



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

MAGNEZYUMUN ENDOMETRİYUM KANSERİNDE TÜMÖROGENEZ  
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Dr. Zarnigar GADİRLİ

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2025



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

MAGNEZYUMUN ENDOMETRİYUM KANSERİNDE TÜMÖROGENEZ  
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Dr. Zarnigar GADİRLİ

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç.Dr.Yakup YALÇIN

Bursa-2025

## İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet.....	ii
İngilizce Özet (Summary).....	iv
Giriş.....	1
Genel Bilgiler.....	2
1. Epidemiyoloji	
2. Risk faktörleri	
3. Koruyucu faktörler	
4. Patolojik sınıflama	
5. Histopatolojik sınıflama	
6. Moleküler sınıflama	
7. Evreleme	
8. Endometriyum kanserde immün sistemin rolü	
9. Endometriyum kanserde kök hücreleri	
10. Endometriyum kanserde magnezyumun rolü	
11. Tanı	
12. Tedavi	
Gereç ve Yöntem.....	26
1. Hasta Seçim Protokolü.....	26
2. Çalışma Protokolü ve Yöntem .....	28
3. İstatistiksel Analiz .....	33
Bulgular.....	35
Tartışma.....	48
Kısaltmalar.....	56
Şekiller Dizini.....	57
Tablolar Dizini.....	59
Kaynaklar.....	60
Teşekkür.....	71
Özgeçmiş.....	72

## ÖZET

**Amaç;** Endometriyum kanserindeki kök hücrelerin ekspresyonunu azaltmak veya bu hücrelerin büyümesini engellemek, tedavi stratejilerinin önemli bir parçasıdır. Magnezyum, kanser kök hücrelerinin biyolojisi üzerinde çeşitli etkiler yaratabilir. Genel olarak magnezyumun, kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyici ve tedaviye karşı dirençlerini azaltıcı özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir. Projenin öncelikli hedefi, endometriyum kanseri dokusundan izole edilen hücrelerin farklı magnezyum konsantrasyonlarıyla (artan konsantrasyonlarla) eş kültür yapılarak, magnezyumun endometriyum kanserindeki kök hücre ekspresyonu üzerindeki etkisinin araştırılmasıdır.

**Gereç ve Yöntem;** Çalışmamıza 1 Ağustos 2023 – 1 Aralık 2024 tarihleri arasında Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D, Jinekolojik Onkoloji B.D'inde endometriyum kanseri nedeniyle tedavi amaçlı laparotomi veya laparoskopik histerektomi uygulanan 40 hasta (beklenilenden daha fazla antikör kullanıldığı için, daha az hasta (n=14) çalışılmış olmakla beraber tüm koşullar değerlendirilebilmiştir), benign endikasyonlarla histerektomi yapılan 4 sağlıklı kontrol hasta ve yaş ve cinsiyet açısından eşleşmiş 40 sağlıklı birey (kan parametreleri, demografik verileri) dahil edilmiştir. Endometriyum kanseri dokusundan (intratümör), peritümör dokudan ve sağlıklı hastaların uteruslarından izole edilen hücrelerin, farklı magnezyum klorür ( $MgCl_2$ ) konsantrasyonları (5, 10, 20 mM) ile kültür edilmesi sonucunda, magnezyumun endometriyum kök hücreleri üzerindeki CD44+, CD117+ ve CD133+ ekspresyon seviyeleri ile CD117+ veya CD133+ belirtecini taşıyan kanser kök hücresi alt gruplarının, T hücre baskılama belirteçleri olan PDL-1 ve PDL-2 ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. Ayrıca endometriyum kanser tanılı hastalar ile sağlıklı bireylerin kan parametreleri ve demografik verileri de karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** Endometriyum kanseri olan hastalar ile sağlıklı bireyler arasındaki karşılaştırmada, kanserli hastalarda serum magnezyum (Mg) düzeylerinin anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlenmiştir ( $p < 0,0001$ ). Kanser kök hücreleri üzerinde yapılan incelemede, CD44+ ekspresyonunda herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiş, ancak CD117+ ve CD133+ ekspresyonlarında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. 5 mM  $MgCl_2$  tedavisinin, CD117+PD-L2+ ve CD133+PD-L1+ ekspresyonlarını anlamlı derecede artırdığı bulunmuştur ( $p=0,045$ ;  $p=0,045$ ). Bununla birlikte, 10-20 mM  $MgCl_2$  tedavisinde, CD133+PD-L2+, CD117+PD-L1+ ve CD117+PD-L2+ ekspresyonlarının anlamlı derecede azaldığı gözlemlenmiştir ( $p=0,0105$ ;  $p=0,0107$ ;  $p=0,0302$ ). Bu bulgular, magnezyumun doz bağımlı bir şekilde kanser kök hücreleri üzerinde etkili olabileceği ve yüksek dozların bazı immün yolları inhibe edebileceğini ortaya koymaktadır.

**Sonuç:** Bu çalışmada, magnezyumun endometriyum kanseri hücreleri üzerindeki etkileri incelenmiş ve magnezyum konsantrasyonlarının tümörojenik süreçlere nasıl etki edebileceği araştırılmıştır. Bulgulara göre, intratümör hücrelerinde, kanser kök hücrelerinin CD117+ ve CD133+ ekspresyonlarında  $MgCl_2$  konsantrasyonuna bağlı olarak anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Ayrıca, CD117+ veya CD133+ belirtecini taşıyan kanser kök hücresi alt gruplarının, T hücre baskılama belirteçleri olan PDL-1 ve PDL-2 ekspresyon seviyeleri, yüksek magnezyum konsantrasyonları ile anlamlı şekilde baskılanmıştır. Ancak, bu durum, magnezyum seviyelerinin kanser kök hücrelerinin biyolojisini modüle etmesinin yanında farklı immün modülatör fonksiyonlarının da üzerinde önemli bir rol oynayabildiğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Endometriyum kanseri, Magnezyum, kanser kök hücresi, immünmodülasyon

## SUMMARY

### Effect Of Magnesium On Tumorigenesis In Endometrial Cancer

**Objective;** The reduction of stem cell expression or inhibition of the growth of these cells in endometrial cancer is an important part of therapeutic strategies. Magnesium can have various effects on the biology of cancer stem cells. In general, magnesium is thought to have properties that inhibit the proliferation of cancer cells and reduce their resistance to treatment. The primary goal of this project is to investigate the effect of magnesium on stem cell expression in endometrial cancer by co-culturing cells isolated from endometrial cancer tissue with increasing concentrations of magnesium.

**Materials and methods ;** Our study included 40 patients who underwent laparotomy or laparoscopic hysterectomy for therapeutic purposes due to endometrial cancer (since more antibodies were used than expected, fewer patients (n=14) were studied, but all conditions could be evaluated), 4 healthy control patients who underwent hysterectomy for benign indications, and 40 healthy individuals matched for age and gender (blood parameters, demographic data) at the Department of Obstetrics and Gynecology, Department of Gynecological Oncology, Bursa Uludağ University, Faculty of Medicine, between August 1, 2023 and December 1, 2024. Cells isolated from endometrial cancer tissue (intratumoral), peritumoral tissue, and the uteri of healthy patients were cultured with different magnesium chloride ( $MgCl_2$ ) concentrations (5, 10, 20 mM). The expression levels of CD44+, CD117+, and CD133+ on endometrial stem cells, as well as the expression levels of T-cell suppression markers, PDL-1 and PDL-2, in cancer stem cell subgroups expressing CD117+ or CD133+, were examined. Additionally, the blood parameters and demographic data of endometrial cancer patients were compared with those of healthy individuals.

**Results** ; In the comparison between patients with endometrial cancer and healthy individuals, it was observed that serum magnesium (Mg) levels were significantly lower in cancer patients ( $p < 0.0001$ ). Upon examining cancer stem cells, no change was observed in CD44+ expression, but a significant increase in CD117+ and CD133+ expression was detected. Treatment with 5 mM  $MgCl_2$  significantly increased the expression of CD117+PD-L2+ and CD133+PD-L1+ ( $p = 0.045$ ;  $p = 0.045$ ). However, with 10-20 mM  $MgCl_2$  treatment, a significant decrease in the expression of CD133+PD-L2+, CD117+PD-L1+, and CD117+PD-L2+ was observed ( $p = 0.0105$ ;  $p = 0.0107$ ;  $p = 0.0302$ ). These findings suggest that magnesium may exert its effects on cancer stem cells in a dose-dependent manner, and high doses may inhibit certain immune pathways.

**Conclusion:** In this study, the effects of magnesium on endometrial cancer cells were investigated, and how magnesium concentrations may influence tumorigenic processes was explored. According to the findings, a significant increase in the expression of CD117+ and CD133+ cancer stem cells was observed in intratumoral cells, depending on the  $MgCl_2$  concentration. Additionally, the expression levels of T-cell suppression markers, PDL-1 and PDL-2, were significantly suppressed in cancer stem cell subgroups expressing CD117+ or CD133+ at higher magnesium concentrations. However, this suggests that magnesium levels not only modulate the biology of cancer stem cells but may also play a significant role in influencing different immune-modulatory functions.

**Keywords:** Endometrial cancer, magnesium, cancer stem cells, immune modulation

## GİRİŞ

Endometriyum kanseri dünya çapında görülme sıklığı ve hastalıkla ilişkili mortalitesi artan, uterusun iç epitelyal tabakasının bir malignitesidir (1). Endometriyum kanserinin en önemli semptomu ve hastaların %90'ından fazlasının hastaneye başvurma nedeni anormal uterin kanamadır. Endometriyal kanser tanılı hastaların semptomlarının erken dönemde ortaya çıkması, bu hastaların çoğunun başvuru anında erken evre hastalığa sahip olduğunu açıklamaktadır. Yapılan çalışmalara göre tüm aşamalar birlikte ele alındığında 5 yıllık genel sağkalım %80 civarındadır. Endometriyum kanserli hastalarda tedavi seçenekleri, hastalığın klinik ve histopatolojik özelliklerine bağlı olarak cerrahi (histerektomi ve bilateral salpingo-ooferektomi) ve ardından adjuvan tedavi (kemoterapi veya hormonal ajanlar) ile sınırlıydı (2). Bilinen en önemli tedavileri cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi olsa da, endometriyum kanseri dünya çapında ölüm nedenlerinin en sık sebeplerinden biri olduğu için anti kanser ilaçların kullanımı tedavisinde yaygınlaşmıştır (3).

Kanser gelişimi ve ilerlemesinde mikroçevrenin önemi yaygın olarak kabul edilmektedir, endometriyal karsinomda T hücrelerinin rolü belirsizdir. CD8+ sitotoksik T hücreleri ve CD4+ yardımcı T hücreleri, en sık tümöre infiltre eden lenfositlerdir (TIL'ler). Tümör mikroçevresindeki yüksek yoğunluklu sitotoksik T hücrelerinin üstün prognozla ilişkili olduğu daha önce gösterilmiştir (4).

Magnezyumun tümör biyolojisindeki rolüne çok dikkat edilmiştir. Magnezyum, hücre çoğalması, farklılaşması, anjiyogenez ve apoptozis için önemli olan çok çeşitli biyokimyasal reaksiyonlarda yer alır. Magnezyumun bulunduğu ortamda immüno-inflamatuar hücrelerin etkilendiği gösterilmiştir (5).

Çalışmalar hücre dışı magnezyumun, CD8+ T hücreleri üzerindeki ortak uyarıcı molekül LFA-1 tarafından doğrudan algılandığını, bunun sonucunda dışarıdan içeriye sinyalleme ve T hücresi aktivasyonunun ve efektör fonksiyonlarının gelişmesini sağladığını göstermişler. Buna göre magnezyum

yeterliliği, enfeksiyonlara ve kansere karşı ve immünoterapiler bağlamında gelişmiş T hücreleri aktivitesini destekler (6).

Çalışmamızda insan endometriyum kanser dokusundan izole edilen hücrelerin farklı magnezyum konsantrasyonlarıyla inkübasyonu sonucu tümörogenez ile etkileşimini inceledik. Bu etkileşimin endometriyum kanserindeki immün hücre popülasyonu alt tiplerine ve kanser kök hücre fenotipine etkisini araştırarak konsantrasyonlarla orantılı olarak en anlamlı sonuca ulaşmayı hedefledik.

## GENEL BİLGİLER

### 1. EPİDEMİYOLOJİ

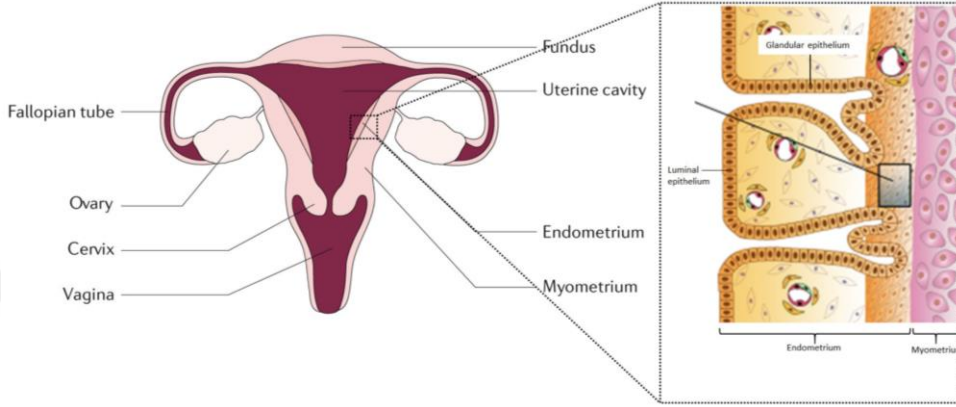
Endometriyum kanser, dünya çapında görölme sıklığı ve hastalıkla ilişkili mortalitesi artan bir malignitedir (7) (şekil-1). Günümüzde gelişmiş ölkelerde kadın genital sisteminin en sık görölen kanseri endometriyum kanseridir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2020 yılında endometriyal kanser insidansı dünya çapında 417.336 olarak rapor edilmiştir. Her yıl kadınlar arasında endometriyum kanser nedeniyle yaklaşık 76.000 ölüm rapor edilmiştir (8) (şekil-2).

Endometriyum kanser teşhisi konulan hastaların çoğu postmenopozaldır ve teşhis sırasındaki ortalama yaş 60'tır (9). Özellikle vücut kitle indeksi yüksek olan premenopozal kadınların %14'de rastlanır (10).

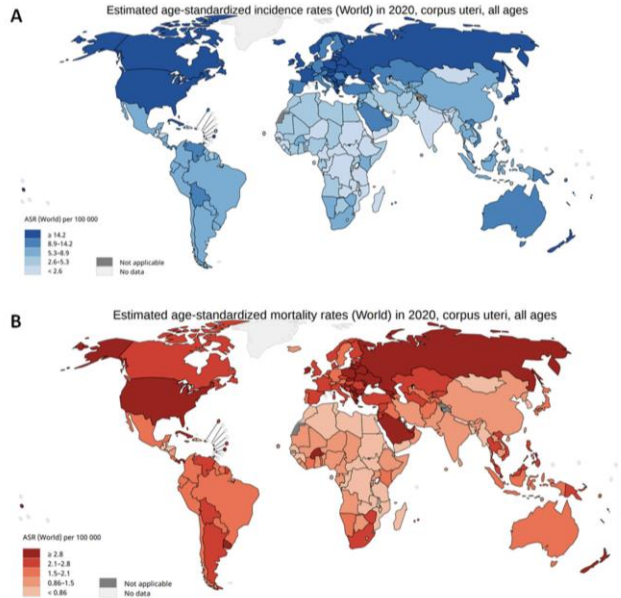
Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'daki yüksek insidans oranlarının nedeni endometriyal kanser vakalarının ~%50'si ile ilişkili olan obezite gibi risk faktörlerinin yüksek prevalansından kaynaklanmasdır (11).

Yapılan istatistiksel araştırmalara göre Amerika Birleşik Devletleri'nde, mevcut eğilimlerin devam etmesi halinde endometriyal kanser tanısı alan kadın

sayısının 2030 yılına kadar iki katına çıkarak yılda 122.000 vakaya ulaşılması beklenmektedir (12).



**Şekil-1:** Uterusun anatomisi. Endometrial kanser, endometriyal glandüler epitelden kaynaklanır (7).



**Şekil-2:** Korpus uteri kanserlerinin görülme sıklığı ve mortalitesi. A) Korpus uteri kanserlerinin dünya çapında görülme sıklığı. B) Corpus uteri kanserlerinin dünya çapındaki mortalitesi. Globocan Kayıt Defterinden veriler (8).

## 2. RİSK FAKTÖRLERİ

Endometriyum kanserin artmış riski, artan yaş, belirli etnik kökenler, daha yüksek vücut kitle indeksi (VKİ), endojen veya ekzojen östrojen maruziyeti, tamoksifen kullanımı, erken menarş, geç menopoz, düşük parite, metabolik sendrom, aile geçmişi ve genetik yatkınlıkla ilişkilidir. Buna karşılık, normal VKİ, daha yüksek parite ve oral kontrasepsiyon kullanımı düşük bir endometriyum kanser riski ile ilişkilendirilmiştir (13).

Uzun süreli karşılanmayan östrojen maruziyeti (östrojen replasman tedavisi, kronik anovülasyon ve tamoksifen tedavisi gibi) ve  $\geq 55$  yaş, endometrial kanser için çok iyi bilinen risk faktörleridir (14). Gelişmiş ülkelerde, obezite oranındaki artış, endometrial kanser insidansında artışla paralellik göstermektedir (10, 15). Obezite ve endometrial kanser arasındaki ilişki çok iyi bilinmektedir ve özellikle endometrioid endometrial kanser için belirgindir; fazla kilolu olanlar için bu risk yaklaşık 1,5, 1. sınıf obezitesi olanlar için 2,5 (VKİ 30,0-34,9 kg/m<sup>2</sup>), 2. sınıf obezitesi olanlar için 4,5 (VKİ 35,0-39,9 kg/m<sup>2</sup>) ve 3. sınıf obezitesi olanlar için 7,1'dir (VKİ  $\geq 40,0$  kg/m<sup>2</sup> olanlar) (16). Yağ hücreleri tarafından androjenlerin östrojene dönüştürülmesi obezitenin endometrial karsinogenezdeki ana mekanizması olarak bilinmektedir. Östrojen üretiminin artması endometrial proliferasyonu uyarır ve bu potansiyel olarak hiperplazi ve kanser gelişimini sağlar (17). Kasıtlı kilo kaybı gibi düzeltici eylemler, bunun etkili bir önleyici tedbir olduğunu destekleyen veriler sağlamıştır. Gerçekten de, başlangıç VKİ'si için düzeltme yapıldıktan sonra, vücut ağırlığının %5'inden fazlasını kaybeden menopoz sonrası kadınlarda endometriyum kanser riskinde ~%30'luk bir azalma görülmüş (18).

Tamoksifen kullanımı endometriyum kanser riskini 8 kat artırdığı bildirilmiştir. Tamoksifen bilinen selektif östrojen reseptör modulatörüdür. Farklı dokularda farklı etki göstermektedir. Endometrial doku ve kemikte agonist olarak, meme dokusunda antiagonist olarak davranmaktadır. Özellikle postmenopozal kadınlarda uterusu östrojenik etki oluşturur (16).

Dünya genelinde görülme sıklığı hızla artan diyabet hastalığı hastaları kanser açısından yüksek risk altında tutmaktadır. Diyabet hastalığının özellikle jinekolojik kanser riskinin artmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. İnsülin mitojenik bir etkiye sahiptir. Diyabet hastalığı olan kadınlarda endometriyum kanseri gelişme riski sağlıklı popülasyona göre 2 kat ve obezite ile birliktelik gösterdiğinde ise endometriyum kanser riskinde 6 kat artış olduğu belirtilmiştir (19).

Bazı germ hattı mutasyonları endometriyal kanser riskini artırır; en güçlü ilişki Lynch sendromuyladır. Bu otozomal dominant sendrom, mismatch repair (MMR) genlerinden birindeki germ hattı mutasyonu ile karakterize edilir: MLH1, MSH2, MSH6 veya PMS2. Endometriyal kanserinin yaklaşık %3'ü Lynch sendromuna bağlıdır (20) ve 70 yaşına kadar tahmini yaşam boyu endometriyum kanserine tutulma riski, MLH1 mutasyonu olan kadınlarda yaklaşık %46-54, MSH2 mutasyonu olan kadınlar için %21-51, MSH6 mutasyonu olan kadınlar için %16-49 ve PMS2 mutasyonu olan kadınlar için %13-24'tür (21).

PTEN'deki somatik mutasyonlar sporadik endometriyum kanserde yaygındır ve Cowden sendromuyla ilişkilidir (22). Cowden sendromunda meme kanseri, tiroid kanseri ve endometriyum kanser riski yüksektir. Cowden sendromlu kadınlarda yaşam boyu endometriyum kanser riskinin %28 kadar yüksek olduğu rapor edilmiştir (23).

BRCA mutasyonları ile endometriyum kanser riski arasındaki ilişki, özellikle seröz karsinomlar için tartışmalı olmaya devam etmektedir. Küçük, retrospektif çalışmalarda BRCA1 mutasyonları ile endometriyum seröz kanseri arasında bir bağlantı öne sürülmüştür, ancak diğer çalışmalar böyle bir risk ortaya koymamıştır (24). Örneğin, bir çalışmada, BRCA1 mutasyonlu 627 hastadan 4'ünde seröz/seröz benzeri endometriyum kanser geliştiği bulunmuştur (25). Germ hattı paneli testinin yapıldığı 1.170 endometriyum kanserli kadın üzerinde yapılmış bir diğer çalışmada, 4 kadında BRCA1 mutasyonları (bir seröz karsinom ve bir

karsinosarkom dahil) ve 3 kadında BRCA2 mutasyonları izlenmiştir (tümü endometrioid histoloji) (26).

Risk faktörleri içinde özellikle hiperandrojenizm, kronik anovülasyon ve progesteron eksikliği ile karakterize bir durum olan polikistik over sendromunu (PCOS) belirtmek lazımdır. PCOS hem over hem de endometriyal kanserle ilişkilendirilmiştir. PCOS endometriyum kanser riskini 5 kat artırdığı bildirilmiştir (27).

### **3. KORUYUCU FAKTÖRLER**

Endometriyum kanseri riskini azaltan etkenleri araştırmak için farklı çalışmalar yapılmıştır. Bu etkenler arasında oral kontraseptif kullanımı, rahim içi araç kullanımı, sigara, fiziksel aktivite bulunmaktadır (28).

Kombine oral kontraseptiflerin kullanımı, endometriyal proliferasyonu baskılama etkisine sahiptir. Bu koruyucu mekanizma progestin bileşeninden kaynaklanmaktadır. Progestinler antimitotik etkiye sahiptir. Çalışmalar kombine oral kontraseptiflerin endometriyum kanser riskini %30-40 oranında azalttığını göstermiştir (28).

Rahim içi araç (RİA) kullanımı endometrial kanser riskini azaltır ve bazı çalışmalar bunların over kanseri riskini de azaltabileceğini öne sürmüştür (29).

Sigaranın endometrial kanser riskini azaltmasına dair çalışmalar mevcuttur. Bu etki sigaranın östrojenin karaciğerdeki metabolizasyonunun artırmasına bağlı olduğu düşünülmüştür (30).

### **4. PATOLOJİ**

Endometriyal kanser karsinogenez, mikroskobik özelliklerine göre endometrioid (en yaygın), seröz, berrak hücreli ve daha nadir alt tipler olan musinöz, skuamöz, karsinosarkom ve andiferansiye karsinom içerir (Tablo-1). Endometriyal kanserler bu şekilde çeşitli histolojik özellikler gösterse de, > %95'i

iki klinikopatolojik gruba ayrılabilir: endometrioid (Tip I) ve non-endometrioid (Tip II) ( Tablo-2) (31).

**Tablo-1:** Endometriyum Kanserinin Histopatolojik Sınıflaması

Endometrioid adenokarsinom
Müsinöz karsinom
Seröz karsinom
Berrak hücreli karsinom
Skuamöz hücreli karsinom
Karsinosarkom
Andiferansiye karsinom

Endometriyal adenokarsinom, Endometrioid Tip I, en yaygın (%70-80) endometriyal kanser tipi olarak bilinmektedir. Tip I tümörler hormon reseptörü pozitif olurlar ve genellikle yavaş bir klinik seyir izlerler. Bu tümörler hafif ila orta dereceli nükleer pleomorfizmle daha iyi ayırt edilir, diploid karyotipe sahip, ve daha az miyometriyal invazyon ve lenfatik yayılım yapar. En sık PTEN gen inaktivasyonu rastlanmakta, ancak KRAS ile  $\beta$ -kateninin anormal aktivasyonu da izlenebilir. Genellikle atipik endometriyal hiperplazi zemininde gelişen kanserlerdir. Endometriyal İntraepitelyal Neoplazi (EİN) Tip I endometriyal kanserinin öncü lezyonu olarak bilinir. EİN tanısı konulan hastaların üçte birinde eş zamanlı gizli karsinom izlenmektedir. EİN'siz endometriyal hiperplazi tanısı konulan hastalara kıyasla 45 kat daha fazla endometriyal kansere rastlanmıştır. Tip 1 endometriyum kanser genellikle iyi prognozlu endometrioid adenokarsinomları içermektedir. 5 yıllık sağkalım oranı %85 olarak gözlemlenmiştir (32) (Tablo-2).

Tip II tümörler tipik olarak seröz, berrak hücreli, karsinosarkom veya andiferansiye karsinom gibi kötü prognozlu non-endometrioid histolojik alt tipleri içermektedir (33). Bu grup hormon reseptör negatif, yüksek grade'li kanserlerdir. Tipik olarak atrofik bir endometriyum zemininden ortaya çıkarlar. Yüksek derecede nükleer pleomorfizm gösterirler, p-53 mutasyon ve anöploid karyotipe sahipler. P53 gen mutasyonu yaklaşık %75-100 tümörlerde rastlanmaktadır (34). Tip II endometriyum kanserler derin miyometriyal invazyon yaparlar, lenfatik yayılma riski daha yüksektir ve daha agresif seyir edilirler (35). Seröz karsinom için bilinen iki öncü lezyon vardır: seröz endometriyal intraepiteliyal karsinom (seröz EİC) ve endometriyal glandüler displazi (EGD) (36). Seröz EİC, P53 mutasyonu gösteren papiller seröz adenokarsinomun invaziv olmayan bir şeklidir. 5 yıllık sağkalım oranı yaklaşık %55 olarak gözlemlenmiştir (37) (Tablo-2).

**Tablo-2:** Endometriyal Kanserlerde Bokhman İkili Sınıflaması

	<b>Tip I</b>	<b>Tip II</b>
İlişkili klinik özellikler	Metabolik sendrom: obezite, hiperglisemi, hiper- lipidemi ve artmış östrojen düzeyleri	-
Tümöral grade	Düşük	Yüksek
Hormon reseptör ekspresyonu	Pozitif	Negatif
Histoloji	Endometrioid	Non-endometrioid (seröz, berrak- hücreli karsinom)
Prekürsör	Atipik hiperplazi/EİN	Seröz EİC/EGD
Genomik stabilite	Diploid, mikrosatellit instabilite sık (%40)	Anöploid
TP53 mutasyonu	Yok	Var
Prognoz	İyi (5-yıllık OS %85)	Kötü (5-yıllık OS %55)

## 5. HİSTOPATOLOJİK SINIFLAMA

### 5.1. Endometrioid Adenokarsinom

Endometriyum kanserin en sık görülen histolojik tipidir, yaklaşık %80'ni oluşturmaktadır. Proliferatif endometriyal glandlara benzeyen farklı boyutta düzensiz şekilli bez yapıları ile kribriform alanlar oluşturmaktadır. Solid alanların

oranına göre Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu (FİGO) tarafından endometrioid karsinomun histopatolojik derecesi belirlenmiştir (38) (Tablo-3).

**Tablo-3.** FİGO Endometriyum kanser derecelendirme sistemi

Grade I	Solid alanlar <%6
Grade II	Solid alanlar %6-50 oluşturur
Grade III	Solid alanlar >%50

Endometrioid adenokarsinomun skuamöz diferansiyasyon (%15-20), villoglandüler (%2), sekretuar (%1) ve silyalı (<1) olmak üzere çeşitli alt tipleri mevcuttur (39). Büyük bir kısmı iyi diferansiye, düşük gradeli ve myometriyal invazyonu olmayan tümölerdir. Genellikle iyi prognoza sahiptirler (39).

### 5.2. Müsinöz Karsinom

Endometriyum kanserin %10'unu oluşturmaktadır. Endometriyumun saf müsinöz karsinomu nadirdir. Çoğunlukla endometrioid karsinomda kısmen skuamöz farklılaşma ile birlikte fokal müsinöz farklılaşma olarak bulunur. Hastaların başvuru sırasında histolojik derece ve evre genellikle düşük izlenir. Tümöre ait hücrelerin yarısından fazlası intrasitoplazmik müsin içerir. Genellikle tamoksifen kullanan kadınlarda görülebilir. İyi prognoza sahip histolojik gruptur. Eksojen östrojen ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (40).

### 5.3. Seröz Karsinom

Seröz karsinom genellikle atrofik endometriyum ve endometriyal polipler zemininde gelişebilir. Tip 2 endometrium adenokarsinomlarının en sık görülen alt tipidir. P-53 gen mutasyonu ile ilişkilidir. Sıklıkla 65-70 yaş arasında kadınlarda görülür. Hastaların yaklaşık yarısı yüksek evrelerde tanı almaktadır. Seröz karsinomun öncü lezyonu seröz endometriyal intraepitelyal karsinom (SEIC) olarak bilinmektedir (41). Histolojik olarak seröz ovaryan karsinoma

benzemektedir ve tümör içerisinde papiller yapılar bulunmaktadır. Tümör hücreleri genellikle poligondur ve sık mitozla sahip atipik çekirdekler ile karakterizedir. Olguların çoğunda tipik olarak psammom cisimcikleri izlenmektedir. Miyometriyal invazyon, yaygın lenfatik invazyon ve erken yayılma eğilimi ile agresif seyir edilen tümördür. Myometrial invazyon minimal olan olguların yaklaşık %30'unda peritoneal yayılım olasılığı yüksektir. Yüksek Gradeli olarak kabul edildiğinden ayrıca gradeleme yapılmaz (42).

#### **5.4. Berrak Hücreli Adenokarsinom**

Tüm endometriyal karsinomların %1-5'i oluşturmaktadır. Tip 2 endometrium adenokarsinom grubundadır. Berrak hücreli karsinom yüksek dereceli nükleer atipi gösteren berrak veya eozinofilik sitoplazmalı poligonal veya hobnail şekilli hücrelerden oluşmaktadır (43). Yoğun eozinofilik ekstraselüler globüller ve hiyalin cisimcikler gibi tipik özellikler ile karakterizedir. Seröz karsinom gibi berrak hücreli karsinom da, atrofik endometriyumda, sıklıkla endometriyal polipler içinde görülebilir. Genellikle ileri evre olarak ortaya çıkar ve kötü prognoza sahiptir. Hastaların yaklaşık %50'si evre II-IV'te teşhis edilmekte. Olguların çoğu yaşlı kadınlarda görülür ve yaklaşık 1/3'de P53 mutasyonu izlenmektedir (44).

#### **5.5. Karsinosarkom**

Karsinosarkomlar malign mikst müllerian tümörler olarak da bilinmektedir. Malign olan epitelyal (karsinomatöz) ve mezenkimal(sarkomatöz) komponentler içerir. Epitelyal bileşen genellikle yüksek derecelidir ve endometrioid (en yaygın), seröz, berrak hücreli, müsinöz, andiferansiye veya skuamöz tipte olabilir. Sarkomatöz bileşen endometriyal (homolog) veya endometriyal olmayan (heterolog) stromaya benzeyebilir (45). En sık görülen kombinasyonlar endometrioid ve seröz ve endometrioid ve berrak hücreli karsinomlardır. Yüksek dereceli kötü prognozlu tümörler olarak bilinmektedirler (46).

## **5.6. Andiferansiye Karsinom**

Endometriyum kanserlerin %1-2'ni oluşturmaktadır. Belirgin bir görünümü olmayan ve genellikle yaygın nekroz gösteren tümörlerdir. Sıklıkla 55 yaş üzeri kadınlarda görülmekte ve Lynch sendromu ile ilişkilendirilmiştir. Nadir görülen kötü prognozlu bir alt tiptir (47).

## **6. MOLEKÜLER SINIFLAMA**

2013 yılında The Cancer Genom Atlas (TCGA) tümörün moleküler karakterizasyonuna dayalı yeni bir sınıflandırma önermiştir. Bu çalışmada 373 endometriyum kanser olgusu (307 endometrioid, 53 seröz, 13 mikst histoloji) array ve dizileme teknikleri kullanılarak genomik, transkriptomik ve proteomik özellikleri açısından değerlendirilerek, endometriyum kanseri 4 farklı subgruba ayrılmasını önerilmiştir (48).

### **6.1. POLE Mutasyonlu Endometriyal Karsinomlar**

Pole ultramutated grup tümörler POLE'deki (polimeraz-ε'nin ekzonükleaz alanını kodlayan) tekrarlayan yüksek mutasyonları ile tanımlanmıştır. Bu grup, endometrial kanserlerin yaklaşık %7-10'unu oluşturmaktadır. POLE geni polimeraz enziminin katalitik subunitidir ve nükleer DNA'nın replikasyon ve onarımında rol oynar. Hızlı bir lenfositik infiltrasyona sahip olduğu için iyi prognostik süreç ile karakterizedir. POLE mutasyonlu endometriyal kanserler sıklıkla endometrioid histolojiye sahiptir, ancak bazı seröz endometriyum kanserlerde de bulunmaktadır (49). POLE mutasyonları PORTEC çalışmasına göre yüksek tümör derecesi ile ilişkilendirilmiştir, ancak buna rağmen daha az rekürrens (%6,2-%14,1) ve ölüm (%2,3-%9,7) oranları görülmüştür (50).

### **6.2. Mikrosatellit İnstabiliteli Endometriyal Karsinomlar**

Bir diğer alt grubu mikrosatellit instabilitesi (MSI) olan tümörlerdir. Endometrial kanserlerin yaklaşık %28'inde görülmektedir. Bu tümörler yaklaşık 10 kat daha fazla tümör mutasyon yüküne sahiptir. Yüksek mutasyon yükleri sonucu

olarak birçok gende mutasyonlar mevcut. Bu mutasyonlara DNA tamir proteinlerindeki (mismatch repair- MMR) işlevsizlik sebep olabilmektedir. PTEN, ARID1A, PIK3CA, PIK3R1 ve RPL22, endometriyum kanser MSI alt grubunda sıklıkla mutasyona uğrar. Vakaların çoğu (%75-90), MLH1'in promoter bölgesinin hipermetilasyonuna veya MSH2, MSH6, PMS2 genlerinin somatik mutasyonuna bağlı olarak sporadiktir. Histolojik olarak, POLE mutasyonlu gruba benzer şekilde çoğu endometrioid tipte, yüksek grade'li ve peritümöral lenfositten zengindir, ancak prognozu POLE mutasyonlu gruba göre daha kötü olup orta düzeyde klinik gidiş ile seyir edilmektedir (51).

### **6.3. Kopya Sayısı Yüksek Endometriyal Karsinomlar**

Endometrial kanserlerin yaklaşık %26'sında saptanmıştır. Bu grup yaygın genomik değişiklikler, delesyonlar ve yüksek somatik kopya sayısı ve mutasyona sahiptir. Bu tümörlerin çoğunda TP53'te patogenetik mutasyonlar izlenmiştir (p53abn). Bu alt gruba özgü olan FBXW7 ve PPP2R1A'da ve ayrıca PIK3CA'da sık somatik mutasyonlar görülmüştür. Bu tümörlerde insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) amplifikasyonu %20-25 arasında değişmektedir. En yüksek dereceli, agresif kanserleri içerir. Daha çok seröz karsinomlar, seröz komponent içeren mikst karsinomlar ve grade 3 endometrioid karsinomlarda görülmektedir. Prognostik açıdan en kötü gidişli gruptur ve endometriyum kanserine bağlı ölümlerin yaklaşık yarısından sorumludur (52).

### **6.4. Kopya Sayısı Düşük Endometriyal Karsinomlar**

Bu grubun görülme sıklığı yaklaşık %39'dur. Düşük miktarda kopya sayısı değişikliği olan ve az mutasyona uğramış tümörlerden oluşur. Genellikle düşük dereceli endometrioid tümörleri içerir. Prognostik olarak orta riskli olduğu bilinmektedir. Östrojen ve progesteron reseptör pozitifliği mevcut ve bundan dolayı hormonal tedaviye yüksek yanıt gösteren endometrioid neoplazmaları kapsar. Bu grup tümörlerde CTNNB1 mutasyonu görülmüştür (53). Ayrıca 1q

kromozom kolunun amplifikasyonuna sahip bir tümör alt grubunu da içerir. Bu alt grup ise çok daha kötü bir sonuca sahip olduğu bildirilmiştir (54).

Moleküler alt grupların tanımlanması, endometriyum kanserin prognozunu ve tedavi edilme şeklini değiştirmiştir. Grade arttıkça mutasyonlar artmaktadır. Ancak, yüksek grade olup POLE mutasyonu olan hastaların hiçbirinde hastalığın progresyonu gözlenmemiştir. POLE mutasyonlu grubun evre, grade, miyometrial invazyon faktörlerinden bağımsız olarak mükemmel bir prognozla seyrettiği tespit edilmiştir (55). PORTEC-3 çalışması, p53 mutasyonlu endometriyum kanser tanılı hastaların, sadece radyoterapiye oranla radyoterapi ile beraber kemoterapi ile tedavi edildiğinde daha iyi sonuçlarla ilişkili olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla yüksek rekürrens riski nedeni ile adjuvan tedavi alması gereken grup eksik tedavi alabiliyor olabileceği gibi; ileri evre yüksek grade nedeni ile adjuvan tedavi alan bir grup hastanın da aslında fazla tedaviye maruz kaldığı sonucu ortaya çıkmıştır (56).

## **7. EVRELEME**

Endometriyum kanserin evrelemesi hastalığın prognozunu ve tedavi stratejilerini belirlemek açısından çok önemlidir. Evreleme genellikle klinik değerlendirme, cerrahi bulgular ve patolojik incelemelerle yapılır. Haziran 2023 yılı itibarıyla FIGO (Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu), endometriyum kanserinin evrelemesinde önemli güncellemeler yapmıştır. Bu yeni evreleme sistemi en son 2009 güncellemesinin yerini aldı. 2023 yılı itibarıyla FIGO evrelemesi, hem klinik hem de moleküler verilere dayalı daha dinamik bir yaklaşımı benimsemiştir (57). Moleküler testler, endometriyum kanserinin genetik özelliklerini analiz etmek ve hastalığın ilerleme riskini daha doğru bir şekilde tahmin etmek için kullanılmıştır. Özellikle, POLE mutasyonları gibi faktörlerin dikkate alınması, MSI ve MMR testleri, hastalığın tedaviye nasıl yanıt vereceği hakkında önemli bilgiler verebilir. Yeni evreleme sistemi, endometriyum kanseri

olan hastalar için daha kişiselleştirilmiş tedavi planları oluşturulmasına yardımcı olabilir (49).

2023 yılı itibariyle FİGO endometriyum kanseri evrelemesi şu şekilde detaylandırılabilir:

**Evre I:** Kanser yalnızca uterus ve overe sınırlıdır.

- Evre IA: Endometrium ile sınırlı veya Myometriumun %50'den azını invaze eden ve lenfovasküler alan invazyonu (LVAİ) göstermeyen veya fokal LVAİ gösteren, non-agresif histolojik tip endometriyum kanseri olarak bilinmekte. İyi prognozludur

1A1: Polipe veya endometriuma sınırlı, non-agresif histolojik tip endometriyum kanseri.

1A2: Myometriumun %50'den azını invaze eden ve lenfovasküler alan invazyonu (LVAİ) göstermeyen veya fokal LVAİ gösteren, non-agresif histolojik tip endometrium kanseri.

1A3: Low grade endometrioid karsinomun uterusla sınırlı olduğu ancak aynı zamanda overde low grade endometrioid karsinom tutulumu bulunan durumlar.

- Evre IB: Myometriumun %50 veya daha fazlasını invaze eden ve LVAİ göstermeyen veya fokal LVAİ gösteren, non-agresif histolojik tip endometrium kanseri.

- Evre IC: Myometrial invazyon göstermeyen agresif histolojik tip endometrium kanseri.

**Evre II:** Ekstrauterin uzanım olmadan servikal stroma invazyonu veya önemli LVAİ ile veya myometrial invazyon ile agresif histolojik tipler ile tanımlanmakta

- Evre IIA: Servikal stromayı invaze eden non-agresif histolojik tip endometrium kanseri.
- Evre IIB: Diffüz LVAİ gösteren non-agresif histolojik tip endometrium kanseri.
- Evre IIC: Herhangi bir myometrial invazyonun bulunduğu agresif histolojik tip endometrium kanseri.

**Evre III:** Herhangi bir histolojik alt tipteki tümörün lokal ve/veya bölgesel yayılımı

- Evre IIIA: Uterus serozasının, adneksinin veya her ikisinin doğrudan yayılım veya metastaz yoluyla invazyonu

IIIA1: Over veya fallop tüpüne yayılma (evre IA3 kriterlerini karşılayanlar hariç)

IIIA2: Uterin subseroza tutulumu veya uterin seroza yoluyla yayılım

- Evre IIIB: Vajen ve/veya parametrium veya pelvik peritonun tutulumu

IIIB1 Vajen ve/veya parametriyaya metastaz veya doğrudan yayılım

IIIB2 Pelvik peritona metastaz

- Evre IIIC: Pelvik veya para-aortik lenf nodlarına veya her ikisine birden metastaz

IIIC1 Pelvik lenf düğümlerine metastaz

IIIC1i Mikrometastaz

IIIC1ii Makrometastaz

IIIC2 Pelvik lenf nodlarına metastaz olsun ya da olmasın, renal damarlara kadar para-aortik lenf nodlarına metastaz

IIIC2i Mikrometastaz

IIIC2ii Makrometastaz

**Evre IV:** Kanser uzak organlara yayılmıştır.

- Evre IVA: Mesane veya rektal mukoza tutulumu
- Evre IVB: Ekstrapelvik peritoneal metastaz
- Evre IVC: Uzak metastaz

## **8. ENDOMETRİYUM KANSERDE İMMÜN SİSTEMİN ROLÜ**

Kanser ve immün sistem arasındaki ilişki, araştırmalarının en önemli konularından biridir. Kanser hücreleri, genetik mutasyonlar ve çevresel faktörler nedeniyle normal hücrelerden farklı olarak kontrolsüz şekilde bölünür ve büyür. İmmün sistemi, vücutta zararlı patojenleri, enfeksiyonları ve kanser hücrelerini tespit edebilen ve onlara karşı yanıt verebilen bir savunma sistemidir. Endometriyumun çeşitli immünolojik rolü vardır ve enfeksiyonu engelleyen fiziksel bir bariyer olarak görev yapar. Ayrıca, endometrium, gebelik ve fetal gelişim için gerekli olan immünosupresif bir mikroçevre oluşturur. Endometriyum kanserindeki immünosupresif mikroçevre, ya hücre aracılı mekanizmalarla ya da moleküler hedefler aracılığıyla indüklenir. Kanser gelişimi ve ilerlemesinde mikroçevrenin önemi yaygın olarak kabul edilmektedir. İmmün sistemi, normal endometriyum dokusunda patojenlere karşı koruma sağlarken karsinomatöz endometriyumda hem pro-tümörjenik hem de anti-tümörjenik fonksiyon sergilemektedir. Tümör mikro ortamında lökositler, özellikle tümörle ilişkili

makrofajlar (TAM'ler), ayrıca fibroblastlar ve miyofibroblastlar, hiperplazinin endometriyum kanserine ilerlemesinde çok önemli bir role sahiptir (58).

Kanser lezyonlarında T hücrelerinin varlığının, birçok insan malignitesinde daha iyi hasta prognozu ile ilişkili olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, tümör içi T hücresi infiltrasyonunun büyüklüğünün, kolorektal kanser ve over kanserinde bağımsız bir pozitif prognostik belirteç oluşturduğu gösterilmiştir. CD8+ T hücreleri, immun sisteminin kilit bir bileşenidir ve enfekte olmuş veya malign hücrelerin tanınmasında ve ortadan kaldırılmasında önemli bir rol oynar. Endometriyum kanserli hastaların endometriumunda CD8+ T hücrelerinin sayısının daha düşük olduğunu gösterilmiştir. Yüksek T-reguluar sayıları ve yüksek T-reg/CD8+ oranları kötü bir prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Kanser evresi, vasküler invazyon, tümör derecesi ve invaziv sınırdaki intraepitelyal CD8+ lenfosit sayısının overall survival (OS) süresinin bağımsız belirteçleri olduğunu göstermiştir (59).

PD-1 (Programmed cell death-1) ilk olarak 1992'de keşfedilen ve T hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen bir immün kontrol noktası inhibitörüdür (60). PD-1'in bilinen iki ligandı vardır; PD-L1 ve PD-L2 (61). Son birkaç yılda kapsamlı bir şekilde çalışılan PD-L1, en iyi bilinen immün kontrol noktası inhibitörüdür (62). PD-1 ve PD-L1'in aşırı ekspresyonu, endometriyum kanser mikro ortamında tümöre sızan CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin aktivasyonunu inhibe eder. Genel olarak birincil, tekrarlayan ve metastatik kanser vakalarının %67-100'ü PD-L1'i eksprese eder (63). Yapılmış bir çalışmada, tümörü infiltre eden immün hücrelerde PD-1, PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonunun, orta derecede ve az farklılaşmış endometriyum kanserleri ile non-endometrioid kanserlerde, iyi farklılaşmış endometriyum kanserlerine göre daha sık olduğu ileri sürülmüştür (64). Başka bir çalışmada, endometriyum kanseri olan hastalarda PD-1 ve PD-L1'in hastalık seyrine etkisi incelenmiş. Bu çalışmada, PD-L1 seviyelerinin yüksek olmasının, hastalığın ilerlemeden geçirdiği süreyi (progression free survival, PFS) olumsuz etkileyen bir faktör olduğu belirtilmiştir. Özellikle, MSI mutasyonu taşıyan

hastalar için bu etki daha belirgin bulunmuştur. İmmün belirteçlerinin analizi, yüksek PD-L1/CD8 ve PD-L1/PD-1 oranlarının, daha kısa PFS süreleriyle pozitif ilişkili olduğunu ortaya koydu (65).

LAG-3 yeni nesil bir immün kontrol noktasıdır ve maligniteler dahil çeşitli hastalıklarda araştırılmıştır. CD223 olarak da adlandırılan lenfosit aktivasyon geni-3 (LAG-3), esas olarak aktive edilmiş T ve NK hücrelerinde eksprese edilir. T hücrelerinde LAG-3 ekspresyonu, farklı malignitelerdeki agresif fenotipler için moleküler bir belirteç olabilir ve immün hücre proliferasyonunu ve sitokin salınımını sınırlandırabilir (66). 2020 senesinde yapılmış bir çalışmada LAG-3 için önemli bir ligand olan fibrinojen benzeri protein 1'in (FGL-1), LAG-3'e bağımlı T hücresi baskılanmasını indükleyebildiğini ve tümörlerin immün kaçışına neden olabileceği bildirilmiştir (67). Ek olarak LAG-3, peritümöral CD8+ T hücresi aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir. LAG-3, kolorektal, over ve böbrek kanserleri gibi çeşitli tümörlerde, kanser hücrelerinin konakçının immün sisteminden kaçmasına yardımcı olur. LAG-3 ekspresyonu, yüksek dereceli, yüksek riskli, ilerlemiş ve metastatik endometriyum kanseri de dahil olmak üzere, agresif fenotipe sahip ve lenfovasküler invazyon gösteren endometriyum kanseri hastalarında daha yaygındır. Bu özelliklere sahip hastalar yüksek nüks ve ölüm riski altındadır ve bu nedenle kanser immünoterapisine daha fazla ihtiyaç duyarlar (68). Son yıllarda, immünoterapilere karşı direnç mekanizmaları, diğer immün ilişkili moleküllerin up-regülasyonu veya aktivasyonu gibi mekanizmalar da dahil olmak üzere kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Çeşitli çalışmalar, LAG-3 ve PD-1'in tümöre infiltre olmuş lenfositlerde birlikte ekspresyon gösterebildiğini ve bu iki molekülün ortak bloke edilmesinin, anti-tümör yanıtlarını artırarak T hücresi proliferasyonunu ve sitokin üretimini desteklediğini, böylece immün kaçışa karşı sinerjik bir etki yarattığını göstermiştir (69).

## 9. ENDOMETRİYUM KANSERİNDE KANSER KÖK HÜCRELERİ

Endometriyum kanserinde invazyona yol açan diğer faktör ise CSC(Cancer Stem Cell/ Kanser Kök Hücre)'dir. CSC'lerin apoptotik sinyallere rağmen kendi özelliği sayesinde anormal şekilde farklılaşan ve kendini yenileme yeteneği ve majör tümör popülasyonunu oluşturan hücrelerin bir soyunu üretme kapasitesi gösterilmiştir. Yani kanser kök hücreleri, tümörün başlatılmasından, korunmasından ve yayılmasından sorumlu farklılaşmamış tümörojenik hücrelerin bir popülasyonu olarak tanımlanabilir (70).

Endometriyal CSC popülasyonunun izolasyonu için endometriyal kanserde belirteç olan CD133+ hücreleri, plazma membran organizasyonunda işlevi olan bir membran glikoproteinidir. Bu belirteçler arasında bulunan CD44, invazyon ve metastaz sürecinde rol oynayan bir adezyon molekülüdür ve endometriyum kanserinde CSC'lerin belirteci olarak çalışılmaktadır (70).

Ayrıca CD44 ve CD133'ün erken evre endometriyal kanser karsinogenezinde rol oynayabileceği ve bunların aşırı ekspresyonunun endometriyal kanserlerin erken teşhisini kolaylaştırabileceği belirtilmiştir (71).

Başka endometriyum kanser kök hücresi belirteci olan CD117, endometriyum kanser hücrelerinin kök hücre faktörü (Stem Cell Factor, SCF) bağımlı bir şekilde daha fazla proliferatif koloni oluşturma kapasitesi gösterdiği gösterilmiştir (70). CSC'ler çok büyük klinik öneme sahiptir, çünkü kanser hücrelerinin bu küçük alt popülasyonu tümör büyümesi, invazyonu ve metastazının yanı sıra tedavi direnci ve kanser nüksetmesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Tedavi başarısızlıklarına neden oldukları için, kanser kök hücrelerinin modelleri, kanserin biyolojisini anlamak ve yeni tedaviler geliştirmek için umut verici araçlardır (72).

## 10. ENDOMETRİYUM KANSERDE MAGNEZYUMUN ROLÜ

Magnezyum, vücutta dördüncü katyon ve hücre içi sıvıda en yaygın ikinci katyondur. Ayrıca, vücutta birçok biyokimyasal süreci düzenleyen ve hücre

fonksiyonları için kritik öneme sahip bir mineraldir. Magnezyum, enerji üretimi, protein yapımı, DNA ve RNA sentezi, sinir iletimi, kas hareketleri ve bağışıklık yanıtları gibi önemli işlevleri yerine getirir (73).

Magnezyumun kanserle ilişkisi, hücresel düzeyde birçok mekanizmayı içerir. Magnezyum, 600'den fazla biyolojik süreçte önemli bir kofaktör olarak görev yapar, hücre döngüsünü, DNA onarımını ve apoptoz (programlanmış hücre ölümü) süreçlerini düzenler. Bunun yanında, oksidatif stresin ve inflamasyonun azaltılmasına yardımcı olabilir, bu da kanser gelişiminin engellenmesinde önemli bir rol oynar. Bazı çalışmalar, magnezyum seviyelerinin düşük olmasının, hücresel anormalliklere, genetik mutasyonlara ve kanserin daha hızlı ilerlemesine yol açabileceğini öne sürmüştür (74). Bununla birlikte, magnezyumun kanser gelişimi ve özellikle endometriyum kanseri üzerindeki rolü son yıllarda araştırılmaktadır. Yapılmış çalışmalarda düşük magnezyum seviyelerinin, endometriyum kanseri gelişimiyle ilişkili olabileceği ve bu hastalığın seyrini olumsuz etkileyebileceği gösterilmiştir. Magnezyumun, kanser hücrelerinin büyümesini engelleyici etkisi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, magnezyum eksikliğinin, hücre proliferasyonu ve anormal hücre büyümesi gibi kanser gelişimine zemin hazırlayan mekanizmaları tetikleyebileceği öne sürülmüştür. Kronik magnezyum eksikliği, yaşa bağlı hastalıklar ve oksidatif stresle ilişkili inflamasyonu artırır. Magnezyum eksikliği, immün fonksiyonlarını geçici ya da uzun vadeli olarak bozabilir. Yeni bir araştırmaya göre, kanser hücreleri ve enfeksiyonlarla mücadelede önemli rol oynayan T hücrelerinin, patojenlere karşı etkili bir yanıt verebilmesi için yeterli magnezyum seviyelerine ihtiyaç duyduğu bulunmuştur (75).

Hücre dışı magnezyumun, CD8<sup>+</sup> T hücrelerindeki ortak uyarıcı molekül LFA-1 tarafından doğrudan algılandığı ve bunun da dışarıdan içeriye sinyal göndererek T hücresi aktivasyonunu ve efektör fonksiyonlarını artırdığı gösterilmiştir. Buna göre magnezyum yeterliliği, enfeksiyonlara ve kansere karşı ve immünoterapiler bağlamında gelişmiş T hücresi aktivitesini destekler (76). Pek

çok çalışma, tümör hücrelerinde magnezyum dengesizliğinin sıkça görüldüğünü ve magnezyum eksikliği veya takviyesinin tümörlerin ilerlemesini etkileyebileceğini göstermektedir. Magnezyumun kanser oluşumunu iki şekilde etkileyebileceği bulunmuştur. Araştırmalar, magnezyum eksikliğinin enfeksiyonlar ve/veya artan serbest radikal seviyeleriyle ilişkili olabileceğini gösteriyor. Magnezyum eksikliği olan hayvanlar, oksidatif strese karşı daha duyarlı olup, dokuları peroksidasyona karşı da daha hassastır. Hem inflamasyon hem de serbest radikaller, oksidatif DNA hasarına yol açarak kanser oluşumunu tetikleyebilir (77).

Ayrıca, magnezyumun hem doğuştan hem de kazanılmış bağışıklık sistemlerinde immün yanıt üzerinde önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir. Magnezyum, akut faz yanıtı ve makrofajların işlevi üzerinde, özellikle sitokinlere yanıtlarında etkiler gösterir. Monositlerde yapılan bir çalışmada, magnezyum takviyesinin, toll-like reseptör (TLR) uyarısının ardından TNF- $\alpha$  ve IL-6 sitokinlerinin üretimini azalttığı bulunmuştur (22). Magnezyumun lenfositler üzerindeki etkisi, hücre içi ve dışı magnezyum taşıyan iyon kanallarının bozulmasıyla ortaya çıkar. Bu kanallardan birinin işlevini yitirmesi, CD4 lenfopenisi, şiddetli kronik viral enfeksiyonlar ve hatalı T-lenfosit aktivasyonu ile karakterize edilen yeni bir X'e bağlı immün yetmezliğe yol açtığı yakın zamanda gösterilmiştir (78).

The transient receptor potential melastatin-subfamily member 7 (TRPM7), hem iyon kanalı hem de kinaz olarak çalışan bir proteindir. Bu kanal, özellikle  $Ca^{2+}$  ve  $Mg^{2+}$  gibi katyonlara geçirendir. TRPM7, mast hücrelerinin hayatta kalması için önemlidir ve hücre içi  $Ca^{2+}$  ve dışarıdaki  $Mg^{2+}$  seviyelerine duyarlı olarak degranülasyon (hücreden madde salınımı) sürecini düzenler (79). Hücre dışı magnezyum seviyelerinin artırılması, anti enflamatuar bir etki yaratabilirken, hücre dışı magnezyum seviyelerinin düşmesi, fagositik hücrelerin aktivasyonuna yol açabilir (80). Düşük hücre dışı magnezyum seviyeleri, TRPM7'nin seviyesini belirgin şekilde azaltır. Bu nedenle, TRPM7'nin azalmasının, hücre büyümesi ve göçünün düşük magnezyum nedeniyle engellenmesine yol açtığı öne sürülmüştür

(81).

Bir alışmada, TRPM7 eksikliği olan B hücrelerinin büyümesinde bir kusur olduğu, pro-B hücre aşamasında gelişimsel bir bozukluk gösterdiği ve kemik iliğindeki B hücresi öncüllerinin artan apoptoz nedeniyle periferik B hücrelerinin üretilmediği sonucuna varılmıştır (82).

Ayrıca, MAGT1 adlı Mg<sup>2+</sup> taşıyan iyon kanalından sorumlu genin fonksiyonel bozukluğu, T hücre aktivasyonunun bozulmasına ve doğal ldrc (NK) hücreleri ile CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin sitotoksik fonksiyonlarının azalmasına yol açmıştır (83).

## 11. TANI

Postmenopozal kanama ile başvuran tüm kadınlarda endometriyal kanseri dışlamak için diagnostik değerlendirme önerilir. Taramanın ana hedefi endometriyum kanserinin mortalitesini azaltmaktır. Tarama geniş popülasyon taramaları ile değil, semptomların izlenmesi ve risk faktörlerinin belirlenmesi yoluyla yapılmaktadır. Postmenopozal kanamanın nedenini araştırmak ve belirlemek için standart değerlendirme, pelvik ultrasonografi, endometrial biyopsi veya dilatasyon ve küretaj (D&C; servikal dilatasyon ve endometriyal dokunun kazınmasını içerir) ile birlikte veya olmadan histeroskopiye içerebilir.

Transvajinal ultrason semptomatik kadınlarda ayırıcı tanısında ve araştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Daha önce de tartışıldığı gibi, endometriyum kanser tanısı konan kadınlarda %90'ı semptomatiktir. Bu kadınlarda, 4 mm'lik bir endometriyum kalınlık sınırı %98'lik bir duyarlılığa sahiptir ve özgüllüğü %36 ile %68 arasında değişmektedir (84).

Genel olarak çalışmalarda postmenopozal kadınlarda endometriyumun 4 mm'den daha az kalınlıkta olması gerektiği belirtilmiştir. Premenopozal hastalarda

ise endometriyal kalınlık siklusun fazına bağlı olarak 16 mm'ye kadar normal kabul edilmiştir (85).

Doku örneklemesi ve ardından endometriyumun histolojik incelemesi en doğru tanıyı sağlar. Dilatasyon ve küretaj (D/C) ve Pipelle biyopsisi en yaygın kullanılan yöntemlerdir. 1984'te piyasaya sürölen Pipelle biyopsi, üzerinde en çok çalışılan ve en yaygın kullanılan örnekleme yöntemidir. Genel olarak, Pipelle ile örnekleme D/C'ye göre önemli ölçüde daha az ağrıya neden olur, daha az zaman alır ve daha ucuzdur. Ancak bununla birlikte, Pipelle'in hala %10'luk bir başarısızlık oranına sahiptir (86).

Endometriyum kanserinde malign hücrelerin servikal sitolojide görölme ihtimali %30-50'dir. Seröz kanser tanılı hastaların %87,5'inde ve endometrioid kanser tanılı hastaların yaklaşık %37,8'inde yapılmış servikal sitolojide anormal endometriyal hücreler bulunmuştur (87).

Lynch sendromu gibi yüksek riskli hastalarda özellikle tarama yapılmalıdır. Bu hastalara 35 yaşından itibaren yıllık muayene, transvajinal ultrasonografi, endometriyal biyopsi alınması ve 40 yaştan sonra profilaktik cerrahi önerilmektedir (88). Bir diğer risk altında olan hastalar tamoksifen kullanan hastalardır. Bu hastalarda kendine özgü düzensiz ekojenik endometriyum görüntüsü oluşmaktadır. Tamoksifen kullanan hastalarda endometriyum kanseri vajinal kanaması olan hastalarda tespit edilmiştir. Semptomatik olduğu halde hastalardan endometriyal biyopsi alınmalıdır (89).

Endometriyum kanserin biyomarkerleri olan CA-125 ve HE4'ün, klinik etkilerini destekleyen kanıt eksikliği nedeniyle, endometriyum kanser yönetimi için rutin tanı ve takip pratiğine dahil edilememesi dikkat edilmesi gereken bir noktadır (90). Mevcut kanıtlar genel popölasyonda rutin endometriyal kanser taramasını desteklememektedir (91).

## 12. TEDAVİ

Endometriyum kanser tedavisi, hastalığın evresine, histolojik tipine ve hastanın genel sağlık durumuna göre değişiklik gösterebilir. Ana tedavi yöntemleri cerrahi müdahale, radyoterapi, kemoterapi ve hedefe yönelik tedavi seçeneklerini içermektedir. Cerrahi tedavide genellikle total histerektomi ve bilateral salpingo-ooforektomi yapılır (2).

Lenfadenektomi, endometriyum kanser tedavisinde tartışmalı bir konudur. GOG 33 çalışmasında yüksek riskli histolojisi olan hastalar ve orta veya yüksek riskli hastalarda pelvik ve paraaortik lenfadenektomi sağkalımı artırdığı gösterilmiştir (92). Ayrıca, bir Cochrane incelemesi, lenfadenektomi yapılmayanlara kıyasla lenfadenektominin ölüm veya kanserin nüksü riskini azaltma ile ilişkilendirildiğine dair kanıt bulmamıştır (93). Lenfadenektomi, myometriyal invazyonu > %50 veya grade 3 olan veya non-endometrioid histolojisi bulunan tümörler için dikkate alınmalıdır. ESMO-ESGO-ESTRO kılavuzları, düşük grade ve düşük riskli hastalıklar için lenfadenektomiyi önermemekte (94).

Düşük gradeli endometrioid endometriyum kanseri olan ve myometriyal invazyonu olmayan ve fertilité arzusu olan kadınlar fertilité koruyucu tedavi için değerlendirilebilir. Yüksek doz oral progestinler ve/veya levonorgestrelli RİA kullanılabilir . Bu hastalarda fertilité tamamlandıktan sonra cerrahi yapılmalıdır (95).

Radyoterapi, özellikle cerrahiden sonra kanserin tekrar etmesini engellemek amacıyla kullanılır. Ayrıca, cerrahi müdahale yapılamayan veya cerrahiden sonra kanserin nüksetmesi durumunda da uygulanabilir. Postoperatif radyoterapi uygulamak için eksternal pelvik radyoterapi tedavisi ve intrakaviter vajinal brakiterapi kullanılabilir (96).

Kemoterapi, kanser hücrelerini hedef alarak tedavi eden ilaçların kullanımüdür. Endometrium kanseri tedavisinde kemoterapi, genellikle ileri

evrelerde, nüksetmiş hastalıkta ya da cerrahiden sonra hastalığın kontrol altında tutulmasında kullanılır. Karboplatin ve paklitaksel en sık kullanılan kombinasyondur (97). HER2 aşırı ekspresyonu, seröz endometriyum kanserlerin %25'inde görülmektedir. Yapılmış çalışmalara dayalı olarak, trastuzumab ve karboplatin/paklitaksel kombinasyonu, HER2 aşırı ekspresyonu gösteren ileri evre veya seröz endometriyum kanserli hastalarda, sadece kemoterapiye kıyasla progresyonsuz sağkalım ve toplam sağkalım iyileştirmiştir. Bu tedavi rejimi, Amerika Birleşik Devletleri'nde bu alt grup kadınlar için standart tedavi haline gelmiştir (98).

Endometriyum kanserlerin yaklaşık %30'u, MSI-H/MMRd alt gruplarına aittir. Bu tümörler, daha yüksek bir mutasyon yüküne sahip olup, immun kontrol noktası blokajına duyarlıdır. Endometriyum kanserin bazı türlerinde moleküler hedeflere yönelik tedaviler de uygulanabilir. Bu tedaviler, kanser hücrelerinin genetik yapısını hedef alır. Özellikle, PD-1 inhibitörleri (örneğin, pembrolizumab) gibi immünoterapiler, bazı endometriyum kanseri türlerinde etkilidir. GARNET çalışması, anti-PD1 ajanı dostarlimabın ortalama sağkalım oranını artırdığını bulmuştur. Bu sonuçlara dayanarak, dostarlimab, FDA tarafından onaylanmıştır (99). Ayrıca, bilinen anti-PD-L1 ajanı avelumab ile yapılan çalışmalarda, en az bir önceki tedavi sonrası ileri evre veya nüks etmiş endometriyum kanseri olan hastaların %40'ında 6 ayda progresyonsuz hastalık izlenmiştir (100).

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### 1. Çalışmada Kullanılan Maddeler

Bu tez kapsamında kullanılan biyolojik malzemeler ve kimyasallar firmaları ile sıralanmıştır.

Fosfat tamponlanmış tuz çözeltisi (PBS) (EUROIMMUN, Almanya) ; Fetal Bovine Serum (FBS) (Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD); Penisilin-Streptomisin (Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD); RPMI 1640 (Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD); Tripsin EDTA (Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD); Propidyum İodür Çözeltisi (Biolegend, ABD); BV-421 anti-human CD44 (klon:G44-26) mAb (BD, ABD) ; FITC anti-human CD45 (klon: 2D1) mAb (BD, ABD);APC-Cyanine 7 anti-human CD117 mAb (BD, ABD) ;APC anti human CD133 (klon: W6B3C1) mAb (BD, ABD); BV-605 anti-mouse CD274 (B7-H1, PD-L1) (klon:29E.2A3) mAb (Biolegend, ABD) PE anti-human CD273 (B7-H1, PD-L2) (klon:24.F10C12) Magnezyum Klorür 1M, 500 mL mAb (Serva); Kollajenaz II 1G mAb (Thermo Fisher)

### 1.2. Hazırlanan Tamponlar ve Çözeltiler

PBS Çözeltisi: Her 1000mL dH<sub>2</sub>O'ya 1 adet steril PBS eklenecek şekilde çözelti hazırlandı (1X). Sterilizasyonu otoklav ile sağlandı. +4 o C'de muhafaza edildi.

%10 FBS RPMI 1640 Hücre Kültürü Ortamı: L-glutamin içeren RPMI 1640 üzerine son konsantrasyonu %10 v/v olacak şekilde FBS (ısı-inaktive), %1 v/v olacak şekilde penisilin/streptomisin eklendi ve +4°C'de saklandı.

Kollajenaz II Enzimi: 1 mL PBS çözeltisine 0.25 mg kollajenaz II eklendi ve dokulardan enzimatik yol ile hücre izolasyonu yapıldı.

### 2. Çalışmanın Tasarımı ve Popülasyonu

Bu çalışma 1 Ağustos 2023 – 1 Aralık 2024 tarihleri arasında Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D, Jinekolojik Onkoloji

B.D'ında endometriyum kanser nedeniyle tedavi amaçlı laparotomi ile veya laparoskopik histerektomi yapılan hastalar (n=40), sağlıklı donörler (yaş ve cinsiyet olarak hasta grubu ile eşleşen, n=40) ve benign endikasyonlar ile histerektomi uygulanan hastaları (n= 4) karşılaştıran prospektif kontrollü bir çalışmadır.

Planlanan çalışma kapsamında başlatılan tez projesi için Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma Etik Kurulu 1 Ağustos 2023 tarihli 2023-16/26 numaralı etik kurul onayı alınmıştır. Hastaların tümünden bilgilerinin çalışma amacıyla kaydedilmesine dair bilgilendirilmiş gönüllü onam formu alındı.

Çalışmaya dahil edilen ve dışlanan katılımcıların özellikleri altta sıralanmıştır:

Dahil etme kriterleri;

- 18-90 yaş arasında olan kadınlar
- Endometriyum kanser tanısı almış hastalar

Dışlama kriterleri;

- Neoadjuvan kemoterapi alan hastalar
- Magnezyum takviyesi alanlar
- Diğer malignite öyküsü olanlar
- İmmüsupresif hastalıkları olan ve bu nedenle immüsupresif ilaç kullananlar
- Histerektomi öyküsü olanlar
- Malnütrisyonu neden olabilecek hastalıklar

Çalışmaya güç analizi yapılarak 40 hasta dahil edilmesi planlanmış olup, ön görülen tasarımda magnezyum ex vivo uygulamaları için tek bir zaman aralığı ve konsantrasyonu seçilmesi hedeflenmişti. Fakat, her bireyin verdiği yanıtlardaki heterojenite sebebi ile tüm hastaların tümör örneklerine ex vivo koşullarda tüm zaman aralıkları ve konsantrasyonlarda magnezyum eklenmiştir. Bu durumda beklenilenden daha fazla antikör kullanıldığı için, daha az endometriyum kanser tanılı hasta (n=14) çalışılmış olmakla beraber tüm koşullar değerlendirilebilmiştir.

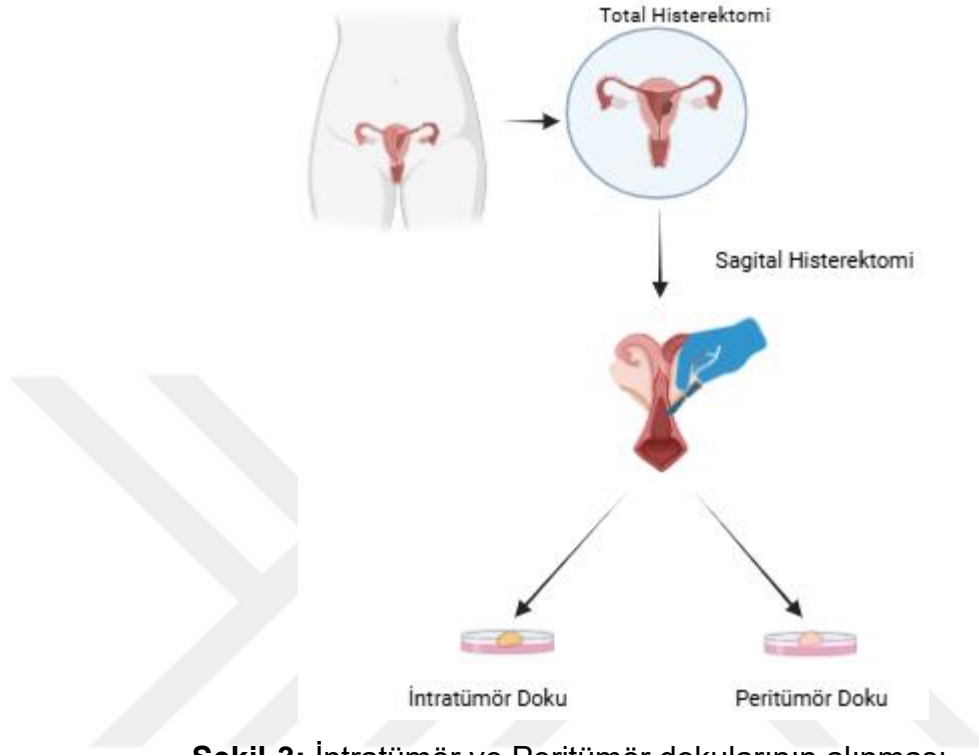
Bu çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün TTU-2024-1643 numaralı Lisans Üstü Tez Projesi kapsamında 11 Mart 2024 tarihli bütçe destek onayı ile finanse edilmiştir.

### 3. Çalışmanın Protokolü

Yukarıda çalışmanın tasarımı ve popülasyonu başlığında detayları verilen kapsamda, her hastadan kanser dokusu, peritümör doku ve kan örneği alındı. Endometriyum kanseri dokusundan, peritümör dokudan ve ayrıca sağlıklı hastaların uterusundan izole edilen hücrelerin farklı konsantrasyonlardaki magnezyum klorür (5 -10-20 mM) ile kültürü sonucu magnezyumun tümörogenez üzerindeki etkisi araştırıldı. Tümör hücreleri üzerindeki etki kanser kök hücresindeki değişimleri araştırmak odaklı planlandı. Bu kapsamda farklı konsantrasyon ve zaman aralıklarında kanser hücrelerindeki kanser kök hücresi ilişkili yüzey belirteçlerindeki değişim analiz edildi. CD44, CD117 ve CD133 belirteçleri endometriyum kanser kök hücre belirteçleri olarak seçildi. Bunun yanı sıra bu kanser kök hücre benzeri hücrelerin immün baskılayıcı molekülleri taşıma düzeyleri de araştırıldı. İlgili kapsamda CD117+PD-L1+, CD133+PD-L1+, CD117+PD-L2+, CD133+PD-L2+ alt-gruplar da değerlendirildi. Çalışmamıza dahil edilen hastalar detaylı olarak değerlendirildi. Hastaların tamamının demografik verileri kaydedildi.

#### **3.1. Endometriyum kanseri hastasının uterusundan histerektomi ile intratümör ve peritümör doku elde edilmesi:**

Histerektomi sonrası çıkarılan uterus hızlıca bizzat doku bütünlüğü bozulmadan alınarak, sagittal düzlemden kavite açılarak endometrium açığa çıkarıldı (Şekil-3). Endometriumun gerekli bölgelerinden intratümör ve peritümör doku alınarak ayrı ayrı steril besiyeri (RPMI –1640) içerisine koyularak hücre kültürü ve immünolojik yanıtlar değerlendirilmek üzere BUTF İmmünoloji AD araştırma laboratuvarına (DENHAB-Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı) transfer edildi.



**Şekil-3:** İntratümör ve Peritümör dokularının alınması

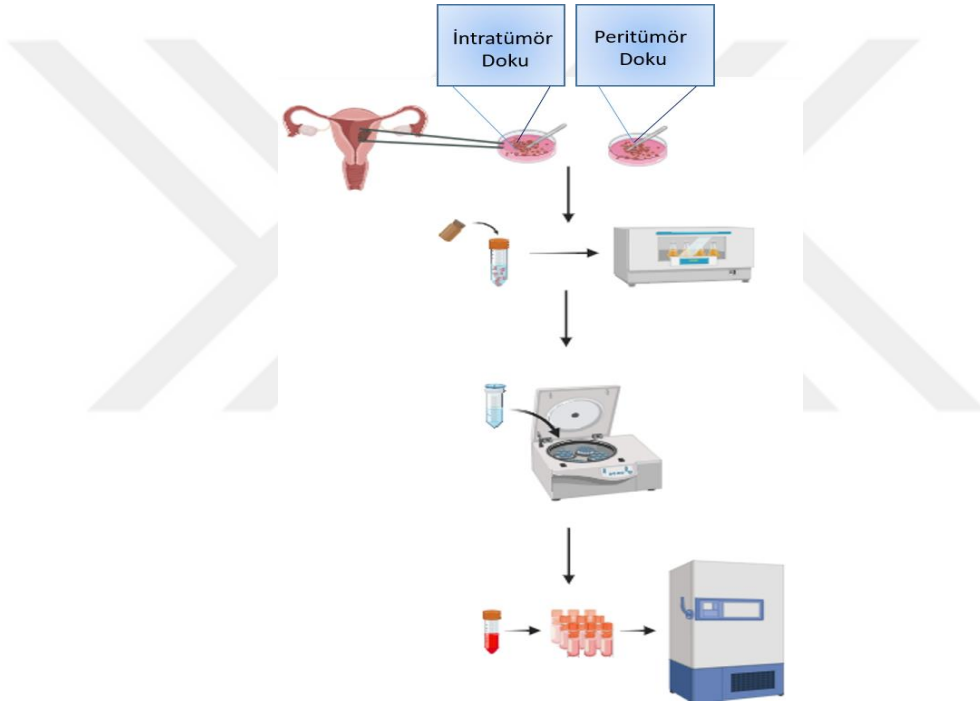
### **3.2. Endometriyum Kanseri hastasından alınan intratümör dokusu ve peritümör dokudan hücrelerin izolasyonu ve saklanması:**

#### 1) Dokulardan hücre izolasyonu

Dokular alındıktan sonra 0.25 mg/ml kollajenaz II enzimiyle muamele edilerek 20 dakika boyunca, 37 °C'de ,300rpm'de shakerda parçalandı. Hücrelerin tek tek düşmesi için 40uM mesh den süzüldü. Elde edilen hücreler 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atılarak pellet gereken miktarda steril RPMI (Mg içeren veya içermeyen) ile sulandırıldı. Elde edilen hasta örneklerinin bir kısmı donduruldu.

#### 2) Hücrelerin dondurulma süreci

Hücreler dondurulurken, 500 mikrolitre hücreden ,400 mikrolitre Fetal Bovine Serum (FBS) ve 100 mikrolitre DMSO (Dimetil sülfoksit) cryovial içerisine alınarak Mrs.Frosty içerisnde kademeli donduruldu. Dondurulduktan sonra -80°C'de muhafaza edildi (Şekil-4). Kalan hücreler ise kültüre edilip 37°C'de, nemli ve %5 CO2 içeren inkübatörde gerekli koşul ve inkübasyon süresince muhafaza edildi.



**Şekil-4:** Hastalardan alınan dokulardan tek hücre süspansiyonlarının oluşturulması ve saklanma algoritması

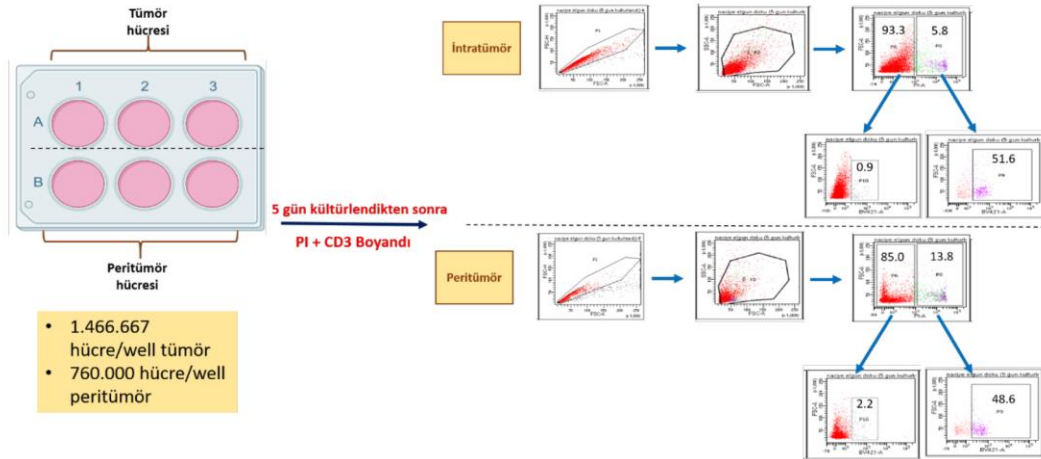
### 3) Hücrelerin açılma süreci

Endometriyum kanseri hastalarından izole ettiğimiz intratümör ve peritümör hücreleri -80°C'den alınarak, 37°C'ye önceden ısıtılmış su banyosunda bulunan içi steril dH2O ile dolu behere alındı. Tam çözünmeden hücrelerin bulunduğu vialler alkollenerek laminer akım kabineine alındı, üzerlerine önceden 37°C'ye ısıtılmış tam media kültür ortamı pastör pipeti ile eklenerek hücrelerin köpürtülmeden

çözünmesi sağlandı. Hücreler hızlı bir şekilde donduruldukları viallerden 50 mL'lik tüplere alınarak santrifüj edildi ve hızlıca üst kısım (süpernatant) uzaklaştırıldı. Yeni tam hücre kültür ortamında hücreler pastör pipet yardımıyla yeniden süspansiyon edildi.

### 3.3. Endometriyum Kanseri hastasından alınan tümör dokusu ve sağlıklı dokudan izole edilen hücrelerin Propidyum İyodür (PI) boyanması ile canlılık analizi:

Hücreleri dondurup açtıktan sonra canlılıklarının etkilenip etkilenmediği kontrol edildi. Bu sebeple hastaların dondurulan hücre örnekleri açıldıktan sonra canlılık düzeyleri analiz edildi (Şekil-5). Hastaların, endometriyum intratümör hücreleri, endometriyum peritümör hücreleri (1 hafta kültürlendikten sonra) ilk olarak PI boyanması yapıldı. PI, akım sitometride PE veya PI kanalında ışımaya verir. Bu kanalda verilen ışımaya ölü hücre yüzdesini verir.

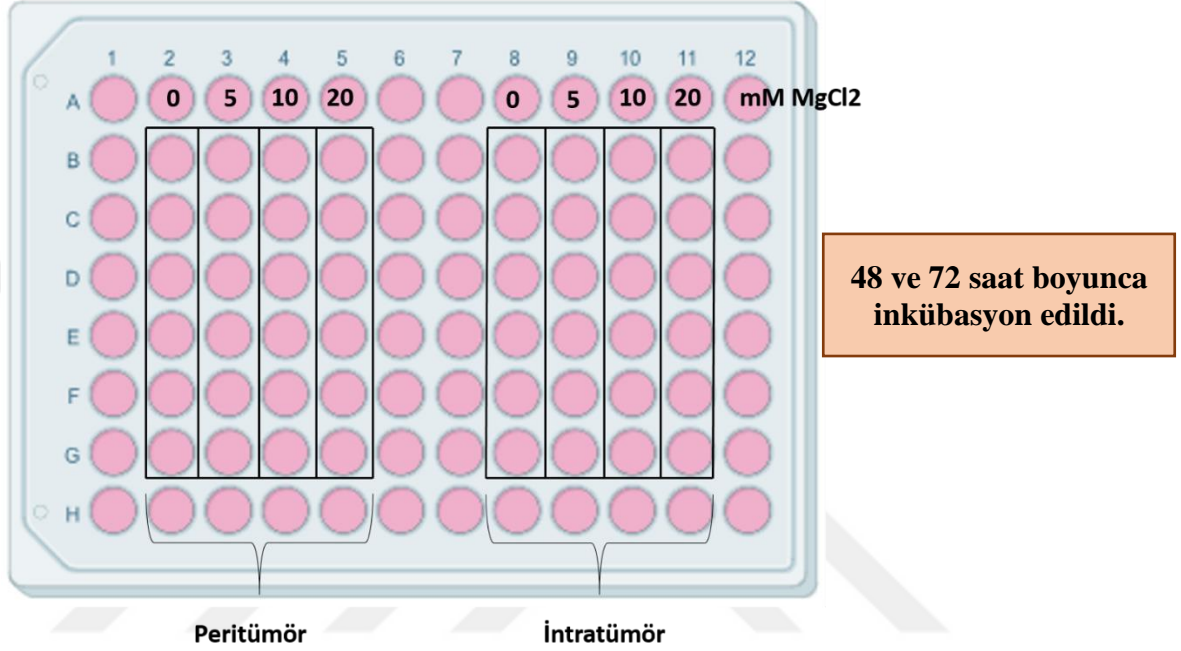


**Şekil-5:** Endometriyum Kanseri hastasından alınan tümör dokusu ve sağlıklı dokudan izole edilen hücrelerin Propidyum İyodür (PI) boyanması temsili flow görüntüsü

### 3.4. Ko-kültür deneyleri

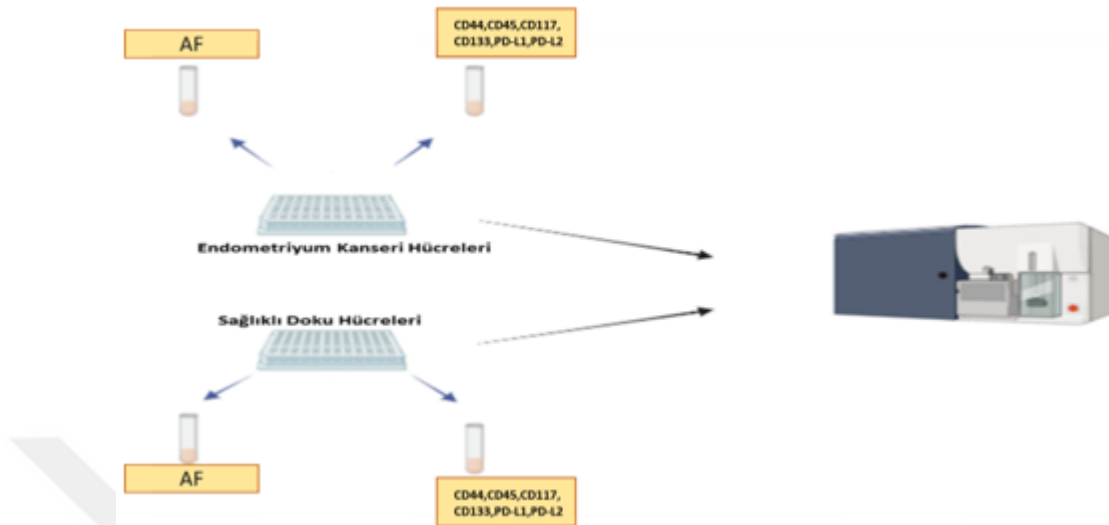
Endometriyum kanseri hastalarından alınan dokulardan izole ettiğimiz intratümör ve peritümör hücreleri üzerinde magnezyum klorürün etkisini

değerlendirmek için 96 kuyulu plaklara 5-10-20 mM MgCl<sub>2</sub> olacak şekilde ekimleri yapıldı (Şekil-6).



**Şekil-6:** Endometriyum kanseri hastalarının peritümör ve inratümör hücreleri 5-10-20 mM MgCl<sub>2</sub> ile 48 ve 72 saat boyunca inkübe edilmesi.

Bu kapsamda, endometriyum inratümör ve peritümör hücreleri 5-10-20 mM MgCl<sub>2</sub> ile 48 ve 72 saat boyunca kültüre ettikten sonra endometriyum kanseri kök hücre belirteçleri olan CD44, CD117, CD133 antikoları ve T hücre aktivasyonunu baskılayan CD274 (B7-H1,PD-L1) ve CD273 (B7-H2,PD-L2) antikoları ile boyanarak magnezyumun hem endometriyum kök hücre ekspresyon seviyesine hem de T hücre baskılama belirteçlerinin ekspresyon seviyesi tespit edilerek hastalar arasındaki farklılıklar analiz edildi (Şekil-7).



**Şekil-7:** Belirli MgCl<sub>2</sub> (magnezyum klorür) dozları ile kültürlenmiş peritümör ve intratümör hücrelerinin CD44, CD45, CD117, CD133, PD-L1, PD-L2 hücre yüzey belirteçlerinin 48. ve 72. Saatlerde değerlendirilmesi

#### 4. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada endometriyum kanser hastalarından elde edilen primer kanser hücrelerinin farklı magnezyum konsantrasyonlarında ve zaman aralıklarındaki yanıtları araştırılmak istenmiştir. Bu kapsamda kullanılacak hasta sayısını belirlemek için güç analizi yapılmıştır. Güç analizinde etki büyüklüğü (effect size) 0.55 olarak alınmıştır ( $d=0.55$ ). Bu değer orta-büyük bir etki büyüklüğünü ifade eder. Etki büyüklüğü, gruplar arasındaki farkın (örneğin, magnezyum konsantrasyonlarının etkisinin) tespit edilebilir büyüklüğünü ifade eder. Gruplar planlanırken 4 tane temel grup oluşturulmuştur. Kontrol grubu (hiç magnezyum eklenmemiş), düşük konsantrasyon magnezyum (5mM), orta konsantrasyon magnezyum (10mM), yüksek konsantrasyon magnezyum (20 mM). Bu konsantrasyonlar daha önce yapılan *in vitro* ve *ex vivo* çalışmalarda elde edilen ön verilere göre seçilmiştir (BUÜTF İmmünoloji AD, Doç. Dr. Diğdem YÖYEN ERMİŞ Araştırma grubunda yürütülen çalışmaların ön verileri. Çalışmalar yayın aşamasındadır). Anlamlılık Düzeyi ( $\alpha$ ) hesaplanırken  $\alpha=0.05$   $\alpha=0.05$ : Yani, yanlış pozitif sonuçların (Type I error) kabul edilebilir olasılığı

%5 olarak dikkate alınmıştır. Güç ( $1-\beta$ ),  $1-\beta=0.801$  olarak alınmış olup, bu doğru pozitif sonuçları tespit etme olasılığının %80 olarak hedeflendiğini göstermektedir. Bu parametreler dikkate alındığında, her hastadan alınan hücrelerin tüm gruplarda kullanılacağını varsayarak (tekrarlı ölçümler) hasta sayımızın en az 40 ( $n=40$ ) olması gerektiği sonucuna varılmıştır. Her grup için gerekli örneklem sayısını ve toplam örneklem sayısını hesaplamak için ANOVA'nın güç analizi kullanılmıştır. Bu kapsamda, 40 hasta sayısı ve etkili ölçümlerle orta - büyük etkileri algılayabileceğiniz bir deney kurgusu oluşturuldu.

Proje çıktılarının istatistiksel analizi, GraphPad Prism 6 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Normal dağılım gösteren değişkenler için student's t (ikili karşılaştırma) ya da ANOVA (ikiden fazla karşılaştırma), normal dağılım göstermeyenler için Mann-Whitney U (ikili karşılaştırma) ya da Kruskal Wallis (ikiden fazla karşılaştırma), testleri tercih edildi. Gruplar arasındaki farklar ve anlamlılıkları two-way ANOVA testi (Bonferroni's post hoc testi ile beraber) ile çoklu test edildi.  $p<0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Çalışmanın analizleri Prism 9 programında yapılmış olup, istatistiksel karşılaştırmalarda tip I hata oranı %5 olarak kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmamızda, endometriyum kanseri tanısı almış 40 hasta (n=40) ile kanser öyküsü olmayan sağlıklı 40 birey (n=40) karşılaştırılmıştır. Bu iki grubun demografik verileri (yaş, VKİ), serum magnezyum (Mg) düzeyi, menopoz durumu, otoimmün hastalık insidansı) detaylı bir şekilde incelenmiştir (Tablo-4) (Ek-1, Ek-2).

Tablo-4 incelendiğinde, endometriyum kanseri tanısı almış hastaların VKİ değeri, sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu ( $p=0,004$ ). Endometriyum kanserli hastalarının ortalama VKİ değeri  $32,2 \text{ kg/m}^2$ , sağlıklı bireylerin ise  $27,7 \text{ kg/m}^2$  olarak belirlendi.

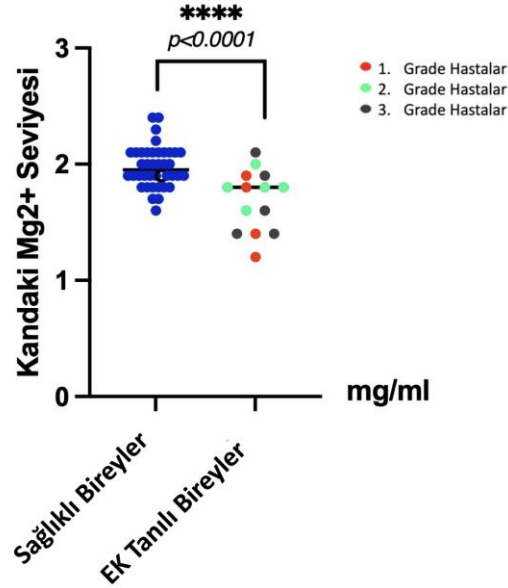
Kanda magnezyum düzeyleri arasında da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi ( $p<0,0001$ ). Endometriyum kanserli hastalarının ortalama magnezyum düzeyi 1,8, sağlıklı bireylerin ise 2,0 olarak ölçüldü (Şekil-8). Ayrıca bu kişilerin magnezyum seviyeleri arasında korelasyon analizi yapıldı, Mg seviyesinin endometriyum kanser ile ilişkili olabileceği olduğu doğrulandı ( $p<0,0001$ ) (Şekil-9).

Menopoz durumu açısından yapılan karşılaştırmada, endometriyum kanseri hastaları ile sağlıklı kadınlar arasında anlamlı bir farklılık bulundu ( $p<0,003$ ). Endometriyum kanserli hastalarının %87,5'inin menopozda olduğu, sağlıklı birey grubunda ise bu oranın %57,5 olduğu gözlemlendi.

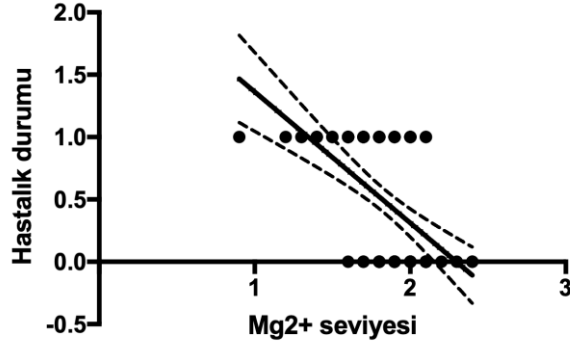
Ayrıca, çalışmamızda gruplar arası sistemik hastalıklar da karşılaştırıldı. Yalnızca hipertansiyon (HT) ve hipertansiyon ile birlikte diabetes mellitus (DM) oranları, endometriyum kanserli hastalarda anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0,039$ ;  $p=0,01$ ). Bununla birlikte, otoimmün hastalıklar açısından gruplar arasında herhangi bir farklılık saptanmadı ( $p=0,593$ ).

**Tablo-4:** Endometriyum kanser tanılı bireyler ve sağlıklı bireyler arasında yaş, VKİ, kanda Mg düzeyi, menopoz durumu, sistemik hastalıkların karşılaştırılması. EK, endometriyum kanser; NA, not applicable

	EK tanılı bireyler (n=40)	Sağlıklı bireyler (n=40)	p-değeri
Yaş (yıl)	59 (45-80)	57 (47-67)	NA
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	32,2 ± 6,94	27,7 ± 7,41	<b>0,004</b>
Kanda Mg düzeyi	1,8 ± 0,37	2 ± 0,21	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Menopoz</b>			
• Var	35 (%87,5)	23 (%57,5)	<b>&lt;0,003</b>
• Yok	5 (%12,5)	17 (%42,5)	
<b>Sistemik Hastalıklar</b>			
• HT	14 (%35)	6 (%15)	<b>0,039</b>
• DM+HT	12 (%30)	3 (%7,5)	<b>0,01</b>
• Otoimmün hastalıklar	10 (%25)	8 (%20)	0,593

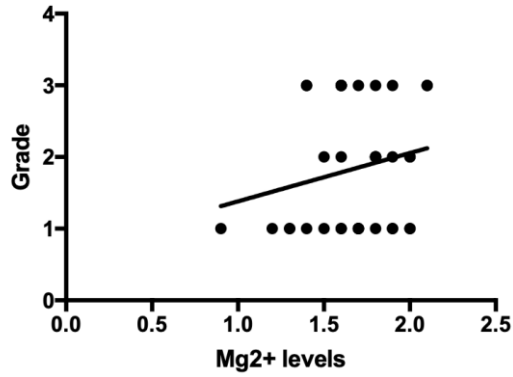


**Şekil-8:** Sağlıklı, kanser öyküsü olmayan ve endometriyum kanser tanılı bireylerin kanındaki magnezyum düzeyleri (p<0,0001).



**Şekil-9:** Sağlıklı, kanser öyküsü olmayan ve endometriyum kanser tanılı bireylerin kanındaki magnezyum düzeylerinin korelasyon analizi (lineer regresyon) ( $p < 0,0001$ ). Hastalık durumu, endometriyum kanser hastası olmak=1; sağlıklı birey olmak=0 olarak tanımlanarak analizler gerçekleştirildi.

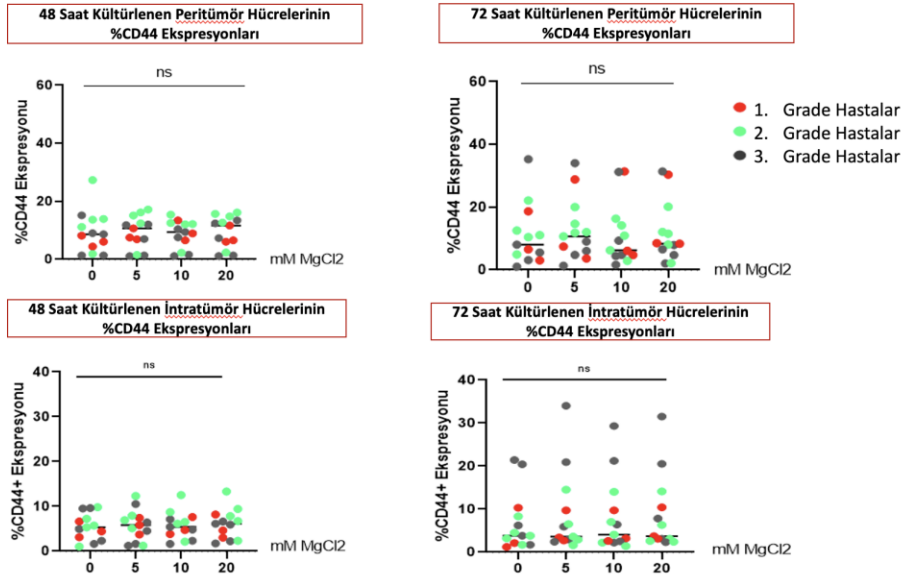
Endometriyum kanserli hastalarda Mg seviyelerinin düşük olduğu gözlemlendi. Endometriyum kanserli hastaları kendi içinde grade bazlı değerlendirildiğinde ise, Mg seviyeleri ve hastalık derecesi arasında bir fark görülmedi ( $p = 0,2144$ ) (Şekil-10).



**Şekil-10:** Endometriyum kanserli hastalarının Mg2+ seviyeleri ve hastalık derecesi arasındaki ilişkisi ( $p = 0,2144$ ).

Histerektomi yapılan hastaların endometriyum kanseri dokusu ve peritümör dokusundan izole edilen hücreler, farklı magnezyum klorür konsantrasyonlarında (5 mM, 10 mM, 20 mM) kültüre edilmiştir. Bu hücreler, endometriyum kanseri kök hücre belirteçleri olan CD44, CD117, CD133 antikorları ve T hücre aktivasyonunu baskılayan CD274 (B7-H1, PD-L1) ve CD273 (B7-H2, PD-L2) antikorları ile boyanarak, magnezyumun hem endometriyum kök hücre ekspresyon seviyesi hem de T hücre baskılama belirteçlerinin ekspresyon seviyesi karşılaştırılmıştır.

48.saatte peri ve intratümör hücrelerde doza bağlı olarak CD44 ekspresyonunda herhangi bir değişiklik gözlemlenmemektedir. Ancak, 72. saatte intratümör hücrelerinde CD44 ekspresyonunda, 10 mM ve 20 mM MgCl<sub>2</sub> dozlarıyla istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmasa da, bir düşüş trendi gözlemlenmekte (Şekil-11, Tablo-5).

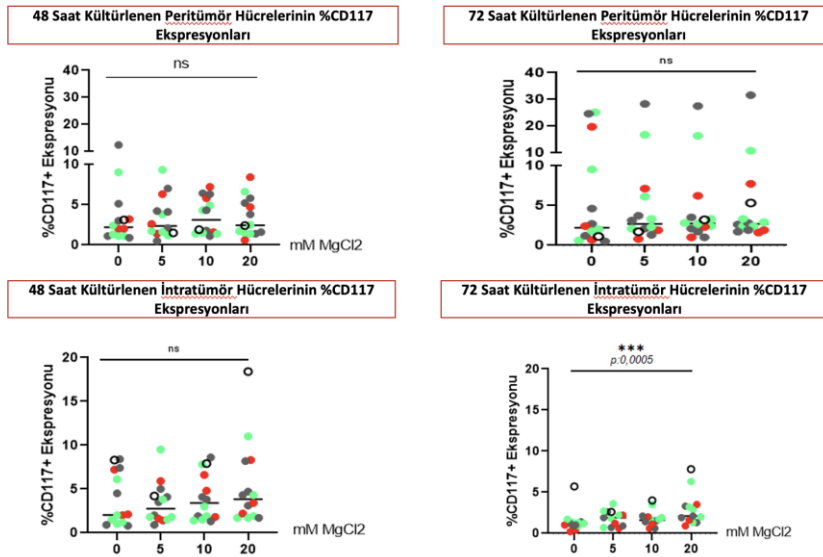


**Şekil-11:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD44 ekspresyon değişimleri.

**Tablo-5:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD44 ekspresyon değişimleri.

Magnezyum konsantrasyonu (mM)	PERİTÜMÖR HÜCRELER				İNTRATÜMÖR HÜCRELER			
	48 SAAT		72 SAAT		48 SAAT		72 SAAT	
	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri
	%CD 44 (n=13)							
0	9,415 (6,896)		10,930 (9,193)		5,461 (2,888)		6,815 (6,532)	
5	9,292 (5,360)	0-5: 0,918	12,623 (9,353)	0-5: 0,105	5,730 (3,274)	0-5: 0,503	8,538 (9,128)	0-5: 0,155
10	8,738 (4,488)	0-10: 0,582	11,076 (9,559)	0-10: 0,908	5,630 (2,887)	0-10: 0,735	8,138 (8,221)	0-10: 0,135
20	9,369 (5,249)	0-20: 0,968	11,815 (9,281)	0-20: 0,454	5,984 (3,178)	0-20: 0,379	8,530 (8,477)	0-20: 0,088

CD117 ekspresyonunda, peritümör hücrelerde anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Ancak, intratümör hücrelerinde 48. saatte CD117 ekspresyonu, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir artış trendi göstermektedir. 72. saatte bu artış trendi, p=0,0005 ile anlamlı bir değer elde etmiştir (Şekil-12, Tablo-6).

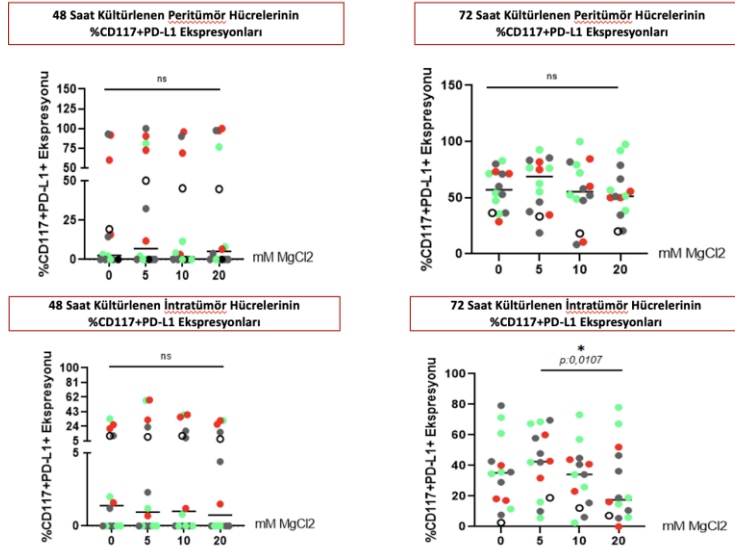


**Şekil-12:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117 ekspresyon değişimleri.

**Tablo-6:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117 ekspresyon değişimleri.

Magnezyum konsantrasyonu (mM)	PERİTÜMÖR HÜCRELER				İNTRATÜMÖR HÜCRELER			
	48 SAAT		72 SAAT		48 SAAT		72 SAAT	
	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri
0	3,4 (3,220)	0-5: 0,967	6,892 (8,838)	0-5: 0,346	3,814 (2,907)	0-5: 0,427	1,4 (1,299)	0-5: 0,249
5	3,378 (2,489)	0-10: 0,830	5,75 (7,375)	0-10: 0,278	3,357 (2,257)	0-10: 0,580	1,823 (0,906)	0-10: 0,101
10	3,564 (2,172)	0-20: 0,999	5,428 (7,154)	0-20: 0,433	4,028 (2,580)	0-20: 0,076	1,807 (0,945)	0-20: 0,0005
20	3,4 (2,290)		5,628 (7,629)		5,35 (4,569)		2,930 (1,948)	

CD117+ hücrelerinin PD-L1 ekspresyonuna bakıldığında, peritümör hücrelerinde anlamlı bir düşüş gözlemlenmemiştir. Ancak, 72. saatte intratümör hücrelerinde CD117+PD-L1+ hücrelerinin sayısında bir düşüş trendi gözlemlenmiş ve bu, p=0,0107 ile istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç vermektedir (Şekil-13, Tablo-7).

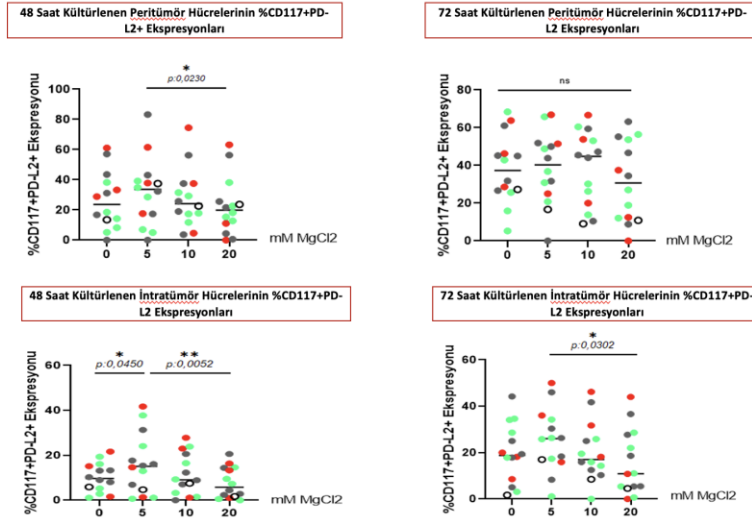


**Şekil-13:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117+PD-L1+ ekspresyon değişimleri.

**Tablo-7:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117+PD-L1+ ekspresyon değişimleri.

Magnezyum konsantrasyonu (mM)	PERİTÜMÖR HÜCRELER				İNTRATÜMÖR HÜCRELER			
	48 SAAT		72 SAAT		48 SAAT		72 SAAT	
	%CD117+ PD-L1+ (n=14)							
	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri
0	21,378 (33,653)	0-5: 0,111	57,235 (17,546)	0-5: 0,352	7,828 (11,046)	0-5: 0,096	34,742 (22,4)	0-5: 0,147
5	31,435 (37,648)	0-10: 0,601	61,371 (22,761)	0-10: 0,785	13,285 (20,605)	0-10: 0,086	41,5 (21,336)	0-10: 0,601
10	22,750 (34,814)	0-20: 0,137	55,264 (26,936)	0-20: 0,740	11,1 (15,107)	0-20: 0,613	32,442 (19,107)	0-20: 0,053
20	31,028 (40,953)		54,571 (22,456)		8,564 (12,055)		27,014 (23,914)	5-20: 0,0107

48. saatte, peritümör hücrelerinin CD117+ hücrelerinin PD-L2+ hücre popülasyonuna bakıldığında, 5 -20 mM MgCl<sub>2</sub> arasında anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir (p=0,023). Ancak, 20 mM MgCl<sub>2</sub>'da bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamaktadır. 48. saatte CD117+PD-L2+ intratümör hücrelerinde, 0-5 mM MgCl<sub>2</sub> arasında anlamlı bir artış (p=0,045) ve 5-20 mM arasında anlamlı bir düşüş (p=0,005) gözlemlenmiştir. 72. saatte kültürlen intratümör hücrelerinin CD117+PD-L2+ ekspresyonuna bakıldığında, 5-20 mM MgCl<sub>2</sub> arasında anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir (p=0,0302) (Şekil-14, Tablo-8).

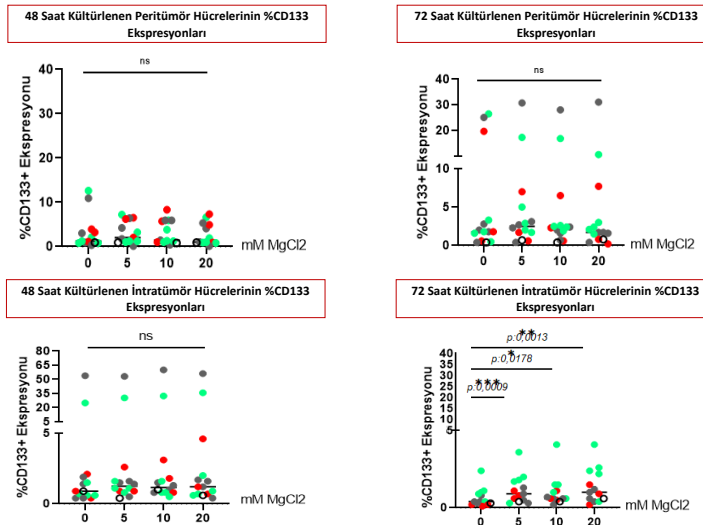


**Şekil-14:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117+PD-L2+ ekspresyon değişimleri.

**Tablo-8:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117+PD-L2+ ekspresyon değişimleri.

Magnezyum konsantrasyonu (mM)	PERİTÜMÖR HÜCRELER				İNTRATÜMÖR HÜCRELER			
	48 SAAT		72 SAAT		48 SAAT		72 SAAT	
	%CD117+ PD-L2+ (n=14)							
	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri
0	26,428 (18,124)	0-5: 0,128	38,142 (17,717)	0-5: 0,874	10,221 (6,289)	0-5: 0,045	19,885 (12,192)	0-5: 0,119
5	31,814 (21,646)	0-10: 0,650	38,621 (18,376)	0-10: 0,880	16,192 (12,882)	0-10: 0,349	25,228 (13,104)	0-10: 0,881
10	27,814 (18,683)	0-20: 0,284	38,585 (19,156)	0-20: 0,231	11,635 (8,914)	0-20: 0,130	20,4 (12,259)	0-20: 0,223
20	22,428 (18,264)	5-20: 0,023	31,242 (20,358)		7,792 (6,666)	5-20: 0,005	15,785 (13,501)	5-20: 0,0302

Peritümör hücrelerinde CD133 ekspresyonunda, 72 ve 48 saatler arasında anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir. 48. saatte intratümör hücrelerinde doza bağlı CD133 ekspresyonunda anlamlı bir değişim yoktur. Ancak, 72. saatte CD133 ekspresyonlarında, 0-5 mM, 0-10 mM ve 0-20 mM MgCl<sub>2</sub> arasında anlamlı bir yükseliş gözlemlenmiştir (p=0,0009; p=0,0178; p=0,0013) ( Şekil-15, Tablo-9).

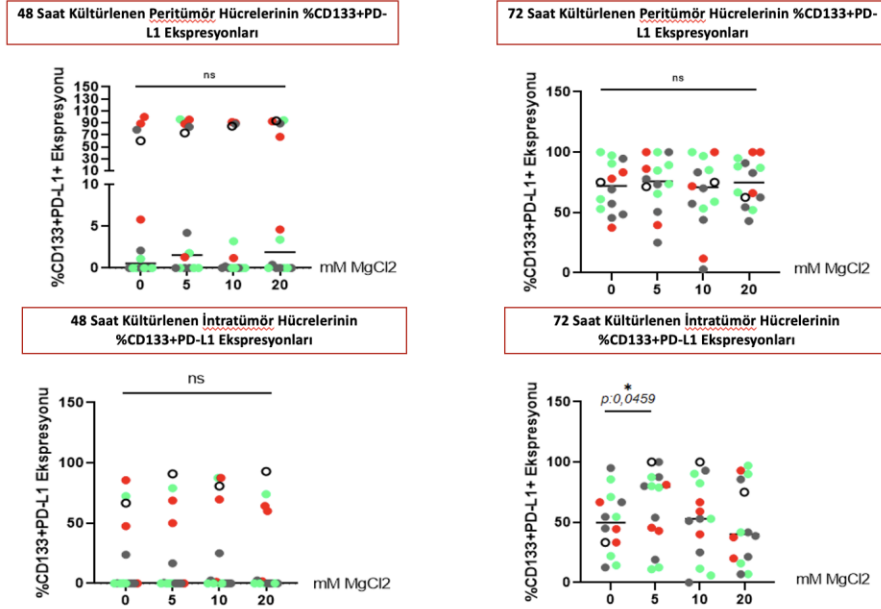


**Şekil 15:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD133 ekspresyon değişimleri.

**Tablo-9:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD133 ekspresyon değişimleri.

Magnezyum konsantrasyonu (mM)	PERİTÜMÖR HÜCRELER				İNTRATÜMÖR HÜCRELER			
	48 SAAT		72 SAAT		48 SAAT		72 SAAT	
	%CD 133 (n=13)		%CD133 (n=14)				%CD 133 (n=13)	
	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri
0	3,207 (3,805)	0-5: 0,991 0-10: 0,934 0-20: 0,573	6,307 (9,255)	0-5: 0,571 0-10: 0,318 0-20: 0,296	6,471 (14,526)	0-5: 0,210 0-10: 0,086 0-20: 0,129	0,653 (0,595)	0-5: 0,0009 0-10: 0,0178 0-20: 0,0013
5	3,215 (2,458)		5,585 (8,135)		6,992 (14,844)		1,176 (0,893)	
10	3,276 (2,609)		5,064 (7,556)		7,675 (16,595)		1,030 (0,964)	
20	2,746 (2,424)		4,685 (7,850)		7,714 (16,090)		1,392 (1,093)	

Peritümör hücrelerinde CD133+PD-L1+ ekspresyonunda, 72 ve 48 saatler arasında doza bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Ancak, 72. saatte intratümör hücrelerinin CD133+PD-L1+ ekspresyonu, 0-5 mM arasında anlamlı bir artış göstermektedir ( $p=0,0459$ ) (Şekil 16, Tablo-10).

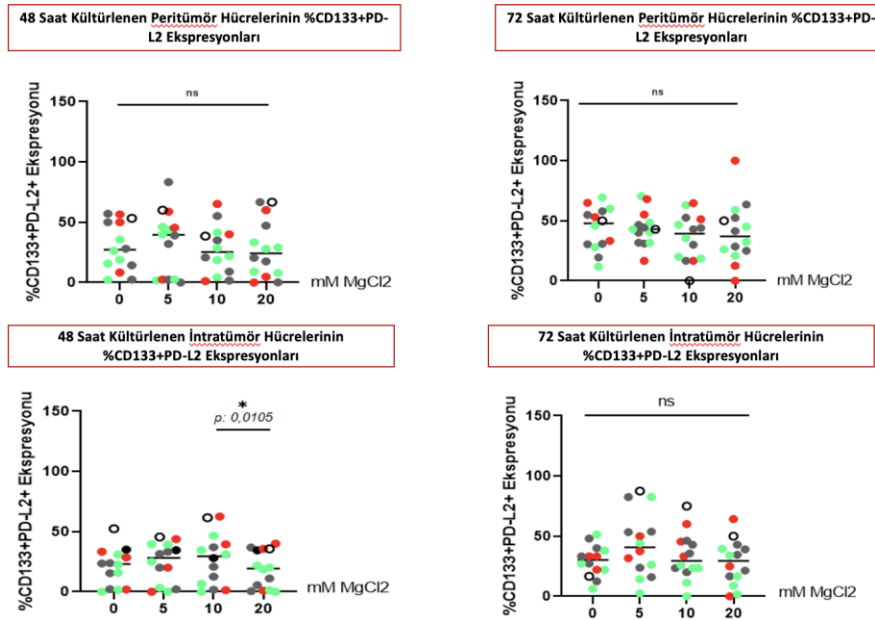


**Şekil 16:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD133+ PD-L1+ ekspresyon değişimleri.

**Tablo-10:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD133+ PD-L1+ ekspresyon değişimleri.

Magnezyum konsantrasyonu (mM)	PERİTÜMÖR HÜCRELER				İNTRATÜMÖR HÜCRELER			
	48 SAAT		72 SAAT		48 SAAT		72 SAAT	
	%CD133+ PD-L1+ (n=14)							
	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri	ORT(STD)	p-değeri
0	24,035 (37,447)		70,764 (20,007)		21,191 (31,144)		49,914 (24,521)	
5	31,671 (41,720)	0-5: 2,286	74,078 (21,974)	0-5: 0,434	21,857 (33,105)		62,857 (30,558)	
10	25,614 (39,803)	0-10: 0,463	65,014 (28,958)	0-10: 0,221	25,314 (36,214)	0-5: 0,777	52,207 (31,589)	0-5: 0,0459
20	31,728 (41,802)	0-20: 0,328	75,075 (18,373)	0-20: 0,334	21,114 (33,406)	0-10: 0,054	47,964 (32,173)	0-10: 0,760
						0-20: 0,980		0-20: 0,764

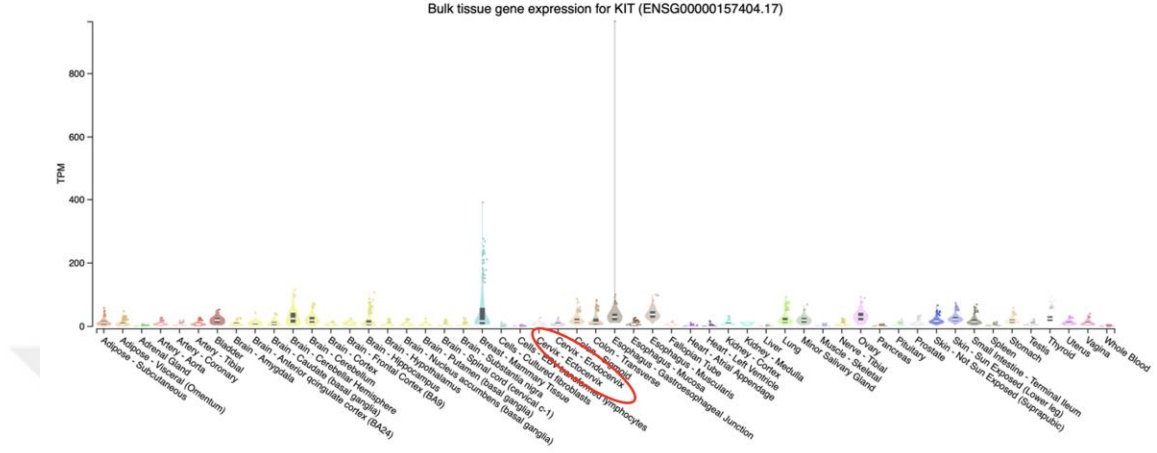
48. ve 72. saat peritümör hücrelerinin CD133+PD-L2+ ekspresyonunun doza bağımlı anlamlı bir değişiklik saptanmasa da, 48. saatte intratümör hücrelerinin CD133+PD-L2+ ekspresyonunda 10-20 mM MgCl<sub>2</sub> arasında anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir (p=0,0105) (Şekil-17, Tablo-11).



**Şekil-17:** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD133+ PD-L2+ ekspresyon değişimleri.



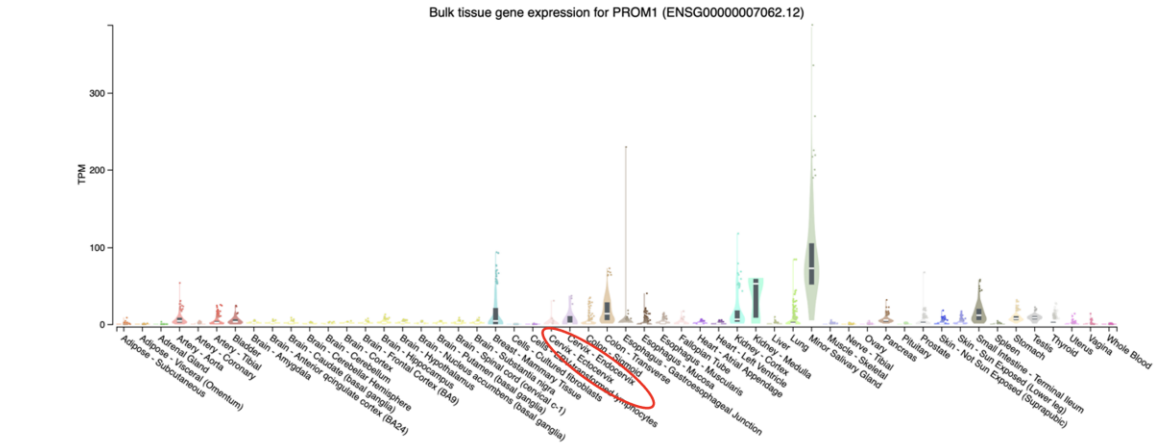
## CD117



**Şekil-19:** Normal dokulardaki *KIT* (CD117) gen ekspresyon düzeylerine bakıldığında endocerviks ve ectocerviks dokularında ekspresyonunun olmadığı görülmektedir.

TPM: Transcript Per Million

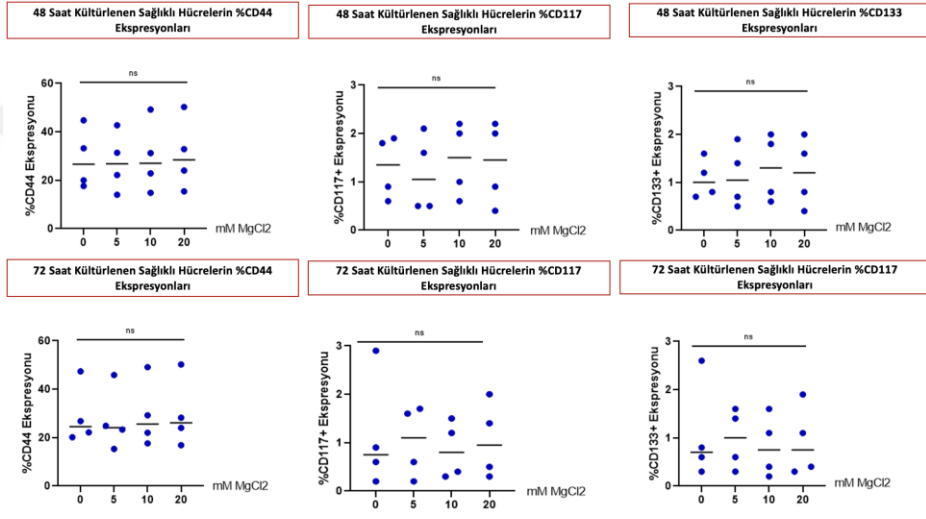
## CD133



**Şekil-20:** Normal dokulardaki *PROM1* (CD133) gen ekspresyon düzeylerine bakıldığında endocerviks ve ectocerviks dokularında ekspresyonunun olmadığı görülmektedir.

Gen ekspresyon analizlerinde gösterildiği gibi, 4 sağlıklı dokudan yapılan flow analizleri sonucunda da CD44, CD117 ve CD133 ekspresyonlarının sağlıklı

endometriyum dokularında düşük olduğu doğrulanmıştır. Bu sağlıklı dokular farklı  $MgCl_2$  konsantrasyonlarında muamele edildiğinde ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Şekil-21). GTEX veri tabanını doğrular şekilde sağlıklı bireylerde CD44 oranı %30 olarak, CD117 ve CD133 ekspresyonu ise %1 civarında görülmektedir (Şekil-18, Şekil-19, Şekil-20, Şekil-21).



**Şekil-21:** 48 ve 72. Saat sağlıklı dokuların artan konsantrasyonlarda  $MgCl_2$  ile inkübasyonu sonucu CD44, CD133, CD117 ekspresyon değişimleri

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Endometriyum kanser en yaygın jinekolojik kanserdir ve genellikle menopoz sonrası kadınlarda görülür. Ancak, her yaşta da ortaya çıkabilir. Uzmanlık tezi kapsamında çalışmaya dahil edilen hastalar da 45-80 yaş arasındadır. Endometriyum kanserinin en yaygın belirtisi, anormal vajinal kanama, özellikle menopoz sonrası kanamadır. Diğer belirtiler arasında pelvik ağrı, anormal akıntı ve idrar problemleri de yer alabilir. Bu çalışma kapsamında, BUÜTF Kadın Doğum Anabilim Dalı'na başvuran hastaların en sık postmenopozal lekelenme ve kanama şikayetleri ile başvurdukları gözlemlenmiştir. Ancak rutin kontrollerde de, postmenopozal dönemdeki asemptomatik hastalarda endometriyum kalınlık artışı tespit edilmiştir. Bu artış üzerine yapılan ileri tetkikler sonucunda, bazı hastalarda endometriyum kanseri teşhisi konulmuştur.

Endometriyum kanserin gelişme riski, östrojen hormonunun uzun süreli etkileriyle ilişkilidir. Ayrıca, obezite, yüksek tansiyon ve diyabet gibi faktörler riskin artmasına neden olabilir. Çalışmamızda, HT ve DM oranlarının, endometriyum kanseri tanısı almış hastalarda anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo-4). Bu bulgular, mevcut literatürle uyumlu olup, endometriyum kanseri olan bireylerde sistemik hastalıkların daha sık görüldüğünü desteklemektedir (14,19). Özellikle HT ve DM, endometriyum kanser hastalarının genel sağlık durumunu etkileyebilecek önemli faktörler arasında yer almakta ve bu hastaların yönetiminde dikkate alınması gereken önemli sağlık sorunlarıdır. Ayrıca, değerlendirilen hastaların çoğunun (ortalama VKİ 32,2) obez sınırdan veya obez olduğu göz önüne alındığında, bu bireylerde endometriyum kanseri gelişme riskinin artırılmış olabileceği düşünülebilir (Tablo-4). Özellikle VKİ değeri 30'un üzerinde olan hastalarda, obezitenin endometriyum kanseri üzerindeki etkilerinin daha belirgin olduğu ve bu hastaların izlenmesinin önem taşıdığı literatürdeki bulgularla paralellik göstermektedir (15,16).

Magnezyum, hücresel süreçlerde kritik bir rol oynayan, vücutta bulunan temel minerallerden biridir. Özellikle DNA sentezi, hücre bölünmesi, enerji üretimi ve hücresel iletişim gibi birçok biyolojik fonksiyonu düzenler. Bunun yanı sıra, magnezyum, anti-inflamatuar özellikleriyle de dikkat çekmektedir (22). Magnezyum eksikliğinin kanser gelişimi ile ilişkilendirilebileceği öne sürülmektedir. Magnezyum düzeyinin düşük olduğu durumlar, hücresel DNA hasarının artmasına, hücre döngüsünün bozulmasına ve anormal hücresel büyümeye zemin hazırlayabilir. Magnezyumun, kanser hücrelerinde proliferasyonu baskılayıcı ve apoptozu teşvik edici etkileri olabileceği düşünülmektedir. Magnezyum eksikliğinin, hücre proliferasyonu ve anormal hücre büyümesi gibi kanser gelişimine yol açan mekanizmaları tetikleyebileceği öne sürülmüştür. Kronik magnezyum eksikliği, yaşa bağlı hastalıklar ve oksidatif stresle ilişkili inflamasyonu artırır ve immün fonksiyonları olumsuz etkileyebilir. Yeni bir araştırma, T hücrelerinin patojenlere karşı etkili bir yanıt verebilmesi için yeterli magnezyum seviyelerine ihtiyaç duyduğunu göstermektedir (75). Ayrıca, düşük magnezyum seviyelerinin hücrelerin oksidatif stresle başa çıkma kapasitesini zayıflatarak, bu durumun kanser gelişimini kolaylaştırabileceği literatürde belirtilmektedir (77).

Liu W ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptığı çalışmada, over kanseri tedavisi gören ve karboplatin kemoterapisi alan hastalarda hipomagnezemi ile sağkalım süresi arasındaki ilişki incelenmiştir. Hipomagnezemi, serum magnezyum seviyesinin 1.8 mg/dl'nin altında olması olarak tanımlanmıştır. Çalışmanın bulguları, hipomagnezemi düzeylerinin daha kısa sağkalım ile anlamlı bir şekilde ilişkilendirildiğini ortaya koymuştur. Özellikle, kemoterapi sırasında hipomagnezemi gelişen hastalar, normal magnezyum seviyelerine sahip olanlara kıyasla daha düşük sağkalım oranları göstermiştir (101).

Wenli Liu ve arkadaşlarının 2021 yılında 439 hasta üzerinde yaptığı çalışmada, baş ve boyun kanseri ve kemoterapi alan

hastalarında hipomagnezemi yaş, kanser yeri (orofarenks vs. nonorofarenks) ve sigara içme geçmişi gibi faktörlerden bağımsız olarak, daha kısa sağkalım ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir ( $p<0,01$ ). Ayrıca, daha şiddetli hipomagnezemi, daha hafif hipomagnezemiye kıyasla daha kısa sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada hipomagnezemi, serum magnezyum konsantrasyonunun 1.6 mg/dL'nin altında olması olarak kabul edilmiştir (102).

2016 senesinde Jiang DM ve arkadaşları tarafından yapılmış çalışmada Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR) inhibitörleri kullanan hastalarda hipomagnezemi yönetimi incelenmiştir. EGFR inhibitörleri tedavisi gören hastalarda hipomagnezemi yaygın bir yan etki olarak tespit edilmiştir. EGFR aşırı ekspresyonu, kolorektal, akciğer, pankreas ve baş-boyun gibi yaygın tümör bölgelerinde tespit edilmiştir. Çalışmada, hipomagnezemi yönetimi konusunda çeşitli yaklaşımları incelenmişti. Magnezyum takviyesi (oral ya da intravenöz) tedavi sürecinde en yaygın kullanılan yöntemlerden biri olmuştur. Hipomagnezemi durumunda, tedavi sürecinde hasta sağlığını iyileştirme ve tedaviyi daha etkili hale getirme açısından önemli olduğunu gösterilmiştir (103).

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre, endometriyum kanseri olan hastaların kanında magnezyum düzeyleri (1.8 mg/dL), sağlıklı bireylerle (2 mg/dL) kıyaslandığında anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,0001$ ) (Tablo-4, Şekil-8, Şekil-9). Bu sonuç, endometriyum kanseri olan bireylerde magnezyum eksikliğinin potansiyel bir biyomarkır veya hastalık sürecinin bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir. Bununla beraber, hastalık derecesine göre bir ilişki bulunamadı ( $p=0,2144$ ) (Şekil-10).

Vücutta magnezyum seviyesinin tümör bağışıklığı üzerindeki etkilerini inceleyen çok az deneysel veri bulunmaktadır. Ancak, magnezyumdan fakir bir diyetle beslenen farelerde bazı anlamlı sonuçlar gözlemlenmiştir (104,105).

F.H. Mills'in 1974'te yayımladığı "Letter: Behavior of Tumours in Conditions of Experimental Magnesium Deficiency" başlıklı çalışmada, deneysel magnezyum eksikliğinin tümörlerin gelişimini ve davranışını etkilediği bulunmuştur. Yapılmış bu deneyde, magnezyumdan fakir bir diyetle beslenen farelerde Walker tümörleri, normal beslenen farelere göre çok daha yavaş büyüdüğü izlenmiştir. 6 gün sonra, magnezyumdan fakir bir diyetle beslenen farelerde tümörler zorla görülebilirken, kontrol farelerindeki tümörler 1 cm'den büyük ve oldukça ilerlemişti. Magnezyum yeterli diyete dönüşün, tümör büyümesini desteklediği dikkat çekici şekilde ilk kez bu deneyde gözlemlenmiştir (104).

Nasulewicz ve arkadaşları tarafından 2004 yılında yapılan çalışmada, magnezyum eksikliğinin farelerde akciğer kanserinin büyümesi ve yayılması üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar, magnezyumdan fakir bir diyetle beslenen farelerde birincil tümör büyümesinin %70'e kadar anlamlı şekilde yavaşladığını göstermiştir ve bu farelerde Mg takviyesi yapılması, birincil tümör yükünde önemli bir artışa yol açmıştır ( $p < 0,05$ ). Magnezyum iyonları, özellikle hızla büyüyen ve sık sık bölünen kanser hücreleri için önemlidir. Bu etkilerden sorumlu olabilecek mekanizmalardan biri, protein ve DNA sentezinin inhibe edilmesi, hücre içi metabolizmanın bozulması ve hücre bölünmesinin engellenmesidir. Sonuç olarak, bu durum tümör büyümesinin yavaşlamasına yol açabilir. İlginç bir şekilde, düşük magnezyum diyetliye beslenen farelerde, akciğerlerdeki metastatik odak sayısı artarak bu farelerde metastatik potansiyel gözlemlenmiştir ( $p < 0,05$ ) (105).

Bu iki çalışmada izlenmiş bulgular, bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir ve magnezyumun endometriyum kanseri kök hücrelerinin ekspresyonunu artırma potansiyeline sahip olabileceğini gösteriyor. Çalışmamızda, endometriyum kanseri intratümör hücrelerinde 72. saatte, 0-5 mM, 0-10 mM ve 0-20 mM  $MgCl_2$  konsantrasyonlarında CD133 ekspresyonunda anlamlı bir yükseliş gözlemlenmiştir ( $p = 0,0009$ ;  $p = 0,0178$ ;  $p = 0,0013$ ) (Tablo-9).

Ayrıca, intratümör hücrelerinin CD117 ekspresyonunda da anlamlı bir artış göstermiştir ( $p=0,0005$ ) (Tablo-6). CD133 ve CD117, kanser kök hücrelerinin bir işaretçisi olarak kabul edilen bir protein olup, kanserin prognozu ve tedaviye yanıtı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Çalışmamızda gözlemlenen bu artış, magnezyumun endometriyum kanseri kök hücre ekspresyonunu artırabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgu, magnezyumun hücre içi sinyal yolları üzerindeki etkilerinin bir sonucu olarak yorumlanabilir. Magnezyum, hücre metabolizmasını düzenleyen ve gen ekspresyonunu etkileyebilen bir kofaktördür. Özellikle, magnezyum eksikliği ve fazlalığı, hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşma süreçlerini etkileyebilir. Bazı çalışmalarda magnezyumun kanser hücrelerinin büyümesini engellediği gözlemlenirken, diğerlerinde ise etkisi net gözlemlenememiştir (77).

Diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda, Ehrlich karsinomu gibi bazı kanser türlerinde, diyetle alınan magnezyum takviyelerinin *in vivo* tümör büyümesini yavaşlatmada etkili olmadığı gözlemlenmiştir (106). Bu bulgu, magnezyumun tümör büyümesi üzerindeki etkisinin oldukça karmaşık olabileceğini düşündürmektedir. Örneğin, magnezyum seviyelerinin kanser türüne, tümörün evresine ve kullanılan tedavi yöntemlerine göre farklılık gösterebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Çalışmamızda da benzer bir durum söz konusu olmuş ve intratümör hücrelerinde magnezyum dozuna bağlı olarak CD44 ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Tablo-5). CD44, kanser kök hücrelerinin yüzeyinde bulunan önemli bir belirteçtir ve bu belirtecin ekspresyonu, kanserin agresifliği, metastaz yapma potansiyeli ve tedaviye direnç gibi önemli faktörleri etkileyebilir. Fakat, kanser türüne göre kanser kök hücrelerinin farklı belirteçleri taşıyabildiği raporlanmaktadır. Ayrıca, farklı belirteçleri farklı düzeylerde taşıyan ve fonksiyonel farklılık gösterebilen kanser kök hücreleri olabilir. Çalışmamızda CD44 belirtecinin magnezyumdan etkilenmediği tespit edilmiştir. Magnezyumun bu belirteç üzerinde doğrudan bir etkisinin olmaması, magnezyumun kanser kök hücreleri

üzerindeki etkilerinin yalnızca CD44 gibi belirli yüzey belirteçleriyle sınırlı olmadığını veya magnezyumun bu hücrelerdeki etki mekanizmalarının farklı olabileceğini gösteriyor olabilir.

2022 yılında Cell dergisinde yayımlanan magnezyumla ilgili önemli bir çalışma, magnezyumun bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerini ve özellikle T hücrelerinin fonksiyonlarını nasıl modüle ettiğini incelemektedir. Çalışma, bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde magnezyumun kritik bir rol oynadığını ve magnezyumun hücresel işlevlerdeki değişikliklerle doğrudan ilişki kurduğunu ortaya koymuştur (6). Özellikle, T hücrelerinin etkinliğini artırma potansiyeli ve immünoterapilerdeki kullanımı, magnezyumun kanser tedavisinde potansiyel bir yardımcı bileşik olarak düşünülebileceğini gösteriyor. Ayrıca, bu çalışmada 3 mM MgCl<sub>2</sub> ile tedavi edilen tümörlerden izole edilen CD8+ T hücrelerinde PD-1 ekspresyonunun, NaCl ile tedavi edilenlere kıyasla daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda, 5 mM MgCl<sub>2</sub> tedavisinin kanser kök hücrelerinde CD117+PD-L2+ ve CD133+PD-L1+ ekspresyonunda belirgin bir artışa yol açtığı gözlemlenmiştir (Tablo-8, Tablo -10) (p=0,045; p=0,0459). Bu bulgu, daha önce yapılan çalışmada benzer şekilde magnezyumun bu hücre yüzeyindeki belirteçlerin ekspresyonunu artırıcı etkisiyle paralellik göstermektedir. Bizim çalışmamızda endometriyum kanser kök hücrelerinde magnezyum ile immün baskılayıcı moleküllerin artış gösterebildiği literatürde ilk kez raporlanmıştır. Ancak, 10-20 mM gibi orta-yüksek dozlarda MgCl<sub>2</sub> tedavisi uygulandığında, CD117+PD-L1+, CD117+PD-L2+ ve CD133+PD-L2+ ekspresyonunda belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir (Tablo-7, Tablo-8, Tablo-11) (p=0,0107; p=0,0302; p=0,0105). Bu durum, yüksek doz magnezyumun hücre yüzeyindeki immünolojik belirteçlerin düzenlenmesini tersine çevirdiğini ve potansiyel olarak daha farklı bir etki mekanizmasına sahip olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak, magnezyumun kanser kök hücrelerinde ekspresyonu etkileyen doza bağlı bir yanıt gösterdiği ve daha yüksek dozların farklı biyolojik sonuçlara yol açabileceği anlaşılmaktadır.

PD-L1, tümör hücrelerinin bağışıklık sisteminden kaçabilmesi için önemli bir kontrol noktası proteindir (62). Bu protein, tümörlerin T hücreleri tarafından tespit edilmesini engelleyerek, tümörlerin bağışıklık sistemi tarafından tanınmasını ve yok edilmesini zorlaştırır. Ayrıca, PD-L1'in tedaviye karşı direnç gelişiminde de önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (63).

Çalışmaların çoğunda, PD-1, PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonlarının kanser tedavisinde hedef olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bu bağlamda, magnezyumun düşük dozda bu belirteçlerin ekspresyonunu artırması ve yüksek dozda ise ekspresyonu azaltması, magnezyumun kanser tedavisinde potansiyel olarak önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Ancak, bu etkinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha derinlemesine araştırmaların yapılması gerekmektedir (99).

Bu çalışmada, magnezyumun endometriyum kanseri hücreleri üzerindeki etkileri incelenmiş ve magnezyum konsantrasyonlarının tümörojenik süreçlere nasıl etki edebileceği araştırılmıştır. Literatür ve elde edilen bulgulara dayanarak magnezyumun kanser hücrelerinin proliferasyonunu, migrasyonunu ve invazyonunu düzenleyen önemli bir mineral olduğu belirtilmiştir (74). Endometriyum kanseri hücreleriyle yapılan eş kültür deneyleri, magnezyum seviyelerinin arttıkça endometriyum kanser kök hücrelerinin ekspresyonunda belirgin değişiklikler gözlemlenmiştir. Bununla beraber, artış gösteren CD117+ veya CD133+ kanser kök hücresi benzeri hücrelerin yüzeylerinde taşıdıkları PDL-1 veya PDL-2 seviyeleri azalmıştır. Düşük magnezyum konsantrasyonlarında kanser kök hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen immün kontrol noktası inhibitörlerin ekspresyonunda artış, ancak yüksek konsantrasyonlarda bu etkinin baskılandığı görülmüştür. Magnezyumun endometriyum kanser kök hücresi alt-populasyonu üzerine olan bu etkisi immünoterapötik yaklaşımlar ile beraber kombine uygulamaların olasılığını düşündürmektedir. Ayrıca, magnezyum seviyelerinin hastaların genetik yapıları ve kanserin evresi gibi faktörlere bağlı olarak farklı sonuçlar doğurabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu çalışma,

magnezyumun endometriyum kanserinde tümörogenik süreçler üzerindeki etkisini anlamaya yönelik önemli veriler sunmuş olup, magnezyumun potansiyel bir terapötik ajan olarak kullanılabilirliğini araştırmak için daha ileri çalışmalara zemin hazırlamaktadır.



## KISALTMALAR

<b>KISALTMALAR</b>	<b>AÇIKLAMA</b>
EK	Endometriyum kanser
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
EİN	Endometriyal İntraepitelyal Neoplazi
Seröz EİC	Seröz Endometriyal İntraepitelyal Karsinom
EGD	Endometriyal Glandüler Displazi
PCOS	Polikistik Over Sendrom
FİGO	The International Federation of Gynecology and Obstetrics
TCGA	The Cancer Genom Atlas
LVAİ	Lenfovasküler alan invazyonu
CSC	Cancer Stem Cell / Kanser Kök Hücre
PD-1	Programmed Cell Death-1 / Programlanmış Hücre Ölümü-1
DM	Diyabetes Mellitus
HT	Hipertansyon

## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil-1** Uterusun anatomisi
- Şekil-2** Korpus uteri kanserlerinin görülme sıklığı ve mortalitesi
- Şekil-3** İntratümör ve Peritümör dokularının alınması
- Şekil-4** Hastalardan alınan dokulardan tek hücre süspansiyonlarının oluşturulması ve saklanma algoritması
- Şekil-5** Endometriyum Kanseri hastasından alınan tümör dokusu ve sağlıklı dokudan izole edilen hücrelerin Propidyum İyodür (PI) boyanması temsili flow görüntüsü
- Şekil-6** Endometriyum kanseri hastalarının peritümör ve intratümör hücreleri 5-10-20 mM MgCl<sub>2</sub> ile 48 ve 72 saat boyunca inkübe edilmesi
- Şekil-7** Belirli MgCl<sub>2</sub> (magnezyum klorür) dozları ile kültürlenmiş peritümör ve intratümör hücrelerinin CD44, CD45, CD117, CD133, PD-L1, PD-L2 hücre yüzey belirteçlerinin 48. ve 72. Saatlerde değerlendirilmesi
- Şekil-8** Sağlıklı, kanser öyküsü olmayan ve endometriyum kanser tanılı bireylerin kanındaki magnezyum düzeyleri
- Şekil-9** Sağlıklı, kanser öyküsü olmayan ve endometriyum kanser tanılı bireylerin kanındaki magnezyum düzeylerinin korelasyon analizi (lineer regresyon)
- Şekil-10** EK hastalarının Mg<sup>2+</sup> seviyeleri ve hastalık derecesi arasındaki ilişkisi
- Şekil-11** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD44 ekspresyon değişimleri

- Şekil-12** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artankonsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117 ekspresyon değişimleri
- Şekil-13** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117+PD-L1 ekspresyon değişimleri
- Şekil-14** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117+PD-L2 ekspresyon değişimleri
- Şekil-15** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD133 ekspresyon değişimleri
- Şekil-16** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD133+ PD-L1ekspresyon değişimleri
- Şekil-17** 48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl<sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD133+ PD-L2 ekspresyon değişimleri
- Şekil-18** Normal dokulardaki *CD44* gen ekspresyon düzeyleri
- Şekil-19** Normal dokulardaki *KIT* (CD117) gen ekspresyon düzeyleri
- Şekil-20** Normal dokulardaki *PROM1* (CD133) gen ekspresyon düzeyleri
- Şekil-21** 48 ve 72. Saat sağlıklı dokuların artan konsantrasyonlarda MgCl ile inkübasyonu sonucu CD44, CD133, CD117 ekspresyon değişimleri

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo-1</b>	Endometriyum Kanserinin Histopatolojik Sınıflaması
<b>Tablo-2</b>	Endometriyal Kanserlerde Bokhman İkili Sınıflaması
<b>Tablo-3</b>	FİGO Endometriyum kanser derecelendirme sistemi
<b>Tablo-4</b>	Endometriyum kanser tanılı bireyler ve sağlıklı bireyler arasında yaş, VKİ, kanda Mg düzeyinin karşılaştırılması
<b>Tablo-5</b>	48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl <sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD44 ekspresyon değişimleri
<b>Tablo-6.</b>	48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl <sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117 ekspresyon değişimleri.
<b>Tablo-7</b>	48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl <sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117+PD-L1 ekspresyon değişimleri
<b>Tablo-8</b>	48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl <sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD117+PD-L2 ekspresyon değişimleri
<b>Tablo -9</b>	48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl <sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD133 ekspresyon değişimleri
<b>Tablo-10</b>	48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl <sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD133+ PD-L1 ekspresyon değişimleri
<b>Tablo-11</b>	48 ve 72. Saat peri/intratümörlerin artan konsantrasyonlarda MgCl <sub>2</sub> ile inkübasyonu sonucu CD133+ PD-L2 ekspresyon değişimleri

## KAYNAKLAR

1. Makker, V., MacKay, H., Ray-Coquard, I., Levine, D. A., Westin, S. N., Aoki, D., & Oaknin, A. Endometrial cancer. *Nature Reviews Disease Primers* 2021; 7(1), 88.
2. Crosbie, E. J., Kitson, S. J., McAlpine, J. N., Mukhopadhyay, A., Powell, M. E., & Singh, N. Endometrial cancer. *Lancet* 2022; 399(10333), 1412-8.
3. Nussbaumer, S., Bonnabry, P., Veuthey, J. L., & Fleury-Souverain, S. Analysis of anticancer drugs: A review. *Talanta* 2011; 85(5), 2265-9.
4. Mendiola, M., Pellinen, T., Ramon-Patino, J. L., Berjon, A., Bruck, O., Heredia-Soto, V., Turkki, R., Escudero, J., Hemmes, A., Garcia de la Calle, L. E., Crespo, R., Gallego, A., Hernandez, A., Feliu, J., & Redondo, A. Prognostic implications of tumor-infiltrating T cells in early-stage endometrial cancer. *Modern Pathology* 2022; 35(2), 256-65.
5. Wolf, F. I., Maier, J. A., Nasulewicz, A., Feillet-Coudray, C., Simonacci, M., Mazur, A., & Cittadini, A. Magnesium and neoplasia: From carcinogenesis to tumor growth and progression or treatment. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2007; 458(1), 24–32.
6. Bird, L. Magnesium: Essential for T cells. *Nature Reviews Immunology* 2022; 22(3), 144-45.
7. Makker, V., MacKay, H., Ray-Coquard, I., Levine, D. A., Westin, S. N., Aoki, D., & Oaknin, A. Endometrial cancer. *Nature Reviews Disease Primers* 2021; 7(1), 88.
8. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 2021; 71(3), 209–49.
9. American Cancer Society. Key statistics for endometrial cancer. American Cancer Society. Available at: [www.cancer.org/cancer/endometrialcancer/about/key-statistics.html](http://www.cancer.org/cancer/endometrialcancer/about/key-statistics.html) 2018
10. Garg, K., & Soslow, R. A. Endometrial carcinoma in women aged 40 years and younger. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 2014; 138(3), 335-42.
11. Calle, E. E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K., & Thun, M. J. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *New England Journal of Medicine* 2003; 348(17), 1625–38.
12. Rahib, L., Smith, B. D., Aizenberg, R., Rosenzweig, A. B., & Fleshman, J. W. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: The unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Research* 2014; 74(12), 2913-21.
13. Colombo, N., Preti, E., Landoni, F., Carinelli, S., Colombo, A., Marini, C., & Sessa, C. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial

- cancer: Diagnosis, treatment, and follow-up. *Annals of Oncology* 2016; 27(1), 16–41.
14. Burke, W. M., Orr, J. W., & Leitao, M. M. Endometrial cancer: A review and current management strategies: Part I. *Gynecologic Oncology* 2014; 134(3), 385–92.
  15. Calle, E. E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K., & Thun, M. J. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *New England Journal of Medicine* 2003; 348(17), 1625–38.
  16. Setiawan, V. W., Yang, H. P., Pike, M. C., & McCann, S. E. Type I and II endometrial cancers: Have they different risk factors? *Journal of Clinical Oncology* 2013; 31(21), 2607-18.
  17. Renehan, A. G., Zwahlen, M., & Egger, M. Adiposity and cancer risk: New mechanistic insights from epidemiology. *Nature Reviews Cancer* 2015; 15(7), 484-98.
  18. Luo, J., Xu, C., & Zhang, X. Intentional weight loss and endometrial cancer risk. *Journal of Clinical Oncology* 2017; 35(11), 1189–93.
  19. Vrachnis, N., Iavazzo, C., Iliodromiti, Z., Sifakis, S., Alexandrou, A., & Siristatidis, C. Diabetes mellitus and gynecologic cancer: Molecular mechanisms, epidemiological, clinical, and prognostic perspectives. *Archives of Gynecology and Obstetrics* 2016; 293(2), 239-46.
  20. Ryan, N. A. J., Lalloo, F., & Evans, D. G. The proportion of endometrial cancers associated with Lynch syndrome: A systematic review of the literature and meta-analysis. *Genetics in Medicine* 2019; 21(10), 2167–80.
  21. Ten Broeke, S. W., & Kuiper, R. P. Cancer risks for PMS2-associated Lynch syndrome. *Journal of Clinical Oncology* 2018; 36(30), 2961–8.
  22. Ring, K. L., Yurgelun, M. B., & Garber, J. E. Germline multi-gene hereditary cancer panel testing in an unselected endometrial cancer cohort. *Modern Pathology* 2016; 29(12), 1381-9.
  23. Tan, M. H., Mester, J. L., & Ngeow, J. Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. *Clinical Cancer Research* 2012; 18(2), 400-7.
  24. Lavie, O., Mor, C., & Kol, L. BRCA germline mutations in Jewish women with uterine serous papillary carcinoma. *Gynecologic Oncology* 2004; 92(2), 521-4.
  25. Shu, C. A., Eisenhauer, E. A., & Ainslie, R. M. Uterine cancer after risk-reducing salpingo-oophorectomy without hysterectomy in women with BRCA mutations. *JAMA Oncology* 2016; 2(11), 1434-40.
  26. Long, B., Kwon, S., & Shapiro, N. Cancer susceptibility gene mutations in type I and II endometrial cancer. *Gynecologic Oncology* 2019; 152(1), 20-5.
  27. Wild, S., Picrpoint, T., Jacobs, H., & McKeigue, P. Long-term consequences of polycystic ovary syndrome: Results of a 31-year follow-up study. *Human Fertility (Cambridge)* 2000; 3(3), 101-5.

28. Allen, N., Yang, T., & Olsson, H. Endometrial cancer and oral contraceptives: An individual participant meta-analysis of 27,276 women with endometrial cancer from 36 epidemiological studies. *The Lancet Oncology* 2015; 16(9), 1061-8.
29. Curtis, K. M., Marchbanks, P. A., & Peterson, H. B. Neoplasia with use of intrauterine devices. *Contraception* 2007; 75(S1), S60–S69.
30. Terry, P. D., Rohan, T. E., Franceschi, S., & Weiderpass, E. Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer. *Lancet Oncology* 2002; 3(8), 470-80.
31. Bokhman, J. V. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecologic Oncology* 1983; 15(1), 10-7.
32. Sherman, M. E., Sturgeon, S., Brinton, L., & Kurman, R. J. Endometrial cancer chemoprevention: Implications of diverse pathways of carcinogenesis. *Journal of Cell Biochemistry Supplements* 1995; 23, 160-4.
33. Basil, J. B., Goodfellow, P. J., Rader, J. S., Mulch, D. G., & Herzog, T. J. Clinical significance of microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Cancer* 2000; 89(8), 1758–64.
34. Hamilton, C. A., Cheung, M. K., Osann, K., Chen, L., Teng, N. N., Longacre, T. A., Powell, M. A., Hendrickson, M. R., Kapp, D. S., & Chan, J. K. Uterine papillary serous and clear cell carcinomas predict for poorer survival compared to grade 3 endometrioid corpus cancers. *British Journal of Cancer* 2006; 94(5), 642-6.
35. Sherman, M. E., Bitterman, P., Rosenshein, N. B., Delgado, G., & Kurman, R. J. Uterine serous carcinoma: A morphologically diverse neoplasm with unifying clinicopathologic features. *American Journal of Surgical Pathology* 1992; 16(7), 600-10.
36. Zheng, W., Liang, S. X., Yu, H., Rutherford, T., Chambers, S. K., & Schwartz, P. E. Endometrial glandular dysplasia: A newly defined precursor lesion of uterine papillary serous carcinoma. *International Journal of Surgical Pathology* 2004; 12(3), 207-23.
37. Brinton, L. A., et al. Etiologic heterogeneity in endometrial cancer: Evidence from a Gynecologic Oncology Group trial. *Gynecologic Oncology* 2013; 129(2), 277-84
38. Han, G., et al. Histological features associated with occult lymph node metastasis in FIGO clinical stage I, grade I endometrioid carcinoma. *Histopathology* 2014; 64(3), 389-98.
39. Zaino, R. J., et al. Villoglandular adenocarcinoma of the endometrium: A clinicopathologic study of 61 cases: A Gynecologic Oncology Group study. *American Journal of Surgical Pathology* 1998; 22(11), 1379-85.
40. Ross, J. C., et al. Primary mucinous adenocarcinoma of the endometrium: A clinicopathologic and histochemical study. *American Journal of Surgical Pathology* 1983; 7(8), 715-29.

41. Ambros, R. A., et al. Endometrial intraepithelial carcinoma: A distinctive lesion specifically associated with tumors displaying serous differentiation. *Human Pathology* 1995; 26(11), 1260-67.
42. Sherman, M. E., et al. Uterine serous carcinoma: A morphologically diverse neoplasm with unifying clinicopathologic features. *The American Journal of Surgical Pathology* 1996; 16(6), 600-10.
43. Kurman, R. J., & Scully, R. E. Clear cell carcinoma of the endometrium: An analysis of 21 cases. *Cancer*, 1976; 37(2), 872-82.
44. An, H. J., et al. Molecular characterization of uterine clear cell carcinoma. *Modern Pathology* 2004; 17(5), 530-37.
45. Oliva, E., Clement, P., & Young, R. Pathology of sarcomas and mixed Mullerian tumors of the uterine corpus. In A. Fuller, M. Seiden, & R. Young (Eds.), *Uterine Cancer* (pp. 133–151). BC Decker Inc; 2004
46. Christopherson, W. M., Alberhasky, R. C., & Connelly, P. J. Carcinoma of the endometrium: I. A clinicopathologic study of clear-cell carcinoma and secretory carcinoma. *Cancer* 1982; 49(8), 1511–23.
47. Young, R., & Clement, P. Pathology of Endometrial Carcinoma. In A. Fuller, M. Seiden, & R. Young (Eds.), *Uterine Cancer* (pp. 25–48) BC Decker Inc; 2004
48. Cancer Genome Atlas Research Network; Kandoth, C., et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; 497(7447), 67–73.
49. McConechy, M. K., et al. Endometrial carcinomas with POLE exonuclease domain mutations have a favorable prognosis. *Clinical Cancer Research* 2016; 22(12), 2865-73.
50. Meng, B., Hoang, L. N., McIntyre, J. B., Duggan, M. A., Nelson, G. S., Lee, C.-H., et al. POLE exonuclease domain mutation predicts long progression-free survival in grade 3 endometrioid carcinoma of the endometrium. *Gynecologic Oncology* 2014; 134(1), 15-9.
51. Kandoth, C., Schultz, N., Cherniack, A., Akbani, R., Liu, Y., Shen, H., et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; 497(7447), 67–73.
52. De Jonge, M. M., Auguste, A., van Wijk, L. M., Schouten, P. C., Meijers, M., Ter Haar, N. T., et al. Frequent homologous recombination deficiency in high-grade endometrial carcinomas. *Clinical Cancer Research* 2019; 25(3), 1087-97.
53. Kurnit, K. C., et al. CTNNB1 (beta-catenin) mutation identifies low grade, early stage endometrial cancer patients at increased risk of recurrence. *Modern Pathology* 2017; 30(7), 1032-41.
54. Depreeuw, J., et al. Amplification of 1q32.1 refines the molecular classification of endometrial carcinoma. *Clinical Cancer Research* 2017; 23(23), 7232-41.
55. TCGA, Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; 497(7447), 67–73.

56. León-Castillo, A., De Boer, S. M., Powell, M. E., Mileskin, L. R., Mackay, H. J., Leary, A., et al. Molecular classification of the PORTEC-3 trial for high-risk endometrial cancer: Impact on prognosis and benefit from adjuvant therapy. *Journal of Clinical Oncology* 2020; 38(29), 3388-97.
57. Berek, J. S., Matias-Guiu, X., Creutzberg, C., Fotopoulou, C., Gaffney, D., Kehoe, S., Lindemann, K., Mutch, D., Concin, N., & Endometrial Cancer Staging Subcommittee, FIGO Women's Cancer Committee. FIGO staging of endometrial cancer: 2023. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*; 2023
58. Vanderstraeten, A., Tuyaeerts, S., & Amant, F. The immune system in the normal endometrium and implications for endometrial cancer development. *Journal of Reproductive Immunology* 2015; 109, 7–16.
59. Bruno, V., Corrado, G., Baci, D., Chiofalo, B., Carosi, M. A., Ronchetti, L., Piccione, E., Albini, A., Noonan, D. M., Piaggio, G., & Vizza, E. Endometrial cancer immune escape mechanisms: Let us learn from the fetal-maternal interface. *Frontiers in Oncology* 2017; 10, 156.
60. Ishida, Y., Agata, Y., Shibahara, K., & Honjo, T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO Journal* 1992; 11(11), 3887-95.
61. Curran, C. S., Gupta, S., Sanz, I., & Sharon, E. PD 1 immunobiology in systemic lupus erythematosus. *Journal of Autoimmunology* 2019; 97, 1–9.
62. Jin, H. T., Ahmed, R., & Okazaki, T. Role of PD 1 in regulating T-cell immunity. *Nature Reviews Immunology* 2010; 350, 17–37.
63. Vanderstraeten, A., Luyten, C., Verbist, G., Tuyaeerts, S., & Amant, F. Mapping the immunosuppressive environment in uterine tumors: Implications for immunotherapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy* 2014; 63(5), 545-57.
64. Mo, Z., Liu, J., Zhang, Q., Chen, Z., Mei, J., Liu, L., Yang, S., Li, H., Zhou, L., & You, Z. Expression of PD-1, PD-L1 and PD-L2 is associated with differentiation status and histological type of endometrial cancer. *Oncology Letters* 2016; 12(2), 944-50.
65. Kim, J., Kim, S., Lee, H. S., Yang, W., Cho, H., Chay, D. B., Cho, S. J., Hong, S., & Kim, J. H. Prognostic implication of programmed cell death 1 protein and its ligand expressions in endometrial cancer. *Gynecologic Oncology* 2018; 149(2), 381-7.
66. He, Y., Rivard, C. J., Rozeboom, L., Yu, H., Ellison, K., Kowalewski, A., Zhou, C., & Hirsch, F. R. Lymphocyte-activation gene-3, an important immune checkpoint in cancer. *Cancer Science* 2016; 107, 1193-7.
67. Wang, J., Sanmamed, M. F., Datar, I., Su, T. T., Ji, L., Sun, J., Chen, L., Chen, Y., Zhu, G., Yin, W., Zheng, L., Zhou, T., Badri, T., Yao, S., Zhu, S., Boto, A., Sznol, M., Melero, I., Vignali, D. A. A., Schalper, K., Chen, L. Fibrinogen-like Protein 1 Is a Major Immune Inhibitory Ligand of LAG-3. *Cell* 2019; 176(2), 334-47.

68. Farhad, M., Rolig, A. S., & Redmond, W. L. The role of Galectin-3 in modulating tumor growth and immunosuppression within the tumor microenvironment. *Oncoimmunology* 2018; 7, 143
69. Lichtenegger, F. S., Rothe, M., Schnorfeil, F. M., Deiser, K., Krupka, C., Augsburg, C., Schluter, M., Neitz, J., Subklewe, M. Targeting LAG-3 and PD-1 to enhance T cell activation by antigen-presenting cells. *Frontiers in Immunology* 2018; 9, 385.
70. Giannone, G., Attademo, L., Scotto, G., Genta, S., Ghisoni, E., Tuninetti, V., Aglietta, M., Pignata, S., & Valabrega, G. Endometrial Cancer Stem Cells: Role, Characterization and Therapeutic Implications. *Cancers* 2019; 11(11), 1820.
71. Elbasateeny, S. S., Salem, A. A., Abdelsalam, W. A., & Salem, R. A. Immunohistochemical expression of cancer stem cell related markers CD44 and CD133 in endometrial cancer. *Pathology, Research and Practice* 2016; 212(1), 10–16.
72. Banz-Jansen, C., Helweg, L. P., & Kaltschmidt, B. Endometrial Cancer Stem Cells: Where Do We Stand and Where Should We Go?. *International Journal of Molecular Sciences* 2022; 23(6), 3412.
73. Grubbs, R. D., & Maguire, M. E. Magnesium as a regulatory cation: criteria and evaluation. *Magnesium* 1987; 6, 113-27.
74. Cittadini, A., Wolf, F. I., Bossi, D., & Calviolo, G. Magnesium in normal and neoplastic cell proliferation: state of art on in vitro data. *Magnesium Research* 1991; 4, 23–33.
75. Ashique, S., Kumar, S., Hussain, A., Mishra, N., Garg, A., Gowda, B. H. J., Farid, A., Gupta, G., Dua, K., & Taghizadeh-Hesary, F. A narrative review on the role of magnesium in immune regulation, inflammation, infectious diseases, and cancer. *Journal of Health, Population and Nutrition* 2023; 42(1), 74.
76. Bird, L. Magnesium: essential for T cells. *Nature Reviews Immunology* 2022; 22(3), 144-5.
77. Blaszczyk, U., & Duda-Chodak, A. Magnesium: its role in nutrition and carcinogenesis. *Rocz Panstw Zakl Hig* 2013; 64(3), 165-71.
78. Komiya, Y., & Runnels, L. W. TRPM channels and magnesium in early embryonic development. *International Journal of Developmental Biology* 2015; 59(7-9), 281-8.
79. Maier, J. A., Castiglioni, S., Locatelli, L., Zocchi, M., & Mazur, A. Magnesium and inflammation: Advances and perspectives. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2021; 115, 37–44.
80. Mazur, A., Maier, J. A., Rock, E., Gueux, E., Nowacki, W., & Rayssiguier, Y. Magnesium and the inflammatory response: potential physiopathological implications. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2007; 458(1), 48–56.
81. Wolf, F. I., & Trapani, V. Magnesium and its transporters in cancer: a novel paradigm in tumour development. *Clinical Science (London)* 2012; 123(7), 417-27.

82. Nadolni, W., & Zierler, S. The Channel-Kinase TRPM7 as Novel Regulator of Immune System Homeostasis. *Cells* 2018; 7(8), 109.
83. Matsuda-Lennikov, M., Biancalana, M., Zou, J., Ravell, J. C., Zheng, L., Kanellopoulou, C., Jiang, P., Notarangelo, G., Jing, H., Masutani, E., Oler, A. J., Olano, L. R., Schulz, B. L., & Lenardo, M. J. Magnesium transporter 1 (MAGT1) deficiency causes selective defects in N-linked glycosylation and expression of immune-response genes. *Journal of Biological Chemistry* 2019; 294(37), 13638-56.
84. Masciullo, V., Amadio, G., Lo Russo, D., Raimondo, I., Giordano, A., Scambia, G. Controversies in the management of endometrial cancer. *Obstetrics and Gynecology International*, 2010, 638165.
85. Matteson, K. A., Robison, K., & Jacoby, V. L. Opportunities for early detection of endometrial cancer in women with post-menopausal bleeding. *JAMA Internal Medicine* 2018; 178(9), 122
86. Bagaria, M., Shields, E., & Bakkum-Gamez, J. N. Novel approaches to early detection of endometrial cancer. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology* 2017; 29(1), 40
87. Roelofsen, T., Geels, Y. P., Pijnenborg, J. M., van Ham, M. A., Zomer, S. F., van Tilburg, J. M., et al. Cervical cytology in serous and endometrioid endometrial cancer. *International Journal of Gynecological Pathology* 2013; 32(4), 390-8.
88. Smith, R. A., Andrews, K. S., Brooks, D., Fedewa, S. A., Manassaram-Baptiste, D., Saslow, D., et al. Cancer screening in the United States, 2019: A review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 2019; 69(3), 184–210.
89. Gerber, B., Krause, A., Müller, H., Reimer, T., Külz, T., Makovitzky, J., et al. Effects of adjuvant tamoxifen on the endometrium in postmenopausal women with breast cancer: a prospective long-term study using transvaginal ultrasound. *Journal of Clinical Oncology* 2000; 18(20), 3464-70.
90. Abbink, K., et al. HE4 is superior to CA125 in the detection of recurrent disease in high-risk endometrial cancer patients. *Tumor Biology* 2018; 40, 1010428318757103.
91. Bignotti, E., et al. Diagnostic and prognostic impact of serum HE4 detection in endometrial carcinoma patients. *British Journal of Cancer* 2011; 104, 1418-25.
92. Creasman, W. T., et al. Surgical pathologic spread patterns of endometrial cancer: A Gynecologic Oncology Group Study. *Cancer* 1987; 60, 2035-41.
93. Frost, J. A., Webster, K. E., Bryant, A., & Morrison, J. Lymphadenectomy for the management of endometrial cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2017; 10, CD007585.
94. Brooks, R. A., et al. Current recommendations and recent progress in endometrial cancer. *CA: Cancer Journal for Clinicians* 2019; 69, 258-79.

95. Gallos, I. D., et al. Regression, relapse, and live birth rates with fertility-sparing therapy for endometrial cancer and atypical complex endometrial hyperplasia: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2019; 207, 266e261–212.
96. Creutzberg, C. L., et al. Fifteen-year radiotherapy outcomes of the randomized PORTEC-1 trial for endometrial carcinoma. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 2011; 81, e631–e638.
97. Miller, D. S., et al. Carboplatin and paclitaxel for advanced endometrial cancer: final overall survival and adverse event analysis of a phase III trial (NRG Oncology/GOG0209). *Journal of Clinical Oncology* 2020; 38, 384-50.
98. Fader, A. N., et al. Randomized Phase II Trial of Carboplatin-Paclitaxel Compared with Carboplatin-Paclitaxel-Trastuzumab in Advanced (Stage III-IV) or Recurrent Uterine Serous Carcinomas that Overexpress Her2/Neu (NCT01367002): Updated Overall Survival Analysis. *Clinical Cancer Research* 2020; 26, 3928-35.
99. Marabelle, A., et al. Association of tumor mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumors treated with pembrolizumab: Prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study. *Lancet Oncology* 2020; 21, 1353-65.
100. Konstantinopoulos, P. A., et al. Phase II Study of Avelumab in Patients with Mismatch Repair Deficient and Mismatch Repair Proficient Recurrent/Persistent Endometrial Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2019; 37, 2786-94.
101. Liu, W., Qdaisat, A., Soliman, P. T., et al. Hypomagnesemia and survival in patients with ovarian cancer who received chemotherapy with carboplatin. *Oncologist* 2019; 24, e312–e317.
102. Liu, W., et al. Hypomagnesemia as a prognostic factor for survival in patients with head and neck cancer undergoing chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology* 2021; 39(12), 1234-42.
103. Jiang, D. M., Dennis, K., Steinmetz, A., et al. Management of epidermal growth factor receptor inhibitor-induced hypomagnesemia: A systematic review. *Clinical Colorectal Cancer* 2016; 15, e117–e123.
104. Mills, F. H. Letter: behavior of tumors in conditions of experimental magnesium deficiency. *Lancet* 1974; 2, 781-2.
105. Nasulewicz, A., Wietrzyk, J., Wolf, F. I., Dzimira, S., Madej, J., Maier, J. A., Rayssiguier, Y., Mazur, A., & Opolski, A. Magnesium deficiency inhibits primary tumor growth but favors metastasis in mice. *Biochimica et Biophysica Acta* 2004; 1739, 26–32.
106. Fahim, F. A., Morcos, N. Y., Muhammad, F. Z., & Esmat, A. Y. Role of dietary magnesium and/or manganese variables on Ehrlich ascites tumor-bearing mice. *Nutrition and Cancer* 1984; 12, 279-86.

**Ek-1: Endometriyum kanser tanıları hastaların demografik verileri. EK Endometrioid Karsinom; HT, Hipertansiyon; DM, Diabetes Mellitus; HL, Hiperlipidemi; L/T, Laparotomi; L/S, Laparotomi; L/S, Laparotomi; L/S, Sezaryen; R/C, Revizyon Küretaj**

HASTA	YAŞ	MENOPOZ DURUMU	SH	KI	OP	MG DEĞERİ	VKI	TÜMÖR BOYUTU	MYOMETRİAL İNVAZYON	LENFOVASKÜLER İNVAZYON	GRADE	PATOLOJİ
H1	63 Var		HT, HIPOTİROİDİ	DELIX, EURTOK	YOK	1,9		25 5x2 cm	Görülmedi	Mevcut (fokal)	1	Berrak hücreli karsinom
H2	63 Var		YOK	YOK	L/S KOLESİSTEKTOMİ	1,9		30 1.5x1.5	Yarıdan az	Görülmedi	1	Endometrioid karsinom
H3	67 Var		HT, DM, HIPOTİROİDİ, SVO ÖYKÜSÜ	ECOPİRİN, LERCADİP, İANSOR, GÜFOR, CREST OK, GLİFİX, EUTHYROX	DİZ OP	1,3		27 4x3 cm	Yarıdan az	Görülmedi		Endometrioid karsinom, Fokal Müsinöz Diferansiyasyon Gösteren
H4	58 Var		DM, HT, HIPERKOLESTROLEMİ, DEPRESYON	FORZİGA, TRAJENTA, LANTUS, APİDRA, VASOXEN, TANSİFA, İPANTHİL, PROZAC	YOK	1,8		39 5.5x4.7 cm	Yarıdan az	Mevcut (Fokal)	2	Endometrioid karsinom, Fokal Müsinöz Diferansiyasyon Gösteren
H5	59 Var		HT, DM	GLİFİX, DİAMİCRON, CANDEXİL, KAPTOPRİL	YOK	1,6		33 6.5x5.5 cm	Görülmedi	Görülmedi	3	Yüksek dereceli endometrial karsinom, 3 berrak hücreli karsinom
H6	72 Var		HT, ASTİM	CANDEXİL, ZESPİRA, BETASERC, VENTOLİN İNHALER, ATARAX	APENDEKTOMİ	1,6		35 7x1 mm	Yok	Görülmedi	3	Seröz karsinom
H7	55 Var		HT	DİBERAL, COVERSİL PLUS	YOK	1,8		25 3.5x2.9 cm	Yarıdan az	Görülmedi		Endometrioid karsinom, Fokal Skuamöz 2 ve Müsinöz Diferansiyasyon Gösteren
H8	68 Var		HT, DM	NORVASC, CARDURA XL, COVERSİL PLUS, GLİFİX, JANUVİA, DİAMİCRON	YOK	1,7		33 3x1.5 cm	Yarıdan az	Görülmedi		Endometrioid karsinom, Fokal Skuamöz 1 Diferansiyasyon Gösteren
H9	45 yok		YOK	YOK	KOLESİSTEKTOMİ	38.5		4x2.5 cm	Görülmedi	Görülmedi	3	Endometrioid karsinom
H10	52 VAR		HT	TANSİVA	KOLEİSTEKTOMİ	1,7		38 4.5x4 cm	Yarıdan az	Görülmedi		Endometrioid karsinom, Fokal Skuamöz 1 diferansiyasyon gösteren
H11	80 VAR		ASTİM	YOK	L/T APENDEKTOMİ	1,7		23 7.5x2.9 cm	Görülmedi	Görülmedi	3	Endometrioid karsinom
H12	75 VAR		HT, ROMATİZMAL KALP HAŞTALIĞI, MİTRAL DARLIK,	DELIX, VASOXEN,, KAPRİL	YOK	1,8		24 3.5x3.2 cm	Yarıdan az	Görülmedi	3	Endometrioid karsinom
H13	72 Var		HT	DİOVAN	LT APENDEKTOMİ	1,4		37 5x2 cm	Yarıdan fazla	Mevcut (fokal)	3	Seröz karsinom
H14	51 Var		Yok	Yok	Yok	1,5		30 6x3.5 cm	Yarıdan az	Görülmedi		Endometrioid karsinom, Fokal Müsinöz 1 Diferansiyasyon Gösteren
H15	69 Var		MŞ, DM, HT	COVERSİL, ONGLYZA, LUSTRAL	L/T APENDEKTOMİ(1978)	1,6		35.5 2x1.5 cm	Yarıdan az	Görülmedi	2	Endometrioid karsinom (Fokal Müsinöz Diferansiyasyon Gösteren)
H16	68 Var		DM, HT	GLİFİX, NORVASC, VASOXEN	C/S 3*1	1,6		39 5.5x2.5	İzlenmedi	Görülmedi	3	Endometrial Karsinom
H17	48 Var		HT	COVERAM	C/S	2		30 4x3	Yarıdan az	Mevcut (Fokal)	1	Endometrioid karsinom (Fokal müsinöz ve skuamöz diferansiyasyon gösteren)
H18	77 Var		DM, HT, HIPERLİPİDEMİ, HEP B	CONCOR, LİPTOR, COVERAM, FORZİGA	TİROİDEKTOMİ	1,6		29				ENDOMETRİOD İNTRAEPITELİYAL NEOPLAZİ (EİN) + ATROFİK ENDOMETRİYUM
H19	48 Yok		GLOMERULONEFRİT İGA NEFROPATİSİ	PROGRAF, DELTACORTİL, CORASPRİN, BELOC, CARDURA, HY PERİLUM, DESAL	RENAL TX, C/S	1,2		33 4.5x2.5	Yarıdan az	Görülmedi	1	Endometrioid karsinom
H20	68 Var		HT, EPILEPSİ, SVO ÖYKÜSÜ	NORVASC, NETROLEX, LEVOTİRSET AM, LUSTRAL, TROMBOLİS, CORASPRİN	Yok	2		31 4.5x4.5 cm	Yarıdan fazla	Görülmedi		Endometrioid karsinom (Fokal müsinöz 1 diferansiyasyon gösteren)

H20	68 Var	HT,EPİLEPSİ,SVO ÖVKÜSÜ LENFOMA(14 SENE ÖNCE), GEÇE KÖRLÜĞÜ	NORVASC,NETROLEX,LEVOTİRSET AM ,LİSTRAL ,TROMBOLİS, CORASPIN	Yok	2	31 4,5x4,5 cm	Yarıdan fazla	Görülmedi	Endometrioid karsinom (Fokal münisöz diferansiyasyon gösteren)
H21	45 Yok		Yok	D/C, R/C,AKSİYAL LND	2.1	27 8x2 cm	Görülmedi	Görülmedi	3 Adenosarkom
H22	75 Var	HT, DM, HL, KY (ANJİO-STENT YOK), HIPOTİROİDİ,	RANEKS, DAFON, COIRDA, DIAFORMİN, LEVOTİRON NEURONTİN ENOX	Katarakt	0.9	29 2,5x2 cm	Yarıdan az	Görülmedi	1 Endometrioid karsinom
H23	80 Var	Yok	Yok	Yok	2	30 3x3	Yarıdan az	Görülmedi	2 Endometrioid karsinom
H24	56 Var	Yok	Yok	D/C	1.3	28 2,2x1,5	Görülmedi	Görülmedi	Endometrioid karsinom (fokal münisöz diferansiyasyon gösteren)
H25	50 Yok	HT	Delix	C/S	1.9	28			İncelenen örnekte malignite görülmedi,
H26	67 Var	Yok	Yok	R/C, diz protez	2.1	37 4x1,5	Yarıdan fazla	Mevcut (yaygın)	Seröz Karsinom
H27	77 Var	HT, KY	OLMETEC, VESİFİX	DİZ OP	1.5	40 6,5x2 cm	Yarıdan fazla	Mevcut (fokal)	2 Endometrioid karsinom
H28	59 Var	DM, HT, HL, SVO	ATOR, DIAFORMİN, CONCOR, ZANİPRESS,ENOX	SOL OVER KİST EKŞİZYONU, MENİSKÜS, E/C	1.4	31 2,5x2	Görülmedi	Görülmedi	1 Endometrioid karsinom
H29	56 Var	TİP 2 DM, OPERE KOLON CA(12 KÜR KT ALMIŞ ) HIPOTİROİDİ, SVO	LANTUS,BELOC , EUTHROX, PROTONEX, DELIX PLUS, GLUKOFEN, ENOX 0,6 2*1, DİLTİZEM	SUBTOTAL KOLEKTOMİ+SEGMENTER İLEUM REZEKSİYONU, I/S ENDOMETRİOMA, E/C , R/C	1.5	30 2,5x1,5 cm	Görülmedi	Görülmedi	1 Endometrioid karsinom
H30	61 Var	HT, DM, HL	ATOR,KARVEA,BELOC JARDİANCE,DIAFORMİN ,KİNZY, OKSAPAR	Yok	1.8	38 3,5x2 cm	Yarıdan az	Görülmedi	1 Endometrioid karsinom
H31	65 Var	DM, HT, HIPERTİROİDİ	VASTAREL, CANDEXİL PLUS, JARDİANCE,BELOC ZOK, DIAFORMİN, THROMAZOL	Yok	1.7	3,5x3 cm	Yarıdan az	Görülmedi	Endometrioid karsinom (Skumöz diferansiyasyon gösteren)
H32	57 Var	Meme Ca	Yok	Yok	1.6	20 4,5x4 cm		Görülmedi	1 Endometrioid karsinom
H33	60 Var	HT	DELIX PLUS 5 MG, CİPRALEX	GAÜM KOLON CA, GAÜM KC REZEKSİYONU , AC KİTLE REZEKSİYONU	1.9	30 4,5x3 cm	Yarıdan fazla	Görülmedi	Endometrioid karsinom (Fokal skumöz diferansiyasyon gösteren)
H34	70 Var	HT	NORVASC	L/T APPEKDEKTOMİ, VARİS OP	1.4	24 2,5x1,5 cm	Yarıdan fazla	Mevcut (yaygın)	Endometrioid karsinom (Fokal skumöz diferansiyasyon gösteren)
H35	55 Var	HT, DM, GUATR, KALP KAPAK HASTALIĞI	LT, DİLTİZEM, GLYFİX	LS KOLSİSİTEKTOMİ	1.8	36 5x3,6 cm	Yarıdan az (MELF paterni izlendi)	Görülmedi	Endometrioid karsinom (fokal münisöz diferansiyasyon gösteren)
H36	51 Var	HT, POLİNÖROPATİ, MİGREN, HIPOTİROİDİ, DEPRESYON	EUTHYROX, VASOXEN, LERCADİP, GUFOR, CEDRINA, PROZAC	TOTAL TİROİDEKTOMİ (2014), C/S *2	1.7	32 2x1,5 cm	İzlenmedi	Görülmedi	Endometrioid karsinom (Skumöz ve münisöz diferansiyasyon gösteren)
H37	64 Var	HT, ARİTİMİ, HIPOTİROİDİ, TOKSİK GUATR	İRDAPİN PLUS, DİLTİZEM, LEVOTİRON, ENOX 0,6 2*1	TİROİDEKTOMİ(2010)	2	54 4,5x4,5 cm	Yarıdan az	Görülmedi	2 ENDOMETRİOD KARSİNOM
H38	79 Var	HT, HIPERTİROİDİ	COVERSYL PLUS	Yok	1.8	26 4,5x4 cm	Yarıdan az (MELF paterni mevcut)	Görülmedi	Endometrioid karsinom (Münisöz diferansiyasyon gösteren)
H39	68 Var	HT	ZOPROTEC PLUS, VASOXEN	SOL BACAĞINDA PLATİN MEVCUT	1.6	35 4,5x4 cm	Yarıdan az	Görülmedi	Endometrioid karsinom, fokal münisöz diferansiyasyon gösteren
H40	48 Yok	Yok	YOK	C/S	1.8	39 7 cm	Yarıdan az	Görülmedi	2 Endometrioid karsinom

## Ek-2: Sağlıkı bireylerin demografik verileri

HASTA	YAŞ	MENOPOZ DURUMU	SİSTEMİK HASTALIKLAR	KULLANDIĞI İLAÇLAR		
				MG	Vkl	
H1	48	Var	Hipotiroidi	Yok	2	24
H2	50	Var	Yok	Anjelik1,9	1,9	30
H3	58	Var	DM,HT,Hipotiroidi	Lerkadip,aldaktone,deltakortil	1,9	53
H4	52	Yok	Hashimoto	Yok	2	26
H5	49	Var	Yok	Cipralax	1,9	27
H6	46	Var	Wegener	Deltakortil, trisequens	2,1	20
H7	49	Yok	Astm	İnhaler	2,2	24
H8	47	Yok	Tiroidit,migren	B12	1,9	24
H9	50	Var	KKH	Beloc	2	26
H10	54	Var	HT	Yok	1,8	30
H11	49	Yok	Astm,vertigo, Raynaud	Tintus, vastarel, fixdual,Jansor	1,9	25
H12	57	Yok	Astm	Yok	2	24
H13	50	Var	Panik atak	Paxil	2,1	28
H14	47	Yok	Varis	Deloday	2	35
H15	50	Yok	DM	Glifor, trajenta	1,9	28
H16	67	Var	DM,HT,Hipertiroidi	Metimazol, matofin	2,1	23
H17	61	Var	DM	Antidiyabetik	2,1	25
H18	50	Yok	SLE,hipotiroidi	Deltakortil, plequanil, euthyroxA,ASA	2,1	24
H19	50	Yok	DM,HT	insülin, delix	1,9	24
H20	57	Var	HT	Delix, beloc,coledon	2,1	22
H21	49	Yok	HT	Tensart	1,7	29
H22	49	Yok	Yok	Yok	2,1	25
H23	49	Var	HT,RA	Delix, voltaren	1,9	20
H24	47	Yok	Yok	Antidepresan	2	23
H25	49	Var	Yok	ASA	1,9	32
H26	51	Yok	Hipofiz ADENOMU	Dostinex	2,3	36
H27	50	Var	Yok	Desiral	1,9	26
H28	51	Yok	Yok	Yok	1,8	34
H29	49	Var	Yok	Yok	2,4	23
H30	52	Var	Yok	Yok	2,1	37
H31	52	Var	Astm	İbanos	1,9	27
H32	51	Yok	HT	Vazoxen, Candexil, Eflexor	1,8	29
H33	62	Var	KAH,DM	Janumet, pulcet,crestor, delix,saneloc,ASA	1,8	23
H34	53	Var	Yok	Yok	1,7	35
H35	48	Yok	HT	Beloc	1,6	32
H36	52	Var	HT, hipofiz adenomu	Duloxetin,desmopresin	2,4	28
H37	49	Yok	Migren	Yok	2,1	27
H38	56	Var	Yok	Yok	1,8	22
H39	59	Var	Fibromiyalji	Yok	2,1	23
H40	51	Var	HBV	Abavir, zanax	1,8	26

## TEŞEKKÜR

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen hocalarımızdan, özellikle tez sürecinde önemli destek göstererek yanımda olan, yorulmadan tüm sorularımı cevaplayan tez danışmanım, çok değerli hocam Doç. Dr. Yakup YALÇIN'a, en doğru eğitimin okumaktan kaynaklandığını bize öğreten, üzerimde çok emeği olan anabilim dalı başkanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Gürkan UNCU'ya, cerrahi bilgi ve becerilerini esirgemeyen hocam Prof. Dr. Kemal ÖZERKAN'a, kendimize güvenerek çalışmayı öğreten ve bunun için fırsat yaratan hocam Doç. Dr. Bilge ÇETİNKAYA DEMİR'e ve Doç. Dr. Adnan ORHAN'a, çalışma hayatında disiplinin önemini aşıl原因 ve titizlikle çalışmayı öğreten hocam Doç. Dr. Işıl KASAPOĞLU'na, asistanlığımın en zor zamanlarında desteğini esirgemeyen ve kontrollü cesaretini örnek aldığım hocam, değerli abim Doç. Dr. Kiper ASLAN'a, disiplinli çalışmasını örnek aldığım Uzm. Dr. Bahadır KOŞAN'a

Çalışmamı birlikte yürüttüğüm ve bana destek olan İmmünoloji Bölümü asistanları, çalışanları ve her zaman desteğini esirgemeyen hocam Doç. Dr. Diğdem YÖYEN ERMIŞ'e

Asistanlık sürecine birlikte başladığım, birlikte öğrendiyim, eşkıdemlim ve arkadaşım Aysel'e, değerli arkadaşım Tansu'ya, çalışmaktan mutlu olduğum, saygısından ödün vermeyen asistan arkadaşlarıma,

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda görev yapan tüm ebelerimize, hemşirelerimize, sekreterlerimize özellikle Kübra hanıma ve sağlık personelimize,

Son olarak, her günümü ve saniyemi özlemle dolduran, gereğinden fazla sabırları ile desteklerini hissettiğim, eğitimim için desteğini esirgemeyen annem ve babama teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZGEÇMİŞ

tarihinde doğdum. Okul eğitimimi St-Petersburg 583 numaralı, devamını Bakü'de 145 numaralı okulda tamamladım. 2012 yılında Azerbaycan Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde başladığım tıp eğitimimi 2018 senesinde tamamladım. 2015 yılında 1 ay stajyer olarak İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kadın Hastalıkları ve Doğum A.B.D'da çalıştım. 2019-2020 yılında İzmir Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 6 ay stajyer eğitimimi ve ardından Seviye Tespit Sınavı'ndan geçerek YÖK tarafından Diploma Denkliği kazandım. Tıpta Uzmanlık Sınavı ile 21/12/2020 tarihinde Bursa Uludağ Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım.