T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAŞAKŞEHİR ÇAM VE SAKURA ŞEHİR HASTANESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ

MOL GEBELİKTE EPCAM VE MMP-9 EKSPRESYONLARININ RADYOLOJİK GÖRÜNTÜLEME VE KLİNİK İZLEM DESTEĞİ İLE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ VE TANISAL/PROGNOSTİK ROLÜ

Dr. Kardelen Türkü SAÇAR BAYRAKCI

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2025

T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAŞAKŞEHİR ÇAM VE SAKURA ŞEHİR HASTANESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ

MOL GEBELİKTE EPCAM VE MMP-9 EKSPRESYONLARININ RADYOLOJİK GÖRÜNTÜLEME VE KLİNİK İZLEM DESTEĞİ İLE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ VE TANISAL/PROGNOSTİK ROLÜ

Dr. Kardelen Türkü SAÇAR BAYRAKCI

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İlkbal TEMEL YÜKSEL

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2025

TEŞEKKÜR

Asistanlığımın ilk gününden beri desteklerini esirgemeyip yanımızda olan, sadece hekim gözüyle değil hayata bakış vizyonu olarak da bize kattıkları için Başhekimimiz ve Klinik Şefimiz Doç. Dr. İbrahim POLAT'a,

Cerrahi nosyonumu geliştirmemde, becerilerimi pekiştirmemde ve mesleki yolculuğumda bana rehberlik eden hocam Prof. Dr. Berna ASLAN'a,

Cerrahi kararlarımda daha özgüvenli olmamı sağlayan ve tez sürecimde desteğini sakınmayan tez danışmanım Doç. Dr. İlkbal Temel YÜKSEL'e,

Disiplini, titizliği ve sorumluluk bilinciyle bizlere örnek olan, hekimlik anlayışımıza katkı sağlayan Doç. Dr. Burak YÜCEL'e,

Cerrahi başarısının detaylara verilen önem, sabır ve hassasiyetle şekillendiğini öğrettiği için Doç. Dr. Barış KAYA'ya,

Bilgi ve tecrübelerini paylaşarak bizleri mesleki anlamda geliştiren, bizleri daima ileriye taşıyan rehberlikleri ve meslek hayatımıza kattıkları için Prof. Dr. Pakizer Banu KILIÇOĞLU DANE, Doç. Dr. Hakan ERENEL, Doç.Dr Mustafa Can SİVAS, Doç. Dr Gülhan GÜNEŞ ELÇİ ve tüm uzmanlarıma, bu zorlu ama öğretici süreci birlikte deneyimlediğimiz, dayanışma ve destekleriyle her anımı anlamlı kılan tüm asistan arkadaşlarıma,

Tez sürecimdeki desteği ve rehberliği ile akademik gelişimime büyük katkı sağlayan, sabrı ve özverisiyle bana ilham veren Op. Dr. Gazi GÜNER'e,

Mesleki duruşu, etik anlayışı ve bilgi paylaşımınızdaki cömertliği ile bizlere örnek olan Op. Dr. Can TERCAN'a,

Tükenmek bilmeyen sabrı ve bitmeyen eğitim tutkusu ile bizlere rehberlik eden, sakinliğin en etkili yaklaşım olduğunu öğreten Op. Dr Emrullah AKAY'a.

Tez sürecimde desteklerini esirgemeyen etik anlayışıyla çalışma hayatıma yön veren Uzm. Dr. Alper KOÇBIYIK'a,

Hayatın tüm alanlarında özellikle akademik çerçevede yaptıklarıyla kendime örnek aldığım tezimin her aşamasında destek olan canım arkadaşım Uzm. Dr. Ali DABLAN‘a,

Sürecin her aşamasında varlığıyla güç veren, fedakarlığıyla destek olan ve rehberliğiyle yolumu açan, varlığıyla hayatımı güzelleştiren eşim Kemal BAYRAKCI ve kızım Fikriye Ada BAYRAKCI’ya,

Her zorlukta sığınabileceğim bir liman olan, hayatımın her adımında bana güç veren, sevgisini ve desteğini hiç esirgemeyen annem Nermin UYURDAĞ‘a ve aileme,

Sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Kardelen Türkü SAÇAR BAYRAKCI

İstanbul, 2025

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **i**

İÇİNDEKİLER ..... **iii**

TABLOLAR LİSTESİ ..... **vi**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **vii**

KISALTMALAR ..... **ix**

ÖZET ..... **xi**

ABSTRACT ..... **xiii**

1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**

2. GENEL BİLGİLER **3**

2.1. GESTASYONEL TROFOBLASTİK HASTALIK (GTH) 3

2.1.1. Hidatiform Mol Gebelik (MOL HİDATİFORMİS) 3

2.1.1.1. Tanım ve Sınıflandırma 3

2.1.1.2. Epidemiyoloji ve Etiyoloji 4

2.1.1.3. Patofizyoloji 4

2.1.1.4. Histopatolojik Özellikler 4

2.1.1.4.1. Komplet Molün Özellikleri 4

2.1.1.4.2. Parsiyel Molün Özellikleri 5

2.1.1.4.3. İmmünohistokimyasal Belirteçler 5

2.1.1.5. Klinik Bulgular ve Tanı 5

2.1.1.6. Ayırıcı Tanı 6

2.1.1.7. Tedavi Yaklaşımları 6

2.1.1.8. Klinik Takip ve Prognoz 6

2.2. EPİTELİYAL HÜCRE ADEZYON MOLEKÜLÜ (EpCAM) 7

2.2.1. Gastrointestinal Sistem Tümörleri 8

2.2.2. Meme ve Jinekolojik Kanserler 9

2.2.3. Solunum Sistemi Tümörleri 9

2.2.4. Ürogenital Sistem Tümörleri 10

2.2.5. Klinik Önemi ve Mol Gebelikle İlişkisi 10

2.3. MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-9 (MMP-9) 10

2.3.1. MMP-9'un Malignite ile İlişkili Çalışmalarda Gösterilen Rolü 11

2.3.2. MMP-9 ve Gestasyonel Trofoblastik Hastalıklarla İlişkisi 12

3. GEREÇ VE YÖNTEM 13

3.1. ARAŞTIRMANIN YÖNTEMİ 13

3.2. ÇALIŞMA GRUPLARI VE OLGU SEÇİMİ 13

3.3. HİSTOPATOLOJİK VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME 13

3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL SKORLAMA 14

3.4.1. MMP-9 Skorlama Yöntemi 15

3.4.2. EpCAM Skorlama Yöntemi 16

3.5. KLİNİK VE RADYOLOJİK VERİLERİN TOPLANMASI 17

3.6. VERİ YÖNETİMİ VE ETİK HUSUSLAR 17

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 17

4. BULGULAR 19

4.1. DEMOGRAFİK VE HEMATOLOJİK PARAMETRELER 19

4.2. PARSİYEL MOL GEBELİKLERDE ARTMIŞ EPCAM EKSPRESYONU VE AZALMIŞ CRP–FİBRİNOJEN DÜZEYLERİNİN KOMPLET MOL VE KONTROL GRUPLARIYLA KARŞILAŞTIRILMASI 21

4.3. MOL GEBELİKLERDE ARTMIŞ MMP-9 EKSPRESYONU 22

4.4. NON-PARAMETRİK BULGULAR 23

4.5. LOJİSTİK REGRESYON ANALİZİ VE GTN GELİŞİMİ İLE İLİŞKİLİ FAKTÖRLER 23

4.6. RADYOLOJİK BULGULAR 26

5. TARTIŞMA 28

6. SONUÇ 33

7. KAYNAKÇA 34

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Komplet ve Parsiyel Mol Gebeliğin Klinik ve Genetik Özellikleri..... 7

Tablo 2: Mol Gebelik Ayırıcı Tanısında Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler..... 7

Tablo 3: Klinik ve Demografik Bulgular..... 19

Tablo 4: Radyolojik bulguların GTN ile ilişkisi..... 26

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: EpCAM (Epitel Hücresi Adezyon Molekülü) Şematik Yapısı 8

Şekil 2: MMP-9 (Matriis Metallopreninaz-9) Şematik Yapısı 11

Şekil 3: Komplet mol gebeliğin H&E boyanma lam görseli (10x büyütmede) 14

Şekil 4: Parsiyel mol gebeliğin H&E boyanma lam görseli (20x büyütmede) 14

Şekil 5: Kontrol grubu H&E boyanma lam görseli (10x büyütme) 14

Şekil 6: Komplet mol MMP-9 boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 3) 15

Şekil 7: Parsiyel mol MMP-9 boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 1) 15

Şekil 8: Kontrol grubu MMP-9 boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 0) 15

Şekil 9: Parsiyel mol EpCAM boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 2) 16

Şekil 10: Komplet mol EpCAM boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 1) 16

Şekil 11: Kontrol grubu EpCAM boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 0) 16

Şekil 12: Kan grubu ve Rh faktörü genel dağılımı 20

Şekil 13: Demografik özelliklerin karşılaştırılması 20

Şekil 14: CRP'nin gruplar arası değerlendirilmesi Plot analizi 21

Şekil 15: Fibrinojenin gruplar arası değerlendirilmesi Plot analizi 21

Şekil 16: EpCAM ekspresyonu (yüzde dağılımı) 21

Şekil 17: EpCAM boyanma gruplar arası değerlendirilmesi Plot analizi..... 21

Şekil 18: MMP-9 boyanma gruplar arası değerlendirilmesi grafiği..... 22

Şekil 19: Sırasıyla MMP-9 boyanma skoru- boyanma yüzdesi-TIS skoru gruplar arası değerlendirilmesi Post-Hoc analizi..... 22

Şekil 20: B-hCG'nin gruplar arası değerlendirilmesi Post-Hoc ve Plot analizi 25

Şekil 21: GTN gelişimi ile ilişkili prediktörlerin göreceli etki gücü görselleştirilmesi 25

Şekil 22: GTN gelişimini öngörme amacıyla MMP-9 boyanma, tanı anı B-hCG ve RC sonrası B-hCG düşüş yüzdeleriyle oluşturulan lojistik regresyon analizi 25

Şekil 23: GTN Gelişimi için ROC Eğrisi (tanı anı B-hCG+B-hCG düşüş yüzdesi+MMP-9) 26

KISALTMALAR

CDKN1C : Sikline Bağımlı Kinaz İnhibitörü 1C

DNA : Deoksiribonükleik Asit

EGF : Epidermal Growth Factor (Epidermal Büyüme Faktörü)

EMT : Epitel-Mezenkimal Geçiş

EpCAM : Epiteliyal Hücre Adezyon Molekülü / Epithelial Cell Adhesion Molecule

EpICD : EpCAM Intracellular Domain

FFPE : Formalin-Fixed Paraffin-Embedded

GBM : Glioblastoma Multiforme

GTH : Gestasyonel Trofoblastik Hastalık

GTN : Gestasyonel Trofoblastik Neoplazi

HCC : Hepatoselüler Karsinom

HM : Hidatiform Mol

IL-1β : İnterlökin 1 Beta

kDa : Kilodalton

mIU/mL : Milli-International Unit / millilitre

MMP-9 : Matriks Metalloproteinaz-9

MÖ : Milattan Önce

MRG : Manyetik Rezonans Görüntüleme

NSCLC : Non-small Cell Lung Cancer

PLAP : Plasental Alkalin Fosfataz

PTN : Persistans Trofoblastik Neoplazi

TNF-α : Tümör Nekroz Faktörü Alfa

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)

WHO : World Health Organization

β-hCG : Beta Human Chorionic Gonadotropin

MOL GEBELİKTE EPCAM VE MMP-9 EKSPRESYONLARININ RADYOLOJİK GÖRÜNTÜLEME VE KLİNİK İZLEM DESTEĞİ İLE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ VE TANISAL/PROGNOSTİK ROLÜ

ÖZET

Giriş: Hidatidiform mol, anormal trofoblastik proliferasyon ve düzensiz farklılaşma ile karakterize, bazı olgularda gestasyonel trofoblastik neoplaziye (GTN) ilerleyebilen patolojik bir gebelik formudur. Trofoblastik davranışla ilişkili moleküler belirteçlerin tanımlanması, tanısal doğruluğun artırılması ve malign potansiyelin öngörülmesi açısından önem taşımaktadır. Epitelyal Hücre Adezyon Molekülü (EpCAM) ve Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9), epitel farklılaşması ve hücre dışı matriksin yeniden şekillenmesi süreçlerinde görev alan iki önemli proteindir; ancak molar gebeliklerdeki klinik ve patolojik önemleri yeterince tanımlanmamıştır.

Amaç: Bu çalışmanın amacı, komplet ve parsiyel hidatiform mol olgularında EpCAM ve MMP-9'un immünohistokimyasal ekspresyonlarını değerlendirmek, bu bulguların klinik, biyokimyasal ve radyolojik verilerle ilişkisini incelemek ve GTN gelişimi açısından tanısal ve prognostik değerlerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: SBÜ Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi patoloji arşivinden geriye dönük olarak seçilen 135 formalinle fikse edilmiş parafin blok (FFPE) örneği (45 komplet mol, 45 parsiyel mol ve 45 birinci trimester mol dışı abort materyali) çalışmaya dâhil edilmiştir. İmmünohistokimyasal boyama anti-EpCAM ve anti-MMP-9 antikorları kullanılarak yapılmıştır. Boyanma yoğunluğu ve dağılımı Toplam İmmün Boyanma Skoru (TIS) ile yarı kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Klinik veriler, serum β-hCG düzeyleri ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) bulguları ile korelasyon analizleri gerçekleştirilmiş; istatistiksel değerlendirmede ANOVA, Kruskal–Wallis, korelasyon ve lojistik regresyon testleri kullanılmıştır (SPSS v25.0).

Bulgular: EpCAM immünoreaktivitesi trofoblastik hücrelerden çok desidual stromal hücrelerde yoğun olarak izlenmiştir. Parsiyel mol olgularında EpCAM ekspresyonu komplet mol ve kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek

bulunmuştur ($p<0.05$). Buna karşılık, MMP-9 ekspresyonu her iki molar grupta, özellikle komplet mol olgularında belirgin şekilde artmıştır ($p<0.001$). Serum CRP ve fibrinojen düzeyleri parsiyel mol olgularında anlamlı olarak daha düşük saptanmış, bu da daha sınırlı sistemik inflamatuvar yanıtı göstermiştir. Lojistik regresyon analizinde post-evakuasyon β-hCG düşüş hızı GTN gelişimi için en güçlü bağımsız prediktör olarak belirlenmiş ($p=0.016$), bunu MMP-9 aşırı ekspresyonu izlemiştir. MRG bulgularında GTN gelişen olgularda uterus duvarında kitle görünümü, miyometriyal invazyon ve heterojen sinyal intensitesi varlığı anlamlı olarak daha yüksek oranda gözlenmiştir.

Sonuç: Parsiyel mol gebeliklerde desidual stromal hücrelerde belirgin EpCAM pozitifliği, maternal immün toleransın ve endometriyal adaptasyonun arttığını göstermektedir. Komplet mol olgularında artmış MMP-9 ekspresyonu, trofoblastların artan invaziv potansiyelini ve doku destrüksiyon eğilimini ortaya koymaktadır. Ayrıca MMP-9 ekspresyonu ile β-hCG düzeyleri arasındaki paralellik, bu belirtecin post-evakuasyon dönemde GTN gelişim riski ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. MMP-9'un invaziv kapasiteyi, β-hCG düşüş hızının ise hastalık seyrini yansıttığı göz önüne alındığında, bu iki parametrenin birlikte değerlendirilmesi, yüksek riskli olguların erken dönemde saptanmasına katkı sağlayabilir. Bu iki moleküler belirtecin β-hCG kinetiği ve radyolojik izlem bulguları ile birlikte kullanımı, molar gebeliklerin tanısal ve prognostik değerlendirmesinde klinik açıdan değerli bilgiler sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: EpCAM, MMP-9, molar gebelik, gestasyonel trofoblastik neoplazi, immünohistokimya, β-hCG, prognoz.

IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF EPCAM AND MMP-9 EXPRESSIONS IN MOLAR PREGNANCY WITH THE SUPPORT OF RADIOLOGICAL IMAGING AND CLINICAL FOLLOW-UP AND THEIR DIAGNOSTIC/PROGNOSTIC ROLE

ABSTRACT

Background: Hydatidiform mole represents an abnormal gestational event characterized by aberrant trophoblastic proliferation and dysregulated differentiation, which may progress to gestational trophoblastic neoplasia (GTN). Identifying molecular markers associated with trophoblastic behavior is crucial for improving diagnostic accuracy and predicting malignant potential. Epithelial Cell Adhesion Molecule (EpCAM) and Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) are two molecules implicated in epithelial differentiation and extracellular matrix remodeling, yet their clinicopathological relevance in molar gestations remains insufficiently defined.

Objective: This study aimed to evaluate the immunohistochemical expression of EpCAM and MMP-9 in complete and partial hydatidiform moles and to determine their correlation with clinical, biochemical, and radiological parameters, emphasizing their potential diagnostic and prognostic value in GTN development.

Materials and Methods: A total of 135 formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue samples (45 complete moles, 45 partial moles, and 45 first-trimester non-molar miscarriages) were retrospectively retrieved from the pathology archives of SBÜ Başakşehir Çam and Sakura City Hospital. Immunohistochemical staining was performed using anti-EpCAM and anti-MMP-9 antibodies. Staining intensity and distribution were scored semi-quantitatively using the Total Immunostaining Score (TIS). Clinical data, serum β-hCG kinetics, and magnetic resonance imaging (MRI) findings were analyzed using ANOVA, Kruskal–Wallis, correlation, and logistic regression tests (SPSS v25.0).

Results: EpCAM immunoreactivity was predominantly localized in decidual stromal cells rather than trophoblastic components, with significantly higher expression in partial mole cases compared with complete mole and control groups ($p<0.05$). In contrast, MMP-9 expression was markedly increased in both molar groups, most prominently in complete moles ($p<0.001$). Serum CRP and fibrinogen

levels were significantly lower in partial moles, supporting a milder systemic inflammatory response profile. Binary logistic regression identified the post-evacuation β-hCG decline rate as the strongest independent predictor of GTN development (p=0.016), followed by MMP-9 overexpression. MRI findings revealed that patients who developed GTN more frequently exhibited uterine masses, myometrial invasion, and heterogeneous signal intensity, corroborating histopathologic and biochemical indicators of persistence.

Conclusion: Marked EpCAM positivity in decidual stromal cells in partial molar pregnancies indicates enhanced maternal immune tolerance and increased endometrial adaptation. In complete mole cases, elevated MMP-9 expression reveals the heightened invasive potential and tissue-destructive tendency of trophoblasts. Moreover, the parallel relationship between MMP-9 expression and β-hCG levels suggests that this marker may be associated with the risk of GTN development during the post-evacuation period. Considering that MMP-9 reflects invasive capacity while the rate of β-hCG decline represents the clinical course of the disease, combined evaluation of these two parameters may aid in the early identification of high-risk cases. The use of these two molecular markers together with β-hCG kinetics and radiological follow-up findings provides clinically valuable information for the diagnostic and prognostic assessment of molar pregnancies.

Keywords: EpCAM; MMP-9; hydatidiform mole; gestational trophoblastic disease; immunohistochemistry; β-hCG; prognosis.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mol gebelik, trofoblastik dokunun anormal proliferasyonu ve invazyonu ile karakterize gestasyonel trofoblastik hastalık (GTH) spektrumu içinde yer alan patolojik bir gebelik formudur. Genetik ve histopatolojik özelliklerine göre komplet, parsiyel ve invaziv mol olarak üç gruba ayrılır. Komplet mol gebelikler genellikle paternal kaynaklı diploid karyotipe sahip olup trofoblastik hiperplazinin belirgin olduğu olgulardır; parsiyel moller ise triploid karyotipe sahip olup, hem fetal hem de plasental dokuların birlikte bulunduğu daha hafif proliferatif formu temsil eder [1,2]. Bu gebelikler nadir görülmekle birlikte, komplikasyonları ve malign transformasyon potansiyelleri açısından yüksek risk taşırlar. Bazı olgular gestasyonel trofoblastik neoplazi (GTN) gelişimiyle sonuçlanabilir ve bu nedenle erken tanı, doğru sınıflandırma ve uygun prognoz öngörüsü klinik açıdan kritik öneme sahiptir [3].

Günümüzde mol gebeliklerin tanısı genellikle radyolojik görüntüleme, histopatolojik inceleme ve serum β-hCG düzeylerinin izlenmesi ile konulmaktadır. Ancak bu yöntemlerle komplet, parsiyel ve invaziv mol ayrımının yapılması, özellikle erken dönem olgularda güçlük yaratabilmektedir [4]. Bu nedenle, immünohistokimyasal belirteçlerin kullanımı, tanısal doğruluğu artırmada ve olguların malign potansiyele ilerleme riskini öngörmede giderek daha fazla önem kazanmaktadır.

EpCAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule), 40 kDa ağırlığında bir transmembran glikoprotein olup epitel hücrelerinde hücre-hücre adezyonu, proliferasyon ve farklılaşma süreçlerinde rol oynar [5]. Normal fizyolojik koşullarda sınırlı düzeyde eksprese edilirken, malign hücrelerde belirgin artış gösterir. EpCAM aşırı ekspresyonu, hücre adezyonunun azalmasına, proliferatif aktivitenin artmasına ve invaziv davranışın kolaylaşmasına neden olur. Bu özellikleri nedeniyle EpCAM; meme, kolorektal, gastrik, hepatoselüler, over ve akciğer karsinomlarında artmış proliferasyon ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir [6-8].

Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ise ekstrasellüler matriksin yıkımından sorumlu, çinko bağımlı bir endopeptidaz olup hücre göçü, doku yeniden yapılanması, anjiyogenez ve invazyon süreçlerinde temel rol oynar [9]. MMP-9'un artışı,

trofoblastik hücrelerin desidua ve spiral arter duvarına invazyonunu kolaylaştırır. Normal gebelikte bu süreç fizyolojik sınırlarda gerçekleşirken, mol gebeliklerde kontrolsüz MMP-9 aktivitesi invaziv potansiyelin artışı ve olası malign transformasyonla ilişkilendirilmektedir[10]. MMP-9 ekspresyonunun; meme, over, endometriyum, prostat, akciğer, kolorektal ve beyin tümörlerinde artmış invaziv davranış ve kötü sağkalım ile ilişkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir [11-13].

Ancak literatürde EpCAM ve MMP-9'un mol gebeliklerde birlikte değerlendirilmesine yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Her iki molekülün de proliferasyon ve invazyonla ilişkili olması, bu belirteçlerin gestasyonel trofoblastik hastalıkların tanısal ve prognostik öngörüsünde kullanılabileceği hipotezini desteklemektedir.

Bu çalışma ile komplet, parsiyel ve invaziv mol gebelik örneklerinde EpCAM ve MMP-9 ekspresyonları immünohistokimyasal olarak değerlendirilecektir. Elde edilen bulgular, radyolojik veriler ve klinik parametreler (örneğin serum β-hCG düzeyleri, GTN gelişimi) ile ilişkilendirilecektir. Ayrıca, bu iki belirtecin mol gebeliklerin tanısında, sınıflandırılmasında ve prognozun öngörülmesinde kullanılabilirliği araştırılacaktır.

Bu çalışmanın sonunda, mol gebeliklerde EpCAM ve MMP-9 ekspresyon düzeylerinin radyolojik ve klinik verilerle birlikte değerlendirilmesiyle, malign potansiyeli daha erken saptamaya yönelik yeni biyobelirteç temelli bir yaklaşımın geliştirilmesi hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. GESTASYONEL TROFOBLASTİK HASTALIK (GTH)

Gestasyonel Trofoblastik Hastalık, trofoblastın anormal proliferasyonuyla oluşan premalignden maligne spektrumda değişen bir hastalık grubudur [1]. Son güncellenen WHO Kadın Genital Tümörler 2020 sınıflamasına göre genital trofoblastik hastalık tümör-benzeri lezyonlar, non-molar villöz lezyonlar, molar gebelik ve gestasyonel trofoblastik neoplaziler olmak üzere 4 subgruba ayrılmaktadır [14]. GTH ilk olarak Hipokrat tarafından MÖ 4. yüzyılda "uterusun damlası" olarak tanımlanmıştır ancak gebelik ile ilişkisi 1895 yılında Felix Marchand tarafından ortaya konulmuştur [15].

2.1.1. Hidatiform Mol Gebelik (MOL HİDATİFORMİS)

2.1.1.1. Tanım ve Sınıflandırma

Hidatiform mol gebelik (HM), gestasyonel trofoblastik hastalıklar (GTH) spektrumunun benign formudur. Temel olarak trofoblast hücrelerinin anormal proliferasyonu ve koryonik villusların hidropik dejenerasyonu ile karakterizedir. Klinik olarak uterus içerisinde "üzüm salkımı" veya "bal peteği" görünümünde kistik yapılarla seyreder. Genelde benign karakterde olsalar da klinik olarak premalign olmalarıyla beraber malign ve agresif seyretme olasılıkları yüzünden önem arz etmektedir [16].

Mol gebelik iki ana tipe ayrılır: tam (komplet) mol, embriyonik veya fetal dokunun bulunmadığı ve tüm villusların hidropik dejenerasyon gösterdiği bir form iken; parsiyel (inkomplet) mol, fetal dokunun bulunduğu ve bazı villusların normal yapısını koruduğu triploid bir formdur.

Genetik olarak komplet mol genellikle diploid olup yalnızca paternal DNA içerir (46,XX veya 46,XY). Parsiyel mol ise triploiddir (69,XXY veya 69,XXX) [17].

2.1.1.2. Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Mol gebelik, dünya genelinde yaklaşık 1:1000 gebelikte görülürken, Asya ülkelerinde daha yaygın olup 1:200'e kadar çıkabilmektedir; bu duruma katkıda bulunan risk faktörleri arasında anne yaşının 20'nin altında veya 40'ın üzerinde olması, düşük sosyoekonomik düzey, önceki mol gebelik öyküsü, yetersiz beslenmeye bağlı A vitamini ve folat eksikliği ile akraba evlilikleri sayılabilir [18].

Genetik düzeyde, p57KIP2 (CDKN1C) geninin maternal imprinting yoluyla inaktivasyonu ve androgenetik diploidi mekanizması, komplet mol oluşumunun temelini oluşturur [19].

2.1.1.3. Patofizyoloji

Mol gebeliğin patogenezi, anormal fertilizasyon mekanizmalarına dayanır; komplet mol, boş bir ovumun tek sperm (monospermi) veya iki sperm (dispermi) tarafından döllenmesiyle ortaya çıkarken, parsiyel mol ise normal bir ovumun iki spermle döllenmesi sonucu triploid bir yapı oluşturur.

Sonuç olarak trofoblast proliferasyonu artar, villöz stromada ödem ve avaskülarite gelişir. Yüksek β-hCG düzeyleri korpus luteum aktivasyonunu ve teka-lutein kistlerini tetikler [20].

2.1.1.4. Histopatolojik Özellikler

Histolojik incelemede koryonik villusların ödemli genişlemesi ve trofoblast tabakalarının proliferasyonu gözlenir. Ancak bu özellikler mol tipine göre değişiklik gösterir.

2.1.1.4.1. Komplet Molün Özellikleri

Komplet molün özellikleri arasında tüm villusların hidropik olması ve fetal damarların bulunmaması öne çıkar; buna ek olarak, diffüz ve belirgin trofoblastik hiperplazi gözlemlenir, stromada ise fibrozis veya avasküler yapı hakimdir. İmmünohistokimyasal incelemede ise p57 negatif olarak boyanır [21]. Komplet mol hidatiformis oluşumunda, iki paternal kromozom setinin tek bir çekirdek içerisinde yer alması iki farklı mekanizma ile gerçekleşebilmektedir. İlk mekanizmada, genetik

olarak işlevsiz veya maternal genomdan yoksun bir ovum, haploid (23,X) yapısındaki bir sperm tarafından döllenir. Bu döllenme sonrası sitokinez meydana gelmeden sperm genomunun duplikasyonu gerçekleşir ve sonuçta 46,XX karyotipe sahip homozigot, tamamen paternal (androgenetik) kökenli bir yapı ortaya çıkar. 400'den fazla komplet mol olgusu üzerinde yapılan çalışmalarda, bu mekanizma sonucunda gelişen komplet mol hidatiformların yaklaşık %92–96'sının 46,XX homozigot androgenetik özellik taşıdığı bildirilmiştir [22,23]. İkinci mekanizma ise maternal genetik materyal içermeyen "boş" bir ovumun iki farklı haploid sperm tarafından döllenmesidir. Bu dispermi durumunda, spermlerden biri 23,X, diğeri 23,Y kromozomunu taşıyorsa 46,XY karyotipe sahip heterozigot androgenetik bir yapı meydana gelir [24]. Her iki spermin de 23,X kromozomu taşıdığı durumlarda 46,XX heterozigot androgenetik karyotip de oluşabilir. Çeşitli serilerde bu tip heterozigot yapıların görülme oranı ortalama %20–25 arasında bildirilmiştir [25]. 46,YY karyotipine sahip molar gebelik vakası ise tanımlanmamıştır; bunun nedeni büyük olasılıkla 46,YY kombinasyonunun yaşamla bağdaşmamasıdır.

2.1.1.4.2. Parsiyel Molün Özellikleri

Parsiyel molün özellikleri arasında, hidropik villusların fokal ve değişken bir dağılım göstermesi ve fetal damarlar ile eritrositlerin bulunabilmesi dikkat çeker; trofoblast proliferasyonu görece sınırlı olup, immünohistokimyasal incelemede p57'in pozitif boyanması maternal genomun varlığını ortaya koyar [26].

2.1.1.4.3. İmmünohistokimyasal Belirteçler

İmmünohistokimyasal belirteçler, mol gebeliklerin ayırıcı tanısında önemli rol oynar. p57 (CDKN1C), komplet molde negatif, parsiyel molde ise pozitif olarak boyanır. Ki-67 belirteci, komplet molde proliferatif indeksin daha yüksek olduğunu gösterir. PLAP ve β-hCG, trofoblastik aktiviteyi yansıtırken, Cytokeratin 7 trofoblastik hücre kökenini destekler [3].

2.1.1.5. Klinik Bulgular ve Tanı

Mol gebeliğin klinik bulguları genellikle ilk trimesterde ortaya çıkar ve en sık görülen belirti vajinal kanamadır, olguların yaklaşık %90'ında rastlanır. Uterus büyüklüğü, gebelik haftasına göre fazla olabilir ve buna eşlik eden hiperemezis

gravidarum gözlemlenebilir. Bazı hastalarda erken preeklampsi (<20 hafta) gelişebilir, ayrıca teka-lutein kistleri saptanabilir ve β-hCG düzeyleri genellikle çok yüksek seviyelere çıkar. Ultrasonografide tipik "snowstorm" veya "bal peteği" görünümü (kistik, embriyo içermeyen yapı) bulunur. Tanı; klinik, β-hCG ve histopatoloji kombinasyonu ile konur.

2.1.1.6. Ayırıcı Tanı

Mol gebelikle karışabilecek durumlar arasında hidropik abort, parsiyel ve komplet mol ayrımı, koryokarsinom ve invaziv mol yer almaktadır.

İmmünohistokimya (özellikle p57 ve Ki-67 kombinasyonu) tanısal doğruluğu artırır.

2.1.1.7. Tedavi Yaklaşımları

Temel tedavi yöntemi vakum aspirasyonudur. Uterin evakuasyon sonrası, β-hCG haftalık olarak takip edilir; komplet molde persistans trofoblastik neoplazi (PTN) gelişme riski %15–20 olup, gerektiğinde metotreksat bazlı kemoterapi uygulanır [1].

Molar gebelikte invazyon için yüksek risk oluşturan faktörler; küretaj öncesi hCG seviyesinin >100 000 IU/l olması, gebelik haftasından daha büyük uterus, 6 cm üzerinde teka lutein kistleri ve maternal yaşın 40'tan büyük olmasıdır [27].

GTN'yi spontan regrese olan mol hidatiformdan ayırmak için; üç haftalık takipte (1,7,14,21'inci günlerde) bakılan dört β-hCG değerinin plato çizmesi, iki haftalık takipte (1,7,14'üncü günlerde) bakılan üç β-hCG değerinin artış göstermesi ya da histolojik olarak koryokarsinom tanısı mevcut olması kriterleri kullanılır [28].

Rc sonrası proflaktik kemoterapi genel kabulü olan bir yaklaşım değildir, hastaların yaklaşık %20'sinde GTN gelişme riskine karşın tüm hastaları potansiyel toksisiteye maruz bırakmak tartışmalı bir konudur [29].

2.1.1.8. Klinik Takip ve Prognoz

Mol gebelik sonrası klinik takipte, β-hCG düzeyi negatifleşene kadar hastalar haftalık, ardından ise aylık olarak izlenmelidir. Ortalama normalleşme süresi 8–12

hafta olup, takip süresince 6 ay kontrasepsiyon önerilmektedir. Nüks riski, önceki mol öyküsü olanlarda %1–2 iken, iki mol öyküsü bulunanlarda %15'e kadar çıkabilmektedir.

Tablo 1: Komplet ve Parsiyel Mol Gebeliğin Klinik ve Genetik Özellikleri

Özellik	Komplet mol	Parsiyel mol
Karyotip	46,XX (paternal)	69,XXY veya 69,XXX
Fetal doku	Yok	Var
Villus yapısı	Diffüz hidropik	Fokal hidropik
p57 ekspresyonu	Negatif	Pozitif
β-hCG düzeyi	Çok yüksek	Orta düzey
Klinik risk	Yüksek (PTN riski)	Düşük

Kaynak: Sebire NJ et al., 2013; Seckl MJ et al., 2020.

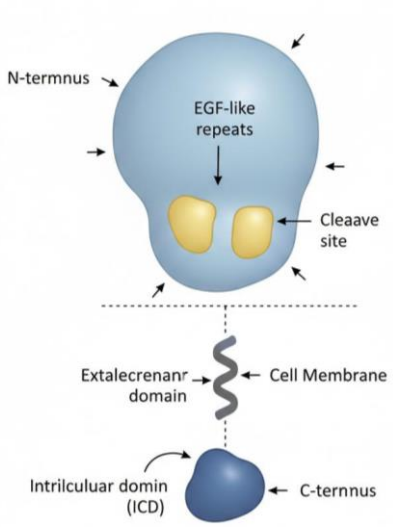
Tablo 2: Mol Gebelik Ayırıcı Tanısında Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler

Belirteç	Komplet mol	Parsiyel mol	Hidropik abort
p57	Negatif	Pozitif	Pozitif
Ki-67	↑	↑/→	→
β-hCG	↑↑	↑	→
PLAP	Pozitif	Pozitif	Negatif
CK7	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Kaynak: Cheung AN et al., 2018; Hancock BW et al., 2022.

2.2. EPİTELİYAL HÜCRE ADEZYON MOLEKÜLÜ (EpCAM)

Epiteliyal Hücre Adezyon Molekülü (EpCAM), 40 kDa ağırlığında, tek zincirli bir transmembran glikoprotein olup ilk olarak epitelyal kaynaklı karsinomlarda tanımlanmıştır [5]. Normal koşullarda epitel hücrelerinin lateral yüzeylerinde bulunur ve hücre-hücre adezyonu, proliferasyon, farklılaşma ve sinyal iletimi gibi temel biyolojik süreçlerde görev yapar [30].



Şekil 1: EpCAM (Epitel Hücresi Adezyon Molekülü) Şematik Yapısı

EpCAM proteini, ekstrasellüler alan (EpEX), transmembran bölge ve sitoplazmik kuyruk (EpICD) olmak üzere üç ana kısımdan oluşur (Şekil 1). Ekstrasellüler alan, hücreler arası temas ve adezyonun sağlanmasında rol oynarken; transmembran bölge, molekülün hücre zarına sabitlenmesini sağlar. Sitoplazmik kuyruk (EpICD) ise proteolitik ayrışma sonrası çekirdeğe taşınarak Wnt/β-katenin sinyal yolunu aktive eder ve bu yolla c-myc ile cyclin A/E gibi proliferatif genlerin ekspresyonunu artırır [31].

EpCAM klasik kalsiyum bağımlı kadherinlerden farklı olarak kalsiyumdan bağımsız şekilde hücre adezyonunu düzenler. Normal fizyolojik koşullarda, trofoblast farklılaşmasının erken dönemlerinde sınırlı düzeyde eksprese edilirken; proliferatif aktivitenin arttığı patolojik durumlarda (örneğin mol gebelik, GTN) ekspresyonu belirgin olarak artmaktadır [32]. Bu artış, trofoblastik hücrelerin adezyon kaybı, invazyon ve proliferasyon kapasitesinde artışa yol açar [33].

EpCAM'in Malignitelerde Ekspresyonu

EpCAM, epitelyal kökenli hemen tüm kanser tiplerinde çalışılmış ve çoğunda aşırı ekspresyon göstermiştir. Aşağıda, literatürde en sık araştırıldığı maligniteler özetlenmiştir:

2.2.1. Gastrointestinal Sistem Tümörleri

Gastrointestinal sistem tümörlerinde EpCAM ekspresyonu önemli bir biyolojik belirteç olarak karşımıza çıkar. Kolorektal karsinomda, EpCAM aşırı

ekspresyonu olguların %80'inden fazlasında saptanmış olup, bu artış hücre adezyonunun azalması ve metastatik kapasitenin artmasıyla ilişkilidir. Spizzo ve arkadaşlarının (2005) çalışması, yüksek EpCAM ekspresyonunun daha kısa sağkalım ve kötü prognozla bağlantılı olduğunu göstermiştir [34]. Mide (gastrik) kanserinde ise EpCAM yüksekliği, lenf nodu metastazı ve ileri evre hastalıkla korelasyon göstermekte; ayrıca yüksek ekspresyonun kemoterapiye yanıtın azalmasıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir. Hepatoselüler karsinomda (HCC) EpCAM, bir kanser kök hücre belirteci olarak kabul edilmekte ve EpCAM-pozitif hücrelerin tümör başlatıcı özelliklere sahip olduğu, aynı zamanda kemoterapiye dirençli bir fenotip gösterdiği saptanmıştır [35].

2.2.2. Meme ve Jinekolojik Kanserler

Meme karsinomunda, Went ve arkadaşları (2004), EpCAM'in özellikle triple negatif meme kanseri alt tiplerinde daha yüksek düzeyde eksprese olduğunu ve bunun kötü prognozla ilişkili olduğunu bildirmiştir. Ayrıca EpCAM'in aşırı ekspresyonu, invaziv duktal karsinomlarda yüksek proliferatif indeks ve lenf nodu metastazı ile korelasyon göstermektedir. Over (ovaryan) karsinomlarında EpCAM ekspresyonu olguların %70–80'inde pozitif bulunmuş olup, yüksek düzeylerdeki ekspresyonun epitel-mezenkimal geçiş (EMT) sürecinin artışı, metastatik potansiyel ve kemoterapi direnciyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Endometrium ve serviks karsinomlarında ise EpCAM ekspresyonunun, özellikle yüksek evreli ve düşük diferansiyasyon derecesine sahip olgularda daha belirgin olduğu bildirilmiştir [36].

2.2.3. Solunum Sistemi Tümörleri

Pak ve arkadaşlarının (2012) yaptığı çalışmada, EpCAM ekspresyonunun non-small cell lung cancer (NSCLC) olgularında tümör progresyonu ve metastazla ilişkili olduğu, ayrıca yüksek EpCAM ekspresyonuna sahip olguların genel sağkalımının belirgin biçimde daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, EpCAM'ın NSCLC'de potansiyel bir prognostik belirteç olabileceğini desteklemektedir [37].

2.2.4. Ürogenital Sistem Tümörleri

EpCAM ekspresyonunun prostat karsinomlarında tümör derecesi (Gleason skoru) ve lenf nodu metastazı ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmektedir. Mukherjee ve arkadaşlarının (2009) çalışmasında, EpCAM'in yalnızca epitel hücrelerinde değil, tümör stromasında da belirgin şekilde eksprese olduğu ve stromal EpCAM ekspresyonunun hücre migrasyonu ile invazyonu artırarak tümör progresyonuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir [38].

Mesane ve renal hücreli karsinom: Bu kanserlerde EpCAM aşırı ekspresyonu erken evre tanıda potansiyel biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir [39].

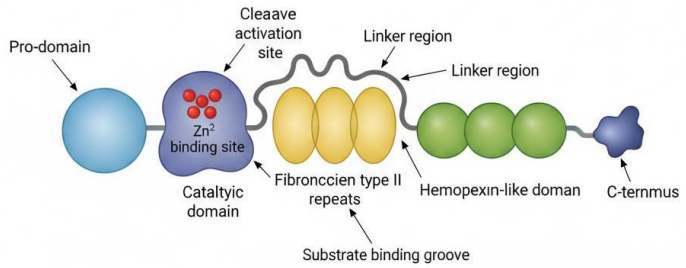
2.2.5. Klinik Önemi ve Mol Gebelikle İlişkisi

EpCAM, kanser kök hücre belirteci olarak tanımlandığı için yalnızca tanısal bir belirteç değil, aynı zamanda hedefe yönelik tedavi molekülü olarak da araştırılmaktadır. EpCAM'i hedefleyen monoklonal antikorlar (örneğin catumaxomab, adecatumumab) bazı solid tümörlerde klinik çalışmalarda yer almıştır.

Mol gebelikte trofoblastik hücrelerin aşırı proliferasyonu, adezyon kaybı ve invazyon artışı gibi özellikler göstermesi nedeniyle, EpCAM ekspresyonunun bu süreçlerde benzer bir rol üstlendiği düşünülmektedir. Bu nedenle EpCAM'in mol gebeliklerde değerlendirilmesi, gestasyonel trofoblastik neoplazi gelişim riski ve prognostik öngörü açısından değerli bilgiler sağlayabilir.

2.3. MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-9 (MMP-9)

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), ekstrasellüler matriks (ECM) bileşenlerinin yıkımından sorumlu çinko ve kalsiyum bağımlı endopeptidazlardır [9]. Bu enzim ailesi, doku yeniden yapılanması, yara iyileşmesi, embriyonik gelişim, anjiyogenez ve hücre göçü gibi süreçlerde önemli görev üstlenir [10]. MMP-9 (92 kDa tip IV kollajenaz ya da gelatinaz B), MMP ailesinin en iyi tanımlanmış üyelerinden biridir ve özellikle bazal membran komponentlerinin yıkımı üzerinde etkilidir [40].



Şekil 2: MMP-9 (Matriis Metallopreninaz-9) Şematik Yapısı

MMP-9 geni, 20q13.12 kromozomunda konumlanmış olup, enzimin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü sağlayan dört temel bölgeden oluşur. Propeptid bölgesi, enzimin inaktif formda tutulmasından sorumludur ve bu sayede proteolitik aktivite yalnızca gerekli olduğunda başlatılır. Katalitik bölge, çinko bağımlı proteolitik aktivitenin gerçekleştiği merkez olup, MMP-9'un matriks bileşenlerini parçalamasını sağlar. Hemopoksin benzeri alan, enzimin substrat spesifitesini ve diğer proteinlerle olan etkileşimlerini belirleyerek fonksiyonel seçiciliğe katkıda bulunur. Son olarak, transmembran alan, enzimin hücre yüzeyine bağlanmasını kolaylaştırır ve lokalize enzimatik aktivitenin düzenlenmesinde önemli rol oynar.

Fizyolojik koşullarda MMP-9, trofoblastların desidua ve spiral arter duvarına invazyonunu kolaylaştırarak plasenta oluşumuna katkıda bulunur [32]. Ancak bu mekanizma, malign ve patolojik proliferasyonlarda da devreye girer. MMP-9'un ekspresyonu sitokinler (IL-1β, TNF-α), büyüme faktörleri (EGF, VEGF) ve hipoksi gibi uyarılarla artar; bu artış, tümör hücrelerinde invazyon, metastaz ve anjiyogenez süreçlerinin kolaylaşmasına neden olur.

2.3.1. MMP-9'un Malignite ile İlişkili Çalışmalarda Gösterilen Rolü

MMP-9 ekspresyonunun malign tümörlerdeki önemi ilk kez 1990'lı yılların sonlarında ortaya konmuş ve ardından pek çok klinik ve deneysel çalışmada invazyon ve metastazla ilişkisi doğrulanmıştır.

Li ve arkadaşlarının (2004) çalışmasına göre, meme kanserinde MMP-9 ekspresyonu tümör derecesi ve lenf nodu metastazı ile pozitif korelasyon göstermekte, bu artışın tümör invazyonu ve progresyonunda önemli rol oynadığı bildirilmektedir [41]. Guo ve arkadaşlarının (2015) çalışmasına göre, ovaryan karsinomlarda MMP-9 aktivitesindeki artış, tümör hücrelerinin proliferasyonu,

migrasyonu ve invazyonunu desteklemekte; bu durum peritoneal yayılım ve kemoterapiye direnç gelişimiyle paralellik göstermektedir [42]. Karahan ve arkadaşlarının (2007) çalışmasına göre, endometriyal karsinomlarda MMP-9 ekspresyonu tümör histolojik derecesi ve myometriyal invazyon derinliğiyle anlamlı korelasyon göstermekte olup, ileri evre olgularda prognostik bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir [43].

Kolorektal ve gastrik kanserlerde, MMP-9 ekspresyonunun artışı tümör invazyon derinliği ve metastatik kapasiteyle paralel seyretmektedir. Bendardaf ve ark. (2005), kolorektal karsinom olgularında yüksek MMP-9 düzeylerinin daha kısa sağkalım süresiyle ilişkili olduğunu belirtmiştir [44].

Bu bulgular MMP-9'un, farklı organlardaki malignitelerde yalnızca yapısal matriks yıkımıyla değil, aynı zamanda tümör mikrosisteminin yeniden şekillenmesi ve anjiyogenez ile de yakından ilişkili olduğunu ortaya koymuştur [40].

2.3.2. MMP-9 ve Gestasyonel Trofoblastik Hastalıklarla İlişkisi

Normal gebelikte trofoblast invazyonu fizyolojik sınırlar içinde gerçekleşirken, mol gebeliklerde bu süreç kontrolsüz hale gelir. MMP-9 ekspresyonunun bu olgularda artışı, trofoblastların bazal membranı aşarak desidua içine invazyonunu kolaylaştırabilir. Singh ve ark. (2011), gestasyonel trofoblastik hastalık olgularında MMP-9 düzeylerinin belirgin olarak arttığını ve bu artışın özellikle komplet mol olgularında daha yoğun olduğunu göstermiştir. Bu nedenle MMP-9, mol gebeliklerin malign potansiyele ilerleme riskinin değerlendirilmesinde önemli bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir [45].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ARAŞTIRMANIN YÖNTEMİ

Bu çalışma, mol gebeliklerin tanısında ve prognozunun öngörülmesinde EpCAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule) ve MMP-9 (Matrix Metalloproteinase-9) ekspresyonlarının rolünü araştırmak amacıyla planlanmış, karşılaştırmalı, gözlemsel ve retrospektif bir araştırmadır. Çalışma, SBÜ Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği ile aynı hastanenin Patoloji Laboratuvarı arşivinde bulunan olgular üzerinde yürütülmüştür. Araştırma, ilgili kurumun etik kurul onayı alınarak gerçekleştirilmiştir (Etik Kurul Onay No: 270 - 09/07/2025).

3.2. ÇALIŞMA GRUPLARI VE OLGU SEÇİMİ

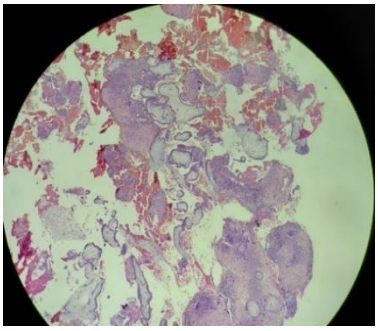
Araştırmaya, hastanemizin patoloji arşivinde histopatolojik olarak tanısı doğrulanmış komplet mol, parsiyel mol ve kontrol olguları dâhil edilmiştir. Her bir grup için 45'er olgu seçilmiş ve toplamda 135 olgu değerlendirilmiştir. Kontrol grubunu; en az bir sağlıklı doğumu olan, ardışık abortu olmayan, birinci trimesterde spontan abortus geçirmiş molar gebelik öyküsü bulunmayan kadınlar oluşturmuştur.

Dâhil edilme kriterleri olarak; 18–65 yaş aralığında olmak, nihai patoloji raporunda komplet veya parsiyel mol tanısının bulunması, patoloji arşivinde formalinle fikse edilmiş parafin blok (FFPE) materyalin mevcut olması ve klinik/radyolojik verilere erişilebilirlik şartı aranmıştır. Hariç tutulma kriterleri ise eksik veya bozulmuş doku materyali, klinik kayıtlara ulaşılamayan olgular ve 18 yaş altı veya 65 yaş üstü hastalar olarak belirlenmiştir. Çalışma, 135 olguya ulaşıldığında sonlandırılmıştır.

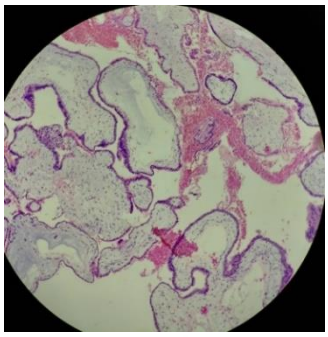
3.3. HİSTOPATOLOJİK VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Patoloji arşivinden temin edilen FFPE bloklardan 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınmış, kesitler öncelikle hematoksilen-eozin (H&E) ile boyanarak tanı doğrulaması yapılmıştır. Tanısı doğrulanan olgulara Elabscience markasının EpCAM Polyclonal Antibody (catalog number: E-AB-40300) ve MMP9 Polyclonal Antibody

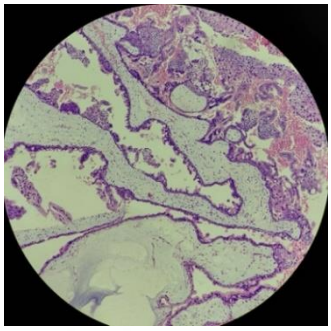
(catalog number: E-AB-70060) antikorlarını içeren immünohistokimyasal (İHK) boyama işlemleri uygulanmıştır. Boyama işlemleri BenchMark ULTRA marka immünhistokimya boyama cihazıyla yapılmıştır. Tüm boyamalar, hastanenin Patoloji Laboratuvarı'nda patoloji uzmanları ve araştırmacı tarafından yürütülmüştür.



Şekil 3: Komplet mol gebeliğin H&E boyanma lam görseli (10x büyütmede)



Şekil 4: Parsiyel mol gebeliğin H&E boyanma lam görseli (20x büyütmede)



Şekil 5: Kontrol grubu H&E boyanma lam görseli (10x büyütme)

Boyama öncesinde parafin bloklar 60°C'de 1 saat inkübe edilmiş, ardından ksilol ve dereceli alkol serilerinden geçirilerek deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemleri yapılmıştır. Antijen geri kazanımı pH 6.0 sitrat tamponunda 95°C'de 20 dakika sürdürülmüş, endojen peroksidaz aktivitesi %3 hidrojen peroksit ile bloke edilmiştir. Kesitler, anti-EpCAM (poliklonal, dilüsyon 1:100) ve anti-MMP-9 (poliklonal, dilüsyon 1:100) antikorları ile 4°C'de gece boyunca inkübe edilmiştir. Sekonder antikor olarak biyotin-streptavidin yöntemi kullanılmış, görselleştirme DAB (3,3'-diaminobenzidin) kromejeni ile yapılmıştır. Nükleer kontrast boyama Mayer hematoksilen ile sağlanmıştır. Pozitif kontrol olarak daha önce EpCAM ve MMP-9 pozitifliği bilinen sırasıyla insan kolon ve böbrek dokuları kullanılmıştır.

3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL SKORLAMA

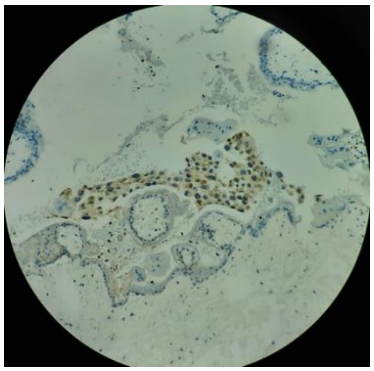
EpCAM ve MMP-9 ekspresyonları hem yarı kantitatif (TIS skoru) hem de kantitatif yüzde hesaplaması ile değerlendirilmiştir. Her preparat, iki bağımsız patolog tarafından kör (blinded) şekilde incelenmiştir. Kesitlerdeki immünhistokimyasal bulgular Nikon, ECLIPSE Ci-L 718169 marka ışık mikroskobu ile kör olarak değerlendirilmiştir. Her bir hastanın 4x, 10x ve 20x büyütmede lam görüntüleri incelenmiştir.

Boyanma yüzdesi tüm mikroskobik alanlardaki pozitif boyanmış hücrelerin toplam hücre sayısına oranlanarak hesaplanmıştır.

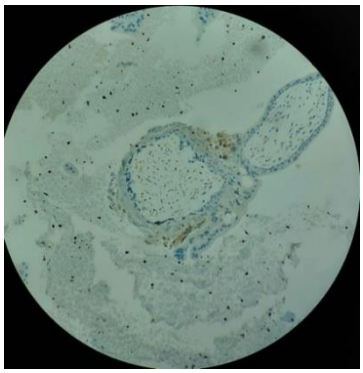
3.4.1. MMP-9 Skorlama Yöntemi

MMP-9 ekspresyonunun değerlendirilmesinde literatürde yaygın olarak kabul gören yarı kantitatif puanlama sistemi esas alınmıştır. Bu yöntemde, immünohistokimyasal boyanma hem pozitif hücre oranı hem de boyanma yoğunluğu dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Boyanma oranı, literatürde Liu ve arkadaşlarının çalışmasında tanımlanan sınıflandırma ile uyumlu biçimde belirlenmiştir. Buna göre pozitif hücre yüzdesi %0 için 0 puan, <%25 için 1 puan, %26–50 için 2 puan, %51–75 için 3 puan ve >%75 için 4 puan olarak değerlendirilmiştir. Boyanma yoğunluğu ise 0 = boyanma yok, 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = şiddetli olarak puanlanmıştır. Her olgu için bu iki parametrenin çarpımı alınarak Toplam İmmünohistokimyasal Skor (TIS = yoğunluk × yüzdelik puan)elde edilmiştir [46].

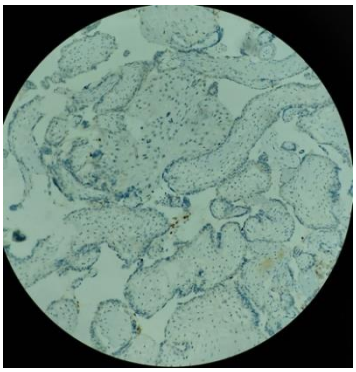
Bu yöntem, ekspresyon düzeyinin hem yaygınlığını hem de şiddetini birlikte değerlendirme olanağı sunarak, farklı örnekler arasında daha nesnel bir karşılaştırma yapılmasına imkân sağlar. Ayrıca bu sistem, MMP-9 gibi matriks metalloproteinazların invazyon kapasitesini yansıtan belirteçlerde, ekspresyonun derecesi ile histopatolojik davranış arasındaki ilişkiyi istatistiksel olarak daha güçlü biçimde analiz etmeyi mümkün kılar.



Şekil 6: Komplet mol MMP-9 boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 3)



Şekil 7: Parsiyel mol MMP-9 boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 1)

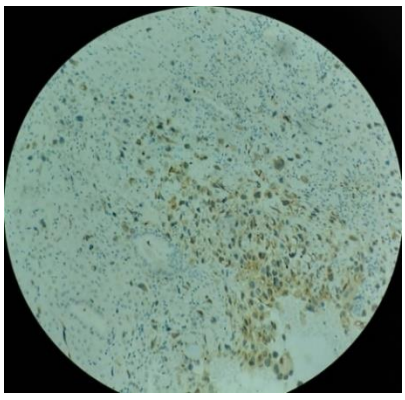


Şekil 8: Kontrol grubu MMP-9 boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 0)

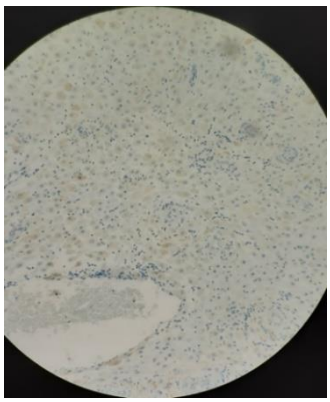
3.4.2. EpCAM Skorlama Yöntemi

EpCAM ekspresyonunun değerlendirilmesinde, literatürde geçerliliği kabul edilmiş yarı kantitatif skorlamaya dayanan Toplam İmmünohistokimyasal Skor (TIS) yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde hem pozitif hücre yüzdesi hem de boyanma yoğunluğu dikkate alınarak sayısal bir toplam skor elde edilmiştir. Pozitif hücre yüzdesi, Kalaitsidou ve arkadaşlarının çalışmasında tanımlanan sınıflamaya paralel biçimde değerlendirilmiştir. Söz konusu çalışmada, tükürük bezi tümörlerinde EpCAM boyanması %0 için 0 puan, <%10 için 1 puan, %10–50 için 2 puan, %51–80 için 3 puan ve >%80 için 4 puan şeklinde puanlanmıştır. Bu yaklaşım, pozitiflik oranına dayalı yarı kantitatif puanlamanın yanı sıra, boyanma yoğunluğunun (0 = boyanma yok, 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = güçlü) da dikkate alınmasını önermektedir[47].

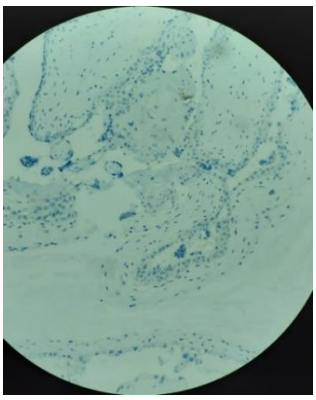
Bu çalışmada da aynı yöntem benimsenerek EpCAM ekspresyonu benzer yüzde aralıklarıyla puanlanmış ve boyanma yoğunluğu ile çarpılarak Toplam İmmünohistokimyasal Skor (TIS = yoğunluk × yüzdelik puan) hesaplanmıştır. Böylelikle EpCAM ekspresyonu hem yaygınlık hem de şiddet açısından bütüncül olarak değerlendirilmiştir. Literatürle metodolojik uyum sağlanması, elde edilen bulguların karşılaştırılabilirliğini ve yorum gücünü artırmıştır. Ayrıca EpCAM'in hücre-hücre adezyonu ve epiteliyal farklılaşma süreçlerindeki rolü göz önüne alındığında, doğrulanmış bir skorlamaya dayanan bu yaklaşım, molar gebelik grupları arasındaki farklılıkların yorumlanmasını bilimsel olarak daha anlamlı kılmaktadır.



Şekil 9: Parsiyel mol EpCAM boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 2)



Şekil 10: Komplet mol EpCAM boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 1)



Şekil 11: Kontrol grubu EpCAM boyanma lam görseli (20x büyütme, boyanma skoru 0)

3.5. KLİNİK VE RADYOLOJİK VERİLERİN TOPLANMASI

Klinik veriler, hastane bilgi yönetim sisteminden retrospektif olarak elde edilmiştir. Her olgu için tanı anındaki ve küretaj sonrası serum β-hCG düzeyleri, revizyon küretaj veya metotreksat tedavisi gereksinimi, histerektomi uygulanıp uygulanmadığı, GTN gelişimi, yaş, BMI, gebelik haftası, laboratuvar parametreleri (WBC, HGB, PLT, CRP, fibrinojen) kaydedilmiştir.2 haftalık takiplerde 1. , 7. ve 14. günlerde bakılan 3 β-hCG değerinin yükseldiği olgular GTN olarak kabul edilmiştir.

Radyolojik incelemeler kapsamında, olguların tanı ve takip süreçlerindeki manyetik rezonans (MR) bulguları değerlendirilmiştir. Uterin kitle varlığı, lezyon boyutu, sinyal yoğunluğu, kontrastlanma paterni ve myometrial invazyon varlığı gibi parametreler incelenmiş; bulgular klinik veriler ve immünohistokimyasal skorlarla karşılaştırılmıştır.

3.6. VERİ YÖNETİMİ VE ETİK HUSUSLAR

Tüm veriler anonimleştirilmiş ve kimlik bilgileri gizlenmiştir. Çalışma retrospektif olduğundan hastalardan ayrıca yazılı onam alınmamıştır. Araştırma, Helsinki Bildirgesi'ne uygun şekilde yürütülmüştür. Kullanılan tüm materyal, hastanenin arşivinden alınmış olup hastalara ek bir müdahale yapılmamıştır. Çalışmanın yürütülmesi kurum bütçesine ek bir mali yük getirmemiştir.

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler SPSS v25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) yazılımı ile analiz edilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler (ortalama ± standart sapma, medyan, yüzde) hesaplanmıştır. Normal dağılım Shapiro–Wilk testi ile değerlendirilmiş, normal dağılım gösteren değişkenlerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA), farklılık saptandığında Tukey post-hoc testi uygulanmıştır. Normal dağılmayan değişkenlerde Kruskal–Wallis testi ve ikili karşılaştırmalarda Dwass–Steel–Critchlow–Fligner testi, kategorik verilerde Ki-kare veya Fisher's Exact testi kullanılmıştır.

EpCAM ve MMP-9 ekspresyonları ile klinik/radyolojik parametreler arasındaki ilişkiler Pearson veya Spearman korelasyon testi ile incelenmiştir. GTN

gelişimine etki eden bağımsız faktörleri belirlemek için binary lojistik regresyon analizi yapılmıştır. Ayrıca MMP-9'un tanısal performansını değerlendirmek amacıyla ROC eğrisi analizi uygulanmış, AUC > 0.75 değeri anlamlı kabul edilmiştir.

Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada komplet mol, parsiyel mol gebelik ve kontrol olmak üzere üç grup arasında EpCAM ve MMP-9 immünohistokimyasal ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması planlanmıştır. Örneklem büyüklüğü hesaplaması G*Power 3.1 yazılımı kullanılarak, tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) için gerçekleştirilmiştir. Hesaplamalarda anlamlılık düzeyi (α) 0.05, test gücü ($1-\beta$) 0.90 ve grup sayısı 3 olarak belirlenmiştir. Etki büyüklüğü, önceki benzer çalışmalar ve biyolojik anlamlı farklar göz önünde bulundurularak Cohen's $f = 0.32$ (orta-üst düzey) olarak varsayılmıştır. Bu parametreler altında yapılan analiz sonucunda, her bir grupta 45 olgu bulunması durumunda çalışmanın istatistiksel gücünün yaklaşık %90 düzeyine ulaştığı hesaplanmıştır.

Etki büyüklüğünün tahmininde, molar gebeliklerde MMP-9 ekspresyonunun normal plasentaya kıyasla belirgin şekilde arttığını bildiren Vegh ve ark. (1999) çalışması referans alınmıştır. Söz konusu araştırmada 16 parsiyel mol, 25 komplet mol, 10 koryokarsinom ve 11 normal plasenta olgusu değerlendirilmiş; MMP-9 ekspresyonunun özellikle sitotrofoblast ve ekstravillöz trofoblast hücrelerinde yoğun olduğu, ayrıca ekspresyon düzeyinin trofoblastik malign transformasyonla paralel olarak arttığı bildirilmiştir [48]. Bu bulgular, çalışmamızda öngörülen etki büyüklüğünün biyolojik temelini desteklemiş ve örneklem büyüklüğü hesaplamasında dayanak noktası olarak kullanılmıştır. Bu nedenle çalışma, her biri 45 olgudan oluşan üç grup (toplam 135 olgu) üzerinden planlanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. DEMOGRAFİK VE HEMATOLOJİK PARAMETRELER

Gruplar arasında yaş, vücut kitle indeksi (BMI) ve trombosit sayısı (PLT) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

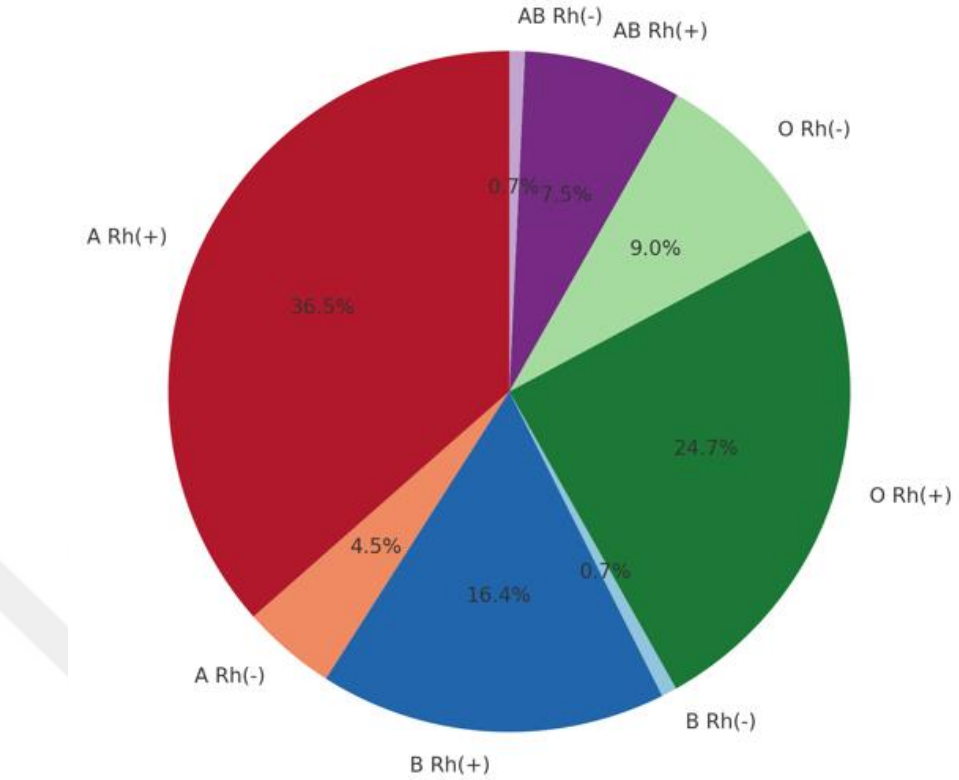
Gebelik haftası ve gün sayısı açısından kontrol grubunda tanı zamanının istatistiksel olarak daha ileri olduğu görülmüştür ($p\approx0.015$).

Lökosit sayısı (WBC), gruplar arasında anlamlı fark göstermiş ($p=0.004$) ve kontrol grubunda diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur.

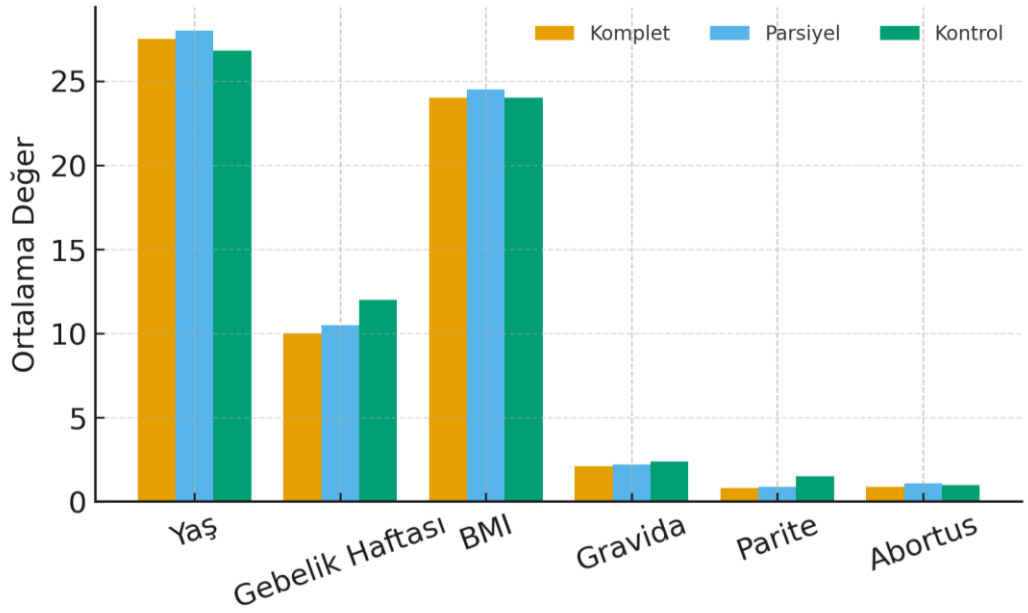
Hemoglobin (HGB) düzeyleri arasında da hafif bir fark saptanmış ($p=0.030$), ancak post-hoc analizde gruplar arası çift karşılaştırmalarda anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

Tablo 3: Klinik ve Demografik Bulgular

Değişken	Bulgular	Yorum
Yaş, BMI, Gravida, Abortus	Gruplar arasında anlamlı fark yok (p>0,05).	Gruplar yaş ve vücut yapısı açısından homojen.
Parite (p=0.012)	Kontrol grubunun paritesi anlamlı olarak daha yüksek.	Kontrol grubunda genetik abort faktörlerini dışlamak adına en az 1 canlı doğumu olan olgular seçilmiştir.
Gebelik haftası (p=0.005)	Kontrol grubu (12 hf) komplet/parsiyel (10 hf) gruplarına göre ileri.	Molar gebelikler genellikle daha erken dönemde saptanmıştır.
GTN oranı (p=0.005)	Komplet (%22.2), Parsiyel (%15.6), Kontrol (%0).	GTN, özellikle komplet mol sonrası daha sık gelişmektedir.
Hipertiroidi (p<0.001)	Komplet (%40), Parsiyel (%15.6), Kontrol (%0).	Tirotropin benzeri hCG etkisi nedeniyle komplet mol olgularında hipertiroidi anlamlı olarak fazladır.
Hipertansiyon, kan grubu	Fark yok.	Bu parametreler GTN gelişimiyle ilişkili görünmemektedir.



Şekil 12: Kan grubu ve Rh faktörü genel dağılımı

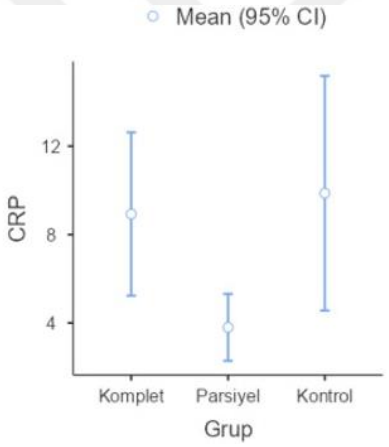


Şekil 13: Demografik özelliklerin karşılaştırılması

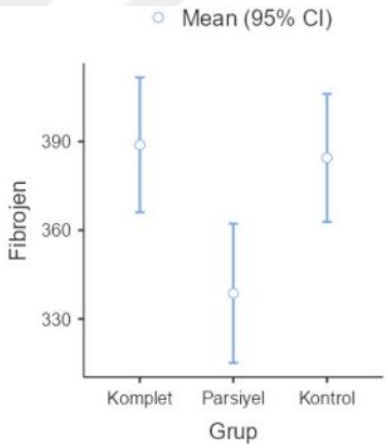
4.2. PARSİYEL MOL GEBELİKLERDE ARTMIŞ EPCAM EKSPRESYONU VE AZALMIŞ CRP–FİBRİNOJEN DÜZEYLERİNİN KOMPLET MOL VE KONTROL GRUPLARIYLA KARŞILAŞTIRILMASI

Çalışmamızda EpCAM ekspresyonunun trofoblastlardan çok desidual hücrelerde yoğunlaştığı gözlenmiştir. Bu bulgu, parsiyel mol gebeliklerdeki artmış EpCAM boyanmasının, trofoblastik proliferasyondan ziyade maternal endometriyal (desidual) yanıtın farklılaşması ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

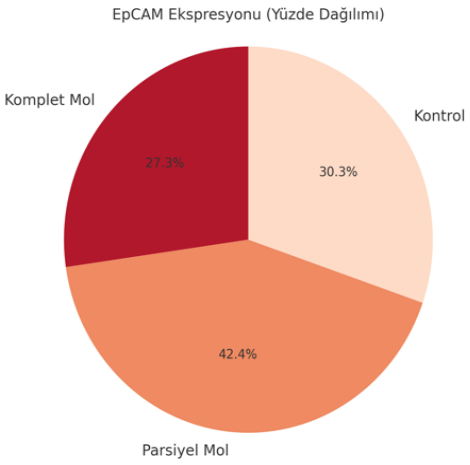
Çalışmamızda parsiyel mol olgularında CRP (p = 0.028) ve fibrinojen (p = 0.003) düzeyleri, komplet mol ve kontrol gruplarına göre anlamlı biçimde düşük bulunmuştur.



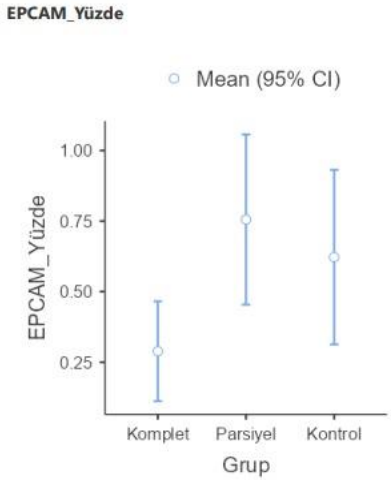
Şekil 14: CRP'nin gruplar arası değerlendirilmesi Plot analizi



Şekil 15: Fibrinojenin gruplar arası değerlendirilmesi Plot analizi



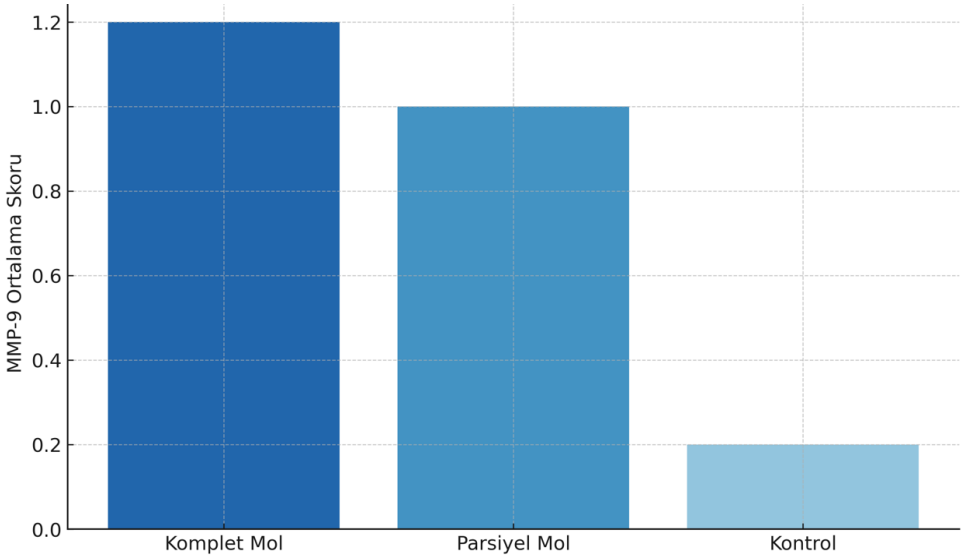
Şekil 16: EpCAM ekspresyonu (yüzde dağılımı)



Şekil 17: EpCAM boyanma gruplar arası değerlendirilmesi Plot analizi

4.3. MOL GEBELİKLERDE ARTMIŞ MMP-9 EKSPRESYONU

Çalışmamızda, MMP-9 ekspresyonu komplet ve parsiyel mol gebeliklerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek saptanmıştır ($p < 0.001$). Bu bulgu, molar trofoblastların artmış invazyon kapasitesi ve matriks yıkım aktivitesi ile uyumludur.



Şekil 18: MMP-9 boyanma gruplar arası değerlendirilmesi grafiği

Tukey Post-Hoc Test – MMP9_Q

		Komplet	Parsiyel	Kontrol
Komplet	Mean difference	—	0.16	1.02 ***
	p-value	—	0.637	< .001
Parsiyel	Mean difference		—	0.87 ***
	p-value		—	< .001
Kontrol	Mean difference			—
	p-value			—

Note. * p < .05, ** p < .01, *** p < .001

Tukey Post-Hoc Test – MMP9_Yüzde

		Komplet	Parsiyel	Kontrol
Komplet	Mean difference	—	0.16	1.11 ***
	p-value	—	0.675	< .001
Parsiyel	Mean difference		—	0.96 ***
	p-value		—	< .001
Kontrol	Mean difference			—
	p-value			—

Note. * p < .05, ** p < .01, *** p < .001

Tukey Post-Hoc Test – MMP9_Q_TIS

		Komplet	Parsiyel	Kontrol
Komplet	Mean difference	—	0.58	3.33 ***
	p-value	—	0.560	< .001
Parsiyel	Mean difference		—	2.76 ***
	p-value		—	< .001
Kontrol	Mean difference			—
	p-value			—

Note. * p < .05, ** p < .01, *** p < .001

Şekil 19: Sırasıyla MMP-9 boyanma skoru- boyanma yüzdesi-TIS skoru gruplar arası değerlendirilmesi Post-Hoc analizi

4.4. NON-PARAMETRİK BULGULAR

Non-parametrik analizler sonucunda, gruplar arasında hipertiroidi sıklığı bakımından anlamlı fark saptanmıştır (χ^2=24.07, p<0.001). Çiftli karşılaştırmalarda farkın özellikle komplet mol grubunun hem parsiyel hem de kontrol gruplarına göre daha yüksek hipertiroidi oranına sahip olmasından kaynaklandığı görülmüştür (komplet–kontrol p<0.001, parsiyel–kontrol p=0.017). Ayrıca, gebelik haftası ve gün sayısı da gruplar arasında anlamlı farklılık göstermiş (p<0.01) olup, kontrol grubundaki olguların genellikle daha uzun süren gebeliklerden oluştuğu belirlenmiştir. Diğer klinik değişkenler (revizyon küretaj gereksinimi, histerektomi, metotreksat tedavi ihtiyacı, hipertansiyon öyküsü vb.) açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

4.5. LOJİSTİK REGRESYON ANALİZİ VE GTN GELİŞİMİ İLE İLİŞKİLİ FAKTÖRLER

Çalışmamızda 2 haftalık takiplerde 1., 7. ve 14. günlerde bakılan 3 β-hCG değerinin yükseldiği olgular GTN olarak kabul edilmiştir. Bu bağlamda komplet mol tanılı 4, parsiyel mol tanılı 3 toplam 7 hastamıza β-hCG değerlerinin yükselmesi üzerine revizyon küretaj yapılmıştır. 1 hastamızda β-hCG değerlerinde yükselme olmamasına rağmen transvajinal ultrason muayenesinde endometrial kavite düzensiz ve anteriorda 2 cm heterojen alan görülmesi üzerine revizyon küretaj yapılmıştır. Yükselen β-hCG değerleri sebebiye revizyon yaptığımız 7 hastadan 6'sında düşüş ve sıfırlanma izlenmiş olup 1 hastada plato çizmesi sebebiyle Medikal Onkoloji Kliniği tarafından metotreksat tedavisi başlanmıştır. Bu hastamız da komplet mol tanılı olan hastalardandır. Histerektomi tedavisi uyguladığımız 4'ü komplet 1'i parsiyel mol tanısı olan toplam 5 hastamız bulunmaktadır. Bu hastalardan 4'ünde β-hCG değerlerindeki artış sebebiyle uygulanmışken, 1 tanesi fertilitesini tamamlayan hastanın istemi üzerine β-hCG sıfırlandıktan sonra uygulanmıştır. Bu hastamız komplet mol grubundandır. 1 tanesi histerektomi sonrası kliniğimiz tarafından, 1 tanesi revizyon küretaj sonrası Medikal Onkoloji Kliniği tarafından yukarıda bahsedilen hasta olmak üzere toplam 8 hastaya metotreksat tedavisi başlanmış ve β-hCG sıfırlanması izlenmiştir. Bu hastaların 5'i komplet 3'ü parsiyel mol grubundandır. Hastaların takipleri Medikal Onkoloji ve Jinekolojik Onkoloji

Kliniğimizle ortak olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonunda istatistik analizlerinde kullanılmak üzere elde edilen verilerde GTN gelişimi kabul edilen hasta sayısı 90 mol gebelik hastası içinde 17'dir. Bunlardan 7'si parsiyel mol 10u komplet mol grubuna aittir.

Gestasyonel trofoblastik neoplazi (GTN) gelişimini öngörmek amacıyla yapılan binomiyal lojistik regresyon analizinde, modele dahil edilen değişkenler arasında tanı anındaki β-hCG düzeyi, küretaj sonrası β-hCG düşüş yüzdesi ve MMP-9 ekspresyonu değerlendirilmiştir. Modelin genel uyumu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş (χ^2=13.84, p=0.003), AUC değeri 0.75 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç, modelin GTN gelişimini %75 doğruluk oranıyla öngörebildiğini, yani iyi bir ayırıcı güce sahip olduğunu göstermektedir.

Analizde küretaj sonrası β-hCG düşüş yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı bir prediktör olarak belirlenmiştir (p=0.016, OR=0.95). Buna göre, β-hCG değerinin kürtaj sonrası dönemde yeterince hızlı düşmemesi, GTN gelişimi olasılığını anlamlı şekilde artırmaktadır. Her %1'lik daha yavaş düşüş, GTN riskinde yaklaşık %5 artışla ilişkilidir.

Tanı anındaki β-hCG düzeyi değişkeni analizde sınırda anlamlı bulunmuştur (p=0.056). Bu sonuç, başlangıç β-hCG düzeyi yüksek olan olgularda GTN gelişimi riskinin arttığını, ancak bu ilişkinin tek başına belirleyici olmadığını göstermektedir.

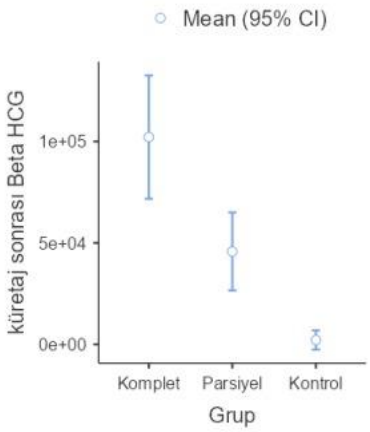
MMP-9 ekspresyonu, modelde GTN gelişimi ile pozitif yönde ilişkili olmakla birlikte istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (p=0.129).

Modelin yüksek duyarlılığı (%97) ve ılımlı özgüllüğü (%38), GTN gelişebilecek olguların büyük çoğunluğunu doğru biçimde tanımlayabildiğini ancak düşük riskli olgular arasında bazı yanlış pozitif sonuçlar oluşturabileceğini göstermektedir. Bu özellik, klinik olarak GTN gelişimi açısından riskli hastaların erken tanı ve yakın izlemine olanak sağlaması açısından değerlidir.

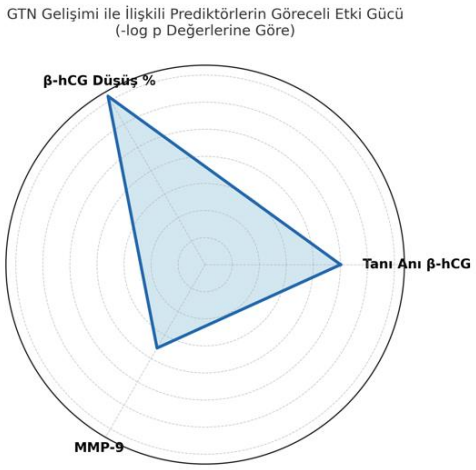
Tukey Post-Hoc Test – küretaj sonrası Beta HCG

		Komplet	Parsiyel	Kontrol
Komplet	Mean difference	—	56388.70 **	100011.03
	p-value	—	0.008	0.053
Parsiyel	Mean difference		—	43622.33
	p-value		—	0.564
Kontrol	Mean difference			—
	p-value			—

Note. * p < .05, ** p < .01, *** p < .001



Şekil 20: B-hCG'nin gruplar arası değerlendirilmesi Post-Hoc ve Plot analizi



Şekil 21: GTN gelişimi ile ilişkili prediktörlerin göreceli etki gücü görselleştirilmesi

Binomial Logistic Regression

Model Fit Measures

				Overall Model Test		
Model	Deviance	AIC	R^2_{McF}	χ^2	df	p
1	65.77	73.77	0.17	13.84	3	0.003

Model Coefficients - GTN

Predictor	Estimate	SE	Z	p	Odds ratio
Intercept	6.30	1.81	3.49	< .001	545.57
MMP9_Yüzde	-0.61	0.40	-1.52	0.129	0.55
Tanı_Anı_Beta	-0.00	0.00	-1.91	0.056	1.00
küretaj sonrası düşüş yüzde	-0.05	0.02	-2.42	0.016	0.95

Note. Estimates represent the log odds of "GTN = DEĞİL" vs. "GTN = GTN"

Assumption Checks

Collinearity Statistics

	VIF	Tolerance
MMP9_Yüzde	1.04	0.97
Tanı_Anı_Beta	1.00	1.00
küretaj sonrası düşüş yüzde	1.04	0.97

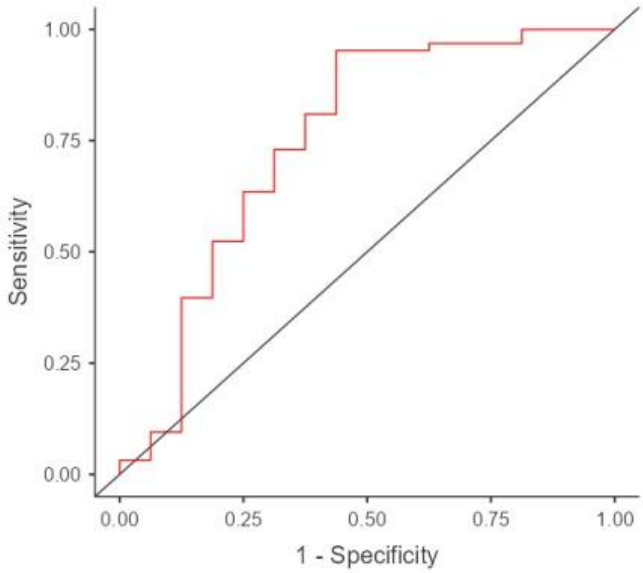
Prediction

Predictive Measures

Accuracy	Specificity	Sensitivity	AUC
0.85	0.38	0.97	0.75

Note. The cut-off value is set to 0.5

Şekil 22: GTN gelişimini öngörme amacıyla MMP-9 boyanma, tanı anı B-hCG ve RC sonrası B-hCG düşüş yüzdeleriyle oluşturulan lojistik regresyon analizi



Şekil 23: GTN Gelişimi için ROC Eğrisi (tanı anı B-hCG+B-hCG düşüş yüzdesi+MMP-9)

4.6. RADYOLOJİK BULGULAR

Tablo 4: Radyolojik bulguların GTN ile ilişkisi

Bulgular	GTN (+)	GTN (–)	İlişki Yorumu
Kitle varlığı	13/13 olguda mevcut (%100)	2/4 olguda mevcut (%50)	GTN'de kitle sıklığı anlamlı olarak daha yüksektir.
Lezyon boyutu	20–170 mm (ortalama ≈ 60 mm)	35–45 mm (ortalama ≈ 40 mm)	GTN olgularında lezyonlar daha büyük boyutludur.
Sinyal intensitesi (heterojen)	11/13 (%84.6)	2/4 (%50)	Heterojen sinyal GTN'de çok daha sık görülmektedir.
DWI kısıtlanması	11/13 (%84.6)	2/4 (%50)	Hücresel yoğunluğa bağlı difüzyon kısıtlanması GTN için tipiktir.
Kontrastlanma	12/13 (%92.3)	3/4 (%75)	GTN olgularında vaskülarite artışı daha belirgindir.
Myometrial invazyon	12/13 (%92.3)	2/4 (%50)	GTN olgularında invazyon sıklığı anlamlı olarak daha yüksektir.
Patolojik lenf nodu	0	0	GTN'de bu seride lenf nodu tutulumu gözlenmemiştir.
Ekstrauterin yayılım	0	0	Ekstrauterin yayılım izlenmemiştir.

GTN ve GTN olmayan olguların MR bulguları karşılaştırıldığında, GTN grubunda uterin kitle varlığı, heterojen sinyal intensitesi, belirgin kontrastlanma, difüzyon kısıtlanması ve myometrial invazyon sıklığının anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. GTN olgularında lezyonların ortalama boyutu 60 mm civarında iken, GTN olmayan olgularda bu değer 40 mm civarındadır. Bu bulgular, GTN'nin tipik olarak büyük, heterojen sinyalli, difüzyon kısıtlı ve myometriuma invaze lezyonlarla seyrettiğini göstermektedir. Patolojik lenf nodu veya ekstrauterin yayılım saptanmamıştır.

Bu çalışmada radyolojik görüntülemesi olan hasta sayısının sınırlı olması nedeniyle istatistiksel analizler tanımlayıcı nitelikte değerlendirilmiştir. GTN ve GTN olmayan olgular karşılaştırıldığında, kitle varlığı ve myometrial invazyon oranlarının GTN grubunda anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$).

GTN ve GTN olmayan olgular arasında yapılan istatistiksel analizde, uterin kitle varlığı ($p=0.016$) ve myometrial invazyon ($p=0.046$) değişkenlerinde anlamlı fark saptandı. GTN olgularında bu bulguların belirgin olarak daha yüksek oranlarda izlendiği görüldü. Lezyon uzun aksı GTN olgularında daha büyük olmakla birlikte fark istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadı ($p=0.09$). Heterojen sinyal intensitesi, difüzyon kısıtlanması ve kontrastlanma oranları GTN grubunda daha yüksek bulunmasına rağmen farklar anlamlı değildi ($p>0.05$). Bu sonuçlar, özellikle kitle varlığı ve myometrial invazyonun GTN'nin en güçlü radyolojik göstergeleri olduğunu desteklemektedir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, komplet ve parsiyel mol gebeliklerde EpCAM ve MMP-9 ekspresyonlarının tanı ve prognoz açısından olası rollerini değerlendirdik. Elde ettiğimiz sonuçlar, molar gebeliklerin biyolojik davranışı hakkında anlamlı ipuçları sundu. BMI, gravida, parite gibi çalışma gruplarının temel demografik özellikler açısından birbirine benzer dağılım gösterdiğini ve bu parametrelerin elde edilen sonuçlar üzerinde karıştırıcı etki oluşturmadığını göstermektedir. WBC kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur ancak bu farkın klinik anlamı zayıf olup, muhtemelen abort sürecine eşlik eden hafif inflamatuvar yanıta bağlı geçici bir değişkenliktir. Gebelik haftasında oluşan fark, kontrol grubundaki olguların genellikle ilerleyen haftalarda spontan abortus ile sonuçlanan gebeliklerden oluşmasıyla ve mol gebelik gruplarının daha erken haftalardaki hastane başvuruları sonucu tanı almalarıyla açıklanabilir.

Literatürde molar gebeliğin 18 yaş altı ve 40 yaş üzeri kadınlarda daha sık görüldüğü, bunun oosit olgunlaşmasındaki yetersizlik ve ileri yaşta oosit kalitesinin azalmasıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir. Savage ve ark. maternal yaşla birlikte molar gebelik ve GTN riskinin belirgin arttığını, Altieri ve ark. ise hormonal ve genetik faktörlerin bu eğilimi desteklediğini göstermiştir [49,50]. Bazı epidemiyolojik çalışmalarda ise molar gebeliğin A kan grubunda daha sık görüldüğü, bunun fetal-maternal immünolojik farklılıklardan kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Parazzini ve Abro'nun çalışmalarında A kan grubunun özellikle komplet mol olgularında baskın olduğu bildirilmiştir [51,52]. Çalışmamızda yaş ve kan grubu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış olup, bunun örneklem büyüklüğünün sınırlı olması ve popülasyonun homojen yapısı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Hipertroidinin gruplar arasındaki anlamlı fark durumu, yüksek β-hCG düzeylerinin tirotropin benzeri etkisi ile tiroid hormon üretiminin artmasına ve komplet mol olgularında hipertiroidi gelişiminin daha sık gözlenmesine bağlanabilir [53].

Özellikle parsiyel mol gebeliklerde EpCAM ekspresyonunun komplet mol ve kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek, buna karşın CRP ve fibrinojen düzeylerinin daha düşük olması dikkat çekiciydi. EpCAM, yalnızca epitel kökenli hücrelerde değil, aynı zamanda desidual stromal hücrelerde de hücre-hücre adezyonu, bariyer bütünlüğü ve immün toleransın düzenlenmesinde görev alan bir transmembran glikoproteindir [54,55]. Gebelik süresince progesteron ve lokal sitokinler (özellikle IL-1β, LIF ve TGF-β), EpCAM ekspresyonunu uyararak desidual hücrelerin farklılaşmasını ve maternal immün sistemin toleran fenotip geliştirmesini sağlar [56].

Parsiyel mol gebeliklerde paternal genom dozu artmış olsa da maternal genom katkısı devam ettiği için desidua-trofoblast etkileşimi kısmen korunur. Bu durum, implantasyona benzer biçimde lokal immün toleransın sürmesine ve desidual tabakada EpCAM ekspresyonunun artmasına neden olabilir [57]. Buna karşın komplet mol gebelikte maternal genom katkısının bulunmaması nedeniyle desidualizasyon belirgin ölçüde azalmaktadır. Bu durum, adezyon moleküllerinin düzenlenmesini de etkileyerek EpCAM ekspresyonunun zayıf izlenmesine yol açabilir. Kontrol grubundaki abort materyallerinde ise dejeneratif ve inflamatuvar süreçlerin baskın olması, doku bütünlüğünün bozulmasına ve EpCAM dâhil adezyon moleküllerinin kaybına katkıda bulunabilir [58].

EpCAM'in desidual hücrelerde artmış ekspresyonunun, maternal doku bütünlüğü ve immün regülasyonun sürdürülmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Parsiyel mol olgularında bu EpCAM aracılı yanıt, daha dengeli bir gebelik mikroçevresine işaret edebilir. Buna karşın, komplet mol olgularında maternal genom yokluğu ve belirgin trofoblastik proliferasyon, desidual farklılaşmanın azalmasına ve immün yanıtın zayıflamasına neden olabilir [59]. Parsiyel mol olgularında CRP ve fibrinojen düzeylerinin daha düşük saptanması ise trofoblastik destrüksiyonun ve vasküler geçirgenlik artışının daha sınırlı olmasıyla, dolayısıyla sistemik inflamatuvar ve akut faz yanıtının daha hafif seyretmesiyle ilişkili olabilir [60].

Bu çalışma kapsamında EpCAM'in desidual hücrelerde artmış ekspresyonunun, IL-6/STAT3 aksının baskılanması yoluyla inflamatuvar sitokin üretimini sınırlayabileceği hipotetik olarak ele alınmıştır. Bu mekanizma, literatürde

doğrudan ispatlanmamış olmakla birlikte, EpCAM'in doku bütünlüğü ve adezyon moleküllerinde rolü ile IL-6/STAT3 sinyal yolunun inflamasyon-regülasyonundaki işlevi göz önüne alındığında mantıklı bir biyolojik önerme olarak tartışılabilir [61,62].

MMP-9 ekspresyonu hem komplet hem de parsiyel mol gruplarında kontrol grubuna göre belirgin şekilde yüksek bulundu. Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9), ekstrasellüler matriks (ECM) bileşenlerinin yıkımından sorumlu, çinko bağımlı bir endopeptidazdır. Normal gebelikte MMP-9, sınırlı düzeyde trofoblast invazyonunu ve spiral arter yeniden şekillenmesini kolaylaştırır [32]. Molar gebeliklerde trofoblast proliferasyonunun fizyolojik sınırların ötesine geçtiği bilinmektedir. Bu durumun, paternal genom baskınlığı sonucu oluşan genetik dengesizlikler ve artmış β-hCG düzeylerinin etkisiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Artan β-hCG'nin, trofoblastik hücrelerde MMP-9 sentezini uyararak ekstrasellüler matriks yıkımını kolaylaştırdığı ve böylece desidua ile myometriuma invazyon potansiyelini artırabileceği öne sürülmüştür. Bulgularımız da bu olası mekanizmayı destekler nitelikte olup, özellikle komplet mol olgularında MMP-9 ekspresyonundaki artışın, paternal genetik baskınlığın trofoblastik davranış üzerindeki etkilerini yansıtıyor olabileceğini düşündürmektedir [63,64].

Komplet mol gebeliklerde maternal genomun yokluğu, androgenetik diploid karyotip ve diffüz trofoblastik hiperplazi, matriks degradasyonuna yol açan proteolitik enzimlerin aşırı ekspresyonu ile sonuçlanır. Bu süreçte MMP-9, yalnızca trofoblastik hücre göçünü değil aynı zamanda anjiyogenez ve doku yeniden yapılanması süreçlerini de güçlendirir [10]. MMP-9'un artışı, trofoblastik hücrelerin bazal membran ve damar duvarını aşarak derin myometriuma ilerlemesini kolaylaştırır; bu durum, komplet molün invaziv potansiyelinin biyokimyasal temelini oluşturur.

Parsiyel mol gebeliklerde ise paternal ve maternal genomların birlikte bulunması trofoblastik proliferasyonu kısmen dengeler; buna rağmen MMP-9 ekspresyonu kontrol grubuna göre belirgin şekilde yüksektir. Bunun nedeni, parsiyel mol dokularında da fokal trofoblastik hiperplazi ve lokal matriks remodeling

süreçlerinin aktif olması olabilir. MMP-9'un bu artışı, villöz stromadaki ödem ve ECM yıkımının histopatolojik olarak gözlenmesiyle de paraleldir [65].

Kontrol grubunu oluşturan ilk trimester abort materyallerinde trofoblastik invazyonun fizyolojik sınırlar içinde olduğu düşünülmektedir. MMP-9 aktivitesi implantasyonun erken döneminde rol oynar ve gebeliğin sonlanmasıyla birlikte hızla azalır. Literatürde, erken gebelikte trofoblastların ekstrasellüler matriksin yıkımında görev alan MMP-2 ve MMP-9 enzimlerinin zamanla farklı ekspresyon profilleri izlediği bildirilmiştir. Dolayısıyla, kontrol grubundaki MMP-9 düzeylerinin trofoblastik malign potansiyeli olmayan fizyolojik seviyeleri yansıttığı düşünülebilir [64,66].

Komplet mol olgularında yüksek MMP-9 düzeyleri, bu grubun invaziv potansiyelinin biyokimyasal yansıması olarak değerlendirilebilir. Parsiyel mol olgularında ise MMP-9 düzeyi orta düzeyde seyretmiş olup, bu durum hem invazyonun hem de proliferasyonun kontrollü biçimde ilerlediği bir ara formu temsil ediyor olabilir. Literatürde benzer şekilde, Singh ve ark. (2011) molar gebeliklerde MMP-9'un hem sitotrofoblast hem de ekstravillöz trofoblastlarda kontrol plasentalarına göre belirgin artış gösterdiğini bildirmiştir [45]. Vegh ve ark. (1999) da MMP-9 ekspresyonunun komplet mol, parsiyel mol ve koryokarsinom olgularında normal gebeliklere kıyasla artmış olduğunu ve artışın malign transformasyonla paralel seyrettiğini göstermiştir [48]. Bu sonuçlar, çalışmamızda elde edilen bulgularla tam uyum göstermektedir

Lojistik regresyon analizinde, küretaj sonrası β-hCG düşüş yüzdesi GTN gelişimi açısından öngördürücü olarak saptandı. Bu bulgu, literatürde de güçlü şekilde desteklenmektedir; Kang WD ve ark., β-hCG'nin 2. haftadaki düşüş oranı eğiminin GTN gelişiminin güçlü öngördürücülerinden biri olduğunu bildirmiştir [67]. Benzer şekilde, Ngan ve ark. (2018) da GTD olgularında β-hCG düşüş hızının tedavi başarısı ve malign transformasyon riskiyle doğrudan ilişkili olduğunu vurgulamıştır [68].

Tanı anındaki β-hCG düzeyi de sınırda anlamlılık gösterdi. Literatürde, başlangıç β-hCG düzeyinin >100.000 mIU/mL olduğu olgularda GTN gelişme

oranının anlamlı biçimde arttığı, bu eşik değerin özellikle komplet mol olgularında prognostik açıdan önemli olduğu bildirilmiştir [69,70].

β-hCG değerinin kürtaj sonrasında beklenenden daha yavaş düşmesi, trofoblastik dokunun tamamen elimine edilmediğini ve malign dönüşüm riskinin arttığını gösterebilir. Bu nedenle, molar gebeliklerin izleminde sadece başlangıç β-hCG düzeyi değil, düşüş hızı da dikkatle değerlendirilmelidir [71].

MMP-9'un GTN gelişiminde pozitif ilişki yönüne rağmen anlamlılığa ulaşamaması trofoblastik invazyon kapasitesiyle ilişkili olmasına rağmen, GTN gelişiminin multifaktöriyel doğası içinde tek başına belirleyici olmadığını düşündürmektedir.

Radyolojik bulgular da bu sonuçları destekledi. GTN gelişen olgularda uterin kitle varlığı, heterojen sinyal intensitesi, belirgin kontrast tutulumu ve myometrial invazyon oranlarının daha yüksek olması, invaziv davranışın klinik ve biyokimyasal düzeyde de karşılık bulduğunu göstermektedir. MMP-9 artışıyla radyolojik invazyon bulguları arasındaki paralellik, bu enzimin yalnızca laboratuvar ölçümüyle değil, görüntüleme bulgularıyla da klinik anlam taşıdığını düşündürmektedir [72,73]. Bununla birlikte, örneklem büyüklüğünün düşük olması nedeniyle bu farklar ileri düzeyde genellenebilir istatistiksel sonuç olarak değil, klinik eğilim göstergesi olarak yorumlanmalıdır. Bulgular, geniş serili çalışmalarla doğrulanmaya muhtaçtır.

Sonuç olarak, parsiyel mol gebeliklerde artan EpCAM ekspresyonu trofoblastik proliferasyonun daha fizyolojik ve düzenli bir seyir izlediğini, komplet mol olgularında yükselen MMP-9 düzeyleri ise invazyon ve doku yıkımı potansiyelinin belirgin olduğunu göstermektedir. Küretaj sonrası β-hCG düşüş hızının GTN gelişimiyle güçlü ilişkisi, bu biyobelirteçlerin izlemdeki önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. Elde edilen bulgular, molar gebeliklerin tanı ve takibinde klasik histopatolojik incelemelere ek olarak EpCAM, MMP-9 ve β-hCG dinamiklerinin birlikte değerlendirilmesinin hem tanısal hem de prognostik açıdan daha güvenilir sonuçlar sağlayabileceğini göstermektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, komplet ve parsiyel mol gebeliklerde EpCAM ve MMP-9 ekspresyonları incelenerek bu belirteçlerin tanı ve prognoz üzerindeki olası etkileri değerlendirildi. Elde edilen bulgular, molar gebeliklerin biyolojik davranışını anlamada bu iki göstergenin önemli ipuçları sunduğunu ortaya koydu.

Parsiyel mol gebeliklerde desidual hücrelerde artmış EpCAM ekspresyonu, maternal immün yanıtın ve doku bütünlüğünü koruyan mekanizmaların aktif kaldığını göstermektedir. Trofoblastlarda belirgin boyanma izlenmemesine rağmen, desidual hücrelerdeki bu düzenli ekspresyon paterni, hücresel farklılaşmanın kısmen korunduğunu düşündürmektedir.

Komplet mol olgularında MMP-9 ekspresyonu belirgin şekilde artmış olup, bu durum invazyon eğiliminin ve doku yıkımının daha fazla olduğunu göstermektedir. Artmış MMP-9 düzeyleri, komplet mol gebeliklerin biyolojik olarak daha agresif bir davranış sergilediğini ve invaziv trofoblastik aktivitenin ön planda olduğunu düşündürmektedir.

GTN gelişimiyle küretaj sonrası β-hCG düşüş hızının yavaş seyretmesi yakın ilişki göstermiştir. Bu bulgu, post-evakuasyon dönemde β-hCG kinetiğinin izlenmesinin GTN riskinin erken öngörülmesi açısından kritik önem taşıdığını desteklemektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, EpCAM, MMP-9 ve β-hCG düşüş dinamiklerinin birlikte yorumlanması, molar gebeliklerin klinik seyrine ilişkin daha bütüncül bir bakış açısı sunmaktadır. Özellikle MMP-9 ekspresyonunun yüksekliği ve β-hCG düşüş hızının yavaşlaması, GTN gelişimi açısından güçlü biyolojik uyarıcılar olarak görünmektedir. Tanı anı β-hCG düzeyi de ek bir prognostik gösterge olarak dikkate alınmalı; yüksek başlangıç değerleri olan olgular yakın klinik ve radyolojik takip altında bulundurulmalıdır. Bu parametrelerin daha geniş hasta serilerinde doğrulanması, molar gebeliklerin erken dönemde risk sınıflandırılmasına ve izlem stratejilerinin daha güvenilir şekilde planlanmasına katkı sağlayacaktır.

7. KAYNAKÇA

[1] J. R. Lurain, "Gestational trophoblastic disease I: epidemiology, pathology, clinical presentation and diagnosis of gestational trophoblastic disease, and management of hydatidiform mole," Am J Obstet Gynecol, vol. 203, no. 6, pp. 531–539, Dec. 2010, doi: 10.1016/j.ajog.2010.06.073.

[2] N. Banet *et al.*, "Characteristics of hydatidiform moles: analysis of a prospective series with p57 immunohistochemistry and molecular genotyping," *Modern Pathology*, vol. 27, no. 2, pp. 238–254, Feb. 2014, doi: 10.1038/modpathol.2013.143.

[3] M. J. Seckl, N. J. Sebire, and R. S. Berkowitz, "Gestational trophoblastic disease," *The Lancet*, vol. 376, no. 9742, pp. 717–729, Aug. 2010, doi: 10.1016/S0140-6736(10)60280-2.

[4] H. Y. S. Ngan *et al.*, "Diagnosis and management of gestational trophoblastic disease: 2021 update," *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, vol. 155, no. S1, pp. 86–93, Oct. 2021, doi: 10.1002/ijgo.13877.

[5] U. Schnell, V. Cirulli, and B. N. G. Giepmans, "EpCAM: Structure and function in health and disease," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, vol. 1828, no. 8, pp. 1989–2001, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.bbamem.2013.04.018.

[6] W. A. Osta *et al.*, "EpCAM Is Overexpressed in Breast Cancer and Is a Potential Target for Breast Cancer Gene Therapy," *Cancer Res*, vol. 64, no. 16, pp. 5818–5824, Aug. 2004, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0754.

[7] T. Hiraga, S. Ito, and H. Nakamura, "Ep <scp>CAM</scp> expression in breast cancer cells is associated with enhanced bone metastasis formation," *Int J Cancer*, vol. 138, no. 7, pp. 1698–1708, Apr. 2016, doi: 10.1002/ijc.29921.

[8] T. Zhu, X. Peng, Z. Cheng, D. Xing, and M. Zhang, "Diagnostic rather than prognostic markers-relationship between EpCAM overexpression and lung cancer: a meta-analysis," *Ann Palliat Med*, vol. 10, no. 4, pp. 4025–4036, Apr. 2021, doi: 10.21037/apm-20-2013.

[9] K. Kessenbrock, V. Plaks, and Z. Werb, "Matrix Metalloproteinases: Regulators of the Tumor Microenvironment," *Cell*, vol. 141, no. 1, pp. 52–67, Apr. 2010, doi: 10.1016/j.cell.2010.03.015.

[10] J. Vandooren, P. E. Van den Steen, and G. Opdenakker, "Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9): The next decade," *Crit Rev Biochem Mol Biol*, vol. 48, no. 3, pp. 222–272, May 2013, doi: 10.3109/10409238.2013.770819.

[11] C. Joseph *et al.*, "Elevated MMP9 expression in breast cancer is a predictor of shorter patient survival," *Breast Cancer Res Treat*, vol. 182, no. 2, pp. 267–282, Jul. 2020, doi: 10.1007/s10549-020-05670-x.

[12] X. Hu, D. Li, W. Zhang, J. Zhou, B. Tang, and L. Li, “Matrix metalloproteinase-9 expression correlates with prognosis and involved in ovarian cancer cell invasion,” *Arch Gynecol Obstet*, vol. 286, no. 6, pp. 1537–1543, Dec. 2012, doi: 10.1007/s00404-012-2456-6.

[13] A. Shoari, A. Ashja Ardalan, A. M. Dimesa, and M. A. Coban, “Targeting Invasion: The Role of MMP-2 and MMP-9 Inhibition in Colorectal Cancer Therapy,” *Biomolecules*, vol. 15, no. 1, p. 35, Dec. 2024, doi: 10.3390/biom15010035.

[14] “World Health Organization (WHO) and International Agency for Research on Cancer (IARC), Female Genital Tumours. WHO Classification of Tumours, 5th ed. Lyon, France: IARC Press, 2020. [Online]. Available: https://tumourclassification.iarc.who.int/. [Accessed: Oct. 23, 2025].”

[15] S. Bruce and J. Sorosky, *Gestational Trophoblastic Disease*. 2025.

[16] L. Cue, F. Farci, S. Ghassemzadeh, and M. Kang, *Hydatidiform Mole*. 2025.

[17] N. M. LINDOR, J. A. NEY, T. A. GAFFEY, R. B. JENKINS, S. N. THIBODEAU, and G. W. DEWALD, “A Genetic Review of Complete and Partial Hydatidiform Moles and Nonmolar Triploidy,” *Mayo Clin Proc*, vol. 67, no. 8, pp. 791–799, Aug. 1992, doi: 10.1016/S0025-6196(12)60805-2.

[18] U. Joneborg, “Epidemiology of Gestational Trophoblastic Disease,” *Hematol Oncol Clin North Am*, vol. 38, no. 6, pp. 1173–1190, Dec. 2024, doi: 10.1016/j.hoc.2024.07.003.

[19] R. A. Fisher, “The maternally transcribed gene p57KIP2 (CDNK1C) is abnormally expressed in both androgenetic and biparental complete hydatidiform moles,” *Hum Mol Genet*, vol. 11, no. 26, pp. 3267–3272, Dec. 2002, doi: 10.1093/hmg/11.26.3267.

[20] J. T. Soper, “Gestational Trophoblastic Disease,” *Obstetrics & Gynecology*, vol. 137, no. 2, pp. 355–370, Feb. 2021, doi: 10.1097/AOG.0000000000004240.

[21] PDQ Adult Treatment Editorial Board, *Gestational Trophoblastic Disease Treatment (PDQ®): Health Professional Version*. 2002.

[22] P. A. Jacobs, C. M. Wilson, J. A. Sprenkle, N. B. Rosenshein, and B. R. Migeon, “Mechanism of origin of complete hydatidiform moles,” *Nature*, vol. 286, no. 5774, pp. 714–716, Aug. 1980, doi: 10.1038/286714a0.

[23] S. D. Lawler and R. A. Fisher, “Genetic studies in hydatidiform mole with clinical correlations,” *Placenta*, vol. 8, no. 1, pp. 77–88, Jan. 1987, doi: 10.1016/0143-4004(87)90041-5.

[24] J.-B. Fan *et al.*, “Paternal Origins of Complete Hydatidiform Moles Proven by Whole Genome Single-Nucleotide Polymorphism Haplotyping,” *Genomics*, vol. 79, no. 1, pp. 58–62, Jan. 2002, doi: 10.1006/geno.2001.6676.

[25] V. Repiska, J. Vojtassak, D. Bohmer, and M. Durikova, “[DNA analysis of partial and complete hydatid mole].,” *Bratisl Lek Listy*, vol. 101, no. 5, pp. 313–4, 2000.

[26] J. R. Lurain, “Gestational trophoblastic disease I: epidemiology, pathology, clinical presentation and diagnosis of gestational trophoblastic disease, and management of hydatidiform mole,” *Am J Obstet Gynecol*, vol. 203, no. 6, pp. 531–539, Dec. 2010, doi: 10.1016/j.ajog.2010.06.073.

[27] N. Tsukamoto, T. Iwasaka, Y. Kashimura, H. Uchino, M. Kashimura, and T. Matsuyama, “Gestational trophoblastic disease in women aged 50 or more,” *Gynecol Oncol*, vol. 20, no. 1, pp. 53–61, Jan. 1985, doi: 10.1016/0090-8258(85)90124-6.

[28] A. Ruengsaen *et al.*, “Clinical Characteristics and Prognostic Factors in Patients with Gestational Trophoblastic Neoplasia: A Single-Center Study Comparing Ultra-High-Risk and Other Risk Groups,” *Cancers (Basel)*, vol. 17, no. 10, p. 1655, May 2025, doi: 10.3390/cancers17101655.

[29] D. P. Goldstein and R. S. Berkowitz, “Prophylactic chemotherapy of complete molar pregnancy.,” *Semin Oncol*, vol. 22, no. 2, pp. 157–60, Apr. 1995.

[30] M. Pavšič, G. Gunčar, K. Djinović-Carugo, and B. Lenarčič, “Crystal structure and its bearing towards an understanding of key biological functions of EpCAM,” *Nat Commun*, vol. 5, no. 1, p. 4764, Aug. 2014, doi: 10.1038/ncomms5764.

[31] O. Leavy, “Inflammatory transformation,” *Nat Rev Cancer*, vol. 10, no. 1, pp. 5–5, Jan. 2010, doi: 10.1038/nrc2776.

[32] E. Staun-Ram, S. Goldman, and E. Shalev, “Ets-2 and p53 mediate cAMP-induced MMP-2 expression, activity and trophoblast invasion,” *Reproductive Biology and Endocrinology*, vol. 7, no. 1, p. 135, Dec. 2009, doi: 10.1186/1477-7827-7-135.

[33] N. J. Sebire and M. J. Seckl, “Gestational trophoblastic disease: current management of hydatidiform mole,” *BMJ*, vol. 337, no. aug15 1, pp. a1193–a1193, Aug. 2008, doi: 10.1136/bmj.a1193.

[34] G. Spizzo *et al.*, “Overexpression of epithelial cell adhesion molecule (Ep-CAM) is an independent prognostic marker for reduced survival of patients with epithelial ovarian cancer,” *Gynecol Oncol*, vol. 103, no. 2, pp. 483–488, Nov. 2006, doi: 10.1016/j.ygyno.2006.03.035.

[35] T. Yamashita, A. Budhu, M. Forgues, and X. W. Wang, “Activation of Hepatic Stem Cell Marker EpCAM by Wnt–β-Catenin Signaling in Hepatocellular Carcinoma,” *Cancer Res*, vol. 67, no. 22, pp. 10831–10839, Nov. 2007, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0908.

[36] H. Woopen *et al.*, “Overexpression of the epithelial cell adhesion molecule is associated with a more favorable prognosis and response to platinum-based chemotherapy in ovarian cancer,” *J Gynecol Oncol*, vol. 25, no. 3, p. 221, 2014, doi: 10.3802/jgo.2014.25.3.221.

[37] M. G. Pak, D. H. Shin, C. H. Lee, and M. K. Lee, “Significance of EpCAM and TROP2 expression in non-small cell lung cancer,” *World J Surg Oncol*, vol. 10, no. 1, p. 53, Dec. 2012, doi: 10.1186/1477-7819-10-53.

[38] S. Mukherjee *et al.*, “Identification of EpCAM as a molecular target of prostate cancer stroma.,” *Am J Pathol*, vol. 175, no. 6, pp. 2277–87, Dec. 2009, doi: 10.2353/ajpath.2009.090013.

[39] R. T. Bryan *et al.*, “Urinary EpCAM in urothelial bladder cancer patients: characterisation and evaluation of biomarker potential,” *Br J Cancer*, vol. 110, no. 3, pp. 679–685, Feb. 2014, doi: 10.1038/bjc.2013.744.

[40] M. Egeblad and Z. Werb, “New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression,” *Nat Rev Cancer*, vol. 2, no. 3, pp. 161–174, Mar. 2002, doi: 10.1038/nrc745.

[41] H. Li *et al.*, “Prognostic value of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in patients with lymph node-negative breast carcinoma,” *Breast Cancer Res Treat*, vol. 88, no. 1, pp. 75–85, Nov. 2004, doi: 10.1007/s10549-004-1200-8.

[42] F. Guo, J. Tian, M. Cui, M. Fang, and L. Yang, “[Retracted] Downregulation of matrix metalloproteinase 9 by small interfering RNA inhibits the tumor growth of ovarian epithelial carcinoma *in vitro* and *in vivo*,” *Mol Med Rep*, vol. 24, no. 5, p. 751, Aug. 2021, doi: 10.3892/mmr.2021.12391.

[43] M. G. S. B. B. O. N. K. T. Mungan. N. Karahan, “Expression of gelatinase (MMP-2 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in endometrial carcinoma. European Journal of Gynaecological Oncology. 2007. 28(3);184-188.,” 2007.

[44] R. Bendardaf *et al.*, “MMP-9 (Gelatinase B) Expression is Associated With Disease-Free Survival and Disease-Specific Survival in Colorectal Cancer Patients,” *Cancer Invest*, vol. 28, no. 1, pp. 38–43, Jan. 2010, doi: 10.3109/07357900802672761.

[45] M. Singh *et al.*, “Matrix metalloproteinases and their inhibitors and inducer in gestational trophoblastic diseases and normal placenta,” *Gynecol Oncol*, vol. 122, no. 1, pp. 178–182, Jul. 2011, doi: 10.1016/j.ygyno.2011.03.025.

[46] X. Liu *et al.*, “Immunohistochemical analysis of matrix metalloproteinase-9 predicts papillary thyroid carcinoma prognosis,” *Oncol Lett*, Dec. 2018, doi: 10.3892/ol.2018.9850.

[47] I. Kalaitsidou, N. Pasteli, G. Venetis, A. Poulopoulos, and K. Antoniades, “Immunohistochemical Expression of Epithelial Cell Adhesion Molecule (EpCAM) in Salivary Gland Cancer: Correlation with the Biological Behavior,” *Diagnostics*, vol. 13, no. 16, p. 2652, Aug. 2023, doi: 10.3390/diagnostics13162652.

[48] G. L. Vegh, Z. Selcuk Tuncer, V. Fulop, D. R. Genest, S. C. Mok, and R. S. Berkowitz, “Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Gestational Trophoblastic Diseases and Normal Placenta,” *Gynecol Oncol*, vol. 75, no. 2, pp. 248–253, Nov. 1999, doi: 10.1006/gyno.1999.5564.

[49] P. M. Savage *et al.*, “The relationship of maternal age to molar pregnancy incidence, risks for chemotherapy and subsequent pregnancy outcome,” *J Obstet Gynaecol (Lahore)*, vol. 33, no. 4, pp. 406–411, May 2013, doi: 10.3109/01443615.2013.771159.

[50] A. Altieri, S. Franceschi, J. Ferlay, J. Smith, and C. La Vecchia, “Epidemiology and aetiology of gestational trophoblastic diseases,” *Lancet Oncol*, vol. 4, no. 11, pp. 670–678, Nov. 2003, doi: 10.1016/S1470-2045(03)01245-2.

[51] F. Parazzini *et al.*, “ABO blood-groups and the risk of gestational trophoblastic disease.,” *Tumori*, vol. 71, no. 2, pp. 123–6, Apr. 1985, doi: 10.1177/030089168507100206.

[52] A. Abro, R. Ahmedani, S. N. Shaikh, S. Khan, U. Bhatti, and A. M. Sodhar, “ABO Blood Grouping in Partial and Complete Hydatidiform Molar Pregnancy,” *Pakistan Journal of Medical and Health Sciences*, vol. 16, no. 2, pp. 928–930, Feb. 2022, doi: 10.53350/pjmhs22162928.

[53] J. V.-B. Pereira and T. Lim, “Hyperthyroidism in gestational trophoblastic disease – a literature review,” *Thyroid Res*, vol. 14, no. 1, p. 1, Dec. 2021, doi: 10.1186/s13044-021-00092-3.

[54] M. J. Winter, I. D. Nagtegaal, J. H. J. M. van Krieken, and S. V. Litvinov, “The Epithelial Cell Adhesion Molecule (Ep-CAM) as a Morphoregulatory Molecule Is a Tool in Surgical Pathology,” *Am J Pathol*, vol. 163, no. 6, pp. 2139–2148, Dec. 2003, doi: 10.1016/S0002-9440(10)63570-5.

[55] S. V. Litvinov *et al.*, “Epithelial Cell Adhesion Molecule (Ep-CAM) Modulates Cell–Cell Interactions Mediated by Classic Cadherins,” *J Cell Biol*, vol. 139, no. 5, pp. 1337–1348, Dec. 1997, doi: 10.1083/jcb.139.5.1337.

[56] O. Gires, M. Pan, H. Schinke, M. Canis, and P. A. Baeuerle, “Expression and function of epithelial cell adhesion molecule EpCAM: where are we after 40 years?,” *Cancer and Metastasis Reviews*, vol. 39, no. 3, pp. 969–987, Sep. 2020, doi: 10.1007/s10555-020-09898-3.

[57] M. Trzpis, P. M. J. McLaughlin, L. M. F. H. de Leij, and M. C. Harmsen, “Epithelial Cell Adhesion Molecule,” *Am J Pathol*, vol. 171, no. 2, pp. 386–395, Aug. 2007, doi: 10.2353/ajpath.2007.070152.

[58] M. J. Seckl, N. J. Sebire, R. A. Fisher, F. Golfier, L. Massuger, and C. Sessa, "Gestational trophoblastic disease: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up," *Annals of Oncology*, vol. 24, pp. vi39–vi50, Oct. 2013, doi: 10.1093/annonc/mdt345.

[59] J. Gonzalez, M. Popp, S. Ocejo, A. Abreu, H. F. Bahmad, and R. Poppiti, "Gestational Trophoblastic Disease: Complete versus Partial Hydatidiform Moles," *Diseases*, vol. 12, no. 7, p. 159, Jul. 2024, doi: 10.3390/diseases12070159.

[60] M. López-Llera, M. de la Luz Espinosa, J. Ramos, and M. D. de León, "Coagulation and fibrinolysis in molar pregnancy," *Am J Obstet Gynecol*, vol. 127, no. 8, pp. 855–860, Apr. 1977, doi: 10.1016/0002-9378(77)90118-1.

[61] L. Li *et al.*, "Research progress on the STAT signaling pathway in pregnancy and pregnancy-associated disorders," *Front Immunol*, vol. 14, Jan. 2024, doi: 10.3389/fimmu.2023.1331964.

[62] J. Ding *et al.*, "Trophoblast-derived IL-6 serves as an important factor for normal pregnancy by activating Stat3-mediated M2 macrophages polarization," *Int Immunopharmacol*, vol. 90, p. 106788, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.intimp.2020.106788.

[63] P. PETIGNAT, R. LAURINI, F. GOFFIN, I. BRUCHIM, and P. BISCHOF, "Expression of matrix metalloproteinase-2 and mutant p53 is increased in hydatidiform mole as compared with normal placenta," *International Journal of Gynecological Cancer*, vol. 16, no. 4, pp. 1679–1684, Jul. 2006, doi: 10.1111/j.1525-1438.2006.00643.x.

[64] E. Staun-Ram, S. Goldman, D. Gabarin, and E. Shalev, "Expression and importance of matrix metalloproteinase 2 and 9 (MMP-2 and -9) in human trophoblast invasion," *Reproductive Biology and Endocrinology*, vol. 2, no. 1, p. 59, 2004, doi: 10.1186/1477-7827-2-59.

[65] J.-Y. Zhu, Z.-J. Pang, and Y.-H. Yu, "Regulation of trophoblast invasion: the role of matrix metalloproteinases.," *Rev Obstet Gynecol*, vol. 5, no. 3–4, pp. e137-43, 2012.

[66] Y. Seval, G. Akkoyunlu, R. Demir, and M. Asar, "Distribution patterns of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and -9 and their inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) in the human decidua during early pregnancy," *Acta Histochem*, vol. 106, no. 5, pp. 353–362, Nov. 2004, doi: 10.1016/j.acthis.2004.07.005.

[67] W. D. Kang, H. S. Choi, and S. M. Kim, "Prediction of persistent gestational trophobalstic neoplasia: The role of hCG level and ratio in 2weeks after evacuation of complete mole," *Gynecol Oncol*, vol. 124, no. 2, pp. 250–253, Feb. 2012, doi: 10.1016/j.ygyno.2011.10.035.

[68] H. Y. S. Ngan *et al.*, "Update on the diagnosis and management of gestational trophoblastic disease," *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, vol. 143, no. S2, pp. 79–85, Oct. 2018, doi: 10.1002/ijgo.12615.

[69] M. H. M. H. G. S. M. M. A. C. C. O. G. M. M. C. C. L. C. of M. of C. W. R. U. Pedro T. Ramirez, “https://www.msdmanuals.com/professional/gynecology-and-obstetrics/gynecologic-tumors/gestational-trophoblastic-disease,” Reviewed/Revised Sept 2023 | Modified Mar 2024.

[70] M. John R. Lurain, “Gestational trophoblastic disease I: epidemiology, pathology, clinical presentation and diagnosis of gestational trophoblastic disease, and management of hydatidiform mole,” American Journal of Obstetrics & Gynecology, Volume 203, Issue 6, 531 - 539.

[71] N. E. V. A. N. TROMMEL, H. N. G. O. DUC, L. F. A. G. MASSUGER, C. P. T. SCHIJF, C. G. J. SWEEP, and C. M. G. THOMAS, “Early identification of persistent trophoblastic disease with serum hCG concentration ratios,” *International Journal of Gynecological Cancer*, vol. 18, no. 2, pp. 318–323, Feb. 2008, doi: 10.1111/j.1525-1438.2007.00993.x.

[72] S. Dhanda, S. Ramani, and M. Thakur, “Gestational trophoblastic disease: a multimodality imaging approach with impact on diagnosis and management.,” *Radiol Res Pract*, vol. 2014, p. 842751, 2014, doi: 10.1155/2014/842751.

[73] L. de L. A. Lima *et al.*, “Clinical and radiological correlations in patients with gestational trophoblastic disease,” *Radiol Bras*, vol. 49, no. 4, pp. 241–250, Aug. 2016, doi: 10.1590/0100-3984.2015.0073.