53 ، E-cadherin ، WT1 ، CA19-9 ، CEA ، hCG ، MH99 ، اللاكتوجين ، المشيمي ، ألفا-٢ غليكوبروتين ، بيتا-١ غليكوبروتين ، الفوسفاتاز القلوي المشيمي ، بروتين كريات شحم الحليب البشري ، الـ integrin/vitronectin (١٠٥، ١٠٦، ١٠٧، ١٠٣، ١٠٤) . إن فرط تصنع وحوول الظهارة السطحية ، وذلك الذي يحدث ضمن الغدد الاحتباسية الظهارية ، يكون أكثر شيوعاً في النساء اللواتي لديهن مبيض متعدد الكيسات وسرطانة باطن رحم (١٠٨) ، مما يقترح احتمال السبب الهرموني في بعض الحالات .



الشكل ٤ أعشاش والثارد

إن فرط تصنع الخلايا الميزوتليالية ، والذي يكون عادة استجابة لالتهاب الحوض المزمن ، يمكن أن يشمل سطح المبيض ويستبدل بؤرياً ظهارة المبيض السطحية . تبدي الأشكال المتوردة (florid) منها نماذج حليمية أنبوبية ومرتشحة بشكل كاذب ، بالإضافة لوجود درجات متنوعة من الشذوذ النووي ، لذلك يجب أن نميزها عن الميزوتليوما الخبيثة أو سرطانات المبيض البدئية أو الانتقالية .



الشكل ٥ فرط تصنع ميزوتليالي على سطح المبيض

البنية المستدقة : Ultrastructure

إن مظهر البنية المستدقة لظهارة المبيض السطحية مشابه لذلك الذي للبريتوان خارج المبيض (١٥٧، ١٥٨، ١٥٩). الخلايا السطحية بالمسح بالمجهر الإلكتروني لها ذرى قبية الشكل مغطاة بالعديد من الزغيبات الدقيقة ، وغالباً ما تكون متعصنة ، وأحياناً بهذب وحيد ، وحويصلات ماصة. الهويلى تحوي بوليوزومات عديدة ، ريبوزومات حرة ، ميتوكوندريا غزيرة ، وحزم من خييطات متوسطة الحجم وخيوط متوترة . توجد أحياناً قطيرات شحم في الهويلى القاعدية . النوى لها غشاء نووي مسنن ونوية محيطية . الأغشية البلاسمية الجانبية المستوية أو المتعرجة تتقوى بمعقدات اتصال باللمعة ، ديزموزومات متفرقة ، ومعقدات ديزموزومات - خيوط متوترة . الأغشية يمكن أن تكون متباعدة بشكل عريض في مناطق تبدي مسافات بين خلوية متسعة (١٥٨) . صفيحة قاعدية متطورة تفصل الظهارة السطحية عن اللحم تحتها .

خزعات المبيض :

هناك طيف واسع من خزعات المبيض التي يمكن إجراؤها ومنها (٤) :

١. الرشافة بالإبرة الدقيقة F.N.A

٢. الخزعات الإسفينية Wedge

٣. استئصال كامل المبيض أحادي الجانب أو بالجهتين

٤. استئصال البوق والمبيض أحادي الجانب أو بالجهتين

٥. استئصال الرحم مع الملحقات (بما فيها المبايض)

تصنيف أورام المبيض :

التصنيف النسيجي لأورام المبيض حسب منظمة الصحة العالمية (WHO) لعام ٢٠٠٣ هو كالتالي (٢) :

أورام الظهارة السطحية Surface Epithelial-Stromal

: Tumors

(١) الأورام المصلية Serous Tumors :

(a) السليمة Benign :

(i) Cystadenoma

(ii) Papillary cystadenoma

(iii) Surface papilloma

(iv) Adenofibroma and cystadenofibroma

(b) الحدية Borderline Tumors :

(i) Papillary cystic tumor

(ii) Surface papillary tumor

(iii) Adenofibroma , cystadenofibroma

(c) الخبيثة Malignant :

(i) Adenocarcinoma

(ii) Surface papillary adenocarcinoma

(iii) Adenocarcinofibroma (malignant adenofibroma)

(٢) الأورام المخاطية Mucinous Tumors :

(a) السليمة Benign :

(i) Cystadenoma

(ii) Adenofibroma and cystadenofibroma

(iii) Mucinous cystic tumor with mural nodules

(iv) Mucinous cystic tumor with pseudomyxoma peritonei

(b) الحدية Borderline tumors :

(i) Intestinal type

(ii) Endocervical-like

(c) الخبيثة Malignant :

(i) Adenocarcinoma

(ii) Adenocarcinofibroma (malignant adenofibroma)

(٣) المشبهة بباطن الرحم Endometrioid Tumor Including Variants with Squamous : Differentiation

(a) السليمة Benign :

(i) Cystadenoma

- ٦) Squamous Cell Tumors الأورام شائكة الخلايا
 Squamous cell carcinoma (a)
 Epidermoid cyst (b)
- ٧) Mixed Epithelial الظهارية المختلطة
 : Tumor (Specify components)
 Benign (a)
 Borderline (b)
 Malignant (c)
- ٨) Undifferentiated and غير المتميزة
 : Unclassified Tumors
 Undifferentiated carcinoma (a)
 Small-cell carcinoma , pulmonary (i)
 type
 Neuroendocrine carcinoma , non- (ii)
 small-cell type
 Adenocarcinoma , not otherwise (b)
 specified
- Sex-Cord-Stromal أورام الحبل الجنسي واللحمية**
: Tumors
- ١) Granulosa-Stromal cell الخلايا الحبيبية
 : tumors
- ٢) Granulosa cell مجموعة الأورام الحبيبية
 : tumor group
 Adult granulosa cell tumor (i)
 Juvenile granulosa cell tumor (ii)
- ٣) Thecoma- مجموعة الأورام الصندوقية-الليفية
 : Fibroma group
 Thecoma , not otherwise (i)
 specified
 Typical (١)
 Luteinized (٢)
 Fibroma (ii)
 Cellular fibroma (iii)
 Fibrosarcoma (iv)
 Stromal tumor with minor sex (v)
 cord elements
 Sclerosing stromal tumor (vi)
 Signet-ring stromal tumor (vii)
 Unclassified (fibrothecoma) (viii)
- ٤) Adenofibroma and (ii)
 cystadenofibroma
 : Borderline tumors الحدية (b)
 Cystic tumor (i)
 Adenofibroma and (ii)
 cystadenofibroma
 : Malignant الخبيثة (c)
 Adenocarcinoma , not otherwise (i)
 specified
 Adenocarcinofibroma (malignant (ii)
 adenofibroma)
 Malignant mullerian mixed tumor (iii)
 (carcinosarcoma)
 Adenosarcoma (iv)
 Endometrioid stromal sarcoma (v)
 (low grade)
 Undifferentiated ovarian sarcoma (vi)
 : Clear cell tumors الأورام رقيقة الخلايا (٤)
 : Benign السليمة (a)
 Cystadenoma (i)
 Adenofibroma and (ii)
 cystadenofibroma
 : Borderline tumors الحدية (b)
 Cystic tumor (i)
 Adenofibroma and (ii)
 cystadenofibroma
 : Malignant الخبيثة (c)
 Adenocarcinoma (i)
 Adenocarcinofibroma (malignant (ii)
 adenofibroma)
- ٥) Transitional cell tumor الأورام انتقالية الخلايا
 : Benign السليمة (a)
 Brenner tumor (i)
 Metaplastic variant (ii)
 : Borderline الحدية (b)
 Borderline Brenner tumor (i)
 Proliferating variant (ii)
 : Malignant الخبيثة (c)
 Transitional cell carcinoma (non- (i)
 Brenner type)
 Malignant Brenner tumor (ii)

- (١) أورام الخلايا الإنتاشية البدئية Primitive Germ Cell : Germ Cell Tumor
- (a) Dysgerminoma : Tumor
- (b) ورم الكيس المحي Yolk Sac Tumor
- (i) Polyvesicular vitelline tumor
- (ii) Glandular variant
- (iii) Hepatoid variant
- (c) السرطانة الجنينية Embryonal Carcinoma
- (i) Polyembryoma
- (ii) Non-gestational choriocarcinoma
- (iii) Mixed germ cell tumor (specify component)
- (٢) الورم العجائبي ثنائي أو ثلاثي الطور Biphasic or
- : Triphasic Teratoma
- (a) الورم العجائبي غير الناضج Immature Teratoma
- (b) الورم العجائبي الناضج Mature Teratoma
- (i) Solid
- (ii) Cystic
- (١) Dermoid cyst
- (iii) Fetiform teratoma (homunculus)
- (٣) الورم العجائبي وحيد الأدمة Monodermal Teratoma and Somatic-type Tumor
- : associated with dermoid cysts
- (a) مجموعة الأورام الدرقية Thyroid Tumor
- : group
- (i) Struma ovarii
- (١) Benign
- (٢) Malignant (specify type)
- (b) مجموعة الكارسينويد Carcinoid group
- (i) Insular
- (ii) Trabecular
- (iii) Mucinous
- (iv) Strumal carcinoid
- (v) Mixed
- (c) مجموعة أورام الوريقة العصبية الخارجية
- : Neuroectodermal Tumor group
- (i) Ependymoma
- (ii) Primitive neuroectodermal tumor
- (٢) أورام خلايا سيرتولي Sertoli-Stromal Cell
- : Tumors
- (a) مجموعة أورام خلايا سيرتولي-لايديغ Sertoli-Leydig Cell Tumor group
- : (androblastoma)
- (i) Well differentiated
- (ii) Of intermediate differentiation
- (١) Variant with heterologous elements (specify type)
- (iii) Poorly differentiated (sarcomatoid)
- (١) Variant with heterologous elements (specify type)
- (iv) Retiform
- (١) Variant with heterologous elements (specify type)
- (b) أورام خلايا سيرتولي Sertoli Cell Tumor
- (c) أورام خلايا لايديغ Stromal-Leydig Cell Tumor
- (٣) أورام الحبل الجنسي واللحمة المختلطة أو غير مصنفة Sex-Cord-Stromal Tumor of Mixed
- : or Unclassified Cell Types
- (a) Sex cord tumor with annular tubules
- (b) Gynandroblastoma (specify component)
- (c) Sex-cord-stromal tumor , unclassified
- (٤) أورام الخلايا الستيروئيدية Steroid Cell Tumor
- (a) الورم اللوتينيني Stromal Luteoma
- (b) مجموعة أورام خلايا لايديغ Leydig Cell
- : Tumor group
- (i) Hilus cell tumor
- (ii) Leydig cell tumor , non hilar type
- (iii) Leydig cell tumor , non otherwise specified
- (c) أورام الخلايا الستيروئيدية غير المحددة Steroid
- : Cell Tumor , not otherwise specified
- (i) Well differentiated
- (ii) Malignant

Primary ovarian mesothelioma (٥)
 Wilms tumor (٦)
 Gestational choriocarcinoma (٧)
 Hydatidiform mole (٨)
 Adenoid cystic carcinoma (٩)
 Basal cell tumor (١٠)
 Ovarian wolffian tumor (١١)
 Paraganglioma (١٢)
 Myxoma (١٣)
 Soft tissue tumors not specific to the (١٤)
 ovary
 Others (١٥)

:Tumor-Like Conditions الحالات المشبهة بالأورام

Luteoma of pregnancy (١)
 Stromal hyperthecosis (٢)
 Stromal hyperplasia (٣)
 Fibromatosis (٤)
 Massive ovarian edema (٥)
 Others (٦)

Lymphoid and الدموية واللمفاوية : haematopoietic Tumors

Malignant lymphoma (specify type) (١)
 Leukaemia (specify type) (٢)
 Plasmacytoma (٣)

Secondary Tumors الأورام الثانوية

: Etiology السبب

بسبب غياب الأعراض البكرة لسرطانة المبيض ، فإن أكثر من ٧٠% من المريضات يشخصن بمراحل متقدمة . إن ازدياد تواتر حدوث سرطانة المبيض بالاقتراب من سن الضهي يمكن أن يكون له صلة بنقص الخلايا البيضية أو الخلايا المنتشة ، وبقلة مستويات الأستروجين الدورانية أو بالازدياد المهم في إنتاج الغدة النخامية من هرمونات موجهاة الغدد التناسلية (FSH – LH) . وربما تلعب الإباضة وعوامل النمو والسيوتوكينات والعوامل المحيطة دوراً في بدء تطور سرطانة المبيض . تبدأ سرطانة المبيض بتحول يحدث على الخلايا المكونة للمبيض وتتضمن الخلايا الظهارية السطحية ، الخلايا المنتشة ، خلايا الحبال الجنسية أو خلايا السدى . إن خلايا ظهارة سطح المبيض

Medulloepithelioma (iii)
 Glioblastoma multiform (iv)
 Others (v)

: Carcinoma group مجموعة الكارسينوما

Squamous cell carcinoma (i)
 Adenocarcinoma (ii)
 Others (iii)

Melanocytic الخلايا الميلانية (e) : group

Malignant melanoma (i)
 Melanocytic naevus (ii)

Sarcoma مجموعة الساركوما (f) (specify type)

Sebaceous tumor مجموعة الأورام الزهمية (g) : group

Sebaceous adenoma (i)
 Sebaceous carcinoma (ii)

Pituitary-type مجموعة النمط النخامي (h) tumor group

Retinal الخلايا المشابهة للشبكية (i) anlage tumor group

Others أورام أخرى (j)

Germ Cell أورام الخلية الإنتاشية – الحبل الجنسي

: Sex Cord-Stromal Tumors

Gonadoblastoma (١)
 Variant with malignant germ cell tumor (٢)
 Mixed germ cell-sex cord stromal tumor (٣)
 Variant with malignant germ cell tumor (٤)

Tumors of the Rete الشبكة المبيضية

:Ovarii

Adenocarcinoma (١)
 Adenoma (٢)
 Cystadenoma (٣)
 Cystadenofibroma (٤)

: Miscellaneous Tumors أورام متفرقة

Small cell carcinoma , hypercalcaemic (١)
 type
 Small cell carcinoma , pulmonary type (٢)
 Large cell neuroendocrine carcinoma (٣)
 Hepatoid carcinoma (٤)

هي المكان البدئي للسرطانات ، فحوالي ٩٠% من مجمل سرطانات المبيض تشتق من الظهارة السطحية .

إن الآلية الإمراضية لسرطانة المبيض غير مفهومة بشكل كامل . هناك عدة آراء ونظريات حول الآلية الإمراضية لأورام المبيض الظهارية ، ففرضية الإباضة المستمرة ترى أن عمليات التكاثر والترميم لخلايا الظهارة السطحية للمبيض التالية للإباضة قد تزيد من فرصة حدوث إصلاح وترميم معيبين ، فتقود إلى تحول خبيث في هذه الخلايا مما يؤدي بالنتيجة إلى ظهور سرطانات . وعلى ضوء هذه الفرضية فإن أي عامل يثبط أو يمنع حدوث الإباضة قد يقلل من خطورة الإصابة بسرطانة المبيض . وترى فرضية هرمونات موجهة الغدد التناسلية النخامية أن المستويات العالية منها يمكن ، بشكل مباشر أو غير مباشر من خلال زيادة تصنيع الأستروجين ، أن تحرض خلايا الظهارة السطحية في الكيسات الاحتباسية مما يؤدي لتحول خبيث فيها ، وبالتالي فإن أي عامل يزيد من مستويات هذه الهرمونات يمكن له أن يزيد من الخطورة (٦،٥) .

العوامل التي تزيد من خطورة حدوث سرطانة المبيض (١١٥) :

١ - القصة العائلية :

تشير الدراسات الوبائية إلى أن أقوى عامل خطورة لسرطانة المبيض هو القصة العائلية . وقد قُدر معدل حدوث سرطانة المبيض المنسوبة للعوامل الجينية بحوالي ٥ - ١٠% . تقدر خطورة الإصابة عند النساء اللواتي لديهن قريبة واحدة من الدرجة الأولى مصابة بسرطانة مبيض ب ٥% ، وللواتي لديهن قريبتان أو أكثر من الدرجة الأولى مصابتان ب ٧% ، وتكون الخطورة أعلى عند الأخت والابنة منها عند الأم . والنساء اللواتي لديهن قصة عائلية لثلاث حالات أو أكثر من سرطانة المبيض هن أكثر احتمالاً للإصابة به بأعمار أصغر . يبدو أن المكون الوراثي لسرطانة المبيض هو بسبب طفرات في جينات BRCA ، وثلاثا هذه الحالات تقريباً مرتبط بطفرات جينة BRCA1 ، ويترافق الثلث الباقي مع طفرات BRCA2 . فامرأة من كل

٨٠٠ تقريباً من مجمل النساء عموماً تحمل طفرات BRCA1/2 . وترتفع هذه النسبة عند نساء أشكنازي اليهوديات إلى امرأة من كل ٥٠ امرأة . يجب أن تدرس العوامل الوراثية لسرطانة المبيض بتعمق أكثر لأن احتمال حدوث سرطانة المبيض عند النساء اللواتي لديهن طفرات BRCA1/2 أكبر ب ١٠ مرات من اللواتي ليس لديهن هذه الطفرات ، وسنتناول هذا الموضوع بتفصيل أكثر لاحقاً .

٢ - العوامل التناسلية (العقم وتأخر سن الضهي) :

هناك دليل وبائي على أن تأخر سن الضهي قد يزيد من خطورة الإصابة بسرطانة المبيض . ويبدو أن هناك علاقة بين تواتر الإباضة وتطور سرطانة مبيض ظهارية . إن الإباضة المستمرة هي محدد هام في خطورة سرطانة المبيض ، وهناك توافق بأن عدم الولادة يترافق مع ازدياد الخطورة ، والنساء العقيمات اللواتي تلقين أدوية للإخصاب لمدة طويلة هن في خطر أعلى .

٣ - المعالجة الهرمونية المعیضة :

تصنع المبايض الأستروجين بشكل طبيعي قبل الضهي وتتناقص تدريجياً مستويات الأستروجين والبروجستيرون والتستوستيرون مع تطور الضهي . وتتضمن المعالجة الهرمونية المعیضة إما الأستروجين وحده أو يشارك مع البروجستين لمعاوضة نقص الهرمونات عند الضهي . وبالرغم من أن الارتباط بين هذه المعالجة وسرطانة المبيض غير واضحة تماماً ، إلا أن هناك العديد من الدراسات الحديثة التي وجدت أن ازدياد خطورة السرطانة الظهارية يتعلق بهذه المعالجة . فبعض الدراسات لاحظت ارتباط مهم بين المعالجة الهرمونية المعیضة وسرطانة المبيض عند النساء اللواتي استخدمنها لمدة ١٠ سنوات أو أكثر ، ولكن ليست هناك أهمية إذا استخدمت المعالجة لفترة قصيرة من الوقت . وبينت بعض الدراسات أن العلاج المعیض بالأستروجين وحده لا يزيد من الخطورة . ودراسات أخرى توصلت إلى أن المعالجة الهرمونية المعیضة بعد سن الضهي لمدة ١٠ سنوات أو أكثر تضاعف خطورة الوفاة بسبب سرطانة المبيض . لذلك فإن المعلومات

والبيانات الإضافية حول الاستخدام المديد للمعالجة بالأسروجين ومشاركته مع البروجسترون ، والتي تتضمن الجرعات ونظام أخذها وفترة الاستخدام ضرورية لإثبات النتائج المختلفة لتلك الدراسات .

٤ - السمنة والنشاط الفيزيائي :

تعديل السمنة من الهرمونات داخلية المنشأ بسبب زيادة الدسم ، حيث تعمل على تحويل الأندروجين إلى أستروجينات في النسيج الشحمي ، حيث يمكن لهذه العملية أن تزيد من نسبة العقم والذي هو مرتبط بدوره بزيادة خطورة حدوث سرطانة المبيض . حيث بينت بعض الدراسات أن لمشعر كتلة الجسم BMI وتغيرات الوزن علاقة بسرطانة المبيض . ومن جهة أخرى فإن مشعر كتلة الجسم الأعلى عند الشابات ترافق مع ازدياد خطورة الإصابة قبل الضهي إلى الضعفين .

٥ - الحمية (الغنية بالدسم المشبعة والمشتقات الحيوانية) :

تتضمن عوامل الخطورة الغذائية المحتملة لسرطانة المبيض والتي جذبت الانتباه حتى الآن : الغالاكتور ، الدسم ، البيض . قد تزيد الأغذية المشتقة من الحيوانات مثل اللحم الأحمر والحليب والبيض من مستويات موجهات الغدد التناسلية في المصل (FSH - LH) والتي يحتمل أن تزيد الخطورة بالتحريض المباشر للتكاثر الخلوي وتنشيط الموت الخلوي المبرمج في ظهارة سطح المبيض . وقد اقترحت بعض الدراسات أن استهلاك الدسم المشبعة يمكن أن يؤدي لزيادة خطورة سرطانة المبيض الظهارية .

٦ - التدخين :

بينت الدراسات أن تدخين التبغ يضعف وظيفة المبيض ويؤثر بتركيز الهرمونات الستيرويدية ، ويؤدي إلى اضطرابات تناسلية . يحتوي التبغ على أكثر من ٦٠ مادة مسرطنة معروفة . لقد تم تمييز النيكوتين ومستقلباته في خلايا المبيض الحبيبية واللوتينينية . إن مستقلبات الـ benzo pyrene الموجودة في دخان التبغ تشكل معقدات

DNA في الخلايا الحبيبية واللوتينينية والبويضات ، وبذلك يتعزز خطر حدوث أذية الـ DNA . إن هذه الآلية السامة جينياً تمثل آلية بيولوجية معقولة للتدخين يؤثر من خلالها التبغ على زيادة خطر حدوث سرطانة المبيض . يرتبط التدخين طويل الأمد مع ازدياد خطر الأورام الظهارية إذ أصبحت النساء اللواتي دخّن لعدة سنوات في خطر عالٍ مقارنة مع اللواتي لم يدخّن أبداً . بينما اقترحت دراسات أخرى أن التدخين هو عامل خطر لسرطانة المبيض المخاطية (الموسينية) خصوصاً .

٧ - العوامل البيئية :

بما أن السبيل التناسلي الأنثوي يسمح للمواد صغيرة الجزيئات بالمرور من المهبل عبر الرحم ونفير فالوب إلى سطح المبيض ، فإنه من المحتمل أن تلعب المواد المسرطنة خارجية المنشأ دوراً في تحريض تسرطن المبيض . إذ يمكن لسرطانة المبيض أن تتأثر بالتعرض لعوامل مهنية وبيئية ، ولكن المعلومات الموجودة والمتوفرة غير كافية لاعتماد الدور الإيمراضى لمثل هذه العوامل . إن نتائج الدراسات المهنية عموماً متناقضة وغير كافية لوضع استنتاجات حول ارتباطها بسرطانة المبيض . والدراسات المتوفرة هي بيئية أو دراسات لنسب الوفيات ولم تأخذ بالحسبان الأسباب الكامنة . تترافق بعض المهن مثل : التنظيف الجاف ، عمال الهاتف والبرق ، التغليف الورقي ، الطباعة والتخطيط ، مع معدلات حدوث عالية لسرطانة المبيض . فقد اكتشف أن التعرض للغبار العضوي وغبار الأوراق والأمينات العطرية والهيدروكربونات العطرية والأليفاتية (مركبات هيدروكربونية ذات سلاسل مفتوحة) والمذيبات solvents والألياف الزجاجية الصناعية والمستويات العالية من الأسبستوز والديزل والغازولين في أماكن العمل قد يزيد من خطر حدوث سرطانة المبيض . ويرى العديد من الباحثين أن التعرض للكيماويات البيئية مثل المبيدات الحشرية ومبيدات الأعشاب يمكن أن يكون مرتبطاً بسرطانة المبيض ، فقد بينت بعض الدراسات أن تعرض النساء لمبيدات الأعشاب التريازينية (وهي تستخدم

في زراعة الذرة والفواكه والخضروات والعنب لإنتاج النبيذ (يزيد خطر سرطانة المبيض ٢ - ٣ أضعاف أكثر من غير المتعرضات . فالأترازين atrazine هو مركب سام للجينات ، يحرض أذيات الـ DNA في بعض الخلايا ويزيد من حدوث سرطانة المبيض والثدي عند الجرذان بعد التعرض الفموي له . وترى الدراسات السريرية والوبائية أن هناك ارتباطاً بين استخدام بودرة التالك التجميلية وسرطانة المبيض الظهارية، حيث يمكن لجزيئات التالك أن تمر عبر الجهاز التناسلي الأنثوي وتلتصق على ظهارة المبيض وتبقى هناك لفترة طويلة كافية لإحداث سرطانة مبيض ، فقد وجدت هذه الجزيئات في أورام المبيض ووجد أن المصابات بسرطانة المبيض كن أكثر استخداماً لبودرة التالك في المناطق التناسلية من النساء السليمات .

العوامل التي تقلل من خطورة حدوث سرطانة المبيض (١١٥) :

١ - العوامل التناسلية (الحمل والولادة والإرضاع) :

كما ذكر سابقاً في فقرة العوامل التناسلية التي تزيد من خطورة حدوث سرطانة المبيض وبآلية عكسية فإن العوامل التي تثبط الإباضة مثل الحمل والولادة والإرضاع تقلل من الخطورة ، فعديدات الولادة لديها خطر أقل بـ ٣٠ - ٧٠% مقارنة مع عديمات الولادة .

٢ - حبوب منع الحمل الفموية :

مانعات الحمل الفموية هي نسخ صناعية من الهرمونات الطبيعية للأنثى ، وتمثل الهرمونات المصنعة في المبايض وتحتوي الأستروجين والبروجستيرون معاً أو البروجستيرون لوحده . وقد درست العلاقة بين سرطانات الأنثى التناسلية واستخدام هذه المانعات لعقود عدة ، وبينت أنها تنقص من خطورة الإصابة بسرطانة المبيض حوالي ٤٠ - ٥٠% بالمقارنة مع عدم الاستخدام . وتظهر هذه النتيجة بشكل أفضل بعد الاستخدام لأكثر من ١٠ سنوات ، وهناك بعض الدليل على أن الجرعات المنخفضة من هذه المانعات لها تأثير واقٍ من سرطانة المبيض، بالإضافة لذلك فإن النساء

ذوات القصة العائلية لسرطانة المبيض لديهن خطورة منخفضة بحال الاستخدام الطويل لهذه المانعات .

٣ - الحمية (الغنية بالدهن غير المشبعة والخضروات والفواكه) :

فقد بينت الدراسات التأثير الواقي للحموض الدسمة غير المشبعة وزيت الزيتون والزيتون النباتية الأخرى من السرطانة وكذلك الخضروات والفواكه والبذور النباتية . وسنتناول فيما يلي أورام الظهارة السطحية للمبيض ولا سيما الخبيثة منها بتفصيل أكثر .

~~~~~  
~~~~~

أورام الظهارة السطحية للمبيض

Surface Epithelial Stromal Tumors of the Ovary

مبادئ عامة : General Features :

هذه الأورام (١٦٠، ١٦١) يشار لها بأورام الظهارة السطحية أو الأورام الظهارية عندما تكون المركبة اللحمية المشاركة قليلة الكمية ، تشكل حوالي ثلثي تشنؤات المبيض ، وأشكالها الخبيثة تشكل حوالي ٩٠% من سرطانات المبيض في العالم الغربي . على كل حال ، فإنها تكون أقل بشكل ملحوظ في الشرق الأقصى ، وذلك بسبب قلة حدوثها فعلاً من جهة وبسبب ازدياد انتشار أورام الأجهزة الأخرى من جهة ثانية . معظم الأورام الظهارية تشق بشكل أساسي من ظهارة المبيض السطحية والتي تُشتق من الظهارة الجوفية للورقة المتوسطة المغطية لأقناد الجنين . هذه الظهارة تتصل وتتتابع بالظهارة الجوفية المجاورة والتي تخترق الميزانشيم تحتها لتشكل قناة مولر . هذا التقارب الجنيني ينعكس بمختلف اتجاهات التمايز الموليراني والذي تبديه ظهارة المبيض السطحية عندما تخضع لآلية تشنؤية ، مثل الظهارة ذات النمط الأنبوبي في التشنؤات المصلية ، ظهارة بطانة الرحم في الأورام المشبهة بباطن الرحم ، وظهارة باطن عنق الرحم في بعض التشنؤات المخاطية . كلما اقتربت المرأة من سن اليأس ، فإن ظهارة المبيض السطحية غالباً ما تمتد إلى الداخل باتجاه اللحمية لتشكل

غدد احتباسية ، والتي تصبح كيسية . هذه العملية تحدث بشكل أقل تواتراً في عمر النشاط التناسلي المبكر ونادراً ما تحدث قبل البلوغ . بالرغم من أن الأورام الظهارية يمكن أن تنشأ مباشرة من الظهارة السطحية وتنمو للخارج ، لكنها غالباً ما تنشأ من الغدد الاحتباسية ، وهذا ما يشكل الطبيعة الكيسية (endophytic) لمعظم هذه الأورام . بالرغم من أن منشأ هذه الاحتباسات اقترح بأنه بسبب نمو الظهارة السطحية للأسفل في مكان الإباضة ، لكنه يوجد أدلة قليلة لصالح هذا الافتراض ، وهناك أدلة أكثر على أن العملية تشمل تفاعل الظهارة السطحية وتكاثر اللحمية . الأورام الظهارية تصبح صلبة عندما تحوي كمية كبيرة من مركب اللحمية أو عندما تتكاثر الخلايا الخبيثة ضمنها لتشكل ظهارة صلبة أو كتل ظهارية - لحمية .

بعض تحت الأنماط المتضمنة ضمن فئة الظهارة السطحية، خصوصاً الأورام المخاطية وأورام برنر ، يمكن أن لا تُشتق من الظهارة السطحية في كل الحالات . بالرغم من هذه المشكلة نسيجية المنشأ ، فإن هذه الأورام لا تزال تصنف بفئة الظهارة السطحية وذلك للحفاظ على بساطة التصنيف .

الدراسة الدقيقة للأورام الظهارية غالباً تبدي نوعين أو ثلاثة أنواع أو أكثر من أنماط الخلايا . عندما يكون نمط أو أنماط الخلايا الإضافية يشكل أقل من ١٠% من التشوُّ، فإنه يصنف على أساس النمط الخلوي المسيطر ، وإلا ، يسمى الورم الظهاري المختلط Mixed Epithelial Tumor . إن رقم الـ ١٠% اختير بشكل اعتباطي وذلك لغايات التصنيف ، لكن وجود مركب قليل الكمية يجب أن

يدون كملاحظة جانبية ، خصوصاً عندما يكون أكثر خباثة من المركب الأصلي المسيطر .

بالإضافة لكونها تقسم بحسب نمط الخلية ، فإن الأورام الظهارية تصنف بحسب أربعة معايير أخرى ، اثنان منها بنيوية والباقي متعلقة بدرجة تكاثر خلايا الورم ، ودرجة الشذوذ النووي ، ووجود أو غياب غزو اللحمية . بعض الأورام ، خصوصاً الأنماط المصلية ، يمكن أن تكون متبرعمة للخارج exophytic ، أو للدخل endophytic ، أو الاثنان معاً . عندما يكون النمو متبرعماً للخارج ، فإن كلمة سطحية تضاف للاسم ، مثلاً، السرطانة الحليمية السطحية المصلية . ما عدا ورم برنر ، والذي تقريباً دائماً ما يكون ذو مركبة لحمية مسيطرة ، فإن معظم التشوُّات الظهارية السطحية ذات أنماط الخلايا الأخرى يكون مسيطر فيها المركبة الظهارية ، مع مركبة قليلة جداً مشتقة من لحمية المبيض . عندما تملك الأورام المشكلة للغدد مركبة لحمية مسيطرة ، فإنه يستخدم مصطلح أدينوفيبروما والأدينوفيبروما الكيسية (إذا وُجدت أكياس ملحوظة عيانياً). إحدى مجموعات الأورام الظهارية تكون متوسطة بين السليمة بشكل واضح والخبيثة بشكل واضح في كل من مظاهرها النسيجية وأداءها السريري . لذلك فإن تصنيف International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) يستعمل مصطلح ذات الميل المنخفض للخباثة لمثل هذه التشوُّات ، لكن مصطلح الخباثات الحدية اختير أيضاً كاسم مفضل وبقي مستعملاً من قبل منظمة الصحة العالمية WHO عند التصنيف والتنميط النسيجي لأورام المبيض (١٦٠، ٢) .

الجدول ١ تعريف مخطط تصنيف FIGO لمراحل سرطان المبيض البدئي (مأخوذ من Jones, 2000)

المرحلة	التعريف
المرحلة I	النمو محدد في المبيضين
المرحلة Ia	النمو محدد في مبيض واحد ، لا يوجد حبن ، لا يوجد ورم على السطح الخارجي ، المحفظة سليمة .
المرحلة Ib	النمو محدد في المبيضين ، لا يوجد حبن ، لا يوجد ورم على السطح الخارجي ، المحفظة سليمة .
المرحلة Ic	الورم إما في المرحلة Ia أو Ib ، لكن مع تمزق محفظة ، أو مع وجود حبن يحوي خلايا شاذة ، أو مع غسالة بريتوانية إيجابية .
المرحلة II	النمو يشمل مبيض أو مبيضين مع امتداد حوضي .
المرحلة IIa	امتداد و/أو نقائل إلى الرحم و/أو أنابيب فالوب .
المرحلة IIb	امتداد للأنسجة الحوضية الأخرى .
المرحلة IIc	الورم إما في المرحلة IIa أو IIb ، لكن مع تمزق المحفظة ، أو مع وجود حبن يحوي خلايا شاذة ، أو مع غسالة بريتوانية إيجابية .
المرحلة III	الورم يشمل المبيض أو المبيضين مع انزراعات بريتوانية خارج الحوض و/أو عقد خلف بريتوان أو مغبنية إيجابية . نقائل الكبد السطحية تساوي المرحلة III. الورم محدد في الحوض الحقيقي لكن مثبت نسيجياً امتداد خبيث إلى الأمعاء الدقيقة أو الثرب .
المرحلة IIIa	الورم عياناً محدد في الحوض الحقيقي مع عقد سلبية لكن مع انزراعات مجهرية مثبتة نسيجياً على السطوح البريتوانية البطنية .
المرحلة IIIb	الورم يشمل مبيض أو مبيضين مع انزراعات مثبتة نسيجياً على السطوح البريتوانية البطنية ، لا تتجاوز ٢ سم قطراً . العقد سلبية .
المرحلة IIIc	الانزراعات البطنية أكبر من ٢ سم قطراً و/أو عقد خلف بريتوان أو مغبنية إيجابية .
المرحلة IV	النمو يشمل مبيض أو مبيضين مع نقائل بعيدة .

تتميز الأورام في مجموعة الخباثات الحدية بدرجة من التكاثر الظهاري أكثر من تلك المشاهدة في الأورام السليمة لنفس نمط الخلية ، وشذوذ نووي متنوع ، وغياب غزو اللحمية الواضح أو المدمر . الأورام الحدية ، على كل حال، يمكن أن تترافق مع انزراعات بريتوانية ، والتي أحياناً تكون غازية . وأكثر من ذلك ، في حوالي ٢٠% من حالات الأورام المصلية الحدية ، تبدي العقد اللمفاوية الناحية نقائل ورمية ، ولكن هناك أدلة على أن النقائل الحقيقية أقل شيوعاً من تلك النسبة المذكورة . نادراً ، الأورام الحدية تنتقل بعيداً ، لكن تشخيص الخباثات الحدية يعتمد على فحص الورم الأصلي دون الأخذ بالاعتبار وجود أو غياب امتداد خارج المبيض . إن المقاربة التشخيصية للأورام الحدية تُبرر ليس فقط بسبب الممارسة المثالية لتسمية الورم على أساس مظهره المجهرية في مكان حدوثه ، لكن أيضاً بسبب نسبة البقيا للمرضى (حتى تلك الأورام ذات المرحلة II و III) تكون بشكل نموذجي ذات بقيا أطول وأفضل من مرضى سرطانات المبيض . بعض الأورام الحدية مميت ، على كل حال ، غالباً بعد عدة سنوات .

الجدول ٢ نسبة البقيا لسرطان المبيض حسب مرحلة المرض (مأخوذ من Jones, 2000)

رقم المرحلة	المرضى المعالجين	البقيا ٣ سنوات (%)	البقيا ٥ سنوات (%)
I	٥٥٥٩	٨٧,٥	٨٢,١
II	٣٣٦٤	٧٢,١	٦٤,٥
III	٢٥٣٠	٤٧,٠	٣٨,١
IV	٤٩٢	٢٠,٧	١٤,٠
الإجمالي	١١٩٤٥	٧١,٦	٦٥,٤

إن درجة سرطانات المبيض الظهارية تعتبر مشعر إنذاري هام في كل أنماط هذه المجموعة (١٦١، ١٦٢، ١٦٣، ١٦٤، ١٦٥، ١٦٦). إن تطبيق المعايير المشابهة لتلك المستعملة في الأورام الظهارية في أنحاء الجسم الأخرى يعتبر بشكل عام جيد لتقدير الإنذار ، ما عدا بالنسبة لسرطانة الخلية الرائقة. حاولت إحدى الدراسات (١٦٣) وضع نظام لدرجات

سرطانات المبيض الظهارية مشابه لذلك المستعمل في الثدي وذلك اعتماداً على البنية النسيجية والمظاهر النووية ووجد تطابق ممتاز بين الدرجة والإنذار ، ما عدا كارسينوما الخلية الرائقة ، ولاقى قبول عالمي واسع ، وتبعتها دراستان أخرتان لنفس الموضوع (١٦٤، ١٦٥) .

الجدول ٣ نظام الدرجات المستخدم عالمياً في سرطانات المبيض

العلامة	البنية	الشذوذ الخلوي	الانقسامات / ١٠ ساحات تكبير قوي*
١	غدية	خفيف	٠ - ٩
٢	حليمية	متوسط	١٠ - ٢٤
٣	صلدة	شديد	أكثر من ٢٥ أو يساوي

* الأشكال الانقسامية تُعد في أكثر الساحات فعالية .

العلامة الاجمالية من ٣ - ٥ = الدرجة الأولى Grade I

العلامة الاجمالية من ٦ - ٧ = الدرجة الثانية Grade II

العلامة الاجمالية من ٨ - ٩ = الدرجة الثالثة Grade III

تشير البنية architecture إلى نموذج النمو الورمي المسيطر ، تقيم اللانموجية الخلوية في أكثر المناطق لانموجية .

في الدرجة I : تكون النوى الورمية منتظمة ومتماثلة بحيث لا يتجاوز التفاوت في الحجم أكثر من ضعف قطر النواة، ولا يشاهد تكتل كروماتين أو نويات واضحة. في الدرجة II: اختلافات أكبر بالحجوم النووية (حتى ٤ أضعاف حجم النواة) وربما توجد نويات صغيرة وبعض التكتل الكروماتيني . في الدرجة III : اختلافات ملحوظة بالحجوم

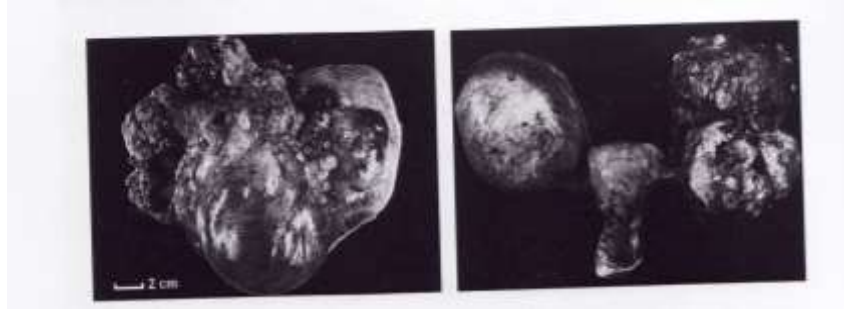
النوية أكثر من ٤ أضعاف حجم النواة ، وكذلك بالأشكال مع ارتفاع النسبة النووية الهبلوية ونويات واضحة . يقدر عدد الانقسامات في المناطق الأكثر فعالية انقسامية ، نموذجياً في محيط الورم، ويجب أن يتم العد في ٣٠ ساحة على الأقل . وتستثنى السرطانة رائقة الخلايا من التقييم بهذا النظام لعدم وجود قيمة إنذارية لذلك .

الأورام المصلية Serous Tumors :

تشكل التنتشات المصلية ٢٠% إلى ٥٠% من أورام المبيض ، وذلك بالتتالي اعتماداً فيما إذا كانت النسبة مأخوذة من الشرق الأقصى أو من البلدان الغربية . تقريباً ٧٠% من الأورام المصلية سليمة ، ٥% إلى ١٠% حدية الخباثة ، و ٢٠% إلى ٢٥% سرطانية . الأورام المصلية الحدية والغازية تشكل معاً حوالي ٣٥% إلى ٤٠% من كل سرطانات المبيض . الأورام المصلية السليمة يمكن أن تحدث في أي عمر لكنها أكثر شيوعاً في العقد الخامس . الأورام الحدية تنشأ غالباً بين عمر الـ ٣٠ والـ ٦٠ سنة ، بينما السرطانات أكثر شيوعاً بين عمر الـ ٤٠ والـ ٧٠ سنة.

المظاهر العيانية للسرطانة المصلية :

السرطانات المصلية يمكن أن تكون بشكل مسيطر كيسيية وحليمية ، صلبة وطرية أو قاسية بشكل كامل ، أو الاثنان كيسيية وصلدة . الهشاشة والنخر والنزف تعتبر مظاهر شائعة . تظهر بعض السرطانات المصلية نادراً بشكل حليمات أو عقيدات سطحية متراسة بجانب بعضها البعض ، طرية إلى قاسية ، وأحياناً نازفة ، وتتطلب فحص مجهري لتمييزها عن الأورام المصلية السطحية الحدية أو الآفات الأخرى . السرطانات المصلية تكون ثنائية الجانب في حوالي ثلثي الحالات المتقدمة ، لكن هذا يشاهد فقط في حوالي ربع حالات المرحلة I .



الشكل ٦ صورة عيانية للسرطانة المصلية مع غزو سطح المبيض

المظاهر المجهرية للسرطانة المصلية :

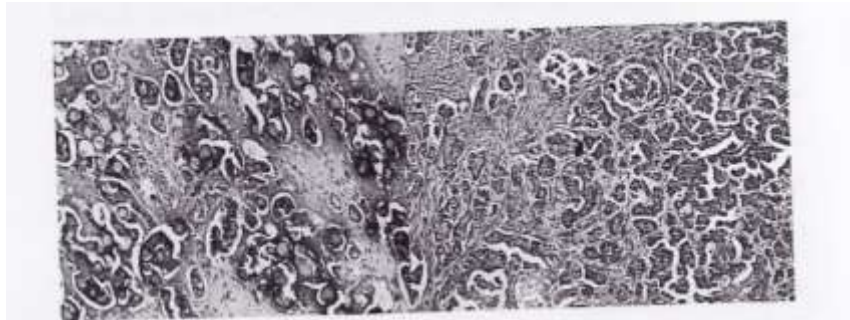
السرطانات المصلية بشكل عام تصنف إلى عالية الدرجة أو منخفضة الدرجة . الأورام منخفضة الدرجة أقل شيوعاً، وتميل لأن تحدث في نساء أصغر عمراً ، ويكون لها فترة بقيا طويلة (١٦٧) . هناك دراسة وضعت نظام درجات للسرطانات المصلية ذو درجتين يعتمد بشكل أساسي على الدرجة النووية ، مع الفعالية الانقسامية كمظهر ثانوي (١٦٨) . إن كل من الموجودات الباثولوجية والمسح بالأمواج فوق الصوتية (١٦٩، ١٧٠) اقترح أن العديد، إذا لم يكن معظم، السرطانات المصلية عالية الدرجة تنشأ بشكل مباشر (de novo) من الظهارة السطحية أو من انغماداتها الكيسية وتنتشر بسرعة باكراً في سيرها ، بالرغم من أن بعض الحالات يبدو أنها تنشأ من أورام مصلية سابقة سليمة أو حدية (١٧١، ١٧٢) . وبالعكس ، السرطانات المصلية

منخفضة الدرجة تنشأ نموذجياً ضمن الأورام المصلية الحدية أو الأدينوفيرومات ، فقط القليل منها ينشأ بشكل مباشر (de novo) من الظهارة السطحية (١٧١، ١٧٢، ١٧٣، ١٧٤) . السرطانات المصلية عالية الدرجة تبدي تعبير عالي للـ P53 ، MIB1 ، bcl-2 ، HER2/neu ، c-kit بالمقارنة مع الأورام منخفضة الدرجة (١٧٥) . أيضاً ، السرطانات المصلية منخفضة الدرجة وعالية الدرجة كل منها له نمط جيني محدد (١٧٥، ١٧٦، ١٧٧، ١٧٨، ١٧٩، ١٨٠) . فهناك دراسة وجدت أن طفرات الـ BRAF و الـ KRAS والتي تكون شائعة في الأورام المصلية الحدية والسرطانات المصلية منخفضة الدرجة تكون غائبة في السرطانات المصلية عالية الدرجة ، باستثناء تلك الناشئة من الأورام المصلية الحدية (١٧٩) . السرطانات المصلية عالية الدرجة عادة تبدي غزو لحمية واضح . هناك استثناءات نادرة لا يمكن فيها كشف غزو

لحمي وتتضمن الحالات التي يكون لها نمو نحو الخارج فقط (مثل في بعض السرطانات المصلية السطحية) أو في بعض السرطانات المصلية المحددة في بطانة الكيسة ، لكن في مثل هذه الحالات يكون للنسيج الورمي مظهر مميز للسرطانة المصلية . معظم السرطانات المصلية لها درجة نووية عالية وتتميز بحليمات ناعمة غير مرتبة مع لحمة قليلة داعمة أو بدونها ، ولمعات غدية غير منتظمة ، غالباً بشكل شقوق ، أو مدورة ، أو بشكل أكياس مجهريه ضمن المناطق الصلدة (١٨١) . ونادراً ما تبدي بعض الأورام بؤر من تمايز شائك (١٨٢) .

تتميز السرطانات المصلية منخفضة الدرجة عادة بارتشاح غير منتظم لأعشاش صغيرة متماسكة من خلايا ورمية ضمن كمية متفاوتة من لحمة ليفية ورمية أو هياينية ، والتي غالباً ما تحوي أجسام بسموما أو توضعات كلسية أكبر . بعض الأورام لها نموذج حليمي مجهري يمكن أن يكون متبرعم للخارج (تشبه تلك المشاهدة في الأورام المصلية الحدية الحليمية المجهريه) أو متبرعمة للداخل ، حيث تلتمح الحليمة المجهريه بشبكة معقدة من فراغات غير منتظمة (١٧٣) . ونادراً ، تتميز بعض السرطانات المصلية

جيدة التمايز بوجود حليمات لحمية ضمن اللحمه الليفيه مبطنة بخلايا ورمية متوضعة في الفراغات التي تعوزها الخلايا البطانية (نموذج كبير الحليمات [١٨٣]) ، الفراغات يمكن أن تنشأ نتيجة إفراز السائل المصلي من قبل الخلايا الورمية . هناك شكل نادر من السرطانات المصلية منخفضة الدرجة مع إنذار أفضل يسمى Psammocarcinoma (١٨٤) . هذا الورم ، والذي يمكن أن يكون أيضاً بدئياً في البريتوان ، يبدو أنه يسلك سريراً بشكل شبيه للورم المصلي الحدي أكثر من السرطانات المصلية ، لكنه يختلف بمظاهره المجهريه عن الأورام الحدية وذلك بارتشاحه في لحمه المبيض أو أعضاء البريتوان الأخرى . هناك أربعة معايير ينصح بها لتشخيص الـ Psammocarcinoma وهي: ١) غزو لحمه المبيض أو فراغاتها الوعائية للمفاوية (أو ، في الأورام خارج المبيض ، غزو أي نسيج داخل البريتوان أو فراغاته الوعائية للمفاوية) ، ٢) لا يوجد هناك أكثر من شذوذ نووي خفيف إلى متوسط ، ٣) أعشاش ظاهرية ليست أكثر من ١٥ خلية في بعدها الكبير ، ٤) وجود أجسام بسموما على الأقل في ٧٥% من الحليمات أو الأعشاش .



الشكل ٧ صور مجهريه للسرطانة المصلية والسرطانة الرملية

الدراسات الجزيئية :

السرطانات المصلية عالية الدرجة تبدي عادة طفرات في الـ P53 وطفرات في الخط الصبغي ١٧ BRCA1 و/أو BRCA2 . يوجد هناك عدم ثبات جيني ملحوظ ، مع تغيرات معقدة واختلال في الصيغة الصبغية . السرطانات

التلوينات المناعية :

السرطانات المصلية تأخذ تلوينات مناعية مثل نظيرتها السليمة والحدية أي إيجابية لـ Ber-EP4 ، WT1 ، CK7 ، CD15 (Leu-M1) وسلبية لـ CK20 .

المصلية منخفضة الدرجة (الدرجة ١) تبدي تغيرات جينية تشبه تلك المشاهدة في الأورام المصلية الحدية (مثل طفرات BRAF أو K-RAS) .

العلاج والإنذار :

معظم المرضى يوجد لديهم نقائل خارج المبيض وقت التشخيص لذلك يكون الإنذار عادة سيء ونسبة البقاء لخمس سنوات ٣٠ - ٤٠% وذلك اعتماداً على المرحلة . العلاج يكون كما في السرطانات الظهارية الأخرى للمبيض باستئصال الرحم التام مع الملحقات والبريتوان المصاب يتلو ذلك العلاج الكيميائي الداعم . وبالرغم من الاستجابة الجيدة للعلاج الكيميائي إلا أنها ليست دائمة ومعظم المرضى يموتون بعد ذلك .

الأورام المخاطية Mucinous Tumors :

أورام المبيض المخاطية تتميز بغدد وأكياس ، التي يمكن أن يكون لها حليمات ، مبطنة بدرجة مختلفة بخلايا ظهارية تحوي مخاط . هذه الأورام تشكل حوالي ١٢% إلى ١٥% من أورام المبيض في البلدان الغربية ونسبة أعلى في بلدان الشرق الأقصى ، على الأقل جزئياً بسبب نقص انتشار الأورام الأخرى ، مثل الأورام المصلية ، في آسيا . تقريباً ٥% من تشنؤات المبيض المخاطية تكون سرطانات غازية ، ٢٠% حدية ، ٧٥% سليمة . المنشأ المحتمل لهذه الأورام يتضمن الظهارة السطحية ، الخلايا الإنتاشية ، الغدد المخاطية في مناطق السرة اللبية، وأعشاش الخلايا الانتقالية في نفس الموقع .

الأورام المخاطية تميل لأن تكون أكبر من كل أورام المبيض . العديد منها يقيس ١٥ سم أو أكثر قطراً ، وبعضها يتجاوز ٣٠ سم ويمكن أن تزن حتى ٤٠٠٠ غ أو أكثر . الأورام الحدية ذات النمط المعوي لا تختلف عيانياً عن الأدينومات الكيسية . السرطانة الغدية الكيسية المخاطية يمكن أن يكون لها مظاهر تقليدية تقترح عيانياً الخباثة ، مثل النخر والنزف ، لكن العديد منها لا يميز عيانياً عن الأورام المخاطية السليمة والحدية . بالإضافة

لذلك ، بعض الأورام السليمة يمكن أن تبدي نخر احتشائي مما يستدعي توخي الحذر بالفحص العياني .

إن منشأ الأورام المخاطية الفردية غامض في معظم الحالات ، وليس مثل بعض نماذج الخلايا الورمية الأخرى في فئة الأورام الظهارية ، فإن الخلايا المخاطية نادراً ما تشاهد مبطنة لغدد الظهارة السطحية الاحتبائية ، وأكثر من ذلك نادراً ما تستبدل الظهارة السطحية نفسها . هناك دليل ، على كل حال ، بأن بعض الأورام المخاطية، خصوصاً تلك ذات النموذج المخاطي المشبه بباطن عنق الرحم ومجموعة الأورام الموليريانية المختلطة الحدية ، من المحتمل أن تكون ذات منشأ ظهاري سطحي لأن النمط المختلط يمكن أن يتضمن خلايا أخرى نموذج موليريان ، والأكياس والفجوات في كلا الورمين يمكن أن تكون استمرار لأكياس الإندومتريوز .

بالرغم من أن فقط حوالي ٥% من الأورام المخاطية تنشأ في جدار الأكياس الجلدية (dermoid cyst) ، إلا أن هذا الترافق نوعاً ما أكثر حدوثاً بالنسبة للأنواع الأخرى في فئة الأورام الظهارية السطحية . بالإضافة لذلك ، فإن الغدد المخاطية تشاهد بشكل شائع في الأكياس الجلدية . هذا الدليل يقترح إمكانية أن بعض الأورام المخاطية الصافية يمكن أن تكون أورام عجائبية وحيدة الأدمة . معظم الأورام المخاطية الحدية تتميز بظهارة نموذج معوي ، حيث غالباً ما نجد خلايا غوبلت ، وأحياناً تشاهد خلايا أليفة للفضة وخلايا بانيت . الخلايا الغدية الصماوية يمكن أن تشاهد بنسبة عالية في الأورام المخاطية وذلك بالتلوينات الخاصة (١٨٥) . وبشكل مفاجئ ، التلوين المناعي والفحص بالمجهر الإلكتروني أيضاً أبدى أنه حتى الظهارة المبطنة للأدينوما المخاطية الكيسية النموذجية ، والتي بشكل عام اعتبرت أنها مشبهة بباطن عنق الرحم ، لها مظاهر بواب المعدة أكثر من ظهارة باطن عنق الرحم (١٨٦) . وجود العناصر المعدية المعوية على كل حال لا يشير بالضرورة إلى منشأ من خلايا إنتاشية للأورام المخاطية التي تحويها . ونادراً ما نشاهد استمرارية لبطانة كيسة الإندومتريوز ، والأدينومات

مع بؤر من سرطانة غازية أقل من ١٠ ملم^٢ (البؤر الغازية تنشأ عادة من السرطانة داخل الظهارة) ، ٣) السرطانة الغازية حيث بؤر الغزو تتجاوز الحد المسموح به للسرطانة ذات الغزو المجهرى (الغزو يمكن أن يكون بشكل امتداد سطحي أو بشكل مرتشح) . تقريباً كل السرطانات المخاطية الغازية ذات نموذج معوي وعادة تنشأ من بؤر سرطانة داخل الظهارة ، غالباً على خلفية ورم مخاطي حدي ذو نموذج معوي ، هذه الموجودات تقترح منشأ هذه السرطانات من آفات موجودة مسبقاً أقل خبيثة . وكما ذكر سابقاً ، بعض السرطانات المخاطية النادرة جداً تكون ذات نموذج مشبه بباطن عنق الرحم أو نموذج موليريان المختلط ، ثلاثة من كل أربعة حالات من هذه الأورام كانت مترافقة مع إندومتريوز في المبيض المقابل وواحدة من كل أربعة كانت مترافقة مع ورم مخاطي حدي ذو نموذج مشبه بباطن عنق الرحم في المبيض المقابل (١٩٨) .

نحن نشخص السرطانة داخل الظهارة في الورم المخاطي الحدي ذو النموذج المعوي إذا كان الشذوذ النووي واضح. في مثل هذه الحالات ، تبدي الخلايا السرطانية عادة تطبق خلوي واضح ، حليمات خالية من اللحمية ، نموذج غربالي ، أو نموذج مشترك من الاثنين . الأورام المخاطية الحدية ذات النموذج المعوي مع سرطانة داخل الظهارة تتطلب فحص دقيق ومقاطع متعددة من الورم لنفي وجود بؤر غزو. معظم هذه الأورام يكون في المرحلة I ، بالرغم من أن بعض الأورام النادرة تنكس (١٩٦) .

الكيسية المخاطية ، وظهارة النموذج المعوي مع خلايا غوبلت ، مما يقترح المنشأ الحؤولي لهذا الأخير. البحث عن ورم مبيضي مخاطي باكر اقترح أن بعضها ينشأ من الانغمادات المخاطية في المنطقة السرية اللبية للمبيض أو من أعشاش الخلايا الانتقالية المشابهة لتلك الموجودة في ورم برنر في نفس المواقع (١٨٧) .

إن الأورام المخاطية نادراً ما توجد مع مظاهر غدية صماوية بدلاً من وجودها مع أعراض أو أدلة سريرية لكتلة مبيض في الحوض أو البطن . إن وجود الخلايا الغدية الصماوية يشكل مصدر استثنائي لمتلازمة الكارسينويد ويتعلق ذلك بمحتواها من الخلايا المفرزة للسيروتونين ، وأحياناً تبدي متلازمة زولينجر - أليسون بسبب الخلايا المفرزة للغاسترين (١٨٨) . الأورام الكيسية المخاطية هي من بين أشيع الأسباب التي تعرض لحمة المبيض لتتوتن وتنتج تأثيرات هرمونية ستيروئيدية مشابهة لتلك التي للأورام الوظيفية النموذجية للمبيض ، وهذه الأورام من أشيع أسباب الترجل عند النساء اليافعات خلال الحمل .

المظاهر المجهرية للأورام المخاطية الخبيثة :

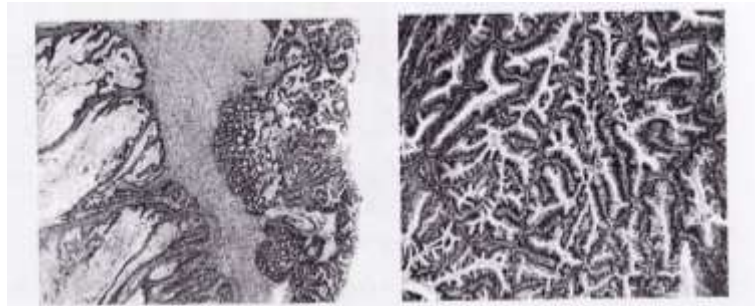
الأورام المخاطية التي تحوي ظهارة سرطانة واضحة (١٨٩)، ١٩٠، ١٩١، ١٩٢، ١٩٣، ١٩٤، ١٩٥، ١٩٦، ١٩٧) يمكن أن تقسم إلى ما يلي : ١) سرطانة داخل الظهارة (أيضاً تدعى السرطانة داخل الغدية أو غير الغازية [١٩٣]) ، مثل هذه البؤر عادة تنشأ على خلفية الأورام المخاطية الحدية ذات النموذج المعوي (ورم مخاطي حدي ذو نموذج معوي مع كارسينوما داخل الظهارة) ، ٢) سرطانة مع غزو مجهرى (أي ورم



الشكل ٨ سرطانة داخل ظهارية في ورم مخاطي حدي

إن أخذ مقاطع كافية من أورام المبيض المخاطية ذات النموذج المعوي يعتبر مهم جداً لأن كل المركبات السليمة والحدية والخبيثة يمكن أن تترافق ضمن نفس العينة . كل حجرة يجب أن تفتح وتفحص ، ويجب أن يتم البحث عن مناطق صلبة أو متخثرة أو حليمية . ومن المفيد أخذ مقاطع من كل ١ - ٢ سم من قطر الورم ، لكن عدد المقاطع يعتمد بشكل أساسي على المناطق المشكوك فيها عيانياً . غالباً ، من الضروري أخذ مقاطع إضافية إذا وجدنا مظاهر مقلقة في السلايدات الأولى ، خصوصاً في الحالات الحدية مع مركبة سرطانية داخل الظهارة أو سرطانية ذات غزو مجهري . التشخيص الدقيق بالمقاطع المجمدة يكون صعباً غالباً لأنه لا يمكن دائماً أخذ مقاطع كافية من الورم وقت الجراحة . عندما يوضع تشخيص ورم مخاطي حدي ذو نموذج معوي بالمقاطع المجمدة ، يجب أن يأخذ الجراح في الاعتبار بأن المقاطع اللاحقة الروتينية يمكن أن تظهر مناطق سرطانية .

الغزو ذو الامتداد السطحي في السرطانات المخاطية يتميز بنمو واسع لغدد بجانب بعضها البعض back-to-back أو أكياس مبطنة بظهارة خبيثة تحتل مساحة أكثر من ١٠ ملم^٢ . الغزو المرتشح يشخص عندما يكون هناك اختراق للحمية غير منتظم بغدد مشوهة ، عناقيد ، حبال ، أو أعشاش من خلايا ، عادة تحرض ارتكاس اللحمية . السرطانات المخاطية ذات الغزو ذو الامتداد السطحي تكون بمعظمها في المرحلة I وتنكس فقط في حوالي ٥٠% من الحالات ، خطر النكس مماثل لذلك الذي للأورام المخاطية الحدية ذات النموذج المعوي مع مركبة سرطانية داخل الظهارة أو سرطانية غازية بشكل مجهري (١٩٦) . وبالعكس ، حوالي نصف السرطانات المخاطية ذات الغزو الارتشاحي تكون في المرحلة II أو أعلى ، مثل هذه الأورام تكون عادة قاتلة . حتى السرطانات المخاطية في المرحلة I ذات الغزو الارتشاحي تترافق عادة بخطر نكس حوالي ٢٠% (١٩٦) .



الشكل ٩ سرطانية مخاطية مرحلة I

الدراسات الجزيئية :

السرطانات المخاطية تبدي بشكل شائع طفرات في الـ KRAS . وهذه الأورام تعتبر وحيدة بين سرطانات الظهارة السطحية بكونها لا تترافق مع تغيرات جينية في الـ BRCA1 و/أو الـ BRCA2 .

العلاج والإنذار :

تعتبر المرحلة أهم مشعر إنذاري في مرضى السرطانات الغدية المخاطية . معظم الأورام تكون في المرحلة I عندما

التلوينات المناعية :

السرطانات الغدية المخاطية تبدي تمايز معوي وتكون إيجابية لـ CDX2 , CK20 , CK7 , CEA وسلبية لـ CA125 . هناك اختلاف بنسبة التلوين المناعي بين السرطانات الغدية المخاطية البدئية والانتقالية ، لكن هذا غير كافٍ للتمييز بشكل دقيق بين بعض الحالات .

أكثر من كونه ورم حقيقي. الأورام المشبهة بباطن الرحم السليمة ، باستثناء الأدينوفيروما ، نادرة جداً (١٩٩) . الأورام المشبهة بباطن الرحم ذات الخباثة الحدية أيضاً غير شائعة (٢٠٠، ٢٠١، ٢٠٢). تحدث السرطانة المشبهة بباطن الرحم بشكل أساسي في العقد الخامس وما بعد ، حيث يكون متوسط العمر ٥٢ سنة (٢٠٣، ٢٠٤) .

المظاهر العيانية :

الأدينوفيروما المشبهة بباطن الرحم ، بما فيها تلك ذات الخباثة الحدية ، تكون أورام مصمتة بشكل رئيسي ، ويمكن أن تحوي أعداد متنوعة من الأكياس (أدينوفيروما كيسية) . السرطانة المشبهة بباطن الرحم يمكن أن تكون كيسية أو مصمتة ، ولا يوجد مظاهر عيانية تميزها عن السرطانات المصلية ما عدا ترافقها بالصدفة أو نشوئها ضمن كيسة إندومتریوز . في مثل هذه الحالات ، نشاهد كيسة شوكلاتية نموذجية تحوي نمو بوليبي داخل اللعة، والذي يمكن أن يترافق مع غزو للنسيج المجاور . إن تحدد الورم داخل لعة الكيسة يجب أن يذكر لأن له قيمة إنذارية أفضل . السرطانة المشبهة بباطن الرحم غالباً ما يكون لها مركبة من أدينوفيروما ، والتي يمكن أن تشكل معظم المظهر العياني للورم . أكثر من ثلث سرطانات المبيض المشبهة بباطن الرحم تترافق مع سرطانة غدية في باطن الرحم .

تكشف وهؤلاء المرضى إنذارهم ممتاز . أقل من ٥% من المرضى ذوي المرحلة I وما دون يبدون نكس ، وهكذا لا داعي للعلاج الكيميائي بالنسبة لهؤلاء المرضى. وبشكل هام ، عندما يظهر هؤلاء المرضى نكس فإنه يحدث باكراً (خلال ٣ سنوات من التشخيص) ولا يبدو أنه يستجيب جيداً للعلاج الشعاعي أو الكيميائي ، ويؤدي عادة إلى الموت. على كل حال ، يبدو أن العلاج الكيميائي أقل فعالية في السرطانات المخاطية منها في السرطانات المصلية .

الأورام الشبيهة بباطن الرحم Endometrioid Tumors

Tumors:

معظم هذه الأورام تشق بشكل أساسي من الظهارة السطحية، ومن المحتمل أن تنشأ بشكل غير مباشر من أدينوفيروما سليمة أو حدية ، أو من إندومتریوز ، والذي يعتبر غير نموذجي . حالات فرط الأستروجين يبدو أن لها دور في التحول الخبيث للإندومتریوز .

السرطانات المشبهة بباطن الرحم ، والتي تشكل أكثر من ١٥% من سرطانات المبيض ، تعرف كورم يشبه بشكل كبير أحد الأشكال العديدة لسرطانة باطن الرحم الغدية . إن المنشأ من الإندومتریوز ، والذي يمكن أن يثبت نسيجياً باكتشاف التحول المباشر في ٥% إلى ١٠% من الحالات، غير مطلوب للتشخيص . يعتبر الإندومتریوز بشكل عام من قبل المشرحين المرضيين كحؤول أو نتيجة انزراعات ،



الشكل ١٠ صورة عيانية لسرطانة غدية مشبهة بباطن الرحم

المظاهر المجهرية :

لفرط التصنع ، أو لأدينوكارسينوما بطانة الرحم . يمكن أن يشاهد ترافقها مع الإندومتریوز . الأشكال السليمة للتشوهات المشبهة بباطن الرحم تتضمن آفات نادرة تشبه بوليبيات

الأورام المشبهة بباطن الرحم تتميز بغدد أنبوبية متنوعة تشبه تلك التي للطور التكاثري ، أو للطور الإفرازي ، أو

باطن الرحم ، والتي يمكن أن تتشأ من أكياس إندومتريوز ، وبعضها يكون بشكل أدينوفيبروما ، وهذه يبدي بعضها بؤر من حؤول شائك فتسمى adenoacanthofibroma (١٩٩، ٢٠٥) . وهذه الأخيرة يمكن أن تؤدي إلى ارتكاس ليفي تكاثري في اللحمية يجب أن نميزه عن الارتكاس الورمي للغزو . في الأورام المشبهة بباطن الرحم ذات الخبثة الحدية ، تكون ظاهرة الغدد غير نموذجية بشكل شديد أو يكون لها مظهر السرطانات منخفضة الدرجة ، لكنها لا تغزو اللحمية بشكل غير منتظم (١٩٩، ٢٠٠، ٢٠١، ٢٠٢، ٢٠٥) .

الدرجات المختلفة من فرط التصنع اللانمذجي ضمن بؤرة إندومتريوز ، والتي غالباً ما تكون موجودة ، يجب أن تصنف كافة ما قبل سرطانية حسب المصطلحات المستعملة في آفات الرحم المشابهة ، وليس كتتشؤات .

تتميز السرطانة الغدية المشبهة بباطن الرحم النموذجية بوجود غدد أنبوبية مميزة مبطنة بظاهرة مطبقة خالية من المخاط (٢٠٣، ٢٠٤) . الغدد ممكن أن تكون متسعة بشكل كيسي ، وتشاهد حليمات زغابية أحياناً ضمن لمعة الكيسة. ونادراً تتبثق حليمات صغيرة غير زغابية من الغدد أو من الحليمات الزغابية تماماً مثل تلك المشاهدة في سرطانات باطن الرحم الغدية . في ربع إلى ثلث حالات السرطانات المشبهة بباطن الرحم ، تتمايز خلايا الغدد بؤرياً إلى خلايا شائكة ، وهذا يتراوح من مظهر سليم لكرات قرنين مدورة إلى بيضوية إلى خلايا شائكة خبيثة بشكل واضح (٢٠٦) .

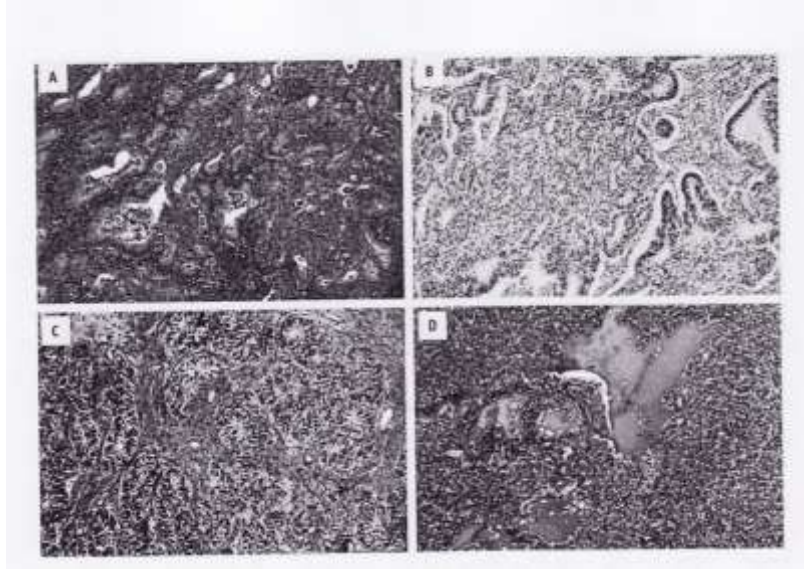
يمكن أن تشاهد خلايا مغزلية في السرطانات المشبهة بباطن الرحم ، وأحياناً تندمج مع بؤر من تمايز شائك مجهض ، وهذا يقترح بأنه على الأقل بعض حالات الخلايا المغزلية مؤلفة من خلايا متميزة بشكل شائك مجهضة . (٢٠٧)

أحياناً تشاهد في سرطانات المبيض المشبهة بباطن الرحم فجوات حويصلية قاعدية مشابهة لتلك المشاهدة في الخلايا البطانية في اليوم ١٦ من الدورة الطمثية (السرطانات الإفرازية) ، مثلما يشاهد في نسبة قليلة من السرطانات الغدية لباطن الرحم . أحياناً ، يمكن أن تشاهد خلايا رائقة غير تلك المشاهدة في النموذج الإفرازي في السرطانات المشبهة بباطن الرحم (٢١٥) .

يمكن أن يشاهد إفراز مخاطي غزير في السرطانات المشبهة بباطن الرحم ، لكن نموذجياً المخاط يفرز من سطوح الخلايا أو يتجمع فقط في الجزء العلوي للهولى . أحياناً السرطانات الغدية المشبهة بباطن الرحم تكون ذات خلايا مهدبة أو حامضية التلون (٢٠٨، ٢٠٩) . ونادراً ما تحوي السرطانات الغدية المشبهة بباطن الرحم مركبة من ورم الكيس المحي (٢١٦، ٢١٠) .

السرطانات المشبهة بباطن الرحم لها نماذج غير اعتيادية تشبه أورام لحمية الحبل الجنسي (٢١١، ٢١٢، ٢١٣، ٢١٤) . غدد صغيرة ، بنى أنبوبية مصمتة ، حبال قصيرة من خلايا ورمية يمكن أن لا نميزها بالتلون الروتيني عن التجايف أو الأنابيب المصمتة أو التشكلات المشبهة بالحبال الجنسية لورم خلايا سيرتولي أو ورم خلايا سيرتولي - لايدغ . الجزر والترايبق الظهارية ، خصوصاً عندما تكون مثقبة بعنات صغيرة ، يمكن أن تشبه النموذج الجزيري أو الترايبقي أو ذو الجريبات الصغيرة لورم الخلايا الحبيبية .

السرطانات المشبهة بباطن الرحم ، مثل باقي أنماط أورام المبيض ، يمكن أن تحوي خلايا لوتئينينية في لحمها ، وعندما تفصل هذه الخلايا الغدد الأنبوبية الصغيرة ، يكون التشابه كبير مع ورم خلايا سيرتولي - لايدغ جيد التمايز .



الشكل ١١ صور مجهرية لسرطانة غدية مشبهة بباطن الرحم نموذج غربالي - مغزلي - أنبوبى صلد - جريبي (يشبه ورم الخلايا الحبيبية)

التلوينات المناعية :

ثنائي الجانب (يعتبر شافياً . السرطانات الغدية المشبهة بباطن الرحم تكون عادة محددة في المبيض ، ويكون لدى المرضى نسبة بقيا لخمس سنوات أكثر من ٩٠% . عندما يكون هناك انتشار خارج مبيضي يسوء الإنذار ويقدم علاج كيميائي داعم . الاستئصال الجراحي لكارسينومات المبيض الغدية المشبهة بباطن الرحم مشابه لذلك الذي لسرطانات الظهارة السطحية للمبيض الأخرى .

الأورام المشبهة بباطن الرحم تبدي الواسمات الظهارية ، بما في ذلك السيتوكيراتين والـ EMA، ومعظمها يبدي إيجابية الـ CK7 وسلبية الـ CK20 . أيضاً تكون الخلايا الورمية إيجابية لـ B72.3 ، ER ، PR وسلبية للألفا-إنهبين والكالريتينين .

الدراسات الجزيئية :

معظم سرطانات المبيض الغدية المشبهة بباطن الرحم تكون فردية ، لكن نسبة قليلة منها تحدث في مرضى لديهم طفرات في الخط الصبغي لإصلاح خلل التصالب الجيني للـ DNA وتترافق مع متلازمة سرطان الكولون والمستقيم غير البوليبي الوراثي . الطفرات الجسمية في الـ PTEN والـ beta-catenin تعتبر أكثر التغيرات الجينية شيوعاً في سرطانات المبيض المشبهة بباطن الرحم الفردية ، يتبع ذلك بعدم ثبات التتابع الدقيقة (microsatellite instability) بسبب MLH1 promotor methylation .

العلاج والإنذار :

الأدينوفيرومات المشبهة بباطن الرحم والأورام الحدية لها سير سريري سليم . الاستئصال الكامل (استئصال الملحقات وحيد الجانب أو استئصال الرحم التام والملحقات

أورام الوريقة المتوسطة المختلطة الخبيثة

: Malignant Mesodermal Mixed Tumors

إن أورام الوريقة المتوسطة المختلطة الخبيثة للمبيض (كارسينوساركوما) (٢١٧، ٢١٨، ٢١٩، ٢٢٠، ٢٢١، ٢٢٢، ٢٢٣، ٢٢٤) متضمنة ضمن فئة الأورام المشبهة بباطن الرحم لأنها تشبه الأورام ذات نفس الوصف المتضمنة بشكل شائع في باطن الرحم . إن هذه الأورام تحوي عناصر ظهارية وميزانشيمية (وكلاهما خبيث) ، والتلوين المناعي والدراسات الجينية أثبتت المنشأ من كلا المركبين . هذه الأورام تتطور عند النساء غالباً بعد سن اليأس وتعتبر عالية الخباثة .

المظاهر العيانية :

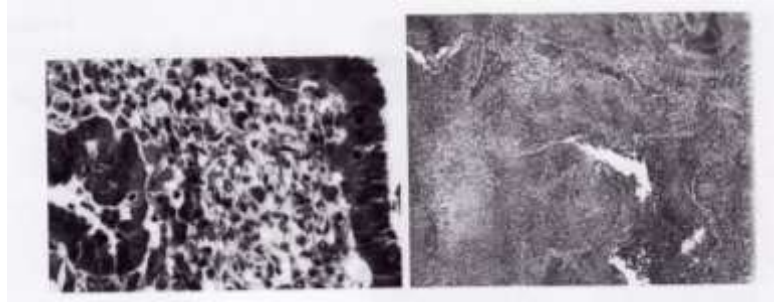
هذه الأورام تتألف من نسيج طري إلى قاسي ، أصفر إلى بني ، مصمت ، وغالباً ما يبدي نزف ونخر وتتكس كيسي .

يمكن أن يكون كيسياً بشكل مسيطر . أحياناً يمكن أن يكون هناك غضروف أو عظم واضح بالجس .

المظاهر المجهرية :

المركبة الظهارية عادة تكون عالية الدرجة وغالباً تشبه السرطانة المصلية أو المشبهة بباطن الرحم ، لكن يمكن أن نشاهد أيضاً عناصر خبيثة مخاطية أو شائكة أو رائقة الخلايا أو سرطانة غير متميزة بما فيها السرطانة صغيرة الخلايا ذات النموذج الرئوي . المركبة الميزانشيمية يمكن أن يكون لها مظاهر الفيبروساركوما ، الساركوما العضلية الملساء ، الساركوما اللحمية المشبهة بباطن الرحم ، أو ساركوما غير محددة ، أو في الأورام المتغايرة ، الساركوما العضلية المخططة ، الساركوما الغضروفية أو الساركوما

العظمية . قطيرات الهالين داخل الخلوية وخارج الخلوية ، والتي تكون إيجابية التلون لل PAS ، يمكن أن توجد في مركبة الساركوما وأحياناً في مركبة الكارسينوما . يمكن أن نشاهد في بعض الأورام النادرة أنماط من الأنسجة غير المشتقة من الوريقة المتوسطة مثل التمايز الدبقي والعصبي (بما فيها بؤر تشبه ورم الوريقة الخارجية العصبي المحيطي) ، الخلايا ذات النموذج الكبدي جيدة التمايز ، وتمايز الأرومات المغذية السديمية . بعض الأورام النادرة تترافق بارتفاع مستوى الألفا فيتوبروتين في المصل . تترافق مع إنذار سيء جداً ، بالرغم من وجود ناجين بين المرضى المحدد الورم لديهم داخل المبيض وقت التشخيص .



الشكل ١٢ ورم الوريقة المتوسطة المختلط الخبيث

ساركومات الوريقة المتوسطة الغدية (موليريان)

Mesodermal (Mullerian) Adenosarcomas :

هذه الأورام ، والتي ذكر منها أكثر من ٥٠ حالة (٢٢٥) ، معظمها صلبة وتحوي العديد من الأكياس الصغيرة . تحدث في الأعمار المتقدمة (متوسط العمر ٥٤ سنة) وإنذارها أسوأ من مثيلاتها المجهرية الأشيع منها والموجودة في الرحم، تقريباً نصف المرضى يموتون من الورم بعد ٥ سنوات . الفحص المجهرى يبدي مركبة لحمية خبيثة ومركبة غدية عادة مشبهة بباطن الرحم ، لكن يمكن أن

تبدي أنماط مختلفة أخرى من التمايز الموليرياني . الظهارة تبدو سليمة أو شاذة بشكل خفيف ، وأحياناً تشبه الكارسينوما الغدية في الموضع In-Situ . المركبة اللحمية تبدو بشكل وصفي كأطواق حول الغدد وتشكل اندفاعات بوليبيدية داخل الغدد . أحياناً تشاهد عناصر متغايرة ، تشكلات تشبه الحبل الجنسي ، وفرط نمو ساركومي . الإنذار سيء جداً مع حدوث نكس في ثلثي المرضى (بشكل وسطي بعد ٢,٦ سنة من الجراحة) بالرغم من أن معظم المرضى يشخصون بالمرحلة I .



الشكل ١٣ ساركوما الوريقة المتوسطة الغدية (موليريان)

الساركومات اللحمية المشبهة بباطن الرحم

: Endometrioid Stromal Sarcomas

مظاهر عامة :

المشكلة الأساسية في تشخيص الساركومات اللحمية المشبهة بباطن الرحم البدئية في المبيض هو تمييزها عن نقائل الساركوما اللحمية المشبهة بباطن الرحم ، وهي نوع من الساركوما ينتقل غالباً إلى المبيض (٢٢٦، ٢٢٧) . في إحدى الدراسات لـ ٢٣ ساركوما لحمية مشبهة بباطن الرحم في المبيض (٢٢٧) ، ٩ أورام منها شملت الرحم أيضاً ، وعلى الأقل في ٥ حالات من هذه الحالات التسع، كان هناك دليل قوي على انتقال الورم من الرحم إلى المبيضين. وهكذا ، قبل تشخيص الساركوما اللحمية المشبهة بباطن الرحم البدئية في المبيض ، يجب أخذ قصة دقيقة وخصوصاً التدقيق على الرحم ، ومراجعة الفحص المجري إذا كان بالإمكان لعينة استئصال الرحم السابق لنفي إمكانية وجود ورم مشابه غير مشخص .

في بعض حالات ساركوما المبيض اللحمية المشبهة بباطن الرحم حيث يوجد قصة ورم رحمي قديم ، يكون من المستحيل التأكد فيما إذا كان ورم المبيض بدئي أو منتقل من الرحم . المنشأ من إندومتريوز المبيض يثبت الطبيعة البدئية للورم في المبيض . في دراسة شاهد لـ ١٤ مريضة بدون قصة مرض داخل الرحم كان متوسط العمر ٥٢ سنة. الأعراض السريرية كانت مشابهة للمريضات ذوات أورام

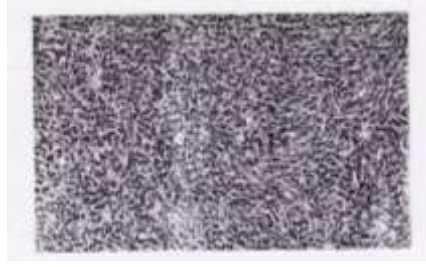
المبيض الأخرى . فقط ٤ من ١٤ ورم كان بالمرحلة I . الأورام مع عدد انقسامات أكثر من ١٠ لكل ١٠ ساحات تكبير قوي ترافقت مع بقيا أسوأ من الأورام ذوات عدد الانقسامات الأقل من ذلك .

المظاهر العيانية :

هذه الأورام غالباً كبيرة ويمكن أن تكون مصمتة ، مصمتة وكيسية ، أو نادراً كيسية بشكل مسيطر . سطح قطع المناطق المصمتة عادة مصطبغ إلى أصفر وطري إلى قاسي . توجد بؤر نخر ونزف في ثلثي الحالات تقريباً .

المظاهر المجهرية :

الشكل الأشيع هو نسق منتشر من خلايا صغيرة . نموذج النمو ذو الامتداد المشبه باللسان خارج الأوعية وداخل الأوعية والمشاهد في الأورام الرحمية المماثلة نادراً ما يشاهد في المبيض ، لكنه يشاهد عندما يمتد الورم إلى الحوض أو البطن . شريينات صغيرة تشبه الشريينات الحلزونية لبطانة الرحم غالباً ما تكون منتشرة بشكل متماثل ضمن الورم . الخلايا الورمية تكون عادة صغيرة وبيضوية إلى مغزلية الشكل قليلاً ذات هيولى قليلة . أحياناً الورم يحوي بؤر من نموذج يشبه الحبل الجنسي مشابه لذلك الموجود في أورام بطانة الرحم اللحمية المماثلة . المكونات الكبيرة لا تميز عن فيبروما المبيض ، وغالباً ما نجد تجمع لخلايا رغوية وصفائح هيالين . في نصف الحالات تقريباً ، يحدد وجود إندومتريوز مجاور للورم .



الشكل ١٤ ساركوما لحمية مشبهة بباطن الرحم

المظاهر العيانية :

الأدينوفيرومات رائقة الخلايا (١٩٩، ٢٣٥، ٢٣٦، ٢٣٧) لا تميز بالفحص العياني عن أي شكل من أشكال الأدينوفيروما الأخرى ، على كل حال ، الوجود الوصفي لأكياس صغيرة متعددة متراصة بجانب بعضها يقترح التشخيص . سرطانات الخلية الرائقة (٢٢٨، ٢٢٩، ٢٣٠، ٢٣١، ٢٣٢، ٢٣٣، ٢٣٤، ٢٣٥) يمكن أن تكون مصمتة لكنها غالباً ما تكون كيسية بشكل مسيطر ، وتظهر نموذجياً ككيسة وحيدة الجوف تحوي عقيدة واحدة أو أكثر مصمتة تنبثق داخل اللمعة ، الأكياس متعددة الأجواف توجد بشكل أقل . أجزاء متنوعة من العينات التي تحوي سرطانة الخلية الرائقة يمكن أن تكون أدينوفيروما سليمة أو حدية (٢٣٥، ٢٣٧) . نسيج الكارسينوما يمكن أن يكون أبيض ، أصفر ، أو بني فاتح اللون ، مع كمية متنوعة من النزف والنخر . سرطانات الخلية الرائقة نادراً ما تكون ثنائية الجانب .

تكون هذه الأورام غالباً عالية المرحلة عند التشخيص (٢٥% ثنائية الجانب ، ٣٠% تترافق مع ورم مشابه في الرحم) ، لكنها تميل لأن تأخذ سير بطيء مع حدوث الوفاة بعد ١٠ سنوات أو أكثر من التشخيص . تستعمل المركبات البروجستينية لعلاج البقايا أو النكس .

أورام الخلية الرائقة Clear Cell Tumors :

تشكل سرطانات الخلية الرائقة حوالي ٥% من كل سرطانات المبيض ، وتحدث غالباً بين عمر الـ ٤٠ والـ ٧٠ سنة (٢٢٨، ٢٢٩، ٢٣٠، ٢٣١، ٢٣٢، ٢٣٣، ٢٣٤، ٢٣٥) . هذه الأورام تترافق مع إندومتريوز المبيض والحوض أكثر من أي ورم ظهاري سطحي آخر ، بما في ذلك السرطانات المشبهة بباطن الرحم . تترافق سرطانات الخلية الرائقة بمظهر غدي صماوي هو فرط كلس الدم بنسبة عالية أكثر من أي ورم آخر ، ما عدا السرطانة النادرة صغيرة الخلايا ذات النموذج مفرط الكلس .



الشكل ١٥ صورة عيانية للسرطانة رائقة الخلايا

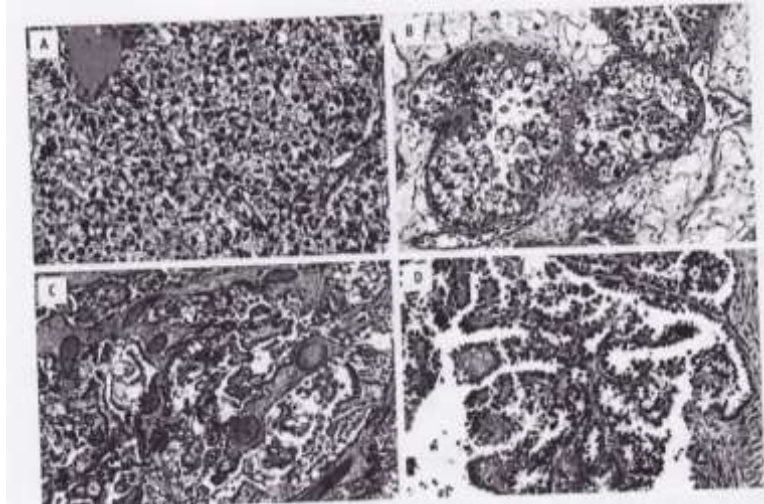
المظاهر المجهرية :

الأنابيب والأكياس وتبطن الحليمات . أحياناً ، الخلايا في الأكياس المتسعة تصبح مسطحة بشكل ملحوظ، وينتج عن ذلك مظهر يبدو سليم . تتنوع حليمات سرطانات الخلية الرائقة في مظهرها ، وليس مثل تلك التي لسرطانات الظهارة السطحية الأخرى ، فهي غالباً ما تحوي لب مركزي هيايني يتألف من مواد غشاء قاعدي ، ويعتبر علامة تشخيصية هامة .

تحتوي لمعة الأنابيب والأكياس عادة مخاط ، لكن ، كما في الأورام المصلية المشبهة بباطن الرحم ، المخاط داخل الخلوي محدد في الجزء العلوي من الهيولى . وهناك استثناء يحدث ، وهو وجود لتجمع خلايا تحوي مخاط نموذج فص الخاتم ، والتي غالباً ما تأخذ مظهر عيني الثور المميز . ونادراً جداً ، تكون هذه الخلايا مسيطرة في سرطانات الخلية الرائقة . أحياناً حالات من سرطانة الخلية الرائقة تحوي صفائح ، حبال ، أو أعشاش من خلايا ذات هيولى إيوزينية وفيرة (خلايا oxyphilic) ، ونادراً ما تكون هذه الخلايا مسيطرة (٢٣٨) . في حالات نادرة ، كميات ضخمة من مواد الغشاء القاعدي تحتل اللحمية . سرطانات الخلية الرائقة يمكن أن تحوي أجسام هياينية ، والتي كانت موجودة في ٢٥% من حالات إحدى الدراسات (٢٣٩) . أحياناً تمتزج سرطانة الخلية الرائقة مع السرطانات المشبهة بباطن الرحم، حيث يوجد تقارب بين هذين الورمين (٢٠٤) .

أدينوفيرومات الخلية الرائقة تحوي غدد وأكياس مبطنة بخلايا مسطحة ، مكعبة إلى اسطوانية وأحياناً تأخذ شكل خلايا مسمار النعل ، أو خلايا رائقة . هذه الأورام تقسم إلى سليمة ، حدية ، وخبيثة وذلك حسب المعايير المستعملة لمثل هذه الأورام في المجموعة المشبهة بباطن الرحم (١٩٩، ٢٣٥، ٢٣٦، ٢٣٧) . قبل تشخيص الأدينوفيروما رائقة الخلايا السليمة أو الحدية يجب أخذ مقاطع كافية من عينة الورم وذلك بسبب ترافق هذه الموجودات مع سرطانة الخلية الرائقة (٢٣٧). وجدت إحدى الدراسات أن سرطانات الخلية الرائقة المترافقة مع أدينوفيروما رائقة الخلايا ذات إنذار أفضل من تلك غير المترافقة مع مركبة أدينوفيروما (٢٣٥) .

تتميز السرطانة رائقة الخلايا بنموذج منتشر ، أنبوبي كيسي، حلبي (٢٣٣) ، وبشكل غير شائع ترابيقي . أكثر نماذج الخلايا شيوياً هي الرائقة والمسمارية والمسطحة . الخلايا الرائقة توجد في معظم الحالات وتعد النموذج الخلوي الأكثر شيوعاً في الأورام ذات النمط المنتشر . الخلايا الرائقة تكون نموذجياً متعددة الأضلاع ، لها غشاء خلوي واضح وتحوي هيولى وافرة فارغة ونوى خارج المركز. الهيولى غنية بالغليكوجين ويمكن أيضاً أن تحوي كمية متنوعة من الشحم . خلايا مسمار النعل ، والتي توجد في معظم الأورام ، تتميز بنوى فقاعية تنبت داخل لمعة



الشكل ١٦ سرطانة الخلية الرائقة ، صلدة ، كيسية أنبوبية ، حلمية أنبوبية ، حلمية

التلوين المناعي :

أكثر من ٥٠% (٢٤٥، ٢٤٦) . معظم هذه التنتشؤات السليمة تشاهد من العقد الرابع إلى العقد الثامن ، مع ذروة حدوث في أواخر الأربعينات وأوائل الخمسينات من العمر . أورام برنر الحدية والخبيثة تحدث لدى النساء بعمر وسطي أكبر بعشر سنوات من تلك التي للأورام السليمة . أورام برنر ، مثل الأورام المخاطية ، متضمنة في فئة أورام الظهارة السطحية ، بالرغم من أنه غير واضح كم منها ينشأ من الظهارة السطحية ، أو كشكل من أورام الخلية الإنتاشية ، أو ضمن الشبكة المبيضية (rete ovarii) . ثلث أورام برنر يمكن أن تحوي مركبات مخاطية ، والتي تتراوح من غدد مخاطية أو أكياس إلى أورام كيسية مخاطية واضحة عيانياً .

المظاهر العيانية :

أورام برنر السليمة عادة تكون أقل من ٢ سم قطراً ، تقريباً ٦% منها تكون ثنائية الجانب . معظم أورام برنر صلبة ، ١٠% إلى ٢٥% تظهر كعقيدات قاسية صغيرة في جدار الورم الغدي الكيسي المخاطي السليم . أحياناً تترافق مع الأكياس الجلدية ونادراً مع كارسينويد لحمه المبيض . الأورام السليمة تكون محددة جيداً مع سطح قطع قاسي أو ليفي ، رمادي أو أبيض أو أصفر قليلاً . أحياناً يكون النسيج ذو قوام رملي بسبب وجود توضعات كلسية ، ونادراً ما يكون متكلس بشكل كبير . يمكن أن تشاهد أكياس دقيقة بالمكبرة أو بالعين المجردة . بعض أورام برنر السليمة النادرة تكون كبيرة وكيسية بشكل مسيطر . تتميز الأورام الحدية بكونها كيسية وحيدة الجوف أو متعددة الأجواف ، مع كتل حليمية تشبه زهرة القرنبيط تنبت داخل إحدى الفجوات أو داخل العديد من الفجوات ، لكن بعض الأورام تكون مصمتة . أورام برنر الخبيثة يمكن أن تكون مصمتة أو كيسية مع عقيدات جدارية ، ليس لها مظاهر مميزة ، ما عدا ، على عكس سرطانات الخلية الانتقالية ، يمكن أن تشبه أو تملك مركبة مختلفة الحجم تشبه ورم برنر السليم ويمكن أن تتكلس .

تبدي أورام الخلية الرائقة الواسمات الظهارية بما فيها السيتوكيراتين والـ EMA . معظمها يبدي إيجابية لـ CK7 وسلبية لـ CK20 . تبدي أيضاً إيجابية لـ CD15 , B72.3 , CA125 , CEA , (Leu-M1) ونادراً AFP .

الدراسات الجزيئية :

تبدي تغيرات جينية مشابهة لتلك الملاحظة في السرطانات الغدية المشبهة بباطن الرحم ، لكن بشكل عام ، التغيرات الجزيئية في سرطانة الخلية الرائقة لا تزال غير محددة بشكل دقيق .

العلاج والإنذار :

أدينوفيرومات الخلية الرائقة والأورام الحدية لها سير سريري سليم . الاستئصال الكامل (استئصال الملحقات وحيد الجانب أو استئصال الرحم التام مع الملحقات ثنائية الجانب) يعتبر دائماً شافي . سرطانة الخلية الرائقة تترافق بفترة بقيا لخمس سنوات بنسبة ٧٠% في المرحلة I و ١٥% في المرحلة III . نسبة البقايا هذه تعتبر بشكل عام أسوأ من تلك التي للأنواع الأخرى لسرطانات الظهارة السطحية . علاج سرطانة الخلية الرائقة هو جراحي مثل بقية سرطانات الظهارة السطحية الأخرى ، حيث تعتبر معندة للعلاج الكيميائي .

أورام الخلية الانتقالية Transitional Cell Tumors :

هذه تتضمن أورام برنر ، والتي يمكن أن تكون سليمة ، حدية (تكاثرية) ، أو خبيثة ، وسرطانة الخلية الانتقالية ، والتي يعوزها مركب ورم برنر (٢٤٠) .

أورام برنر Brenner Tumors :

المظاهر العامة :

هذه الأورام تشكل ٢% إلى ٣% من كل تنتشؤات المبيض ، لكن معظمها يكتشف بالصدفة أثناء العمل الجراحي أو أثناء الفحص الباثولوجي (٢٤٠، ٢٤١، ٢٤٢، ٢٤٣، ٢٤٤، ٢٤٥، ٢٤٦، ٢٤٧، ٢٤٨) . أقل من ٢% من الحالات المسجلة كانت حدية (تكاثرية) أو خبيثة (٢٤٥، ٢٤٦، ٢٤٧، ٢٤٨) ، لكن نسبة التغيرات الحدية أو الخبيثة في أورام برنر المكتشفة سريرياً

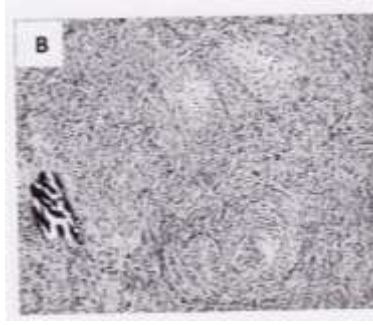


الشكل ١٧ صورة عيانية لورم برنر السليم

المظاهر المجهرية :

بيضوية ، بعضها لديه ثلم مركزي طولي . الخلايا المبطنة للمعة تتراوح من مسطحة إلى اسطوانية ، وغالباً ما تحوي مخاط ، وأحياناً أهداب واضحة . تشاهد أحياناً أكياس متنوعة الحجم مبطنة بالكامل بظهارة مخاطية أو انتقالية وأحياناً تكون ملفتة للنظر (٢٤٩) . مركبة اللحمية يمكن أن تكون هياكلية بشكل بؤري ويمكن أن توجد صفائح كلسية .

ورم برنر السليم النموذجي يتألف من أعشاش صغيرة مدورة إلى متطاولة من خلايا ظهارية متوضعة ضمن لحمية وافرة ليفية ، أو نادراً ، صندوقية أو لوتيتينية صندوقية . الأعشاش يمكن أن تكون مصمتة أو لها لمعة مركزية تحوي مواد إيوزينية كثيفة أو مخاط . معظم الخلايا الورمية تكون مضلعة إلى بيضوية ولها هيولى شاحبة ونوى



الشكل ١٨ صورة مجهرية لورم برنر السليم

للكارسينوما الحليمية للسبيل البولي درجة ١ إلى ٣ . يمكن أيضاً مشاهدة خلايا تحوي مخاط ، عادة في الطبقة الداخلية من الظهارة المبطنة . لا يوجد غزو واضح للحمة، وأيضاً تشاهد مركبة ورم برنر السليم بشكل واضح .

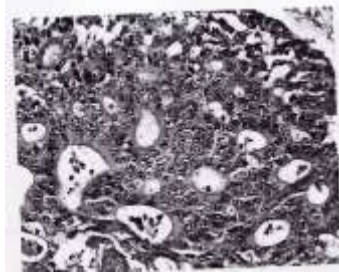
أورام برنر الحدية ، والتي يسميها بعض المؤلفين بالتكاثرية (٢٤٦، ٢٤٨) ، تتميز عادة بأكياس ينبثق ضمنها حليمات مبطنة بخلايا متكاثرية تكون بشكل أساسي من نموذج الخلايا الانتقالية . الخلايا المبطنة تشبه تلك التي



الشكل ١٩ صورة مجهرية لورم برنر الحدي

أورام برنر الخبيثة أيضاً تحوي مركبة ورم برنر السليم بالإضافة إلى أعشاش من كارسينوما خلية انتقالية درجة ١ إلى ٣ ، أو أحياناً ، كارسينوما شائكة الخلايا (والتي تكون عادة بؤرية) ، هذه الأعشاش تغزو المركبة اللحمية للورم بشكل عشوائي ، ويمكن أيضاً للخلايا الورمية أن تبطن الأكياس . الخلايا المخاطية يمكن أيضاً أن توجد بين

الخلايا الخبيثة الشائكة أو الانتقالية ، لكن الكارسينوما الغدية المخاطية الصافية المرافقة لورم برنر يجب أن تشخص بشكل مستقل . إن معايير ورم برنر الخبيث مختلف عليها ، واتباع توصيات منظمة الصحة العالمية WHO ، يُطلب ارتشاح عشوائي غازي للحمية للتشخيص .



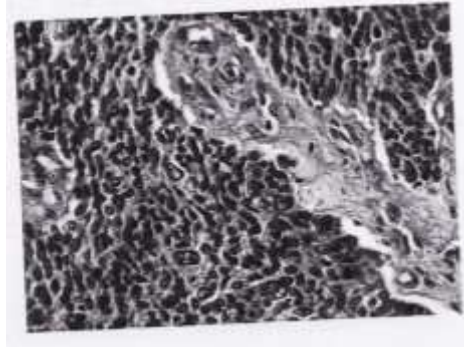
الشكل ٢٠ صورة مجهرية لورم برنر الخبيث

بشكل أفضل للعلاج الكيميائي من معظم سرطانات الظهارة السطحية الأخرى (٢٥٢، ٢٥٠).
سرطانة الخلية الانتقالية يمكن أن تكون مصمتة أو مصمتة وكيسية بالفحص العياني . في دراسة لـ ١٠٠ حالة (٢٥٣) وجد تنوع في المظاهر النسيجية ، والتي بالمجمل تعطي منظر مميز . النماذج تتضمن ، وذلك بالترتيب من الأشيع ، متموجة ، منتشرة ، جزيرية ، وترايكية . من الشائع أيضاً مشاهدة فراغات مجهرية بشكل ثقب ، فراغات كيسية كبيرة ، وحليمات كبيرة قليلة . ويمكن أن نشاهد بشكل غير شائع ما يلي : ثقب شريطية الشكل ، خلايا كبيرة غريبة ، حليمات صغيرة خيطية ، أنابيب تشبه الغدد ، بؤر شائكة ، وأجسام بساموما . توجد مركبات من سرطانة مصلية أو مشبهة بباطن الرحم أو رائقة الخلايا أو مخاطية في حوالي ٢٥% من الأورام (٢٥٣) ، وهذه تضع هذا الورم في فئة سرطانات الظهارة السطحية المختلطة . الخلايا الورمية تميل لأن تكون نسبياً متماثلة الشكل مع هبولى نموذجية شاحبة وحبيبية ، بالرغم من أنه أحياناً تكون رائقة أو حامضية . النوى المدورة أو المستطيلة لها نوية وحيدة كبيرة أو ثلم طولي . أكثر من ٩٠% من الأورام في إحدى الدراسات (٢٥٣) كانت درجة ٢ أو ٣ .

أيضاً تقسم أورام برنر الحدية إلى تلك المؤلفة من خلايا انتقالية خبيثة درجة ١ ، والتي تسمى أورام حدية (غير مخصصة) ، وتلك التي تكون فيها الخلايا الانتقالية درجة ٢ أو ٣ ، وتسمى أورام حدية مع سرطانة داخل الظهارة . بعض أورام برنر لها أعشاش من خلايا ورمية قريبة جداً من بعضها أكثر من المعتاد ، ويمكن أن تحوي خلايا انتقالية شاذة أو خبيثة المظهر . ما لم تبدي مثل هذه الأورام غزو عشوائي للحمية ، فإنها تبقى تسمى أورام برنر مع سرطانة داخل الظهارة .

سرطانة الخلية الانتقالية Transitional Cell Carcinoma :

إن سرطانة الخلية الانتقالية لا تختلف في التوزيع العمري أو في الأعراض السريرية عن الأنماط الأخرى للسرطانات الظهارية (٢٤٠، ٢٥٠، ٢٥١، ٢٥٢، ٢٥٣، ٢٥٤، ٢٥٥، ٢٥٦) . الشكل الصافي من سرطانة الخلية الانتقالية يشكل فقط ١% من سرطانات الظهارة السطحية ، السرطانات المختلطة مع مركبة خلايا انتقالية مسيطرة تشكل نسبة ٥% ، وتلك التي مع مركبة خلايا انتقالية صغيرة تشكل نسبة ٣% (٢٥٤) . إن الأهمية السريرية الأكبر لقبول مصطلح سرطان الخلية الانتقالية البدئي في المبيض هو كون هذه الأورام تستجيب



الشكل ٢١ صورة مجهرية لسرطانة الخلية الانتقالية

التلوينات المناعية :

بالإضافة لأعشاش Walthard ، على كل حال، مثل هذه الأورام تنتمي لفئة الخلية الإنتاشية (٢٥٧) .

سرطانات المبيض شائكة الخلايا (٢٥٩، ٢٦٠، ٢٦١، ٢٦٢) عادة تتشأ في الأكياس الجلدية ، وبشكل أقل من الإندومتريوز، ونادراً في أورام برنر . في الحالتين الأخيرتين تكون الأورام محددة بشكل واضح في فئة الظهارة السطحية . في إحدى الدراسات لسرطانات المبيض شائكة الخلايا ذات المنشأ غير المحدد (٢٦١) ، شخّصت سرطانات عنق رحم في الموضع (in situ) في نصف الحالات ، مما يطرح التساؤل هل أورام المبيض هذه بدئية المنشأ ، أم انتقالية إلى المبيض من بؤر غازية غير مكتشفة لسرطانة عنق رحم . السرطانات شائكة الخلايا الناشئة في الإندومتريوز يمكن أن تشكل كتل محددة تنبثق داخل اللمعة أو تغزو جدار كيسة الإندومتريوز ، في كلتا الحالتين ، يكون الورم بشكل مسيطر مصمت أو كيسي بدون مظاهر مميزة .

يبدى الفحص المجهرى أعشاش من خلايا شائكة تغزو اللحمية بالإضافة إلى أكياس مبطنة بظهارة شائكة خبيثة ، أحياناً مع نمو بوليبي داخل اللمعة . الخلايا الورمية عادة لها المظهر النموذجي لتلك التي للسرطانات شائكة الخلايا، لكن في إحدى الدراسات تقريباً ١٥% من الأورام أبدت نموذج خلايا مغزلية بشكل مسيطر (٢٦١) . الأنماط النسيجية الأخرى في تلك الدراسة كانت حليمية أو بوليبيية، كيسية ، جزيرية ، مرتشحة غازية ، وثلولية الشكل . في بعض الحالات ، كانت بؤر التمايز الشائكة المميزة غير واضحة ، خصوصاً عندما تكون الأورام عالية الدرجة .

التلوين المناعي لسرطانة الخلية الانتقالية مشابه لذلك الذي لسرطانات الظهارة السطحية الأخرى . معظم الأورام تكون إيجابية لـ WT1 والـ EMA والـ CK7 ، وبالعكس ورم برنر والأورام اليولية خارج المبيض ، فإن سرطانة الخلية الانتقالية في المبيض لا تأخذ إيجابية لـ CK20 والـ uroplakin والـ thrombomodulin .

العلاج والإنذار :

أدينوفيرومات الخلية الانتقالية (برنر) والأورام الحدية لها سير سريري سليم . الاستئصال الكامل (استئصال الملحقات وحيد الجانب أو استئصال الرحم التام مع الملحقات ثنائية الجانب) يكون شافياً . سرطانة الخلية الانتقالية غالباً ما تكون في مراحل متقدمة عند التشخيص وهي أكثر عدوانية من أورام برنر الخبيثة ، وتبدى استجابة وتحسن للعلاج الكيميائي وإنذار أفضل بالمقارنة مع السرطانات الأخرى .

أورام الخلية الشائكة Squamous Cell Carcinoma :

بالرغم من أن المركبات الشائكة تشاهد غالباً في الأورام المشبهة بباطن الرحم وبشكل أقل في الأورام المصلية والمخاطية وأورام برنر ، إلا أن وجود تنشؤ شائك الخلايا بشكل صافي يعتبر قليل نسبياً في المبيض . بعضها يكون أكياس بشرانية (epidermoid) (٢٥٧، ٢٥٨) . توجد أعشاش من الظهارة الانتقالية في جدار العديد من هذه الأورام (٢٥٨) ، وهذا يقترح منشأها من أعشاش Walthard . الأكياس البشرانية الأخرى تحوي بؤر تيراتوما

السرطانة غير المميزة Undifferentiated

: Carcinoma

حددت منظمة الصحة العالمية WHO السرطانة غير المتميزة كسرطانة لا تبدي تمايز أبداً أو فقط بؤر نادرة وقليلة جداً من التمايز ، باحثون آخرون حددوها كسرطانة أكثر من نصف عناصرها ينقصه تمايز (٢٦٧) . إذا استعملنا تصنيف منظمة الصحة العالمية فإن أقل من ٥% من السرطانات تكون غير متميزة . معظم السرطانات غير المتميزة لا تملك مظاهر مميزة ، لكن توجد بعض الأنواع القليلة غير الاعتيادية . تشبه المظاهر السريرية لمعظم السرطانات غير المتميزة تلك التي للسرطانات المصلية عالية الدرجة . تقريباً نصف الأورام تكون ثنائية الجانب والانتشارات البطنية تكون شائعة . النسيج الورمي يكون مصمت بشكل مسيطر وغالباً ما توجد مناطق نزف ونخر وتشكلات كيسية .

المظاهر المجهرية :

تشاهد أنماط متنوعة ، تتضمن كتل منتشرة وأعشاش غير منتظمة وحبال من خلايا ظهارية منفصلة عن بعضها بلحمة يمكن أن تكون ورمية ليفية . أجسام بساموما ، غدد ، حليمات ، أو بحيرات مخاط وقطيرات مخاطية يمكن أن توجد بأعداد قليلة جداً . يمكن أن تنتوع الخلايا الورمية بشكل كبير من متماثلة الشكل إلى متعددة الأشكال، وتوجد غالباً خلايا ورمية عرطلة . نادراً ، السرطانات غير المتميزة أو المركبات غير المتميزة لأنماط محددة من الأورام الظهارية تتحول بؤرياً إلى كوريوكارسينوما (٢٧٢) . بعض الخلايا متماثلة الشكل للسرطانات غير المتميزة تشبه بشكل كبير أورام الخلايا الحبيبية المنتشرة عند البالغين . ونحتاج فقط للتلوين المناعي بالـ EMA والـ a-inhibin لتفريق هذه الأورام، والتي تختلف بشكل ملحوظ بمظاهرها المجهرية في معظم الحالات .

الأورام الظهارية المختلطة Mixed Epithelial

: Tumors

مزيج مختلط متنوع من أنماط الخلايا الظهارية يوجد ضمن هذه الفئة من الأورام . إن أنماط عديدة من الأورام المختلطة تكون شائعة نسبياً ، وتتضمن ما يلي : مزيج ورم برنر والأورام الكيسية المخاطية ، الأورام الحدية ذات نمط موليريان المختلط ، والتي يمكن أن تحوي خلايا مسمارية الشكل (أحياناً تقود إلى تشخيصها بشكل خاطئ كسرطانة رافعة الخلايا) ، أو تبدي مركبة شائكة ملفقة للنظر (٢٦٣، ٢٦٤) ، السرطانة المشبهة بباطن الرحم تمتزج مع السرطانة رافعة الخلايا (٢٠٤) ، سرطانة الخلية الانتقالية تترافق مع أنماط السرطانات الأخرى (٢٥٠، ٢٥٢، ٢٥٣) ، والسرطانة المشبهة بباطن الرحم مع مركبة مصلية أو غير مميزة (٢٦٥، ٢٦٦) .

في حالات تشارك ورم برنر مع التنتشوات المخاطية ، فإننا نضع الورم في فئة الأورام الظهارية المختلطة إذا كان كلا الورمين ملحوظين بالفحص العياني ، أو إذا كانت المركبة الأصغر (ورم برنر أو الورم المخاطي الصافي) تشكل على الأقل ١٠% من التنتشؤ بالفحص المجهرى . إن وجود ظهارة مخاطية ضمن الأعشاش الظهارية أو ضمن أكياس ورم برنر ، حتى إذا كانت وافرة ، غير كاف لوضع تشخيص ورم ظهاري مختلط . الورم الحدي ذو نمط موليريان المختلط له إنذار مشابه لذلك الذي للورم الحدي ذو النمط المشبه بباطن عنق الرحم الصافي (٢٦٣، ٢٦٤) . ولأن سرطانات الخلية الرافعة تترافق مع إنذار أسوأ من ذلك الذي للسرطانات المشبهة بباطن الرحم ، فإن ترافق الورمين يترافق نظرياً بإنذار أسوأ من السرطانة المشبهة بباطن الرحم الصافية . إن وجود مركبة السرطانة المصلية أو غير المميزة في السرطانة المشبهة بباطن الرحم يبدو أنها تنقص من نسبة البقيا (٢٦٦، ٢٦٥) . إن أهمية امتزاج سرطانة الخلية الانتقالية مع أشكال التنتشوات الظهارية الخبيثة الأخرى قد نوقش سابقاً .

السرطانة صغيرة الخلايا ، النموذج الرئوي

Small-Cell Carcinoma , Pulmonary Type :

يتوافق نمط محدد من السرطانة غير المتميزة بفط كلس الدم في حوالي ثلثي الحالات لذلك يسمى السرطانة صغيرة الخلايا ، نمط مفط الكلس (٢٦٨) . السرطانات المشابهة للسرطانات صغيرة الخلايا الرئوية يمكن أيضاً أن تكون بدئية في المبيض وتسمى السرطانة صغيرة الخلايا، النمط الرئوي (٢٦٩) . ١١ حالة من الأورام الأخيرة سجلت لدى نساء أعمارهم من ٢٨ إلى ٨٥ سنة ولديهم أعراض سريرية نموذجية لسرطان المبيض بشكل عام (٢٦٩) . ستة أورام كانت وحيدة الجانب وخمسة أورام كانت ثنائية الجانب ، سبعة منها كانت منتشرة خارج المبيض . يبدي الفحص المجهرى سيطرة خلايا صغيرة ذات هيولى قليلة ونوى ذات كروماتين منقط ونوية غير واضحة ، النوى تبدي علامة molding المميزة . وجدت مركبة من السرطانة المشبهة بباطن الرحم في أربعة أورام ، وأحد الأورام أبدى تمايز شائك ، وواحد منها ترافق بكيسة مبطنة بخلايا مخاطية غير نموذجية ، ورماني امتزجا بؤرياً مع ورم برنر ، مما يقترح بشدة المنشأ من الظهارة السطحية .

إن العمر الأكبر لمرضى هذه الأورام يعاكس العمر الصغير لتقريباً كل مرضى السرطانات صغيرة الخلايا ذات النمط مفط الكلس . وأكثر من ذلك ، فط كلس الدم، بالرغم من أنه يرافق أحياناً السرطانات صغيرة الخلايا الرئوية ، لم يسجل أبداً ترافقه مع أورام المبيض ذات النمط المماثل . إن السرطانات صغيرة الخلايا ذات النموذج الرئوي لا تحوي جريبات مثل تلك المشاهدة في معظم السرطانات صغيرة الخلايا ، ولا تحوي خلايا كبيرة ذات هيولى وافرة والتي توجد تقريباً في ٤٠% من السرطانات صغيرة الخلايا . نوى الأورام ذات النمط مفط الكلس تحوي نويات تميز بوضوح ، وتكون مختلفة الحجم ، وليس مثل نوى السرطانات صغيرة الخلايا ذات النمط الرئوي . إن الـ Flow Cytometry يبدي بشكل مميز نموذج ثنائي الصيغة الصبغية (diploid) في السرطانات صغيرة

الخلايا مفط الكلس ونموذج خلل الصيغة الصبغية (aneuploidy) في النمط الرئوي (٢٦٧) .

السرطانات الغدية الصماوية ذات النمط غير صغير الخلايا

Neuroendocrine Carcinoma of the Non-

: Small-Cell Type

دُكرت دراستين لسرطانات مبيض غير متميزة مع مظاهر غدية صماوية بالتلوين المناعي وبدراسة البنى المستدقة ، لكن دون وجود مظاهر بالمجهر الضوئي لسرطانة صغيرة الخلايا (٢٧٠، ٢٧١) . هذه الأورام كانت مركبة من خلايا كبيرة ، في بعض الحالات مع هيولى وافرة ، وتشبه السرطانة الغدية الصماوية كبيرة الخلايا في الرئة . وكانت أيضاً مترافقة مع مركبة من ورم ظهاري سطحي ، غالباً ذو نمط مخاطي ، أحد الأورام كان له مركبة لسرطانة غدية مشبهة بباطن الرحم .

ما هو التهجين في المكان In Situ Hybridization :

تقنية الـ FISH (Fluorescence in situ hybridization) أو تقنية الـ CISH (Chromogen in situ hybridization) هي عبارة عن اكتشاف تتالي نمط محدد من الـ DNA أو الـ RNA في مقاطع الأنسجة والمحضرات الخلوية وذلك باستعمال متممة من تتالي حموض نووية موسومة أو ما يدعى بروب (٢٧٥، ٢٨٢، ٢٨٧) . في الظروف المناسبة ، هذا البروب يهجن (عبر إنشاء روابط هيدروجين) إلى الهدف المخصص له إما من الـ DNA أو الـ RNA ويُجعل مرئياً بعد ذلك إما باستعمال واسمات من عناصر مشعة (H^3 ، S^{35} ، I^{125} ، P^{32}) أو عناصر غير مشعة (بيروكسيداز ، بيوتين ، ديوكسيجينين) متضمنة داخل البروب (٢٧٣، ٢٧٦، ٢٧٨، ٢٧٩، ٢٨١، ٢٨٦، ٢٩٢) . يتوجب أن يكون كل من الهدف وبروب الحموض النووية وحيد الطاق وذلك ليأخذ التهجين مكانه . البروبات الرئيسية المستعملة حالياً في تقنية التهجين في المكان هي بروبات نسيلة الـ DNA والـ RNA وبروبات الـ Oligonucleotide الصناعي .

يستعمل التهجين في المكان بشكل رئيسي لكشف الأحماس الفيروسية (مثل الـ HPV والـ EBV والـ HIV) وذلك بسبب

قدرة هذه التقنية على تحديد جينوم الفيروس بشكل مباشر ضمن الخلية المصابة (٢٧٤، ٢٧٧، ٢٨٤، ٢٨٥، ٢٨٨). هذه الميزة تقدم أفضلية عن المناعيات بأنها تكشف ليس فقط الأخماج الفعالة وإنما أيضاً الأخماج الكامنة ، بالإضافة لأنها تميز بين مختلف تحت أنماط الفيروسات ، كما في فيروس الـ HPV . أيضاً ، باستعمالها في حقل الأمراض الخمجية ، يمكنها أن تميز بين الأسبيرجيلوز وأنواع الفطور الأخرى في مقاطع الأنسجة (٢٨٠) .

التهجين في المكان يستعمل أيضاً لكشف فرط التعبير الجيني في الأورام . من أمثلة ذلك اكتشاف الـ RNA الرسول لمختلف أنواع الهرمونات الببتيدية (٢٨٣) وسلاسل الغلوبولينات المناعية الخفيفة والثقيلة (٢٩١) ، في العديد من هذه الحالات ، تكون هذه التقنية مهمة عندما يفشل التلوين الكيميائي النسيجي المناعي باكتشاف هذه البروتينات . ويُعزى هذا الفشل لكون التلوين الكيميائي النسيجي المناعي يوضح كمية الببتيدات الموجودة في الخلية بدون أن يضخمها، ولذلك فإن عوامل عديدة تلعب دوراً فيه مثل درجة الإفراز ، والنكوص داخل الخلوي، وعملية نقل ونسخ الببتيدات (٢٨٩) .

استعمال آخر هام لتقنية التهجين في المكان هو اكتشاف محرضات الأورام البدئية وذلك خلال التطور الجنيني الطبيعي ، وفي الأنسجة البالغة الطبيعية ، وفي الأمراض الالتهابية (مثل آفات الجلد في الذئبة الحمامية الجهازية)، وفي الأورام (٢٩٠) . ويمكن استعمال تقنية التهجين في المكان بالترافق مع التلوين الكيميائي النسيجي المناعي ، أو مع الـ PCR ، أو مع الفحص بالمجهر الإلكتروني (٢٧٥) .

والياً أصبح التهجين في المكان فحص مساعد مهم للتنميط الصبغي الروتيني ووسّع بشكل كبير القدرة على التحليل الوراثي الخلوي ، فباستعمال بروتات الـ DNA النوعية لمناطق محددة في الصبغيات ، يمكن لتقنية التهجين في المكان أن تكشف الحذوفات الصبغية الصغيرة الغامضة، وتبادل مواضع الصبغيات المعقد ، وتغاير

التيلوميرات . هذه الأمور لا تكشف بسهولة بالتنميط الصبغي العادي .

التهجين بالمكان اللوني مع المجهر الضوئي (CISH) :

نشرت عام ٢٠٠٠ أول دراسة طرحت التهجين بالمكان اللوني أحادي اللون كطريقة بديلة لطريقة التهجين بالمكان المفلور (٣٦٢) ، أكدت دراسات لاحقة ذلك من خلال مقارنات عديدة بين نتائج التلوينات المناعية والتهجين بالمكان المفلور والتهجين بالمكان اللوني (٣٦٥، ٣٦٣، ٣٦٤) . وقد استخدمت معايير مختلفة في مقارنة وتأويل نتائج التهجين بالمكان اللوني أحادي اللون في هذه الدراسات ، فبينما طبق معيار manufacturer (عدد نسخ مورثة HER-2 < ٥ تضخيم ، > ٥ لا يوجد تضخيم) في إحداها (٣٦٦) ، اعتبرت دراسات أخرى أن وجود < ٦ نسخ في ٥٠% من الخلايا الورمية ضمن المركبة الغازية هو تضخيم بالمورثة HER-2 (٣٦٧) .

عام ٢٠٠٦ طرحت دراسة التهجين بالمكان اللوني ثنائي اللون كبديل عن التهجين بالمكان اللوني أحادي اللون والمفلور معاً ، وذلك من خلال اصطفاء مزايا كل من الطريقتين وتجنب المآخذ . فقد أبقت على أهم ميزة للتهجين بالمكان اللوني أحادي اللون وهي استخدام المجهر الضوئي التي تسمح بتقييم نسيجي تشريحي مرضي للمقطع النسيجي الورمي وتحديد الساحات المجهرية المناسبة للتقييم (بؤر الغزو ، عدم تداخل الخلايا الورمية)، واستخدمت المسبار الثنائي المستخدم في طريقة التهجين بالمكان المفلور لتلوين الجزء المركزي للصبغي ١٧ والذي يلعب دوراً كبيراً وهاماً في توجيه المشرح المرضي وبالتالي تأويل النتيجة ، ولكل ذلك طرح التهجين بالمكان اللوني ثنائي اللون كطريقة بديلة وجديدة لكشف مورثة HER-2 في سرطان الثدي (٣٦٨) . استخدم معيار ASCO/CAP لعام ٢٠٠٧ لقراءة وتأويل النتائج (٣٦٩) .

وبتعبير آخر أو من الناحية التقنية يمكن اعتبار هذه الطريقة مزاجية وجمع بين التهجين بالمكان المفلور والتلوينات المناعية النسيجية (٣٧٠) . حيث تستخدم مسبار

التهجين بالمكان المفطور ثم مسار التهجين بالمكان اللوني الثنائي والذي يتلون بإضافة أصداد البيروكسيداز ومن ثم المحلول الملون لتأخذ لون مثل التلوينات النسيجية المناعية يمكن قراءتها وتأويلها باستخدام المجهر الضوئي الروتيني. كما يمكن الاحتفاظ بها وإعادة تقييمها . أي أنها وضعت نتائج التشريح المرضي الجزيئي الجديدة (كشف المورثة HER-2 والجزء المركزي للصبغي ١٧) في شكل وقالب تقليدي سهل وعملي للمشرح المرضي (تتظاهر بلون نسجي يمكن قراءته بالمجهر الضوئي كما يمكن حفظه) .

إن أهمية وضرة تلون الجزء المركزي للصبغي تكمن في كونه نقطة الانطلاق والبداية فهو الشاهد الداخلي لنجاح العملية التقنية والفنية ولعملية العد ولاستبعاد الحالات التي تبدي تبدلات في عدد نسخ المورثة ناتجة عن إصابات مورثة في الصبغي ١٧ منها (وجود ثلاثة صبغيات أي تثلث الصبغي ١٧ ، أو في حالات نادرة أكثر من ثلاثة polysomy أو أقل من الطبيعي hyposomy) . نلاحظ في حالة التثلث الصبغي أن أعداد مورثة Her-2 أكثر من ٢ بينما تبقى نسبة نسخ المورثة Her-2 إلى الجزء المركزي ضمن الحدود الطبيعية $> 1,8$ ، ولا تتظاهر عملياً بفطرت تعبير بروتيني أو زيادة mRNA ، إنما يمكن أن تعطي نتيجة إيجابية +١ إلى +٢ في التلوينات المناعية النسيجية أو أن تعطي أعداد كبيرة من نسخ المورثة Her-2 بطريقة التهجين بالمكان اللوني أحادي اللون ، وهو الأهم والأخطر الأمر ، الأمر الذي يمكن أن يعرض المريضة إلى علاج غير ضروري لأن ارتفاع عدد نسخ المورثة Her-2 غير حقيقي . لذلك يعتبر تثلث الصبغي ١٧ دون أن يترافق مع تضخم المورثة Her-2 سلبياً . أما في حالة وجود أعداد أقل من الصبغي ١٧ فعندها يمكن أن تصاب المورثة بالتضخم ولا يكون لدينا أكثر من ٥ نسخ وهو عدد يبدو ضمن الحدود الطبيعية ^{٣٧٢، ٣٧١، ٣٦٦} .

انطلاقاً من كل ما سبق من مزايا التهجين بالمكان اللوني ثنائي اللون ، اعتبر من أفضل الطرق المتبعة لكشف المورثة Her-2 في الأورام . والدراسات عن هذه الطريقة

قليلة نسبياً وكلها تؤكد أهميتها من خلال مقارنة نتائجها مع الطرق الأخرى ^{٣٦٩، ٣٧٣} . يضاف إلى تلك المزايا إمكانية استخدام التهجين بالمكان اللوني في كشف المورثة في العينات الخلوية ^{٣٧٤} .

ما هو البروتين المحرض الورمي Her2/neu : Oncoprotein

البروتين المحرض الورمي Her2/neu هو عبارة عن مستضد ذو سلسلة مؤلفة من ١٨٥ كيلو دالتون وهو عضو من عائلة مستقبلات التيروزين كيناز ، وهو مستقبل عامل نمو يشابه بنسبة ٥٠% مستقبل عامل النمو البشري ، له تعبير غشائي سطحي وتعبير عبر غشائي وتعبير هيليوي ^(٢٩٣، ٢٩٤، ٢٩٥) ، يُصنع كمنتج من جينة الـ c-erb-B2 المتوضعة على الصبغي ١٧ في الموقع 17q12-21.32 ^(٢٩٦، ٢٩٧) ، تعبيره الهيليوي يؤدي لتفعيل فسفرة ونسخ الوظائف الأساسية ، ومن هذا التعبير والنفاذية اشتق الضد المستخدم في الدراسات الكيميائية النسيجية المناعية . إن الرابط المفعل لمستقبل الـ Her2/neu غير معروف حتى الآن .

إن مستضد الـ Her2/neu لا يوجد أبداً في الخلايا والأنسجة الطبيعية إلا ما ندر . أما بالنسبة للأورام فهو يوجد في ٢٠% إلى ٣٠% من مرضى سرطانات الثدي ، وفي أكثر من ٩٠% من مرضى داء باجيت في حلمة الثدي ، وبشكل أقل تواتراً في الأورام الأخرى (المبيض ، الرحم ، السبيل المعدي المعوي ، البنكرياس) ، ويوجد في بعض الساركومات الزليلية .

وحيث أن التقارير تشير إلى ترافق تضخم الـ Her2/neu مع إنذار سريري سيء ، فإن منتج الجينة الخاصة به كانت موضع العديد من الدراسات الإنذارية ^(٢٩٨) . فمثلاً عند مرضى سرطانات الثدي سلبتي العقد اللمفاوية فإن العلاقة بين الـ Her2 والبقيا تبدو ضعيفة جداً ^(٢٩٩، ٣٠٠) ، حيث بينت معظم الدراسات أنه لا يوجد ترابط بينهما في هذه الحال ^(٣٠١، ٣٠٢، ٣٠٣، ٣٠٤، ٣٠٥، ٣٠٦، ٣٠٧، ٣٠٨، ٣٠٩، ٣١٠) . والدراسات الأساسية حول هذا الموضوع كانت متضاربة ،

ربما بسبب تنوع أشكال الأضداد المستخدمة ، وأيضاً بسبب تأثير النتائج عند المرضى المعالجين بالعلاج الكيميائي الداعم (٣١١) . بينما كانت النتائج عند المرضى ذوي العقد اللمفاوية الإيجابية أكثر وضوحاً ، حيث بينت معظم الدراسات ترافق فرط تعبير الـ Her2/neu مع إنذار أسوأ (٣١٢، ٣١٦، ٣١٥، ٣١٤، ٣١٣، ٣١٠، ٣٠٧، ٣٠٥، ٣٠٤، ٣٠٢، ٢٩٨، ٣١٢) . (٣٢٢، ٣٢١، ٣٢٠، ٣١٩، ٣١٨) . يستعمل هذا الفحص حالياً لمعرفة المرضى المؤهلين للعلاج المناعي وحيد النسيلة ، حيث يكشف الـ FISH أو الـ CISH التضخم الجيني بينما يكشف التلوين الكيميائي النسيجي المناعي فرط تعبير الناتج الجيني .

كيف يتم تقييم الـ Her2/neu (Her2/neu score):

إن نظام قياس التعبير المناعي للـ Her2/neu ملخص في الجدول ٤ وينصح به من قبل مؤلفين خبيرين (٣٢٣) . فقط يتم قياس الارتكاس المناعي الغشائي . الارتكاس المناعي الهيولي الواضح يمكن أن يجعل المقارنة صعبة ولذلك يمكن أن تتم الدراسة بواسطة الـ FISH أو الـ CISH لمثل هذه الحالات . يظهر الجدول ٥ كيفية مقارنة نتائج الدراسة بالـ FISH أو الـ CISH .

الجدول ٤ سلم قياس التلوين المناعي للـ Her2/neu

الدرجة	المعيار	% من الحالات	% من الحالات التي أبدت تضخيم بالـ FISH
٠ (سلبى)	لا يوجد ارتكاس مناعي أو يوجد ارتكاس مناعي في أقل من ١٠% من الخلايا الورمية	~ ٦٠%	٠% إلى ٣%
١+ (سلبى)	ارتكاس مناعي ضعيف في أكثر من ١٠% من الخلايا الورمية لكن فقط جزء من الغشاء الهيولي يكون إيجابى	~ ١٠%	٠% إلى ٧%
٢+ (ملتبس)	ارتكاس مناعي ضعيف إلى متوسط في كامل الغشاء الهيولي في أكثر من ١٠% من الخلايا الورمية	~ ٥% إلى ١٠%	٢٥% إلى ٣٥%
٣+ (إيجابى)	أكثر من ٣٠% من الخلايا الورمية يجب أن تبدي تلوين غشائي محيطي قوي ومتماثل الشكل . يجب أن يلاحظ نموذج متجانس (علامة Chicken wire سياج الدجاج)	~ ١٥% إلى ٢٠%	٧٥% إلى ٩٠%

الجدول ٥ تقييم نتائج الـ FISH أو الـ CISH

النتيجة	المعيار	ملاحظات
إيجابي التضخيم	وجود أكثر من 6.0 نسخ جينات أو نسبة أكثر من 2.2 (النسبة بين متوسط نسخ الـ Her2/neu في الخلية ومتوسط نسخ القسيمة المركزية Centromere للصبغي ١٧)	
نتيجة تضخيم ملتبسة	من 4.0 إلى 6.0 جينات أو نسبة من 1.8 إلى 2.2	تقترح الإرشادات عد خلايا إضافية للـ FISH أو إعادة الفحص أو إجراء التلوين المناعي
سلبي التضخيم	أقل من 4.0 جينات أو نسبة أقل من 1.8	

ملاحظة : المرضى ذوي النسبة 2.0 أو أكثر مؤهلين للعلاج بالـ Herceptin

- ويجب الأخذ بعين الاعتبار الملاحظات التالية :
- إذا سببت الإيجابية الهيولية غموض النمط الغشائي ، فيجب أن نعيد التلوين أو نجري الـ FISH .
 - إذا أبدت الأقفية والفصوص الطبيعية إيجابية واضحة ، فيجب أن نعيد التلوين .
 - في حالات السرطانة الغازية ، يجب أن نقيم فقط مناطق الغزو لأنه في بعض الحالات يمكن أن تبدي السرطانة داخل القنوية المرافقة إيجابية أقوى.
 - يجب أن يتم التثبيت بالفورمالين الطبيعي ولمدة تتراوح من ٦ إلى ٤٨ ساعة لعينات الاستئصال وعلى الأقل ساعة واحدة للخزعة بالإبرة . على كل حال ، لم يلاحظ وجود أي تأثير إذا كانت مدة التثبيت أطول .
 - السلايدات غير الملونة والتي تم تحضيرها منذ أكثر من ٦ أسابيع يجب أن لا تستعمل للفحص وذلك بسبب فقدان المستضدات سواء للـ Her2 أو للمستضدات الأخرى .
- في أكثر من ٩٠% من السرطانات التي تبدي فرط تعبير البروتين ، تبدي جينة الـ Her2/neu تضخيم . في ٣% إلى ٥% من الحالات يمكن أن يحدث فرط تعبير البروتين بسبب آليات أخرى . في أقل من ٥% من الحالات يمكن أن يحدث تضخيم الجين بدون فرط تعبير البروتين. بشكل عام ، يوجد هناك ٢٠% إلى ٤٠% استجابة للـ Herceptin وحده في مرضى السرطانات التي تبدي تضخيم الجين بواسطة تقنية الـ FISH أو الـ CISH ، وأقل من ٥% من المرضى يستجيبون في الحالات التي لا تبدي تضخيم الجين . وهكذا ، فإن دراسات الـ FISH أو الـ CISH يمكن أن تساعد في الحالات التي تبدي بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي إيجابية ٢+ أو الحالات التي يكون تقييمها صعب (مثل وجود إيجابية متنوعة أو إيجابية هيولية) .
- سرطانات الثدي الفصيصية جيدة إلى متوسطة التمايز نادراً ما تكون إيجابية للـ Her2/neu بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي (أقل من ٥% من الحالات) . على كل حال ، في بعض الحالات يمكن أن يكون هناك إيجابية حدية في بعض الخلايا الورمية ويكون من الصعب مقاربتها. لذلك الدراسة بواسطة الـ FISH أو الـ CISH يمكن أن تساعد في هذه الحالات .
- هناك حالات نادرة تبدي فيها السرطانة داخل الأقفية فرط تعبير للـ Her2/neu لكن السرطانة الغازية المرافقة لا

تبدى ذلك ، وهذا هو أحد أسباب النتائج الإيجابية الكاذبة للتلوين المناعي أو نتائج الـ FISH أو الـ CISH .

ما هو واسم التكاثر النووي Ki-67 :

واسم التكاثر النووي Ki-67 ويسمى أيضاً MIB-1 هو بروتين يوجد في كافة الخلايا الطبيعية وذلك خلال الدورة الخلوية لها ما عدا الخلايا الموجودة في المرحلة G0 ، ويلاحظ وجوده بشكل كبير في الأورام وذلك بسبب الفعالية الانقسامية الكبيرة للخلايا الورمية . يبدى واسم التكاثر النووي تعبيره (تلونه) في نوى الخلايا بشكل عام ، ما عدا في أدينوما الدرق الترابيقيّة الهياكلية وهيمانجيوما الرئة المتصلبة ، حيث يبدى تعبيره في الغشاء الهولي .

يُكشف واسم التكاثر النووي (MIB-1) في الأنسجة المثبتة بالفورمالين ، ويُستعمل بشكل عام لتمييز الأورام الخبيثة عن الأورام السليمة ، ويُستعمل كواسم إنذاري لبعض الأورام ، ولاكتشاف عدد الخلايا المتكاثرة في بعض الأورام الأخرى مثل بوركيت لمفوما والمفوما البائية كبيرة الخلايا . عندما يُستعمل التلوين الكيميائي النسيجي المناعي للـ Ki-67 فإنه يجب أن يقيم نسبة وتوزع الخلايا التي تبدى إيجابية المستضد Ki-67 ، أكثر من القول فقط بأنه موجود أو غائب (إيجابي أو سلبي) .

لنأخذ مثلاً على استعماله في الجلد الطبيعي وفي المخاطيات الشائكة ، فتعبير الـ MIB-1 في هذه الأنسجة محدد في الخلايا قرب القاعدة . وفي التنتشوات داخل البشرة ، تزيد الخلايا التي تبدى MIB-1 بشكل مضطرد في الكمية وفي الارتفاع ضمن البشرة كلما زادت درجة الورم (٣٥٨، ٣٥٩) . على كل حال ، يلاحظ تعبير الـ Ki-67 في الآفات السليمة والارتكاسية حيث يغيب النضج الطبيعي للبشرة الشائكة (٣٦٠) .

إن استعمال واسمات التكاثر الخلوي كوسيلة تشخيصية يمكن أن يقدم طرق موضوعية لتشخيص الآفات أو تقديم موثوقية عالية في حالات محددة . وكما قلنا فإنه يحدد نسبة وتوزع الخلايا التي تبدى تعبير للـ Ki-67 وليس فقط القول بأنه إيجابي أو سلبي . أكثر ما يفيد الـ Ki-67

عندما لا تكون الأشكال الانقسامية واضحة بالتلوين العادي أو عندما يبدى فحص الآفة مظاهر ملتبسة . إن اكتشاف تعبير الـ MIB-1 يتم بسهولة بالتقنيات المناعية العادية حيث يبدى تلون نوى واضح ومتموج . بالإضافة لذلك ، فإنه دائماً يوجد شاهد إيجابي في نفس السلايد إما ضمن البشرة أو ضمن الخلايا للمفاوية . في بعض الحالات النادرة يبدى الـ Ki-67 تلون في خلايا باطن عنق الرحم الطبيعية (٣٦١) .

الدراسات الوراثية المتعلقة بالمبيض Genetics :

التأهب الوراثي Inherited Predisposition :

كما ذكر سابقاً ، العوامل الوراثية هي أكثر عوامل الخطورة أهمية في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض . وجود ١ أو ٢ من أقارب الدرجة الأولى لديهم سرطان مبيض يزيد الخطر في الحياة إلى ٣ - ٥% و ٣٩% بالتتالي . هناك ثلاثة تناذرات وراثية يحدث فيها سرطان المبيض العائلي وهي :

- تناذر سرطان الثدي - المبيض الوراثي : العديد من سرطانات المبيض والثدي بين أقارب الدرجة الأولى والثانية .
- تناذر سرطان الكولون والمستقيم غير البوليبي الوراثي ، HNPCC أو تناذر سرطان عائلة لينش II : يتطور سرطان مبيض عند الأشخاص الذين لهم أقارب لديهم سرطان كولون ، ثدي ، مبيض ، بطانة رحم ، سبيل بولي ، رحم وخباثات أخرى .
- تناذر سرطان المبيض المحدد الموقع غير معروف المنشأ وفيه يكون لدى اثنين أو أكثر من أقارب الدرجة الأولى سرطان مبيض .

كل الأنماط الثلاثة لسرطان المبيض العائلي تتماشى مع الانتقال الصبغي السائد لواحد أو أكثر من المورثات المسؤولة عن تطور أكثر من سرطان واحد ، مع نفاذ غير كامل وتعبير مختلف . إن عمر تشخيص سرطان الظهارة السطحية للمبيض الوراثي تقريباً أبكر بعشر سنوات من الحالات الفردية .

تناذر ثدي - مبيض Breast-Ovarian Syndrome :

من أصل حوالي ١٠% من سرطانات الظهارة السطحية للمبيض التي يعتقد أن لها مركب وراثي ، ٩٠% تتوافق مع تناذر مبيض - ثدي . هذا التناذر يترافق مع مورثتين، BRCA1 في الموقع 17q21 ، و BRCA2 في الموقع 13q12.3 ، والتي تكون مسؤولة عن إصلاح الـ DNA وتنظيم الانتساخ (٩، ١٠، ١٢، ١٣) . تكون الطفرات متوزعة في كل مناطق تنميط الـ BRCA1 و BRCA2 ، ومعظمها يؤدي إلى بتر البروتين . طفرات الخط المورثي لـ BRCA1 تشكل حوالي ٨٠% من سرطانات المبيض - الثدي الوراثية. طفرات الخط المورثي لـ BRCA2 تشكل حوالي ١٠% - ٣٥% من سرطانات المبيض العائلية. تتوافق BRCA1 مع ٢٦% خطر تراكمي لسرطان المبيض لمعظم حاملي الطفرات ، وحتى خطر أعلى ، ٨٥% ، في مجموعة صغيرة . النساء ذوات طفرات الخط المورثي BRCA1 لديهن حوالي ٤٠% خطر تطور سرطان مبيض بعمر السبعين . يزيد BRCA2 الاحتمالية لدرجة أقل . خطر تطور سرطان المبيض في فترة الحياة لدى حاملي طفرات BRCA2 هو ٢٧% . على كل حال إن خطر تطور سرطان المبيض المترافق مع طفرات الخط المورثي لـ BRCA1 و BRCA2 يختلف حسب المجموعة السكانية المدروسة . دراسة أظهرت خطر تطور سرطان المبيض في فترة الحياة ٤٠ - ٦٠% لدى حاملي طفرات الـ BRCA1 ، بينما دراسة أخرى وجدت ٢٥ - ٣٠% خطر لدى حاملي طفرات الـ BRCA1 . تقريباً ١ من كل ٤٠٠٠ من تعداد السكان العام لديه طفرة بالـ BRCA1 ، بالرغم من أن بعض السكان لديهم نسبة حدوث أعلى ، على سبيل المثال يهود أشكنازي . مرضى سرطان الثدي الذين لديهم طفرات في الـ BRCA1 أو الـ BRCA2 لديهم عشر أضعاف خطر تطور سرطان المبيض .

النفاذية المختلفة للـ BRCA1 تقترح أن مورثات أخرى وعوامل غير وراثية تساهم في الأمراض عند هؤلاء الأشخاص . أحد هذه المعدلات هو تنوع أشكال الـ VNTR

1-kb أسفل جدول الـ HRAS (١١) . حاملي الـ BRCA1 مع أليلات نادرة للـ VNTR لديهم ٢,١١ زيادة في خطر تطور سرطان المبيض بالمقارنة مع الأليلات الشائعة (p=0.015) .

حوالي ٥٠% من سرطانات المبيض العائلية لا تتوافق مع طفرات في الخط المورثي BRCA1 أو BRCA2 . تحليل Linkage and LOH يقترح مورثة حساسة لسرطان المبيض العائلي في الموقع 3p22-p25 (١٥) . تحليل LOH لـ 3p22-p25 أعلى (٥٢%) في سرطانات المبيض العائلية غير المترافقة بـ BRCA1/BRCA2 منها في المترافقة بـ BRCA1 (٢٩,٧%) .

تناذر سرطان الكولون والمستقيم غير البوليبي الوراثي HNPCC :

طفرات إصلاح أخطاء مورثة MMR تتضمن MLH1, MSH2, MSH6 (١٥) وتوجد في تناذر HNPCC (متلازمة لينش ٢) . هذه تشكل النمط الثاني الأكثر شيوعاً لسرطانات المبيض الوراثية .

تناذر سرطان المبيض المحدد الموقع Site-Specific Ovarian Cancer Syndrome :

سرطان المبيض العائلي الأقل شيوعاً هو تناذر سرطان المبيض المحدد الموقع (١٦) ، وفيه سرطان المبيض هو السرطان الرئيسي . وقد اقترح أن سرطان المبيض المحدد الموقع هو نوع من تناذر مبيض - ثدي وذلك بسبب الطفرات في كل من BRCA1 أو BRCA2 ، ولا يوجد موجودات سريرية مميزة له .

سرطان المبيض مبكر الحدوث (أقل من ٣٠ سنة) :

تم مسح الخط المورثي للـ DNA عند نساء مشخص لديهن سرطان مبيض قبل سن الثلاثين لاكتشاف طفرات في BRCA1, BRCA2, MSH2, MLH1 . وجد ٢ من ١٠١ امرأة لديها سرطان مبيض غازي (قبل سن الثلاثين) عندها طفرات في الخط المورثي لـ MLH1 ، لكن لم تكتشف طفرات في الخط المورثي لأي من المورثات الأخرى المفحوصة (١٧) . وهكذا فإن طفرات الخط المورثي

لـ BRCA1, BRCA2, MSH2, MLH1 تساهم بدرجة قليلة جداً في حالات سرطان الظهارة السطحية للمبيض مبكر الحدوث .

الحالات العائلية الأخرى :

يوجد تقارير عديدة للسرطانة صغيرة الخلايا ، نمط نادر من سرطان المبيض ، تحدث في عدة أفراد بالعائلة ، تقترح تأهب مورثي لهذا الورم ^(١٨) . تترافق عدة حالات عائلية لسرطان المبيض بطفرات في الخط المورثي P53 ^(١٩) .

الوراثيات الخلوية Cytogenetics :

الوراثيات الخلوية المورفولوجية Morphological : Cytogenetics

هناك العديد من الموجودات الوراثية الخلوية المرافقة لسرطان الظهارة السطحية للمبيض أكثر من الأنماط الأخرى لأورام المبيض (أورام الخلية الإنتاشية ، أورام لحمية الحبل الجنسي) . في الوقت الحالي ، يوجد أكثر من ٤٠٠ نمط صبغي منشور لسرطان المبيض . زيغان المورثات يكون غير عشوائي ومعقد . على كل حال ، لم يحدد بعد واسم نوعي لإعادة ترتيب المورثات . غالباً ما يبدي النمط الصبغي اختلال شديد في الصيغة الصبغية ، مع نقص في عدد الصبغيات الثنائية وتقريباً خط جذعي من الصبغيات الثلاثية . تحت الأنماط المختلفة لسرطان المبيض لا تبدي اختلافات وراثية خلوية ملحوظة ، ما عدا الأورام المصلية الحليمية غالباً ما تبدي زيغان صبغي أكثر من تحت الأنماط الأخرى . يوجد الزيغان الصبغي المعقد في السرطانات الغازية ، ولا يوجد في الأورام السليمة أو الحدية . تعقد الصيغة الصبغية المأخوذة من الأورام المتقدمة تظمس الحوادث المسببة في إمراضية هذه الأورام . غالباً توجد صيغة صبغية طبيعية أو زيغان وراثي خلوي خفيف في الأورام منخفضة الدرجة . على كل حال ، يوجد ترابط بين تعقد الصيغة الصبغية وبين درجة الورم ^(٢٠) . تغيرات صبغية بسيطة (تغيرات الأعداد فقط أو إعادة ترتيب بنيوي وحيد) توجد في السرطانات جيدة التمايز ، بينما توجد الصيغة الصبغية المعقدة في الأورام سيئة التمايز . مرضى

الأورام ذوي الصيغة الصبغية الزائغة ، خصوصاً المعقدة منها ، تترافق مع فترة حياة أقصر . تقريباً ١٠ - ٢٠% من سرطانات المبيض تبدي مناطق متجانسة التلوين homostaining regions (hsr) ، بالرغم من أن ما تحويه من مواقع غير معروف ^(٢١) . أكثر التغيرات العددية شيوعاً هو اكتساب صبغيات ١ ، ٢ ، ٣ ، ٦ ، ٧ ، ٩ ، ١٢ و ٢٠ وفقدان صبغيات ٤ ، ٨ ، ١١ ، ١٣ ، ١٤ ، ١٥ ، ١٧ و ٢٢ ^(٢٢) . تتضمن إعادة الترتيبات البنيوية بشكل رئيسي الحذف وتبادل المواضع غير المتوازن المتضمن 1p, 1q, 3p, 3q, 6q, 7p, 10q, 11p, 11q, 12q . في مراجعة لـ ٢٤٤ سرطانة غدية بدئية في المبيض ^(٢٤) ٢٠١ من أصل ٢٤٤ ورم أبدت تغيرات صبغية نسيلية وحدد وجود hsr في ٢٠ حالة . باستعمال طريقة log-rank وطريقة الارتداد التصادفي التناسبي ، لوحظ وجود نقاط كسر صبغي غير عشوائي في كل من المناطق ٢١ المتضمنة ولوحظ أن كسر في ٩ مناطق محددة (1p1, 1q2, 1p3, 3p1, 6p2, 11p1, 11q1, 12q2, 13p1) يترافق مع نقص في مدة حياة المرضى ونسبة البقيا . وأكثر من ذلك ، فقط الكسر الموضعي ضمن 1p1 و 3p1 يعتبر بشكل مستقل له تأثير مؤد على البقيا والمتغيرات السريرية المترافقة مع البقيا . في إحدى الدراسات ، ٣٧% من الأورام الحدية المصلية أبدت تغيرات صبغية ، أكثرها شيوعاً تثلث الصبغي ٧ و ٨ و ١٢ . نسبة أكبر ، ٩١% ، من السرطانات المصلية الغازية أبدت تغيرات صبغية نسيلية . باستخدام كل من التتميط الصبغي وتحليل التتابع الدقيق microsatellite حددت حذف بسيط لـ 6q27 ، بين D6S149 و D6S193 ، في كل من أورام المبيض الظهارية السليمة والغازية ^(٢٥) ، مما يقترح وجود تنشيط للمورثة المثبطة للورم وهذا يساهم في الأحداث الباكرا لنشوء هذه الأورام .

سرطانات المبيض غير المتميزة والمصلية الغازية لها إعادة ترتيب وراثي خلوي معقد ، يتضمن تضخيم المحرضات الورمية . التغيرات الصبغية المعقدة نادراً ما توجد في

السرطانات المخاطية والمشبهة بباطن الرحم (خصوصاً في المراحل المتقدمة) ، ولا توجد أبداً في الأورام المصلية الحدية . تتميز أورام الظهارة السطحية للمبيض بكسب في 3q, 8q, 20q ، غالباً مع نسبة تضخيم مرتفعة (٢٦) . وهكذا يختلف ملف الوراثة الخلوية لسرطانات ظهارة المبيض عن ذلك الذي لأورام الخلايا الحبيبية للمبيض ، تثلت الصبغي ١٤ وأحادية الصبغي ٢٢ نادراً ما توجد في سرطانات ظهارة المبيض (٢٧) . تشوهات الصبغي ١ و ٣ تعتبر أكثر الزيغانات الموجودة شيوعاً في أورام المبيض الانتقالية (٢٨) . تقصي الوراثة الخلوية لـ ١١ امرأة لديها سرطان مبيض ثنائي الجانب أبدى نمط صبغي متمثل ، مما يقترح أن كلا الورمين نشأ من نفس الخلية المتحولة ، أكثر من كون الورمين نشأ بشكل مستقل (٢٩) .

في دراسة لـ ٥٢ سرطان مبيض وجد ٤٦ منها له صيغة صبغية معقدة ، غالباً مع وجود تثلت في الصبغيات أو نقص في الصيغة الصبغية الثنائية . أكثر هذه الصيغ شيوعاً كان فقدان في الصبغيات X، ٢٢، ١٧، ١٣، ١٤ و ٨ ، (فقدت في أقل من ٢٠ ورم) . ربح الصبغيات كان أقل شيوعاً ، تثلت الصبغي ٢٠ وجد في ١٠ أورام . أكثر إعادات الترتيب البنيوية شيوعاً هي الحذف وتبادل المواضع غير المتوازن ، والذي غالباً ما تضمن 19p13 (حالة ٢٦) ، 19q13 (حالة ١٤) ، 1p36 (حالة ١٣) ، 11p13 (حالة ١٣) ، 3p12-13 (حالة ١٢) ، 1q23 (حالة ١١) ، و 6q21 (١٠ حالات) (٢٣) .

في إحدى الدراسات ، ٢٦ من ٣٦ سرطان مبيض أبدى زيغان الصيغة الصبغية . ربح الصبغيات ١، ٢، ٣، ٦، ٧، ٩ و ١٢ كان شائعاً ، كما أيضاً فقد الصبغيات X، ٤، ٨، ١١، ١٣، ١٥، ١٧ و ٢٢ . إعادة الترتيب البنيوي

غالباً ما تضمنت 1p, 1q, 3p, 3q, 7p, 9q, 11q, 17q, 19p, 19q (٣٠) .

في دراسة لـ ٥٤ ورم (٣١) ، الكسر الموضعي في الصبغيات تضمن بشكل أساسي المناطق 1p35, 1p11-q21, 3p11-23, 7p, 11p, 11q, 12p 13-q12, 12q24 فقدان الصبغي X وتثلت الصبغي ٧ كان أكثر التغيرات العددية شيوعاً .

من كل ثلاثة سرطانات مبيض يوجد واحد لديه حذف في الموقع البعيد لـ 11p (٣٢) . تواتر وتتنوع حدوث حذف الصبغي ١ (٣٣) ، كل من النصف البعيد لـ 1q و 1p34-36 ، وتواتر ملاحظة ذلك في أنماط أورام أخرى يقترح أنها تغيرات ثانوية غير نوعية . الحذف وتبادل المواضع غير المتوازن الناتج عن فقدان الـ 3p ، خصوصاً الـ 3p13-21 وجد حديثاً في سرطانات المبيض ، لكن ليس كتغير مفرد (١٤) .

الموجودات الوراثية الخلوية لـ ٣٧٠ حالة سرطان مبيض غدي يمكن أن توجد موضوعة في Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer (<http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>) . عدم التوازن الناتج عن إعادة الترتيب الوراثي الخلوي ملخصة في الجدول ٦ . من هذه الحالات ، ٣٦% عندها تعدد الصيغة الصبغية (مع أعداد صبغيات تتراوح بين ٥٨ و ١٢٧) ، ٢٨% لها صيغة صبغية ثنائية مفرطة (مع ٤٨ - ٥٧ صبغي) ، ٢٢% عندها نقص في الصيغة الصبغية الثنائية (أقل من ٤٥ صبغي) ، و فقط ١٤% كانت حول الصيغة الصبغية الثنائية (٤٥ - ٤٧ صبغي) .

جدول ٦ ملخص تواتر عدم التوازن في سرطانات المبيض (مأخوذ من Hoglund et al., 2003, data from Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer)

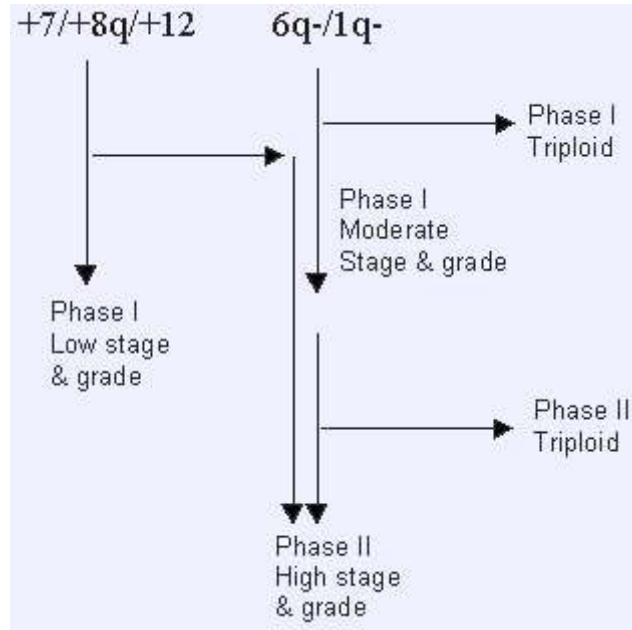
عدم التوازن	تواتر عدم التوازن في سرطان المبيض (٣١٦ حالة) كنسبة مئوية
+1q10-q32	٢٤
+2p12-q37	٩
+3q10-q29	١٨
+6p24-p10	١٠
+7p22-q36	١٦
+8q10-q24	١١
+12p13-q24	٢٠
+20p13-q13	١١
-1p36-q13	٢٨
-1q31-q44	٢٤
-2p15-p23	١٨
-4p16-q35	٢٧
-5p15-q34	٢٠
-6q15-q27	٤٠
-7p22-p15	٢٢
-7q31-q36	٢١
-8p23-q24	٣٠
-9p24-p21	٢٠
-10p15-p11	٢٢
-11p15-p13	٢٧
-13p13-q34	٢٨
-14p13-q32	٢٩
-15p13-q26	٣١
-16p13-q24	٢٥
-17p13-q25	٣٠
-18p11-q23	٢٣
-19p13-q13	٢١
-21p13-q22	٢٢
-22p13-q13	٣١
-Xp22-q28	٣٩

القليل جداً معروف عن تسلسل أحداث الوراثة الخلوية والمورثات المرافقة لتطور المرض من المراحل الباكرة إلى المراحل المتقدمة . هذا السؤال بُحث في دراسة الوراثة الخلوية في Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer ووجد أن سرطان المبيض يمر في أكثر من ثلاث مراحل من تطور الصيغة الصبغية :

والدرجة (٢٥) . المراحل الباكرة من خلل الصيغة الصبغية تؤدي إلى تطور تدريجي مكتسب ينتهي بتغيرات تقضي إلى المراحل الأولى للورم . عدم استقرار الصبغيات يؤدي للانتقال للمرحلة الثانية للورم ، ربما كنتيجة للنوبات الشديدة للقسيمات الانتهازية ودورات التحام وكسر الصبغيات ، والذي يرتبط بصفة عدم التوازن لطريق الـ 6q-/1q- . وهكذا ، الأورام منخفضة الدرجة والحدية لا يمكن أن تتطور ما لم يكن لها مظاهر طريق مشترك . طريق 6q-/1q- كان مترافقاً مع ثلث الصيغة الصبغية . إن طريق 6q-/1q- هو مساعد في تطور سرطانات المبيض . الطريق المقترح في تطور الصيغة الصبغية في سرطانات المبيض ملخص في الشكل ٢٢ .

الشكل ٢٢ ملخص تطور الصيغة الصبغية في سرطانات المبيض

(مأخوذ من Hoglund et al., 2003)



٢٢ و الصبغي X مع حذف 6q24-qter ، وريح الصبغيات ١، ٣، ٥ و ١٢ .

- المجموعة الثانية : وجدت تشوهات في الأنماط الخبيثة وليس في الأنماط السليمة . هذه تضمنت فقدان الصبغيات ٢، ٧، ١٣ و ١٤ ، وريح الصبغي ٤ وصبغيات واسمة (٣٢) .

• المرحلة الأولى : ١ - ٧ عدم توازنات

• المرحلة الثانية : مع ٨ - ١٥ عدم توازنات

• المرحلة الثالثة : مع أكثر من ١٥ عدم توازنات

بتحليل النتائج وُجد أن الأوامر المؤقتة لعدم التوازن كانت كالتالي : +7, +8q, 6q-, 1q- حدثت باكراً ، -4, -8, +12, +1q, حدثت في وقت متوسط ، باقي حالات عدم التوازن حدثت متأخرة . استنتج من هذا أن تطور الصيغة الصبغية في سرطانات المبيض يتبع على الأقل طريقين من الوراثة الخلوية . الطريق الأول يتضمن ربح الصبغيات +7/+8q/+12 وكان مترافقاً مع مراحل باكرة ودرجات منخفضة للأورام . الطريق الثاني يتضمن فقدان الصبغيات 6q-, 1q- وجد في الأورام متوسطة المرحلة

أجريت دراسة لـ ١١٤ تشو مبيضي ، تتضمن أورام سليمة وحدية وغازية وذلك بالدراسة العادية والجزيئية للوراثيات الخلوية . صنفت تشوهات الصبغيات كما يلي :

- المجموعة الأولى : وجدت تشوهات في كل الأنماط . وهذه تضمنت فقدان الصبغيات ٦، ٨، ١٠، ١١، ١٥، ١٦، ١٧، ١٨، ١٩، ٢٠، ٢١،

الوراثيات الخلوية الجزيئية Cytogenetics Molecular:

الوراثيات الخلوية الجزيئية ^(٣٦) أظهرت تواتر عالي لتضخيم نسخة الصبغي 20q13.2 (٧٠%) والسيكلين D1 (CCND1 at 11q13 ، ٧٢%) والتي كانت مترافقة مع إنذار سيء ^(٣٧) . دراسة أخرى بحثت تضخيم الـ 20q12-20q13.2 باستعمال سلسلة من بروبوات الـ FISH في ٢٤ حالة سرطان مبيض فردي و ٧ حالات سرطان مبيض وراثي ^(٣٨) وجدت تضخيم واحد من المناطق على الأقل في ٥٤% من الحالات الفردية وفي كل الحالات الوراثية ، إن تضخيم الـ (20q12) AIB1 وهو مستقبل ستيرويدي يتعلق ببقيا سيئة . يمكن مشاهدة حالات تضخيم وفقدان نسخ الـ DNA بواسطة comparative CGH (genomic hybridization في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض (وأورام أخرى) في الموقع http://www.helsinki.fi/cmg/cgh_data.html ويتم تحديثها بشكل منتظم . قواعد تواتر الفقدان والربح المستخدمة كانت كالتالي . بالنسبة للفقدان ، يجب أن يكون ١٠% من النسخ لديها فقدان ، ويجب أن تكون مترافقة على الأقل بثلاث حالات زيغان . أما بالنسبة للتضخيم فيجب أن يكون هناك على الأقل ٥% أو أكثر من النسخ تبدي تضخيم . تواتر الفقدان والتضخيم لخص في الجدول . ٧

- المجموعة الثالثة : التشوهات فقط في السرطانات الغازية مثل فقدان الصبغي ١٤ ، حذف 6q16- q24 ، ربح الصبغيات ٢ ، ٧ ، ٨ ، ٩ ، ١٠ ، ١٦ ، ١٧ ، ١٨ ، ١٩ ، ٢٠ و ٢١ ، وإعادة ترتيب بنيوي 3p,3q,13q,21q .
- إن وجود زيغان وراثي خلوي بشكل شائع في كل الأنماط يقترح أن هذه الأورام تتطور بشكل متتالي ^(٣٣، ٣٤، ٣٥) .
- الاستنتاجات الرئيسية من الاستقصاءات الوراثة الخلوية لسرطان الظهارة السطحية للمبيض هو كما يلي :
- الكسر الصبغي الموضعي غير العشوائي في سرطانة المبيض الغدية لا يحدث بشكل مستقل ^(٢٤) .
- الكسر الصبغي الموضعي في المواقع 1p3 و 11p1 تعتبر أحداث مبكرة ، وتترافق مع إنذار سيء ^(٣٠) .
- الكسر الصبغي الموضعي في المواقع 1p1,3p1,1q2 و 1p1، والكسر الصبغي الموضعي في المواقع 3p1 يتوافق مع إنذار سيء .

الجدول ٧ تواتر التضخيم والفقدان في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض، تتضمن أورام وراثية (الموجودات)

مأخوذة من http://www.helsinki.fi/cm/cgh_data.html

نمط تنشؤ المبيض	الفقدان	التضخيم	النسبة المئوية (عدد الحالات)
سرطان مبيض	(1p21-p31)		٧ (٧٢/٥)
	1p34.1-p34.3		١١ (٤٤/٥)
		1q	٧ (٧١/٥)
		2p15p22	٤ (٢٤/١)
		2q22-q24	٥ (٢٠/١)
		3cen-q23	٤ (٢٤/١)
		3q25-q27	١٣ (٤٧/٦)
	4q21-q32		١٦ (١٨٤/٣٠)
	4q32-qter		١٦ (٩١/١٥)
	4q32-qter		١٦ (٩١/١٥)
	5q12-q23		١٦ (١٨٤/٣٠)
		6p21	٧ (١٤٤/٣)
		6q13-qter	٥ (٢٠/١)
	6q16-qter		١٣ (١٨٤/٢٣)
		7q36	٧ (٢٧/٢)
	8p21-pter		١٧ (١٨٤/٣٢)
		8q	٤ (٢٤/١)
		8q22-qter	١٨ (٤٤/٨)
	9p		١٠ (١٥٩/١٦)
		9p24	٤ (٢٧/١)
	9q		١٣ (١٣٦/١٧)
		10p15	٤ (٢٧/١)
	10q11-qter		١٧ (٥٩/١٠)
		12p12	١٩ (٤٧/٩)
		12p12	٩ (٤٧/٤)
	12q24-qter		١٠ (١٤٠/١٤)
	13q12-q21		١٨ (١٣٥/٢٤)
	13q21-q32		١٢ (١٦٠/١٨)
	16p		١٣ (٩٣/١٢)
	16q		٢٣ (١٨٤/٢٤)
	17p		٢٠ (١٨٤/٣٧)
	17q11.2-q32		٢٣ (١٣٧/٣١)
		17q21-qter	٦ (٤٧/٣)
		18p11.3	٤ (٢٧/١)
	18q12-qter		١٨ (١٨٤/٣٣)
	19p		٢٣ (٤٤/١٠)

(٦٩/١١) ١٦		19q	
(١١٦/١٢) ١٠		21q	
(٩٣/١٧) ١٨		22q	
(١٨٤/٣٥) ١٩		Xp	
(٤٧/٩) ١٩		Xq	
(٨٩/١٢) ١٣		Xq11.2-q21	
(٦٨/١٦) ٢٤		Xq21-qter	
(٢٨/٥) ١٨		4p15.2	سرطان ظهارة مبيض بدئي
(٢٨/٥) ١٨		4q23-q24	
(٢٨/٥) ١٨		4q26-q27	
(٢٨/٤) ١٤		5q14	
(٢٨/٤) ١٤		5q15	
(٢٨/٣) ١١		9p22-p24	
(٢٨/٥) ١٨		9q22-q31	
(٢٨/٤) ١٤		13q14	
(٢٨/٦) ٢١		13q31-q32	
(٢٨/٤) ١٤		14q24.3-q31	
(٢٨/٧) ٢٥		15q21.1	
(٢٨/٣) ١١		18q21	
(٢٠/٢) ١٠	1q32-qter		سرطان مبيض وراثي (BRCA1, BRCA2)
(٢٠/٢) ١٠	3q26.1		
(٢٠/١) ٥	5p		
(٢٠/٢) ١٠	6p22-p24		
(٢٠/١) ٥	6q21-q22		
(٢٠/٣) ١٥		6q25-qter	
(٢٠/٨) ٤٠		8p23	
(٢٠/٦) ٣٠	8q23-q24.1		
(٢٠/١) ٥	12p		
(٢٠/١) ٥	12q13-q21		
(٢٠/٣) ١٥		18p11.2-pter	
(٢٠/٤) ٢٠		18q21-qter	
(٢٠/١) ٥	20p		
(٢٠/٣) ١٥		Xp	
(٢٠/٣) ١٥		Xq12-21	
(١٨/٤) ٢٥		1p34-p36	سرطان مبيض، فردي ووراثي
(١٦/٣) ١٩		4q31.3-q35	
(١٦/٨) ٤٠		9q31-q34	

٢٥ (١٦/٤)		10q23-q26	
١٩ (١٦/٣)		11q23-q25	
١٩ (١٦/٣)		16p	
٣٨ (١٦/٦)		16q22-q24	
١٩ (١٦/٣)		17p	
١٩ (١٦/٣)		19	
٢٥ (١٦/٤)		22q12-q13	
١٩ (١٨/٣)		Xp	

استعمل CGH لبحث سرطانات المبيض المخاطية وأورام برنر المتواجدة معاً في مبايض مختلفة لنفس المرأة^(٤٢) .

وجد تضخيم 12q14-q21 في كلا الورمين ، وذلك بوجود تغيرات نسخ صبغيات أخرى ، ٤ تغيرات في ورم برنر و ٦ تغيرات في الكارسينوما المخاطية .

الارتباط بين موجودات CGH (comparative) genomic hybridization و الموجودات السريرية :

في دراسة ضخمة لـ ١٠٦ حالات سرطان مبيض بدئي، ارتبطت موجودات CGH مع المعايير السريرية مثل درجة تمايز الورم . ١٠٣ أورام أبدت عدم توازن^(٤٣) . كان تضخيم الـ 8q, 1q, 20q, 3q, 19p موجودات شائعة وجدت في ٥٣ – ٦٩% من الأورام . نقص تمثيل الـ 13q, 4q, 18q كان أيضاً شائعاً ، وجد في ٥٠ – ٥٤% من الحالات^(٤٤) . نقص تمثيل الـ 11p, 13q وفُرق تمثيل الـ 8q, 7q تطابق مع سرطانات المبيض غير المتميزة ، بينما نقص تمثيل الـ 12p وفُرق تمثيل الـ 18p كان أكثر شيوعاً ترافقاً مع الأورام جيدة التمايز ومتوسطة التمايز. هذه الموجودات تطابقت مع دراسات CGH أخرى^(٢٦) .

دراسة ١٢ حالة سرطان خلية رافعة للمبيض اعتماداً على CGH^(٤٥) أبدت تشابهاً مع موجودات الأنماط الأخرى للأورام الظهارية ، مثل ربح في 8q, 17q وفقدان في 19p. وارتبطت موجوداتها أيضاً مع حالة المرض (أي خالٍ من المرض ، مرض ناكس ، أو موت من المرض). وُجدت تغيرات في نسخ صبغيات الـ DNA في أكثر من ٢٠% من الحالات وهذه التغيرات تضمنت فرط تمثيل 8q11-q13, 8q21-q22, 8q23, 8q24-qter,

بينت دراسات أخرى ربح الصبغي ٨ في ١ من ١٠ سرطانات مبيض^(٣٩) .

بينت دراسة لـ ٣١ سرطان مبيض بدئي عند نساء صينيّات أجريت بواسطة CGH^(٤٠) أن العديد من التغيرات غير العشوائية في نسخ الصبغيات تتضمن ربح الـ 3q (١٧ حالة ، ٥٥%) مع وجود مناطق ربح صغيرة في 3q25- 8q, 26q (١٦ حالة ، ٥٢%) ، 19q (١٢ حالة ، ٣٩%) ، Xq (١١ حالة ، ٣٥%) ، 1q (١٠ حالات ، ٣٢%) ، 12p12-q13 (١٠ حالات ، ٣٢%) ، 17q (١٠ حالات ، ٣٢%) مع منطقة ربح صغيرة عند 17q21, 20q (٩ حالات ، ٢٩%) ، بالترافق مع فقدان في 16q (٩ حالات ، ٢٩%) ، 1p (٧ حالات ، ٢٣%) ، 18q (٧ حالات ، ٢٣%) و ٢٢ (٧ حالات ، ٢٣%) . التضخيم العالي لنسخ الصبغيات لوحظ عند 3q25-q26 (٤ حالات) ، 8q24 (٣ حالات) و 12p11.2-q12 (٣ حالات) . عدم التوازن الأشيع المكتشف بواسطة CGH في أورام المبيض الظهارية كان ربح في 3q25-26 ، ربح في 8q24 ، فقدان في 16q ، وفقدان في 17pter-q21 . شوهد ربح الـ 12p في ٨ من ٤٤ حالة ، وذكر ذلك سابقاً في كل من أورام الخلية الإنتاشية للمبيض والخصية . دراسة أخرى أجريت بواسطة Hauptmann et al, 2002^(٤١) وذلك بالاعتماد على CGH لتحليل سرطانات المبيض بينت تواتر غالب في ربح 4q, 6q, 12q, 20q, 3q, 6p, 7, 8q, 20q ، بالترافق مع فقدان 4q, 6q, 12q, 20q ، وهذا دعم الموجودات الوراثية الخلوية المتاحة .

المبييض الفردية والوراثية ، ما عدا بالنسبة لـ 2q24-q32^(٤٩) . تحليل CGH لـ ٣٦ حالة إضافية لورم وراثي وجدت أن معظم عدم التوازنات كانت مشابهة لتلك التي للأورام الفردية (ريج : 8q23-qter, 3q26.3-qter, 11q22, 2q31-32, 8p21-pter, 16q22-qter, 22q13, 12q24, 15q11-15, 17p12-13, 20q13, 18q21, 15q24-25, Xp21-22). على كل حال وجد أن بعض عدم التوازنات كانت نوعية للأورام الوراثية^(٥٠) ، يتضمن ذلك حذف 15q11-15, 15q24-25, 8p21-11q22, 13q22, 22q13, 12q24, 17q23-35^(٥١) . وجد حذف الـ 15q11-15 في ١٦ من ٣٦ حالة وحذف الـ 15q24-25 في ١٢ من ٣٦ حالة وهذا يقترح اشتراك hRAD51 وجينات مثبطة ورمية أخرى موجودة في هذه المواقع في آلية نشوء سرطانات المبييض الوراثية .

الجينات والبروتينات المسببة Genes involved and

Proteins :

بالإضافة إلى كون طفرات المورثات BRCA1, BRCA2 وطفرات مورثات إصلاح التصلب الجيني لها دور مؤهب لأورام المبييض الظهارية ، دراسات عديدة استقصت التغيرات الجسمية في موقع محدد . الزيغانات الجسمية ملخصة في الأسفل بحسب فيما إذا الدراسة اشتملت تنميط الأليلات أو تحليل جينة معينة (والتي تقسم أيضاً فيما بعد إلى جينات محرضة ورمية وجينات مثبطة للورم) .

الدراسات المنمطة للأليلات Allelotyping (الأليل : هو

إحدى الجينتين متضادتي الصفات)

loss of MSI / (microsatellite instability) / LOH / (heterozygosity)

إن دراسات الوراثة الخلوية وفقدان تباير الزيجية (LOH) في إمرضية سرطان المبييض شملت عدة مناطق من الجينات . دراسات عديدة لتنميط الأليلات أجريت على سرطانات المبييض وبينت غالباً فقدان في 1p, 4p, 5q, 6p, 6q, 7p, 8p, 8q, 9p, 9q, 11p, 11q, 12p, 12q, 13q, 14q, 15q, 16p, 16q, 17p, 17q, 18q,

17q25-qter, 20q13-qter, 21q22, 19p . فرط تمثيل 8q11-q13, 8q21-q22, 8q23, 8q24-qter كان أكثر شيوعاً في المرضى الخالين من الورم منهم من المرضى الذين لديهم ورم ناكس أو الذين ماتوا . وبالعكس ، فرط تمثيل 17q25-qter, 20q13-qter كان أكثر شيوعاً في المرضى الذين لديهم ورم ناكس أو الذين ماتوا منهم من المرضى الخالين من الورم. هذه الموجودات تقترح أن سرطان الخلية الرائقة للمبييض يتطور عبر طريقين من الوراثة الخلوية^(٤٦) .

في دراسة ربطت عدم التوازن الجيني بواسطة CGH مع الموجودات السريرية لـ ٦٠ سرطان مبيض ، وُجدت الارتباطات التالية^(٤٣) :

- فقدان الصبغي ٤ ترافق مع الأورام عالية الدرجة .
- ريج الـ 3q26-qter, 8q24-qter, 20q13-qter ترافقت مع الأورام منخفضة الدرجة ومنخفضة المرحلة^(٤٧،٢٦) .

- حذف الـ 16q24 وأكثر من سبع عدم توازنات جينية مستقلة ترافق مع نقص مدة البقاء .

- درجة الورم تطابقت مع التطور الجيني بشكل أفضل من تطابق المرحلة السريرية معه^(٤٣،٤٨) .

موجودات CGH في سرطانات المبييض الفردية والوراثية:

قورنت موجودات CGH في سرطانات المبييض الفردية والوراثية (كل ٣ حالات حاملي طفرات BRCA1 مقابل حالة BRCA2) . أشيع عدم التوازنات تضمنت تضخيم 8q22.1-qter (٦٦,٦ %) ، 1q22-32 (٤١,١ %) ، 3q (٧٥ %) و 10p (٣٣,٢ %) ، وحذف الـ 9q (٤١,٦ %) و 16q21-q24 (٣٣,٣ %) . وجد حذف الـ 9q في كل حالات حاملي BRCA1 و ٢ من ٨ حالات أورام فردية ، ووجد حذف الصبغي ١٩ في ٢ من كل ٣ حالات حاملي BRCA1 ولم يوجد في أي حالة ورم فردي . هذه الموجودات تقترح تفضيل فقدان الجسيمي للصبغيات ٩ و ١٩ في حاملي طفرات BRCA1 . وبالعكس ، أظهرت دراسة أخرى تشابه شديد بواسطة CGH بين سرطانات

19p, 21q, 22q, Xp (٣٠، ٣٩، ٥٥، ٥٦) . على كل حال معظم هذه الدراسات فحصت سرطانات المبيض الغدية المصلية . دراسات قليلة فحصت LOH في الأورام السليمة والحدية ، ووجدت أن LOH نادراً ما يوجد في معظم المواقع، باستثناء الصبغي X في الأورام الحدية (٥٧) . فحص LOH لأورام المبيض الخبيثة باكراً المرحلة والأورام الحدية بينت تشابه نماذج الـ LOH مما يقترح أن أورام المبيض الخبيثة يمكن أن تتطور من الأورام السليمة والحدية (٦٤) . الأليلات التي تفقد غالباً توجد عند 5p15.2, 5q13-21, 6p24-25, 6q21-23, 6q25.1-27, 7q31.1, 11p15.5, 11p13, 11q22, 11q23.3-qter, 17p13.3, 17p11.2 ، تقترح وجود جينات مثبطة للورم متضمنة في سرطان المبيض (٣٤) . إن فحص التحول الصبغي بواسطة الخلايا المجهرية للصبغيات الطبيعية ١١ و ١٧ يثبت وجود جينات مثبطة للورم على هذه الصبغيات (٥٢، ٥٦، ٥٩، ٦٠) . التثبيط التام لتشكل الورم تم الحصول عليه بتحول الصبغي ١١ ، بينما نقص نسبة النمو في الزواج وفي الحياة مع زيادة فترة الكمون تم الحصول عليها بتحول الصبغي ١٧ . وأكثر من ذلك تحول الـ 17p11.2 له نفس تأثير تحول كامل الصبغي . فحص التتابع الدقيقة Microsatellite اقترح وجود جينة مثبطة للورم على 22q11-q12 (بين D22S301 و D22S304) (٦١) . هذا كان دُعم أيضاً بالتحول الصبغي بواسطة الخلايا المجهرية للصبغي ٢٢ في خلية سرطان المبيض SKOV3 والتي نتج عنها إلغاء تام للنمو ونقص دراماتيكي لوقت التضاعف في الزواج (٥٨) .

إن نمط فقدان الأليلات يختلف حسب النمط النسيجي لسرطان الظهارة السطحية للمبيض . الكارسينوما الغدية رائقة الخلايا أبدت بشكل رئيسي LOH لـ 1p, 19p, 11q, 1p, 4p, 5q, 6p, 8p, 9q, 12q, 13q, 15q, 16p, 17p, 17q, 18p, 18q, 19p, 20p, Xp (٣٩، ٥٦) . الكارسينوما الغدية المشبهة بباطن الرحم أبدت غالباً LOH لـ 7p (٣٠) ، والكارسينوما الغدية

المخاطية أبدت تواتر LOH على 17p13.1 (٥٩، ٦٠) . فحص LOH باستعمال واسمات RFLP في الموقع 6q24-q27 أبدى فقدان الأليلات في جزء أو في كل الموقع في ١٧ من ٣٣ ورم مبيض مصلي ، ١ من ١٥ ورم مبيض مخاطي ، و ٢ من ١٢ ورم مبيض رائق الخلايا (٣٤، ٦٢) . فقدان أليل 1p31 وجد في حوالي ٤٠% من سرطانات المبيض (٢٣) ، حيث تقع الدمغة الأم للمورثة المثبطة للورم (NOEY2) (ARH1) (٦٣) . تقريباً ١ من ٣ أورام مبيض ظاهرية في كل المراحل تبدي LOH لـ 9p (٣٠، ٥٣) . ٦٩% من ٧٨ ورم مبيض ظاهري أبدت LOH لـ 17p13.1 كانت متوضعة في TP53 (٥٤، ٥٩، ٦٠) . فقدان الأليل في 10q23.3 بجانب PTEN وضمن PTGN وجد في ٤٥% من سرطانات المبيض الظهارية (٦٨ حالة) (٦٥) . فقدان تعبير الـ PTEN كان مترافقاً مع ارتفاع مستويات الألكالين فوسفاتاز المفسفرة (٦٦) . لم يكن هناك عدم استقرار توابع دقيقة (MSI) ظاهر بين الـ ٢٣ ورم غدي كيسي مصلي سليم والـ ٣١ ورم مبيض حدي المفحوصة باستعمال ٦٩ واسم تابع دقيق (٦٧) . هذه الموجودات تقترح أن عدم استقرار التتابع الدقيقة ليست آلية إصلاح تصالب الـ DNA الحدية ، والشذوذات في آلية إصلاح تصالب الـ DNA ليست متضمنة . وبالعكس، حوالي ثلث السرطانات المشبهة بباطن الرحم أبدت عدم استقرار توابع دقيقة (MSI) (٦٨) .

الـ LOH لـ 3p14.2, 11p15.5, 11q23.3, 11q24, 16q24.3, 17p13 يكون أكثر تواتراً في الأورام متقدمة المرحلة منها في الأورام منخفضة المرحلة (٥٢، ٥٦) . الـ LOH لـ 3p14.2 يتعلق بنقائل الورم (١٤) ، بينما الـ LOH لـ 11p15.5, 11q23.3 كان مترافقاً مع بقيا منخفضة (٥٢) . الـ LOH لـ 11q22.3 كان مترافقاً مع بقيا منخفضة ونمط نسيجي مصلي ، وبشكل أساسي ترافق الـ LOH لـ 11q24-25 مع مراحل ورمية عالية، نمط نسيجي مصلي، وجود بقايا ورمية ، لكن لم يتعلق بالبقيا (٥٢، ٥٦) . الـ LOH لـ 1p36 يترافق مع درجة نسيجية سيئة (٢٣) .

: RB

وُجدت تشوهات جينة ال RB في سرطانات ظهارة المبيض بالتلوين النسيجي الكيميائي المناعي وبالمقاربة الجزيئية^(٧٦)، على كل حال يعتقد أنها تؤثر على قلة من الأورام ويمكن أن تكون حدث متأخر في نشوء الأورام .

: GATA4

لا يوجد تعبير لـ GATA4 ، عامل نسخ جيني متوضع على 8p23.1^(٣٩) ، في معظم سرطانات المبيض المصلية ، بينما يوجد له تعبير في معظم السرطانات المخاطية ، مما يقترح أن هذا النمط من الأورام يتطور عبر طريق إمراضي متميز .

: RNASET2

وُجد نقص تعبير ال (RNASE6PL) RNASET2 ، متوضع على ال 6q27 ، في ٣٠% من سرطانات المبيض. إن تحول ال cDNA RNASET2 في خلية سرطان المبيض يثبط نشوء الورم ، مما يقترح كونه جينة مثبطة للورم^(٧٧) .

: BRCA1

لم توجد الطفرات الجسمية لـ BRCA1 والـ BRCA2 في أورام المبيض الفردية ، على كل حال فقدان الأليلات المتضمن 17q21 ، حيث يتوضع ال BRCA1 ، كان شائعاً^(٧٨، ٧٩) . هذا يقترح أن جينات مثبطة للورم إضافية مطلوبة في الأسباب الجزيئية للأورام الفردية .

: Oncogenes الجينات المحرزة للورم

إن التغيرات في الجينات المحرزة للورم KRAS, MYC, ERBB2 يوجد بشكل شائع في آلية نشوء سرطانات المبيض .

: RAS

توجد طفرات ال KRAS في ٣٠% من سرطانات المبيض ، وغالباً ما تلاحظ في الأورام الغدية المخاطية السليمة وهكذا يمكن أن تكون حدث باكر في إمراضية أورام المبيض المخاطية^(٧٩، ٨١) . توجد طفرات ال KRAS في ٤٠ - ٥٠% من أورام المبيض المخاطية الحدية والسرطانات

: Tumor Suppressor Genes الجينات المثبطة للورم

إن التغيرات في الجينات المثبطة للورم مثل P53, RB1, BRCA1 (NOEY2) ARH1 متورطة في آلية تسرطن المبيض .

: P53

إن حذف أليل ال 17p أو طفرات ال P53 تحدث بشكل كبير في سرطان المبيض^(٦٩) . توجد طفرات ال P53 في حوالي ٥٠ - ٨٠% من الأورام عندما تفحص بالتتالي التام للجينات^(٧٠) . ال LOH للـ P53 أيضاً يوجد بشكل متواتر في سرطانات المبيض ، يتراوح بين ٣٠% إلى ٨٠% . وجدت طفرات ال P53 في سرطان المبيض وأورام المبيض الحدية^(٧١) . سرطانات المبيض المصلية الغازية وغير المتميزة تتميز بطفرات ال P53 مع تراكم البروتين ، فقدان شديد في أليلات الصبغي ١٧ وزیغانات وراثية خلوية معقدة^(٧٢) . إن نمط ال P53 مفرط الوظيفة مطلوب بسبب حساسيته الكيميائية والشعاعية لذلك يلعب دوره في الموت الخلوي المبرمج . وهكذا فإن طفرات ال P53 المتبوعة بفقدان النمط مفرط الوظيفة ينتج عنه المقاومة للعلاج^(٧٣) . من أورام المبيض التي تبدي تعبير P53 نووي ، ٩٠% منها لديه طفرات في ال P53 والتي تزيد من نصف عمر بروتين ال P53 . ٥٠% من كارسينوما المبيض المتقدمة لديها فرط تعبير أو طفرات بالـ P53 والذي يتطابق مع درجة عالية وبقياً سيئة واستجابة ضعيفة للعلاج الكيميائي^(٧٤) . على كل حال ، لا يبدو أن ال P53 مشمول في إمراضية الكارسينوما الغدية رائقة الخلايا .

: CDKN2A

يوجد أيضاً الحذف متمائل الجيزية أو الطفرات داخل الجينية لـ (p16INK4A) CDKN2A في أورام المبيض الظهارية . ينمط ال CDKN2A بروتين مثبط للكيناز ٤ المعتمد على السيكلين . يمنع ال CDKN2A المعقد فسفرة بروتين الريتينوبلاستوما (RB)^(٧٥) . تعتبر فسفرة ال RB شرط أساسي لدخول الخلية المرحلة S من الدورة الخلوية . وهكذا يعتبر ال CDKN2A منظم مثبط للدورة الخلوية .

المخاطية ، وأيضاً في ثلث أورام المبيض المصلية الحدية . ذكر تضخيم الـ KRAS في ٣ - ٥% من سرطانات المبيض . في إحدى الدراسات ، حدث تضخيم الـ KRAS2 (٥٥) في ٢ من ٥٣ حالة ورم مبيضي ظهاري ، (٦ أورام مصلية حدية ، ورماني مصليان منخفضا الدرجة ، ٣١ ورم مصللي عالي الدرجة ، ٤ أورام مخاطية منخفضة الدرجة ، ورماني مشبهان بباطن الرحم منخفضا الدرجة ، ٨ أورام مشبه بباطن الرحم عالية الدرجة) ، وهذا حدث فقط في الأنماط الغازية (ورماني مصليان عالي الدرجة) . حددت طفرة في الرامزة ١٢ للـ KRAS في السرطانة صغيرة الخلايا (٨٠) .

يكتسب الـ HRAS فعالية محولة إما كنتيجة لطفرات الاستبدال أو بزيادة التعبير الجيني الطبيعي. الـ HRAS الطافر تنقصه فعالية الـ GTPase ، مما ينتج عنه اضطراب تنظيم النمو الخلوي (١١) .

مستقبلات عوامل النمو Growth Factor Receptors: إشارات الخلايا غير الطبيعية المتوسطة عبر البروتين كيناز (٨٢) يمكن أن تنتج من التغيرات في مستقبلات عوامل النمو في أورام المبيض الظهارية . وهذه تتضمن:

مستقبل ERBB2 (HER2/Neu) والذي يبدي تضخم وفرط تعبير في ٩ - ٣٠% من سرطانات المبيض . يتوضع المحرض الورمي ERBB2 على 17q21 وينمط مستقبل غشائي يرتبط بغليكوبروتين مشابه لعامل النمو المتحول - a ويتمشى مع بقايا سيئة للمرضى (٦٠) .

CSF 1R (سابقاً fms ، مستعمرة في البالعات تحرض مستقبل عامل النمو) ، له تعبير في العديد من سرطانات المبيض ، لكن ليس في أورام المبيض السليمة أو الظهارة السطحية الطبيعية للمبيض . ذكر تضخيم الـ CSF 1R في ٣ - ٥% من سرطانات المبيض (٨٢) .

ECGF1 ، عامل نمو بطاني مشتق من الصفائح ، يبدي بشكل ملحوظ مستويات عالية في أورام المبيض الظهارية البدئية وكان أكثر وفرة في المراحل العالية (III و IV منها

في المراحل المنخفضة) ، أيضاً أكثر سيطرة في السرطانات الغدية المخاطية منها في المصلية (٨٣) . EGFR الذي ينمط المستقبل الغشائي لعوامل النمو البشرية له تعبير في معظم السرطانات المتقدمة وبترافق مع إنذار سيء (٨٤) .

MYC :

يحدث تضخيم المحرض الورمي MYC ، 8q24 ، في ١٠ - ٢٠% من سرطانات المبيض ، وفي حوالي ثلث سرطانات المبيض المتقدمة (٨٥، ٨٦) . إن تضخيم الـ MYC أكثر تواتراً في الأنماط المصلية منها في الأنماط المخاطية (٨٧) . ينمط الـ MYC البروتين المرتبط بالـ DNA المرافق للنوى والذي ينظم تكاثر الخلايا . انقسام الخلايا يزيد كمية الـ c-myc النووي ، بينما الخلايا الساكنة تبدي كمية تعبير مهمة . تضخيم الـ MYC غالباً ما يشير بيولوجياً إلى أورام غازية . تضخيم الـ MYC ليس له علاقة مع الإنذار أو البقاء . وجدت المستويات العالية بشكل مهم للـ p62c-myc في السرطان المبيضي المصللي الحليمي (٨٨) . تبدي الأورام الحدية تعبير الـ MYC بقيم متوسطة بين تلك التي للنسيج المبيضي الطبيعي وتلك التي للكارسينوما (٨٩) .

PI3K/AKT2 :

إن تضخيم وتغاير تعبير وسوء وظيفة العديد من البروتينات كيناز والفوسفاتاز تكون متضمنة في إمراضية أورام المبيض الظهارية ، وخصوصاً طريق الفوسفاتيديل إينوزيتول ٣- كيناز (PI3K) (٩٠) . زيادة فعالية الـ PI3K مهمة في نمو وانتقال خلايا سرطان المبيض . جينة الـ PIK3CA التي تتمط الوحدة المحفزة للـ PI3K ، والتي تنقص تأثير الـ AKT2 تبدي تضخيم في أورام المبيض البدئية (٩١) . يوجد فرط تعبير الـ AKT2 في الأورام عالية الدرجة ومتأخرة المرحلة . طفرات و/أو نقص تنظيم الـ PI3K phosphatase PTEN/MMAC1 غالباً ما يلاحظ في سرطانات المبيض المشبهة بباطن الرحم (٦٥، ٦٦) . يتوسط الـ AKT2 بعض إشارات التحول للـ RAS و SRS والتي تؤدي إلى طفرات وفرط تعبير مفعّل في أورام المراحل

المتأخرة. نقص تنظيم الـ cGMP المعتمد على البروتين كيناز PKG وفرط تنظيم الـ (MEK6) MAP2K6 تراكمت بشكل مهم مع نشوء سرطان المبيض. ذكر تضخيم الـ AKT2 في ٣ - ٥% من سرطانات المبيض (٩٢).

الجينات المحرزة للورم الأخرى :

ذكر تضخيم الجينات المحرزة الورمية الأخرى مثل الـ FGF3 (سابقاً INT2) و MDM2 في ٣ - ٥% من سرطانات المبيض (٩٣، ٩٤). كما ذكر في قسم الوراثة الخلوية الجزيئية ، مستويات التضخيم العالية لـ 20q12-20q13.2 هي موجودات شائعة في سرطانات المبيض ، والجينة المتوضعة على 20q11.2-12 ، TGIF2 ، كان لها تضخيم وفرط تعبير في ١٤ موضع في خلية سرطان المبيض (٩٥). الـ EIF5A2 هي جينة مرشحة لأن تكون محرزة للورم في سرطانات المبيض وذلك لتضخيم الـ 3q25-q26 (٩٧). فرط تعبير جينة الكالكرين ، KLK4 ، المتوضعة على 19q13.4 ، وجد في ٦٩ من ١٤٧ حالة ورم مبيضي وأشار إلى إنذار سيء (٩٦). يعتقد أن NME1 لها دور في آلية تسرطن المبيض. ارتفاع مستويات الإنهيين وجد في معظم النساء بعد سن اليأس اللواتي لديهن سرطانات مبيض مخاطية (٩٧، ٩٨).

الجينات المحرزة للورم المتضمنة في السرطانة المشبهة بباطن الرحم :

يوجد فرط تعبير الـ BCL2 في حوالي ٩٠% من السرطانات المشبهة بباطن الرحم ، ويوجد الـ MSI في حوالي ثلث الحالات ، كما ذكر في سرطانات باطن الرحم الغدية . اكتشف أيضاً فرط تعبير الـ P53, EGFR, ERBB2, ERBB3 في سرطانات المبيض المشبهة بباطن الرحم (٩٩).

دراسة جوانب التعبير Expression profiling :

استعمل تعبير الـ microarrays لمقارنة اختلاف التعبير بين ٧ حالات سرطان مبيض مراحل باكراً و ٧ حالات سرطان مبيض مراحل متأخرة ، وبين أن جينات زائفة بنفس الدرجة في المجموعتين (٧٧، ١٠٠). الجينات التي تعمل بالتأثر في خط الخلايا مثل الكادهرين ١١ (CDH11) ،

كادهرين ٢ (CDH2) والنيدوجين (NID) كانت مثبّطة في معظم الأورام . الجينات المتضمنة في الغزو والنفاذ مثل الماتريليزين (MMP7) ، الجيلاتيناز (MMP9) ، قالب الميتالوبروتيناز ١٠ و ١٢ كانت مفعلة في معظم الأورام . دراسات جوانب تعبير أخرى عديدة أجريت وبينت اختلاف التعبير الجيني بين السرطانات المصلية والمخاطية ، وبينت أيضاً اختلاف التعبير الجيني خلال تطور سرطان المبيض.

الجزء الثاني : الدراسة العملية

مبررات البحث :

تعتبر سرطانات الظهارة السطحية للمبيض من أشيع الخباثات النسائية وأكثرها تؤدي إلى الوفاة وذلك بسبب الاستجابة الضعيفة للعلاجات الكيميائية المتاحة حالياً . لذلك لا بد من البحث عن علاجات هدفية أكثر فاعلية مستقبلاً وذلك اعتماداً على البيولوجيا الجزيئية . هناك العديد من الدراسات العالمية التي أثبتت نوع من الارتباط بين سرطانات المبيض وسرطانات الثدي والسبيل المعدي المعوي العلوي . وبما أن استجابة سرطانات الثدي والمعدة الإيجابية للـ Her2/neu تكون ممتازة للأدوية الهدفية مثل الـ trastuzumab فكان هذا دافعاً لنا لتحري مدى إيجابية الـ Her2/neu مناعياً وجزيئياً في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض فإن حصلنا على نسبة إيجابية مقبولة مماثلة لنسبها في سرطانات الثدي والمعدة فهذا يعدنا بمستقبل علاجي أفضل لسرطانات الظهارة السطحية للمبيض .

هدف البحث :

تقييم حالة فرط التعبير والتضخيم الجيني لبروتين الـ Her2/neu مناعياً وجزيئياً لدى المريضات المشخص لديهن سرطان الظهارة السطحية للمبيض ، وتقييم العلاقة بين تعبير الـ Her2/neu مناعياً وبين التضخيم الجيني له، وتحديد فيما إذا كانت حالة تعبير وتضخيم الـ Her2/neu تتغير بتغير درجة ونوع الورم ، وأخيراً البحث

عن وجود علاقة بين تعبير وتضخيم الـ Her2/neu من جهة وبين الحالة المناعية لواسم التكاثر النووي Ki67 من جهة أخرى .

العينة المدروسة :

تم حساب حجم العينة بالطرق الإحصائية من الموقع الإلكتروني www.raosoft.com وذلك بعد إدخال حجم الخطأ المقبول ومستوى الثقة وحجم الجمهرة ونسبة الإيجابية في الدراسات المقارنة الأمريكية ، حيث لا يوجد دراسات مجاورة عربية أو إقليمية في هذا المجال ، فكان حجم العينة المطلوب ٩٩ حالة سرطان ظهارة سطحية للمبيض .

مكان العمل :

تم جمع العينات (بلوكات شمعية) من قسم التشريح المرضي في مشفى التوليد الجامعي وذلك في الفترة الممتدة بين عام ٢٠٠٩ وعام ٢٠١٥ وتم أخذ حالة من كل ثلاث حالات متتالية .

تم إجراء التلوينات المناعية النسيجية والتهجين بالمكان اللوني في مخبر قسم التشريح المرضي في كلية الطب البشري بجامعة دمشق .

المتابغات المدروسة :

١. المورثة Her2/neu عبر تقنية التهجين بالمكان اللوني الثنائي اللون مع المجهر الضوئي .

٢. مستقبلات بروتين الـ Her2/neu عبر تقنية التلوينات المناعية النسيجية .

٣. مستقبلات بروتين الـ Ki67 عبر تقنية التلوينات المناعية النسيجية .

مضامين البحث :

معرفة مدى التوافق بين طريقة التلوينات المناعية النسيجية والتهجين بالمكان اللوني في كشف البروتين والمورثة Her2/neu في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض وذلك بمقارنة نتائج طريقة التلوينات المناعية النسيجية التي تكشف بروتين الـ Her2/neu على سطح الخلية الورمية والتي تعطى أرقام (صفر ، ١ ، ٢ ، ٣) بحسب نسبة

وشدة تلون الغشاء الخلوي للخلايا الورمية بحسب معيار ASCO/CAP لعام ٢٠٠٧ ، مع نتائج طريقة التهجين بالمكان اللوني CISH التي تكشف مورثة الـ Her2/neu وتضخيمها ضمن النواة كما تكشف الجزء المركزي للصبغي ١٧ حيث ستقدر بحسب معيار ASCO/CAP لعام ٢٠٠٧ ، ومن ثم تحديد نسبة المريضات الإيجابيات لمورثة الـ Her2/neu مناعياً وجزئياً وذلك في العينات الواردة إلى مشفى التوليد الجامعي ، وأخيراً معرفة مدى توافق هذه الإيجابية أو السلبية مع نسبة إيجابية أو سلبية واسم التكاثر النووي Ki67 .

الاعتبارات الأخلاقية :

يمكن أن ينعكس دور هذا البحث ونتائجه مستقبلاً على الخطة العلاجية المطبقة على سرطانات الظهارة السطحية للمبيض وذلك اعتماداً على البيولوجيا الجزيئية مما سينعكس إيجاباً على كل من المرضى وأقسام التوليد والمعالجة الكيميائية للأورام ، كما يمكن أن يساهم في التخفيف من الأعباء الاقتصادية وذلك من خلال إبعاد المعالجات المستخدمة والتي لا فائدة منها وبالتالي تخفيف الهدر في معالجة مثل هذه الأورام ، وهذا بدوره يساهم في الحصول على معلومات جديدة تساهم في تطور البحث العلمي التطبيقي في سوريا .

طريقة العمل :

المواد الفعالة :

١. أضداد التلوينات المناعية النسيجية الخاصة لبروتين الـ Her2/neu وبروتين الـ Ki67 الموجودة على سطح الخلايا .

٢. خليط الأضداد الجاهز لطريقة التهجين بالمكان اللوني مع المجهر الضوئي CISH antibody mix والذي يحوي أضداد وفوسفاتاز قلوية يرتبط قسم منها مع المورثة Her2/neu والقسم الآخر يرتبط مع الجزء المركزي للصبغي ١٧ .

المواد المخبرية :

١. المواد اللازمة للتثبيت والتلوين الروتيني H & E :

- أ- فورمول ١٠ % .
- ب- شمع .
- ت- سلايدات وسواتر .
- ث- هيماتوكسيلين وإيوزين .
- ج- كزيلول وكحول ٧٠% و ٩٠% ومطلق .
٢. المواد اللازمة للتلوينات المناعية النسيجية :
- أ- سلايدات خاصة من نوع Silanzid slides .
- ب- محلول واقي Wash buffer .
- ت- الأضداد الخاصة الموجهة للمستقبلات .
- ث- المحلول الرابط Lable polymere لربط الأضداد مع الأنزيم .
٣. المواد اللازمة لتقنية التهجين بالمكان اللوني مع المجهر الضوئي :
- أ- المحلول الواقي Wash buffer .
- ب- Mayer Hematoxyline .
- ت- وسط تستير Aquoatex دائم غير كحولي وغير كزيلولي .
- ث- سواتر + سلايدات Silanzid slides .
- ج- ماء مقطر أو مؤين جاهز .
- ح- ورق نشاف وإسمنت مطاطي .
- خ- غرفة رطبة تؤمن باستخدام أشربة رطوبة خاصة توضع في جهاز التهجين .
- د- وعاء التلوين .
- ذ- مجموعة قوارير خاصة Vial .
- ر- مؤقت زمني .
- ز- كزيلول Xylene .
- س- ٧٠% و ٨٥% و ٩٥% و ١٠٠% إيثانول .
- ش- ١٠٠% ميثانول Methanol .
- ص- ٣٠% هيدروجين بيروكسيداز Hydrogen peroxide .
- التجهيزات :
١. جهاز الإدماج الآلي .
٢. جهاز صب البارافين الحبيبي .
٣. جهاز قطع الميكروتوم مقاطع ٥ ميكرون روتاري .
٤. محم جاف .
٥. جهاز التهجين بالمكان .
٦. مجهر ضوئي .
- الكواشف الخاصة لتقنية التهجين بالمكان اللوني :
١. المحلول قبيل المعالجة pre-treatment solution الجاهز للاستخدام ٢٠x : تركيبيه الكيميائي (2-N- MES morpholino ethanesulphonic acid) تمدد بالماء المقطر ٢٠/١ وتعطى الرقم ١ ، ويسخن حتى ٩٥ - ٩٩ درجة مئوية .
٢. المحلول الواقي القاسي Stringent wash buffer ٢٠x : تركيبيه الكيميائي (saline-sodium citrate) تمدد بالماء المقطر ٢٠/١ وتعطى رقم ٤ ، ونحضر منها وعائين أحدهما يحفظ بدرجة ٢٠ - ٢٥ مئوية والآخر يسخن حتى ٦٥±٢ درجة مئوية .
٣. المحلول الواقي Wash buffer ٢٠x (Tris-HCl) يمدد بالماء المقطر ٢٠/١ ويعطى رقم ٦ ويحفظ بدرجة ٢٠ - ٢٥ درجة مئوية .
٤. الكواشف ومواد التلوين التالية :
- أ- Peroxidase block : ٦/١ مل ٣% هيدروجين بيروكسيداز تحتوي ١٥ ممول نترات الصوديوم NaN3 .
- ب- أضداد جاهزة لا CISH : ٦/١ مل Horseradish peroxidase المقترن مع أضداد FITC الفوسفاتاز القلوية مع أضداد Texas .
- ت- Red substrate buffer : ١/٥ - ١٠ مل مادة تستعمل لتمديد الصباغ الأحمر .
- ث- Green substrate buffer : ٧/١ مل مادة تستعمل لتمديد الصباغ الأخضر .
- ج- الصباغ الأحمر : ١/١١٠ مل المادة التي تمدد بقلادة خاصة بالصباغ الأحمر .

ح- الصباغ الأخضر : ٥٥٠/١ مل المادة التي تمتد

بقارورة خاصة بالصباغ الأخضر .

تخزن هذه الكواشف في درجة حرارة ٢ - ٨ درجة مئوية في غرفة عتمة ولكن بدون تجميد . ويجب التنويه إلى أن الأصبغة والكواشف يمكن أن تتخرب في درجات الحرارة العالية ، لذا ينصح بعدم تركها في غرفة مرتفعة الحرارة والحفاظ عليها في حرارة منخفضة في البراد .

طريقة التلوين الروتينية :

١. تثبت العينات في الفورمول ١٠% بدرجة حرارة ٢٠ - ٢٥ درجة مئوية لمدة ٢٤ ساعة .

٢. تخضع العينة للفحص العياني وتتؤخذ مقاطع من الكتلة الورمية بحيث تكون بسماكة ٠,٥ سم.

٣. تثبت المقاطع في الفورمول ٢٤ ساعة .

٤. توضع في الجهاز الآلي للإدماج بالشمع .

٥. تصب العينات في قوالب شمع .

٦. تبرد وتقطع بالميكروتوم (جهاز القطع) بسماكة ٥ ميكرون لكل مقطع .

٧. توضع بالمحم بدرجة حرارة ٦٠ درجة مئوية لمدة ساعة من أجل التصاق المقطع النسيجي على السلايدات .

٨. تمرير المحضرات في الكزيلول والكحولات المتدرجة من ١٠٠% إلى ٧٠% ثم إلى الماء .

٩. تلون بالهيماتوكسيلين لمدة ٥ - ١٠ دقائق .

١٠. تغسل بالماء الجاري لمدة ٥ دقائق .

١١. تلون بالإيوزين لمدة ٥ دقائق .

١٢. تغسل بالماء ثم تمرر بالكحولات المتدرجة من ٧٠% إلى ١٠٠% ثم الكزيلول ثم التستير .

١٣. تقرأ المحضرات باستخدام المجهر الضوئي ويتم وضع التشخيص الصحيح بما فيه النمط النسيجي ودرجة الورم .

طريقة العمل في التلوينات المناعية النسيجية :

المرحلة التحضيرية :

١. تقطع مقاطع بسماكة ٥ ميكرون من البلوكات الشمعية.

٢. توضع على سلايدات خاصة Silanized slides .

٣. توضع في محم جاف لمدة ساعة بدرجة حرارة ٦٠ درجة مئوية .

٤. تمرر المحضرات من الكزيلول إلى الجحولات المتدرجة من ١٠٠% إلى ٧٠% إلى الماء .

٥. تعالج المحضرات بجهاز الموجات القصيرة microwave ضمن محلول واقي ٢٠ دقيقة (Target retrieval ph = 9) .

٦. تترك لتبرد مدة ١ - ٢ ساعة .

٧. تنقل إلى المحلول الواقي Tris Buffered Salin (T.B.S) لمدة ٥ دقائق .

المرحلة الأساسية :

١. نضيف ماء أوكسيجينى ٣% لمدة ٥ دقائق لتخريب البيروكسيداز الداخلية للتخلص من الخلفية التي يمكن أن تعطي إيجابية كاذبة .

٢. تغسل بالمحلول الواقي دقيقة واحدة .

٣. تحضن بالمحلول الواقي لمدة ٥ - ١٠ دقائق في جو رطب .

٤. نضيف الأضداد ذات الرمز K0673 ونحضن لمدة ١ - ٢ ساعة في جو رطب .

٥. تغسل بالمحلول الواقي لمدة دقيقة واحدة .

٦. تحضن بالمحلول الواقي لمدة ١٠ دقائق .

٧. نستخدم المحلول الرابط lable polymere لربط الأضداد مع الأنزيم .

٨. تغسل بالمحلول الواقي دقيقة واحدة .

٩. تحضن بالمحلول الواقي لمدة ١٠ دقائق .

١٠. نضيف الصباغ المولد للون DAB chromogen لمدة ٥ دقائق .

١١. نغسل بالماء المقطر ٢ دقيقة .

١٢. نلون بالهيماتوكسيلين التلوين المعاكس counterstain لتلوين النوى دقيقة واحدة .

١٣. نغسل بالماء المقطر ٥ دقائق .

١٤. تجفف بالكحول ٧٠% - ٩٥% - مطلق - كزيلول ثم التستير .

المرحلة الثالثة : الهضم الأنزيمي Enzyme digestion

ونزع الماء Dehydration

الهضم الأنزيمي يتم بالببسين الجاهز للاستخدام (يجب حفظه في البراد) والذي يحوي مثبت ومضاد جرثومي بالإضافة إلى محلول الببسين .

١. ننشف أي أثر للمحلول الوافي حتى حول العينة .
 ٢. نضع ٢ - ٨ نقاط (٢٥٠ميكروليتر) من الببسين الجاهز للاستخدام بحيث يغطي كل المقطع.
 ٣. نضع السلايدات على حامل مسخن سابقاً لدرجة ٣٧ مئوية أو في جهاز التهجين .
 ٤. تحضن السلايدات من ٣ - ٦ دقائق بدرجة ٣٧ مئوية.
 ٥. ننزع المحضرات المعالجة بالببسين وتعامل بالمحلول الوافي ضمن حوضين كل منهما ٣ دقائق .
- ملاحظة : الهضم الأنزيمي يعتمد على نوعية تثبيت العينة ونوع النسيج وإزالة التكلس .
٦. ينزع الماء من السلايدات بالإيتانول المتدرج في ثلاثة أحواض (٧٠% - ٨٥% - ١٠٠%) لمدة ٢ دقيقة لكل حوض وتترك لتجف بالهواء بالوضعية الشاقولية ١٥-٢٠ دقيقة .

المرحلة الرابعة : التهجين Hybridization

تجنب في هذه المرحلة الضوء الساطع ونعمل في محيط رطب .

١. يستخدم المسبار المختلط (المورثة Her2 والجزء المركزي للصبغي ١٧) الجاهز للاستخدام يوضع على مركز العينة (يستخدم ١٠ ميكروليتر من المسبار تستر مباشرة بساترة ٢٢/٢٢ مم) وهو مسبار التهجين بالمكان المغلور المؤلف من :

- أ- Texas الموسوم مع مسبار DNA يغطي ٢١٨ كيلو دالتون تشمل المورثة Her2 .
- ب- Fluorescein isothiocyanate FITC وهو عبارة عن مادة مفلورة موسومة مع حموض ببتيدية نووية موجهة للجزء المركزي من الصبغي ١٧ .

١٥. ثم تقرأ النتائج بحسب المعيار ASCO/CAP الذي ذكر سابقاً .

طريقة العمل في الـ CISH :

تمتد مراحل العمل على يومين ويمكن تقسيمها إلى سبع مراحل

اليوم الأول :

المرحلة الأولى : تحضير العينة Specimen preparation

قطع بلوكات الشمع مقاطع بسماكة ٥ ميكرون تمد على سلايدات خاصة ثم إذابة الشمع عنها بوضعها في محم جاف بدرجة حرارة ٦٠ درجة مئوية لمدة ٦٠ دقيقة ومن ثم تمريرها في :

- كزيلول ٥ دقائق
- كزيلول ٥ دقائق
- إيتانول ١٠٠% ٢ دقيقة
- إيتانول ١٠٠% ٢ دقيقة
- إيتانول ٧٠% ٢ دقيقة
- إيتانول ٧٠% ٢ دقيقة
- ننهي هذه المرحلة بنقع المحضرات في المحلول الوافي لمدة ٢ دقيقة

المرحلة الثانية : المعالجة الحرارية Heat pretreatment

١. يحضر الحمام المائي الحراري الحاوي على حوض المحلول قبيل المعالجة pretreatment solution
- يسخن حتى ٩٥ - ٩٩ مئوية ونحرص على قياس الحرارة .
٢. تغمر السلايدات في المحلول المسخن سابقاً لمدة ١٠ دقائق ونحافظ على قياس درجة الحرارة ، وفي دراستنا استخدمنا الجهاز قصير الموجات لمدة ١٠ - ١٥ دقيقة .
٣. نزيل الحوض الحاوي على السلايدات من الحمام المائي وتترك لتبرد لمدة ١٥ دقيقة في حرارة الغرفة .
٤. تغسل المحضرات بالمحلول الوافي ضمن حوضين كل منهما ٣ دقائق .

٢. تسد الحواف بمادة مطاطية لمنع دخول الهواء .

٣. يبرمج جهاز التهجين في المكان بالطريقة التالية : ٥ دقائق بدرجة ٨٢ مئوية و ١٤ - ٢٠ ساعة (طوال الليل) بدرجة ٤٥ مئوية .

٤. تخضع السلايدات مع المسبار لتغير طبيعتها والتهجين بالمكان بعد وضعها على حامل السلايدات في المهجن ضمن جو رطب من خلال البرنامج المحدد .

اليوم الثاني

المرحلة الخامسة : الغسل بالمحلول القاسي Stringent Wash (SW)

كنا قد حضرنا حوضين من المحلول القاسي أحدهما يوضع في غرفة رطبة والآخر يسخن لدرجة ٦٥ مئوية ضمن حمام مائي ونحرص على قياس درجة الحرارة .

١. ننزع المحضرات من المهجن وننزع المادة الإسمنتية بلطف كما ننزع السواتر .

٢. تغسل المحضرات في الوعاء الأول لمدة دقيقة واحدة .

٣. نوضه في الوعاء الثاني لمدة ١٠ دقائق .

٤. تغسل بالمحلول الواقي ضمن وعائين كل منهما ٣ دقائق .

المرحلة السادسة : الكشف المناعي Immunodetection

وهي المرحلة الخاصة بتقنية الـ CISH ويجب مراعاة الأمور التالية :

• أثناء مراحل التلوين يجب الحفاظ على درجة الـ $PH = 7.4$ أو بين ٧ - ٧,٥ .

• تهمل هنا المرحلة الأخيرة من طريقة الـ FISH (نزع الماء ثم التجفيف بالهواء والغمر بمادة مفلورة (Fluorescence mounting media) ويحل محلها طريقة التهجين بالمكان اللوني وهي المرحلة المشابهة لطريقة التلوينات المناعية النسيجية .

ومراحل العمل كالتالي :

تحضير الكواشف : الكواشف التالية تحتاج إلى تحضير قبل استخدامها وجميعها تحفظ بدرجة حرارة ٢٠ - ٢٥ درجة مئوية .

١. Wash Buffer : وهو عبارة عن (50 mmol/1 Tris-HCl, 150 mmol/1 NaCl, 0.05% Tween 20, pH 7.6) تمدد كمية كافية من Wash Buffer مستخدمين ماء مقطر أو مؤين ، نمدد فقط الكمية اللازمة ونحتفظ بها في درجة حرارة ٢ - ٨ مئوية لمدة شهر كحد أقصى ، كما أن المظهر العكر يدل على تخرب العينة .

٢. السائل الصباغي الأخضر .

٣. السائل الصباغي الأحمر .

٤. التلوين المعاكس : نحضر كمية كافية من الهيماتوكسيلين ١/٥ مستخدمين ماء مقطر أو مؤين ويحفظ بدرجة حرارة ٢٠ - ٢٥ مئوية وليوم واحد .

طريقة التلوين : تم التلوين بالطريقة اليدوية وفق الخطوات التالية

١. الغسل : تحضن السلايدات لمدة ٣ دقائق في diluted wash buffer (DWB)

٢. مثبطات البيروكسيداز (3% H_2O_2 , 15 mmol/1 $NaNO_3$) لتخفيف الإيجابية الكاذبة :

أ- ينزع الزائد من DWB .

ب- يستخدم ورق جاف وينشف حول العينة لإزالة أية بقايا للسائل وحفظ الكاشف في المنطقة المحددة .

ت- تغطي العينات بـ ٢٠٠ ميكرومول من مثبطات البيروكسيداز لمدة ٥ دقائق .

ث- تحضن السلايدات لمدة ٣ دقائق في DWB .

٣. إضافة خليط أضداد الـ CISH (Horseradish peroxidase) المقترن مع الأضداد المفلورة + الفوسفاتاز القلوية مع أضداد Texas :

أ- يزال الزائد من المحلول وينشف كما سبق .

ب- تغمر العينة بـ ٢٠٠ ميكرومول من خليط الأضداد .

ت- تحفظ في غرفة رطبة لمدة ٣٠ دقيقة .

ث- تحضن السلايدات لمدة ٣ دقائق في DWB .

٤. المحلول الصباغي الأخضر :

- أ- يزال الزائد من المحلول وينشف كما سبق .
- ب- تغمر العينة بـ ٢٠٠ ميكرومول من المحلول الصباغي الأخضر .
- ت- تحفظ في غرفة رطبة لمدة ١٠ دقائق .
- ث- تحضن السلايدات لمدة ٣ دقائق في DWB .

٥. المحلول الصباغي الأحمر :

- أ- يزال الزائد من المحلول وينشف كما سبق .
- ب- تغمر العينة بـ ٢٠٠ ميكرومول من المحلول الصباغي الأحمر .
- ت- تحفظ في غرفة رطبة لمدة ١٠ دقائق .
- ث- تحضن السلايدات لمدة ٣ دقائق في DWB .

٦. التلوين المعاكس Counterstain :

- أ- تغمر السلايدات بهيماتوكسيلين ممدد ١/٥ لمدة ٥ دقائق .
- ب- تشطف السلايدات بـ DWB ثم توضع في حمام DWB لمدة لا تزيد عن ٥ دقائق للحصول على زرقة الهيماتوكسيلين .
- ت- تشطف بماء مقطر أو مؤين .
- ث- تشطف بالهواء أو تشطف لمدة ٣٠ دقيقة بدرجة حرارة ٣٧ مئوية في جهاز التهجين .
- ج- يسمح للمحضرات أن تبرد بدرجة حرارة الغرفة قبل حضنها .

٧. الغمر Mounting : بعد أن تترك العينات لتجف في الهواء تغطى باستخدام الحاضن المستمر أو المائي وهو لا يعتمد على الكحول ولا على الكزيلول .

الشاهد : تعد الخلية السليمة الشاهد الداخلي حيث تعطي إشارتين حمراوتين وإشارتين زرقاوتين ويجب قراءة الدليل المرفق لمعرفة توزيع الإشارات الصحيح .

يعتبر الفحص لاغياً في الحالات التالية :

١. عدم القدرة على تحديد الإشارة بشكل واضح في الخلايا .
٢. وجود عدد كبير من أشباح الخلايا .
٣. عدم تحدد النوى حيث ينتج عنه ضياع وتشتت الإشارة .

٤. عدم وضوح شكل النوى .

ويجب التأكيد أن الاختلافات في تثبيت العينة أو في حفظها قد يسبب اختلافات في النتائج وخاصة بالنسبة للشاهد الداخلي .

تفسير النتائج بالمجهر الضوئي :

استخدم مجهر ضوئي ذو نوعية جيدة من حيث الإضاءة والعدسات ليسمح بأحسن تقييم للعينة ، حيث نضع أولاً تكبيرات منخفضة ١٠x و ٢٠x لتحديد المركبة الغازية والجزء الأنسب للتشخيص أي الخلايا غير متراكبة والإشارات واضحة نسبياً ودوماً في المركبة الغازية ، ثم نتحول إلى تكبيرات عالية ٤٠x و ٦٠x وأحياناً ١٠٠x مع العدسة الغاطسة وذلك للتمييز بين الإشارة الحمراء والإشارة الخضراء ومن ثم عملية العد وهي تعتبر حجر الأساس في هذه الطريقة حيث نقوم بعد ٢٠ خلية على الأقل ونحسب متوسط عدد الإشارات الخضراء إلى متوسط عدد الإشارات الحمراء ونحصل على نسبة يجب أن تكون أكبر من ٢,٢ لتكون إيجابية .

الدراسة الإحصائية :

درست النسبة المئوية في الحالات الإيجابية والسلبية من كل العينات ولكل طريقة على حدا وتم حساب نسب التوافق ومقارنتها بمعيار Cohen's kappa coefficient (K) (value^{٣٧٥}) والذي يطبق لمعرفة درجة التوافق النسبي inter-rater agreement والذي يعتبر من أهم وأقوى المعايير لتقدير التوافق بين النسب . وتقدر بحسب دراسة Landis and Koch^{٣٧٦} (أقل من صفر لا يوجد توافق ، ١ - ٢٠ توافق ضعيف ، ٢١ - ٤٠ توافق قليل ، ٤١ - ٦٠ توافق متوسط ، ٦١ - ٨٠ توافق حقيقي وجوهري ، ٨١ - ١٠٠ توافق كامل)^{٣٧٧} .

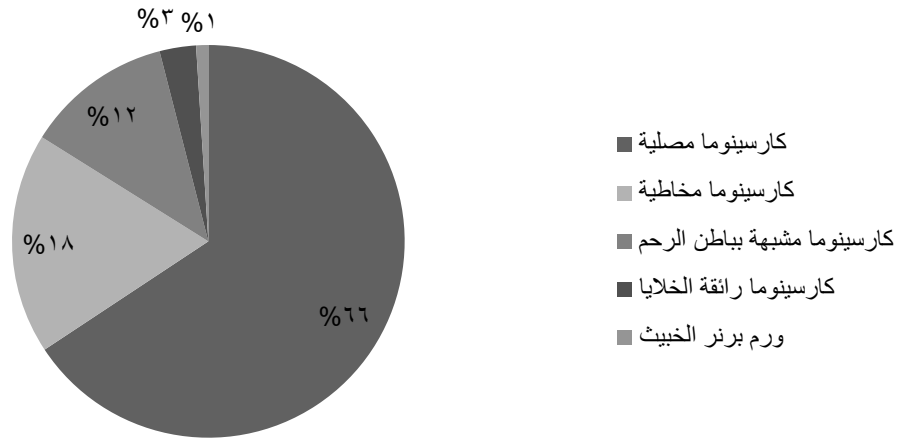
النتائج :

العدد الإجمالي ٩٩ حالة سرطان ظهارة سطحية للمبيض . توزعت الأنماط النسيجية في دراستنا كما هو مبين في الجدول ٨ :

الجدول (٨) عدد ونسبة توزيع الأنماط النسيجية في دراستنا

النوع النسيجي	عدد الحالات
كارسينوما مصلية	٦٥ (٦٥,٧%)
كارسينوما مخاطية	١٨ (١٨,٢%)
كارسينوما مشبهة بباطن الرحم	١٢ (١٢,١%)
كارسينوما رقيقة الخلايا	٣ (٣%)
ورم برنر الخبيث	١ (١%)

الشكل (٢٣) نسبة توزيع الأنماط النسيجية لسرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا



إجمالي نتائج الدراسة لخصت في الجدول رقم ٩ :

الجدول رقم (٩) النتائج الاجمالية للدراسة

الترتيب	الترجمة	الترجمة	النمط النسيجي					نتائج التلوينات المناعية IHC				نتائج الـ CISH	
			مصلية	مخاطية	مشبهة بالرحم	رقيقة	خبيث	Her2				Ki-67	إيجابي ٢,٢<
								سلبي	مكتسب	إيجابي	سلبي		
								0	1+	2+	3+		
1	I	I	*					*				0	*
2	I	I	*					*				0	*
3	II	III	*					*				75%	*
4	I	I	*					*				0	*
5	I	I	*					*				0	*
6	II	II	*					*				15%	*
7	II	II	*					*				0	*
8	I	II	*					*				5%	*
9	II	III	*					*				35%	*
10	I	II	*					*				5%	*

	*	0				*					*	II	II	11
	*	55%				*					*	III	III	12
	*	15%				*					*	III	II	13
	*	5%				*					*	II	I	14
	*	5%				*					*	II	II	15
	*	55%				*					*	III	II	16
	*	85%				*					*	IV	I	17
*		55%				*					*	III	II	18
	*	0				*					*	III	II	19
	*	95%				*					*	III	III	20
	*	0				*					*	III	II	21
	*	0				*					*	III	III	22
	*	5%				*					*	III	III	23
	*	35%				*					*	II	II	24
	*	5%				*					*	I	I	25
	*	0%			*						*	II	I	26
	*	0%			*						*	II	I	27
	*	55%			*						*	III	III	28
	*	55%			*						*	III	II	29
	*	0%			*						*	III	II	30
	*	55%			*						*	III	II	31
	*	0%			*						*	III	II	32
*		25%			*						*	II	III	33
	*	75%			*						*	IV	III	34
	*	0%			*						*	III	II	35
	*	5%			*						*	II	III	36
	*	0%			*						*	III	II	37
	*	0%			*						*	III	III	38
	*	15%			*						*	I	I	39
	*	5%		*							*	II	II	40
	*	15%		*							*	III	II	41
	*	0%		*							*	III	II	42
	*	25%		*							*	III	I	43
	*	5%		*							*	III	III	44
	*	95%		*							*	III	I	45
	*	95%		*							*	IV	II	46
	*	0%		*							*	III	II	47
*		35%		*							*	III	III	48
*		55%		*							*	III	I	49
*		55%		*							*	III	II	50
*		5%		*							*	III	II	51
*		5%		*							*	III	II	52
*		55%		*							*	III	II	53
*		5%	*								*	III	II	54
*		5%	*								*	III	II	55
*		55%	*								*	III	III	56
*		0%	*								*	III	III	57

	*	0%	*							*	III	III	58
*		5%	*							*	III	II	59
*		0%	*							*	III	III	60
*		85%	*							*	IV	I	61
*		0%	*							*	II	I	62
*		0%	*							*	II	II	63
*		0%	*							*	II	II	64
*		35%	*							*	IV	II	65
	*	0				*				*	II	II	66
	*	0				*				*	II	II	67
	*	0			*					*	II	II	68
	*	95%			*					*	IV	II	69
*		95%			*					*	IV	II	70
	*	5%			*					*	III	II	71
	*	0		*						*	III	III	72
*		95%		*						*	IV	I	73
*		0%		*						*	II	II	74
*		5%		*						*	III	II	75
*		5%	*							*	III	III	76
*		15%	*							*	IV	II	77
*		55%	*							*	III	I	78
*		55%	*							*	IV	II	79
*		75%	*							*	IV	I	80
*		0%	*							*	II	II	81
*		0%	*							*	II	II	82
*		5%	*							*	III	II	83
	*	0				*			*		II	II	84
	*	0				*			*		II	II	85
	*	5%				*			*		III	II	86
	*	0				*			*		II	II	87
	*	0				*			*		II	II	88
	*	0			*				*		III	II	89
	*	0			*				*		III	III	90
	*	0			*				*		III	III	91
	*	5%			*				*		III	I	92
	*	5%			*				*		III	III	93
*		5%	*						*		III	III	94
*		0%	*						*		III	II	95
	*	0			*			*			II	II	96
	*	0			*			*			I	II	97
*		0		*				*			I	II	98
*		0	*				*				I	II	99

نتائج التلوينات النسيجية الكيميائية المناعية IHC بالنسبة لـ Her2 وذلك في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض بشكل عام في دراستنا كانت كالتالي :

٣٢ حالة من أصل ٩٩ حالة أي بنسبة ٣٢,٣% أبدت درجة ٠

٢٥ حالة من أصل ٩٩ حالة أي بنسبة ٢٥,٢% أبدت درجة ١+

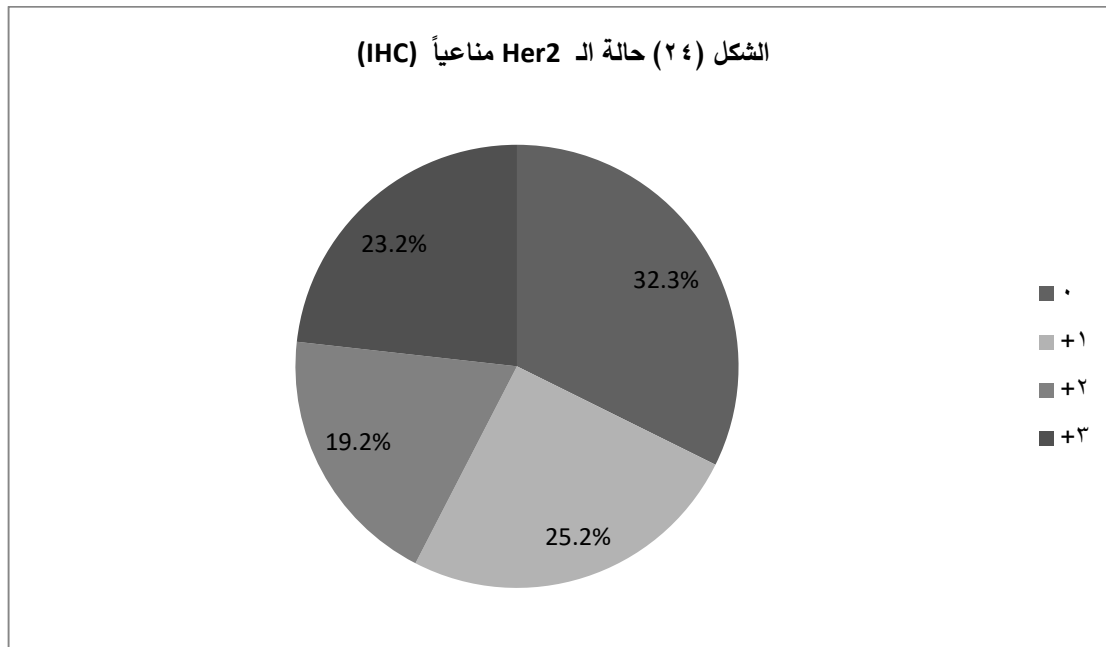
١٩ حالة من أصل ٩٩ حالة أي بنسبة ١٩,٢% أبدت درجة ٢+

٢٣ حالة من أصل ٩٩ حالة أي بنسبة ٢٣,٢% أبدت درجة ٣+

وبينا ذلك في الجدول رقم ١٠ :

الجدول رقم ١٠ نتائج الـ Her2 مناعياً في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض

درجة الـ Her2 بتلوين الـ IHC	عدد الحالات	النسبة المئوية
٠	٣٢	٣٢,٣%
١+	٢٥	٢٥,٢%
٢+	١٩	١٩,٢%
٣+	٢٣	٢٣,٢%



وباعتبار الدرجة ٠ والدرجة ١+ سلبية والدرجة ٢+ ملتبسة

فإن نسبة إيجابية الـ Her2 مناعياً في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا كانت ٢٣,٢% .

وبحسب الأنماط النسيجية كانت النسب كالتالي :

٢٥ حالة من ٦٥ حالة أي بنسبة ٣٨,٥% أبدت درجة ٠

١٤ حالة من ٦٥ حالة أي بنسبة ٢١,٥% أبدت درجة ١+

١٤ حالة من ٦٥ حالة أي بنسبة ٢١,٥% أبدت درجة ٢+

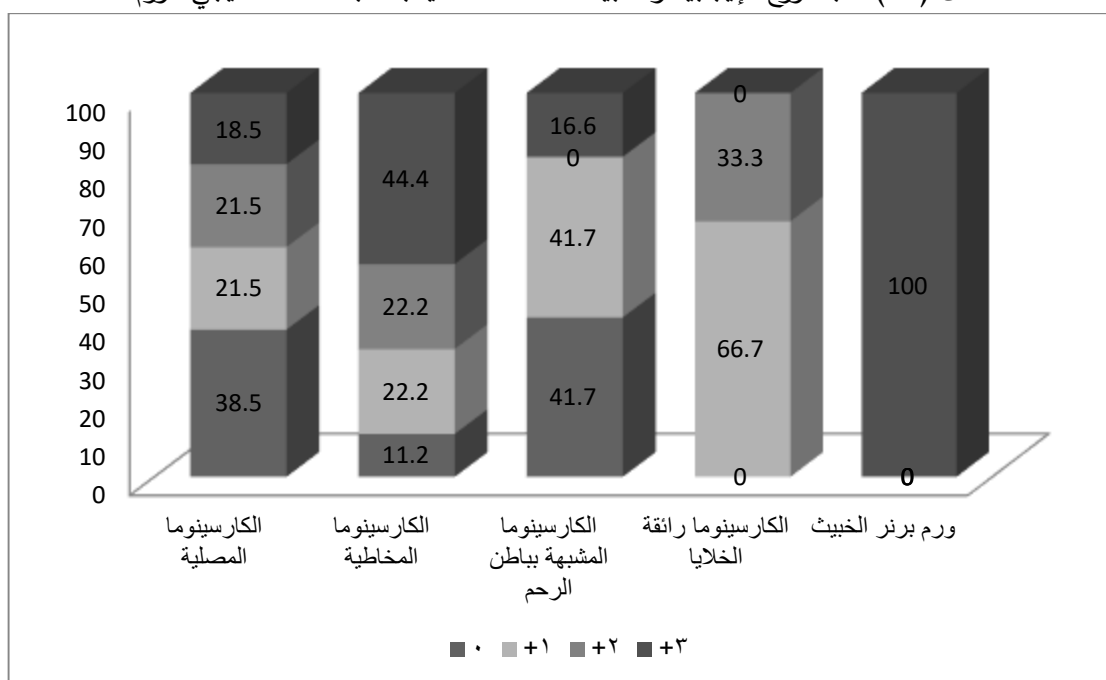
- ١٢ حالة من ٦٥ حالة أي بنسبة ١٨,٥% أبدت درجة ٣+
الكارسينوما المخاطية :
٢ حالة من ١٨ حالة أي بنسبة ١١,٢% أبدت درجة ٠
٤ حالات من ١٨ حالة أي بنسبة ٢٢,٢% أبدت درجة ١+
٤ حالات من ١٨ حالة أي بنسبة ٢٢,٢% أبدت درجة ٢+
٨ حالات من ١٨ حالة أي بنسبة ٤٤,٤% أبدت درجة ٣+
الكارسينوما المشبهة بباطن الرحم :
٥ حالات من ١٢ حالة أي بنسبة ٤١,٧% أبدت درجة ٠
٥ حالات من ١٢ حالة أي بنسبة ٤١,٧% أبدت درجة ١+
٠ حالة من ١٢ حالة أي بنسبة ٠% أبدت درجة ٢+
٢ حالة من ١٢ حالة أي بنسبة ١٦,٦% أبدت درجة ٣+
الكارسينوما راتقة الخلايا :
٠ حالة من ٣ حالات أي بنسبة ٠% أبدت درجة ٠
١ حالة من ٣ حالات أي بنسبة ٣٣,٣% أبدت درجة ٢+
٠ حالة من ٣ حالات أي بنسبة ٠% أبدت درجة ٣+
ورم برنر الخبيث :
٠ حالة من ١ حالة أي بنسبة ٠% أبدت درجة ٠
٠ حالة من ١ حالة أي بنسبة ٠% أبدت درجة ١+
٠ حالة من ١ حالة أي بنسبة ٠% أبدت درجة ٢+
١ حالة من ١ حالة أي بنسبة ١٠٠% أبدت درجة ٣+
يبين الجدول رقم ١١ توزيع سلبية وإيجابية الـ Her2 مناعياً
في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض وذلك حسب النوع
النسجي في دراستنا :

الجدول (١١) نتائج الـ Her2 مناعياً بحسب النمط النسيجي للورم

٣+	٢+	١+	٠	
١٢ (١٨,٥%)	١٤ (٢١,٥%)	١٤ (٢١,٥%)	٢٥ (٣٨,٥%)	كارسينوما مصلية
٨ (٤٤,٤%)	٤ (٢٢,٢%)	٤ (٢٢,٢%)	٢ (١١,٢%)	كارسينوما مخاطية
٢ (١٦,٦%)	٠ (٠%)	٥ (٤١,٧%)	٥ (٤١,٧%)	كارسينوما مشبهة بباطن الرحم
٠ (٠%)	١ (٣٣,٣%)	٢ (٦٦,٧%)	٠ (٠%)	كارسينوما راتقة الخلايا
١ (١٠٠%)	٠ (٠%)	٠ (٠%)	٠ (٠%)	ورم برنر الخبيث

يبين الشكل ٢٥ نسب توزيع سلبية وإيجابية الـ Her2 بالتلوين النسيجي الكيميائي المناعي في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا وذلك بحسب النمط النسيجي:

الشكل (٢٥) نسبة توزع الإيجابية والسلبية لـ Her2 مناعياً بحسب النمط النسيجي للورم



وباعتبار درجة ٠ و ١+ سلبية والدرجة ٢+ ملتبسة فإن

نسبة إيجابية الـ Her2 مناعياً كانت في دراستنا كالتالي:
 الكارسينوما المصلي ١٨,٥% ، الكارسينوما المخاطية ٤٤,٤% ، الكارسينوما المشبهة بباطن الرحم ١٦,٦% ، الكارسينوما رقيقة الخلايا ٠% ، ورم برنر الخبيث ١٠٠%.

نتائج الـ Her2 مناعياً (IHC) في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا مصنفة بحسب درجة الورم:

الدرجة I :

٩ أورام من ٢١ ورم أي بنسبة ٤٢,٧% أخذت الدرجة ٠
 ٤ أورام من ٢١ ورم أي بنسبة ١٩,١% أخذت الدرجة ١+
 ٤ أورام من ٢١ ورم أي بنسبة ١٩,١% أخذت الدرجة ٢+
 ٤ أورام من ٢١ ورم أي بنسبة ١٩,١% أخذت الدرجة ٣+

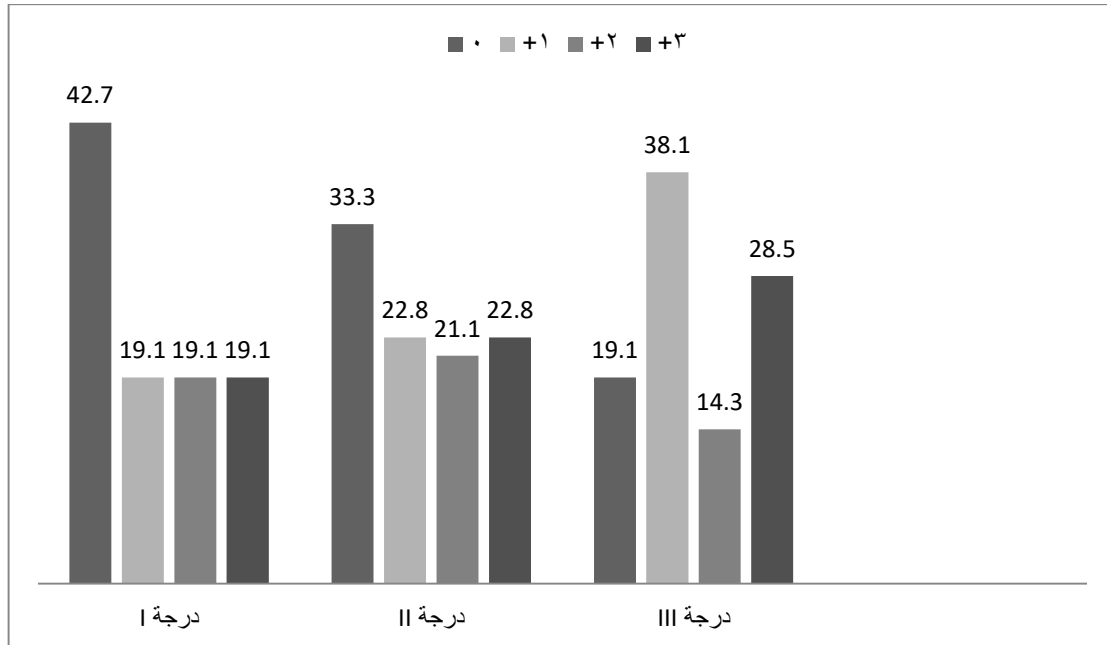
الورم في دراستنا :

الجدول (١٢) نتائج الـ Her2 مناعياً بحسب درجة الورم

٣+	٢+	١+	٠	
٤ (١٩,١%)	٤ (١٩,١%)	٤ (١٩,١%)	٩ (٤٢,٧%)	درجة I
١٣ (٢٢,٨%)	١٢ (٢١,١%)	١٣ (٢٢,٨%)	١٩ (٣٣,٣%)	درجة II
٦ (٢٨,٥%)	٣ (١٤,٣%)	٨ (٣٨,١%)	٤ (١٩,١%)	درجة III

وبين الشكل رقم ٢٦ نسب توزع سلبية وإيجابية الـ Her2 السطحية المبيض في دراستنا وذلك بحسب درجة الورم :
بالتلوين النسيجي الكيميائي المناعي في سرطانات الظهارة

الشكل (٢٦) نسبة توزع الإيجابية والسلبية لـ Her2 مناعياً بحسب درجة الورم



وباعتبار الدرجة ٠ و ١+ سلبية والدرجة ٢+ ملتبسة فإن نسبة إيجابية الـ Her2 مناعياً في دراستنا كانت: الدرجة I

١٩,١% ، الدرجة II ٢٢,٨% ، الدرجة III ٢٨,٥% .

نتائج الـ Her2 مناعياً (IHC) في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا مصنفة بحسب مرحلة الورم:

المرحلة I :

٦ أورام من ٩ أورام أي بنسبة ٦٦,٧% أخذت الدرجة ٠

ورم واحد من ٩ أورام أي بنسبة ١١,١% أخذت الدرجة ١+

ورم واحد من ٩ أورام أي بنسبة ١١,١% أخذت الدرجة ٢+

ورم واحد من ٩ أورام أي بنسبة ١١,١% أخذت الدرجة ٣+

المرحلة II :

١٤ ورم من ٢٧ ورم أي بنسبة ٥١,٨% أخذت الدرجة ٠

٦ أورام من ٢٧ ورم أي بنسبة ٢٢,٢% أخذت الدرجة ١+

ورمان من ٢٧ ورم أي بنسبة ٧,٥% أخذت الدرجة ٢+

٥ أورام من ٢٧ ورم أي بنسبة ١٨,٥% أخذت الدرجة ٣+
المرحلة III :

١٢ ورم من ٥٢ ورم أي بنسبة ٢٣,١% أخذت الدرجة ٠

١٤ ورم من ٥٢ ورم أي بنسبة ٢٦,٩% أخذت الدرجة ١+

١٤ ورم من ٥٢ ورم أي بنسبة ٢٦,٩% أخذت الدرجة ٢+

١٢ ورم من ٥٢ ورم أي بنسبة ٢٣,١% أخذت الدرجة ٣+

المرحلة IV :

ورم واحد من ١١ ورم أي بنسبة ٩,١% أخذت الدرجة ٠

٣ أورام من ١١ ورم أي بنسبة ٢٧,٣% أخذت الدرجة ١+

ورمان من ١١ ورم أي بنسبة ١٨,٢% أخذت الدرجة ٢+

٥ أورام من ١١ ورم أي بنسبة ٤٥,٤% أخذت الدرجة ٣+

يبين الجدول رقم ١٣ توزع سلبية وإيجابية الـ Her2 مناعياً

في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض وذلك حسب مرحلة

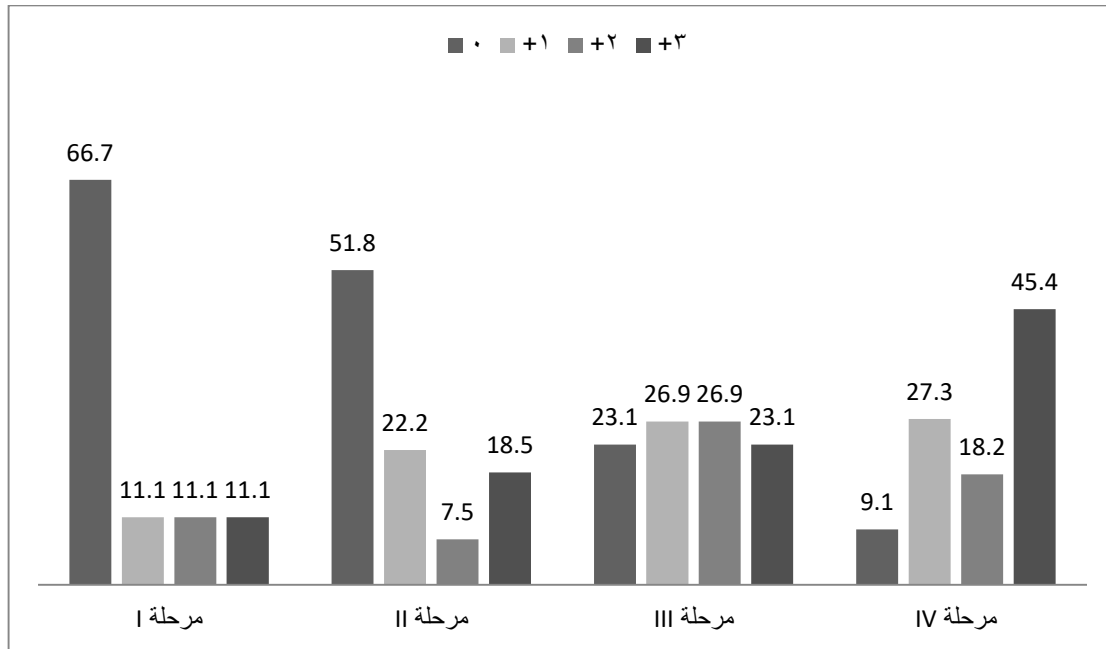
الورم في دراستنا :

الجدول (١٣) نتائج الـ Her2 مناعياً بحسب مرحلة الورم

٣+	٢+	١+	٠	
١ (١١,١%)	١ (١١,١%)	١ (١١,١%)	٦ (٦٦,٧%)	مرحلة I
٥ (١٨,٥%)	٢ (٧,٥%)	٦ (٢٢,٢%)	١٤ (٥١,٨%)	مرحلة II
١٢ (٢٣,١%)	١٤ (٢٦,٩%)	١٤ (٢٦,٩%)	١٢ (٢٣,١%)	مرحلة III
٥ (٤٥,٤%)	٢ (١٨,٢%)	٣ (٢٧,٣%)	١ (٩,١%)	مرحلة IV

ويبين الشكل رقم ٢٧ نسب توزع سلبية وإيجابية الـ Her2 بالتلون النسيجي الكيميائي المناعي في سرطانات الظهارة السطحية المبيض في دراستنا وذلك بحسب مرحلة الورم :

الشكل (٢٧) نسبة توزع الإيجابية والسلبية لـ Her2 مناعياً بحسب مرحلة الورم



وباعتبار الدرجة ٠ و ١+ سلبية والدرجة ٢+ ملتبسة فإن نسبة إيجابية الـ Her2 مناعياً في دراستنا كانت كالتالي: المرحلة I ١١,١% ، المرحلة II ١٨,٥% ، المرحلة III ٢٣,١% ، المرحلة IV ٤٥,٤% .

نتائج تقنية الـ CISH وذلك في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض بشكل عام في دراستنا كانت كالتالي :

٣٥ حالة من أصل ٩٩ حالة أي بنسبة ٣٥,٤% أبدت تضخيم (النسبة بين متوسط عدد نسخ المورثة Her2 / متوسط عدد نسخ الجزء المركزي للصبغي ١٧ < ٢,٢)

٦٤ حالة من أصل ٩٩ حالة أي بنسبة ٦٤,٦% لم تبدي تضخيم (النسبة بين متوسط عدد نسخ المورثة Her2 / متوسط عدد نسخ الجزء المركزي للصبغي ١٧ > ٢,٢)

وبينا ذلك في الجدول رقم ١٤ :

الجدول رقم ١٤ نتائج الـ Her2 جزيئياً في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض

حالة الـ Her2 جزيئياً بتقنية الـ CISH	عدد الحالات	النسبة المئوية
+(تضخيم < ٢,٢)	٣٥	٣٥,٤%
-(بدون تضخيم > ٢,٢)	٦٤	٦٤,٦%



وبحسب الأنماط النسيجية كانت النسب كالتالي :

الكارسينوما المصلية :

١٩ حالة من ٦٥ حالة أي بنسبة ٢٩,٢% أبدت تضخيم

٤٦ حالة من ٦٥ حالة أي بنسبة ٧٠,٨% لم تبدي تضخيم

الكارسينوما المخاطية :

١٢ حالة من ١٨ حالة أي بنسبة ٦٦,٧% أبدت تضخيم

٦ حالات من ١٨ حالة أي بنسبة ٣٣,٣% لم تبدي تضخيم

الكارسينوما المشبهة بباطن الرحم :

٢ حالة من ١٢ حالة أي بنسبة ١٦,٧% أبدت تضخيم

١٠ حالات من ١٢ حالة أي بنسبة ٨٣,٣% لم تبدي

تضخيم

الكارسينوما رقيقة الخلايا :

١ حالة من ٣ حالات أي بنسبة ٣٣,٣% أبدت تضخيم

٢ حالة من ٣ حالات أي بنسبة ٦٦,٧% لم تبدي تضخيم

ورم برنر الخبيث :

١ حالة من ١ حالة أي بنسبة ١٠٠% أبدت تضخيم

٠ حالة من ١ حالة أي بنسبة ٠% لم تبدي تضخيم

يبين الجدول رقم ١٥ توزيع سلبية وإيجابية الـ Her2 جزيئياً

(CISH) في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض وذلك

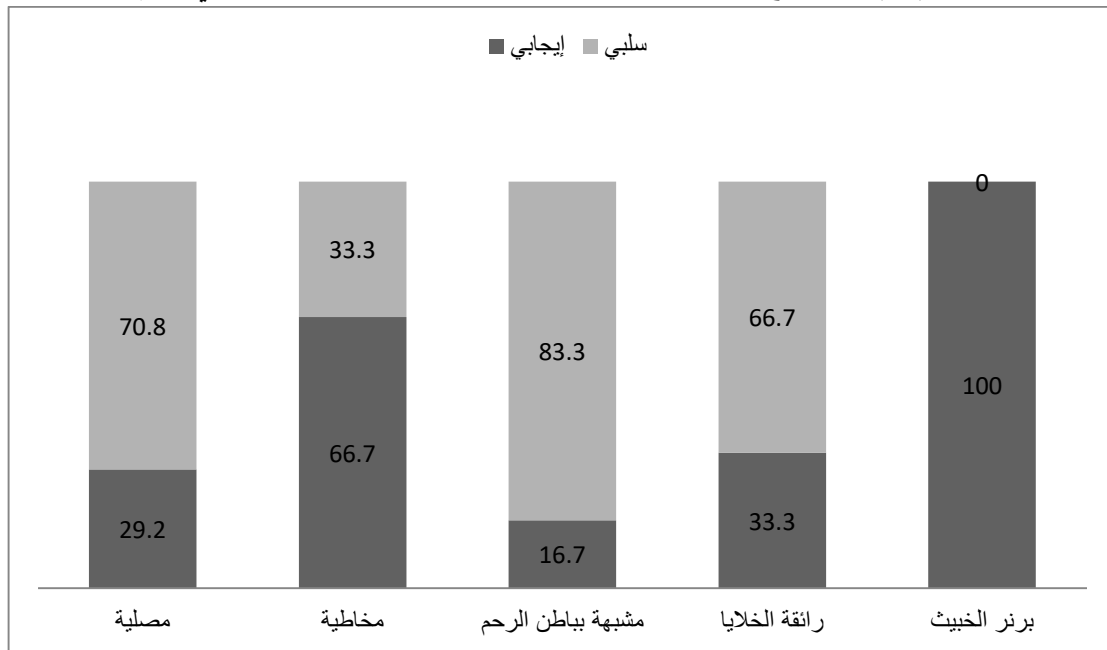
حسب النوع النسيجي في دراستنا :

الجدول (١٥) نتائج الـ Her2 جزيئياً بحسب النمط النسيجي للورم

-	+	
٤٦ (٧٠,٨%)	١٩ (٢٩,٢%)	كارسينوما مصلية
٦ (٣٣,٣%)	١٢ (٦٦,٧%)	كارسينوما مخاطية
١٠ (٨٣,٣%)	٢ (١٦,٧%)	كارسينوما مشبهة بباطن الرحم
٢ (٦٦,٧%)	١ (٣٣,٣%)	كارسينوما راتقة الخلايا
٠ (٠%)	١ (١٠٠%)	ورم برنر الخبيث

يبين الشكل رقم ٢٩ نسب توزع سلبية وإيجابية الـ Her2 السطحية للمبيض في دراستنا وذلك بحسب النمط النسيجي بالتلوين النسيجي الكيميائي المناعي في سرطانات الظهارة :

الشكل (٢٩) نسبة توزع الإيجابية والسلبية للـ Her2 جزيئياً بحسب النمط النسيجي للورم



نتائج الـ Her2 جزيئياً (CISH) في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا مصنفة بحسب درجة الورم:

الدرجة III :

٣٥ ورم من ٥٧ ورم أي بنسبة ٦١,٤% لم تبدي تضخيم

الدرجة I :

٧ أورام من ٢١ ورم أي بنسبة ٣٣,٣% أبدت تضخيم

١٤ ورم من ٢١ ورم أي بنسبة ٦٦,٧% لم تبدي تضخيم

يبين الجدول رقم ١٦ توزع سلبية وإيجابية الـ Her2 جزيئياً في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض وذلك حسب درجة الورم في دراستنا :

الدرجة I :

٦ أورام من ٢١ ورم أي بنسبة ٢٨,٦% أبدت تضخيم

١٥ ورم من ٢١ ورم أي بنسبة ٧١,٤% لم تبدي تضخيم

الدرجة II :

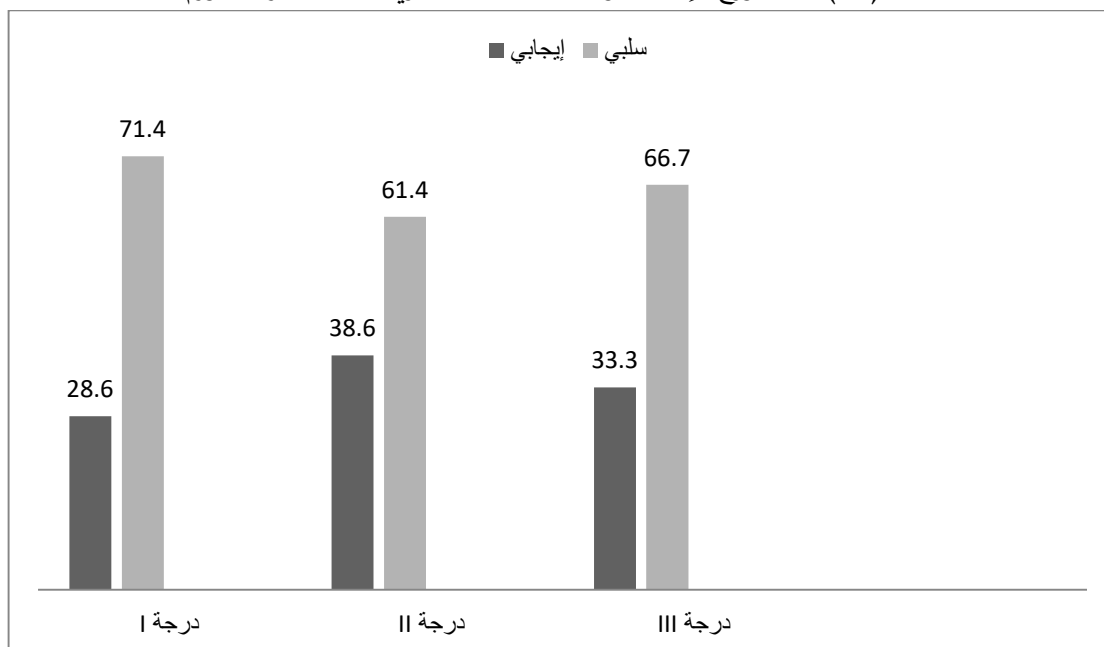
٢٢ ورم من ٥٧ ورم أي بنسبة ٣٨,٦% أبدت تضخيم

الجدول (١٦) نتائج الـ Her2 جزيئياً بحسب درجة الورم

-	+	
١٥ (٧١,٤%)	٦ (٢٨,٦%)	درجة I
٣٥ (٦١,٤%)	٢٢ (٣٨,٦%)	درجة II
١٤ (٦٦,٧%)	٧ (٣٣,٣%)	درجة III

ويبين الشكل ٣٠ نسب توزع سلبية وإيجابية الـ Her2 جزيئياً في سرطانات الظهارة السطحية المبيض في دراستنا وذلك بحسب درجة الورم :

الشكل (٣٠) نسبة توزع الإيجابية والسلبية للـ Her2 جزيئياً بحسب درجة الورم



نتائج الـ Her2 جزيئياً (CISH) في سرطانات الظهارة

السطحية للمبيض في دراستنا مصنفة بحسب مرحلة الورم:

المرحلة I :

٢ ورم من ٩ أورام أي بنسبة ٢٢,٢% أبدت تضخيم

٧ أورام من ٩ أورام أي بنسبة ٧٧,٨% لم تبدي تضخيم

المرحلة II :

٧ أورام من ٢٧ ورم أي بنسبة ٢٥,٩% أبدت تضخيم

٢٠ ورم من ٢٧ ورم أي بنسبة ٧٤,١% لم تبدي تضخيم

المرحلة IV :

٧ أورام من ١١ ورم أي بنسبة ٦٣,٦% أبدت تضخيم

٤ أورام من ١١ ورم أي بنسبة ٣٦,٤% لم تبدي تضخيم

يبين الجدول رقم ١٧ توزع سلبية وإيجابية الـ Her2 جزيئياً

في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض وذلك حسب مرحلة

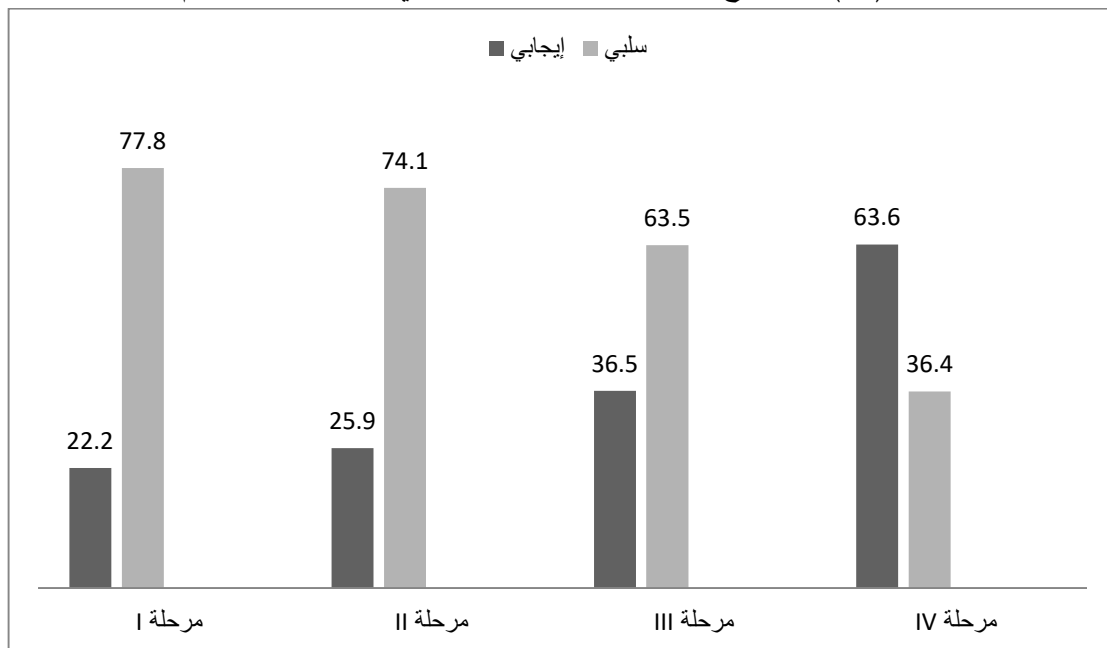
الورم في دراستنا :

الجدول (١٧) نتائج الـ Her2 جزيئياً بحسب مرحلة الورم

-	+	
٧ (٧٧,٨%)	٢ (٢٢,٢%)	مرحلة I
٢٠ (٧٤,١%)	٧ (٢٥,٩%)	مرحلة II
٣٣ (٦٣,٥%)	١٩ (٣٦,٥%)	مرحلة III
٤ (٣٦,٤%)	٧ (٦٣,٣%)	مرحلة IV

ويبين الشكل رقم ٣١ نسب توزع سلبية وإيجابية الـ Her2 جزيئياً في سرطانات الظهارة السطحية المبيض في دراستنا وذلك بحسب مرحلة الورم :

الشكل (٣١) نسبة توزع الإيجابية والسلبية للـ Her2 جزيئياً بحسب مرحلة الورم



مقارنة نتائج التلوين النسيجي الكيميائي المناعي IHC مع الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا :
نتائج تقنية التهجين بالمكان اللوني CISH في سرطانات

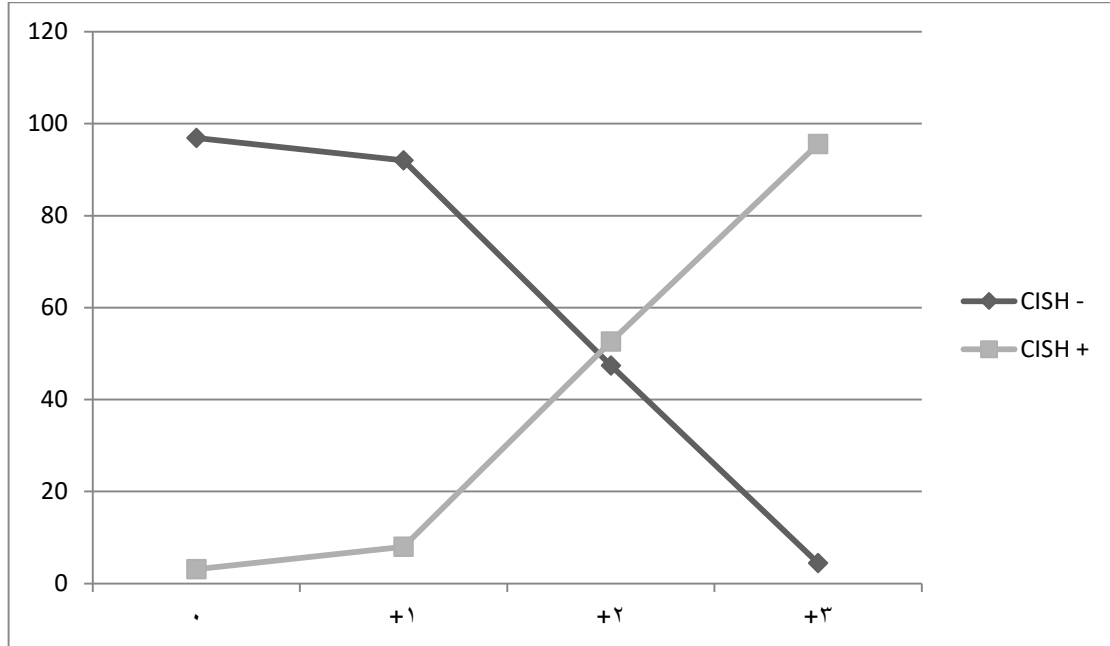
يبين الجدول رقم ١٨ المقارنة بين نتائج الـ Her2 مناعياً وجزئياً مع نسبة التوافق بينهما

نتائج IHC	- CISH	+ CISH	نسبة التوافق
صفر (٣٢ حالة)	٣١	١	%٩٦,٩
١+ (٢٥ حالة)	٢٣	٢	%٩٢
٢+ (١٩ حالة)	٩	١٠	%٥٢,٦
٣+ (٢٣ حالة)	١	٢٢	%٩٥,٦

نلاحظ أن نسبة التوافق كانت عالية في الحالات السلبية (٠) وبين الشكل رقم ٣٢ نسب التوافق بين تقنية التلوين النسيجي الكيميائي المناعي IHC وتقنية التهجين في المكان ثنائي اللون CISH وذلك بالنسبة لـ Her2 في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا .

و (١+) والإيجابية (٣+) . مع الأخذ بعين الاعتبار أنه في الحالات الملتبسة ٢+ لا يمكن تسميتها توافق، وكانت نسبة الإيجابية فيها ٥٢,٦% .

الشكل (٣٢) نسبة التوافق بين نتائج الـ Her2 مناعياً وجزئياً



تم إدخال البيانات في البرنامج الإحصائي Soft ware SPSS وحساب قيمة Cohen's kappa (K value) لمعرفة مدى التوافق النسبي وذلك باعتبار (coefficient) : رقم ١٩

نتائج الـ IHC ذات الدرجة ٠ و ١+ سلبية وذات الدرجة ٢+ ملتبسة وذات الدرجة ٣+ إيجابية وبيننا ذلك في الجدول

الجدول ١٩ مدى التوافق النسبي إحصائياً بين نتائج الـ Her2 مناعياً وجزيئياً

Total	IHC					
	3+	1+	0			
55	1	23	31	Count	-	CISH
68.75%	1.25%	28.75%	38.75%	% of Total		
25	22	2	1	Count	+	
31.25%	27.5%	2.5%	1.25%	% of Total		
80	23	25	32	Count	Total	
100%	28.75%	31.25%	40%	% of Total		
K value : 0.96						

وبحسب Morgan, Leech, Gloeckner, and Barrett في البرنامج الإحصائي SPSS فإن قيمة كابا يجب أن تكون $0.70 <$ ليكون هناك توافق حقيقي ، فإن التوافق في دراستنا يعتبر حقيقياً (٣٧٨) .

ملاحظة : استثنينا من هذا الجدول الـ ١٩ حالة ذات الدرجة ٢+ بالتلوين المناعي حيث هذه الدرجة تعتبر ملتبسة لا يمكن تصنيفها كإيجابية أو كسلبية .

نتائج التلوينات النسيجية الكيميائية المناعية IHC بالنسبة لواسم التكاثر النووي Ki-67 وذلك في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض بشكل عام في دراستنا كانت كالتالي :

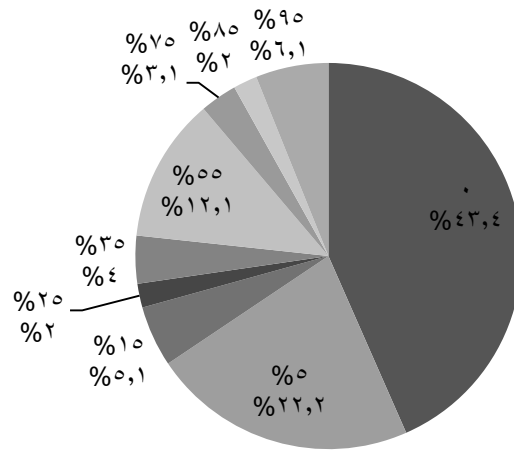
بالنسبة لسلم قياس واسم التكاثر النووي Ki-67 ، يتم اختيار أكثر المناطق إيجابية من الورم وذلك بعد تجنب بؤر الالتهاب . يتم عد النوى الإيجابية في ٥٠٠ خلية ورمية بالتكبير القوي (٤٠٠x) . يؤخذ متوسط ثلاث مرات من العد على نفس السلايد ويُعبر عنه كنسبة إيجابية الخلايا في الورم للـ Ki-67 (٤٢٣، ٤٢٤) .

ولخصنا ذلك في الجدول رقم ٢٠ :

الجدول (٢٠) نسبة إيجابية الـ Ki-67 في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا

نسبة الـ Ki-67 بتلوين الـ IHC	عدد الحالات	النسبة المئوية
٠	٤٣	%٤٣,٤
%٥	٢٢	%٢٢,٢
%١٥	٥	%٥,١
%٢٥	٢	%٢
%٣٥	٤	%٤
%٥٥	١٢	%١٢,١
%٧٥	٣	%٣,١
%٨٥	٢	%٢
%٩٥	٦	%٦,١

الشكل (٣٣) حالة واسم التكاثر النووي Ki-67 في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا



أي أن متوسط مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 في ٢٤ حالة من أصل ٦٥ حالة أي بنسبة ٣٦,٩% أبدت سرطانات الظهارة السطحية للمبيض بشكل عام في دراستنا إيجابية بنسبة ٠% .

كان ٢٠,٢ .

وكانت نتائج واسم التكاثر النووي Ki-67 بحسب النمط النسيجي لسرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا كالآتي :

الكارسينوما المصلية :

٢٤ حالة من أصل ٦٥ حالة أي بنسبة ٣٦,٩% أبدت إيجابية بنسبة ٠% .

١٤ حالة من أصل ٦٥ حالة أي بنسبة ٢١,٥% أبدت إيجابية بنسبة ٥% .

٤ حالات من أصل ٦٥ حالة أي بنسبة ٦,٢% أبدت إيجابية بنسبة ١٥% .

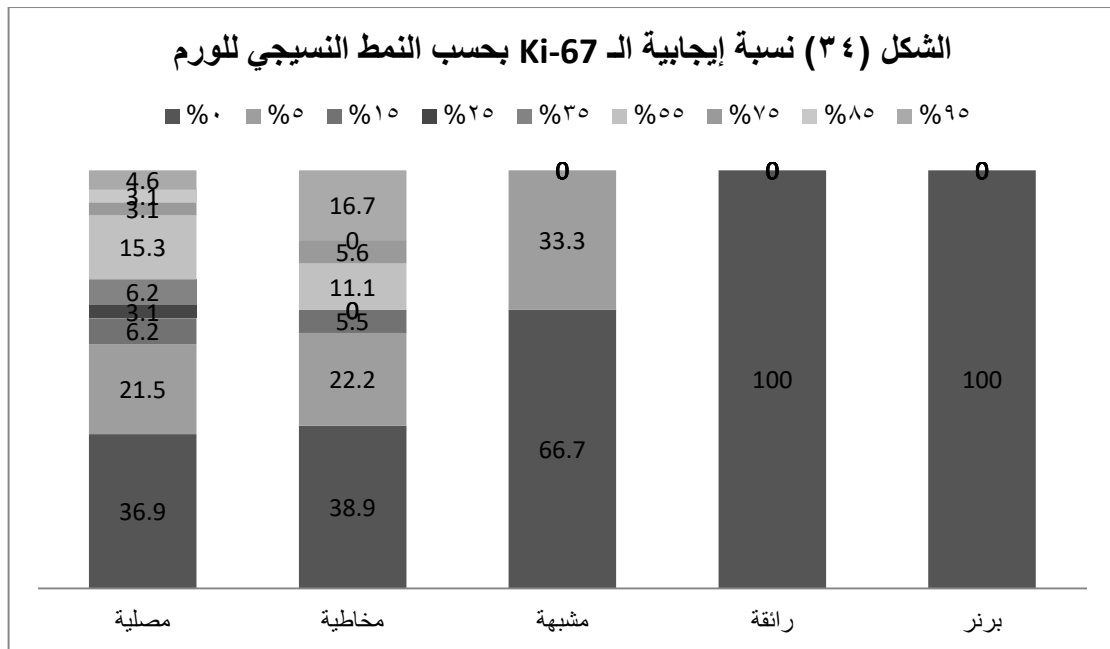
٢ حالة من أصل ٦٥ حالة أي بنسبة ٣,١% أبدت إيجابية بنسبة ٢٥% .

٤ حالات من أصل ٦٥ حالة أي بنسبة ٦,٢% أبدت
إيجابية بنسبة ٣٥%
١٠ حالات من أصل ٦٥ حالة أي بنسبة ١٥,٣% أبدت
إيجابية بنسبة ٥٥%
٢ حالة من أصل ٦٥ حالة أي بنسبة ٣,١% أبدت إيجابية
بنسبة ٧٥%
٢ حالة من أصل ٦٥ حالة أي بنسبة ٣,١% أبدت إيجابية
بنسبة ٨٥%
٣ حالات من أصل ٦٥ حالة أي بنسبة ٤,٦% أبدت
إيجابية بنسبة ٩٥%
الكارسينوما المخاطية :
٧ حالات من أصل ١٨ حالة أي بنسبة ٣٨,٩% أبدت
إيجابية بنسبة ٥%
٤ حالات من أصل ١٨ حالة أي بنسبة ٢٢,٢% أبدت
إيجابية بنسبة ٥%
حالة واحدة من أصل ١٨ حالة أي بنسبة ٥,٥% أبدت
إيجابية بنسبة ١٥%
٢ حالة من أصل ١٨ حالة أي بنسبة ١١,١% أبدت
إيجابية بنسبة ٥٥%
حالة واحدة من أصل ١٨ حالة أي بنسبة ٥,٦% أبدت
إيجابية بنسبة ٧٥%
٣ حالات من أصل ١٨ حالة أي بنسبة ١٦,٧% أبدت
إيجابية بنسبة ٩٥%
الكارسينوما المشبهة بباطن الرحم :
٨ حالات من أصل ١٢ حالة أي بنسبة ٦٦,٧% أبدت
إيجابية بنسبة ٥%
٤ حالات من أصل ١٢ حالة أي بنسبة ٣٣,٣% أبدت
إيجابية بنسبة ٥%
الكارسينوما رقيقة الخلايا :
٣ حالات من أصل ٣ حالات أي بنسبة ١٠٠% أبدت
إيجابية بنسبة ٥%
ورم برنر الخبيث :
حالة واحدة من أصل حالة واحدة أي بنسبة ١٠٠% أبدت
إيجابية بنسبة ٥%

ولخصنا ذلك في الجدول رقم ٢١ :

الجدول ٢١ نتائج الـ Ki-67 بحسب النمط النسيجي للورم

	%٩٥	%٨٥	%٧٥	%٥٥	%٣٥	%٢٥	%١٥	%٥	%٠
مصلية	٣	٢	٢	١٠	٤	٢	٤	١٤	٢٤
مخاطية	٣	٠	١	٢	٠	٠	١	٤	٧
مشبهة	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٤	٨
رائقة	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٣
برنر	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	١



أي أن متوسط مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 بحسب النمط النسيجي لسرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا كان كالتالي : الكارسينوما المصلية ٢٢,٦ ، الكارسينوما المخاطية ٢٨ ، الكارسينوما المشبهة بباطن الرحم ١,٦ ، الكارسينوما رائقة الخلايا ٠ ، ورم برنر الخبيث . .

نتائج الـ Ki-67 مناعياً (IHC) في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا مصنفة بحسب درجة الورم:

الدرجة I :

٧ حالات من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٣٣,٣% أبدت إيجابية بنسبة ٠% .

٥ حالات من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٢٣,٨% أبدت إيجابية بنسبة ٥% .

١ حالة من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٤,٨% أبدت إيجابية بنسبة ١٥% .

١ حالة من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٤,٨% أبدت إيجابية بنسبة ٢٥% .

٢ حالة من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٩,٥% أبدت إيجابية بنسبة ٥٥% .

١ حالة من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٤,٨% أبدت إيجابية بنسبة ٧٥% .

الدرجة II :

٨ حالات من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٣٨,١% أبدت إيجابية بنسبة ٠% .

٢ حالة من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٩,٥% أبدت إيجابية بنسبة ٨٥% .

٢ حالة من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٩,٥% أبدت إيجابية بنسبة ٩٥% .

الدرجة III :

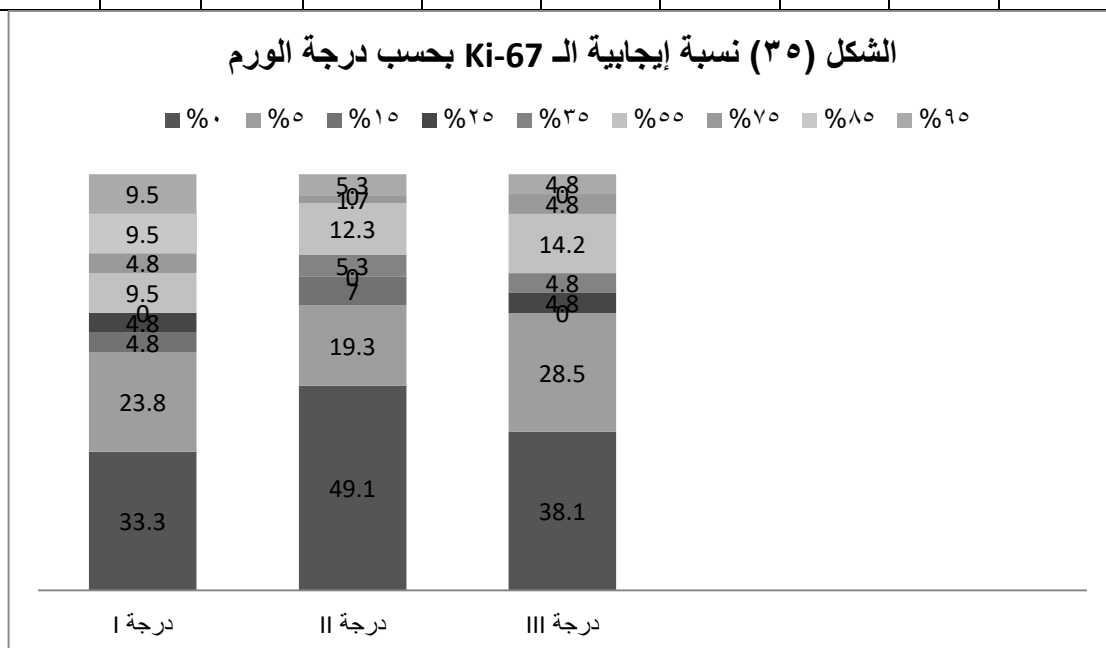
٨ حالات من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٣٨,١% أبدت إيجابية بنسبة ٠% .

٦ حالات من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٢٨,٥% أبدت
إيجابية بنسبة ٥%
١ حالة من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٤,٨% أبدت إيجابية
بنسبة ٢٥%
١ حالة من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٤,٨% أبدت إيجابية
بنسبة ٣٥%
٣ حالات من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ١٤,٢% أبدت
إيجابية بنسبة ٥٥%
١ حالة من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٤,٨% أبدت إيجابية
بنسبة ٧٥%
١ حالات من أصل ٢١ حالة أي بنسبة ٤,٨% أبدت
إيجابية بنسبة ٩٥%

ولخصنا ذلك في الجدول رقم ٢٢ :

الجدول (٢٢) نتائج الـ Ki-67 بحسب درجة الورم

	%٩٥	%٨٥	%٧٥	%٥٥	%٣٥	%٢٥	%١٥	%٥	%٠
درجة I	٢	٢	١	٢	٠	١	١	٥	٧
درجة II	٣	٠	١	٧	٣	٠	٤	١١	٢٨
درجة III	١	٠	١	٣	١	١	٠	٦	٨



أي أن متوسط مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 بحسب
درجة الورم لسرطانات الظهارة السطحية للمبيض في
دراستنا كان كالتالي : الدرجة I ٢٩ ، الدرجة II ١٦,٩ ،
المرحلة I :
المرحلة III ٢٠,٢ .

٧ حالات من أصل ٩ حالات أي بنسبة ٧٧,٨% أبدت
إيجابية بنسبة ٠%

١ حالة من أصل ٩ حالات أي بنسبة ١١,١% أبدت
إيجابية بنسبة ٥%

٢ حالة من أصل ٥٢ حالة أي بنسبة ٣,٨% أبدت إيجابية
بنسبة ٣٥%

١ حالة من أصل ٩ حالات أي بنسبة ١١,١% أبدت
إيجابية بنسبة ١٥%

المرحلة II :

١٨ حالة من أصل ٢٧ حالة أي بنسبة ٦٦,٧% أبدت
إيجابية بنسبة ٠%

٦ حالات من أصل ٢٧ حالة أي بنسبة ٢٢,٢% أبدت
إيجابية بنسبة ٥%

١ حالة من أصل ٢٧ حالة أي بنسبة ٣,٧% أبدت إيجابية
بنسبة ١٥%

١ حالة من أصل ٢٧ حالة أي بنسبة ٣,٧% أبدت إيجابية
بنسبة ٢٥%

١ حالة من أصل ٢٧ حالة أي بنسبة ٣,٧% أبدت إيجابية
بنسبة ٣٥%

المرحلة III :

١٨ حالة من أصل ٥٢ حالة أي بنسبة ٣٤,٦% أبدت
إيجابية بنسبة ٠%

١٥ حالة من أصل ٥٢ حالة أي بنسبة ٢٨,٨% أبدت
إيجابية بنسبة ٥%

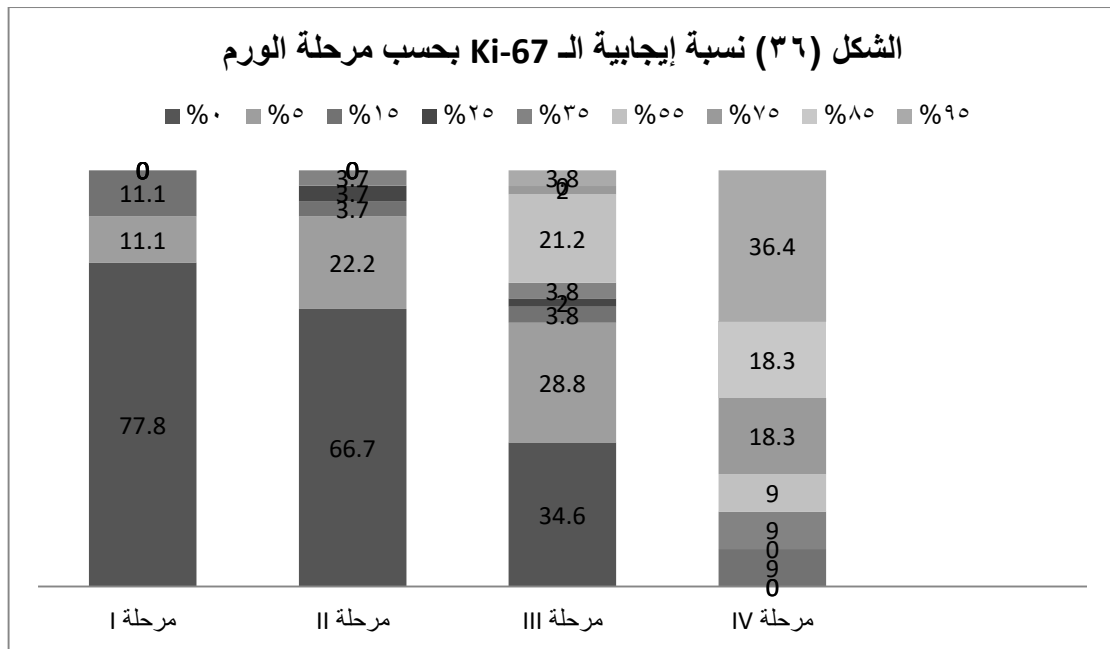
٢ حالة من أصل ٥٢ حالة أي بنسبة ٣,٨% أبدت إيجابية
بنسبة ١٥%

١ حالة من أصل ٥٢ حالة أي بنسبة ٢% أبدت إيجابية
بنسبة ٢٥%

ولخصنا ذلك في الجدول رقم ٢٣ :

الجدول (٢٣) نتائج الـ Ki-67 بحسب مرحلة الورم

	%٠	%٥	%١٥	%٢٥	%٣٥	%٥٥	%٧٥	%٨٥	%٩٥
مرحلة I	٧	١	١	٠	٠	٠	٠	٠	٠
مرحلة II	١٨	٦	١	١	١	٠	٠	٠	٠
مرحلة III	١٨	١٥	٢	١	٢	١١	١	٠	٢
مرحلة IV	٠	٠	١	٠	١	١	٢	٢	٤



أي أن متوسط مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 بحسب مرحلة الورم لسرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا كان كالتالي : المرحلة I ٢,٢ ، المرحلة II ٣,٩ ، الورم وقيمة مشعر الـ Ki-67 كما هو موضح في الجدول رقم (٢٤) ، وأيضاً بين مرحلة المرحلة III ٢٠,٦ ، المرحلة IV ٧٣,٢ .

رقم (٢٥) وذلك بالبرنامج الإحصائي SPSS وقيمة

الجدول رقم (٢٤) التوافق بين درجة الورم ونسبة إيجابية واسم التكاثر النووي Ki-67

المرحلة	Ki-67											
	%٩٠	%٨٥	%٧٥	%٥٥	%٣٥	%٢٥	%١٥	%٥	.			
٢١	٢	٢	١	٢	.	١	١	٥	٧	العدد	I	درجة الورم
٢١,٢ %	%٢	%٢	%١	%٢	%.	%١	%١	٥,١ %	٧,١ %	%		
٥٧	٣	.	١	٧	٣	.	٤	١١	٢٨	العدد	II	
٥٧,٦ %	%٣	%.	%١	٧,١ %	%٣	%.	٤,١ %	١١,١ %	٢٨,٣ %	%		
٢١	١	.	١	٣	١	١	.	٦	٨	العدد	III	
٢١,٢ %	%١	%.	%١	%٣	%١	%١	%.	٦,١ %	٨,١ %	%		
٩٩	٦	٢	٣	١٢	٤	٢	٥	٢٢	٤٣	العدد	الكل	
١٠٠ %	%٦	%٢	%٣	١٢,١ %	%٤	%٢	٥,١ %	٢٢,٣ %	٤٣,٥ %	%		

قيمة كابا: Kappa = 0.252

الجدول رقم (٢٥) التوافق بين مرحلة الورم ونسبة إيجابية واسم التكاثر النووي Ki-67

مرحلة الورم	Ki-67										العدد	I
	٠	%٥	%١٥	%٢٥	%٣٥	%٥٥	%٧٥	%٨٥	%٩٥			
I	٧	١	١	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٩	العدد	I
	٧,١ %	%١	%١	%٠	%٠	%٠	%٠	%٠	%٠	٩,١ %	%	I
II	١٨	٦	١	١	١	٠	٠	٠	٠	٢٧	العدد	II
	١٨,٢ %	%٦	%١	%١	%١	%٠	%٠	%٠	%٠	٢٧,٣ %	%	II
III	١٨	١٥	٢	١	٢	١١	١	٠	٢	٥٢	العدد	III
	١٨,٢ %	%١٥	%٢	%١	%٢	%١١	%١	%٠	%٢	٥٢,٥ %	%	III
IV	٠	٠	١	٠	١	١	٢	٢	٤	١١	العدد	IV
	%٠	%٠	%١	%٠	%١	%١	%٢	%٢	%٤	١١,١ %	%	IV
الكلية	٤٣	٢٢	٥	٢	٤	١٢	٣	٢	٦	٩٩	العدد	الكلية
	٤٣,٥ %	%٢٢	%٥	%٢	%٤	%١٢	%٣	%٢	%٦	١٠٠ %	%	الكلية

قيمة كابا: Kappa = 0.606

لوحظ وجود تفرق هام بين متوسط مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 وبين مرحلة الورم ، بينما لم يلاحظ وجود هذا التفرق بين متوسط مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 وبين كل من درجة تمايز الورم والنمط النسيجي للورم (مضلي أو غيره) ، وكانت قيمة كابا متوافقة أكثر مع مرحلة الورم منها مع درجة الورم .

مقارنة نتائج التلوين النسيجي الكيميائي المناعي IHC مع نتائج قيمة مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا :

٤٣ حالة (١٥ حالة درجة ٠ و ١٣ حالة درجة ١ و ٥ حالات درجة ٢ و ١٠ حالات درجة ٣+ مناعياً) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٠% .

٢٢ حالة (٧ حالات درجة ٠ و ٤ حالات درجة ١ و ٥ حالات درجة ٢ و ١ حالات درجة ٣+ مناعياً) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٥% .

٥ حالات (٢ حالة درجة ٠ و ١ حالة درجة ١ و ١ حالة درجة ٢ و ١ حالة درجة ٣+ مناعياً) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ١٥% .

٢ حالة (١ حالة درجة ١ و ١ حالة درجة ٢+ مناعياً) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٢٥% .

٤ حالات (٢ حالة درجة ٠ و ١ حالة درجة ٢ و ١ حالة درجة ٣+ مناعياً) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٣٥% .

١٢ حالة (٣ حالات درجة ٠ و ٣ حالات درجة ١ و ٣ حالات درجة ٢+ مناعياً) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٥٥% .

٣ حالات (١ حالة درجة ٠ و ١ حالة درجة ١+ و ١ حالة درجة ٢+ و ١ حالة درجة ٣+ و ١ حالة درجة ٤+) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٧٥%
٦ حالات (١ حالة درجة ٠ و ١ حالة درجة ١+ و ١ حالة درجة ٢+ و ١ حالة درجة ٣+ و ١ حالة درجة ٤+) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٩٥%

٢ حالة (١ حالة درجة ٠ و ١ حالة درجة ٣+ و ١ حالة درجة ٤+) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٨٥%
وتم توضيح هذا في الجدول رقم ٢٦

الجدول رقم (٢٦) العلاقة بين قيمة مشعر الـ Ki-67 وإيجابية الـ Her2 مناعياً

رقم الحالة	Ki-67										نتائج الـ Her2 مناعياً		
	٠	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩			
٣٢	١٥	٧	٢	٠	٢	٣	١	١	١	١	العدد	0	٠
٣٢,٣ %	١٥,٢ %	٧,١ %	٢ %	٠ %	٢ %	٣ %	١ %	١ %	١ %	١ %	%		
٢٥	١٣	٤	١	١	٠	٣	١	٠	٠	٢	العدد	+1	١
٢٥,٢ %	١٣,١ %	٤,١ %	١ %	١ %	٠ %	٣ %	١ %	٠ %	٠ %	٢ %	%		
١٩	٥	٥	١	١	١	٣	٠	٠	٠	٣	العدد	+2	٢
١٩,٢ %	٥,١ %	٥,١ %	١ %	١ %	١ %	٣ %	٠ %	٠ %	٠ %	٣ %	%		
٢٣	١٠	٦	١	٠	١	٣	١	١	١	٠	العدد	+3	٣
٢٣,٢ %	١٠,١ %	٦,١ %	١ %	٠ %	١ %	٣ %	١ %	١ %	١ %	٠ %	%		
٩٩	٤٣	٢٢	٥	٢	٤	١٢	٣	٢	٦	٩٩	العدد	الكلية	١٠٠
١٠٠ %	٤٣,٥ %	٢٢,٣ %	٥ %	٢ %	٤ %	١٢,١ %	٣ %	٢ %	٦,١ %	٩٩ %	%		

قيمة كابا: Kappa = 0.303

من قيمة كابا نلاحظ عدم وجود ارتباط بين شدة إيجابية مورثة الـ Her2/neu مناعياً وبين قيمة مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 .
٢٢ حالة (١٣ حالة سلبية و ٩ حالات إيجابية جزئياً بتقنية الـ CISH) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٥%

مقارنة النتائج الجزئية CISH مع نتائج قيمة مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض في دراستنا :
٥ حالات (٤ حالات سلبية و ١ حالة إيجابية جزئياً بتقنية الـ CISH) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ١٥%
٢ حالة (١ حالة سلبية و ١ حالة إيجابية جزئياً بتقنية الـ CISH) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٢٥%

٤٣ حالة (٣٢ حالة سلبية و ١١ حالة إيجابية جزئياً بتقنية الـ CISH) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٠%

٤ حالات (٢ حالة سلبية و٢ حالة إيجابية جزيئياً بتقنية الـ CISH) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٣٥%
 ١٢ حالة (٥ حالات سلبية و٧ حالات إيجابية جزيئياً بتقنية الـ CISH) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٥٥%
 ٣ حالات (٢ حالة سلبية و١ حالة إيجابية جزيئياً بتقنية الـ CISH) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٧٥%
 ٢ حالة (١ حالة سلبية و١ حالة إيجابية جزيئياً بتقنية الـ CISH) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٨٥%
 ٦ حالات (٤ حالات سلبية و٢ حالة إيجابية جزيئياً بتقنية الـ CISH) كانت قيمة مشعر واسم التكاثر النووي ٩٥%
 وتم توضيح هذا في الجدول رقم ٢٧

الجدول رقم (٢٧) العلاقة بين قيمة مشعر الـ Ki-67 وإيجابية الـ Her2 جزيئياً

مرحلة	Ki-67											
	%٩٥	%٨٥	%٧٥	%٥٥	%٣٥	%٢٥	%١٥	%٥	٠			
٦٤	٤	١	٢	٥	٢	١	٤	١٣	٣٢	العدد	-	نتائج الـ Her2 جزئياً
٦٤,٦ %	%٤	%١	%٢	٥,١ %	%٢	%١	%٤	١٣,١ %	٣٢,٣ %	%		
٣٥	٢	١	١	٧	٢	١	١	٩	١١	العدد	+	
٣٥,٤ %	%٢	%١	%١	٧,١ %	%٢	%١	%١	٩,١ %	١١,١ %	%		
٩٩	٦	٢	٣	١٢	٤	٢	٥	٢٢	٤٣	العدد	الكلية	
١٠٠ %	٦,١ %	%٢	%٣	١٢,١ %	%٤	%٢	%٥	٢٢,٣ %	٤٣,٥ %	%		

قيمة كابا: Kappa = 0.606

من قيمة كابا نلاحظ أن الارتباط بين إيجابية مورثة الـ Her2/neu جزيئياً وبين قيمة مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 أقوى من الارتباط بين إيجابية المورثة مناعياً وبين قيمة المشعر .

تفسير النتائج :

نتائج التلوين المناعي IHC أظهرت أن نسبة إيجابية الـ Her2/neu كانت أعلى في الكارسينوما المخاطية منها في باقي الأنماط النسيجية للسرطانات الظهارية السطحية للمبيض ، وهذا توافقت مع نتائج معظم الدراسات العالمية في هذا الخصوص ، كما أظهرت أنه كلما تقدمت درجة ومرحلة الورم كلما زادت نسبة إيجابية الـ Her2/neu مناعياً .

كما أظهرت النتائج الجزيئية بتقنية الـ CISH أيضاً أن الكارسينوما المخاطية كانت أعلى الأنماط النسيجية في نسبة الإيجابية للـ Her2/neu ، وهذا توافقت أيضاً مع نتائج الدراسات العالمية في هذا المجال ، وأنه لا علاقة لدرجة الورم بحالة إيجابية أو سلبية الـ Her2/neu جزيئياً بينما كلما تقدمت مرحلة الورم كلما زادت نسبة إيجابية الـ Her2/neu جزيئياً .

أما بالنسبة لواسم التكاثر النووي Ki-67 فإن دراستنا أظهرت أن متوسط قيمة المشعر لهذا الواسم كانت أعلى في الكارسينوما المخاطية منها في باقي الأنماط النسيجية، وأنه لا علاقة لدرجة الورم بقيمة متوسط مشعر هذا الواسم ، بينما كلما تقدمت مرحلة الورم كلما زادت قيمة متوسط مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 .

المناقشة :

في هذه الدراسة تم استقصاء ٩٩ حالة سرطان ظهارة سطحية للمبيض وذلك من ناحية حالة الـ Her2/neu . ولأخذ العلم ، فهذه أول دراسة في البلدان العربية بهذا الخصوص وشملت هذا الحجم من العينات . إيجابية حالة الـ Her2/neu وُجدت في ٣٥,٣% (٣٥ من ٩٩) من الحالات . إن نسبة إيجابية الـ Her2/neu تنوعت في الدراسات المختلفة الأوروبية والأمريكية من ٨% إلى ٦٦.٣٧٩-٣٩٧.

هناك العديد من التفسيرات المحتملة لهذا التنوع الواسع ولانخفاض النسبي لإيجابية الـ Her2/neu في معظم الدراسات ، يتضمن ذلك طرائق الكشف المختلفة المستعملة (IHC ، FISH ، CISH) والمصادر المختلفة للعينات (بلوكات الأورام أو نسيج الـ microarray)، والتنوع في تقييم تقنية الـ IHC ، بالإضافة لذلك ، الاختلاف في بروتوكولات التلوين والتقييم الشخصي subjective interpretation للحالات الملونة مما يجعل المقارنة المباشرة لهذه الدراسات أمر صعب . دراستنا الحالية لديها أفضلية في أنها قيمت كل الحالات السلبية والإيجابية صفر، ١+ ، ٢+ ، ٣+ لبروتين الـ Her2/neu بالطريقة الجزيئية (CISH) . نسبة فرط تعبير بروتين الـ Her2/neu (٣+ بالـ IHC) كانت ٢٣,٢% في دراستنا الحالية، بينما اختلفت هذه النسبة من ١,٩% إلى ٣٥% في الدراسات السابقة . ٣٧٩-٣٩٧ وقد استعملنا الضد وحيد النسيلة للـ Her2/neu ، والذي يتمتع بدقة ومصداقية كبيرة من قبل منظمة الغذاء والدواء FDA، ٣٩٨، ٣٩٩ ويبيدي تطابق أفضل مع تقنية الـ FISH أو الـ CISH. ٤٠١، ٤٠٠ ولأخذ العلم ، لم يذكر وجود ارتكاس تصالبي مع عائلة بروتينات الـ EGFR الأخرى باستعمال هذا الضد . ٣٩٥

لقد قمنا بتقييم حالة التلوين النسيجي الكيميائي المناعي IHC بناء على Couturier et al، ٤٠٢ وذلك يتمديد الضد البدئي بنسبة ١/٨٠٠ ، حيث أبدى هذا الإجراء تطابق تام مع تضخيم الجين بتقنية الـ CISH . نتائجن

أثبتت تطابق جيد بين الـ IHC وتقنية الـ CISH في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض لأن معظم العينات التي أبدت درجة صفر أو ١+ بتلوين الـ IHC لم تبدي تضخيم . ومن الجدير بالذكر أن طرائق فحص الـ Her2/neu تتطور مع الزمن ، مما ينتج عنه تطابق أكبر للحالات الإيجابية (١١ - ١٦%) في معظم الدراسات الحديثة .

بالمقارنة مع نسبة الـ ٢٠ - ٣٠% لإيجابية الـ Her2/neu الملاحظة في سرطان الثدي، ٤٠٣، ٣٩٩ فإن النسبة في سرطان المبيض هي أقل والتغايرية داخل الخلايا الورمية وُجدت بشكل أكثر . لاحظنا توافق جيد بين نتائج التلوين النسيجي الكيميائي المناعي IHC ونتائج تقنية التهجين في المكان ثنائي اللون CISH وذلك بالنسبة للحالات السلبية (صفر/١+) والإيجابية القوية (٣+) في درجات التلوين المناعي IHC ، بينما فقط ٥٢,٦% من العينات ذات الدرجة ٢+ بالتلوين المناعي IHC أبدت تضخيم بتقنية الـ CISH . ذُكرت نسبة مماثلة في سرطان الثدي . ٤٠٤، ٤٠٥ وأكثر من ذلك ، وُجد أن من بين نتائج الإيجابية الكاذبة لحالات الدرجة ٢+ بالتلوين المناعي ، ولا واحدة أبدت فرط تعبير الـ mRNA عندما فُحصت بتقنية التهجين . ٣٩٨ نتائجن أبدأ أن اعتماد السلم المنهجي المستعمل حالياً في سرطانات الثدي (IHC كاختبار تحري screening ، مع إثبات النتائج الملتبسة بواسطة التهجين إما الـ FISH أو الـ CISH) يعتبر مناسباً في سرطانات المبيض .

فرط تعبير وتضخيم الـ Her2/neu يترافق مع إنذار سيء في العديد من أنماط السرطانات ، والقيمة الإنذارية في سرطان المبيض تم مراجعتها حديثاً من قبل Serrano-Olvera et al، ٤٠٦ التأثير الإنذاري السيء لفرط تعبير و/أو تضخيم الـ Her2/neu أظهر في معظم الدراسات المنشورة حديثاً، ٤٠٧، ٣٨٠ - ٣٨٢، ٣٨٧، ٣٨٨، ٣٩١، ٣٩٢، ٣٩٤، ٣٩٦، ٤٠٨ مما يدفع للتساؤل حول إمكانية التفاعل بين إيجابية الـ Her2/neu والحساسية للدواء . التأثير السريري

لحالة الـ Her2/neu على الاستجابة للعلاج الكيميائي المعتمد على الـ paclitaxel تم اقتراحه ، لكن لم يظهر هناك ترافق ذو أهمية بينهما ^{٤٠٩ ، ١٠} وبشكل مثير للاهتمام ، الدراسات في الزجاج على خط خلايا سرطانية المبيض SK-OV-3 أظهر أن الحساسية للـ paclitaxel تزداد بشكل مضطرب في الخلايا ذات مستويات التعبير العالي للـ Her2/neu ^{٤١١} وحيث أن الخلايا إيجابية الـ Her2/neu تحب الانقسام بسرعة ، فإنه يمكن أن تكون أكثر حساسية للعلاج الكيميائي المعتمد على الـ paclitaxel . وبالإجمال ، هذه النتائج تقترح أن الـ paclitaxel يمكن أن يتغلب على الإنذار السيء المترافق مع إيجابية الـ Her2/neu وذلك باستهدافه الخلايا المنقسمة .

وحيث أن سرطانات المبيض تعتبر من أشيع أسباب الخباثات بين النساء وتشكل حوالي ٥,٥% من كل السرطانات ^{٤١٢} وأن حوالي ٨٠% من كل أورام المبيض تكون سليمة وتحدث غالباً لدى النساء اليافعات بين عمر الـ ٢٥ والـ ٤٠ سنة ^{٤١٣} تكمن الأهمية في تمييز أورام المبيض السليمة عن أورام المبيض الخبيثة لدى مجموعة من النساء في سن النشاط التناسلي حيث تكون المحافظة على المبيض أمر مهم . التشخيص داخل الجراحة لأورام المبيض يمكن أن يتم باستعمال إما الخزعة المجمدة أو الطبعة الخلوية . أفضلية الطبعة الخلوية عندما تقارن بالمقاطع المجمدة تكمن في سرعة تحضيرها بنفس نسبة الدقة ، الحفاظ الممتاز على تفاصيل الخلايا ، لا ارتكاس للتجميد ، كلفة أقل ، وإمكانية إجراء تلوين واسم التكاثر النووي Ki-67 عليها . الأمور التي تقلل من استخدام الطبعة الخلوية هو عدم قدرتها على التمييز بين السرطانات في الموضع in-situ والسرطان الغازية لأنها لا تسمح بتقييم عمق اختراق الورم ^{٤١٤} .

إن نسبة إلى أي حد يمكن أن يعتبر تكاثر الورم له علاقة بالسير السريري للورم تم دراستها في أكثر من بحث . إن تحديد جزء النمو باستعمال واسم التكاثر النووي Ki-67

يعتبر طريقة بسيطة وتبين أن له قيمة إنذارية في العديد من الخباثات مثل أورام الجملة العصبية المركزية ، الأمراض التكاثرية للمفاوية ، أورام النسيج الضامة ، وأورام الثدي ^{٤١٥} . درس تعبير واسم التكاثر النووي Ki-67 في مختلف أورام المبيض من قبل العديد من الباحثين عبر العالم . على كل حال ، يوجد قلة في مثل هذه الدراسات في البلدان العربية والهند والشرق الأقصى .

لقد قمنا بتعبير واسم التكاثر النووي Ki-67 على المقاطع النسيجية التشريحية المرضية باستعمال التلوين النسيجي الكيميائي المناعي وذلك على ٩٩ حالة سرطان ظهارة سطحية للمبيض . كان متوسط مشعر الـ Ki-67 في سرطانات ظهارة المبيض السطحية بشكل عام ٢٠,٢ ، وكان في السرطانات المصلية ٢٢,٦ ، وفي السرطانات المخاطية ٢٨ ، وفي السرطان المشبهة بباطن الرحم ١,٦ ، وفي السرطان رقيقة الخلايا ٠ ، وفي ورم برنر الخبيث ٠ . بينما كان متوسط مشعر الـ Ki-67 في أورام الدرجة I ٢٩ ، وفي أورام الدرجة II ١٦,٩ ، وفي أورام الدرجة III ٢٠,٢ . أما في أورام المرحلة I/II فكان المشعر ٣,٥ ، وفي أورام المرحلة III/IV كان ٢٩,٨ .

وتبين أن التطابق كان مهم إحصائياً بالنسبة لمرحلة الورم ، وهذا تطابق مع موجودات Harlonzinska et al. ^{٤١٧} و Viale et al. ^{٤١٨} بينما لم يلاحظ وجود ترافق مهم بين قيمة مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 وبين درجة تمايز الورم كما بين ذلك الباحثين الآخرون ^{٤١٦ ، ٤١٩} وبالعكس ، Viale et al. ^{٤١٨} ذكروا متوسط مشعر عالي مهم للـ Ki-67 في الأورام عالية الدرجة .

وبناء على Kobel et al. ^{٤٢٠} فإن متوسط مشعر الـ Ki-67 يختلف بشكل مهم بين الأورام المصلية منخفضة الدرجة (٢,٥%) بمستوى ثقة ٩٥% و interval بين ٠,٥ - (٢٠,٤%) وبين الأورام المصلية عالية الدرجة (٢٢,٤%) بمستوى ثقة ٩٥% و interval بين ٣,٦ - (٦٩,٩%) . لم يوجد ترافق بين متوسط مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 في الأورام المصلية ومتوسط المشعر في الأورام غير

المصلية نسيجياً سواء في هذه الدراسة أو في الدراسات الأخرى. ٤١٧، ٤١٨

Khouja et al.^{٤٢١} وجدوا توافق بين تعبير واسم التكاثر النووي Ki-67 العالي وبين وجود بقايا من المرض بعد الجراحة الأولى ، ووجود حبن ، والمرحلة العالية بتصنيف International Federation of) FIGO (Gynecology and Obstetric ، والإنذار السيء ، والدرجة العالية .

Min et al.^{٤٢٢} ذكروا أن فرط تعبير واسم التكاثر النووي Ki-67 (< ٥٠%) يتوافق مع درجة ونمط الورم في سرطانات المبيض . فرط تعبير الـ Ki-67 (< ٥٠%) كان غائباً في أورام المبيض الحدية borderline ، بينما أبدت سرطانات المبيض تعبير للـ Ki-67 .

في دراستنا الحالية ، كان مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 مرتفعاً في الأورام متقدمة المرحلة ، وهكذا يمكن استنتاج أن ارتفاع مشعر الـ Ki-67 يشير إلى السير السريري الغازي للورم . تعتبر الدرجة والمرحلة حسب تصنيف FIGO أكثر عاملين إنذاريين أهمية في سرطانات المبيض . إن تقييم جزء النمو growth fraction بواسطة مشعر واسم التكاثر النووي Ki-67 في هذه الدراسة يعكس تقارب أكثر بين المرحلة السريرية للورم وبين هذا المشعر أكثر من التقارب بين درجة تمايز الورم وبين مشعر الـ Ki-67 .

وفيما يلي ملخص عن بعض الدراسات العالمية الحديثة

المنشورة والمتعلقة بالـ HER2/neu وسرطان المبيض

١ - استهداف الـ HER2 في سرطانات المبيض والرحم :
التحديات والاتجاهات المستقبلية .

Targeting HER2 in ovarian and uterine cancers : challenges and future directions . Teplinsky E, Muggia F. Gynecol Oncol. 2014, 135 (2): 364-370
إن استهداف مستقبل عامل النمو البشري ٢ (HER2) نتج عنه تقدم كبير في معالجة سرطان الثدي . وبناء عليه ، تولد اهتمام لاستهداف الـ HER2 لعلاج خباثات الجهاز

التناسلي الأنثوي . لقد قيمت دراسات عديدة نسب فرط تعبير و/أو تضخيم الـ HER2 في سرطانات المبيض والرحم . ودرس أيضاً الـ HER2 كعامل إنذاري لكن الموجودات الناتجة كانت متضاربة . وأكثر من ذلك ، التجارب السريرية للعلاجات الموجهة بالـ HER2 والمتضمنة الـ trastuzumab ، pertuzumab ، والـ lapatinib في سرطانات المبيض والرحم كانت مخيبة للآمال بشكل كبير . الأبحاث الحديثة على الـ HER2 في خباثات الجهاز التناسلي الأنثوي ركزت على تحديد آليات المقاومة للعلاج والبحث أكثر في كيف أن إشارة الـ HER2 في سرطانات الجهاز التناسلي الأنثوي تختلف عنها في سرطان الثدي . في هذا المجال ، تم إظهار الموجودات المتعلقة باستهداف الـ HER2 في سرطانات المبيض والرحم ، العديد من الموجودات ترجع لأكثر من عقد ، وتم نقاش الاتجاهات المستقبلية في متابعة الـ HER2 كهدف محتمل في هذه الأمراض .

٢ - تضخيم وفرط تعبير الـ HER2 مرتبط بشكل مهم بسرطان المبيض الظهاري المخاطي .

HER2 amplification and overexpression are significantly correlated in mucinous epithelial ovarian cancer.
Chao WR, Lee MY, Lin WL, et al. Hum Pathol. 2014, 45(4): 810-816.

إن تضخيم جينة الـ HER2 وفرط تعبير البروتين تعتبر عوامل هامة في التنبؤ للحساسية السريرية للعلاجات المضادة للـ HER2 في مرضى سرطان الثدي ، المعدة أو الوصل المعدي المريئي . كان هدف هذه الدراسة هو تقييم الارتباط بين أعداد نسخ جينة الـ HER2 وتعبير بروتين الـ HER2 في سرطانات ظهارة المبيض المخاطية . من أصل ٤٩ عينة نسيج microarray لسرطان ظهارة مبيض مخاطي ، تم تطبيق قواعد قياس العينات الجراحية لتجربة ToGA 2010 (trastuzumab لسرطان المعدة) وذلك لتحليل تعبير بروتين الـ HER2 بفحص التلوين الكيميائي النسيجي المناعي (c-erb-B2 antibody) وتضخيم جينة الـ HER2 بواسطة فحص التهجين في المكان الومضاني

(FISH) . تم الوصول إلى نسبة تطابق عالي (97.56%) بين نتائج الـ HER2 غير الملتبسة بواسطة التلوين النسيجي الكيميائي المناعي ونتائج فحص الـ FISH . بالإضافة لذلك، نسخ جينة الـ HER2 قبل تصحيح الصبغي ١٧ تزداد بشكل هام بترتيب متدرج عبر فئات نتائج التلوين النسيجي الكيميائي المناعي من السليبي إلى الملتبس إلى الإيجابي ($P < 0.001$) ، كما تفعل نسخ جينة الـ HER2 بعد تصحيح الصبغي ١٧ ($P < 0.001$) . من جهة أخرى ، ترافقت نتائج التلوين النسيجي الكيميائي المناعي للـ HER2 بشكل هام مع كل من أعداد نسخ جينة الـ HER2- الصبغي ١٧ غير المصحح ($P < 0.001$, $p = 0.630$) وأعداد نسخ جينة الـ HER2- الصبغي ١٧ المصحح ($P < 0.001$, $p = 0.558$) . استنتج من ذلك أن كل من نسخ جينة الـ HER2- الصبغي ١٧ المصحح وغير المصحح ترافقت بشكل هام مع نتائج التلوين النسيجي الكيميائي المناعي للـ HER2 . إن فحص نسخ جينة الـ HER2 بالنسبة للخلية الورمية سواء قبل أو بعد تصحيح الصبغي ١٧ يمكن أن يطبق كأداة محتملة ذات قيمة لتحليل حالة الـ HER2 في سرطانات ظهارة المبيض المخاطية .

٣ - تنوع وفرط تعبير الـ HER2/neu بين نساء سرطان المبيض في Tiruchirapalli ، Tamil ، Nadu ، India

Polymorphism and overexpression of HER2/neu among ovarian carcinoma women from Tiruchirapalli, Tamil, Nadu, India. Shanmughapriya S, Senthilkumar G, Arun S, et al. Arch Gynecol Obstet. 2013, 288(6): 1385-1390.

الغاية : يعتبر تنوع وفرط تعبير الجينة المحرصة الورمية البدئية HER2 متورطاً في آلية التسرطن والإنذار في سرطان المبيض . في هذه الدراسة تم تقييم هذه الفرضية بين نساء لديهن سرطان مبيض وذلك في India ، Nadu ، Tamil ، Tiruchirapalli .

الطرائق : استُخرج الـ DNA الجيني من ٧٢ حالة مريض و ٢٨٨ حالة شاهد وفُحص بتنوع الأشكال 1655V وذلك بواسطة المعايرة المعتمدة على PCR-RFLP . أُجري التلوين الكيميائي النسيجي المناعي وذلك لدراسة فرط تعبير بروتين الـ HER2 . قورنت الأعداد الملاحظة لكل نمط جيني بتلك المتوقعة للتجمع السكاني المتوازن في Hardy-Weinberg . بتحليل الارتباط بين النمط الجيني وفرط تعبير بروتين الـ HER2 ، استُعمل التحليل الإحصائي لـ Cochran-Mantel-Haenszel .

النتائج : وُجد أن 20.8% من حالات المرضى و 16.3% من حالات الشاهد كانت متغايرة الزيجوت للأليل Val و ١٠ حالات مرضى (13.8%) و ٣ حالات شاهد (1.1%) كانت متماثلة الزيجوت لهذا الأليل ($P < 0.001$) . بالمقارنة مع النساء ذات النمط الجيني Ile/Ile ، فإن النساء ذات النمط الجيني Val/Val لديهن خطر مرتفع لسرطان المبيض . توزع النمط الجيني كان متماشياً مع توازن Hardy-Weinberg . الخطر يزداد مع أعداد أليل Val والنساء متماثلة الزيجوت بالنسبة للأليل Val لديهن ١٥ ضعف زيادة لخطر السرطان ($OR = 15.3$, 95% $CI = 4.09$ -) (57.31) . المرضى متماثلتي الزيجوت بالنسبة للأليل Valine أبدوا تعبير قوي لبروتين الـ HER2 .

الاستنتاجات : النتائج أبدت أن أليل الـ Valine يمكن أن يكون مؤشر للحساسية الجينية لسرطان المبيض في المجموعة السكانية المدروسة .

٤ - مضادة للورم ضد سرطان المبيض .

Vaccination with embryonic stem cells generates effective antitumor immunity against ovarian cancer.

Zhang Z, Chen X, Chang X, et al. Int J Mol Med. 2013, 31(1): 147-153.

حتى الآن ، فقط القليل من الدراسات اقترحت أن الخلايا الجذعية الجنينية البشرية يمكن أن تكون فعالة كلقاح ضد سرطان الكولون والرئة . كان هدف هذه الدراسة هو تقصي الإمكانية العلاجية الكامنة في الخلايا الجذعية الجنينية

٥ - التهجين في المكان بالكروموجين ثنائي اللون للصبغي
HER2/١٧ يمكن من التقييم الدقيق لحالة جينوم الـ
في أورام المبيض .

Dual-colour HER2/chromosome 17
chromogenic in situ hybridization enables
accurate assessment of HER2 genomic status
in ovarian tumors.

Yan B, Choo SN, Mulyadi P, et al. J Clin
Pathol. 2011, 64(12): 1097-1101.

خلفية البحث : يعتبر سرطان المبيض السبب الرئيسي
للإمراضية والوفاة المتعلقة بسرطانات السبيل التناسلي
الأنثوي . وهناك حالياً اهتمام زائد لإمكانية استخدام العوامل
المضادة لمستقبل عامل النمو البشري ٢ (anti-HER2)
في علاج هذا المرض ، مع الحاجة المرافقة لتحديد
الواسمات الحيوية المناسبة المنبئة بالاستجابة للعلاج .

الأهداف/الطرائق : مؤلفو هذا البحث درسوا انتشار تضخيم
وفرط تعبير جينوم الـ HER2 في ٨٥ ورم مبيضي في
مرضى محليين ، بالإضافة إلى نسبة التوافق بين كل من
طرق التلوين الكيميائي النسيجي المناعي ، التهجين في
المكان الومضاني (FISH) والتهجين في المكان
بالكروموجين ثنائي اللون للصبغي HER2/١٧ (CISH) .

النتائج : حدد المؤلفون تضخيم جينوم الـ HER2 في ١٧/٦
سرطان مبيض مخاطي بدئي (35.3%) ، كما حددوا فرط
تعبير البروتين في ١٧/٥ سرطان مبيض مخاطي بدئي
(29.4%) . لم تبدي تحت الأنماط الأخرى لسرطان
المبيض تضخيم الـ HER2 أو فرط تعبير البروتين . وجد
مؤلفو هذه الدراسة أيضاً توافقاً دقيقاً بين نتائج الـ FISH والـ
CISH ثنائي اللون (k coefficient 1.0, p<0.001) .

الاستنتاجات : تدعم نتائج هذه الدراسة التقارير الموجودة
سابقاً بأن تضخيم جينوم الـ HER2 وفرط تعبير البروتين
توجد بشكل رئيسي في سرطانات المبيض المخاطية البدئية .
وبإضافة التوافق الدقيق بين نتائج الـ FISH والـ CISH ثنائي
اللون وتفضيل فحص الـ CISH على الـ FISH ، فإن
التجارب السريرية المستقبلية لاستقصاء استعمال المعالجات
المضادة لـ HER2 في سرطانات المبيض يجب أن تدمج

البشرية كلقاح لتحريض فعالية مضادة للورم واسعة الانتشار
في نماذج حيوانات مختلفة وأنماط سرطانية متنوعة .
استُعملت فئران C57BL/6 ذات خلية سرطان مبيض ID8
وجردان Fischer 344 ذات خلية سرطان مبيض Nu Tu-
19 . ٥٤ فأر قسمت إلى ست مجموعات أي ٩ فئران لكل
مجموعة . لقح كل فأر بالخلايا الجذعية الجنينية البشرية
(pre-inactivated H9) أو بالخلايا الجذعية الجنينية
الفأرية (IVP-ES1) أو ID8 أو بأملاح الفوسفات الدائرة .
٢٤ جرد قسمت إلى أربع مجموعات أي ٦ جردان لكل
مجموعة ، كل جرد لقح بالخلايا الجذعية الجنينية البشرية
(pre-inactivated H9) أو Nu Tu-19 أو بأملاح
الفوسفات الدائرة . بعد التلقيح ، كل فأر عُرض لخلايا
ID8 الحية تحت الجلد ، وكل جرد عُرض لخلايا Nu Tu-
19 الحية داخل البريتوان . اكتُشف أن تلقيح الفئران بخط
الخلايا الجذعية الجنينية البشرية H9 وبخط الخلايا
الجذعية الجنينية الفأرية IVP-ES1 يولد استجابات مناعية
خلوية وخطية ملائمة ضد سرطان المبيض ID8 . الفئران
الملقحة بـ H9 و IVP-ES1 حصلت على وقاية مناعية
ضد الورم ، والجرذان الملقحة بـ H9 كان لها أطول فترة
بقيا وأقل نقائل بعيدة . لا يوجد دليل على حصول تأثيرات
جانبية . أيضاً قورنت المناعة المتولدة ضد سرطان
المبيض بين خط الخلايا الجذعية الجنينية البشرية H9 ،
وخط الخلايا الجذعية الجنينية الفأرية IVP-ES1 ، المشتقة
من خلايا الكتلة الداخلية في أنواع مختلفة . ولوحظ أنه لا
يوجد فرق هام بينهما . وأكثر من ذلك ، بين التلوين
الكيميائي النسيجي المناعي أن العديد من الجينات
المحرضة للورم والجينات المثبطة للورم ، مثل HER-2 ،
C-myc ، p53 ، و nm23 ، كان معبراً عنها في H9 ،
العديد منها كان أيضاً مشارك في سرطان المبيض . لقاح
الخلايا الجذعية الجنينية البشرية يمكن أن يحرض تأثيرات
مضادة للورم في نوعي الحيوانات تلك وفي سرطان
المبيض، مما يشير إلى أن فعالية اللقاح شاملة ، والأكثر
أهمية كونه آمناً .

فحص الـ CISH ثنائي اللون كجزء من التقييم اللوغاريتمي لحالة الـ HER2 .

٦ - الماغنولول يثبط تعبير جينة الـ HER2 ، مما يؤدي لتثبيط الميل للنقائل بواسطة الـ HER2 في خلايا سرطان المبيض .

Magnolol down-regulates HER2 gene expression, leading to inhibition of HER2-mediated metastatic potential in ovarian cancer cells.

Chuang TC, Hsu SC, Cheng YT, et al. Cancer Lett. 2011, 311(1): 11-19.

إن فرط تعبير المحرض الورمي HER2 يساهم في غزو الخلية الورمية ، النقائل ونشوء الأوعية المستحدثة ويزداد مع إنذار سيء . يُذكر أن الماغنولول يبدي فعاليات مضادة للورم . على كل حال ، الآلية الجزيئية لعمل الماغنولول لم تُستقصى في الخلايا السرطانية إيجابية الـ HER2 . لذلك ، فحصت هذه الدراسة تأثيرات الماغنولول المضادة للسرطان على خلايا سرطان المبيض مفرطة تعبير الـ HER2 . العلاج بالماغنولول سبب تثبيط معتمد على الجرعة لتعبير جينة الـ HER2 على مستوى الانتساخ ، من المحتمل جزئياً عبر تثبيط فعالية الـ NF-κB . علاج خلايا سرطان المبيض مفرط تعبير الـ HER2 بالماغنولول يثبط جدول الـ HER2 عبر طريق إشارة PI3K/Akt ، ويثبط تعبير جدول الجينات الهدفية ، عوامل النمو البطانية الوعائية (VEGF) ، لحمية الميتالوبروتيناز ٢ (MMP2) والسيكلين D1 . بالتوازي مع ذلك ، التثبيط المعتمد على الماغنولول لفعالية الـ MMP2 يمكن أن يتم تجنبه بالعلاج المرافق بعوامل النمو البشرية . فحوص الهجرة أبدت أن العلاج بالماغنولول ينقص بشكل واضح حركية خلايا سرطان المبيض مفرط تعبير الـ HER2 . وأكثر من ذلك ، الموت الخلوي المبرمج المحرض بالماغنولول في خلايا سرطان المبيض مفرط تعبير الـ HER2 تميز بتفعيل انقسام البوليميراز ADP-ribose (PARP) وتفعيل الكاسباز ٣ . هذه الموجودات تقترح أن الماغنولول يمكن أن يعمل ضد الـ HER2 ويثبط شبكة إشارة PI3K/Akt/mTOR ، وهكذا

ينتج تثبيط التحول المعتمد على الـ HER2 وإمكانية النقائل في سرطانات المبيض مفرطة تعبير الـ HER2 . هذه النتائج تقدم آلية حديثة لشرح التأثير المضاد للسرطان للماغنولول .

٧ - علاج خلايا سرطان المبيض وسرطان الثدي ذات تعبير الـ HER2 بجزيئات ألفا المطلقة لـ 227Th-trastuzumab .

Treatment of HER2-expression breast cancer and ovarian cancer cells with alpha particles-emitting 227Th-trastuzumab.

Heyerdahl H, Krogh C, Borrebaek J, et al. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2011, 79(2): 563-570.

غايات البحث : لتقييم التأثيرات السمية لنسبة الجرعة المنخفضة من جزيئات ألفا المطلقة لـ الرابط المناعي الشعاعي (٢٢٧) Th-p-isothiocyanato-benzyl-DOTA-trastuzumab والمفرز داخلياً من قبل خلايا سرطان المبيض والثدي وذلك لتقييم احتمال كون الـ (227) Th-trastuzumab عامل علاجي ضد النقائل السرطانية التي تبدي فرط تعبير الجين المحرض الورمي HER2 .

المواد والطرائق : قورنت نسبة بقيا نسيلة ونسبة نمو خلية سرطان الثدي المعالجة بـ Th-trastuzumab (227) بنسبة الخلايا المعالجة بـ Th-rituximab 227 غير المقترن ، الـ trastuzumab البارد ، وأشعة X . أجريت تجارب نمو الخلية أيضاً على خلايا سرطان المبيض . قيسست الفعالية الشعاعية المرافقة للخلية في عدة نقاط زمنية، وحسبت جرعة التشعيع الوسطى للخلايا .

النتائج : حصلت خلايا SKBR-3 على ٥٠% من جرعة التشعيع الوسطى الممتصة من الفعالية الداخلية و ٥٠% من فعالية الخلايا المرتبطة بالسطح ، بينما حصلت خلايا BT-474 و SKOV-3 على ٧٥% من الجرعة الشعاعية من الفعالية الداخلية و ٢٥% من فعالية الخلايا المرتبطة بالسطح . حُضن خلايا سرطان الثدي بـ 2.5 kBq/ml Th-trastuzumab (227) لمدة ساعة بدرجة حرارة 4°C ، متبوعاً بالغسل ، أدى إلى جرعة أشعة وسطية

ممتصة 2-2.5 Gy . التشبیط المعتمد على الجرعة لنمو الخلية وزيادة الموت الخلوي المبرمج تحرض في كل الخلايا.

الاستنتاجات : الفعالية السريرية الناتجة عن تركيز الـ Th-trastuzumab (227) حرضت تأثيرات سمية نوعية في ثلاث خطوط خلايا معبرة للـ HER2 . التأثير السمي للـ Th-trastuzumab (227) كان أعلى من ذلك الذي للجرعة الوحيدة من أشعة X (نسبة الفعالية البيولوجية = 1.2) . هذه النتائج تستدعي دراسات مستقبلية لعلاج سرطان الثدي وسرطان المبيض بـ Th- (227) . trastuzumab .

٨ - نسخ جينة الـ HER2 لكل خلية ورمية إما قبل أو بعد تصحيح الصبغي ١٧ تطابق بشكل هام مع نتائج التلوين الكيميائي النسيجي المناعي للـ HER2 في سرطانات المبيض الظهارية بدراسة الأنسجة بالـ microarray .

The HER2 gene copies per tumor cell either before or after correction for chromosome-17 correlated significantly with HER2 IHC results in epithelial ovarian cancer in a tissue microarray study.

Tsai WC, Lee MY, Chen FL, et al. Arch GynecolObstet.2011,284(3):721-729

خلفية البحث : تعتبر تضخيم جينة الـ HER2 وفرط تعبير بروتين الـ HER2 عوامل هامة في التنبؤ بالحساسية السريرية للمعالجة بالصد وحيد النسيلة المعاكس للـ HER2 في مرضى سرطان الثدي . غاية هذه الدراسة هي تقييم التطابق بين تعبير بروتين الـ HER2 ونسخ جينة الـ HER2 لكل خلية ورمية إما قبل أو بعد تصحيح الصبغي ١٧ في سرطانات المبيض الظهارية .

الطرائق : بتبني توصيات دليل الـ ASCO/CAP 2007 لفحص الـ HER2 ، فُحصت ٢٧ عينة نسيج microarray من مرضى سرطانات مبيض ظهارية وذلك بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي ومن ثم الفحص بالتهجين في المكان الومضاني (FISH) .

النتائج : التوافق بشكل عام أبدى 81.5% بين نتائج التلوين الكيميائي النسيجي المناعي للـ HER2 ونتائج التهجين في المكان الومضاني (FISH) للـ HER2 . بالإضافة لذلك ، نسخ جينة الـ HER2 قبل تصحيح الصبغي ١٧ تزداد بشكل هام بخطوات متلاحقة من فئة النتائج السلبية للتلوين الكيميائي النسيجي المناعي للـ HER2 إلى فئة النتائج الملتبسة إلى فئة النتائج الإيجابية (P = 0.026) ، كما تفعل نسخ جينة الـ HER2 بعد تصحيح الصبغي ١٧ (P = 0.028) . من جهة أخرى ، تطابقت نتائج التلوين الكيميائي النسيجي المناعي للـ HER2 بشكل هام مع كل من أعداد نسخ جينة الـ HER2 ذات الصبغي ١٧ غير المصحح (P = 0.430, p = 0.025) وأعداد نسخ جينة الـ HER2 ذات الصبغي ١٧ المصحح (P = 0.027, p = 0.524) .

الاستنتاجات : تم إيضاح أن كل من الصبغي ١٧ المصحح ونسخ جينة الـ HER2 غير المصححة تطابقت بشكل هام مع نتائج التلوين الكيميائي النسيجي المناعي للـ HER2 ، وفحوصات نسخ جينة الـ HER2 لكل خلية ورمية إما قبل أو بعد تصحيح الصبغي ١٧ يمكن أن يطبق كأداة ممكنة ذات قيمة في تحليل حالة الـ HER2 في سرطانات المبيض الظهارية .

٩ - تحديد الجينات المرشحة المحرصة للنمو في سرطان المبيض عبر دمج تحليل عدد النسخ والتعبير .

Identification of candidate growth promoting genes in ovarian cancer through integrated copy number and expression analysis.

Ramakrishna M, Williams LH, Boyle SE, et al. PLoS One. 2010, 5(4): e9983

يعتبر سرطان المبيض مرض يتميز بإعادة ترتيب جيني معقد لكن معظم الجينات التي تكون هدف هذه التغيرات تبقى غير معروفة . تصنيف هذه الجينات المستهدفة يمكن أن يقدم نظرة مفيدة على آلية المرض ويمكن أن يقدم فرصة لتطوير مقارنة تشخيصية وعلاجية جديدة . دمج عدد نسخ الجينات الواسع عالي التمييز وموجودات تطابق التعبير

المأخوذة من ٦٨ سرطان مبيض ظهاري بدئي من مختلف الأنماط النسيجية وذلك لتحديد الجينات في المناطق ذات التضخيم الأكثر تواتراً مع التطابق الأقوى مع التعبير وعدد النسخ . المناطق على الصبغيات ٣، ٧، ٨، و ٢٠ كانت الأكثر تواتراً زيادة في عدد النسخ ($< 40\%$ من العينات). ضمن هذه المناطق ، ١٣٧٠/٧٠٣ (٥١%) تعبير مفحوص لجينة وحيدة كان مختلفاً عندما قورنت العينات مع الريح مع العينات بدون ربح . ٣٠% من هذه التعبيرات المختلفة المفحوصة أيضاً أبدت تطابق إيجابي قوي ($r > 0.6$ or = 0.6) بين التعبير وعدد النسخ . أيضاً تم تحديد ٢١ منطقة ذات وفرة عالية في ربح عدد الصبغيات ، وفيها ٣٢ كود جيني بروتيني معروف أبدى تطابق إيجابي قوي بين التعبير وعدد النسخ . بشكل عام ، هذه الدراسة أثبتت جينات سرطان المبيض المعروفة سابقاً ، مثل ال ERBB2 ، وأيضاً حددت مسارات جديدة محتملة مثل MYNN ، PUF60 و TPX2 .

١٠ - فرط تعبير الجينة المحرصة الورمية c-erbB-2 (HER2/neu) والاستجابة للعلاج الكيميائي في مرضى سرطان المبيض .

Overexpression of the oncogene c-erbB-2 (HER2/neu) and response to chemotherapy in patients with ovarian cancer. Meden H, Marx D, Roegglen T, et al. Int J Gynecol Pathol 1998;17(1):61-65

صُممت هذه الدراسة لتقرير فيما إذا فرط تعبير ال c-erbB-2 يمكن أن يستعمل كواسم لتحديد مجموعة من مرضى سرطان المبيض أكثر احتمالاً من الآخرين للاستفادة من العلاج الكيميائي. مقاطع البارافين من بلوكات الأنسجة لـ ٢٠٨ مريضة مشخصة حديثاً لسرطان مبيض غير معالج تم فحصها لفرط تعبير ال c-erbB-2 . كل المرضى خضعوا للعلاج الكيميائي المعتمد على البلاتين بعد الجراحة. المرضى ذوي الأورام إيجابية ال c-erbB-2 كان لهم إنذار أسوأ بكثير بالمقارنة مع مرضى الأورام سلبية ال c-erbB-2 ($p = 0.0003$) . إن موجودات ال c-erbB-2 كانت غير متعلقة بمرحلة الورم أو بالموجودات النسيجية.

كان هناك دليل واضح على تأثير الاستجابة المتعلق بالجرعة وذلك بالنسبة للبقيا عند المرضى ذوي الأورام سلبية ال c-erbB-2 ، وهذا لم يشاهد عند المرضى ذوي الأورام إيجابية ال c-erbB-2 ($p = 0.0341$ vs $p = 0.3775$) . لذلك تم استنتاج أن هناك تأثير مهم للاستجابة للجرعة الكلية للعلاج الكيميائي المعتمد على البلاتين في مرضى سرطان المبيض بدون فرط تعبير ال c-erbB-2 . إن ولكن ليس عند المرضى مع فرط تعبير ال c-erbB-2 . إن فرط تعبير ال c-erbB-2 يمكن أن يكون واسم مفيد لتحديد المرضى الذين هم أكثر احتمالاً للاستفادة من الجرعات العالية للعلاج الكيميائي .

١١ - تقييم حالة ال HER2 في سرطانات المبيض الظهارية المخاطية وذلك اعتماداً على مقياس 2013 ASCO/CAP .

Assessing the HER2 status in mucinous epithelial ovarian cancer on the basis of the 2013 ASCO/CAP guideline update. Chao WR, Lee MY, Lin WL, et al. Am J Surg Pathol. 2014, 38(9):1227-1234

تعتبر تضخيم جينة ال HER2 وفرط تعبير البروتين عوامل هامة في التنبؤ بالحساسية السريرية للعلاج بالأضداد وحيدة النسيلة المضادة للـ HER2 وذلك في مرضى سرطانات الثدي والمعدة والوصل المعدي المريئي . هدف هذه الدراسة كان تقييم حالة ال HER2 في سرطانات المبيض الظهارية المخاطية . بإتباع معايير ال 2013 American Society for Clinical Oncology College of American Pathologists لفحص ال HER2 ، تم فحص ٤٩ عينة نسيج microarray لسرطان مبيض ظهاري مخاطي وذلك بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي (IHC) والتهجين في المكان الومضاني (FISH) . انتشار إيجابية ال HER2 في سرطانات المبيض الظهارية المخاطية في آسيا كان ٩ من ٤٩ امرأة آسيوية (18.37%) . التطابق الإجمالي كان ١٠٠% بين نتائج التلوين الكيميائي النسيجي المناعي ونتائج التهجين في المكان الومضاني . نسخ جينة ال HER2 قبل تصحيح الصبغي ١٧ ازدادت بشكل هام

بخطوات متتابعة من فئة نتائج التلوين الكيميائي النسيجي المناعي السلبية إلى الملتبسة إلى الإيجابية ($P < 0.001$) وذلك كما فعلت جينة نسخ جينة الـ HER2 بعد تصحيح الصبغي ١٧ ($P < 0.001$). في دراسة في تايوان (٢١ عينة) ، تغايرية جينة الـ HER2 كانت 4.76% (٢١/١) في كل المرضى لكنها كانت 14.26% (٧/١) في السرطانات إيجابية الـ HER2 . بالاستنتاج ، تم إيضاح أن انتشار إيجابية الـ HER2 في كل من النساء الآسيويات والبيض كان متقارباً ، وُجد تطابق تام بين نتائج التلوين الكيميائي النسيجي المناعي للـ HER2 ونتائج التهجين في المكان الومضاني وذلك لنسخ جينة الـ HER2 بالنسبة لكل خلية ورمية إما قبل أو بعد تصحيح الصبغي ١٧ ، وهذا يمكن تطبيقه كوسيلة محتملة ذات قيمة لتقييم حالة الـ HER2 . كان الـ polysomy-17 غائباً تحت الـ CEP17 cutoff ≥ 3 . وجود تغايرية جينة الـ HER2 يمكن أن يميز في بعض سرطانات المبيض الظهارية المخاطية البدئية المعبرة للـ HER2 في نساء تايوانيات .

~~~~~

#### الاستنتاجات :

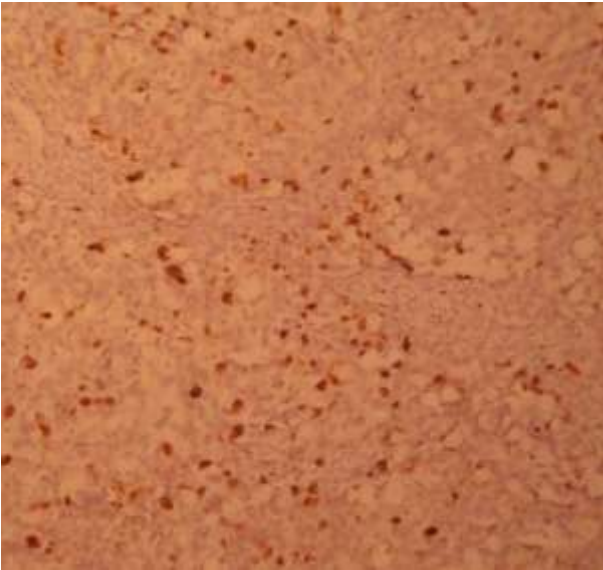
مما سبق نلاحظ أهمية كشف حالة مورثة الـ Her2/neu في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض سواء بالطريقة المناعية IHC أو بالطريقة الجزيئية CISH ، لأن النسبة التي حصلنا عليها في دراستنا قريبة من النسب المعتمد عليها لتطبيق المعالجة الهدفية في سرطانات الثدي إيجابية الـ Her2/neu ، والتي حسنت بشكل ملحوظ الإنذار

السيء المترافق مع السرطانات إيجابية الـ Her2/neu ، وتكمن أهمية البحث في كونه أول دراسة في البلدان العربية في هذا الخصوص على المستوى الجزيئي وشملت هذا العدد من العينات . ويدفعنا هذا البحث لإجراء بحوث إضافية في هذا الخصوص مستقبلاً ، وذلك من ناحية تطبيق العلاجات الهدفية على السرطانات إيجابية الـ Her2/neu ، ودراسة النتائج وذلك لتقرير إمكانية اعتماد هذه المعالجات أو لا .

وأيضاً نستنتج مما سبق أن واسم التكاثر النووي Ki-67 (MIB-1) وهو عبارة عن مشعر لانقسام الخلايا ، يمكن أن يستعمل كواسم بيولوجي للتنبؤ بتكاثر الورم وزيادة قابليته للنكس وزيادة ميله للغزو وسوء إنذاره وذلك عن طريق كشفه بالطرق المناعية العادية IHC وذلك في سرطانات الظهارة السطحية للمبيض ، وهذا يحفزنا لإجراء بحوث إضافية حول إمكانية استعمال هذا الواسم وبعض الواسمات المناعية والجزيئية الأخرى التي تكشف نسبة تكاثر الخلايا في الورم كفحص روتيني لسرطانات المبيض .

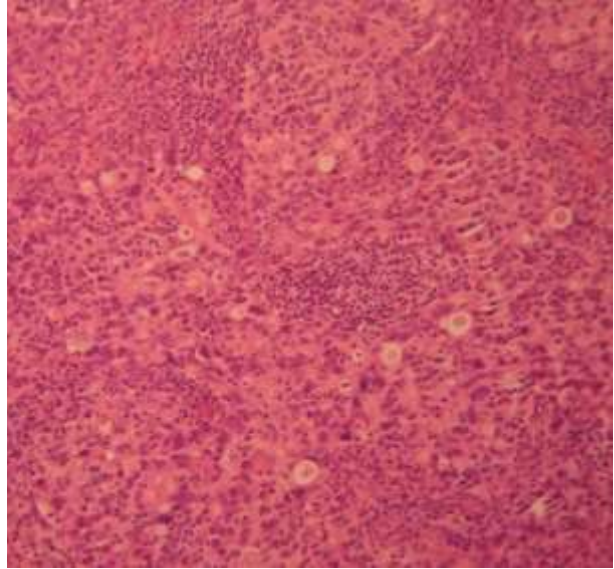
وأخيراً نود أن نشير إلى أنه من الضرورة بمكان الاهتمام الدائم والحديث بدعم الأبحاث العلمية وخصوصاً المتعلقة منها بالباثولوجيا الجزيئية وذلك في قسم التشريح المرضي وباقي الأقسام كالوراثة وغيرها لما له من تطبيقات سريرية مستقبلية هامة تنعكس إيجاباً على كل من الجوانب الصحية والاجتماعية والاقتصادية في المجتمع .

ونورد فيما يلي بعض الأشكال لصور بعض نتائج التلوينات المناعية والجزيئية في دراستنا :

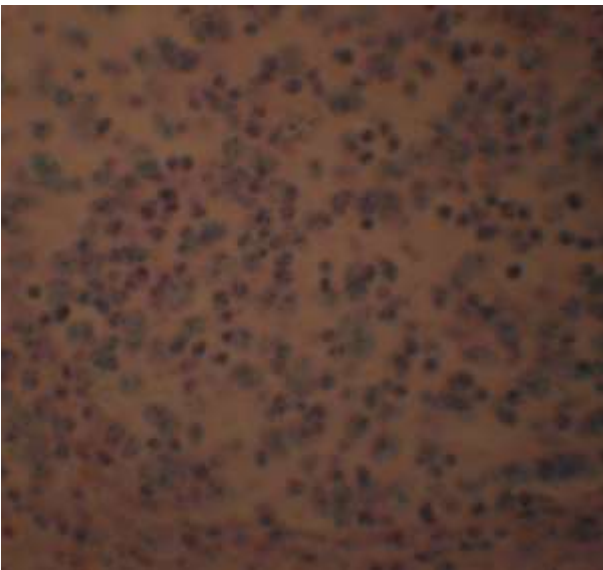


الشكل (٣٩) كارسينوما مصلية ذات مشعر مرتفع لا Ki-

67

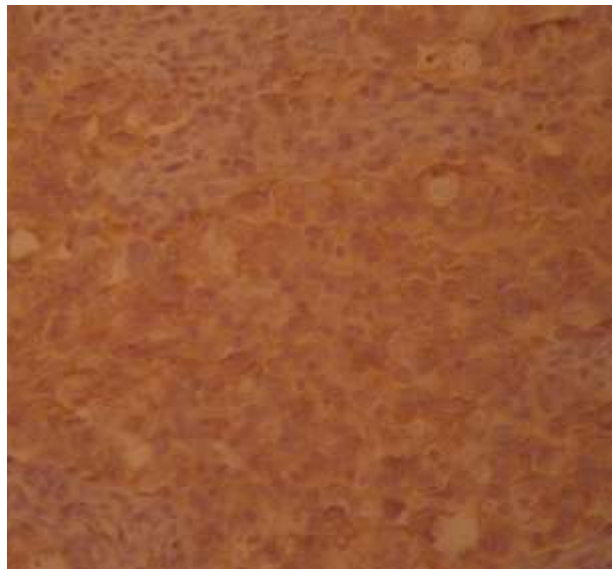


الشكل (٣٧) كارسينوما مصلية



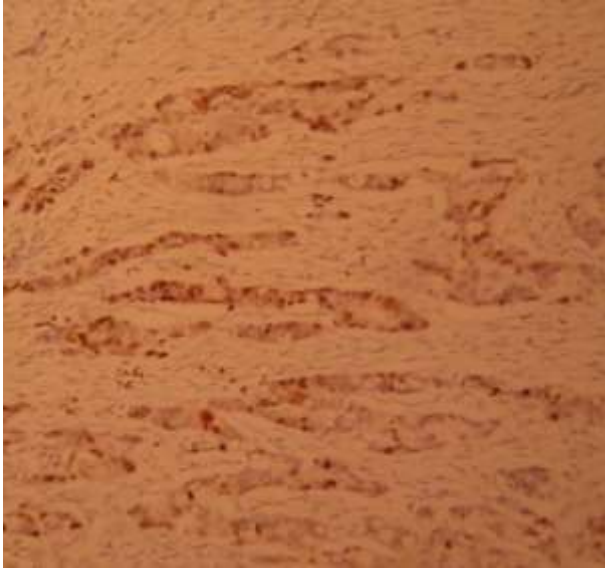
الشكل (٤٠) كارسينوما مصلية إيجابية لا Her2/neu

جزيئياً بتقنية الـ CISH

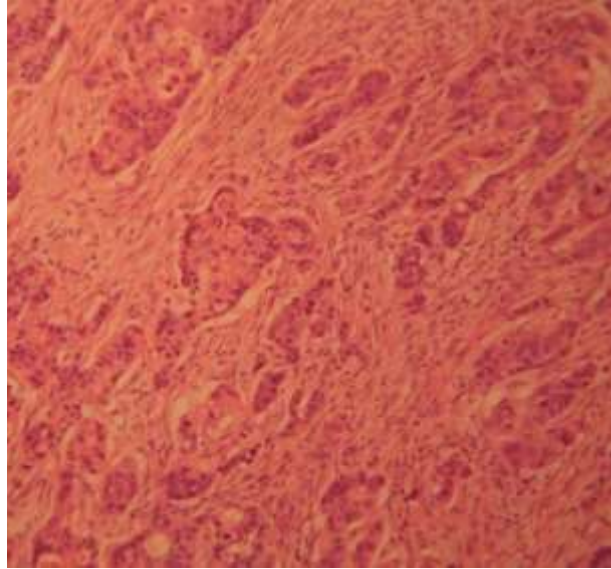


الشكل (٣٨) كارسينوما مصلية إيجابية الـ Her2/neu

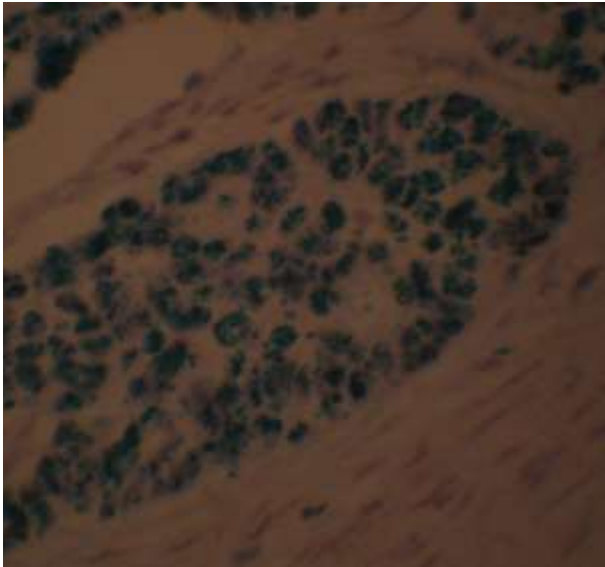
مناعياً



الشكل (٤٣) كارسينوما مخاطية ذات مشعر عالي لا Ki-67



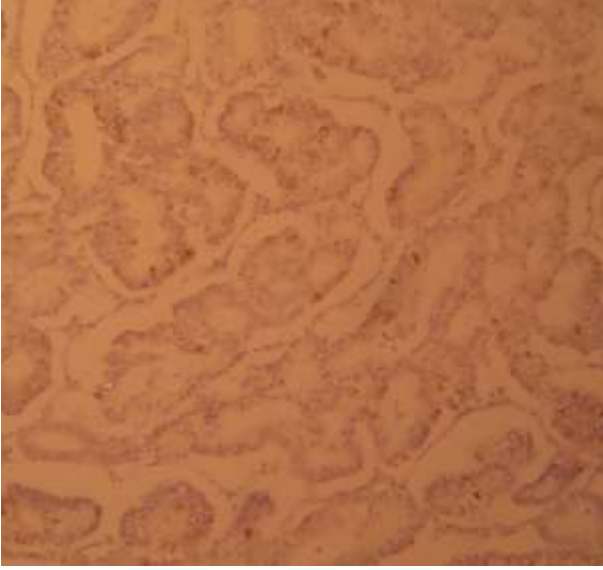
الشكل (٤١) كارسينوما مخاطية



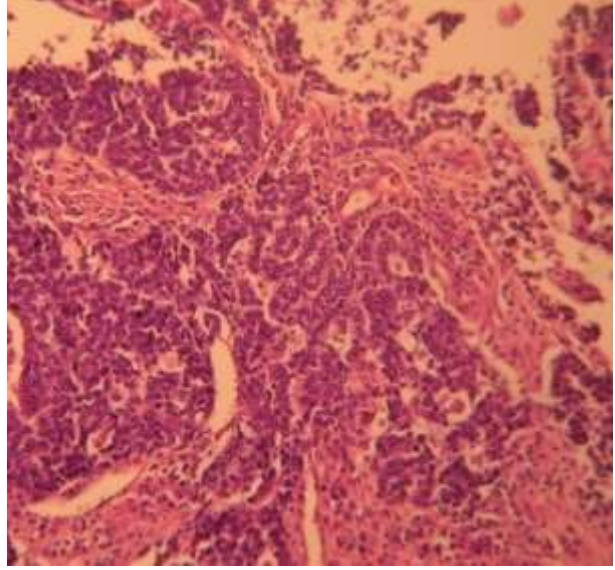
الشكل (٤٤) كارسينوما مخاطية إيجابية لا Her2/neu  
جزئياً بتقنية CISH



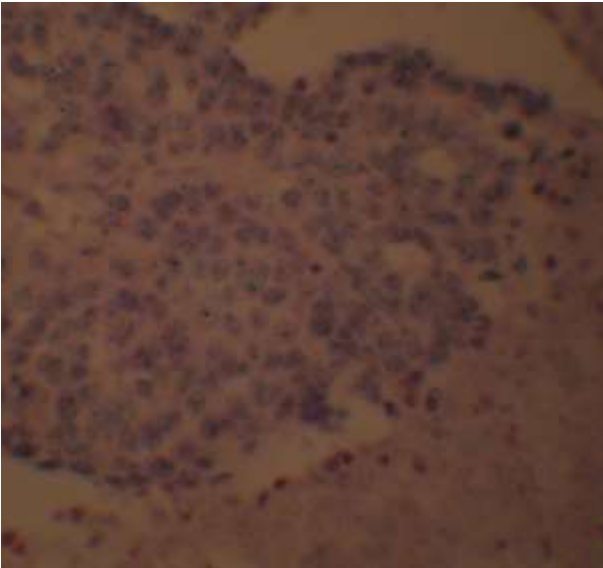
الشكل (٤٢) كارسينوما مخاطية إيجابية لا Her2/neu  
مناعياً



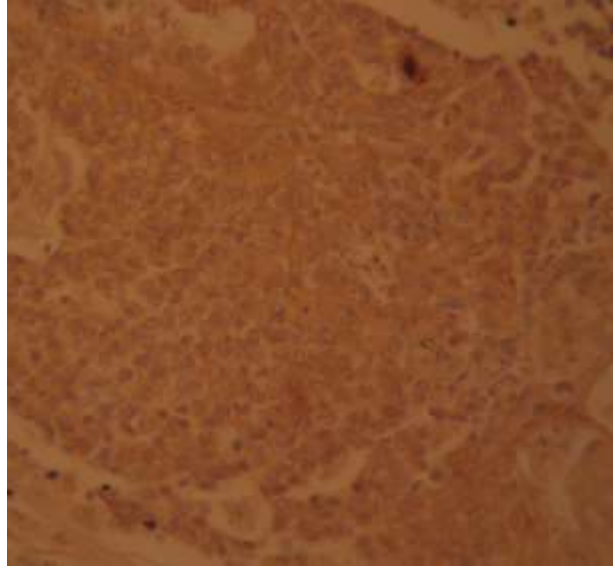
الشكل (٤٧) كارسينوما مشبهة بباطن الرحم ذات مشعر  
منخفض لا Ki-67



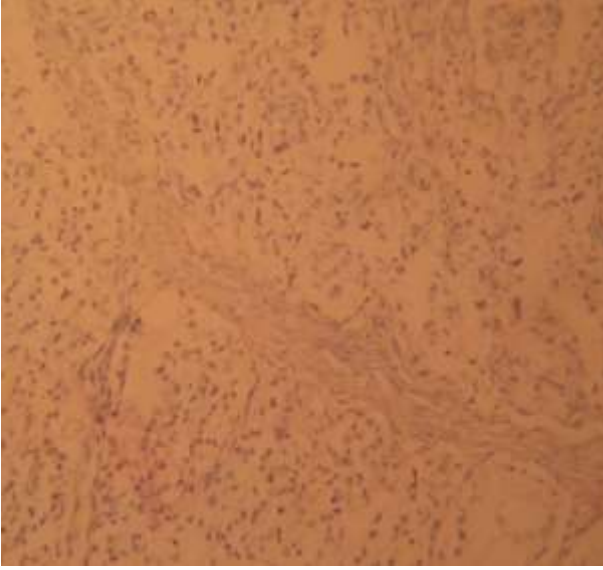
الشكل (٤٥) كارسينوما مشبهة بباطن الرحم



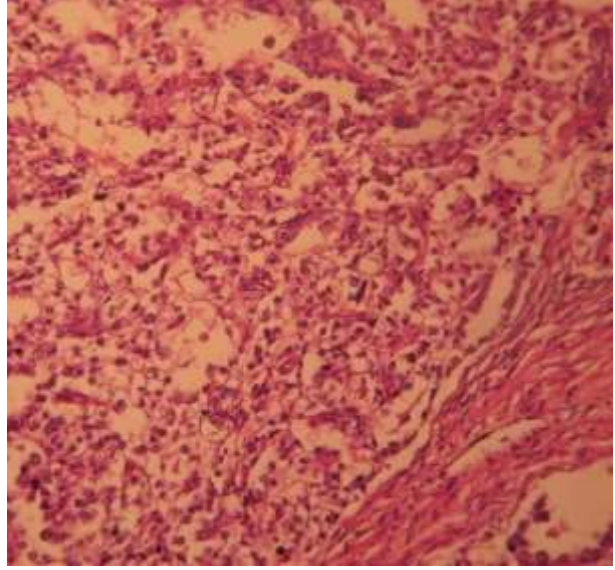
الشكل (٤٨) كارسينوما مشبهة بباطن الرحم إيجابية لا  
Her2/neu جزيئياً بتقنية الـ CISH



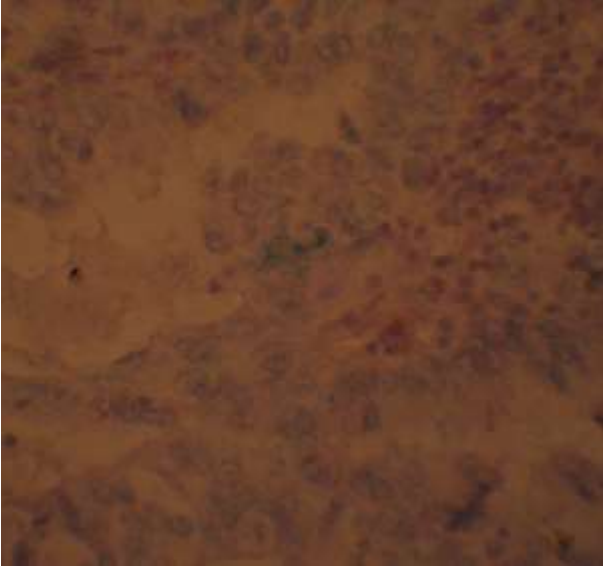
الشكل (٤٦) كارسينوما مشبهة بباطن الرحم إيجابية لا  
Her2/neu مناعياً



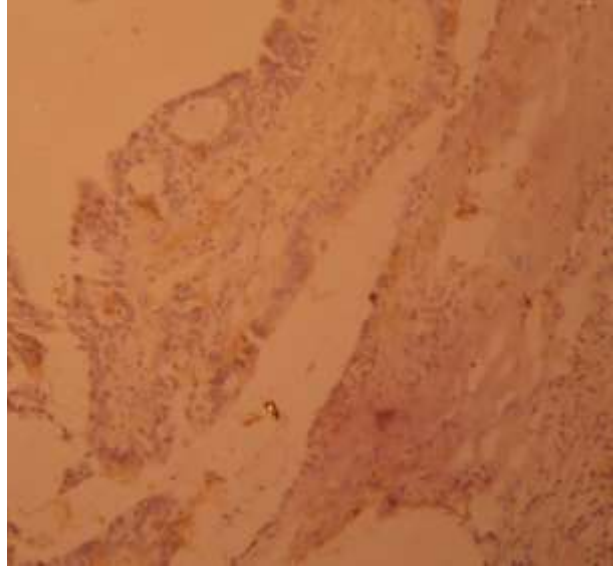
الشكل (٥١) كارسينوما رائقة الخلايا سلبية لـ Ki-67



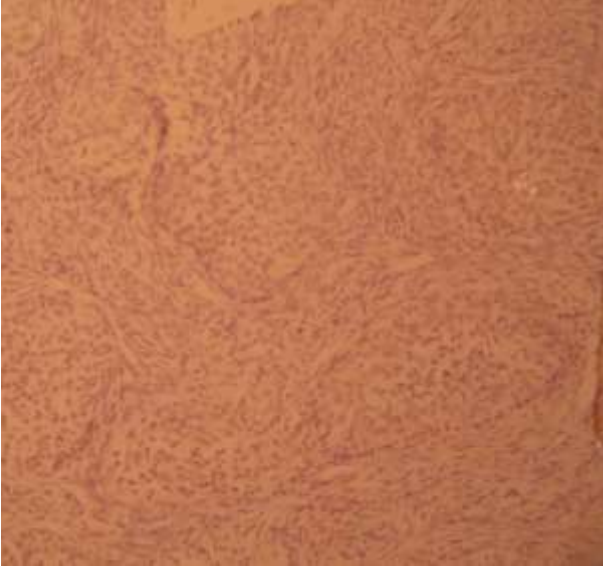
الشكل (٤٩) كارسينوما رائقة الخلايا



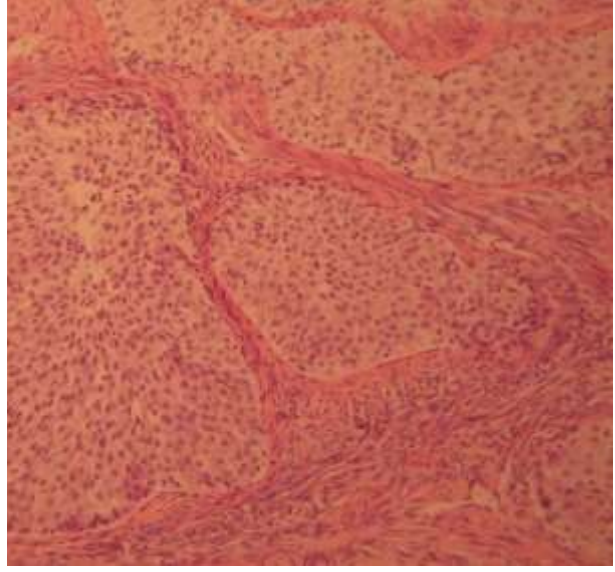
الشكل (٥٢) كارسينوما رائقة الخلايا إيجابية لـ  
Her2/neu جزيئياً بتقنية الـ CISH



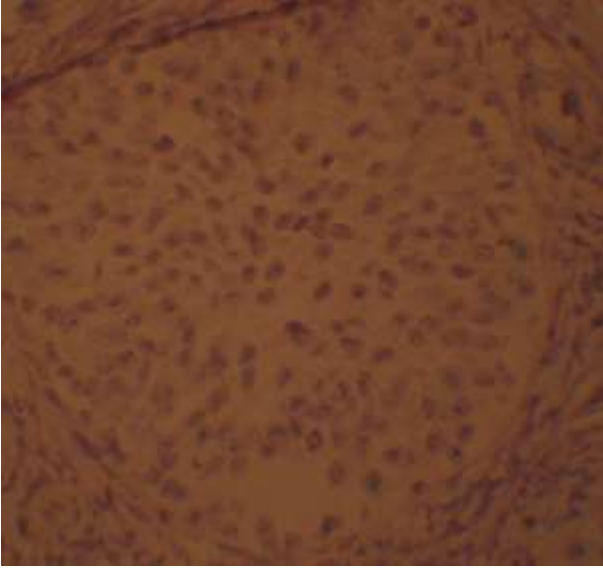
الشكل (٥٠) كارسينوما رائقة الخلايا إيجابية بشكل ضعيف  
مناعياً لـ Her2/neu



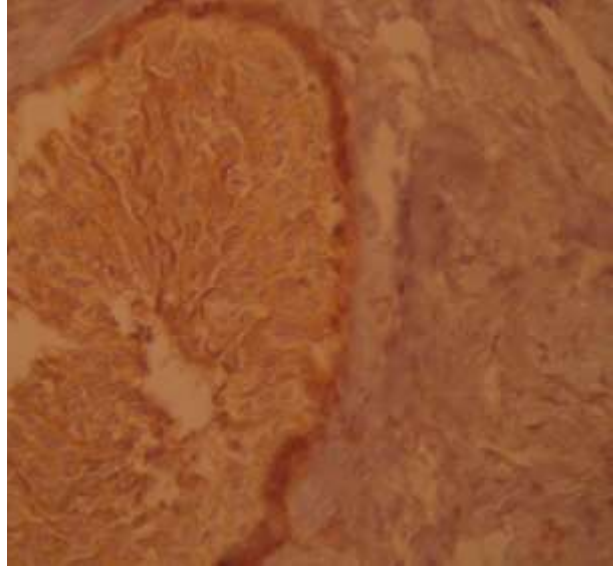
الشكل (٥٥) ورم برنر سلبى لـ Ki-67



الشكل (٥٣) ورم برنر



الشكل (٥٦) ورم برنر سلبى لـ Her2/neu جزيئياً بتقنية  
CISH



الشكل (٥٤) ورم برنر إيجابى لـ Her2/neu منعياً

## المراجع :

- 1 – Female Genital System, 3<sup>rd</sup> edition. Histology for Pathologists. Mills, Stacey E. et al. Lippincott Williams & Wilkins, 2007. 1064 – 1076.
- 2 – World Health Organization Classification of tumors Pathology & Genetics Tumors of the Breast and Female Genital Organs. Tumors of the Ovary and Peritoneum. Fattaneh A. Tavassoli, Peter Devilee et al. IARC Press International Agency for Research on Cancer (IARC) 69008 Lyon, France, 2003. 113 – 122.
- 3 – Histology for pathologists, ed.2. Clement PB. Histology of the ovary. In Sternberg S (ed.): Philadelphia, 1997, Lippincott-Raven. 929 – 960.
- 4 – Histopathology Reporting, Guidelines for Surgical Cancer. Ovarian carcinoma. 2<sup>nd</sup> edition. Derek C. Allen et al. Springer-Verlag London Limited, 2006. 239.
- 5 – Reproductive Factors and Epithelial Ovarian Cancer Risk by Histologic Type: A Multiethnic Case-Control Study. Ko-Hui Tung, Marc T. Goodman, Anna H. Wu, Katharine McDuffie, Lynne R.

- Wilkens, Laurence N. Kolonel, Abraham M. Y. Nomura, Keith Y. Terada, Michael E. Carney, and Leslie H. Sobin et al. *American Journal Epidemiology*. 2003; 158: 629 – 638.
- 6 – Risk Factors for Epithelial Ovarian Cancer by Histologic Subtypes. Margaret A. Gate, Bernard A. Rosner, Jonathan L. Hecht and Shelley S. Tworoger et al. *American Journal Epidemiology*. 2010; 171: 45 – 53.
- 7 – Gynecologic Pathology, Surface Epithelial Stromal Tumors of the Ovary, 1<sup>st</sup> edition, Marisa R. Nucci, Esther Oliva et al. Elsevier Churchill Livingstone, 2009; 393 – 407.
- 8 – The pathology of incipient neoplasia. Major Problems in Pathology Series. 2<sup>nd</sup> ed. Vol 28. Scully RE. Ovary. In Henson DE, Albores-Saavedra J (eds): Philadelphia: WB Saunders; 1993 : 279 – 300.
- 9 – Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. Easton DF, Ford D, Bishop DT *American journal of human genetics*. 1995; 56(1): 265-71.
- 10 – Mutation analysis of the BRCA1 gene in ovarian cancers. Takahashi H, Behbakht K, McGovern PE, Chiu HC, Couch FJ, Weber BL, Friedman LS, King MC, Furusato M, LiVolsi VA. *Cancer research*. 1995 ; 55 (14) : 2998 – 3002.
- 11 – Ovarian cancer risk in BRCA1 carriers is modified by the HRAS1 variable number of tandem repeat (VNTR) locus. Phelan CM, Rebbeck TR, Weber BL, Devilee P, Rutledge MH, Lynch HT, Lenoir GM, Stratton MR, Easton DF, Ponder BA, Cannon-Albright L, Larsson C, Goldgar DE, Narod SA. *Nature genetics*. 1996; 12 (3) : 309 – 311.
- 12 – Prevalence and contribution of BRCA1 mutation in breast cancer and ovarian cancer: results from three U.S. population-based case-control studies of ovarian cancer. Whittemore AS, Gong G, Itnyre J *American journal of human genetics*. 1997 ; 60 (3) : 496 – 504.
- 13 – Sequence analysis of BRCA1 and BRCA2: correlation of mutations with family history and ovarian cancer risk. Frank TS, Manley SA, Olopade OI, Cummings S, Garber JE, Bernhardt B, Antman K, Russo D, Wood ME, Mullineau L, Isaacs C, Peshkin B, Buys S, Venne V, Rowley PT, Loader S, Offit K, Robson M, Hampel H, Brenner D, Winer EP, Clark S, Weber B, Strong LC, Thomas A. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1998;16(7):2417-25
- 14 – Localization of a novel susceptibility gene for familial ovarian cancer to chromosome 3p22-p25. Sekine M, Nagata H, Tsuji S, Hirai Y, Fujimoto S, Hatae M, Kobayashi I, Fujii T, Nagata I, Ushijima K, Obata K, Suzuki M, Yoshinaga M, Umesaki N, Satoh S, Enomoto T, Motoyama S, Japanese Familial Ovarian Cancer Study Group, Tanaka K. *Human molecular genetics*. 2001; 10(13): 1421– 29.
- 15 – BRCA1, BRCA2, and hereditary nonpolyposis colorectal cancer gene mutations in an unselected ovarian cancer population: relationship to family history and implications for genetic testing. Rubin SC, Blackwood MA, Bandera C, Behbakht K, Benjamin I, Rebbeck TR, Boyd J *American journal of obstetrics and gynecology*. 1998 ; 178 (4) : 670 – 677.
- 16 – Is hereditary site-specific ovarian cancer a distinct genetic condition? Liede A, Tonin PN, Sun CC, Serruya C, Daly MB, Narod SA, Foulkes WD *American journal of medical genetics*. 1998;75(1):55-58.
- 17 – The genetic epidemiology of early-onset epithelial ovarian cancer: a population-based study. Stratton JF, Thompson D, Bobrow L, Dalal N, Gore M, Bishop DT, Scott I, Evans G, Daly P, Easton DF, Ponder BA *American journal of human genetics*. 1999 ; 65 (6) : 1725 – 1732.
- 18 – Familial cluster of ovarian small cell carcinoma: a new mendelian entity? Longy M, Toulouse C, Mage P, Chauvergne J, Trojani M *Journal of medical genetics*. 1996 ; 33 (4) : 333 – 335.
- 19 – P53 allelotypes and enhanced detection of allelic loss in ovarian cancer: lack of correlation with familial and clinical factors. Skilling JS, Powills K, Lager DJ, Anderson B, Sorosky J, Buller RE. *Gynecologic oncology*. 1996 ; 61 (2) : 180 – 188.
- 20 – [Phenotype-genotype-correlation in ovarian neoplasia]. Diebold J *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie*. 2001 ; 85 : 153 – 160.
- 21 – Homogeneously staining regions on marker chromosomes in malignancy. Kovacs G. *International journal of cancer*. 1979 ; 23 (3) : 299 – 301.
- 22 – Detection of DNA gains and losses in primary endometrial carcinomas by comparative genomic hybridization. Sonoda G, du Manoir S, Godwin AK, Bell DW, Liu Z, Hogan M, Yakushiji M, Testa JR *Genes, chromosomes & cancer*. 1997 ; 18 (2) : 115 – 125.
- 23 – Allele loss on chromosome 1p36 in epithelial ovarian cancers. Alvarez AA, Lambers AR, Lancaster JM, Maxwell GL, Ali S, Gumbs C, Berchuck A, Futreal PA *Gynecologic oncology*. 2001 ; 82 (1) : 94 – 98.
- 24 – Chromosome abnormalities in ovarian adenocarcinoma: I. Nonrandom chromosome abnormalities from 244 cases. Taetle R, Aickin M, Yang JM, Panda L, Emerson J, Roe D, Adair L, Thompson F, Liu Y, Wisner L, Davis JR, Trent J, Alberts DS *Genes, chromosomes & cancer*. 1999 ; 25 (3) : 290 – 300.
- 25 – Cloning and characterization of a senescence inducing and class II tumor suppressor gene in ovarian carcinoma at chromosome region 6q27.

Acquati F, Morelli C, Cinquetti R, Bianchi MG, Porrini D, Varesco L, Gismondi V, Rocchetti R, Talevi S, Possati L, Magnanini C, Tibiletti MG, Bernasconi B, Daidone MG, Shridhar V, Smith DI, Negrini M, Barbanti-Brodano G, Taramelli R *Oncogene*. 2001 ; 20 (8) : 980 – 988.

26 – Comparative genomic hybridization detects frequent overrepresentation of chromosomal material from 3q26, 8q24, and 20q13 in human ovarian carcinomas. Sonoda G, Palazzo J, du Manoir S, Godwin AK, Feder M, Yakushiji M, Testa JR *Genes, chromosomes & cancer*. 1997 ; 20 (4) : 320 – 328.

27 – Characteristic pattern of genetic aberrations in ovarian granulose cell tumor.

Mayr D, Kaltz-Wittmer C, Arbogast S, Amann G, Aust DE, Diebold J *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2002 ; 15 (9) : 951 – 957.

28 – Chromosome aberrations in metastatic ovarian cancer: relationship with abnormalities in primary tumors. Bello MJ, Rey JA *International journal of cancer*. 1990 ; 45 (1) : 50 – 54.

29 – Bilateral ovarian carcinoma: cytogenetic evidence of unicentric origin.

Pejovic T, Heim S, Mandahl N, Elmfors B, Furgyik S, Flod UM, Helm G, Will H, Mitelman F. *International journal of cancer*. 1991 ; 47 (3) : 358 – 361.

30 – Loss of heterozygosity on chromosomes 7p, 7q, 9p and 11q is an early event in ovarian tumorigenesis. Watson RH, Neville PJ, Roy WJ Jr, Hitchcock A, Campbell IG *Oncogene*. 1998 ; 17 (2) : 207 – 212.

31 – Clonal chromosome abnormalities in 54 cases of ovarian carcinoma.

Thompson FH, Emerson J, Alberts D, Liu Y, Guan XY, Burgess A, Fox S, Taetle R, Weinstein R, Makar R. *Cancer genetics and cytogenetics*. 1994 ; 73 (1) : 33 – 45.

32 – Consistent occurrence of a 19p+ marker chromosome and loss of 11p material in ovarian seropapillary cystadenocarcinoma. Pejovic T, Heim S, Mandahl N, Elmfors B, Flod UM, Furgyik S, Helm G, Will H, Mitelman F *Genes, chromosomes & cancer*. 1989 ; 1 (2) : 167 – 171.

33 – Changes in gene expression during progression of ovarian carcinoma. Tapper J, Kettunen E, El-Rifai W, Sepp M, Andersson LC, Knuutila S *Cancer genetics and cytogenetics*. 2001 ; 128 (1) : 1 – 6.

34 – Chromosome 6 abnormalities in ovarian surface epithelial tumors of borderline malignancy suggest continuum in the progression model of ovarian neoplasms.

Tibiletti MG, Bernasconi B, Furlan D, Bressan P, Cerutti R, Facco C, Franchi M, Riva C, Cinquetti R, Capella C, Taramelli R. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2001 ; 7 (11) : 3404 – 3409.

35 – Genetic and cytogenetic observations among different types of ovarian tumors are compatible with a progression model underlying ovarian tumorigenesis.

Tibiletti MG, Bernasconi B, Tadorelli M, Facco C, Riva C, Capella C, Franchi M, Binelli G, Acquati F, Taramelli R. *Cancer genetics and cytogenetics*. 2003 ; 146 (2) : 145-153.

36 – Comparison of comparative genomic hybridization and interphase fluorescence in situ hybridization in ovarian carcinomas: possibilities and limitations of both techniques. Jacobsen A, Arnold N, Weimer J, Kiechle M *Cancer genetics and cytogenetics*. 2000 ; 122 (1) : 7 – 12.

37 – 20q13 and cyclin D1 in ovarian carcinomas. Analysis by fluorescence in situ hybridization.

Diebold J, Msinger K, Peiro G, Pannekamp U, Kaltz C, Baretton GB, Meier W, Lhrs U. *The Journal of pathology*. 2000 ; 190 (5) : 564 – 571.

38 – Frequent amplification of chromosomal region 20q12-q13 in ovarian cancer. Tanner MM, Grenman S, Koul A, Johannsson O, Meltzer P, Pejovic T, Borg A, Isola JJ *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2000 ; 6 (5) : 1833 – 1839.

39 – Frequent loss of heterozygosity and three critical regions on the short arm of chromosome 8 in ovarian adenocarcinomas. Wright K, Wilson PJ, Kerr J, Do K, Hurst T, Khoo SK, Ward B, Chenevix-Trench G. *Oncogene*. 1998 ; 17 (9) : 1185 – 1188.

40 – Recurrent chromosome alterations in primary ovarian carcinoma in Chinese women. Sham JS, Tang TC, Fang Y, Sun L, Qin LX, Wu QL, Xie D, Guan XY *Cancer genetics and cytogenetics*. 2002 ; 133 (1) : 39 – 44.

41 – Genetic alterations in epithelial ovarian tumors analyzed by comparative genomic hybridization.

Hauptmann S, Denkert C, Koch I, Petersen S, Schlens K, Reles A, Dietel M, Petersen I. *Human pathology*. 2002 ; 33 (6) : 632 – 641.

42 – Well-differentiated mucinous carcinoma of the ovary and a coexisting Brenner tumor both exhibit amplification of 12q14-21 by comparative genomic hybridization. Pejovic T, Brki N, Odunsi K, Fiedler P, Achong N, Schwartz PE, Ward DC *Gynecologic oncology*. 1999 ; 74 (1) : 134 – 137.

43 – Comparative genomic hybridization detects genetic imbalances in primary ovarian carcinomas as correlated with grade of differentiation. Kiechle M, Jacobsen A, Schwarz-Boeger U, Hedderich J, Pfisterer J, Arnold N. *Cancer*. 2001 ; 91 (3) : 534-540.

- 44 – Overrepresentation of 3q and 8q material and loss of 18q material are recurrent findings in advanced human ovarian cancer. Arnold N, Hagele L, Walz L, Schempp W, Pfiisterer J, Bauknecht T, Kiechle M. *Genes, chromosomes & cancer*. 1996 ; 16 (1) : 46 – 54.
- 45 – Genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization in ovarian clear cell adenocarcinoma. Suehiro Y, Sakamoto M, Umayahara K, Iwabuchi H, Sakamoto H, Tanaka N, Takeshima N, Yamauchi K, Hasumi K, Akiya T, Sakunaga H, Muroya T, Numa F, Kato H, Tenjin Y, Sugishiita T. *Oncology*. 2000 ; 59 (1) : 50 – 56.
- 46 – Allelotype analysis of common epithelial ovarian cancers with special reference to comparison between clear cell adenocarcinoma with other histological types. Okada S, Tsuda H, Takarabe T, Yoshikawa H, Taketani Y, Hirohashi S *Japanese journal of cancer research: Gann*.2002;93(7):798- 806
- 47 – Isolation of a novel candidate oncogene within a frequently amplified region at 3q26 in ovarian cancer. Guan XY, Sham JS, Tang TC, Fang Y, Huo KK, Yang JM *Cancer research*. 2001 ; 61 (9) : 3806 – 3809.
- 48 – Genetic analysis of benign, low-grade, and high-grade ovarian tumors. Iwabuchi H, Sakamoto M, Sakunaga H, Ma YY, Carcangiu ML, Pinkel D, Yang-Feng TL, Gray JW. *Cancer research*. 1995 ; 55 (24) : 6172 – 6180.
- 49 – Genetic changes in inherited and sporadic ovarian carcinomas by comparative genomic hybridization: extensive similarity except for a difference at chromosome 2q24-q32. Tapper J, Sarantaus L, Vahteristo P, Nevanlinna H, Hemmer S, Sepp M, Knuutila S, Butzow R. *Cancer research*. 1998 ; 58 (13) : 2715 – 2719.
- 50 – Comparative genomic hybridization in inherited and sporadic ovarian tumors in Israel. Patael-Karasik Y, Daniely M, Gotlieb WH, Ben-Baruch G, Schiby J, Barakai G, Goldman B, Aviram A, Friedman E *Cancer genetics and cytogenetics*. 2000 ; 121 (1) : 26 – 32.
- 51 – Comparative genomic hybridization of microdissected familial ovarian carcinoma: two deleted regions on chromosome 15q not previously identified in sporadic ovarian carcinoma. Zweemer RP, Ryan A, Snijders AM, Hermsen MA, Meijer GA, Beller U, Menko FH, Jacobs IJ, Baak JP, Verheijen RH, Kenemans P, van Diest PJ *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2001 ; 81 (10) : 1363 – 1370.
- 52 – Chromosome 11q22.3-q25 LOH in ovarian cancer: association with a more aggressive disease course and involved subregions. Launonen V, Stenb ck F, Puistola U, Bloigu R, Huusko P, Kyt S, Kauppila A, Winqvist R *Gynecologic oncology*. 1998 ; 71 (2) : 299 – 304.
- 53 – Homozygous deletions on the short arm of chromosome 9 in ovarian adenocarcinoma cell lines and loss of heterozygosity in sporadic tumors. Chenevix-Trench G, Kerr J, Friedlander M, Hurst T, Sanderson B, Coglán M, Ward B, Leary J, Khoo SK. *American journal of human genetics*. 1994 ; 55 (1) : 143 – 149.
- 54 – Loss of heterozygosity on chromosome 5q in ovarian cancer is frequently accompanied by TP53 mutation and identifies a tumor suppressor gene locus at 5q13.1-21. Tavassoli M, Steingrimsdottir H, Pierce E, Jiang X, Alagoz M, Farzaneh F, Campbell IG. *British journal of cancer*. 1996; 74(1): 115–19.
- 55 – Analysis of loss of heterozygosity and KRAS2 mutations in ovarian neoplasms: clinicopathological correlations. Chenevix-Trench G, Kerr J, Hurst T, Shih YC, Purdie D, Bergman L, Friedlander M, Sanderson B, Zournazi A, Coombs T, Leary JA, Crawford E, Shelling AN, Cooke I, Ganesan TS, Searle J, Choi C, Barrett JC, Khoo SK, Ward B *Genes, chromosomes & cancer*. 1997 ; 18 (2) : 75 – 83.
- 56 – Loss of heterozygosity at chromosomes 3, 6, 8, 11, 16, and 17 in ovarian cancer: correlation to clinicopathological variables. Launonen V, Mannermaa A, Stenb ck F, Kosma VM, Puistola U, Huusko P, Anttila M, Bloigu R, Saarikoski S, Kauppila A, Winqvist R. *Cancer genetics and cytogenetics*. 2000; 122 (1) : 49 – 54.
- 57 – A one centimorgan deletion unit on chromosome Xq12 is commonly lost in borderline and invasive epithelial ovarian tumors. Edelson MI, Lau CC, Colitti CV, Welch WR, Bell DA, Berkowitz RS, Mok SC. *Oncogene*. 1998 ; 16 (2) : 197 – 202.
- 58 – Suppression of tumorigenicity in human ovarian carcinoma cell line SKOV-3 by microcell-mediated transfer of chromosome 11. Cao Q, Abeyasinghe H, Chow O, Xu J, Kaung H, Fong C, Keng P, Insel RA, Lee WM, Barrett JC, Wang N *Cancer genetics and cytogenetics*.2001; 129 (2) : 131 – 137.
- 59 – Allelic deletion on chromosome 17p13.3 in early ovarian cancer. Phillips NJ, Ziegler MR, Radford DM, Fair KL, Steinbrueck T, Xynos FP, Donis-Keller H *Cancer research*.1996;56(3):606- 611
- 60 – Detection of numerical aberration in chromosome 17 and c-erbB2 gene amplification in epithelial ovarian cancer using recently established dual color FISH. Fukushi Y, Sato S, Yokoyama Y, Kudo K, Maruyama H, Saito Y *European journal of gynaecological oncology*. 2001 ; 22 (1) : 23 – 25.
- 61 – Functional evidence for an ovarian cancer tumor suppressor gene on chromosome 22 by microcell-mediated chromosome transfer. Kruzelock RP, Cuevas BD, Wiener JR, Xu FJ, Yu Y,

Cabeza-Arvelaiz Y, Pershouse M, Lovell MM, Killary AM, Mills GB, Bast RC Jr. *Oncogene*. 2000 ; 19 (54) : 6277 – 6285.

62 – Fine-scale deletion mapping of the distal long arm of chromosome 6 in 70 human ovarian cancers. Saito S, Saito H, Koi S, Sagae S, Kudo R, Saito J, Noda K, Nakamura Y. *Cancer research*. 1992 ; 52 (20) : 5815 – 5817.

63 – NOEY2 (ARHI), an imprinted putative tumor suppressor gene in ovarian and breast carcinomas. Yu Y, Xu F, Peng H, Fang X, Zhao S, Li Y, Cuevas B, Kuo WL, Gray JW, Siciliano M, Mills GB, Bast RC Jr *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999 ; 96 (1) : 214 – 219.

64 – Ovarian carcinoma develops through multiple modes of chromosomal evolution Hglund M, Gisselsson D, Hansen GB, Sll T, Mitelman F *Cancer research*. 2003; 63 (12) : 3378 – 3385.

65 – Mutational spectra of PTEN/MMAC1 gene: a tumor suppressor with lipid phosphatase activity. Ali IU, Schriml LM, Dean M *Journal of the National Cancer Institute*. 1999 ; 91 (22) : 1922 – 1932.

66 – Frequent loss of PTEN expression is linked to elevated phosphorylated AKt levels, but not associated with p27 and cyclin D1 expression, in primary epithelial ovarian carcinomas. Kurose K, Zhou XP, Araki T, Cannistra SA, Maher ER, Eng C *The American journal of pathology*. 2001 ; 158 (6) : 2097 – 2106.

67 – No evidence for microsatellite instability from allelotype analysis of benign and low malignant potential ovarian neoplasms. Shih YC, Kerr J, Hurst TG, Khoo SK, Ward BG, Chenevix-Trench G. *Gynecologic oncology*. 1998 ; 69 (3) : 210 – 213.

68 – Evidence for divergence of DNA copy number changes in serous, mucinous and endometrioid ovarian carcinomas. Tapper J, Btzow R, Wahlstrm T, Sepp M, Knuutila S. *British journal of cancer*. 1997 ; 75 (12) : 1782 – 1787.

69 – Overexpression and mutation of p53 in epithelial ovarian cancer. Marks JR, Davidoff AM, Kerns BJ, Humphrey PA, Pence JC, Dodge RK, Clarke-Pearson DL, Iglehart JD, Bast RC Jr, Berchuck A. *Cancer research*. 1991 ; 51 (11) : 2979 – 2984.

70 – Spectrum of mutation and frequency of allelic deletion of the p53 gene in ovarian cancer. Kohler MF, Marks JR, Wiseman RW, Jacobs IJ, Davidoff AM, Clarke-Pearson DL, Soper JT, Bast RC Jr, Berchuck A *Journal of the National Cancer Institute*. 1993 ; 85 (18) : 1513 – 1519.

71 – p53 mutation in epithelial ovarian carcinoma and borderline ovarian tumor. Lee JH, Kang YS, Park SY, Kim BG, Lee ED, Lee KH, Park KB, Kavanagh JJ, Wharton JT *Cancer genetics and cytogenetics*. 1995 ; 85 (1) : 43 – 50.

72 – p53 gene mutation and protein accumulation in human ovarian cancer. Kupryjaczek J, Thor AD, Beauchamp R, Merritt V, Edgerton SM, Bell DA, Yandell DW *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 1993 ; 90 (11) : 4961 – 4965.

73 – Increased accumulation of p53 protein in cisplatin-resistant ovarian cell lines. Brown R, Clugston C, Burns P, Edlin A, Vasey P, Vojtsek B, Kaye SB *International journal of cancer*. 1993;55(4):678- 684

74 – Prognostic significance of p53 expression in advanced-stage ovarian serous borderline tumors. Gershenson DM, Deavers M, Diaz S, Tortolero-Luna G, Miller BE, Bast RC Jr, Mills GB, Silva EG. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 1999 ; 5 (12) : 4053 – 4058.

75 – Reduced expression of retinoblastoma gene product (pRB) and high expression of p53 are associated with poor prognosis in ovarian cancer. Dong Y, Walsh MD, McGuckin MA, Cummings MC, Gabrielli BG, Wright GR, Hurst T, Khoo SK, Parsons PG *International journal of cancer*. 1997 ; 74 (4) : 407 – 415.

76 – Evidence of functional RB protein in epithelial ovarian carcinomas despite loss of heterozygosity at the RB locus. Dodson MK, Cliby WA, Xu HJ, DeLacey KA, Hu SX, Keeney GL, Li J, Podratz KC, Jenkins RB, Benedict WF *Cancer research*. 1994 ; 54 (3) : 610 – 613.

77 – Identification by cDNA microarray of genes involved in ovarian carcinogenesis. Ono K, Tanaka T, Tsunoda T, Kitahara O, Kihara C, Okamoto A, Ochiai K, Takagi T, Nakamura Y. *Cancer research*. 2000 ; 60 (18) : 5007 – 5011.

78 – A 400 kb novel deletion unit centromeric to the BRCA1 gene in sporadic epithelial ovarian cancer. Tangir J, Muto MG, Berkowitz RS, Welch WR, Bell DA, Mok SC. *Oncogene*. 1996 ; 12 (4) : 735 – 740.

79 – Mutation of K-ras protooncogene is associated with histological subtypes in human mucinous ovarian tumors. Ichikawa Y, Nishida M, Suzuki H, Yoshida S, Tsunoda H, Kubo T, Uchida K, Miwa M. *Cancer research*. 1994 ; 54 (1) : 33 – 35.

80 – Ovarian small cell carcinoma with K-ras mutation: a case report with genetic analysis. Idei Y, Kitazawa S, Fujimori T, Ajiki T, Asaka K, Takeuchi S, Mochizuki M, Chiba T, Maeda S. *Human pathology*. 1996 ; 27 (1) : 77 – 79.

- 81 – Heterogeneous distribution of K-ras-mutated epithelia in mucinous ovarian tumors with special reference to histopathology. Mandai M, Konishi I, Kuroda H, Komatsu T, Yamamoto S, Nanbu K, Matsushita K, Fukumoto M, Yamabe H, Mori T Human pathology. 1998 ; 29 (1) : 34 – 40.
- 82 – Profiling of protein kinases in the neoplastic transformation of human ovarian surface epithelium. Wong AS, Kim SO, Leung PC, Auersperg N, Pelech SL Gynecologic oncology.2001;82(2): 305 – 311.
- 83 – Platelet-derived endothelial cell growth factor predicts of progression and recurrence in primary epithelial ovarian cancer. Watanabe Y, Nakai H, Ueda H, Nozaki K, Hoshiai H, Noda K. Cancer letters. 2003 ; 200 (2) : 173 – 176.
- 84 – Characteristics of EGFR family-mediated HRG signals in human ovarian cancer. Campiglio M, Ali S, Knyazev PG, Ullrich A Journal of cellular biochemistry. 1999; 73 (4) : 522 – 532.
- 85 – c-myc amplification in ovarian cancer. Baker VV, Borst MP, Dixon D, Hatch KD, Shingleton HM, Miller D. Gynecologic oncology. 1990 ; 38 (3) : 340 – 342.
- 86 – C-myc proto-oncogene amplification detected by polymerase chain reaction in archival human ovarian carcinomas. Schreiber G, Dubeau L The American journal of pathology.1990;137(3):653- 658.
- 87 – Immunolocalization of c-myc oncoprotein in mucinous and serous adenocarcinomas of the ovary. Sasano H, Nagura H, Silverberg SG Human pathology. 1992 ; 23 (5) : 491 – 495.
- 88 – C-myc mRNA expression in epithelial ovarian carcinomas in relation to estrogen receptor status, metastatic spread, survival time, FIGO stage, and histologic grade and type. Tanner B, Hengstler JG, Luch A, Meinert R, Kreutz E, Arand M, Wilkens C, Hofmann M, Oesch F, Knapstein PG, Becker R International journal of gynecological pathology. official journal of the Society of Gynecological Pathologists. 1998 ; 17 (1) : 66 – 74.
- 89 – Amplification of C-MYC as the origin of the homogeneous staining region in ovarian carcinoma detected by micro-FISH. Abeyasinghe HR, Cedrone E, Tyan T, Xu J, Wang N. Cancer genetics and cytogenetics. 1999 ; 114 (2) : 136 – 143.
- 90 – AKT2, a member of the protein kinase B family, is activated by growth factors, v-Ha-ras, and v-src through pjosphatidylinositol 3-kinase in human ovarian epithelial cancer cells. Liu AX, Testa JR, Hamilton TC, Jove R, Nicosia SV, Cheng JQ Cancer research. 1998 ; 58 (14) : 2973 – 2977.
- 91 – AKT2, a putative oncogene encoding a member of a subfamily of protein-serine/ threonine kinases, is amplified in human ovarian carcinomas. Cheng JQ, Godwin AK, Bellacosa A, Taguchi T, Franke TF, Hamilton TC, Tschichils PN, Testa JR Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1992 ; 89 (19) : 9267 – 9271.
- 92 – Molecular alterations of the AKT2 oncogene in ovarian and breast carcinomas. Bellacosa A, de Feo D, Godwin AK, Bell DW, Cheng JQ, Altomare DA, Wan M, Dubeau L, Scambia G, Masciullo V, Ferrandina G, Benedetti Panici P, Mancuso S, Neri G, Testa JR International journal of cancer. 1995 ; 64 (4) : 280 – 285.
- 93 – First experience with FGF-3 (INT-2) amplification in women with epithelial ovarian cancer. Rosen A, Sevela P, Klein M, Dobianer K, Hruza C, Czerwenka K, Hanak H, Vavra N, Salzer H, Leodolter S British journal of cancer. 1993 ; 67 (5) : 1122 – 1125.
- 94 – Detection of c-erbB-2 and FGF-3 (INT-2) gene amplification in epithelial ovarian cancer. Seki A, Yoshinouchi M, Seki N, Kodama J, Miyagi Y, Kudo T International journal of oncology. 2000 ; 17 (1) : 103 – 106.
- 95 – Amplification and overexpression of TGIF2, a novel homeobox gene of the TALE superclass, in ovarian cancer cell lines. Imoto I, Pimkhaokham A, Watanabe T, Saito-Ohara F, Soeda E, Inaawa J Biochemical and biophysical research communications. 2000 ; 276 (1) : 264 – 270.
- 96 – Higher human kallikrein gene 4 (KLK4) expression indicates poor prognosis of ovarian cancer patients. Obieu CV, Scorilas A, Katsaros D, Massobrio M, Yousef GM, Fracchioli S, Rigault de la Longrais IA, Arisio R, Diamandis EP Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2001 ; 7 (8) : 2380 – 2386.
- 97 – Inhibin and ovarian cancer. Burger HG, Baillie A, Drummond AE, Healy DL, Jobling T, Marners P, Robertson DM, Susil B, Cahir N, Shen Y, Verity K, Fuller PJ, Groome NP, Findlay JK Journal of reproductive immunology. 1998 ; 39 (1 – 2) : 77 – 87.
- 98 – Inhibin subunit gene expression in ovarian cancer. Fuller PJ, Chu S, Jobling T, Marners P, Healy DL, Burger HG. Gynecologic oncology. 1999 ; 73 (2) : 273 – 279.
- 99 – Overexpression of p53, EGFR, c-erbB2 and c-erbB3 in endometrioid carcinoma of the ovary. Leng J, Lang J, Shen K, Guo L. Chinese medical sciences journal/ Chinese Academy of Medical Sciences. 1997 ; 12 (2) : 67 – 70.
- 100 – Genetic analysis of early-versus late-stage ovarian tumors. Shridhar V, Lee J, Pandita A, Iturria S, Avula R, Staub J, Morrissey M, Calhoun E, Sen A, Kalli K, Keeney G, Roche P, Cliby W, Lu K, Schmandt R, Mills GB, Bast RC Jr, James CD, Couch FJ, Hartmann LC, Lillie J, Smith DI. Cancer research. 2001 ; 61 (15) : 5895 – 5904.

- 101 – Human Body, An Introduction to Structure and Function. The Reproductive Organs. Female Reproductive Organs. Adolf F, M.D., Michael S, M.D., Ph.D., Gabriele S, M.Sc. et al. Thieme. Stuttgart. New York, 2004, pp 485 – 493.
- 102 – Histogenesis and organogenesis of the gonad in human embryos. Satoh M. J Anat 1991; 177: 85 – 107.
- 103 – Immunohistochemical detection of the Wilms' tumor gene (WT1) in epithelial ovarian tumors. Shimizu M, Toki T, Takagi Y, Konishi I, Fujii S. Int J Gynecol Pathol 2000; 19: 158 – 163.
- 104 – Expression of calretinin in human ovary, testis, and ovarian sex cord-stromal tumors. Cao QJ, Jones JG, Li M. Int J Gynecol Pathol 2001; 20: 346 – 352.
- 105 – Immunohistochemical profile of ovarian inclusion cysts in patients with and without ovarian carcinoma. Mittal KR, Goswami S, Demopoulos RI. Histochem J 1995; 27: 119 – 122.
- 106 – Increased E-cadherin expression in ovarian surface epithelium: an early step in metaplasia and dysplasia? Maines-Bandiera SL, Auersperg N. Int J Gynecol Pathol 1997; 16: 250 – 255.
- 107 – E-cadherin expression in human epithelial ovarian cancer and normal ovary. Sundfeldt K, Piontekewitz Y, Ivarsson K, et al. Int J Cancer 1997; 74: 275 – 280.
- 108 – Morphological changes of the ovarian surface epithelium in ovarian polycystic disease or endometrial carcinoma and a control group. Resta L, Scordari MD, Colucci GA, et al. Eur J Gynecol Oncol 1989; 10: 39 – 41.
- 109 – Immunohistochemical analysis for desmin in normal and neoplastic ovarian stromal tissue. Lastarria D, Sachdev RK, Babury RA, Yu HM, Nuovo GJ. Arch Pathol Lab Med 1990; 114:502 – 505.
- 110 – Mullerian inhibiting substance, alpha-inhibin, and CD99 expression in sex cord-stromal tumors and endometrioid ovarian carcinomas resembling sex cord-stromal tumors. Matias-Guiu X, Pons C, Part J. Hum Pathol 1998; 29: 840-845.
- 111 – CD10 expression in sex cord-stromal tumors and steroid cell tumors of the ovary. Oliva E, Vu Q, Young RH. Mod Pathol 2002; 15: 204A.
- 112 – Subcapsular adipocytic infiltration of the human ovary: a clinicopathological study of eight cases. Honor LH, O'Hara KE. Eur J Obstet Gynaecol Reprod Biol 1980; 10: 13 – 20.
- 113 – Ultrastructural and histochemical observations of neuroendocrine granules in nonneoplastic ovaries. Hidvegi D, Cibils LA, Sorensen K, Hidvegi I. Am J Obstet Gynecol 1982; 143: 590-594.
- 114 – An immunohistochemical study of the rete ovarii and epoophoron. Woolnough E, Russo L, Khan MS, Heatley MK. Pathology 2000; 32: 77-83.
- 115 – [www.info.com/AssessmentCancerRisk](http://www.info.com/AssessmentCancerRisk).
- 116 – [www.academic.kellogg.cc.mi.us/herbrandsonc/bio201](http://www.academic.kellogg.cc.mi.us/herbrandsonc/bio201).
- 117 – P53 protein expression in putative precursor lesions of epithelioid ovarian cancer. Hutson R, Ramsdale J, Wells M. Histopathology 1995; 27: 367 – 371.
- 118 – Development of the ovary and oogenesis . Baker TG, Sum W. Clin Obstet Gynaecol 1976;3:3- 26
- 119 – Etude histologique de la gonade a differenciation ovarienne au cours de l'organogenese . Hoang-Ngoc M, Smadja A, Herve De Sigalony JP, Orcel L. Arch Anat Cytol Pathol 1989 , 37 : 201 – 207 .
- 120 – Ultrastructural observations on germ cells in human fetal ovaries . Gondos B, Bhiraless P, Hobel CJ. Am J Obstet Gynecol 1971 , 110 : 644 – 652 .
- 121 – Cellular interrelationships in the human fetal ovary and testis . Gondos B . In : Federoff S, ed. Prog Clin Biol Res. Volume 59B. Eleventh International Congress of Anatomy : Advances in the Morphology of Cells and Tissues . New York : Alan R. Liss Inc , 1981 , 373 – 381 .
- 122 – Development of interstitial cells and ovigerous cords in the human fetal ovary, an ultrastructural study. Konishi I, Fujii S, Okamura H, Parmley T, Mori T. J Anat 1986, 148: 121 – 135 .
- 123 – Surface epithelium of the developing ovary. Possible correlation with ovarian neoplasia. Gondos B. Am J Pathol 1975, 81: 303 – 321 .
- 124 – Development and regulation of growth and differentiated function in human and subhuman primate fetal gonads. Rabinovici J, Jaffe RB. Endocr Rev 1990, 11: 532-557 .
- 125 – Embryology of the Ovary and Testis in Homo Sapiens and Macaca Mulatta. Van Wagenen G, Simpson ME. New Haven: Yale University Press, 1965 .
- 126 – Electron microscopic study of the gonadal development in early human embryos. Fukuda O, Miyayama Y, Fujimoto T, et al. Prog Clin Biol Res 1989, 296: 23 – 29 .
- 127 – Development of the human ovary, a study using histochemical techniques. Pinkerton JH, McKay DG, Adams EC, Hertig AT. Obstet Gynecol 1961, 18: 152-181.
- 128 – The development of the sex cords in the gonads of man and mammals. Gruenwald P. Am J Anat 1942, 70: 359 – 389.
- 129 – Development of the genital system in human embryos and fetuses. Jirasek JE. In: Jirasek J. Development of the Genital System and Male Pseudohermaphroditism. Baltimore: Johns Hopkins Press, 1971: 3 – 41.

- 130 – Differentiation of mammalian embryonic gonad. Byskov AG. *Physiol Rev* 1986, 66: 71 – 117 .
- 131 – The influence of the mesonephric blastema on gonadal development and sexual differentiation. Wartenberg H. In: Byskov AG, Peters H, eds. *Development and Function of Reproductive Organs*. Amsterdam-Oxford-Princeton: Excerpta Medica, 1981: 3 – 12.
- 132 – Development of the early human ovary and role of the mesonephros in the differentiation of the cortex. Wartenberg H. *Anat Embryol (Berl)* 1982, 165: 253-280.
- 133 – Morphological changes in the human ovary throughout life. Nicosia SV. In: Serra GB, ed. *The Ovary*. New York: Raven Press, 1983: 57 – 81.
- 134 – The development, structure and function of the female pelvic organs in childhood. Pryse-Davies J. *Clin Obstet Gynaecol* 1974, 1: 483 – 508.
- 135 – The normal ovary of childhood. Valdes-Dapena MA. *Ann N Y Acad Sci* 1967, 142: 597 – 613.
- 136 – The morphology of the prepubertal ovary: relationship to the polycystic ovary syndrome. Merrill JA. *South Med J* 1963, 56: 225 – 231.
- 137 – Ovarian volume related to age. Pavlik EJ, Depriest PD, Gallion HH, et al. *Gynecol Oncol* 2000, 77: 410 – 412.
- 138 – Structural variations in the adult ovary. Clinical significance. Boss JH, Scully RE, Wegner KH, Cohen RB. *Obstet Gynecol* 1965, 25: 747 – 764.
- 139 – Surface cells of the ovary and pelvic peritoneum: a histochemical and ultrastructural comparison. Blaustein A, Lee H. *Gynecol Oncol* 1979, 8: 34-43.
- 140 – The adult human ovary: a histochemical study. McKay DG, Pinkerton JH, Hertig AT, Danzinger S. *Obstet Gynecol* 1961, 18: 13 – 39.
- 141 – Intermediate filaments cytokeratin and vimentin in ovarian sex cord-stromal tumors with correlative studies in adult and fetal ovaries. Benjamin E, Law S, Bobrow LG. *J Pathol* 1987, 152: 253 – 263.
- 142 – Steroid receptors and Ki-67 reactivity in ovarian cancer and in normal ovary: correlation with DNA flow cytometry, biochemical receptor assay, and patient survival. Isola J, Kallioniemi OP, Korte JM, et al. *J Pathol* 1990, 162: 295-301.
- 143 – Ber-EP4: new monoclonal antibody which distinguishes epithelia from mesothelial. Latza U, Niedobitek G, Schwarting R, Nekarda H, Stein H. *J Clin Pathol* 1990, 43: 213 – 219.
- 144 – Expression and localization of integrins and their ligand vitronectin in normal ovarian epithelium and in ovarian carcinoma. Carreiras F, Denoux Y, Staedel C, Sichel F, Gauduchon P. *Gynecol Oncol* 1996, 62: 260 – 267.
- 145 – Follicle-stimulating hormone receptor is expressed in human ovarian surface epithelium and fallopian tube. Zheng W, Magid MS, Kramer EE, Chen YT. *Am J Pathol* 1996, 148: 47 – 53.
- 146 – Expression of E-cadherin and catenin in normal ovarian surface epithelium and epithelial ovarian cancers. Davies BR, Worsley SD, Ponder BA. *Histopathology* 1998, 32: 69 – 80.
- 147 – Surface cells and inclusion cysts in fetal ovaries. Blaustein A. *Gynecol Oncol* 198,12: 222 – 233.
- 148 – Inclusions in ovaries of females aged day 1 – 30 years. Blaustein A, Kantius M, Kaganowicz A, Perez N, Wells J. *Int J Gynecol Pathol* 1982, 1: 145 – 153.
- 149 – Endosalpingiosis in the omentum: a study of autopsy and surgical material. Zinsser KR, Wheeler JE. *Am J Surg Pathol* 1982, 6: 109 – 117.
- 150 – A survey of epithelial inclusions in the ovarian cortex of 470 patients. Mulligan RM. *J Surg Oncol* 1976, 8: 61 – 66.
- 151 – Observations on metaplastic changes in the germinal epithelium of the ovary and on the aetiology of ovarian endometriosis. Von Numers C. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1965, 44: 107-116.
- 152 – Contralateral ovary in unilateral ovarian carcinoma: a search for preneoplastic lesions. Mittal KR, Zeleniuch-Jacquotte A, Cooper JL, Demopoulos RI. *Int J Gynecol Pathol* 1993, 12: 59-63.
- 153 – Tumor markers in inclusion cysts of the ovary. Blaustein A, Kaganowicz A, Wells J. *Cancer* 1982, 49: 722-726.
- 154 – Tumor markers in the human ovary and its neoplasms. A comparative immunohistochemical study. Nouwen EJ, Hendrix PG, Dauwe S, Eerdekens MW, De Broe ME. *Am J Pathol* 198,126:230-242
- 155 – Brenner tumors and Walthard cell nests. Bransilver BR, Ferenczy A, Richart RM. *Arch Pathol* 1974, 98: 76-86.
- 156 – The Brenner tumor and the Walthard cell nest. An electron microscopic study. Roth LM. *Lab Invest* 1974, 31: 15 – 23.
- 157 – The fine structure of the surface epithelium of the human ovary. Papadaki L, Beilby JO. *J Cell Sci* 1971, 8: 445-465.
- 158 – Female Reproductive System: Dynamics of Scan and Transmission Electron Microscopy. Ferenczy A, Richart RM. New York: John Wiley & Sons, 1974.

- 159 – Peritoneal mesothelium and ovarian surface cells shared characteristics. Blaustein A. *Int J Gynecol Pathol* 1984, 3: 361-375.
- 160 – International Histological Classification of Tumors: Histological Typing of Ovarian Tumors. Scully RE. 2<sup>nd</sup> edition. Heidelberg: Springer-Verlag, 1998.
- 161 – Standardized histologic grading of epithelial ovarian cancer: elusive after all these years. Silva EG, Gershenson DM. *Gynecol Oncol* 1998, 70: 1.
- 162 – Histopathologic grading of ovarian carcinoma: a review and proposal. Silverberg SG. *Int J Gynecol Pathol* 2000, 19: 7 – 15.
- 163 – Toward the development of a universal grading system for ovarian epithelial carcinoma: testing of a proposed system in a series of 461 patients with uniform treatment and follow-up. Shimizu Y, Kamoi S, Amada S, et al. *Cancer* 1998, 82: 893-901.
- 164 – Grading of ovarian carcinomas. Mayr D, Diebold J. *Int J Gynecol Pathol* 2000, 19: 348-353.
- 165 – Prognostic value of histologic grading of ovarian carcinomas. Sato Y, Shimamoto T, Amada S, et al. *Int J Gynecol Pathol* 2003, 22: 52-56.
- 166 – Comparison of the usefulness between a new universal grading system for epithelial ovarian cancer and the FIGO staging system. Ishioka S, Sagae S, Terasawa K, et al. *Gynecol Oncol* 2003, 89: 447-452.
- 167 – Clinical behavior of stage II-IV low-grade serous carcinoma of the ovary. Gershenson DM, Sun CC, Lu KH, et al. *Obstet Gynecol* 2006, 108: 361-368.
- 168 – Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system. Malpica A, Deavers MT, Lu K, et al. *Am J Surg Pathol* 2004, 28: 496-504.
- 169 – Pathology of ovarian cancer precursors. Scully RE. *J Cell Biochem* 1995, 23: 208- 218.
- 170 – The Pathology of Incipient Neoplasia. Bell DA, Scully RE. Ovary. In Henson DE, Albores-Saavedra J, eds. 3<sup>rd</sup> edition. Philadelphia: WB Saunders, 1993: 419-440.
- 171 – Ovarian serous neoplasms of low malignant potential associated with focal areas of serous carcinoma. Silva EG, Tornos CS, Malpica A, et al. *Mod Pathol* 1997, 10: 663-667.
- 172 – Toward understanding the natural history of ovarian carcinoma development: a clinicopathological approach. Horiuchi A, Itoh K, Shimizu M, et al. *Gynecol Oncol* 2003, 88: 309-317.
- 173 – Noninvasive and invasive micropapillary (low-grade) serous carcinoma of the ovary: a clinicopathologic analysis of 135 cases. Smith Sehdev AE, Sehdev PS, Kurman RJ. *Am J Surg Pathol* 2003, 27: 725-736.
- 174 – Pathologic findings in eight cases of ovarian serous borderline tumors, three with foci of serous carcinoma, that preceded death or morbidity from invasive carcinoma. Lee KR, Castrillon DH, Nucci MR. *Int J Gynecol Pathol* 2001, 20: 329-334.
- 175 – The development of high-grade serous carcinoma from atypical proliferative (borderline) serous tumors and low-grade micropapillary serous carcinoma. A morphologic and molecular genetic analysis. Dehari R, Kurman RJ, Logani S, et al. *Am J Surg Pathol* 2007, 31: 1007-1012.
- 176 – An immunohistochemical comparison between low-grade and high-grade ovarian serous carcinomas. O'Neill CJ, Deavers MT, Malpica A, et al. *Am J Surg Pathol* 2005, 29: 1034-1041.
- 177 – Diverse tumorigenic pathways in ovarian serous carcinoma. Singer G, Kurman RJ, Chang HW, et al. *Am J Pathol* 2002, 160: 1223-1228.
- 178 – Mutational analysis of k-ras segregates ovarian serous carcinomas into two types: invasive mpsc (low-grade tumor) and conventional serous carcinoma (high-grade tumor). Singer G, Shih IM, Truskinovsky A, et al. *Int J Gynecol Pathol* 2003, 22: 37-41.
- 179 – Mutations in BRAF and KRAS characterize the development of low-grade ovarian serous carcinoma. Singer G, Oldt R III, Cohen Y, et al. *JNCI* 2003, 95: 484-486.
- 180 – Patterns of p53 mutations separate ovarian serous border-line tumors and low- and high-grade carcinomas and provide support for a new model of ovarian carcinogenesis. Singer G, Stohr R, Cope L, et al. *Am J Surg Pathol* 2005, 29: 218-224.
- 181 – Ovarian mixed-epithelial carcinomas with a microcystic pattern and signet-ring cells. Che M, Tornos C, Deavers MT, et al. *Int J Gynecol Pathol* 2001, 20: 323-328.
- 182 – Papillary serous carcinoma of the ovary with squamous differentiation. Ulbright TM, Roth LM, Sutton GP. *Int J Gynecol Pathol* 1990, 9: 86-94.
- 183 – Low-grade serous carcinoma of the ovary displaying a macropapillary pattern of invasion. Yemelyanova A, Mao T, Nakayma N, et al. *Am J Surg Pathol* 2008, 32: 1800-1806.
- 184 – Serous psammocarcinoma of the ovary and peritoneum. Gilks CB, Bell DA, Scully RE. *Int J Gynecol Pathol* 1990, 9: 110-121.
- 185 – Mucinous tumors of the ovary with argyrophil cells: an immunohistochemical analysis. Aguirre P, Scully RE, Dayal Y, et al. *Am J Surg Pathol* 1984, 8: 345-356.

- 186 – Ovarian mucinous tumors frequently express markers of gastric, intestinal, and pancreatobiliary epithelial cells. Tenti P, Aguzzi A, Riva C, et al. *Cancer* 1992, 69: 2131-2142.
- 187 – On the site of origin of epithelial tumors of the ovary. Karseladze AI. *Eur J Gynecol Oncol* 2001, 22: 110-115.
- 188 – Ovarian mucinous cystadenocarcinoma as a cause of Zollinger-Ellison syndrome: report of a case and review of the literature. Hirasawa K, Yamada M, Kitagawa M, et al. *Am J Gastroenterol* 2000, 95: 1348-1351.
- 189 – Mucinous tumors of the ovary: a clinicopathologic study of 196 border-line tumors (of intestinal type) and carcinomas, including an evaluation of 11 cases with "pseudomyxoma peritonei". Lee KR, Scully RE. *Am J Surg Pathol* 2000, 24: 1447-1464.
- 190 – Mucinous borderline and malignant tumors of the ovary: a clinicopathologic and DNA ploidy study of 92 cases. Guerrieri C, Hogberg T, Wingren S, et al. *Cancer* 1994, 74: 2329-2340.
- 191 – Evaluation of diagnostic criteria and behavior of ovarian intestinal-type mucinous tumors: atypical proliferative (borderline) tumors and intraepithelial, microinvasive, invasive, and metastatic carcinomas. Riopel MA, Ronnett BM, Kurman RJ. *Am J Surg Pathol* 1999, 23: 617-635.
- 192 – Mucinous tumors of the ovary: a clinicopathologic analysis of 75 borderline tumors (of intestinal type) and carcinomas. Rodriguez IM, Prat J. *Am J Surg Pathol* 2002, 26: 139-152.
- 193 – Primary ovarian mucinous cystadenocarcinomas: a clinicopathologic study of 49 cases with long-term follow-up. Hoerl HD, Hart WR. *Am J Surg Pathol* 1998, 22: 1449-1462.
- 194 – Noninvasive, microinvasive, and invasive mucinous carcinomas of the ovary. A clinicopathological analysis of 40 cases. Nomura K, Aizawa S. *Cancer* 2000, 89: 1541-1546.
- 195 – Mucinous carcinoma of the ovary. Pathologic prognostic factors. Watkin W, Silva EG, Gershenson DM. *Cancer* 1992, 69: 208-212.
- 196 – Aggressive behavior of stage I ovarian mucinous tumors lacking extensive infiltrative invasion: a report of four cases and review of the literature. Ludwick C, Gilks CB, Miller D, et al. *Int J Gynecol Pathol* 2005, 24: 205-217.
- 197 – The distinction between primary and metastatic mucinous carcinomas of the ovary. Gross and histologic findings in 50 cases. Lee KR, Young RH. *Am J Surg Pathol* 2003, 27: 281-292.
- 198 – Ovarian mucinous and mixed epithelial carcinomas of mullerian (endocervical-like) type: a clinicopathologic analysis of 4 cases of an uncommon variant associated with endometriosis. Lee KR, Nucci MR. *Int J Gynecol Pathol* 2003, 22: 42-51.
- 199 – Unusual cystadenofibromas: endometrioid, mucinous, and clear cell types. Kao GF, Norris HJ. *Obstet Gynecol* 1979, 54: 729-736.
- 200 – Atypical and borderline endometrioid adenofibromas of the ovary: a report of 27 cases. Bell DA, Scully RE. *Am J Surg Pathol* 1985, 9: 205-214.
- 201 – A clinicopathologic analysis of atypical proliferative (borderline) tumors and well-differentiated endometrioid adenocarcinomas of the ovary. Bell KA, Kurman RJ. *Am J Surg Pathol* 2000, 24: 1465-1479.
- 202 – Endometrioid proliferative and low malignant potential tumors of the ovary: a clinicopathologic study of 46 cases. Snyder RR, Norris HJ, Tavassoli F. *Am J Surg Pathol* 1988, 12: 661-671.
- 203 – Endometrioid carcinoma of the ovary: retrospective review of 145 cases. Kline RC, Wharton JT, Atkinson EN, et al. *Gynecol Oncol* 1990, 39: 337-346.
- 204 – Endometrioid and clear cell carcinoma of the ovary. Kurman RJ, Craig JM. *Cancer* 1972, 29: 1653-1664.
- 205 – Ovarian endometrioid adenofibromatous and cystadenofibromatous tumors: benign, proliferating, and malignant. Roth LM, Czernobilsky B, Langley FA. *Cancer* 1981, 48: 1838-1845.
- 206 – Significance of squamous components in endometrioid carcinoma of the ovary. Fu YS, Stock RJ, Reagan JW, et al. *Cancer* 1979, 44: 614-621.
- 207 – Endometrioid carcinoma of the ovary with a prominent spindle-cell component, a source of diagnostic confusion: a report of 14 cases. Tornos C, Silva EG, Ordonez NG, et al. *Am J Surg Pathol* 1995, 19: 1343-1353.
- 208 – Endometrioid ciliated cell tumors of the ovary: a report of five cases. Eichhorn JH, Scully RE. *Int J Gynecol Pathol* 1996, 15: 248-256.
- 209 – Endometrioid carcinoma of the ovary and endometrium, oxyphilic cell type: a report of nine cases. Pitman MB, Young RH, Clement PB, et al. *Int J Gynecol Pathol* 1994, 13: 290-301.
- 210 – Ovarian endometrioid tumors with yolk sac component, an unusual form of ovarian neoplasm: analysis of six cases. Nogales FF, Bergeron C, Carvia RE, et al. *Am J Surg Pathol* 1996, 20: 1056-1066.
- 211 – Ovarian endometrioid carcinomas resembling sex cord-stromal tumors: an immunohistochemical study. Aguirre P, Thor AD, Scully RE. *Int J Gynecol Pathol* 1989, 8: 364-373.
- 212 – Ovarian endometrioid carcinomas simulating sex cord-stromal tumors: a study using inhibin and cytokeratin 7. Guerrieri C, Franlund B, Malmstrom H, et al. *Int J Gynecol Pathol* 1998, 17: 266-271.

- 213 – Sertoliform endometrioid carcinomas of the ovary: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 13 cases.  
Ordi J, Schammel DP, Rasekh L, et al. *Mod Pathol* 1999, 12: 933-940.
- 214 – Ovarian endometrioid carcinomas resembling sex cord-stromal tumors: a clinicopathological analysis of 13 cases. Young RH, Prat J, Scully RE. *Am J Surg Pathol* 1982, 6: 513-522.
- 215 – Endometrioid neoplasms with clear cells. A report of 21 cases in which the alteration is not of typical secretory type. Silva EG, Young RH. *Am J Surg Pathol* 2007, 31: 1203-1208.
- 216 – Ovarian yolk sac tumor arising from an endometrioid carcinoma.  
Rutgers JL, Young RH, Scully RE. *Hum Pathol* 1987, 18: 1296-1299.
- 217 – Prognostic favors in ovarian carcinosarcoma: a clinicopathological and immunohistochemical analysis of 23 cases. Ariyoshi K, Kawauchi S, Kaku T, et al. *Histopathology* 2000, 37: 427-436.
- 218 – Survival of women diagnosed with malignant mixed mullerian tumors of the ovary. Barnholtz-Sloan JS, Morris R, Malone JM Jr, et al. *Gynecol Oncol* 2004, 93: 506-512.
- 219 – Carcinosarcoma of the ovary. 19 years of prospective data from a single center. Brown E, Stewart M, Rye T, et al. *Cancer* 2004, 100: 2148-2153.
- 220 – Carcinosarcoma (malignant mixed mullerian [mesodermal] tumor) of the female genital tract: immunohistochemical and ultrastructural analysis of 28 cases. DeBrito PA, Silverberg SG, Orenstein JM. *Hum Pathol* 1993, 24: 132-142.
- 221 – Carcinosarcoma of the ovary. Harris MA, Delap LM, Sengupta PS, et al. *Br J Cancer* 2003, 88: 654-657.
- 222 – Malignant mullerian mixed tumor arising from ovarian serous carcinoma: a clinicopathologic and molecular study of two cases.  
Gallardo A, Matias-Guiu X, Lagarda H, et al. *Int J Gynecol Pathol* 2002, 21: 268-272.
- 223 – Primary malignant mesodermal ovarian sarcomas. Gari A, Souhami L, Arseneau J, et al. *Int J Gynecol Cancer* 2006, 16: 106-109.
- 224 – Carcinosarcoma of the ovary – a case series. Rutledge TL, Gold MA, McMeekin DS, et al. *Gynecol Oncol* 2006, 100: 128-132.
- 225 – Mesodermal (mullerian) adenosarcoma of the ovary: a clinicopathologic analysis of 40 cases and a review of the literature. Eichhorn JH, Young RH, Clement PB, et al. *Am J Surg Pathol* 2002, 26: 1243-1258.
- 226 – Primary extrauterine endometrial stromal neoplasms: a clinicopathological study of 20 cases and a review of the literature. Chang KL, Crabtree GS, Lim-Tan SK, et al. *Int J Gynecol Pathol* 1993, 12: 282-286.
- 227 – Endometrioid stromal sarcomas of the ovary. A clinicopathologic analysis of 23 cases. Young RH, Prat J, Scully RE. *Cancer* 1984, 53: 1143-1155.
- 228 – Clear cell carcinoma of the ovary: a study of 59 cases. Crozier MA, Copeland LJ, Silva EG, et al. *Gynecol Oncol* 1989, 35: 199-203.
- 229 – Ovarian clear cell carcinoma: a clinicopathologic analysis of 44 cases. Montag AG, Jenison EL, Griffiths CT, et al. *Int J Gynecol Pathol* 1989, 8: 85-96.
- 230 – Ovarian clear cell adenocarcinoma. Kennedy AW, Biscotti CV, Hart WR, et al. *Gynecol Oncol* 1989, 32: 342-349.
- 231 – Clear cell carcinoma of the ovary: a clinicopathologic analysis of 34 cases. Imachi M, Tsukamoto N, Shimamoto T, et al. *Int J Gynecol Cancer* 1991, 1: 113-119.
- 232 – Survival probability in ovarian clear cell adenocarcinoma. Kennedy AW, Markman M, Biscotti CV, et al. *Gynecol Oncol* 1999, 74: 108-114.
- 233 – Ovarian clear cell carcinoma with papillary features: a potential mimic of serous tumor of low malignant potential. Sangoi AR, Soslow RA, Teng NN, et al. *Am J Surg Pathol* 2008, 32(2): 269-274.
- 234 – Clinical and biological characteristics of clear cell carcinomas of the ovary in FIGO stages I-II. Skirnisdottir S, Seidal T, Karlsson MG, et al. *Int J Oncol* 2005, 26: 177-183.
- 235 – Clear cell adenocarcinoma associated with clear cell adenofibromatous components: a subgroup of ovarian clear cell adenocarcinoma with distinct clinicopathological characteristics.  
Yamamoto S, Tsuda H, Yoshikawa T, et al. *Am J Surg Pathol* 2007, 31: 999-1006.
- 236 – Benign and borderline clear cell adenofibromas of the ovary. Bell DA, Scully RE. *Cancer* 1985, 56: 2922-2931.
- 237 – Ovarian clear cell adenofibromatous tumors: benign, of low malignant potential, and associated with invasive clear cell carcinoma. Roth LM, Langley FA, Fox H, et al. *Cancer* 1984, 53: 1156-1163.
- 238 – Oxyphilic clear cell carcinoma of the ovary: a report of nine cases.  
Young RH, Scully RE. *Am J Surg Pathol* 1987, 11: 661-667.
- 239 – Clear cell (mesonephroid) tumors of the ovary with characteristics resembling endodermal sinus tumor. Kleini PJ, Meurman L, Gronroos M, et al. *Int J Gynecol Pathol* 1982, 1: 95-100.

- 240 – Malignant Brenner tumor and transitional cell carcinoma of the ovary: a comparison. Austin JP, Norris HJ. *Int J Gynecol Pathol* 1987, 6: 29-39.
- 241 – The Brenner tumor: a clinicopathologic study of 57 cases. Ehrlich CE, Roth LM. *Cancer* 1971, 27: 332-342.
- 242 – The Brenner tumor of the ovary: a clinicopathological study of 54 cases. Fox H, Agrawal K, Langley FA. *J Obstet Gynecol Br Commonw* 1972, 79: 661-665.
- 243 – Brenner tumor of the ovary: a clinicopathologic study of 60 tumors in 54 women. Silverberg SG. *Cancer* 1971, 28: 588-596.
- 244 – Brenner tumors of the ovary: a study of the histology, immunohistochemistry and cellular DNA content in benign, borderline and malignant ovarian tumors. Trebeck CE, Friedlander ML, Russell P, et al. *Pathology* 1987, 19: 241-246.
- 245 – Borderline and malignant Brenner tumors of the ovary: a report of 15 cases. Hallgrimsson J, Scully RE. *Acta Pathol Microbiol Scand [A]* 1972, 233: 56-66.
- 246 – Proliferative and malignant Brenner tumors of the ovary. Miles PA, Norris HJ. *Cancer* 1972, 30: 174-186.
- 247 – Ovarian Brenner tumors. Roth LM, Czernobilsky B. *Cancer* 1985, 56: 582-601.
- 248 – Proliferating Brenner tumors. Roth LM, Sternberg WH. *Cancer* 1971, 27: 687-693.
- 249 – Brenner tumor of the ovary with striking microcystic change. Baker PM, Young RH. *Int J Gynecol Pathol* 2003, 22: 185-188.
- 250 – Transitional cell carcinoma of the ovary: a matched control study of advanced-stage patients treated with cisplatin-based chemotherapy. Gershenson DM, Silva EG, Mitchell MF, et al. *Am J Obstet Gynecol* 1993, 168: 1178-1185.
- 251 – Advanced stage transitional cell carcinoma of the ovary. Hollingsworth HC, Steinberg SM, Silverberg SG, et al. *Hum Pathol* 1996, 27: 1267-1272.
- 252 – Transitional cell carcinoma in high-grade high-stage ovarian carcinoma: an indicator of favorable response to chemotherapy. Robey SS, Silva EG, Gershenson DM, et al. *Cancer* 1989, 63: 839-847.
- 253 – Transitional cell carcinoma of the ovary. A morphologic study with emphasis on differential diagnosis. Eichhorn JH, Young RH. *Am J Surg Pathol* 2004, 28: 453-463.
- 254 – Ovarian carcinomas with transitional cell carcinoma pattern. Silva EG, Robey-Cafferty SS, Smith TL, et al. *Am J Clin Pathol* 1990, 93: 457-465.
- 255 – Clinicopathologic significance of transitional cell carcinoma pattern in nonlocalized ovarian epithelial tumors (stages 2-4). Costa MJ, Hansen C, Dickerman A, et al. *Am J Clin Pathol* 1998, 109: 173-180.
- 256 – Survival benefit for patients with advanced-stage transitional cell carcinomas vs. other subtypes of ovarian carcinoma after chemotherapy with platinum and paclitaxel. Kommoss F, Kommoss S, Schmidt D, et al. *Gynecol Oncol* 2005, 97: 195-199.
- 257 – Ovarian epidermoid cyst: report of eight cases. Fan LD, Zang HY, Zhang XS. *Int J Gynecol Pathol* 1996, 15: 69-71.
- 258 – Epidermoid cyst of the ovary: a report of three cases with comments on histogenesis. Young RH, Prat J, Scully RE. *Am J Clin Pathol* 1980, 73: 272-276.
- 259 – Clinicopathologic study of squamous cell carcinoma of the ovary. Kashimura M, Shinohara M, Hirakawa T, et al. *Gynecol Oncol* 1989, 34: 75-79.
- 260 – Bilateral primary ovarian squamous cell carcinoma associated with human papilloma virus infection and vulvar and cervical intraepithelial neoplasia: a case report with review of the literature. Mai KT, Yazdi HM, Bertrand MA, et al. *Am J Surg Pathol* 1996, 20: 767-772.
- 261 – Primary squamous cell carcinoma of the ovary: report of 37 cases. Pins MR, Young RH, Daly WJ, et al. *Am J Surg Pathol* 1996, 20: 823-833.
- 262 – Squamous intraepithelial neoplasia in an ovarian cyst, cervical intraepithelial neoplasia, and human papillomavirus. Sworn MJ, Jones H, Letchworth AT, et al. *Hum Pathol* 1995, 26: 344-347.
- 263 – Ovarian mixed-epithelial papillary cystadenomas of borderline malignancy of mullerian type: a clinicopathologic analysis. Rutgers JL, Scully RE. *Cancer* 1988, 61: 546-554.
- 264 – Squamous predominance in mixed-epithelial papillary cystadenomas of borderline malignancy of mullerian type arising in endometriotic cysts. Naagai Y, Kishimoto T, Nikaido T, et al. *Am J Surg Pathol* 2003, 27: 242-247.
- 265 – High-stage endometrioid carcinoma of the ovary: prognostic significance of pure versus mixed histologic types. Tornos C, Silva EG, Khorana SM, et al. *Am J Surg Pathol* 1994, 18: 687-693.
- 266 – Association of low-grade endometrioid carcinoma of the uterus and ovary with undifferentiated carcinoma: a new type of dedifferentiated carcinoma? Silva EG, Deavers MT, Bodurka DC, et al. *Int J Gynecol Pathol* 2006, 25: 52-58.

- 267 – Undifferentiated carcinoma of the ovary. Silva EG, Tornos C, Bailey MA, et al. *Arch Pathol Lab Med* 1991, 115: 377-381.
- 268 – Small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type: a clinicopathological analysis of 150 cases. Young RH, Oliva E, Scully RE. *Am J Surg Pathol* 1994, 18: 1102-1116.
- 269 – Primary ovarian small cell carcinoma of pulmonary type: a clinicopathologic, immunohistologic, and flow cytometric analysis of 11 cases. Eichhorn JH, Young RH, Scully RE. *Am J Surg Pathol* 1992, 16: 926-938.
- 270 – Ovarian neuroendocrine carcinomas of non-small cell type associated with surface epithelial adenocarcinomas: a study of five cases and review of the literature Eichhorn JH, Lawrence WD, Young RH, et al. *Int J Gynecol Pathol* 1996, 15: 303-314.
- 271 – Ovarian non-small cell neuroendocrine carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 11 cases. Veras E, Deavers MT, Silva EG, et al. *Am J Surg Pathol* 2007, 31: 774-782.
- 272 – Ovarian carcinomas with choriocarcinomatous differentiation. Oliva E, Andrada E, Pezzica E, et al. *Cancer* 1993, 72: 2441-2446.
- 273 – Detection of Epstein-Barr virus by in situ hybridization. Progress toward development of a nonisotopic diagnostic test. Bashir R, Hochberg F, Singer RH. *Am J Pathol* 1989, 135: 1035-1044.
- 274 – Localization of cytomegalovirus DNA in plastic-embedded sections by in situ hybridization. A methodologic study. Cao M, Beckstead JH. *Am J Pathol* 1989, 134: 457-463.
- 275 – In situ hybridization techniques for the analysis of gene expression. Applications in tumor pathology. De Lellis RA. *Hum Pathol* 1994, 25: 580-585.
- 276 – Application of in situ DNA hybridization technology to diagnostic surgical pathology. Grody WW, Cheng L, Lewin KJ. *Pathol Annu* 1987, 22(Pt2): 151-175.
- 277 – Detection of Epstein-Barr virus small RNAs in routine paraffin sections using non-isotopic RNA/RNA in situ hybridization. Hamilton-Dutoit SJ, Pallesen G. *Histopathology* 1994, 25: 101-112.
- 278 – Detection of messenger RNA in routinely processed tissue sections with biotinylated oligonucleotide probes. Hankin RC, Lloyd RV. *Am J Clin Pathol* 1989, 92: 166-171.
- 279 – Nonradioactive in situ hybridization: recent techniques and applications. Hara M, Yamada S, Hirata K. *Endocr Pathol* 2002, 9: 21-29.
- 280 – In situ hybridization for the differentiation of *Aspergillus*, *Fusarium* and *Pseudallescheria* species in tissue sections. Hayden RT, Isotalo PA, Parrett T, Wolk DM, Qian X, Roberts GD, Lloyd RV. *Diagn Mol Pathol* 2003, 12: 21-26.
- 281 – In situ hybridization with nonisotopic probes using different detection systems. Holm R, Karlsen F, Nesland JM. *Mod Pathol* 1992, 5: 315-319.
- 282 – Immunohistochemical and in-situ hybridization techniques. Kenny-Moynihan MB, Under ER. In O'Leary TJ (ed.): *Advanced methods in pathology. Principles, practice, and protocols*. Philadelphia, 2003, Saunders, pp. 3-91.
- 283 – Introduction to molecular endocrine pathology. Lloyd R. *Endocr Pathol* 1993, 4: 64-72.
- 284 – Molecular pathology-diagnosis of infectious disease. Naber SP. *N Engl J Med* 1994, 33: 1212-1215.
- 285 – Detection of viral DNA by in situ hybridization using bromodeoxyuridine-labeled DNA probes. Niedobitek G, Finn T, Herbst H, Bornhoft G, Gerdes J, Stein H. *Am J Pathol* 1988, 131: 1-4.
- 286 – Comparison of peroxidase-labeled DNA probes with radioactive RNA probes for detection of human papilloma-viruses by in situ hybridization in paraffin sections. Park JS, Kurman RJ, Kessis TD, Shah KV. *Mod Pathol* 1991, 4: 81-85.
- 287 – In situ hybridization: principles and practice. Polak JM, McGee JO'D. Oxford, 1990, Oxford University Press.
- 288 – The detection of HIV by in situ hybridization. Shapshak JM, Sun NC, Resnick L, Hsu MY, Tourtellotte WW, Schmid P, Conrad A, Fiala M, Imagawa DT. *Mod pathol* 1990, 3: 146-153.
- 289 – Comparison of in situ hybridization and immunohistochemistry for detection of cytomegalovirus and herpes simplex virus. Strickler JG, Manivel JC, Copenhagen CM, Kubic VL. *Hum Pathol* 1990, 21: 443-448.
- 290 – An immunohistochemical and in situ hybridization study of c-myc and c-erbB2 expression in primary human breast carcinomas. Walker RA, Senior PV, Jones JL, Critchley DR, Varley JM. *J Pathol* 1989, 158: 97-105.
- 291 – Detection of immunoglobulin light-chain mRNA in lymphoid tissues using a practical in situ hybridization method. Weiss LM, Movahed LA, Chen YY, Shin SS, Stroup RM, Bui N, Estess P, Bindl JM. *Am J Pathol* 1990, 137: 979-988.
- 292 – mRNA detection in clinical samples by non-isotopic in situ hybridization. Yap EPH, Martinez-Montero J-C, McGee JO'D. In Hemington CS, McGee JO'D (eds): *Diagnostic molecular pathology. A practical approach*. Oxford, 1992, IRL Press.

- 293 – The neu oncogene encodes an epidermal growth factor receptor-related protein. Bargmann C, Hung MC, Weinber RA. *Nature* 1986, 319: 226-230.
- 294 – The neu oncogene: An erb-B-related gene encoding an 185,000 Mr tumor antigen. Schecter A, Stern DF, Vaidyanathan L, et al. *Nature* 1984, 312: 513-516.
- 295 – Amplification of a novel V-erbB-related gene in a human mammary carcinoma. King CR, Kraus MH, Aaronson SA. *Science* 1985, 229: 974-976.
- 296 – Location of the human erbB-2 gene on normal and rearranged chromosomes 17 to bands q12-21.32. Popescu NC, King CR, Kraus MH. *Genomics* 1989, 4: 362-366.
- 297 – Transforming genes of carcinomas and neuroblastomas introduced into mouse fibroblasts. Shih C, Padhy LC, Murray M, et al. *Nature* 1981, 290: 261-264.
- 298 – Evaluation of Her-2/neu (erbB-2) status in breast cancer: From bench to bedside. Hanna W, Kahn HJ, Trudeau M. *Mod Pathol* 1999, 12: 827-834.
- 299 – Should selection of adjuvant chemotherapy for patients with breast cancer be based on erb-2 status? Clark G. *J Natl Cancer Inst* 1998, 90: 1320-1321.
- 300 – Neu/erbB-2 amplification identifies a poor prognosis group of women with node-negative breast cancer. Andrulis IL, Bull SB, Blackstein ME, et al. *J Clin Oncol* 1998, 16: 1340-1349.
- 301 – Prognostic significance of cerbB-2 expression in node negative breast cancer. Bianchi S, Paglierani M, Zampi G, et al. *Br J Cancer* 1993, 67: 625-629.
- 302 – HER-2/ neu amplification predicts poor survival in node positive breast cancer. Borg A, Tandon AK, Sigurdsson H, et al. *Cancer Res* 1990, 50: 4332-4337.
- 303 – Follow-up study of HER-2/neu amplification in primary breast cancer. Clark GM, McGuire WL. *Cancer Res* 1991, 51: 944-948.
- 304 – C-erb-2 oncoprotein expression in primary and advanced breast cancer. Lovekin C, Ellis IO, Locker A, et al. *Br J Cancer* 1991, 63: 439-443.
- 305 – Prognostic significance of c-erbB-2 and estrogen receptor status in human breast cancer. McCann AH, Dervan PA, O'Reagan M, et al. *Cancer Res* 1991, 51: 3296-3303.
- 306 – C-erbB-2 oncoprotein expression versus internal mammary lymph node metastases as additional prognostic factors in patients with axillary lymph node positive breast cancer. Noguchi M, Koyasaki N, Ohta N, et al. *Cancer* 1992, 69: 2953-2960.
- 307 – The relationship between c-erbB-2 expression, S-phase fraction, and prognosis in breast cancer. O'Reilly SM, Barnes DM, Camplejohn RS, et al. *Br J Cancer* 1991, 63: 444-446.
- 308 – Correlation between c-erbB-2 amplification and risk of recurrent disease in lymph node negative breast cancer. Paterson MC, Dietrich KD, Kanylik J, et al. *Cancer Res* 1991, 54: 556-567.
- 309 – Immunohistochemical detection of HER-2/neu in patients with axillary lymph node-negative breast carcinoma. Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD, et al. *Cancer* 1995, 75: 1320-1326.
- 310 – Prognostic significance of HER-2 oncoprotein expression in breast cancer: A 20-year follow-up. Toikkanen S, Helin H, Isola J, et al. *J Clin Oncol* 1992, 10: 1044-1048.
- 311 – Sensitivity of ER-2/neu antibodies in archival tissue samples: Potential source of error in immunohistochemical studies of oncogene expression. Press MF, Hung G, Godolphin GW, et al. *Cancer Res* 1994, 54: 2771-2777.
- 312 – C-erbB-2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. Muss HB, Thor AD, Berry DA, et al. *N Engl J Med* 1994, 330: 1260-1266.
- 313 – Association of c-erbB-2 expression and S phase fraction in the prognosis of node-positive breast cancer. Anbazhagan R, Gelber RD, Bettelheim R, et al. *Ann Oncol* 1991, 2: 47-53.
- 314 – Amplification and protein overexpression of the neu/HER-2/c-erbB-2 proto-oncogene in human breast carcinomas: Relationship to loss of gene sequences on chromosome 17, family history and prognosis. Borresen AL, Ottestad L, Gaustad A, et al. *Br J Cancer* 1990, 62: 585-590.
- 315 – Prognostic importance of c-erbB-2 expression in breast cancer. Gusterson BA, Gelber RD, Goldhirsch A, et al. *J Clin Oncol* 1992, 10: 1049-1056.
- 316 – Overexpression of p53 and Her-2/neu proteins as prognostic markers in early-stage breast cancer. Marks JR, Humphrey PA, Wu K, et al. *Ann Surg* 1994, 219: 332-341.
- 317 – The prognostic value of c-erb-2 in primary breast carcinomas: A study of 942 cases. Quenel N, Wafflart J, Bonichon F, et al. *BreastCancerResTreat* 1995, 35: 283-291.
- 318 – Prognostic significance of Her-2/neu expression in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. Rilke F, Colnaghi MI, Cascinelli N, et al. *Int J Cancer* 1991, 49: 44-49.
- 319 – The long term prognostic significance of c-erbB-2 in primary breast cancer. Winstanley J, Cooke T, Murray GD, et al. *Br J Cancer* 1991, 63: 447-450.
- 320 – C-erbB-2 overexpression in primary breast cancer: Independent prognostic factor in patients at high risk. Schonborn I, Zschesche W, Spitzer E, et al. *Breast Cancer Res Treat* 1994, 29: 287-295.

- 321 – Prognostic significance of HER-2/neu oncoprotein expression in node-positive breast cancer: The influence of the pattern of immunostaining and adjuvant therapy. Tetu B, Brisson J. *Cancer* 1994, 73: 2359-2365.
- 322 – Association of c-erbB-2 protein overexpression with high rate of cell proliferation, increased risk of visceral metastasis, and poor long-term survival in breast cancer. Kallioniemi OP, Holli K, Visakorpi T, et al. *IntJCancer* 1991, 49:650-655
- 323 – American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptors Testing in Breast Cancer. Wolff AC, et al. *Arch Pathol Lab Med* 2007, 131: 18-43.
- 324 – Engel RH, Kaklamani VG (2007) HER2-positive breast cancer: current and future treatment strategies. *Drugs* 67: 1329–1341. doi: 10.2165/00003495-200767090-00006
- 325 – Wong YF, Cheung TH, Lam SK, Lu HJ, Zhuang YL, et al. (1995) Prevalence and significance of HER-2/neu amplification in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Obstet Invest* 40: 209–212. doi: 10.1159/000292337
- 326 – Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N: **Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies.** *Crit Rev Oncol Hematol* 1995, 19:183-232.
- 327 – Alimandi M, Romano A, Curia MC, Muraro R, Fedi P, Aaronson SA, Di Fiore PP, Kraus MH: **Cooperative signaling of ErbB3 and ErbB2 in neoplastic transformation and human mammary carcinomas.** *Oncogene* 1995, 10:1813-21.
- 328 – Juhl H, Downing SG, Wellstein A, Czubyko F (1997) HER-2/neu is rate-limiting for ovarian cancer growth. Conditional depletion of HER-2/neu by ribozyme targeting. *J Biol Chem* 272: 29482–29486. doi: 10.1074/jbc.272.47.29482
- 329 – Pietras RJ, Fendly BM, Chazin VR, Pegram MD, Howell SB, et al. (1994) Antibody to HER-2/neu receptor blocks DNA repair after cisplatin in human breast and ovarian cancer cells. *Oncogene* 9: 1829–1838.
- 330 – Bartsch R, Wenzel C, Zielinski CC, Steger GG (2007) HER-2-positive breast cancer: hope beyond trastuzumab. *BioDrugs* 21: 69–77. doi: 10.2165/00063030-200721020-00001
- 331 – Verri E, Guglielmini P, Puntoni M, Perdelli L, Papadia A, et al. (2005) HER2/neu oncoprotein overexpression in epithelial ovarian cancer: evaluation of its prevalence and prognostic significance. Clinical study. *Oncology* 68: 154–161. doi: 10.1159/000086958
- 332 – Hogdall EV, Christensen L, Kjaer SK, Blaakaer J, Bock JE, et al. (2003) Distribution of HER-2 overexpression in ovarian carcinoma tissue and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma: from the Danish MALOVA Ovarian Cancer Study. *Cancer* 98: 66–73. doi: 10.1002/cncr.11476
- 333 – Ioannides CG, Fisk B, Fan D, Biddison WE, Wharton JT, et al. (1993) Cytotoxic T cells isolated from ovarian malignant ascites recognize a peptide derived from the HER-2/neu proto-oncogene. *Cell Immunol* 151: 225–234. doi: 10.1006/cimm.1993.1233
- 334 – Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, et al. (2007) American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 25: 118–145. doi: 10.1200/jco.2006.09.2775
- 335 – Felip E, Del Campo JM, Rubio D, Vidal MT, Colomer R, et al. (1995) Overexpression of c-erbB-2 in epithelial ovarian cancer. Prognostic value and relationship with response to chemotherapy. *Cancer* 75: 2147–2152. doi: 10.1002/1097-0142(19950415)75:8<2147::aid-cncr2820750818>3.0.co;2-8
- 336 – Fajac A, Benard J, Lhomme C, Rey A, Duvillard P, et al. (1995) c-erbB2 gene amplification and protein expression in ovarian epithelial tumors: evaluation of their respective prognostic significance by multivariate analysis. *Int J Cancer* 64: 146–151. doi: 10.1002/ijc.2910640213
- 337 – Bookman MA, Darcy KM, Clarke-Pearson D, Boothby RA, Horowitz IR (2003) Evaluation of monoclonal humanized anti-HER2 antibody, trastuzumab, in patients with recurrent or refractory ovarian or primary peritoneal carcinoma with overexpression of HER2: a phase II trial of the Gynecologic Oncology Group. *J Clin Oncol* 21: 283–290. doi: 10.1200/jco.2003.10.104
- 338 – Nielsen JS, Jakobsen E, Holund B, Bertelsen K, Jakobsen A (2004) Prognostic significance of p53, Her-2, and EGFR overexpression in borderline and epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 14: 1086–1096. doi: 10.1111/j.1048-891x.2004.14606.x
- 339 – Lee CH, Huntsman DG, Cheang MC, Parker RL, Brown L, et al. (2005) Assessment of Her-1, Her-2, And Her-3 expression and Her-2 amplification in advanced stage ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 24: 147–152. doi: 10.1097/01.pgp.0000152026.39268.57
- 340 – Mayr D, Kanitz V, Amann G, Engel J, Burges A, et al. (2006) HER-2/neu gene amplification in ovarian tumours: a comprehensive immunohistochemical and FISH analysis on tissue microarrays. *Histopathology* 48: 149–156. doi: 10.1111/j.1365-2559.2005.02306.x

- 341 – Winter WE III, Maxwell GL, Tian C, Carlson JW, Ozols RF, Rose PG, Markman M, Armstrong DeborahK, Muggia Franco, McGuire WilliamP: **Prognostic factors for stage III epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study.** *J Clin Oncol* 2007, **25**:3621-7.
- 342 – Alexandre J, Ray-Coquard I, Selle F, Floquet A, Cottu P, Weber B, Falandry C, Lebrun D, Pujade-Lauraine E: **Clinical presentation and sensitivity to platinum-based chemotherapy (CT) of mucinous advanced epithelial ovarian carcinoma (M-AEOC): The GINECO-Group experience.** *J Clin Oncol* 2009, **27**(suppl):abstr 5572.
- 343 – Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, Mark Watson, Davies S, Bernard PS, Parker JS, Perou CM, Ellis MJ, Nielsen TO: **Ki67 Index, HER2 Status, and Prognosis of Patients With Luminal B Breast Cancer.** *J Natl Cancer Inst* 2009, **101**(10):736-750.
- 344 – Tapia C, Glatz K, Novotny H, Lugli A, Horcic M, Seemayer CA, Tornillo L, Terracciano L, Spichtin H, Mirlacher M, Simon R, Sauter G: **Close association between HER-2 amplification and overexpression in human tumors of non-breast origin.** *Mod Pathol* 2007, **20**:192-8.
- 345 – Goldenberg MM: **Trastuzumab, a recombinant DNA-derived humanized monoclonal antibody, a novel agent for the treatment of metastatic breast cancer.** *Clin Ther* 1999, **21**:309-18.
- 346 – Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE Jr, Davidson NE, Tan-Chiu E, Martino S, Paik S, Kaufman PA, Swain SM, Pisansky TM, Fehrenbacher L, Kutteh LA, Vogel VG, Visscher DW, Yothers G, Jenkins RB, Brown AM, Dakhil SR, Mamounas EP, Lingle WL, Klein PM, Ingle JN, Wolmark N: **Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer.** *N Engl J Med* 2005, **353**:1673-84.
- 347 – Mayr D, Kanitz V, Anderegg B, Luthardt B, Engel J, Lohrs U, Amann G, Diebold J: **Analysis of gene amplification and prognostic markers in ovarian cancer using comparative genomic hybridization for microarrays and immunohistochemical analysis for tissue microarrays.** *Am J Clin Pathol* 2006, **126**:101-9.
- 348 – Mano MS, Awada A, Di Leo A, Durbecq V, Paesmans M, Cardoso F, Larsimont D, Piccart M: **Rates of topoisoemerase II-alpha and HER-2 gene amplification and expression in epithelial ovarian carcinoma.** *Gynecol Oncol* 2004, **92**:887-95.
- 349 – Soslow RA: **Histologic subtypes of ovarian carcinoma: an overview.** *Int J Gynecol Pathol* 2008, **27**:161-74.
- 350 – Köbel M, Huntsman D, Gilks CB: **Critical molecular abnormalities in high-grade serous carcinoma of the ovary.** *Expert Rev Mol Med* 2008, **10**:e22.
- 351 – Fountain J, Trimble E, Birrer MJ: **Summary and discussion of session recommendations.** *Gynecol Oncol* 2006, **103**:S23-5.
- 352 – Camilleri-Broet S, Hardy-Bessard AC, Le Tourneau A, Paraiso D, Levrel O, Leduc B, Bain S, Orfeuvre H, Audouin J, Pujade-Lauraine E: **HER 2 overexpression is an independent marker of poor prognosis of advanced primary ovarian carcinoma: a multicenter study of the GINECO group.** *Ann Oncol* 2004, **15**:104-12.
- 353 – Wu Y, Soslow RA, Marshall DS, Leitao M, Chen B: **Her-2/neu expression and amplification in early stage ovarian surface epithelial neoplasms.** *Gynecol Oncol* 2004, **95**:570-5.
- 354 – Vang R, Gown AM, Wu LS, Barry TS, Wheeler DT, Yemelyanova A, Seidman JD, Ronnett BM: **Immunohistochemical expression of CDX2 in primary ovarian mucinous tumors and metastatic mucinous carcinomas involving the ovary: comparison with CK20 and correlation with coordinate expression of CK7.** *Mod Pathol* 2006, **19**:1421-8.
- 355 – Ji H, Isacson C, Seidman JD, Kurman RJ, Ronnett BM: **Cytokeratins 7 and 20, Dpc4, and MUC5AC in the distinction of metastatic mucinous carcinomas in the ovary from primary ovarian mucinous tumors: Dpc4 assists in identifying metastatic pancreatic carcinomas.** *Int J Gynecol Pathol* 2002, **21**:391-400.
- 356 – Matsui Y, Inomata M, Tojigamori M, Sonoda K, Shiraishi N, Kitano S: **Suppression of tumor growth in human gastric cancer with HER2 overexpression by an anti-HER2 antibody in a murine model.** *Int J Oncol* 2005, **27**:681-5.
- 357 – Reichelt Uta, Duesedau Peer, Tsourlakis Maria Ch, Quaas Alexander, Link BjörnC, Schurr PaulusG, Kaifi JussufT, Gros StephanieJ, Yekebas EmreF, Marx Andreas, Simon Ronald, Izbicki JakobR, Guido Sauter: **Frequent homogeneous HER-2 amplification in primary and metastatic adenocarcinoma of the esophagus.** *Mod Pathol* 2007, **20**:120-9.
- 358 – Both cell proliferation and apoptosis increase with lesion grade in cervical neoplasia but do not correlate with human papillomavirus type.
- Isacson C, Kessis TD, Hedrick L, et al. *Cancer Res* 1996, **56**: 669-674.
- 359 – Immunohistochemical staining for proliferating cell nuclear antigen, BCL2, and Ki-67 in vulvar tissues. Von Hoeven KH, Kovatich AJ. *Int J Gynecol Pathol* 1996, **15**: 10-16.

- 360 – Atypical immature metaplasia (AIM) of the cervix: Is it related to high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL)? Geng L, Connolly DC, Isacson C, et al. *Hum Pathol* 1999, 30: 345-351.
- 361 – Viral and histopathologic correlates of MN and MIB-1 expression in cervical intraepithelial neoplasia. Resnick M, Lester S, Tate JE, et al. *Hum Pathol* 1996, 27: 234-239.
- 362 – Minna Tanner, David Gancberg, Angelo Di Leo, et al. Chromogenic in situ hybridization a practical alternative for fluorescence in situ hybridization to detect Her-2/neu oncogene amplification in archival breast cancer samples. *Am J Pathol* 2000 November, 157(5): 1467-1472.
- 363 – Hiroyuki Kumamoto 1, Hironobu Sasano 2, 3, Takahiro Taniguchi, et al. Chromogenic in situ hybridization analysis for Her-2/neu status in breast carcinoma: Application in screening of patients for trastuzumab. *Pathology International*. 2001, Volume 51 Issue 8, Pages 579-584.
- 364 – t ixom CR, Albers EA, t eidner N. Her2 amplification: correlation of chromogenic in situ hybridization with immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2004 Sep, 12 (3): 248-251.
- 365 – S Di Palma, N Collins, C Faulkes. Chromogenic in situ hybridization (CISH) should be an accepted method in the routine diagnostic evaluation of Her2 status in breast cancer. *Journal of Clinical Pathology* 2007, 60: 1067-1068.
- 366 – Yun Gong, Michael Glicrease, Nour Sneige. Reliability of chromogenic in situ hybridization for detecting Her-2 gene status in breast cancer: comparison with fluorescence in situ hybridization and assessment of interobserver reproducibility. *Modern Pathology* 2005, 18, 1015-1021.
- 367 – Jorma Isola, Minna Tanner, Amanda Forsyth et al. Interlaboratory comparison of Her-2 oncogene amplification as detected by chromogenic and fluorescence in situ hybridization. *Clin Cancer Res*, 2004 July 15, 10: 4793.
- 368 – I aakso M, Tanner M, Isola J. Dual-colour chromogenic in situ hybridization for testing of Her-2 oncogene amplification in archival breast tumors. *J Pathol*. 2006 Sep, 210 (1): 3-9.
- 369 – Kato N, Itoh H, Serizawa A. Evaluation of Her-2 gene amplification in invasive breast cancer using a dual-color chromogenic in situ hybridization (dual CISH). *Pathol Int*. 2010 Jul, 60 (7): 210-215.
- 370 – Denoux Y, Arnould L, Fiche M, et al. Her-2 gene amplification assay: is CISH an alternative to FISH? *Ann Pathol*. 2003 Dec, 23 (6): 617-622.
- 371 – Carol L, Rosenberg. Polysomy 17 and Her-2 amplification: true, true, and unrelated. *JCO* October 20, 2008 vol. 26 no. 30, 4856-4858.
- 372 – Li-Ning-T E, Ronchetti R, Torres-Cabala C, et al. Role of chromogenic in situ hybridization (CISH) in the evaluation of Her-2 status in breast carcinoma: comparison with immunohistochemistry and FISH. *Int J Surg Pathol*. 2005 Oct, 13 (4): 343-351.
- 373 – Pedersen M, Rasmussen BB. The correlation between dual-color chromogenic in situ hybridization and fluorescence in situ hybridization in assessing Her-2 gene amplification in breast cancer. *Diagn Mol Pathol*. 2009 Jun, 18 (2): 96-102.
- 374 – Lin F, Shen T, Prichard JW. Detection of Her2/neu oncogene in breast carcinoma by chromogenic in situ hybridization in cytologic specimens. *Diagn Cytopathol*. 2005 Dec, 33(6): 376-380
- 375 – Strijbos, J. Martens, R. Prins, F. Jochems, W. (2006). "Content analysis: What are they talking about?". *Computers C Education* 46: 29-48.
- 376 – Landis, J.R. C Koch, G.G. (1977). "The measurement of observer agreement for categorical data". *Biometrics* 33 (1): 159-174.
- 377 – Yun Gong, William Sweet, Yi-Jing Duh et al. Chromogenic in situ hybridization is a reliable method for detecting Her-2 gene status in breast cancer. A multicenter study using conventional scoring criteria and the new ASCO/CAP recommendations. *American Journal of Clinical Pathology*, 2009, 131, 490-497.
- 378 – George A. Morgan, Nancu L. Leech, Gene W. Gloeckner, Karen C. Barrett. *SPSS for Introductory Statistics*. Second Edeition 2004 : 120-121.
- 379 – Singleton TP, Perrone T, Oakley G, Niehans GA, Carson L, et al. Activation of c-erbB-2 and prognosis in ovarian carcinoma. Comparison with histologic type, grade, and stage. *Cancer*. 1994, 73: 1460-1466.
- 380 – Meden H, Marx D, Rath W, Kron M, Fattahi-Meibodi A, et al. Overexpression of the oncogene c-erb B2 in primary ovarian cancer: evaluation of the prognostic value in a Cox proportional hazards multiple regression. *Int J Gynecol Pathol*. 1994, 13: 45-53.
- 381 – Felipe E, Del Campo JM, Rubio D, Vera R, del Campo JM, et al. Overexpression of c-erbB-2 in epithelial ovarian cancer. Prognostic value and relationship with response to chemotherapy. *Cancer*. 1995, 75: 2147-2152.

- 382 – Fajac A, Benard J, Lhomme C, Rey A, Duvillard P, et al. c-erbB-2 gene amplification and protein expression in ovarian epithelial tumors: evaluation of their respective prognostic significance by multivariate analysis. *Int J Cancer*. 1995, 64: 146-151.
- 383 – Young SR, Liu WH, Brock JA, Smith ST. ERBB2 and chromosome 17 centromere studies of ovarian cancer by fluorescence in situ hybridization. *Genes Chromosomes Cancer*. 1996, 16: 130-137.
- 384 – Goff BA, Ries JA, Els LP, Coltrera MD, Gown AM. Immunophenotype of ovarian cancer as predictor of clinical outcome: evaluation at primary surgery and second-look procedure. *Gynecol Oncol*. 1998, 70: 378-385.
- 385 – Ferrandina G, Ranelletti FO, Lauriola L, Fanfani F, Legge F, et al. Cyclooxygenase-2 (COX-2), epidermal growth factor receptor (EGFR), and HER2/neu expression in ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2002, 85: 305-310.
- 386 – Bookman MA, Darcy KM, Clarke-Pearson D, Boothby RA, Horowitz IR. Evaluation of monoclonal humanized anti-HER2 antibody, trastuzumab, in patients with recurrent of refractory ovarian or primary peritoneal carcinoma with overexpression of HER2: a phase II trial of the Gynecologic Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2003, 21: 283-290.
- 387 – Hogdall EV, Christensen L, Kjaer SK, Blaakaer J, Bock JE, et al. Distribution of HER2 overexpression in ovarian carcinoma tissue and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma: from the Danish MALOVA Ovarian Cancer Study. *Cancer*. 2003, 98: 66-73.
- 388 – Camilleri-Broet S, Hardy-Bessard AC, Le Tourneau A, Paraiso D, Levrel O, et al. HER-2 overexpression is an independent marker of poor prognosis of advanced primary ovarian carcinoma: a multicenter study of the GINECO group. *Ann Oncol*. 2004, 15: 104-112.
- 389 – Cloven NG, Kyshtoobayeva A, Burger RA, Yu IR, Fruehauf JP. In vitro chemoresistance and biomarker profiles are unique for histologic subtypes of epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2004, 92: 160-166.
- 390 – Erkinheimo TL, Lassus H, Finne P, van Rees BP, Leminen A, et al. Elevated cyclooxygenase-2 expression is associated with altered expression of p53 and SMAD4, amplification of HER2/neu, and poor outcome in serous ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004, 10: 538-545.
- 391 – Kupryjanczyk J, Madry R, Plisiecka-Halasa J, Bar J, Kraszevska E, et al. TP53 status determines clinical significance of ERBB2 expression in ovarian cancer. *Br J Cancer*. 2004, 91: 1916-1923.
- 392 – Lassus H, Leminen A, Vayrynen A, et al. ERBB2 amplification is superior to protein expression status in predicting patient outcome in serous ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2004, 92: 31-39.
- 393 – Mano MS, Awada A, Di Leo A, Durbecq V, Paesmans M, et al. Rates of topoisomerase II- $\alpha$  and HER2 gene amplification and expression in epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2004, 92: 887-895.
- 394 – Nielsen JS, Jakobsen E, Holund B, Bertelsen K, Jakobsen A. Prognostic significance of p53, Her-2, and EGFR overexpression in borderline and epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2004, 14: 1086-1096.
- 395 – Lee CH, Huntsman DG, Cheang MC, Parker RL, Brown L, et al. Assessment of Her-1, Her-2, and Her-3 expression and Her-2 amplification in advanced stage ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Pathol*. 2005, 24: 147-152.
- 396 – Verri E, Guglielmini P, Puntoni M, Perdelli L, Papadia A, et al. HER2/neu oncoprotein overexpression in epithelial ovarian cancer: evaluation of its prevalence and prognostic significance. *Oncology*. 2005, 68: 154-161.
- 397 – Mayr D, Kantiz V, Amann G, Engel J, Burges A, et al. HER-2/neu gene amplification in ovarian tumours: a comprehensive immunohistochemical and FISH analysis on tissue microarrays. *Histopathology*. 2006, 48: 149-156.
- 398 – Tubbs RR, Pettay JD, Roche PC, Stoler MH, Jenkins RB, et al. Discrepancies in clinical laboratory testing of eligibility for trastuzumab therapy: apparent immunohistochemical false-positives do not get the message. *J Clin Oncol*. 2001, 19: 2714-2721.
- 399 – Press MF, Sauter G, Bernstein L, Villalobos IE, Mirlacher M, et al. Diagnostic evaluation of HER-2 as a molecular target: an assessment of accuracy and reproducibility of laboratory testing in large, prospective, randomized clinical trials. *Clin Cancer Res*. 2005, 11: 6598-6607.
- 400 – Ellis IO, Bartlett J, Dowsett M, Humphreys S, Jasani B, et al. Best Practice No 176: Update recommendations for HER2 testing in the UK. *J Clin Pathol*. 2004, 57: 233-237.
- 401 – Gouvea AP, Milanezi F, Olson SJ, Leitao D, Schmitt FC, et al. Selecting antibodies to detect HER2 overexpression by immunohistochemistry in invasive mammary carcinomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2006, 14: 103-8.
- 402 – Couturier J, Vincent-Salomon A, Nicolas A, Beuzeboc P, Mouret E, et al. Strong correlation between results of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry for the assessment of the ERBB2 (HER-2/neu) gene status in breast carcinoma. *Mod Pathol*. 2000, 13: 1238-43.

- 403 – Tokunaga E, Oki E, Nishida K, Koga T, Egashira A, et al. Trastuzumab and breast cancer: developments and current status. *Int Clin Oncol*. 2006, 11: 199-208.
- 404 – Vincent-Salomon A, MacGrogan G, Couturier J, Arnould L, Denoux Y, et al. Calibration of immunohistochemistry for assessment of HER2 in breast cancer: results of the French multicenter GEPICS study. *Histopathology*. 2003, 42: 337-347.
- 405 – Barrett C, Magee H, O'Toole D, Daly S, Jeffers M, et al. Amplification of the HER2 gene in breast cancers testing 2+ weak positivity by HercepTest immunohistochemistry: false-positive or false-negative immunohistochemistry? *J Clin Pathol*. 2007, 60: 690-693.
- 406 – Serrano-Olvera A, Duenas-Gonzalez A, Gallardo-Rincon D, Candelaria M, De la Garza-salazar J. Prognostic, predictive and therapeutic implications of HER2 in invasive epithelial ovarian cancer. *Cancer Treat Rev*. 2006, 32: 180-190.
- 407 – Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER2/neu oncogene. *Science*. 1987, 235: 177-182.
- 408 – Berchuck A, Kamel A, Whitaker R, Kerns B, Olt G, et al. Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res*. 1990, 50: 4087-4091.
- 409 – Yamauchi H, Stearns V, Hayes DF. When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2001, 19: 2334-2356.
- 410 – Martin M, Pienkowski T, Mackey J, Pawlicki M, Guastalla JP, et al. Adjuvant docetaxel for node-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005, 352: 2302-2313.
- 411 – Aigner A, Hsieh SS, Malerczyk C, Czubyko F. Reversal of HER2 over-expression renders human ovarian cancer cells highly resistant to taxol. *Toxicology*. 2000, 144: 221-228.
- 412 – Gupta MC, Mahajan BK. Epidemiology of non communicable diseases. In: Gupta MC, Mahajan BK, editors. *Textbook of Preventive and Social Medicine*. 3<sup>rd</sup> ed. New Delhi: Jaypee Brothers, 2003, p. 306-28.
- 413 – Crum CP. The female genital tract. In: Kumar V, Abaas AK, Fausto N, editors. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 2004, p. 1059-118.
- 414 – Scucchi LF, Di Stefano D, Cosentino L, Vecchione A. Value of cytology as adjunctive intraoperative diagnostic method: An audit of 2250 consecutive cases. *Acta Cytol* 1997, 41: 1489-96.
- 415 – Brown DC, Gatter KC. Monoclonal antibody Ki-67: Its use in histopathology. *Histopathology*. 1990, 17: 489-503.
- 416 – Garzetti GG, Ciavattini A, Goteri G, De Nictolis M, Stramazzotti D, Lucarini G, et al. Ki-67 antigen immunostaining (MIB 1 monoclonal antibody) in serous ovarian tumors: Index of proliferative activity with prognostic significance. *Gynecol Oncol*. 1995, 56: 169-74.
- 417 – Harlozinska A, Bar JK, Sedlaczek P, Gerber J. Expression of p53 protein and Ki-67 reactivity in ovarian neoplasms: Correlation with histopathology. *Am J Clin Pathol*. 1996, 105: 334-40.
- 418 – Viale G, Maisonneuve P, Bonoldi E, Di Bacco A, Bevilacqua P, Panizzoni GA, et al. The combined evaluation of p53 accumulation and Ki-67 (MIB 1) labeling index provides independent information on overall survival of ovarian carcinoma patients. *Ann Oncol*. 1997, 8: 469-76.
- 419 – Jordan PA, Kerns BJ, Pence JC, Kohler MF, Bast RC Jr, Kinney RB, et al. Determination of proliferation index in advanced ovarian cancer using quantitative image analysis. *Am J Clin Pathol*. 1993, 99: 736-40.
- 420 – Kobel M, Kalloger SE, Boyd N, McKinney S, Mehl E, Palmer C, et al. Ovarian carcinoma subtypes are different diseases: Implications for biomarker studies. *PLoS Med*. 2008, 5: e 232.
- 421 – Khouja MH, Baekelandt M, Nesland JM, Holm R. The Clinical Importance of Ki-67, p16, p14, and p57 Expression in patients with advanced ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Pathol*. 2007, 26: 418-25.
- 422 – Min KW, Park MH. The expression of c-erbB-2, EGFR, p53 and Ki-67 in ovarian borderline tumors and carcinomas of the ovary. *Korean J Pathol*. 2007, 41: 296-306.
- 423 – A cytohistological study of Ki-67 expression in ovarian tumors. Choudhury M, Goyal S, Pujani M. *Indian J Pathol Microbiol* 2011, 54 (1): 21-24 doi: 10.4103/0377-4929.77318. PMID: 21393871
- 424 – Ki-67 as an independent prognostic factor in an unselected cohort of patients with ovarian cancer Results of an explorative, retrospective study. Marco Battista, Nina Mantai, Isabel Sicking, Cristina Cotarelo, Veronika Weyer, Antje Labrecht, Christine Solbach, Marcus Schmidt. 2014 *Oncology Reports*. Pages: 2213-2219. Doi: 10.3892/ or 2014.3079





