

**MUNASARJASYÖVÄN VARHAISMUUTOKSET JA
ALKUPERÄSOLUKKO: HNPCC-POTILAIDEN
HYVÄNLAATUISTEN MUNASARJASYÖPÄNÄYTTEIDEN JA
SPORADISTEN ENDOMETRIOIDIEN MUNASARJASYÖPÄ-
NÄYTTEIDEN KARAKTERISOINTI**

Milla Mörsky

syventävien opintojen kirjallinen työ

Tampereen yliopisto

Lääketieteen yksikkö

Ohjaaja: LT Synnöve Staff

Joulukuu 2015

Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Milla Mörsky

MUNASARJASYÖVÄN VARHAISMUUTOKSET JA ALKUPERÄSOLUKKO: HNPCC-POTILAIEN HYVÄNLAATUISTEN MUNASARJASYÖPÄNÄYTTEIDEN JA SPORADISTEN ENDOMETRIOIDIEN MUNASARJASYÖPÄNÄYTTEIDEN KARAKTERISOINTI

Kirjallinen työ, 21 s.
Ohjaaja: LT Synnöve Staff

Joulukuu 2015
Avainsanat: munasarjasyöpä, endometrioidi, HNPCC, patogeneesi

Munasarjasyöpä oli vuonna 2010 toiseksi yleisin, mutta suurinta kuolleisuutta aiheuttava gynekologinen syöpä. Munasarjasyövän patogeneettisiä mekanismeja on todennäköisesti useita, ja on esitetty, että syövän alkuperäsolut olisi lähtöisin munasarjan pintaepiteelin sijaan munanjohtimista tai kohdun limakalvolta.

Perinnöllisen syöpäalttiuden omaavien naisten profylaktisesti poistettujen kudosten tutkiminen tarjoaa mahdollisuuden syövän esiastemuutosten tutkimiseen. Toistaiseksi valtaosa tutkimuksista on tehty BRCA-potilailla, joiden syövät ovat pääasiassa seröösiä alatyyppejä. Tutkimuksia non-seröösien syöpien patogeneesistä esimerkiksi HNPCC-potilailla on huomattavasti vähemmän. On esitetty, että HNPCC-potilailla esiintyvän endometrioidin tai kirkassoluisen karsinoman esiaste voi olla peräisin endometriumilta tai endometriosipesäkkeistä.

Tutkimuksessa verrattiin HNPCC-potilaiden profylaktisesti poistettujen ja ei-mutaationkantajien hyvänlaatuisista syistä poistettujen munasarjanäytteiden morfologiaa (n=10). Näytteistä taulukoitiin muutoksia, jotka kirjallisuuden perusteella saattavat olla munasarjasyövän esiastemuutoksia (epiteelin papillomatoosi, pseudostratifikaatio, invaginaatiot ja inkluusiokystat) ja tutkittiin endometriosin esiintyvyyttä. Papillomatoosia havaittiin verrokkiryhmässä enemmän kuin HNPCC-potilailla (p=0,02). Muiden morfologisten muutosten esiintyvyydessä ei havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa, eikä endometriosia havaittu HNPCC-potilaiden näytteissä.

Toisena tutkimuskysymyksenä oli endometrioidin munasarjasyövän alkuperäsolut. Endometrioidien munasarjasyöpäpotilaiden (n=13) munasarja- ja endometriumnäytteet värjättiin immunohistokemiallisesti kolmella vasta-aineella (PR A, PR B ja EMA). Värjäytyvydessä ei havaittu yhteneväisyyttä karsinomasolukon ja munasarjan pintaepiteelin tai endometriumin välillä.

Tutkimuksen perusteella edellä mainittuja morfologisia muutoksia ei voida pitää luotettavina munasarjasyövän esiastemuutoksina. Endometrioidin munasarjasyövän alkuperäsolut on IHC-värjäysten perusteella toistaiseksi epäselvä.

Sisällys

1 JOHDANTO.....	3
1.1 Munasarjasyöpä	3
1.1.1 Yleisyys.....	3
1.1.2 Luokittelu.....	3
1.1.3 Patogeneesi	4
1.2 HNPCC ja Lynchin syndrooma.....	7
1.3 Tutkimuksen tavoitteet	8
2 TUTKIMUSMETODI	9
2.1 Aineisto.....	9
2.2 Tutkimusmenetelmät	10
2.2.1 HNPCC-potilaiden profylaktisesti poistettujen ovarioiden varhaismuutosten kartoitus.....	10
2.2.2 Endometrioidin ovarioikarsinooman alkuperäissolukon selvittäminen.....	10
2.3 Tilastollinen analyysi.....	12
3 TULOKSET	12
3.1 Munasarjasyövän morfologiset muutokset HNPCC-potilailla ja terveillä verrokeilla	12
3.2 Ovarioikarsinoomapotilailla tehdyt immunohistokemialliset värjäykset.....	14
4 POHDINTA.....	16
5 LÄHTEET	19

1 Johdanto

1.1 Munasarjasyöpä

1.1.1 Yleisyys

Vuonna 2010 munasarjasyöpä oli kymmenenneksi yleisin naisten syöpätauti ja toiseksi yleisin gynekologinen syöpä. Uusia tapauksia Suomessa todettiin 464, ja munasarjasyöpä kattoi 3,2 % kaikista naisten syöpätaudeista. Kaikista gynekologisista syövistä munasarjasyöpä on kuolleisuusluvultaan korkein: diagnoosin saaneen potilaan viisivuotisennuste on n. 49 %, ja usein syöpädiagnosi tehdäänkin vasta syövän levittyä laajemmalti vatsaonteloon.¹ Tehokkaan seulontamenetelmän kehittäminen on kuitenkin osoittautunut haasteelliseksi, sillä munasarjasyövän patogeneesi tunnetaan huonosti ja premalignien kudosten olemassaolosta on toistaiseksi ristiriitaista tutkimustietoa^{2,3}. Munasarjasyövän eri histologisten alatyyppeiden karakterisoinnin on toivottu johtavan kohdenne-
tun ja siten tehokkaamman hoitomuodon löytymiseen, mutta toistaiseksi munasarjasyöpäpotilaiden kuolleisuus on yhä samalla tasolla kuin 50 vuotta sitten^{1,3}.

1.1.2 Luokittelu

Munasarjasyöpä voidaan jaotella eri alatyyppeihin kasvutavan, levinneisyysasteen ja histologian perusteella. Noin 90% kaikista munasarjasyövistä on epiteliaalisia kasvaimia, jotka jaetaan edelleen histologisiin alatyyppeihin.⁴ Näistä neljä päätyyppiä ovat seröosit (40-42 %), endometrioidit (10-24 %), musiinit (3-10 %) sekä kirkassoluiset (5-11 %) kasvaimet.⁵

Munasarjasyöpien on ehdotettu kehittyvän kahta erilaista molekulaarista reittiä. Teorian mukaan matalan aggressiivisuuden syövät (low-grade carcinoma, LGC) kehittyvät esiaستمuutoksista, jolloin syövän kehitys on asteittaista. Korkean aggressiivisuuden syöpien (high-grade carcinoma, HGC) varhaisvaiheet ovat huonommin tunnetut, mutta syövän syntyyn liittyy usein tuumorisuppressorigeeni p53:n mutaatio. High grade-karsinomat ovat siis geneettisesti epävakaita ja kehitykseltään aggressiivisempia kuin low grade-karsinomat.⁶ Sekä LG- että HG-tyyppisiä kasvaimia esiintyy kaikissa histologisissa alaryhmissä. Yleisimmät, seröosit munasarjasyövät ovat tyypillisesti high grade –karsinomia.

Endometrioidi ovariookarsinoma on seröosin syöpätyypin jälkeen yleisin epiteliaalinen munasarjasyöpä (10-24% kaikista tapauksista).⁵ Suurin osa endometrioideista munasarjasyövistä on low

grade -tyyppiä, jolle on ominaista high-grade seröösia karsinoomaa hitaampi kasvutapa ja parempi ennuste. Usein endometrioidit kasvaimet löydetäänkin seröösejä varhaisemmassa vaiheessa, mikä johtaa parempaan ennusteeseen. Endometriosisin yhteydessä esiintyvät ovariookarsinomat ovat pääsääntöisesti endometrioidia tai kirkassoluista tyyppiä, ja eräiden tutkimusten mukaan ainakin osa näiden kasvainten patogeneesistä selittyisi endometriosisipesäkkeiden implantaatiolla ja malignisointumisella. ⁶⁻⁸

1.1.3 Patogeneesi

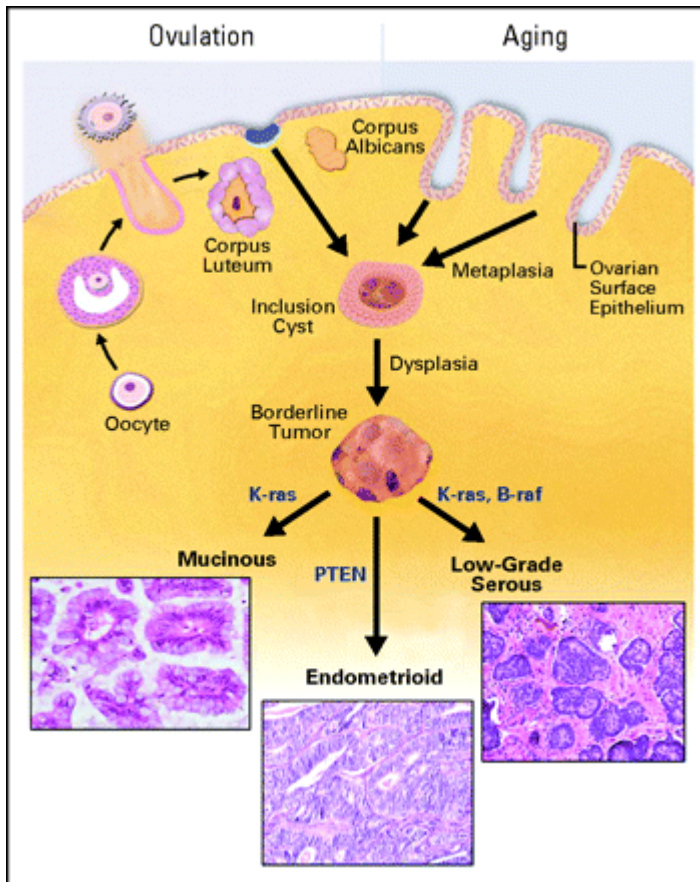
1.1.3.1 Munasarjan, munatorvien ja kohdun kehitys

Munasarjan pintaepiteeli (ovarian surface epithelium, OSE) on yksinkertainen levy- ja osin kuutioepiteelikerros, joka vastaa histologisesti vatsaontelon elimiä eli peritoneaalielimiä rajaavaa tai päällystävää mesoteeliä. Embryologisesti sekä OSE että mesoteeli ovat mesodermaalista alkuperää. Munanjohtimet, kohtu ja vaginan yläkolmannes sen sijaan kehittyvät sikiökaudella Müllerin tiehyiden sulatuessa yhteen prosessissa, jonka keskeisimpinä säätelijöinä toimivat homeobox- eli HOX-geeniperheen jäsenet. ⁹

1.1.3.2 Ovariaalinen teoria

Perinteisesti kaikkien epiteliaalisten ovariookarsinoomien on katsottu olevan lähtöisin munasarjan omasta pintaepiteelistä (ovarian surface epithelium, OSE). Teorian mukaan OSE muodostaa kortikaalisten invaginaatioiden eli epiteelin kureutumien kautta inkluusiokystia, joissa tapahtuu metaplasiaa ja edelleen malignisaatiota¹⁰. Inkluusiokystien on spekuloitu syntyvän ovulaatioiden aikaansaamien epiteelin invaginaatioiden korjausprosessin seurauksena¹¹ (Kuva 1). Yksiselitteistä tutkimusnäyttöä syövän asteittaisesta kehityksestä ei kuitenkaan ole: vaikka värekarvallisen, Müllerityyppisen epiteelin rajaamat inkluusiokystat eivät ole harvinaisia, varsinaista malignisaatiota ei niissä ole luotettavasti dokumentoitu. Toisaalta musinosisin karsinooman intestinaalisen alatyypin esiasteeksi sopivat, intestinaaliepiteelin rajaamat inkluusiokystat ovat varsin harvinaisia. Tämänhetkinen käsitys onkin, ettei mikään yksittäinen teoria selitä kaikkien munasarjasyöpien patogeneesiä, vaan käyttäytymiseltään ja kasvutavaltaan erilaiset munasarjasyövät kehittyvät erilaisia molekuläärisiä reittejä. ^{2,3,12,13}

Kuva 1. Inklusiokystien synty ja malignisaatio. Teorian mukaan ovulaatioiden aikaansaama epiteelivaurio muodostaa korjaantuessaan epiteelin invaginaatioita, joista edelleen syntyy inklusiokystia. Inklusiokystissa tapahtuva meta- ja dysplasia saa aikaan malignin kasvaimen. (Kuva artikkelista ”New insights into the pathogenesis of serous ovarian cancer and its clinical impact”. Levanon et al. 2008.¹⁴)



Nykyään ainakin low-grade –karsinoomien ajatellaan kehittyvän esiasteiden kautta hyvänlaatuisista muutoksista. Seröösien low-grade-karsinoomien on esitetty saavan alkunsa benigneistä munasarjojen kystadenoomista, jotka etenevät borderline-tuumoriksi ja edelleen karsinoomaksi. Vastaavasti endometrioidit low-grade –karsinoomat saattavat kirjallisuuden mukaan kehittyä endometriosisista tai borderline-adenofibroomasta¹³.

1.1.3.3 Perinnöllinen syöpäalttius ja munasarjasyövän ekstraovariaalinen teoria

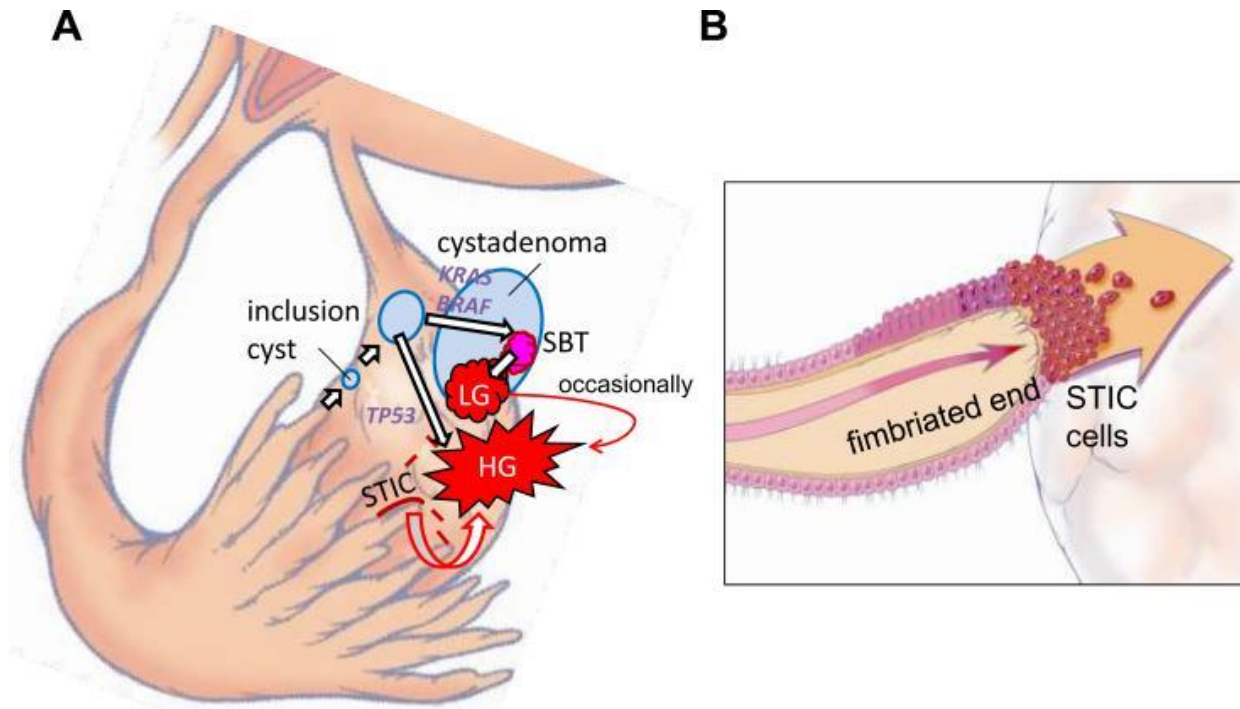
Yleisin gynekologinen syöpäalttius liittyy BRCA1/2-mutaatioihin, joiden esiintyvyys on useimmissa väestöryhmissä alle 1:500⁵. Sekä BRCA1 että BRCA2 ovat kasvunrajoitegeenejä, joiden mutaatioihin liittyy merkittävästi kohonnut syöpäriski. Erityisesti rintasyöpä on BRCA-kantajille tyyppinen, mutta myös munasarjasyövän riski on normaaliväestöstä suurempi. Elinikäinen munasarjasyöpäriski on BRCA1-mutaatioissa 25-50 % ja BRCA2-mutaatioissa 10-20 %¹⁵. BRCA-mutaation-

kantajien munasarjasyövät ovat tyypillisesti seröösiä alatyyppejä ja kasvutavaltaan high grade –karsinomia (HGSC, high-grade serous carcinoma)¹⁶. Mutaationkantajien syöpäriskiä voidaan vähentää profylaktisella kirurgialla, ja kantajille suositellaankin adneksien poistoa lapsiluvun täytyttyä.

Geneettisen syöpäalttiuden omaavien potilaiden profylaktisesti poistettujen kudosten tutkiminen tarjoaa erinomaisen mahdollisuuden premalignien muutosten kartoittamiselle. On esitetty, että BRCA1/2-mutaationkantajilla esiintyy verrokkiryhmää enemmän OSE:n morfologisia muutoksia, kuten epiteelin pseudostratifikaatiota, inkluusiokystia, invaginaatioita ja papillomatoosia.¹⁷ Kaikissa tutkimuksissa BRCA-mutaationkantajien ja verrokkiryhmien välille ei ole kuitenkaan saatu tilastollisesti merkitsevää eroa. Toistaiseksi onkin epäselvää, liittyvätkö muutokset ikääntymiseen (toistuvat ovulaatiot ja niiden aikaansaama epiteelivaurio ja sen korjaaminen), BRCA-mutaatioon vai voidaanko niitä pitää epitelialisen ovariokarsinoman esiastemuutoksina^{18,19}. Selkeitä syövän esiastemuutoksia ei siis toistaiseksi ole löydetty näiden potilaiden munasarjoista.

Munasarjasyövän ekstraovariaalinen teoria yleistyi 2000-luvun vaihteessa, kun mutaationkantajanaisten profylaktisesti poistetuista munanjohtimista löydettiin dysplastisia ja maligneja muutoksia.^{20,21} Nämä löydökset synnyttivät teorian, jonka mukaan munasarjasyöpäkasvaimet eivät muodostu munasarjan pintaepiteelistä, vaan saattaisivat olla ns. mulleriaanista alkuperää. Näin ollen munasarjasyöpä, alatyypistä riippuen, saakin ekstraovariaalisen teorian mukaan alkunsa joko munanjohtimesta (seröosi histologia), endometriumilta (endometrioidi histologia) tai kohdunkaulakanavan (musiini histologia) epiteelistä. BRCA-mutaationkantajille tyypillisen high-grade –seröösien karsinoman (HGSC) on esitetty saavan alkunsa munanjohtimen distaalipään mikroskooppisista in situ-syöpämuutoksista (serous tubal intraepithelial carcinoma, STIC) OSE:n sijaan. Hypoteesin mukaan STIC-muutokset muodostuvat munanjohtimen sekretorisissa epiteelisoluissa ja leviävät fimbrioiden runsasta angiolympfaattista verkostoa pitkin edelleen munasarjoihin ja peritoneumiin muodostaen HGSC-pesäkkeitä (kuva 2).³ Ilmiö on vahvistettu ainakin eläinmalleilla, ja teorialle on saatu tukea myös useissa BRCA-mutaationkantajilla teetetyissä tutkimuksissa.²²⁻²⁵

Kuva 2. Seröösien munasarjakasvainten kehitysteoriat. A. Munanjohtimen epiteelisolukkoa siirtyy munasarjaan ja muodostaa inkluusiokystan, joka edelleen mutaation vaikutuksesta malignisoituu. Mutaation luonteesta riippuen kasvaimen kehitys on asteittaista (inkluusiokysta - kystadenooma - SBT = serous borderline tumor - LGSC = low-grade serous carcinoma) tai aggressiivisempää (inkluusiokysta - HGSC = high-grade serous carcinoma). Vaihtoehdoisen teorian mukaan karsinoomasolukko kehittyi munanjohtimen distaalipäässä, josta se kulkeutuu munasarjan pintaan ja implantoituu HGSC-kasvaimeksi. B. Karsinoomasolukon asteittainen kehittyminen munanjohtimen fimbrioissa ja siirtyminen STIC-muutoksina munasarjan pintaan. (Kuva artikkelista ”The Origin and Pathogenesis of Epithelial Ovarian Cancer – a Proposed Unifying Theory”. Kurman et al. 2010.³)



Vastaavia tutkimuksia muiden histologisten munasarjasyöpätyyppien, etenkin musinoosin ja kirkkasolukarsinooman, patogeneesistä on huomattavasti vähemmän. Sen sijaan endometrioosin ja endometrioidin munasarjakarsinooman välistä yhteyttä on tutkittu jo pitkään, ja ainakin osa endometrioidien munasarjakarsinoomien patogeneesistä saattaa selittyä endometrioosipesäkkeen malignisoinnilla^{7,8}.

1.2 HNPCC ja Lynchin syndrooma

Hereditaarinen ei-polypoottinen suolisyöpä (HNPCC) on vallitsevasti periytyvä syöpäalttius, jonka yleisyys väestössä on noin 1:400-2 000⁵. HNPCC onkin BRCA1/2-mutaatioiden jälkeen yleisin munasarjasyöpää aiheuttava perinnöllinen syöpäsyndrooma. Syöpäalttius johtuu DNA-vaurioita korjaavien mismatch repair (MMR) –geenien inaktivaatiosta. Kun MMR-geenin mutaatio on todettu,

oireyhtymää kutsutaan Lynchin syndroomaksi. 60-70 % HNPCC-potilaiden syöivistä on suolisto-
tosyöpiä, mutta syndroomaan kuuluu myös kahdeksankertainen riski sairastua munasarjasyöpään
terveeseen väestöön verrattuna.^{26,27} Lisäksi HNPCC-mutaationkantajilla on 40-60 %:n elinikäinen
riski sairastua kohdunrunгон syöpään.²⁸ Suomessa HNPCC-potilaita on arviolta 2 500-5 000²⁶.

HNPCC-potilaiden munasarjasyöpä kehittyy mahdollisesti eri tavalla kuin BRCA1/2-potilaiden:
histologialtaan se kuuluu tyypillisesti non-serööseihin syöpiin (endometrioidi, musinoosi, kirkasso-
luinen), jotka kehittyvät useimmiten low-grade -reittiä.²⁹ Hitaammasta kasvutavasta johtuen syö-
vän varhaismuutosten havaitseminen ennen maligniteettipotentialin lisääntymistä on ainakin teori-
assa mahdollista. Samasta syystä HNPCC-potilaiden munasarjasyöväät ovat myös ennusteeltaan suo-
tuisia: vuonna 2010 tehdyssä tutkimuksessa HNPCC-potilaiden 10-vuotiselossaoloennuste oli mu-
nasarjasyövän osalta sekä BRCA-mutaationkantajien että sporadisten syöpätapausten ennustetta pa-
rempi (HNPCC-potilailla 80,6%, BRCA-potilailla 36%, sporadisissa 37,3%)³⁰.

Gynekologisten syöpien ehkäisemiseksi HNPCC-potilaille suositellaan vuosittaisia gynekologin tut-
kimuksia sekä transvaginaalista ultraäänitutkimusta mutaationkantajanaisten täytettyä 35 vuotta²⁷.
Koska etenkin munasarjasyövän havaitseminen on näillä tutkimusmenetelmillä haasteellista, on
profylaktinen kirurgia suuressa roolissa myös HNPCC-potilaiden hoidossa. Usein potilaille tehdään
sekä hysterektomia että bilateraalin salphingo-oophorektomia (RRSO, risk-reducing salpingo-
oophorectomy) lapsiluvun täytyttyä.³¹ HNPCC-potilaiden profylaktisen kirurgian on todettu pie-
nentävän sekä munasarja- että endometriumsyövän ilmaantuvuutta merkittävästi seurantakäyntejä
enemmän³². Lisäksi profylaktisen kirurgian avulla saavutetaan vuosittaisia seurantakäyntejä pa-
rempi tulos sekä laatuolosuhteissa elinvuosissa (QALY) että kustannustehokkuudessa³³.

HNPCC-potilaiden profylaktisesti poistettuja kudoksenäytteitä tutkimalla saatetaan saada lisätietoa
erityisesti endometrioidin munasarjasyöpätyypin varhaismuutoksista. Tutkimuksia HNPCC-potilai-
den RRSO-näytteistä ei kuitenkaan ole paljon, ja ne koskevat pääosin kohdunrunkosyöpää.³¹

1.3 Tutkimuksen tavoitteet

Tutkimuksen tavoitteena on

- a) kartoittaa HNPCC-potilaiden profylaktisesti poistettujen ovarioiden histologisia muutoksia
- b) kartoittaa endometrioidin munasarjasyöpäsolukon alkuperää immunohistokemiallisin menetelmin (endometriaalinen/ovariaalinen).

Epiteliaalisten munasarjasyöpien alkuperäsolukkoa ja varhaismuutoksia koskevat tutkimukset on teetetty lähinnä BRCA1/2-potilailla, joten niistä saatu data kertoo pääosin high-grade seröösien ovariokarsinooman patogeneesistä. Vastaavia tutkimuksia non-seröösien syöpätyyppien syntymekanismista HNPCC-potilailla ei ole vielä tehty.

2 Tutkimusmetodi

2.1 Aineisto

Tutkimuksen aineisto on retrospektiivinen ja se muodostuu seuraavista tutkimus- ja verrokinäytteistä:

1. Tamperelaisten ja jyvaskyläläisten HNPCC-potilaiden profylaktisista adneksien poistoleikkauksista peräisin olevat ovarionäytteet (n=10).
2. Hyvänlaatuisista syistä TAYS:iin gynekologiseen leikkaukseen tulleiden, ei-mutaationkantajien ja munasarjasyövän suhteen matalan riskin naisilta peräisin olevat ovarionäytteet (n=10).
3. TAYS:in endometrioidit munasarjasyöpätapaukset (n=13), joista on saatavilla samalta potilaalta endometriumnäyte (n=13) ja ovarion pintaepiteelinäyte (n=6)

Munasarjasyöpäpotilaiden alkuperäisistä blokeista on muodostettu monikudosblokit (TMA; tissue micro array, n=3), joihin on kerätty samalta potilaalta kolme edustavaa 2 mm:n läpimittaista lieriötä (punch) munasarjasyöpäkasvaimesta, endometriumilta ja mahdollisuuksien mukaan munasarjan pintasolukosta (OSE). Kaikista tutkimukseen sisällytetyistä munasarjasyöpäpotilaista ei ollut saatavilla munasarjan pintaepiteelinäytettä.

HNPCC-potilaiden näytteet kerättiin Pirkanmaan sairaanhoitopiiriin lisäksi Keski-Suomen sairaanhoitopiiristä. Tästä huolimatta aineisto jää pieneksi perinnöllisten syöpäsyndroomien harvinaisuuden vuoksi. Kyseessä on kuitenkin pilottivaiheen tutkimus, jolla kartoitetaan jatkotutkimusten tarvetta. Tampereen yliopistollisen sairaalan erityisvastuualueen alueellinen eettinen toimikunta on antanut tutkimussuunnitelmasta puoltavan lausunnon (10/2008, ETL-koodi R09108) ja potilailta on saatu kirjallinen suostumus käyttää kudospäätteitä tutkimuksessa.

2.2 Tutkimusmenetelmät

2.2.1 HNPCC-potilaiden profylaktisesti poistettujen ovarioiden varhaismuutosten kartoitus

HNPCC-potilaiden näytelasit värjättiin hematoksyliini-eosiinivärjäyksellä yleistä morfologian tarkastelua varten. Verrokkeina toimivat TAYS:issä kevään 2011 aikana hyvänlaatuisista syistä gynekologiseen leikkaukseen tulleet ei-mutaationkantajanaiset (n=10). Näytteet mikroskopoitiiin ja syövän varhaismuutoksiin viittaavat löydökset taulukoitiin. Munasarjoista analysoitiin seuraavat asiat: epiteelin pseudostratifikaatio, papillomatoosi, kortikaaliset invaginaatiot (lkm) ja inkluusiokystat (lkm), endometriosisin esiintyminen.

2.2.2 Endometrioidin ovarioikarsinooman alkuperäissolukon selvittäminen

Endometrioidien ovarioikarsinoomanäytteiden TMA-lasit värjättiin immunohistokemiallisesti viidellä eri vasta-aineella: EMA, HOXA10, tyyppi 1 17 β -dehydroksisteroididehydrogenaasi (17 β -HSD1), PR A ja PR B. Värjäysprotokollat on esitetty taulukossa 1.

Vasta-aineet valittiin kirjallisuuskatsauksen perusteella niin, että niillä olisi erilainen värjäytyvyysprofiili OSE:n ja normaalin endometrium suhteen (*Taulukko 2*). Näin voitaisiin ainakin teoriassa tehdä päätelmiä endometrioidin munasarjasyövän alkuperäsolukon suhteen. Värjäytyneisyys tulkittiin joko positiiviseksi tai negatiiviseksi. Proteiinien ilmentymistasot eivät siis olleet kiinnostuksen kohteena.

Taulukko 1: Immunohistokemiallisten värjäysten protokolla

Depara- finointi	3x5 min n-heksaani
	2 min absoluuttinen etanoli
	ilmakuivaus vetokaapissa
Esikäsitteily	Keitto +121 C 2 min TE-puskuri pH 9
Protokolla	TBS-Tween -huuhtelu
	Vasta-aine, 30 min*
	TBS-Tween -huuhtelu x 2
	Power Vision Post Block 1:2, 20 min
	TBS-Tween -huuhtelu x 1
	Power Vision HRP 1:2, 30 min
	TBS-Tween -huuhtelu x 2
	Kromogeeni DABimmPACT, 5 min
	Vesihuuhtelu x 1
	TBS-Tween -huuhtelu x 1
	Mayerin hematoksyleeni, 2 min
	TBS-Tween -huuhtelu x 1
	Vesihuuhtelu x 1
Jälkikäsitteily	Puskurijäämien poistaminen tislattulla vedellä
	Ilmakuivaus ja päällystys

*Vasta-aineiden laimennossuhteet: EMA 1:5000 ja 1:7500, PR A 1:4000, PR B 1:500, 17 β -HSD1 1:300

Taulukko 2: Immunohistokemiallisten värien kohdeproteiinit ja värjäytyvyys

Väri	Kohdeproteiini	Värjäytyvyys	Endometrium	OSE
anti-EMA	Epithelial membrane antigen	Membraani, sytoplasma	(++)	(- tai heikko +)
anti-HOXA10	Homeobox-proteiini Hox-A10	Tuma	(+)	(-)
anti-17-beta-HSD1	Hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 1	Sytoplasma	(-)	(+)
anti-PR A	Progesteronireseptori A	Tuma	(+)	(+, -/+*)
anti-PR B	Progesteronireseptori B	Tuma	(+)	(+, ++*)

*Premaligneissa/maligneissa ekspressio muuttuu

2.3 Tilastollinen analyysi

Morfologisten muutosten esiintyvyyden eroja HNPCC- ja verrokkipotilailla analysoitiin tilastollisesti käyttäen SPSS-ohjelmiston versiota 22. Luokiteltujen muuttujien (kyllä/ei) jakautumista eri ryhmien välillä analysoitiin ristiintaulukoinnilla. Inklusiokystien ja invaginaatioiden lukumäärän vaihtelua tutkimus- ja verrokkiryhmien välillä analysoitiin nonparametrisella testillä (Mann-Whitney U), koska muuttujat eivät noudattaneet normaalijakaumaa. Tilastollisen merkitsevyyden rajana pidettiin tasoa $p < 0.05$. Immunohistokemiallisten värjäyksien tuloksia ei analysoitu tilastollisesti jo alun perin pienen otoskoon ja onnistuneiden näytteiden pienen lukumäärän vuoksi.

3 Tulokset

3.1 Munasarjasyövän morfologiset muutokset HNPCC-potilailla ja terveillä verrokeilla

Inklusiokystien taulukoinnissa yksi verrokkiryhmän potilas jätettiin arvioinnin ulkopuolelle kystadenoomista johtuvien tulkintavaikeuksien vuoksi. HNPCC-potilaista viidellä kymmenestä esiintyi inklusiokystia, verrokkiryhmässä kolmella yhdeksästä (50 % vs 33 % potilaista, Fisher's Exact $p=0,65$). Inklusiokystien lukumäärän keskiarvo potilasta kohden ei eronnut HNPCC-ryhmän ja verrokkiryhmän välillä (0,98 vs 0,39; Mann-Whitney U $p=0,497$). Jos huomioidaan ainoastaan potilaat, joilla inklusiokystia esiintyi, muutosten lukumäärän keskiarvo potilasta kohden oli HNPCC-ryhmässä suurempi kuin verrokkiryhmässä, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä (1,96 vs 1,17; Mann-Whitney U $p=0.786$).

OSE:n invaginaatioita esiintyi HNPCC-potilailla vähemmän kuin verrokkiryhmässä (50 % vs 70 %;). Epiteelin invaginaatioiden lukumäärän keskiarvo oli HNPCC- ja verrokkiryhmässä samansuuruisen (1,05 vs 0,86; Mann-Whitney U $p=0,796$). Jos huomioidaan ainoastaan potilaat, joilla epiteelin invaginaatioita esiintyi, muutosten lukumäärän keskiarvo potilasta kohden oli HNPCC-ryhmässä suurempi kuin verrokkiryhmässä, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä (2,1 vs 1,2; Mann-Whitney U $p=0.393$).

Epiteelin pseudostratifikaatiota esiintyi kymmenestä HNPCC-potilaasta kuudella, verrokkiryhmässä viidellä (60 % vs 50 %, Fisher's exact $p=1,00$).

Papillomatoosia esiintyi HNPCC-potilaista kahdella, verrokkiryhmässä kahdeksalla (20 % vs. 80 %, Fisher's Exact $p=0,02$). Endometrioosia ei havaittu HNPCC-potilaiden näytteissä. Yhteenveto tuloksista on esitetty taulukossa 4.

Taulukko 3: Morfologian tarkastelun tulokset potilaskohtaisesti taulukoituna.

Case no	HNPCC	IC	IC lkm	Invag	Invag lkm	Pseudostrat	Papillat
1102190	ei	0	0	1	3,3	1	1
1104899	ei	*	*	1	1,25	1	1
105899	ei	0	0	1	0,5	1	1
1105120	ei	0	0	0	0	0	1
1105984	ei	1	1	1	0,5	0	1
1112092	ei	0	0	1	1	0	1
1112797	ei	0	0	1	0,5	1	1
1112062	ei	0	0	0	0	1	0
1040218	ei	1	2	0	0	0	0
1103529	ei	1	0,5	1	1,5	0	1
1536-01	kyllä	0	0	1	3	1	1
3946-01	kyllä	0	0	0	0	0	0
1044-03	kyllä	0	0	0	0	0	0
11122-05	kyllä	0	0	1	2	0	0
05-7608	kyllä	1	0,5	1	0,5	1	0
96-15712	kyllä	1	2,3	0	0	0	0
818320	kyllä	1	0,5	0	0	1	0
04-22293	kyllä	0	0	0	0	1	0
827517	kyllä	1	5,5	1	4	1	1
01-23473	kyllä	1	1	1	1	1	0

*Ei analysoitavissa

Taulukko 4: Yhteenveto morfologisista muutoksista HNPCC- ja verrokkipotilaiden ovarionäytteissä

	HNPCC	Verrokki	
IC n (%)	5/10 (50)	3/9 (33)	p=0,65
lkm/näyte	0,98	0,39	p=0,497
Invag n (%)	5/10 (50)	7/10 (70)	
lkm/näyte	1,05	0,86	p=0,796
Pseudostrat	6/10 (60)	5/10 (50)	p=1,00
Papillomatoosi	2/10 (20)	8/10 (80)	p=0,02*

*p<0,05

3.2 Ovariokarsinomapotilailla tehdyt immunohistokemialliset värjäykset

Lopulliseen tulkintaan sisällytettiin kolme immunohistokemiallista väriä: EMA, PR A ja PR B. Kaksi muuta vasta-ainetta (HOXA ja 17-B-HSD) jätettiin tulkinnan ulkopuolelle, koska kaupallisesti saatavilla olevien HOXA ja 17-B-HSD vasta-aineiden hybridisaatio-olosuhteita ei onnistuttu optimoimaan luotettavasti toistuvista yrityksistä huolimatta. EMA-vasta-aineen kohdalla tulosten tulkinnassa käytettiin kahta eri laimennosta kohdekudoksesta riippuen (endometrium 1:5000 ja OSE 1:7500).

Värjäys tulkittiin näytekohtaisesti joko positiiviseksi tai negatiiviseksi. Värjäys tulkittiin positiiviseksi, mikäli spesifiä värjäytyvyyttä havaittiin (kuva 3). Näytteiden tulkinnassa negatiivinen värjäystulos ilmaistiin arvolla 0, positiivinen arvolla 1. Jos samasta kudoksesta oli useita näytteitä, laskettiin näytteiden värjäystuloksista keskiarvo, joka pyöristettiin lähimpään kokonaislukuun. Tämän perusteella kunkin kudoksen (OSE/karsinomasolukko/endometrium) värjäystulos tulkittiin potilas-kohtaisesti joko positiiviseksi (1) tai negatiiviseksi (0).

EMA-värjäyksessä endometrium (n=12) värjäytyi pääosin positiivisesti (92 % positiivisia). Myös karsinomasolukko värjäytyi pääosin positiivisesti: kahdestatoista näytteestä yksitoista oli EMA-positiivisia (92 %).

OSE-solukosta saatiin laimennossuhteella 1:7500 viisi edustavaa näytettä, jotka värjäytyivät pääosin EMA-negatiivisiksi (60 % negatiivisia).*

Kun verrattiin näytteitä, joista EMA-värjäys oli käytettävissä sekä karsinoomasolukosta että endometriumsolukosta (n=9), EMA:n värjäytyvyys oli yhteneväinen 89%:ssa (8/9 tapausta). Kun vastavasti verrattiin näytteitä joista EMA-värjäys oli käytettävissä sekä karsinoomasolukosta että OSE:sta (n=5), EMA:n värjäytyvyys oli yhteneväinen vain 40%:ssa eli kahdessa tapauksessa.

*Laimennossuhteella 1:5000 käytettävissä oli vain yksi edustava näyte, joka värjäytyi EMA-negatiiviseksi

PR A-värjäys oli kaikkien endometriumnäytteiden osalta positiivinen (100 % positiivisia). Karsinoomasolukko (n=12) värjäytyi pääosin negatiivisesti (58 % negatiivisia). OSE-solukko (n=5) värjäytyi pääosin PR A-positiivisesti (60 % positiivisia).

Kun verrattiin näytteitä, joista PR A-värjäys oli käytettävissä sekä karsinoomasolukosta että endometriumsolukosta (n=9), PR A:n värjäytyvyys oli yhteneväinen 55%:ssa (5/9 tapausta). Kun vastavasti verrattiin näytteitä joista PR A-värjäys oli käytettävissä sekä karsinoomasolukosta että OSE:sta (n=5), PR A:n värjäytyvyys oli yhteneväinen 60%:ssa eli kolmessa tapauksessa.

PR B-värjäyksessä endometriumsolukko värjäytyi pääosin positiivisesti (52 % positiivisia). Karsinoomasolukko (n=11) jäi PR B:n osalta negatiiviseksi (73 % negatiivisia). OSE (n=6) värjäytyi enimmäkseen PR B-negatiivisesti (83% negatiivisia).

Kun verrattiin näytteitä, joista PR B-värjäys oli käytettävissä sekä karsinoomasolukosta että endometriumsolukosta (n=9), PR B:n värjäytyvyys oli yhteneväinen 55%:ssa (5/9 tapausta). Kun vastavasti verrattiin näytteitä joista PR B-värjäys oli käytettävissä sekä karsinoomasolukosta että OSE:sta (n=6), PR B:n värjäytyvyys oli yhteneväinen 100%:ssa eli kaikissa kuudessa tapauksessa.

Tulosten yhteenveto on esitetty taakukkoissa 5 ja 6.

Taulukko 5: IHC-värjäysten tulokset (positiivisesti värjäytyneiden näytteiden osuus kaikista näytteistä)

	Ova-CA n (%)	Endometrium n (%)	OSE n (%)
EMA	11/12 (92)*	11/12 (92)*	2/5 (40)**
PR A	5/12 (42)	10/10 (100)	3/5 (60)
PR B	3/11 (27)	6/11 (52)	1/6 (17)

*EMA 1:5000

**EMA 1:7500

Taulukko 6: Karsinoomasolukon IHC-värjäytyvyyden yhteneväisyys saman potilaan OSE-/endometriumnäytteiden värjäytyvyyteen (värjäystulokseltaan yhtenevien näytteiden osuus kaikista näytteistä)

	Ova-CA vs. endometrium n (%)	Ova-CA vs. OSE n (%)
EMA	8/9 (89)	2/5 (40)
PR A	5/9 (55)	3/5 (60)
PR B	5/9 (55)	6/6 (100)

4 Pohdinta

Tulososioon sisällytettiin kolme IHC-vasta-ainetta (EMA, PR A ja PR B). EMA (epithelial membrane antigen) kuuluu HMFG (human milk fat globule) –transmembraaniproteiinien ryhmään, joita esiintyy rintarauhaskudoksen lisäksi muissa sekretoisen epiteelin soluissa. HMFG-proteiineja esiintyy vähäisemmässä määrin myös ei-sekretorisessä epiteelissä ja harvoin ei-epiteliallisissa soluissa. Rintasyövät ovat tyypillisesti voimakkaan anti-EMA-positiivisia. Munasarjasyövät värjäytyvät myös positiivisesti, mutta eivät yhtä voimakkaasti kuin rintasyövät. Normaali endometriumsolukko värjäytyy voimakkaan positiivisesti, ja munasarjan pintaepiteeli (ei-sekretorinen kuutioepiteeli) värjäytyy joko negatiivisesti tai heikon positiivisesti.³⁵

Progesteronireseptori-isoformit A ja B ovat tumareseptoreita, jotka saavat aikaan progesteronin vaikutukset kohdesoluissa. Progesteronireseptorien lukumäärä riippuu normaalitilanteessa estrogeenin ja progesteronin pitoisuuksista. Estrogeeni lisää progesteronireseptorien lukumäärää (upregulaatio), progesteroni vähentää (downregulaatio). Normaali OSE värjäytyy pääsääntöisesti PR-positiivisesti. Munasarjasyövän PR-värjäytyvyys oli kirjallisuuskatsauksen perusteella epäselvä. On esitetty, että PR-ekspressio muuttuu malignisoitumisen myötä siten, että suhteellinen PR A -ekspressio vähenee ja PR B -ekspressio lisääntyy. Toisaalta munasarjasyövät voivat olla kokonaan PR-negatiivisia. Munasarja- ja rintasyövässä PR-positiivisuus liittyy tyypillisesti hyvin erilaistuneeseen syöpäkasvaimen ja siten parempaan ennusteeseen.³⁶

Tutkimuksessa käytettyjen immunohistokemiallisten vasta-aineiden värjäytyvyys ei johdonmukaisesti tukenut tai poissulkenut syövän ekstraovariaalista teoriaa. EMA-värjäyksessä havaittiin yhteneväisyyttä endometrium ja karsinoomasolukon värjäytyvyydessä, mikä tukee ekstraovariaalista

teoriaa. PR B-värjäyksessä puolestaan havaittiin 100%:n yhteneväisyys OSE:n ja karsinoomasolukon värjäytyvyydessä, mikä on ristiriidassa EMA-värjäyksen tuloksen kanssa. PR A-värjäyksessä ei havaittu selkeää yhteneväisyyttä karsinoomasolukon ja OSE:n tai endometriumin värjäytyvyydessä. Tulkintaa progesteronireseptori-isoformien värjäytyvyydestä vaikeuttaa PR:n värjäytyvyyden mahdollinen muuntuminen malignin prosessin aikana, joten tässä tutkimusasetelmassa merkittävää lisäinformaatiota vasta-ainevärjäystuloksiin olisi saavutettu 17B-HSD1- ja HOXA-värjäyksillä, joilla on kirjallisuuskatsauksen perusteella selkeä ja stabiili ero värjäytyvyydessä OSE:n ja endometriumin välillä. Nämä vasta-aineet jouduttiin kuitenkin jättämään tulososion ulkopuolelle värjäysteknisten ongelmien vuoksi.

Yhteenvedona IHC-tuloksista voidaan siis todeta, että luotettavia johtopäätöksiä munasarjasyövän alkuperäsolukosta ei tämän tutkimuksen perusteella voi tehdä. Karsinoomasolukon värjäytyvyys ei johdonmukaisesti täsmännyt OSE:n tai endometriumin värjäytyvyyteen, vaikka EMA-värjäys olikin viitteellinen endometriumin suhteen alkuperäsolukkona. Lisäksi värjäysten tulkintaa vaikeutti OSE-näytteiden hävikki, joka aiheutui TMA-blokkien käsittelyvaikeuksista.

Morfologisten muutosten esiintyvyydessä ei havaittu merkitsevää eroa verrokkien ja geneettisen syöpäalttiuden omaavien potilaiden välillä, eikä HNPCC-potilaiden näytteissä havaittu esiintyvän endometrioosia. Munasarjan pintaepiteelin papillomatoosia esiintyi kuitenkin verrokkiryhmässä enemmän kuin HNPCC-potilailla ($p=0,02$). Pintaepiteelin morfologiset muutokset eivät tutkimuksen perusteella vaikuta tärkeiltä esiastemuutoksilta HNPCC-potilaiden munasarjasyövän kehityksessä. Tutkimuksen heikkoutena on aineiston pieni koko, jonka vuoksi pienet erot esiintyvyydessä eivät välttämättä tule esille. Näytteitä ei ns. ultradissekoitu, eli morfologisia muutoksia on voinut jäädä huomaamatta. Tutkimuksessa ei huomioitu yksilöllisten tekijöiden, kuten ovulaatioiden lukumäärän (synnytykset, ikä, hormonaalinen ehkäisy), vaikutusta esiastemuutoksina pidettyjen morfologisten muutosten esiintyvyyteen. Onkin mahdollista, että nämä muutokset liittyvät ovulaation aikaansaamaan epiteelivaurioon, eivätkä siten kerro geneettisen syöpäalttiuden omaavien potilaiden munasarjasyövän kehityksestä.

Perinnöllisten syöpäsyndroomien harvinaisuuden vuoksi aineisto jäi pieneksi, vaikka potilaita kerättiin kahden sairaanhoitopiirin alueelta. Jatkotutkimuksissa keskeistä on aineiston keruu pidemmältä ajalta ja useamman sairaanhoitopiirin alueelta.

Tehokkaan munasarjasyövän seulonta- ja hoitomenetelmän kehittäminen edellyttää lisäinformaatiota syövän patogeneesistä. Koska syövän varhaisvaiheita ei vielä täysin ymmärretä, hoidon pääpaino on toistaiseksi edelleen primaaripreventiossa. Ajankohtainen keskustelunaihe on, voidaanko

BRCA1/2-mutaationkantajaisille suorittaa salpingo-oophorektomian sijaan kaksiosainen profylaktinen leikkaus^{37,38}. Tällöin munanjohtimet poistettaisiin lapsiluvun täytyttyä ja munasarjat vasta menopaussin jälkeen. Bilateraalisesta salpingektomian vaikuttavuudesta munasarjasyövän ehkäisyssä ei kuitenkaan ole vielä tehty satunnaistettuja, kontrolloituja tutkimuksia. Kaksivaiheinen leikkaus saattaisi lisätä laatuvaikutteisia elinvuosia etenkin nuorilla BRCA1/2-mutaationkantajaisilla, joten jatkotutkimukset aiheesta ovat tarpeellisia. Näin ollen myös HNPCC-syndroomaan liittyvä profylaktisten näytteiden ja yleensä kirkassolu- ja endometrioidin karsinooman esiastesolukkeen keskitetty tutkimus on erittäin merkityksellistä. Mikäli ekstraovariaalinen teoria saa tukea myös muiden kuin seröösien munasarjasyöpien kohdalla, voi sillä olla kauaskantoisia seurauksia myös HNPCC-mutaatiokantajanaisten seurantaan ja profylaktisen kirurgian suosituksiin.

5 Lähteet

1. Suomen syöpärekisteri. ”Yleisimmät syövät vuonna 2010, NAISSET”, ”Keskimääräiset syöpätapausten määrät vuosina 1964-2010 primaaripaikoittain ja kalenterijaksoittain, NAISSET”, ”Syöpäpotilaiden eloonjäämisluvut”. www.syoparekisteri.fi. Updated 2013.
2. Bell et al. Early de novo ovarian carcinoma. A study of fourteen cases. *Cancer*. 1994;73(7):1859-1864.
3. Kurman RJ, Shih I. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: A proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(3):433-443.
4. Leminen A, Loukovaara M. Epiteliaalinen munasarjasyöpä. In: *Naistentaudit ja synnytykset*. Kustannus Oy Duodecim; 2011.
5. Grenman S, Leminen A. Epiteliaaliset munasarjasyövät. In: *Syöpätaudit*. Kustannus Oy Duodecim; 2013.
6. Shih I, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: A proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol*. 2004;164(5):1511-1518.
7. Ogawa S, Kaku T, Amada S, et al. Ovarian endometriosis associated with ovarian carcinoma: A clinicopathological and immunohistochemical study. *Gynecol Oncol*. 2000;77(2):298-304.
8. Fukunaga M, Nomura K, Ishikawa E, Ushigome S. Ovarian atypical endometriosis: Its close association with malignant epithelial tumours. *Histopathology*. 1997;30(3):249-255.
9. Härkönen P, Väänänen K. Naisen sukupuolielinten kehitys. In: *Naistentaudit ja synnytykset*. Kustannus Oy Duodecim; 2011.
10. Cho KR, Shih I. Ovarian cancer. *Annu Rev Pathol*. 2009;4:287-313.
11. Riman T, Persson I, Nilsson S. Hormonal aspects of epithelial ovarian cancer: Review of epidemiological evidence. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998;49(6):695-707.
12. Reade CJ, McVey RM, Tone AA, et al. The fallopian tube as the origin of high grade serous ovarian cancer: Review of a paradigm shift. *J Obstet Gynaecol Can*. 2014;36(2):133-140.
13. Bell KA, Kurman RJ. A clinicopathologic analysis of atypical proliferative (borderline) tumors and well-differentiated endometrioid adenocarcinomas of the ovary. *Am J Surg Pathol*. 2000;24(11):1465-1479.
14. Levanon K, Crum C, Drapkin R. New insights into the pathogenesis of serous ovarian cancer and its clinical impact. *J Clin Oncol*. 2008;26(32):5284-5293.
15. Aittomäki Kea. BRCA1- ja BRCA2-geenivirheet ja niihin liittyvä rinta- ja munasarjasyövän riski. In: *Syöpätaudit*. Kustannus Oy Duodecim; 2013.
16. Gilks CB, Prat J. Ovarian carcinoma pathology and genetics: Recent advances. *Hum Pathol*. 2009;40(9):1213-1223.

17. Schlosshauer PW, Cohen CJ, Penault-Llorca F, et al. Prophylactic oophorectomy: A morphologic and immunohistochemical study. *Cancer*. 2003;98(12):2599-2606.
18. Cai KQ, Klein-Szanto A, Karthik D, et al. Age-dependent morphological alterations of human ovaries from populations with and without BRCA mutations. *Gynecol Oncol*. 2006;103(2):719-728.
19. Deligdisch L, Gil J, Kerner H, Wu HS, Beck D, Gershoni-Baruch R. Ovarian dysplasia in prophylactic oophorectomy specimens: Cytogenetic and morphometric correlations. *Cancer*. 1999;86(8):1544-1550.
20. Callahan MJ, Crum CP, Medeiros F, et al. Primary fallopian tube malignancies in BRCA-positive women undergoing surgery for ovarian cancer risk reduction. *J Clin Oncol*. 2007;25(25):3985-3990.
21. Piek JM, van Diest PJ, Zweemer RP, et al. Dysplastic changes in prophylactically removed fallopian tubes of women predisposed to developing ovarian cancer. *J Pathol*. 2001;195(4):451-456.
22. Perets R, Wyant GA, Muto KW, et al. Transformation of the fallopian tube secretory epithelium leads to high-grade serous ovarian cancer in brca;Tp53;pten models. *Cancer Cell*. 2013;24(6):751-765.
23. Kindelberger DW, Lee Y, Miron A, et al. Intraepithelial carcinoma of the fimbria and pelvic serous carcinoma: Evidence for a causal relationship. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(2):161-169.
24. Medeiros F, Muto MG, Lee Y, et al. The tubal fimbria is a preferred site for early adenocarcinoma in women with familial ovarian cancer syndrome. *Am J Surg Pathol*. 2006;30(2):230-236.
25. Finch AP, Lubinski J, Moller P, et al. Impact of oophorectomy on cancer incidence and mortality in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. *J Clin Oncol*. 2014;32(15):1547-1553.
26. Aittomäki K, Kääriäinen H, Mecklin J, Palva T. Periytyvä ei-polypoottinen suolisyöpä (HNPCC ja lynchin syndrooma). In: *Syöpätaudit*. Kustannus Oy Duodecim; 2013.
27. Aittomäki K, Kääriäinen H, Mecklin J, Palva T. Periytyvä alttius munasarjasyövässä. In: *Syöpätaudit*. Kustannus Oy Duodecim; 2013.
28. Grenman S, Auranen A. Kohdunrunгон syöpä. In: *Naistentaudit ja synnytykset*. 2011th ed. Kustannus Oy Duodecim.
29. Lynch HT, Casey MJ, Snyder CL, et al. Hereditary ovarian carcinoma: Heterogeneity, molecular genetics, pathology, and management. *Mol Oncol*. 2009;3(2):97-137.
30. Grindedal EM, Renkonen-Sinisalo L, Vasen H, et al. Survival in women with MMR mutations and ovarian cancer: A multicentre study in lynch syndrome kindreds. *J Med Genet*. 2010;47(2):99-102.
31. Downes MR, Allo G, McCluggage WG, et al. Review of findings in prophylactic gynaecological specimens in lynch syndrome with literature review and recommendations for grossing. *Histopathology*. 2014;65(2):228-239.

32. Schmeler KM, Lynch HT, Chen LM, et al. Prophylactic surgery to reduce the risk of gynecologic cancers in the lynch syndrome. *N Engl J Med*. 2006;354(3):261-269.
33. Yang KY, Caughey AB, Little SE, Cheung MK, Chen LM. A cost-effectiveness analysis of prophylactic surgery versus gynecologic surveillance for women from hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) families. *Fam Cancer*. 2011;10(3):535-543.
34. Biocare medical. Epithelial membrane antigen (EMA) [E29] -valmisteyhteenveto. <https://biocare.net/wp-content/uploads/3038.pdf>. Accessed 30.9., 2015.
35. Akahira J, Suzuki T, Ito K, et al. Differential expression of progesterone receptor isoforms A and B in the normal ovary, and in benign, borderline, and malignant ovarian tumors. *Jpn J Cancer Res*. 2002;93(7):807-815.
36. Committee on Gynecologic Practice. Committee opinion no. 620: Salpingectomy for ovarian cancer prevention. *Obstet Gynecol*. 2015;125(1):279-281.
37. Kwon JS, Tinker A, Pansegrau G, et al. Prophylactic salpingectomy and delayed oophorectomy as an alternative for BRCA mutation carriers. *Obstet Gynecol*. 2013;121(1):14-24.