

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**TEDAVİYE DİRENÇLİ ATİPİSİZ ENDOMETRİAL
HİPERPLAZİLERDE ENDOMETRİAL DOKUDA
HYALURONAN SENTAZ VE CD44 AKTİVİTESİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Emine BOYBAY**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Remzi ATILGAN**

**ELAZIĞ
2022**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. S. Burçin KAVAK

Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Remzi ATILGAN _____ **Danışman**

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince çalışmaktan mutluluk duyduğum, eğitimimde ve tez çalışmamda ilgisini ve tecrübesini göstermekten kaçınmayan, kendisinden insanlığa dair çok şey öğrendiğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Remzi Atılğan'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca Fırat Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum alanında değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, hekimlik sanatının inceliklerini öğreten ve yetişmemde büyük katkıları olan değerli hocalarım; Prof. Dr. S. Burçin Kavak'a, Prof. Dr. Alpaslan Akyol'a, Doç. Dr. Ebru Kavak'a, Doç. Dr. Şehmus Pala'ya, Doç. Dr. Şeyda Yavuzkır'a, Dr. Öğretim Üyesi Melike Aslan'a,

Birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, ebe ve hemşirelerimize, ameliyathane ve klinik personellerimize,

Bugünlere gelmemde emekleri olan, sonsuz sevgilerini, fedakarlıklarını benden esirgemeyen, her zaman yanımda olan, çalışmalarını ve azimlerini örnek aldığım değerli annem Zeynep Boybay ve babam Ömer Boybay'a,

Aile olmanın güzelliklerini yaşatan, hayatın yorgunluğu içerisinde bana neşe veren kardeşlerime,

Sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Emine Boybay

ÖZET

Endometrial hiperplazi (EH), morfolojik endometrial değişikliklerin bir spektrumunu temsil eden bir uterus patolojisidir. Normal proliferatif endometrium ile karşılaştırıldığında, ağırlıklı olarak endometrial bez-stroma oranındaki artış ile karakterizedir. EH'nin klinik önemi, ilişkili endometrioid endometrial kansere ilerleme riskinde yatmaktadır ve EH'nin 'atipik' formları premalign lezyonlar olarak kabul edilmektedir.

Hücre dışı matrisin ana polisakkarit bileşeni olan hyaluronan, hücre yüzeyi reseptörleri ve bağlayıcı moleküller ile etkileşimler yoluyla doku mimarisinin organizasyonunda ve hücre çoğalması ve göçü gibi hücreysel fonksiyonların düzenlenmesinde önemli roller oynar. Ayrıca, ortaya çıkan kanıtlar, hyaluronan sentazların ve hyalüronidazların değiştirilmiş ekspresyonuna bağlı olarak hücre dışı matriste hyaluronan ve fragmanlarının birikmesinin, tümör mikro-ortamını yeniden şekillendirerek kanser gelişimini ve ilerlemesini güçlendirdiğini ileri sürmüştür.

CD44, hyaluronan ve diğer birçok hücre dışı matris bileşeni için bir reseptör ve ayrıca büyüme faktörleri ve sitokinler için bir kofaktör olarak işlev görür. Biriken kanıtlar, CD44'ün, özellikle CD44v izoformlarının, kanser kök hücre (KKH) belirteçleri ve kendi kendini yenileme, tümör başlatma dahil olmak üzere KKH'lerin özelliklerini düzenlemede kritik oyuncular olduğunu göstermektedir.

Bu retrospektif çalışmamızda endometrial hiperplazi tanısı almış olguların patoloji raporlarını tekrar gözden geçirdik. Atipisiz endometrial hiperplazi tanısı alan ve 6 aylık progesteron tedavisinden 6 ay sonraki endometrial biyopsi raporlarını tekrar inceledik. Rastgele seçilmiş proliferatif endometrium olguları kontrol grubu (n=20) olarak oluşturuldu. Atipisiz endometrial hiperplazi tanısı alan 60 olgunun her birinin tedavi öncesindeki ve tedavi sonrasındaki endometrial biyopsi sonuçları incelendi. Bu olguların parafin kesitlerinden 5 µm kalınlığında kesitler alınarak HAS 2 ve CD44 için immünohistokimyasal boyama yapıldı. Preparatlar ışık mikroskopunda değerlendirilerek her bir olgunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası immünohistokimya skorları hesaplandı ve gruplar arasında istatistiksel karşılaştırma yapıldı.

Çalışmamızın sonucunda HAS 2 immünreaktivitesinin proliferatif endometrium grubuna göre endometrial hiperplazi gruplarının tümünde anlamlı olarak arttığını gördük. Altı aylık tedavinin sonunda ise düzelen endometrial hiperplazi

grubunda HAS 2 immünreaktivite skorunun 6 ay önceki skora göre anlamlı olarak azaldığını, proliferatif endometrium grubundaki skorla benzer olduğunu gördük. Altı aylık tedavi sonrası düzelmeyip persiste eden grubumuzda ise proliferatif gruba ve düzelen endometrium grubundaki HAS 2 immünreaktivite skoruna göre ise yüksek seyretti.

Yine çalışmamızın sonucunda CD44 immünreaktivitesinin proliferatif endometrium grubuna göre endometrial hiperplazi gruplarının tümünde anlamlı olarak arttığını gördük. Tedaviye direnç gösteren hiperplazi grubu ile tedavi sonrası düzelen grup arasında ise CD44 immünreaktivitesi açısından anlamlı bir fark saptamadık.

Sonuç olarak, progesteron tedavisi alan endometrial hiperplazi olgularının ilk biyopsilerine göre ikinci biyopsilerinde HAS 2 immünreaktivite skorunda anlamlı azalma yok ise bu olguların dirençli hiperplazi grubuna dahil olup maligniteye ilerleme potansiyeline daha fazla sahip olabileceği beklenebilir. Bu konuda olgu sayılarının fazla olduğu daha ileri çalışmalar yapılabilir.

Anahtar Kelimeler: Endometrial hiperplazi, kanser, HAS 2, CD44

ABSTRACT

INVESTIGATION OF HYALURONAN SYNTHASE AND CD44 ACTIVITY IN ENDOMETRIAL TISSUE IN TREATMENT-RESISTANT ENDOMETRIAL HYPERPLASIA WITHOUT ATYPY

Endometrial hyperplasia (EH) is a uterine pathology representing a spectrum of morphological endometrial alterations. It is predominantly characterized by an increase in the endometrial gland-to-stroma ratio when compared to normal proliferative endometrium. The clinical significance of EH lies in the associated risk of progression to endometrioid endometrial cancer and 'atypical' forms of EH are regarded as premalignant lesions.

As a major polysaccharide component of the extracellular matrix, hyaluronan plays essential roles in the organization of tissue architecture and the regulation of cellular functions, such as cell proliferation and migration, through interactions with cell-surface receptors and binding molecules. Moreover, emerging evidence has suggested that the accumulation of hyaluronan extracellular matrix and fragments due to the altered expression of hyaluronan synthases and hyaluronidases potentiates cancer development and progression by remodeling the tumor microenvironment.

CD44 functions as a receptor for hyaluronan and many other extracellular matrix components, as well as a cofactor for growth factors and cytokines. Accumulating evidence indicates that CD44, especially CD44v isoforms, are cancer stem cell (CSC) markers and critical players in regulating the properties of CSCs, including self-renewal, tumor initiation, metastasis, and chemoradioresistance.

In this retrospective study, we reviewed the pathology reports of patients diagnosed with endometrial hyperplasia. We reviewed the endometrial biopsy reports of 6 months after 6 months of progesterone treatment with a diagnosis of endometrial hyperplasia without atypia. Randomly selected proliferative endometrium cases were formed as the control group (n = 20). The endometrial biopsy results of each of the 60 patients who were diagnosed with endometrial hyperplasia without atypia were analyzed before the treatment. In these cases, 5 µm thick sections were taken from paraffin sections and HAS 2 and CD44 immunohistochemical staining was performed. Pre-treatment and post-treatment immunohistochemistry scores of each patient were

calculated by evaluating the preparations under a light microscope and statistical comparison was made between the groups.

As a result of our study, we found that HAS 2 immunoreactivity increased significantly in all groups of endometrial hyperplasia compared to the proliferative endometrium group. At the end of six months of treatment, we found that the TRPM7 immunoreactivity score decreased significantly in the recovered endometrial hyperplasia group compared to the score of 6 months ago, and was similar to the score in the proliferative endometrium group. In our group which did not improve after six months of treatment and persisted, it was higher than the proliferative group and the HAS 2 immunoreactivity score in the recovered endometrium group.

Again as a result of our study, we found that CD44 immunoreactivity increased significantly in all groups of endometrial hyperplasia compared to the proliferative endometrium group. We did not detect a significant difference in CD44 immunoreactivity between the hyperplasia group that was resistant to treatment and the group that recovered after treatment.

In conclusion, if there is no significant decrease in the HAS 2 immunoreactivity score in the second biopsies of endometrial hyperplasia cases receiving progesterone treatment, it can be expected that these cases are included in the refractory hyperplasia group and may have more malignancy and progression potential. Further studies can be conducted with a large number of cases on this subject.

Keywords: Endometrial hyperplasia, cancer, HAS 2, CD44

İÇİNDEKİLER

DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
RESİM LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xii
KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	1
1.1.1. Uterus Embriyolojisi	1
1.1.2. Uterus Anatomisi ve Histolojisi	2
1.1.2.1. Uterus Anatomisi	2
1.1.2.2. Uterus Histolojisi	3
1.1.3. Normal Endometrium Morfolojisi ve Fizyolojisi	4
1.2. Endometrial Hiperplaziler	6
1.2.1. Sınıflama	8
1.2.2. Atipisiz Hiperplaziler	9
1.2.3. Atipili Hiperplaziler	10
1.3. Endometrial Karsinomlar	11
1.3.1. Epidemiyoloji	11
1.3.2. Risk Faktörleri	11
1.3.3. Tanı	12
1.3.4. Patolojik Sınıflandırma	13
1.3.5. Evreleme	13
1.3.6. Tedavi	14
1.4. Hyaluronik Asit	15
1.5. CD44 Yüzey Reseptörü	17
2. GEREÇ ve YÖNTEM	20
2.1. Etik Kurul	20
2.2. Vakaların Seçimi	20

2.3. İmmunohistokimyasal Boyama	20
3. BULGULAR	22
3.1. İmmünohistokimyasal Bulgular	22
3.1.1. HAS 2 İmmünreaktivitesi	22
3.1.2. CD44 İmmünreaktivitesi	25
4. TARTIŞMA	28
5. KAYNAKLAR	33



RESİM LİSTESİ

Resim 1. Uterus Histolojisi	4
Resim 2. Normal Proliferatif Endometrium	7
Resim 3. Normal Sekretuar Endometrium	7
Resim 4. Atipisiz Hiperplazi	10
Resim 5. Atipili Hiperplazi	11
Resim 6. Grup 1 dokusuna ait HAS 2 immünreaktivitesi (siyah ok)	23
Resim 7. Grup 2 dokusuna ait HAS 2 immünreaktivitesi (siyah ok)	23
Resim 8. Grup 3 dokusuna ait HAS 2 immünreaktivitesi (siyah ok)	24
Resim 9. Grup 4 dokusuna ait HAS 2 immünreaktivitesi (siyah ok)	24
Resim 10. Grup 1 dokusuna ait CD44 İmmünreaktivitesi (siyah ok)	25
Resim 11. Grup 2 dokusuna ait CD44 İmmünreaktivitesi (siyah ok)	26
Resim 12. Grup 3 dokusuna ait CD44 İmmünreaktivitesi (siyah ok)	26

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. 2014 Dünya Sağlık Örgütü Endometrial Hiperplazi Sınıflaması	9
Tablo 2. EİN sınıflandırma sisteminde tanı kategorileri ve önerilen tedavi yaklaşımları	9
Tablo 3. Endometrium tümörlerinde cerrahi evreleme	14



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Uterus Anatomisi	3
Şekil 2. Hyaluronik asitin moleküler yapısı	16
Şekil 3. CD44 transmembran glikoproteininin yapısı(a) ve CD44 varyantları(b)	17



KISALTMALAR LİSTESİ

Ark.	Arkadaşları
BBA	Büyük Büyütme Alana
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CA-125	Kanser Antijeni 125
CD44	Farklılaşma Kümesi 44
CD44v	CD44 varyantları
D&C	Dilatasyon ve Küretaj
ECM	Hücre Dışı Matris
EEC	Endometrial Epitelyal Hücre
EH	Endometrial Hiperplazi
EIN	Endometrial İntraepitelyal Neoplazi
ESC	Endometrial Stromal Hücre
FIGO	Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
GAG	Glikozaminoglikan
GNA-14	Guanin Nükleotid Bağlayıcı Protein Alt Birimi Alfa-14
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
HA	Hyaluronik Asit
HAS	Hyaluronan Sentaz
HRT	Hormon Replasman Tedavisi
H/S	Histereskopi
HYAL-1	Hyalüronidaz-1
KKH	Kanser Kök Hücre
KLF-7	Kruppel Benzeri Faktör
LH	Luteinleştirici Hormon
MMP	Matris Metalloproteinaz
MR	Manyetik Rezonans
OPN	Osteopontin
PGF2a	Prostaglandin F2 alfa
PKOS	Polikistik Over Sendromu
PMC	Peritoneal Mezotelyal Hücre

RT-PCR	Ters Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SHB	Southern Blot Hibridizasyon
SİS	Salin İnfüzyon Sonografi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
4-MU	4-metilumbeliferon



1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Endometrium kanserinin sıklığı artmakta ve jinekolojik kanserler arasındaki ilk sıraya doğru ilerlemektedir. Bu hastalığın risk faktörleri, erken tanı için tarama yöntemleri, prognoz üzerine etkili faktörler ve yaşam beklentisi üzerine en etkili tedavi yöntemlerinin bulunmasına yönelik önemli araştırmalar yapılmaktadır. İleri evre endometrium kanserinde sağ kalımı belirlemek ve erken evre endometrium kanserinde açıklanamayan nüksleri aydınlatmak için yeni prognostik faktörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, prognozu belirlemek ve hiperplaziden kansere ilerleyişi öngörebilmek için immünohistokimyasal çalışmalara ağırlık verilmiştir.

Çalışmamızda endometrial hiperplazi tanısı almış vakalarda endometrium kanserine ilerlemeyi öngörebileceğimiz ve daha erken tanı için kullanabileceğimiz bir immünohistokimyasal marker olarak HAS (Hyaluronan Sentaz)'ın etkinliğini araştırmayı amaçladık.

1.1.1. Uterus Embriyolojisi

Embriyolojik dönemde dişi genital sistem gelişiminde lateral müllerian (paramezonefrik) kanal ve ürogenital sinüs rol alır. Bunlar 8. ve 9. haftalarda kaudal kısımlardan birleşerek uterovajinal primordiumu oluştururlar. Birleşmeyen kranial kısımlardan fallop tüpleri gelişirken uterovajinal primordiumdan uterus ve vajenin üst kısmı gelişir. Ürogenital sinüsten ise vajenin alt kısmı ve vestibül gelişir. Serviksin gelişiminde net olmamakla birlikte hem müllerian kanal hem ürogenital sinüsün katkısı olduğu düşünülmektedir (1).

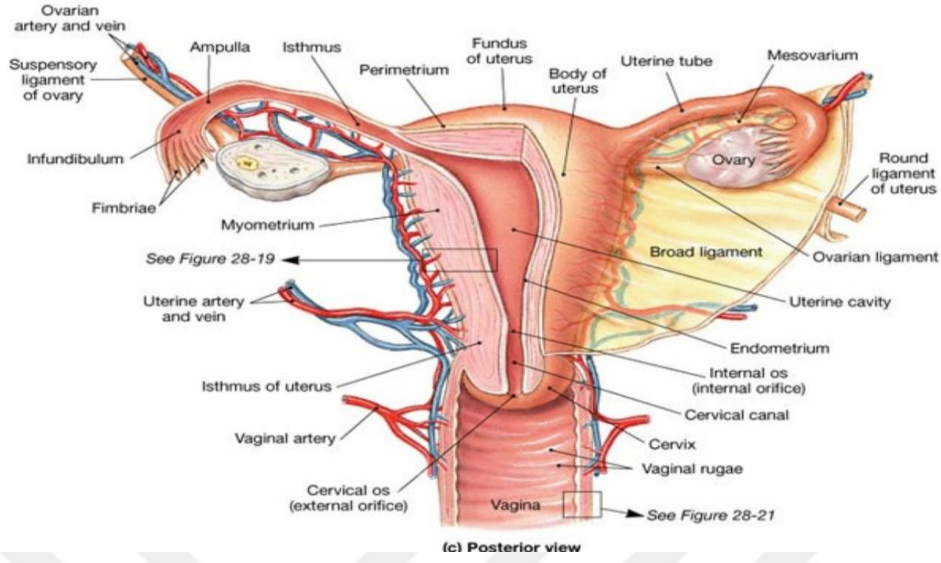
Endometrial stroma ve myometrium, komşu splenik mezenşimden gelişmektedir. Paramezonefrik kanalların birleşmesi ile aynı anda iki peritoneal kalıntı da birleşir. Bu şekilde sağ ve sol broad ligamentler meydana gelir. Uterus uzunluğu boyunca lateralde, broad ligamentlerin arasında mezenşim proliferer olur ve farklılaşarak düz kas ve gevşek bağ dokusundan meydana gelen perimetriumu oluşturur (2). Bir hafta sonra yaklaşık 10. haftada endometriumda glandlar oluşmaya başlar. Doğuma kadar endometrium ve myometrium gelişmeyi sürdürür. Doğumda anneden kaynaklanan hormonal etkiyle sekretuar veya proliferatif aktivite gösterebilse

de yaklaşık bir ay sonra bu aktivite sona erer ve puberteye kadar atrofik olarak kalır (3).

1.1.2. Uterus Anatomisi ve Histolojisi

1.1.2.1. Uterus Anatomisi

Uterus, pelviste mesane ile rektum arasında yer alan, serviks ve korpus bölümlerinden oluşan fibromusküler bir organdır (4). Anatomik olarak korpusta tuba uterina giriş yerlerinin oluşturduğu çizginin üstüne fundus denir ve fundus, lateral kısımlarında tuba uterinanın intramural parçalarını (kornu) içerir. Korpusun serviks ile bağlantı kısmına istmus veya alt uterin segment denir (5). Nullipar bir uterusun boyutları uzun ekseninde 7-8 cm, fundus seviyesinde 5 cm genişliğinde ve 2,5 cm kalınlığında olup 40-80 gr ağırlığındadır. Bu değerler parite sayısındaki artışla beraber yükselmektedir (6). Uterus içindeki boşluk kavum uteri adını alır. Kavum uteri yukarıda tuba uterinalar aracılığıyla periton boşluğuna, aşağıda servikal kanal aracılığıyla da vajinaya açılır. Servikal kanalın uterus kavitesine açılan kısmı internal os, vajinaya açılan kısmı ise eksternal os adını alır. Uterus, önde uterovesikal çıkmaz ile mesaneyle, arkada ise rektouterin çıkmaz (Douglas çıkmazı) ile rektum ile komşuluk gösterir. Uterusa, iki lateral (broad), bir anterior, bir posterior, iki uterosakral ve iki round ligament olmak üzere tutunan sekiz ligament mevcuttur. Broad ligament (ligamentum latum uteri) uterin damarları ve efferent lenfatik trunkusları barındırır. Üreterlere komşudur. Uterus hipogastrik (internal iliak) arterden gelen sağ ve sol uterin arterden beslenir. Uterin ven, arterleri takip ederek internal vene dökülür. Uterusun lenfatik drenajı obturator, eksternal iliak, kommon iliak ve periaortik lenf nodlarına olmaktadır (7).



Şekil 1. Uterus Anatomisi

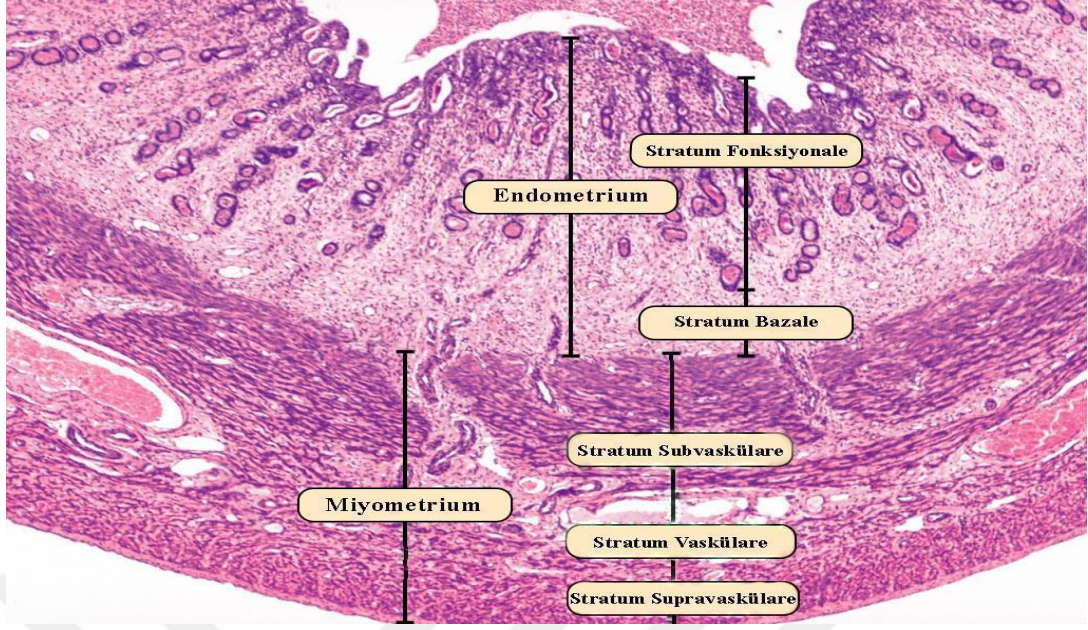
1.1.2.2. Uterus Histolojisi

Uterus üç tabakadan oluşur.

Tunica serosa (perimetrium): Uterusun dış kısmını çepeçevre sarar. Bu katman korpusun hem ön hem arka kısmında, serviksin ise sadece arka kısmında mevcuttur.

Tunica muskularis (myometrium): Ortadaki kas tabakasıdır. Bu tabakada kas lifleri dışında damar ve sinir yapıları da bulunur. Kas lifleri yerleşimlerine göre farklı özellikler gösterirler; dış ve iç kısımdaki kas lifleri longitudinal, orta kısımdaki kas lifleri horizontal seyreder. Orta kısımdaki kaslar daha kalındır, zengin damar ve lenfatik ağ içerir. Myometrium tabakası korpustan tuba uterinalara doğru gittikçe incelir.

Tunica mucosa (endometrium): Kavum uterinini yüzeyini döşeyen tabakadır, glandüler yapılar ve stromadan oluşur. Yüzeyde tek katlı silyalı kolumnar epitel mevcuttur. Yüzey epiteli mukoza içerisine invajine olarak endometrial glandları oluşturur. Endometrial glandlardaki hücreler yüzey epiteline benzese de genellikle silya içermezler. Glandların etrafında ise stroma bulunur; bu yapı esas olarak stromal hücreler, tip III kollajen, granülositler ve spiral arteriollerini içerir.



Resim 1: Uterus Histolojisi

1.1.3. Normal Endometrium Morfolojisi ve Fizyolojisi

Endometrium mukozası morfolojik olarak iki bölümden oluşur; stratum bazale ve stratum fonksiyonale. Stratum bazale alt 1/3'lük kısımdır. Buradaki glandüler yapılar daha yuvarlaktır ve yüzeye doğru dik dizilim gösterirler. Progesteron etkisine yanıt vermez ve sürekli proliferatif fazdadırlar, hormonal olarak inaktif gözüktükçe de rezerv gibi davranarak yüzeysel endometriumun rejenerasyonunu sağlarlar. Stratum fonksiyonale üst 2/3'lük kısımdır. Fonksiyonel tabakanın amacı blastokistin endometriuma implantasyonudur. Bu tabaka proliferasyon, sekresyon ve dejenerasyonun gerçekleştiği bölümdür. Bu da kendi içinde yüzeye yakın olan kısmı kompakt ve bazale yakın olan kısmı spongioz olarak ayrılır (8). Endometrium hipotalamo-hipofizer-ovaryan aksından salınan hormonların etkisinde premenarşyal, perimenarşyal, reproduktif, perimenapozal ve postmenapozal dönemde değişiklikler gösterir. Reproduktif dönemde olası gebeliğe hazırlanmak üzere östrojen ve progesteronun siklik salınımı menstrual döngüyü sağlar. Menstruel döngü kişiden kişiye ve aydan aya değişmekle birlikte genellikle 28 gündür. Bu döngünün başlangıcı menstrual fazdır; bundan sonra proliferatif, ovulasyon ve sekretuar fazları ile devam eder. Proliferatif (foliküler) fazda östrojen hakimdir. 14. günde ovulasyon meydana gelir. 14-28. günler arası sekretuar (luteal) fazdır, progesteron hakimdir (9, 10). Proliferatif fazın süresi değişebilir ancak endometriumun morfolojisi değişmez,

sabittir. Sekretuar faz ise 14 gündür ancak endometrium morfolojisi günden güne değişiklik gösterir.

- **Proliferatif faz (Gün 4-14):** Gelişmekte olan foliküllerden gelen östrojen etkisiyle glandlar, epitel ve stromada mitoz hızı artar. Kolumnar epitel, tübüler bezler ve pseudostratifikasyon gözlenir ve spiral arterioller uzar. Bu dönem siklusun 8-10. gününde maksimum düzeyine ulaşır. Bu dönemde görülen dominant değişiklik başlangıçta düz, dar ve kısa görünümdeki endometrial bezlerin daha uzun ve kıvrımlı hale dönüşmesidir.

- **Ovulasyon (Gün 14):** Endometrial proliferasyon sona erer ve overdeki korpus luteum tarafından üretilen progesteron etkisine cevap olarak differansiasyon başlar.

- **Sekretuar faz (Gün 15-28):** Ovulasyondan sonra corpus luteumdan salınan progesteron, mitoz ve DNA sentezini azaltır. Progesteron, 17 β hidroksi steroid dehidrogenazı ve sülfotransferazı uyararak östradiolü, östron sülfata dönüştürür ve östrojenik etkiyi azaltır. Bunların sonucunda vaskularizasyon artar ve bezlerin lümenleri sekresyonla dolar. Postovulatar 6-7. günde (siklusun 20-21. günü) glikojen içeren intraluminal vakuoller belirginleşir ve sekresyon en yüksek seviyesine ulaşır. Stromal ödem ise 22. günde en yüksek seviyesine ulaşır. Siklusun 26. gününde predesidualizasyon yaygınlaşır ve 28. günde fokal hemoraji ve nekroz belirginleşir.

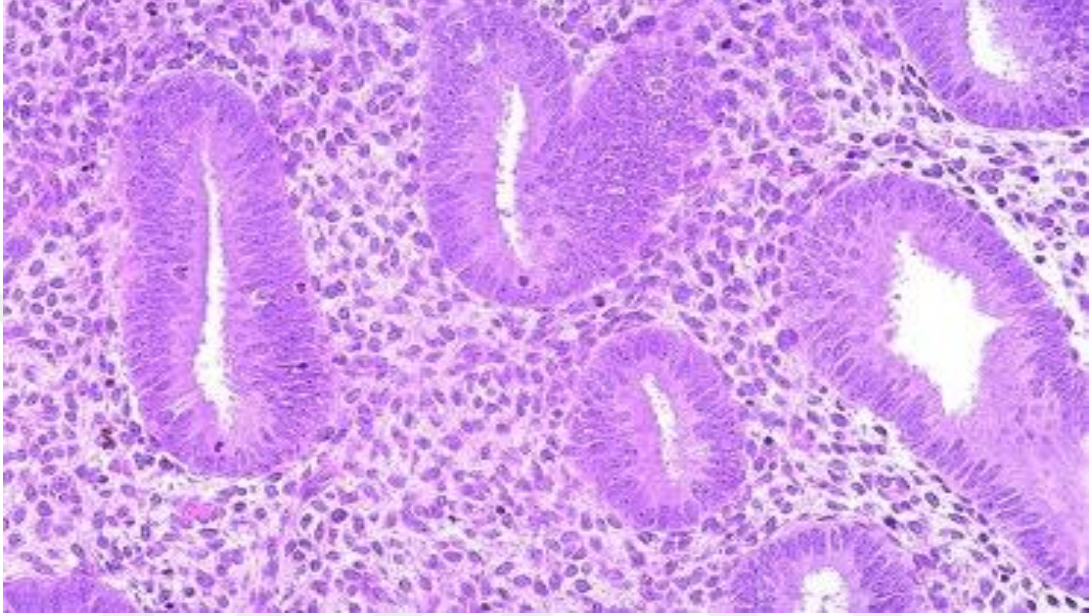
- **Menstruel faz (Gün 1-3):** Reprodüktif sistemin tamir ve reorganizasyonun tekrarlandığı luteal dönemden foliküler döneme geçişin olduğu fazdır. Menstruasyonun başlangıcından iki gün önce inhibin A seviyelerinde azalma ve FSH seviyelerinde yükselme ile gelecek siklus için 'foliküler seçilme' başlatılır. Corpus luteum steroidleri ve inhibin A seviyelerindeki azalma ile GnRH-gonadotropin sistemi 2 yeniden aktive olur ve FSH-LH yapımına başlanır. Siklusun 24. gününden sonra lenfositler endometriumu infiltre etmeye başlar ve endometrial stroma içinde lokal granülosit proliferasyonu oluşur. Stroma progresif olarak gevşer ve ödemlenir; böylece premenstrüel desidual reaksiyonun karakteristik özellikleri oluşur. Steroidlerdeki azalma progesteronun, prostaglandin sentezi üzerindeki inhibitör etkisini elimine eder ve lokal prostanoid seviyeleri artar. Luteal fazın sonunda progesteron ve östrojen seviyelerindeki hızlı düşüş endometriumu besleyen spiral arterlerde spazm ve vazokonstriksiyona yol açar (Pg F2 α aracılı). Kapillerlere olan

kan akımı bozularak doku iskemik ve nekrotik hal alır. Doku fragmantasyonu ile fonksiyonel tabaka dökülmeye başlar.

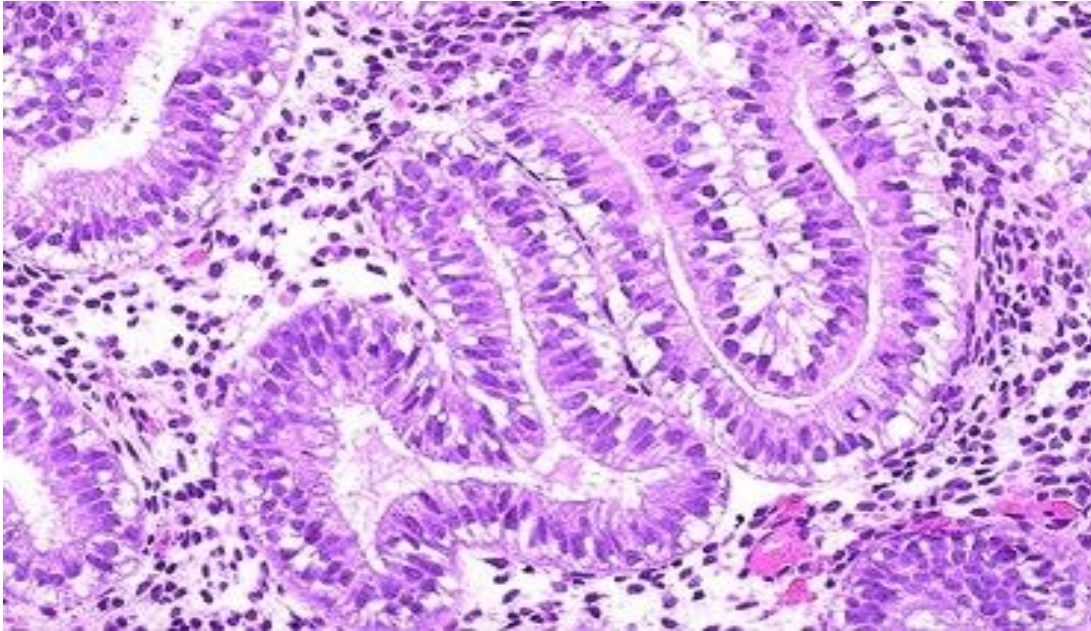
1.2. Endometrial Hiperplaziler

Endometrium reproduktif dönemdeki kadınlarda değişkenlik gösteren dinamik bir dokudur. Endometrial hiperplazi (EH), endometrial glandların düzensiz şekil ve boyutlarda fizyolojik olmayan proliferasyonudur. Normal proliferatif endometrium ile kıyaslandığında, stromaya göre endometrial glandlarda artmış proliferasyon mevcuttur ve gland/stroma oranında artış vardır. Östrojen proliferatif endometrium gelişimini stimüle ederken, corpus luteumdan salınan progesteron, proliferasyonu inhibe eder ve sekretuar endometriumu stimüle eder. Karşılanmamış östrojen stimülasyonu, proliferatif endometriumun formunu değiştirerek endometrial hiperplaziye ve hatta malign neoplazi gelişmesine neden olabilir (11). Endometrial hiperplazi gelişiminde en önemli neden anovulatuvar siklulardır. Endometrial hiperplaziler ise karsinom gelişiminde öncül lezyon olarak kabul edildiğinden hem klinik hem de histopatolojik olarak önem arz etmektedir (12). HRT (Hormon Replasman Tedavisi) ve tamoksifen kullanımı eksojen nedenler iken; anovulasyon, obezite, nulliparite, PKOS (Polikistik Over Sendromu), erken menarş, geç menapoz, östrojen salgılayan tümörler (granüloza hücreli tümör, tekoma gibi) ise endojen östrojenik uyarıma neden olur. Endometrial hiperplaziler genellikle perimenapozal dönemde ortaya çıkar, reproduktif dönemde nadir görülürler. Klinik tablo premenopozal dönemde menoraji ve/veya metroraji, postmenopozal dönemde ise postmenopozal kanama şeklindedir. Bu tür semptomlar varlığında endometrial patolojinin olup olmadığını kesin olarak değerlendirmek için endometrial örnekleme yapılmalıdır. Fakat değerlendirme aşamasında öykü, fizik muayene ve transvajinal ultrasonografi de önemlidir, bunlar hem risk faktörlerini ortaya çıkarmak hem de olası diğer anormal uterin kanama nedenlerini belirlemede yardımcı olmaktadır. Jinekolojik muayene, kanamanın uterus kökenli olduğunu teyit etmede ve genital sistemin vulva, vajen gibi diğer kısımlarından, üriner sistem veya gastrointestinal sistem gibi non-jinekolojik bölgelerden olmadığını saptamada son derece önemlidir. Bunun dışında özellikle postmenopozal dönemde olup obezite veya hormon tedavisi gibi bilinen bir östrojen kaynağı olmayan hastalarda östrojen salgılayan bir tümör olasılığı akılda tutulmalı ve bu yönden hasta araştırılmalıdır.

Endometrial hiperplazili olguların yapılan pelvik ultrasonlarında endometrium kalınlığının arttığı saptanır. Ancak endometrial hiperplazilerin tanısında altın standart yaklaşım endometrial biyopsidir (13, 14). Bu hastalığın yönetiminde en önemli nokta yeterli miktarda doku örnekleme yaparak, hiperplazik lezyonlar ile kanserin ayrımını yapabilmektir.



Resim 2. Normal Proliferatif Endometrium



Resim 3. Normal Sekretuar Endometrium

Klinikte endometrial hiperplazili hastaların tedavisinde histerektomi, progesterin temelli hormon tedavileri ve/veya tekrarlayan endometrial örneklemelere başvurulur. Yaşlı veya postmenopozal dönemdeki kadınlarda histerektomi daha çok tercih edilirken, genç hastalarda sıklıkla hormon tedavileri uygulanmaktadır. Tedavi protokolleri için henüz bir standart yaklaşım olmasa da uygulanacak tedavinin seçiminde lezyonun büyüklüğü, hastanın yaşı, tıbbi geçmişi ve hastanın tercihi göz önüne alınmaktadır.

1.2.1. Sınıflama

Endometrial hiperplazi tanım olarak geniş bir spektruma sahip, heterojen özellikte anormal proliferasyonları barındırır. Dolayısıyla tarih boyunca sınıflandırılma ihtiyacı doğmuştur. Günümüzde iki ana sınıflandırma sistemi kullanılmaktadır: 2014 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sistemi ve Endometrial İntraepitelyal Neoplazi (EIN) sistemi (15, 16). Önceki yıllarda, endometrial hiperplazinin 1994 WHO sınıflandırması en yaygın kullanılan sistem idi (17). 1994 WHO endometrial hiperplazi sınıflandırmasının dört kategorisi vardı:

- Atipisiz basit hiperplazi
- Atipisiz kompleks hiperplazi
- Basit atipili hiperplazi
- Kompleks atipili hiperplazi

WHO 94 sınıflandırmasında temel sorun zayıf tanısal tekrarlanabilirlik idi. Tanısal anlaşmazlıklar içerisinde en önemlisi ise sitolojik atipi idi. Aynı preparatlar farklı patoloğlar tarafından değerlendirildiğinde düşük veya yüksek dereceli olarak raporlanmakta idi (18). 2014 yılında Dünya Sağlık Örgütü, 1994 sınıflamasını 2 kategori içerecek şekilde değiştirmiştir:

- 1) Atipisiz Hiperplazi
- 2) Atipili Hiperplazi/EİN

Tablo 1. 2014 Dünya Sağlık Örgütü Endometrial Hiperplazi Sınıflaması

Yeni WHO Sınıflaması (2014)			
Tanım	Sinonim	Eşlik Eden Ca	Kansere Progresyon
Atipisiz hiperplazi	Basit atipisiz EH Kompleks atipisiz EH Benign EH	<%1	RR:1.01-1.03
Atipili hiperplazi/EIN	Kompleks atipili EH Basit Atipili EH EIN	%25-59	RR:14-45

EİN sınıflaması hastaların tedavisinin daha iyi yönlendirilebilmesi için oluşturulmuş bir yöntem olup benign, premalign ve malign ayrımını yapabilmek için genetik, histomorfolojik ve klinik bilgiler toplanarak oluşturulan objektif patolojik kriterleri içermektedir (19-21). Bu sınıflandırma tanısal, topografik, fonksiyonel kategori ve tedavi başlıkları altında yapılmaktadır. Bu 3 farklı kategori morfolojik, klinik ve biyolojik açıdan tanımlanmış olup tanı ve tedavi bu özelliklere dayanmaktadır.

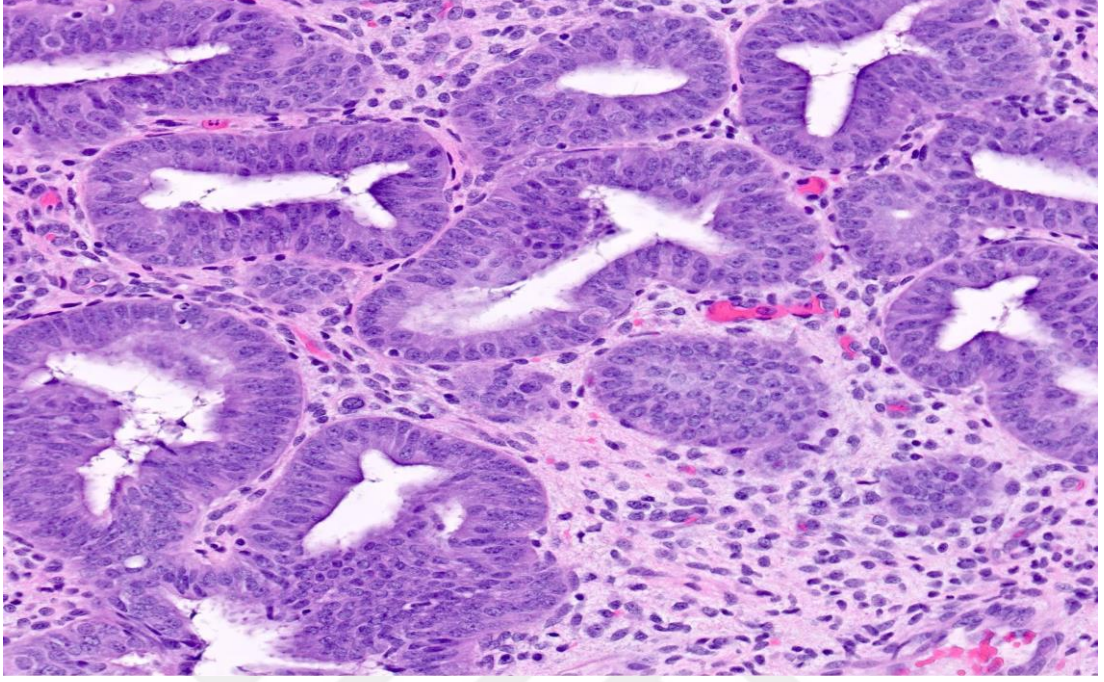
Tablo 2. EİN sınıflandırma sisteminde tanı kategorileri ve önerilen tedavi yaklaşımları

EİN Terminolojisi	Topografi	Fonksiyonel Kategori	Tedavi
Endometrial Hiperplazi	Fokal	Östrojen Etkisi	Hormonal
EİN	Fokal başlar, diffüze ilerler.	Prekanser	Hormonal veya Cerrahi
Karsinom	Fokal başlar, diffüze ilerler.	Kanser	Cerrahi

1.2.2. Atipisiz Hiperplaziler

Atipisiz endometrial hiperplazide gland/stroma oranında artış, farklı boyut ve şekillerde gland yapıları dikkati çeker. Gland epiteli psödostratifiye epitelle döşeli olup, amfofilik sitoplazmalı, oval düzgün konturlu nükleusa sahiptir ve atipi izlenmez. %1-3 oranında iyi diferansiye endometrial karsinoma ilerleyebilir (22, 23). Nükleuslar

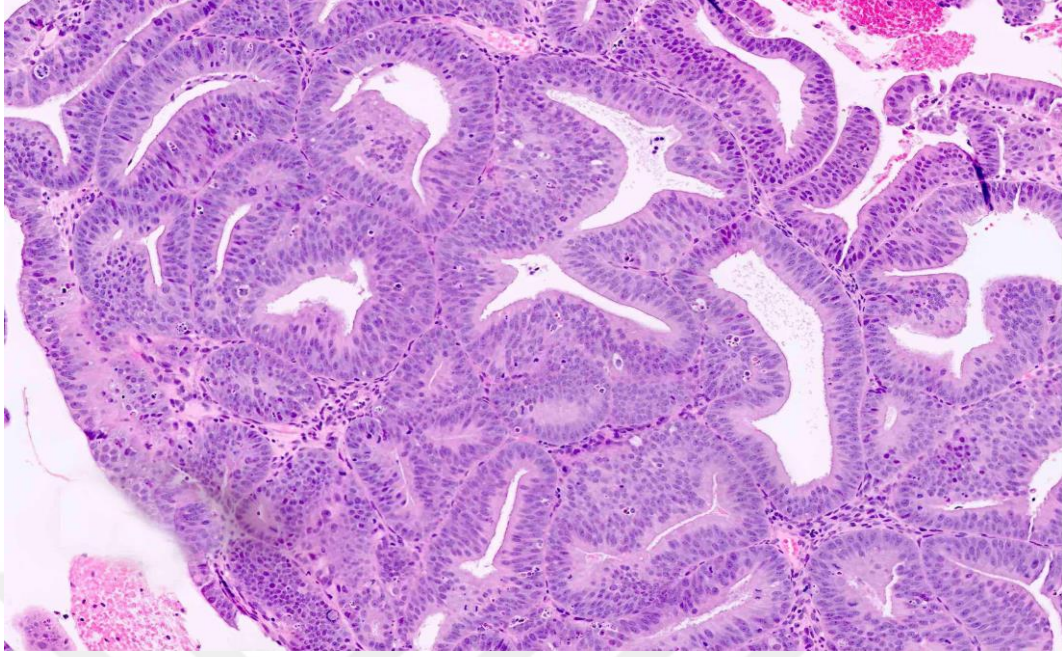
bazal yerleşimli, veziküle kromatinli olup nükleol belirginliği izlenmez. Mitoz sayısı değişken olmakla birlikte 10 BBA'da 5'i geçmez.



Resim 4. Atipisiz Hiperplazi

1.2.3. Atipili Hiperplaziler

Atipili endometrial hiperplazide atipisiz endometrial hiperplaziye ek olarak sitolojik atipi mevcuttur. Endometrial intraepitelyal neoplazi (EİN) olarak da isimlendirilir. Nükleuslarda irileşme, kontur düzensizliği, vezikülasyon, nükleol belirginliği ve eozinofilik sitoplazma izlenir. EİN tanısını takiben 1 yıl içerisinde kansere ilerleme oranı %25-40'dır (22, 23). Atipili hiperplazilerde apoptotik cisimcikler izlenebilir. Mitoz sayısı için kesin bir değer yoktur ancak atipik mitotik figür görülmesi önemlidir. Atipi bulguları glandların bir kısmında ya da bir glandın bazı hücrelerinde gözlenebilir (24).



Resim 5. Atipili Hiperplazi

1.3. Endometrial Karsinomlar

1.3.1. Epidemiyoloji

Endometrial karsinomlar jinekolojik tümörler içerisinde en sık görülenidir ve insidansı giderek artmaktadır (25). Tüm malign tümörler içinde %4 orana sahiptir ve meme, kolorektal, akciğer tümörlerinden sonra dördüncü sırayı almaktadır (26). Endometrium kanseri 40 yaş altında nadiren görülürken sıklıkla 45-65 yaş aralığında görülür (27). Çoğu vaka sporadik iken hastaların yaklaşık %5'inde aile öyküsü vardır (28).

1.3.2. Risk Faktörleri

Obezite, diabetes mellitus, hipertansiyon, erken menarş, geç menopoz, ekzojen östrojen kullanımı, infertilite ve parite sayısı, anovulatuvar sikluslar, polikistik over sendromu, sigara, beslenme biçimi, ailesel hikaye, endojen östrojen salgılayan tümörler, karaciğer yetmezliği gibi östrojenin yıkılamadığı durumlar endometrium adenokarsinomu için risk faktörleridir (29, 30).

1.3.3. Tanı

Bulgular ve Semptomlar: Endometrium kanserinde tipik semptom anormal uterin kanamadır. Kanserli hastaların sadece %20'sinde bu semptom gözlenmemektedir. Anormal uterin kanama olarak da en sık postmenopozal vajinal kanamadır. Menopozdan önce düzensiz adet görme ile gelen hastalar olguların ancak %5'ini oluşturmaktadır (31, 32). Menopoz sonrası kanama nedeni ile gelen hastalarda en sık atrofik endometrium (%45), ikinci sırada hiperplazik endometrium (%15) ve endometrium kanseri (%7) gözlenmektedir (33). Anormal uterin kanama öyküsü ile başvuran hastalar etraflıca değerlendirilmelidir. Öncelikli olarak endometrial karsinom ekarte edilmelidir. Sadece anormal uterin kanaması olanlarda değil, anormal uterin kanama öyküsü olmayan hastalarda da servikal sitolojide bozukluk, endometriumda sıvı birikimi ve endometriumda kalınlaşma gözlenebilmektedir. Başvuran hastalarda öncelikle uterusun mobilitesi, şekli, boyutu, aksı ve pelviste kitle olup olmadığı ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir.

Papanicolaou Testi: Tarihsel olarak Pap smear, endometrium kanseri tanısı için duyarlılığa sahip bir araç değildir ve endometrium kanseri olan kadınların %50'sinde normal bulgular olacaktır (34). Ancak servikal sitolojide atipik glandüler hücreler görülen hastalardan ve ≥ 35 yaşında olanlardan, anormal uterin kanaması olanlardan veya endometrial karsinom riski olanlardan örnekleme yapılmalıdır (35, 36). Servikal sitolojide bazen adenokarsinom görülebilir, bu durumda da endometrial biyopsi yapılmalıdır (37).

Endometrial Örnekleme: Endometrium kanserinin tanısında altın standart endometrial biyopsidir (38). Endometrial örnekleme karmen kanül ile veya pipelle ile ofis veya ameliyathane şartlarında dilatasyon ve küretaj (D&C) ile yapılır. Yeterli materyal gelir ise ofis şartlarında yapılan ile ameliyathane şartlarında yapılan D&C'nin tanısal olarak doğruluk oranı benzerdir. Ancak ofis ortamında yapılan biyopside kanser saptanmamış ama semptomlar persiste etmiş ise ameliyathane koşullarında yeniden örnekleme yapılmalıdır. %5-8 hastada ofis şartlarında yapılan biyopsi başarısız olabilmektedir (39).

Laboratuvar Testleri: Endometrium kanserinin yönetiminde klinik olarak yararlı tek belirteç serum CA125 düzeyinin ölçümüdür. Operasyon öncesi yükseklik

oldukça ilerlemiş bir hastalık olduğunu gösterir (40). Ancak bu durumda bile, diğer klinik bulguların yokluğunda kullanımı sınırlıdır (41).

Görüntüleme Çalışmaları: İlk etapta görüntüleme yöntemi olarak pelvik ultrasonografi yöntemine başvurulur (39). Yapılan ultrasonografide lokalize bir patoloji (polip gibi) şüphesi olduğunda SİS (salin infüzyon sonografi) veya H/S (histereskopi) yapılmalıdır (42). Bilgisayarlı Tomografi (BT) ya da Manyetik Rezonans (MR) görüntüleme genellikle gerekli değildir. Ancak MR görüntüleme bazen servikse uzanan bir endometrium kanserinin, primer serviks kanserinden ayırt edilmesinde yardımcı olabilir (43).

1.3.4. Patolojik Sınıflandırma

WHO klasifikasyonu:

- Endometrioid Adenokarsinom (en sık)
 - Skuamöz diferansiasyon gösteren varyant
 - Villoglandüler varyant
 - Sekretuar varyant
- Müsinöz Adenokarsinom
- Seröz Endometrial İntraepitelyal Neoplazi
- Seröz Karsinom
- Berrak Hücreli Karsinom
- Nöroendokrin Tümörler
- Mikst Hücreli Karsinom
- Andiferansiye Karsinom
- Dediferansiye Karsinom

1.3.5. Evreleme

Önceleri uterin korpus tümörleri; uterusun ultrasonografik incelemesi, fraksiyone küretaj ve pelvik muayeneye dayanan tümör volüm ve yayılımının klinik olarak değerlendirilmesiyle evrelendirilmekteydi. 1988'de FIGO histerektomi, bilateral salpingooferektomi ve lenf nodu örneklerini değerlendirerek tümörleri uterusu sınırlılığı, uterin serviks ve pelvik organlara uzanımı, pelvis dışına ve uzak alanlara yayılımına göre dört evreye ayırmıştır (44, 45). 20 yıl boyunca geçerliliğini

koruyan FIGO 1988 evreleme sistemi 2009 yılında bazı değişiklikler yapılarak yenilenmiştir.

Tablo 3b Endometrium tümörlerinde cerrahi evreleme, FIGO, 2009

EVRE I:	Tümör korpus uteri içine sınırlı
EVRE IA:	Myometrial invazyon yok ya da %50'den az
EVRE IB:	%50 veya daha fazla myometrial invazyon
EVRE II:	Servikal stromal invazyon var ancak tümör uterus dışına çıkmamıştır.
EVRE III:	Lokal ve/veya bölgesel yayılım
EVRE IIIA:	Seroza ve/veya adneks invazyonu
EVRE IIIB:	Vajinal ve/veya parametrial tutulum
EVRE IIIC:	Pelvik/paraaortik lenf nodu metastazı
	IIIC1: Pelvik lenf nodu metastazı
	IIIC2: Paraaortik lenf nodu metastazı
EVRE IV:	Mesane ve/veya barsak mukoza invazyonu ya da uzak metastaz
EVRE IVA:	Mesane ve/veya barsak mukoza invazyonu
EVRE IVB:	Uzak metastaz; intraabdominal metastaz ve inguinal lenf nodu metastazı dahil

1.3.6. Tedavi

Evre I: Endometrium kanserli hastalara uygulanacak primer cerrahi işlem total abdominal histerektomi ile beraber bilateral salpingooferektomidir. Yapılacak bilateral salpingooferektomide muhtemel mikroskopik metastaz veya var olan ya da sonradan gelişebilecek over kanseri riskini ortadan kaldırmak amaçlanmaktadır. Total abdominal histerektomi, bilateral salpingooferektomi yapıldıktan sonra pelvik lenf nodları açığa çıkarılmalı ve palpe edilmeli, büyümüş veya şüpheli lenf nodları çıkarılmalıdır. Uterus ameliyathanede açılarak ve frozen section ile tümör büyüklüğü, servikal yayılım ve myometrial invazyon açısından değerlendirilmelidir. Zira bu bilgiler bize lenf nodu diseksiyonu kararı vermekte yardımcı olacaktır. Vajinal kubbenin çıkarılması gerekli değildir. Parsiyel omentektomi ve apendektomi de yapılabilir.

Evre II: Bu evre endometrium kanserlerinde prognoz uterus korpusunda sınırlı hastalığa nazaran daha kötü seyretmektedir (46). Yapılacak cerrahi müdahalede radikal histerektominin, basit histerektomi ve radyoterapiye sürvi açısından üstünlüğü gösterilemediğinden günümüzde evre II endometrium kanseri tedavisinde görüş; total

abdominal histerektomi+bilateral salpingooferektomi+selektif pelvik ve paraaortik lenfadenektomi+postoperatif radyoterapi uygulanmasıdır.

Evre III: Tüm makroskopik hastalığı ortadan kaldırmak amaçlanmalı ve daha bireysel planlanmış bir tedavi öngörülmelidir. Cerrahi tedavide total abdominal histerektomi+bilateral salpingooferektomi ile beraber periton sitolojisi, lenfadenektomi, periton örnekleme ve kısmi omentektomi yapılmalı ve hastalığın cerrahi olarak yayılımı ortaya konmalıdır. Postoperatif dönemde uygulanan radyoterapi ile sonuçlar sadece radyoterapi yapılan hastalara göre daha iyidir (47).

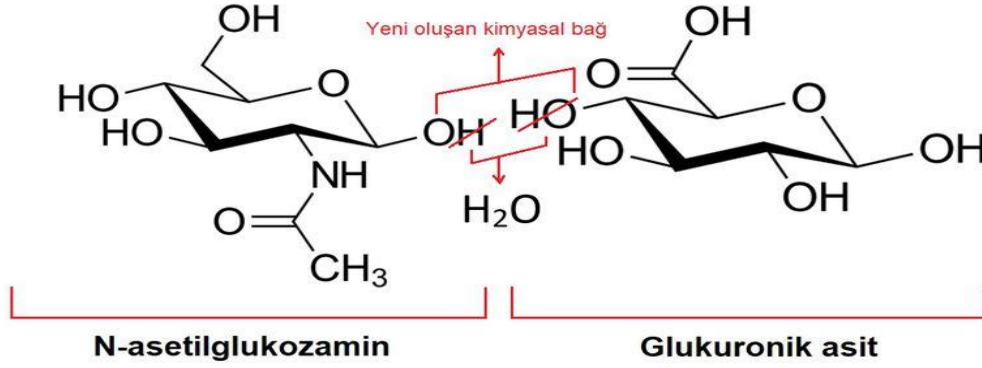
Evre IV: Endometrium kanserlerinin yaklaşık %3'ünü oluşturur (47). Evre IV hastalıkta tedavi hastaya göre planlanmakla beraber, genel yaklaşım cerrahi tedaviyi takiben radyoterapi, sistemik hormon tedavisi ya da kemoterapi kombine olarak kullanılmaktadır. Hastalığın sadece mesane ve rektumla sınırlı olduğu az sayıda hastada pelvik egzenterasyon yapılabilir. Endometrium kanserinde progesterinler metastatik endometrium kanserinde uygulanmaktadır. Adjuvan progesterin tedavisinin sürveye belirgin etkisi tespit edilememiştir. Pozitif periton sitolojisinde tedavi edici olarak kullanılabilirler (48).

1.4. Hyaluronik Asit

Uzun yıllar boyunca hücre dışı matris (ECM), hücrelerin yapıştığı ve büyüdüğü karmaşık bir makromolekül ağından yapılmış atıl bir iskele olarak kabul edildi. Günümüzde hücre dışı matris hareketlilik, hayatta kalma, çoğalma ve farklılaşma gibi kritik işlevleri düzenleyebildiği için hücre biyolojisinde merkezi bir rol kazanmıştır (49). ECM bileşimindeki değişiklikler yaygın olarak çeşitli patolojilerde bulunur ve ECM'nin yeniden şekillenmesini sağlayan faktörlerin incelenmesi, kanser dahil yaygın hastalıkları tedavi etmek için yeni farmakolojik hedefler bulmada faydalı olabilir (50, 51). ECM aynı zamanda immün sistemin savaş alanıdır ve ECM fragmanlarının, hücre yüzeyi reseptörleri yoluyla birçok hücre sel yanıtı tetikleyebilen güçlü sinyal modülatörleri olduğu iyi bilinmektedir (52, 53). Ayrıca, inflamasyon çeşitli akut ve kronik patolojilerin ortak bir paydasıdır ve ECM bu önemli süreci modüle etmede aktif bir rol oynar (54, 55).

Hyaluronan olarak da bilinen hyaluronik asit (HA), D-glukronik asid ve N-asetil D-glukozaminin 1-3 ve 1-4 glikozit bağları ile bağlanmasıyla oluşan doğrusal

bir mukopolisakarittir ve hücre dışı matrisin büyük bir bölümünü oluşturur (56). Hyaluronik asit, hidroksil ve karboksil gruplarının yanı sıra farklı kimyasal modifikasyonlar için kullanılabilen bir N-asetil grubuna sahiptir (Şekil 2).



Şekil 2. Hyaluronik asitin moleküler yapısı

Golgi'de sentezlenen diğer GAG (Glikozaminoglikan)'lardan farklı olarak HA, plazma zarı üzerinde HA sentazları (HAS) adı verilen bir glikozil-transferaz ailesi tarafından polimerize edilir (57). İnsan genomu, HAS 1, 2 ve 3 olarak adlandırılan üç farklı izoenzimi kodlayan üç HAS geni içerir (58). Her bir HAS izoenziminin farklı biyolojik süreçlerdeki kesin rolü halen araştırılmaktadır, ancak HAS 2'nin en önemli HA sentetik proteini olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. HAS 2 birçok doku ve hücre hattında yüksek oranda eksprese edilir ve HAS 2'nin katalitik özellikleri çok verimli bir HA sentezine izin verir (59, 60). HAS2 eksikliği embriyonik ölüme yol açar (60). HAS 2'nin tümör hücrelerinde baskılanması, hücre döngüsünün G1 fazındaki hücreleri durdurarak hücre proliferasyonunu inhibe ettiğinden, HAS 2 hücre yaşlanmayla ilişkilendirilmiştir (61).

Biyoyözünür, biyoyumlu ve nonimmunojenik yapıdaki HA, omurgalıların vücut sıvıları ve bazı bakteri türlerinde mevcuttur. Hücre yüzeyi ile matris bileşenleri arasında etkileşimi sağlayan akışkan bir ortam yaratır ve hücreler arası viskoz bir ortam sağlar. Kendine has fizikokimyasal özellikleri, plazma protein dağılımının düzenlenmesi, bulunduğu ortamı hidratize etmesi, su dengesinin sağlanması ve filtrasyon gibi fizyolojik işlevler kazandırır (62). İnsanlarda, hyaluronanın yarı ömrü bir ile birkaç gün arasında değişir. Yüksek ve düşük moleküler ağırlıklı HA'nın, CD44 reseptörleri ile etkileşiminin, farklı moleküler ve hücre mekanizmaları üzerinden

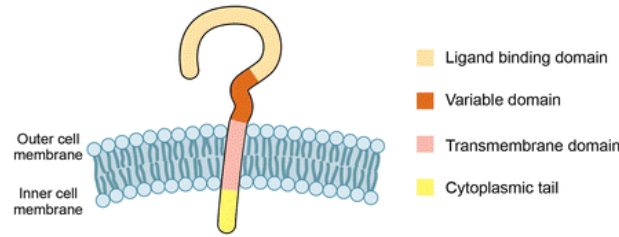
farklı biyolojik yanıtlara neden olduğu bildirilmektedir. CD44 aracılı sinyalleşme hem sağkalım yollarını hem de apoptotik yolları etkiler.

Genel olarak HA'in hücre farklılaşması ve proliferasyon ile ilişkilendirilen hücre fonksiyonları yanısıra hidrasyon dengesi sağlanması, matris yapısı düzenlenmesi gibi fizyolojik işlevleri mevcuttur (63). Ayrıca, HA hidrojen bağı ve van der Waals etkileşimleriyle CD44 reseptörü aracılığıyla hücre göçü, hücre adezyonu ve hücre farklılaşmasının düzenlenmesinde rol oynar (64).

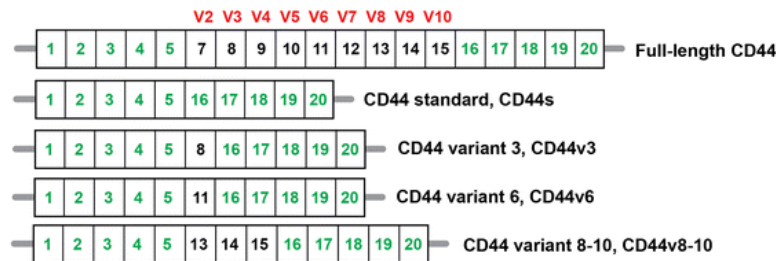
1.5. CD44 Yüzey Reseptörü

CD44 (cluster determinant 44/farklılaşma kümesi 44) protein ailesi ekstraselüler adezyon ve sinyal iletiminden sorumlu transmembran proteinleridir ve en yaygın bulunan kanser kök hücre belirteçleri arasındadır. İnsanlarda CD44 geni 11. kromozomda bulunur, sitoplazmik kuyruk (70 amino asit), transmembran bölge (23 amino asit), hücre dışı membrana yakın kök bölgesi (44 amino asit), değişken gölge (381 amino asit) ve ligant bağlanmanın gerçekleştiği N-terminal globular bölgeden (244 amino asit) oluşan proteini kodlar (65). CD44 ailesi proteinleri 80-200 kDa aralığında 20'den fazla üyeden oluşur. Üyeler arasındaki farklılıklar transkripsiyon sonrası modifikasyonlardan ve alternatif birleşmeden kaynaklanır (Şekil 3) (66).

(a) CD44 glycoprotein structure



(b) CD44 gene structure



© UTHSCSA

Şekil 3. CD44 transmembran glikoproteininin yapısı(a) ve CD44 varyantları(b)

CD44 geni insanlarda 19 ekzon bölgesinden oluşmaktadır. Ekzon 6 homoloğu insanlarda bulunmaz, ilk ve son beş ekzon bölgesi tüm varyantlarda mevcuttur ve en kısa standart CD44s izoformunu kodlar. Farklı ekzon bölgelerin eklenmesiyle (CD44v) varyant formları ortaya çıkar (67).

CD44 hücre motilitesi, migrasyonu, diferansiyasyonu, hücre sinyalizasyonu ve gen transkripsiyonundan sorumlu olup inflamasyon, yara iyileşmesi, embriyonal gelişim ve apoptozis gibi biyolojik süreçlerde rol oynar (68). CD44'ün hücre dışı bölümünde, hücre dışı matriks komponentleri özellikle de hyaluronik asit için bağlanma bölgesi bulunur ve bu etkileşim hücre-hücre, hücre-matriks adezyonunu sağlar (69).

Normal biyolojik süreçlerde önemli rolü bulunan CD44, tümör hücrelerinin diferansiyasyonu, invazyonu ve metastazında önemlidir (68). Tümör hücrelerinden salınan CD44'ün hyaluronik asite bağlanması sonucu büyüme faktörleri aktivasyonu, hücre dışı matriks bozulması, anjiogenez ve metastaz gelişim süreci başlar (70). CD44, hyaluronik aside ek olarak fibronektin, major histokompatibilite kompleksi klas II, yüksek molekül ağırlıklı proteoglikanlar gibi görevli proteinlere bağlanarak genomu etkiler (71).

Yapılan çalışmalar, kanser kök hücreleri olarak adlandırılan, tümörler içinde kendi kendini yenileyen, kök hücre benzeri hücrelerin varlığını ortaya koymuştur. Kanser kök hücreleri, tümör içinde küçük bir neoplastik hücre grubunu oluşturur ve yeni tümörler oluşturma yetenekleri ile tanımlanırlar (72). CD44 proteini, tümör mikroçevresi ile iletişimde görevli çok fonksiyonlu bir sinyal molekülüdür. Yapılan çalışmalarda, CD44 proteininin, hücrenin kendini yenileme, niş hazırlama, epitel-mezenkimal geçiş ve apoptoza direnç gibi bir dizi kanser kök hücre işlevinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (73). CD44 hücre yüzey proteinlerini eksprese eden hücrelerin bazı insan kanser türlerinde agresif dönem ile korele olduğu da gösterilmiştir (74).

CD44 hücre proliferasyonundan, farklılaşmadan, anjiogenezden ve hyaluronik asidin (HA) hücre içine endositoz ile alınmasından sorumludur (75). CD44 proteini, hyaluronik asitin hücre içine alınımından sorumlu primer yüzey reseptörüdür ancak, CD44-HA etkileşimi ve reseptör aracılı endositozu hücreden hücreye değişkenlik göstermekle beraber bazı hücre tiplerinde aktivasyon gerektirmektedir (63). HA-CD44

etkileşimi ile ilgili olarak normal hücreler ile tümör hücreleri arasında bazı farklılıklar vardır. Normal dokuda, CD44 reseptörü düşük seviyelerde endojen olarak ifade edilir ve aktivasyon gerektirir. Bununla birlikte, tümör kök hücrelerinde eksprese edilen CD44 reseptörü HA'ye yüksek bir afiniteye sahip olduğundan aktivasyon sürecine ihtiyaç duymaz (76). Çeşitli kanser kök hücrelerinde aşırı eksprese edilmesi CD44'ü kanser hastalarında prognostik ve diagnostik olarak güvenilir bir belirteç haline getirir.



2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Etik Kurul

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 04.02.2021 tarih ve 2021/02-42 sayılı karar ile bilimsel ve etik açıdan uygun görülüp kabul edilmiştir.

2.2. Vakaların Seçimi

Endometrial doku örnekleri Fırat Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde 2010-Temmuz 2020 yılları arasında alınan FRC örneklerinden seçildi. Tüm olguların dosya bilgileri incelenerek yaş, gravida, tedavide kullanılan progesteron tipi kaydedildi.

Atipisiz hiperplazi grubu 60 olgudan oluşturuldu (n=60). Bu olgulardan 20'si endometrial hiperplazi olup progesteron tedavisi alıp düzelen grubun ilk biyopsi sonuçları (n=20), 20'si tedavi sonrası atipisiz hiperplazi devam eden grup (n=20) ve geri kalan 20 olgu ise tedavi sonrası atipisiz hiperplazi düzelen grubun ikinci biyopsi sonuçları (n=20) idi. Proliferatif endometrium grubu 20 olgudan oluşturuldu (n=20).

Grup 1 (n=20) = Normal proliferatif endometrium grubu,

Grup 2 (n=20) = Endometrial hiperplazi olup progesteron tedavisi alıp düzelen grubun ilk biyopsi sonucu,

Grup 3 (n=20) = Endometrial hiperplazi olup progesteron tedavisi alıp atipisiz hiperplazi devam eden grubun ilk biyopsi sonucu,

Grup 4 (n= 20) = Endometrial hiperplazi olup progesteron tedavisi alıp düzelen grubun ikinci biyopsi sonucu olarak gruplandırıldı.

2.3. İmmunohistokimyasal Boyama

Parafin bloklardan 4–6 mm kalınlığında alınan kesitler polizimli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antijen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750W) 7+5 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğutmak için bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksid blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block , TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanana dokulara zemin boyasını

engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/100 oranında dilue primer antikolar (Mouse HAS 2 antibody: sc-365263, Dallas, Texas, U.S.A. ve Rabbit CD44 antibody, K007092P, Beijing, China) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikolar (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbitIgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA ve Donkey anti-goat, sc-2042, Santa Cruz Biotechnology, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Negatif kontrol için Rabbit IgG kullanıldı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295).

Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0. 1: <%25, 0. 4: %26-50, 0. 6: %51-75, 0. 9: %76-100) ve şiddeti (0: yok, +0. 5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu. Histoskor= yaygınlık x şiddet.

2.4. Veri Analizi ve İstatistiksel Yöntemler

Elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS version 22 programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve posthoc tukey testi ile yapıldı. $p < 0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. İmmünohistokimyasal Bulgular

3.1.1. HAS 2 İmmünreaktivitesi

HAS 2 immünreaktivitesi (siyah ok) için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu;

HAS2 immünreaktivitesi G1 ile karşılaştırıldığında (Resim 6), G2 (Resim 7) ve G3' te (Resim 8) (sırasıyla; $p=0.003$, $p<0.001$) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak gözlenirken G4' te (Resim 9) ($p=0.536$) HAS 2 immünreaktivitesinde artış izlendi fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Bununla birlikte G2 ile karşılaştırıldığında HAS 2 immünreaktivitesi G3'te istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak gözlenirken ($p<0.001$), G4' te (Resim 9) HAS 2 immünreaktivitesinde azalma izlendi ($p=0.187$) fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Ayrıca G3 ile karşılaştırıldığında HAS 2 immünreaktivitesi G4' te istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak gözlendi ($p<0.001$), (Tablo 4).

Tablo 4. HAS 2 İmmünreaktivitesi Histoskoru

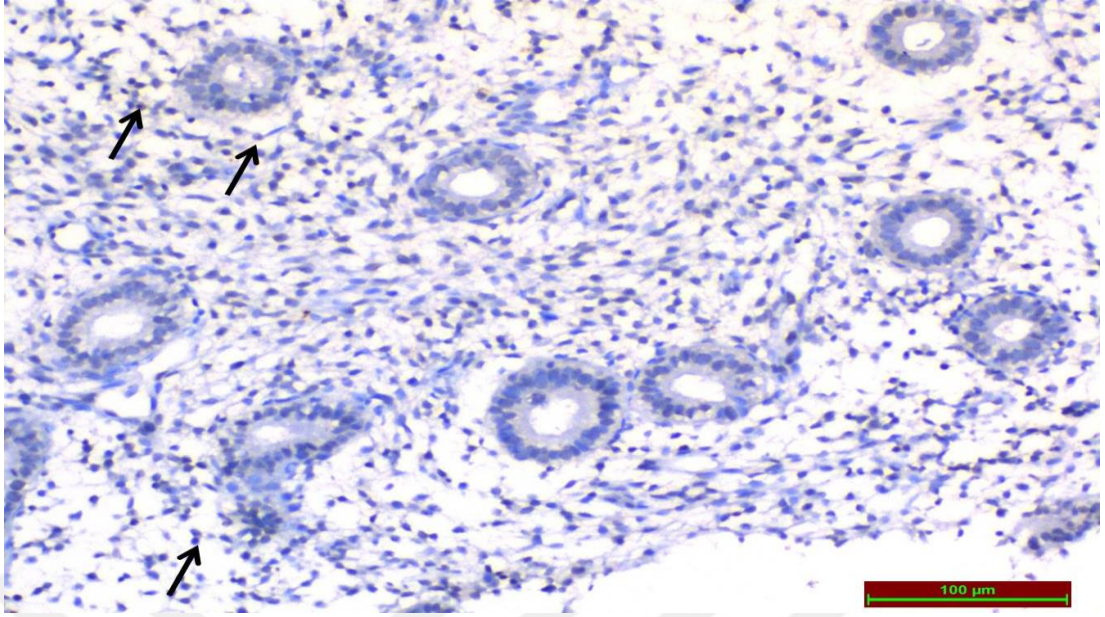
GRUPLAR	HAS2 İmmünreaktivitesi histoskoru
GRUP I	0,20±0,08
GRUP II	0,63±0,23 ^a
GRUP III	1,95±0,71 ^{ab}
GRUP IV	0,36±0,10 ^c

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

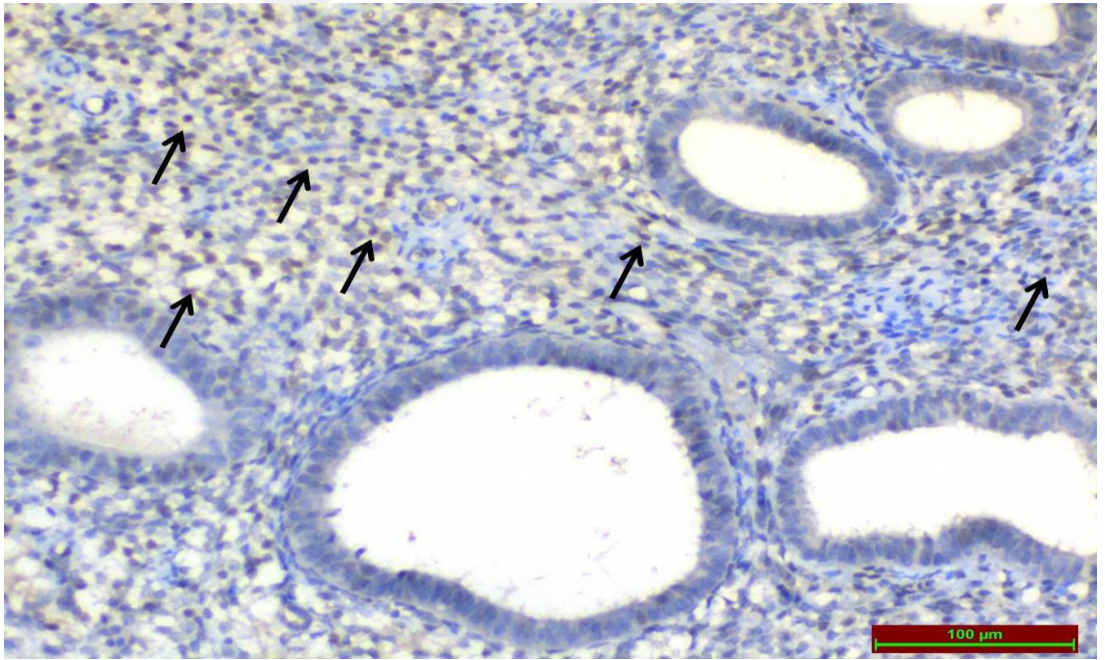
^a Grup I'e göre karşılaştırıldığında,

^b Grup II'e göre karşılaştırıldığında ($p<0.05$)

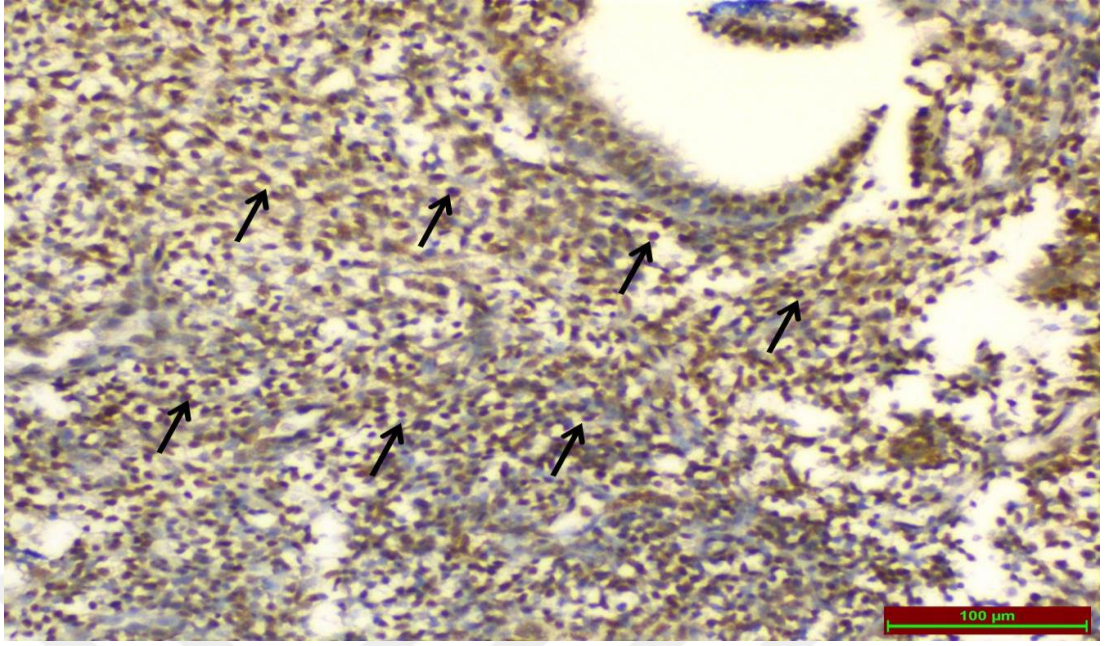
^c Grup III'e göre karşılaştırıldığında ($p<0.05$)



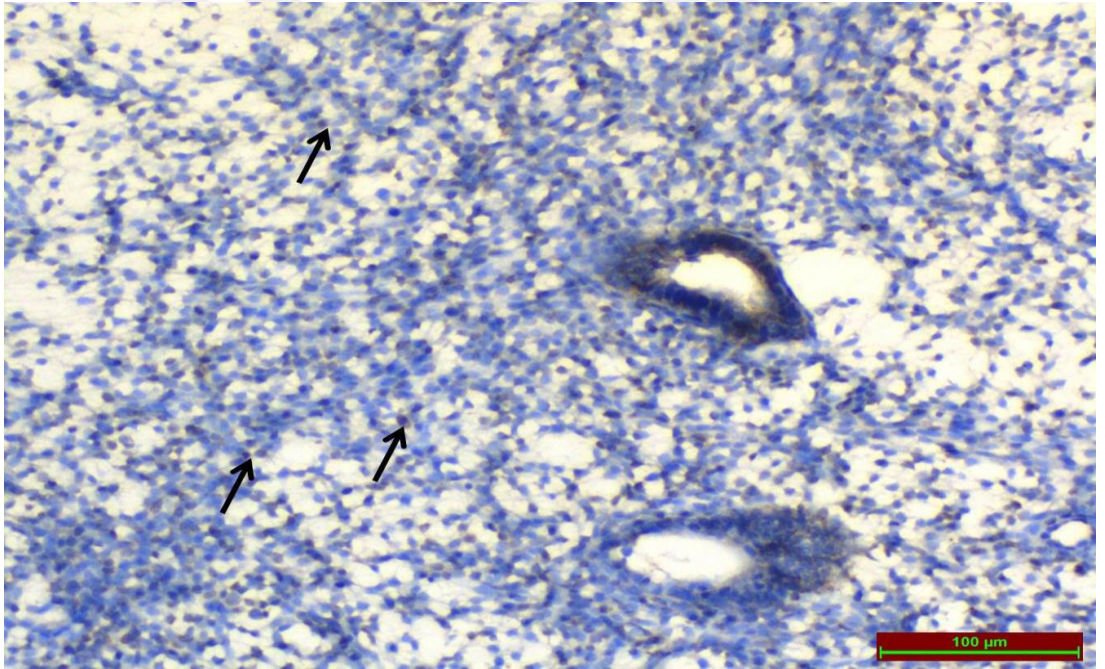
Resim 6. Grup 1 dokusuna ait HAS 2 immünreaktivitesi (siyah ok)



Resim 7. Grup 2 dokusuna ait HAS 2 immünreaktivitesi (siyah ok)



Resim 8. Grup 3 dokusuna ait HAS 2 immünreaktivitesi (siyah ok)



Resim 9: Grup 4 dokusuna ait HAS 2 immünreaktivitesi (siyah ok)

3.1.2. CD44 İmmünreaktivitesi

CD44 immünreaktivitesi (siyah ok) için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu;

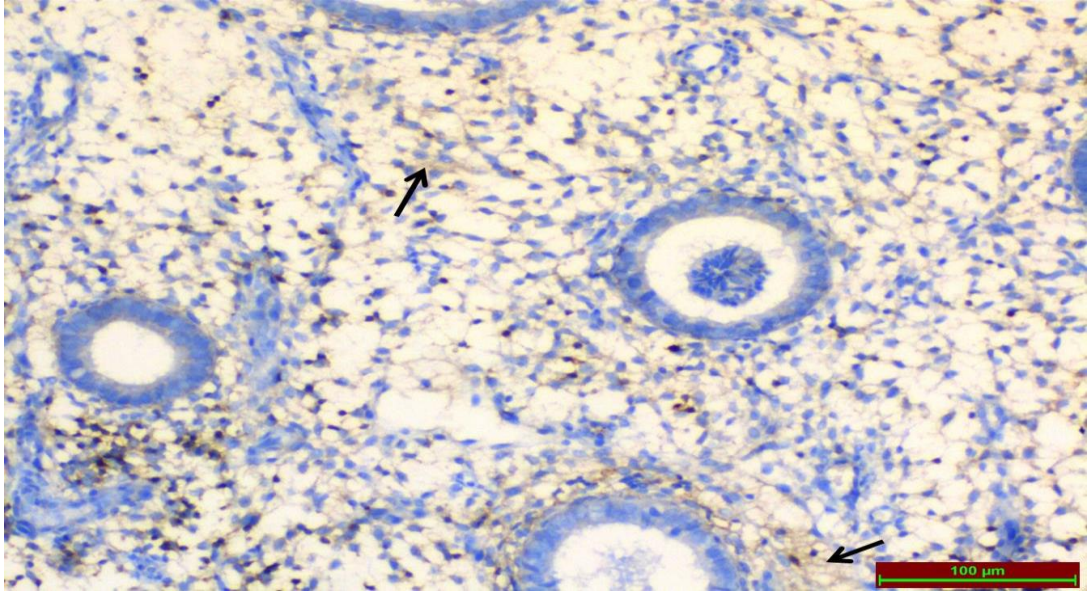
G1 (Resim 10) ile karşılaştırıldığında CD44 immünreaktivitesi G2 (Resim 11), G3 (Resim 12) ve G4' te (Resim 13) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak gözlendi (sırasıyla; $p<0.001$, $p=0.001$, $p=0.008$). Bununla birlikte G2, G3 ve G4 arasında CD44 immünreaktivitesinde ($p=0.918$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi (sırasıyla; $p=0.728$, $p=0.407$), (Tablo 5).

Tablo 5: CD44 İmmünreaktivitesi Histoskoru

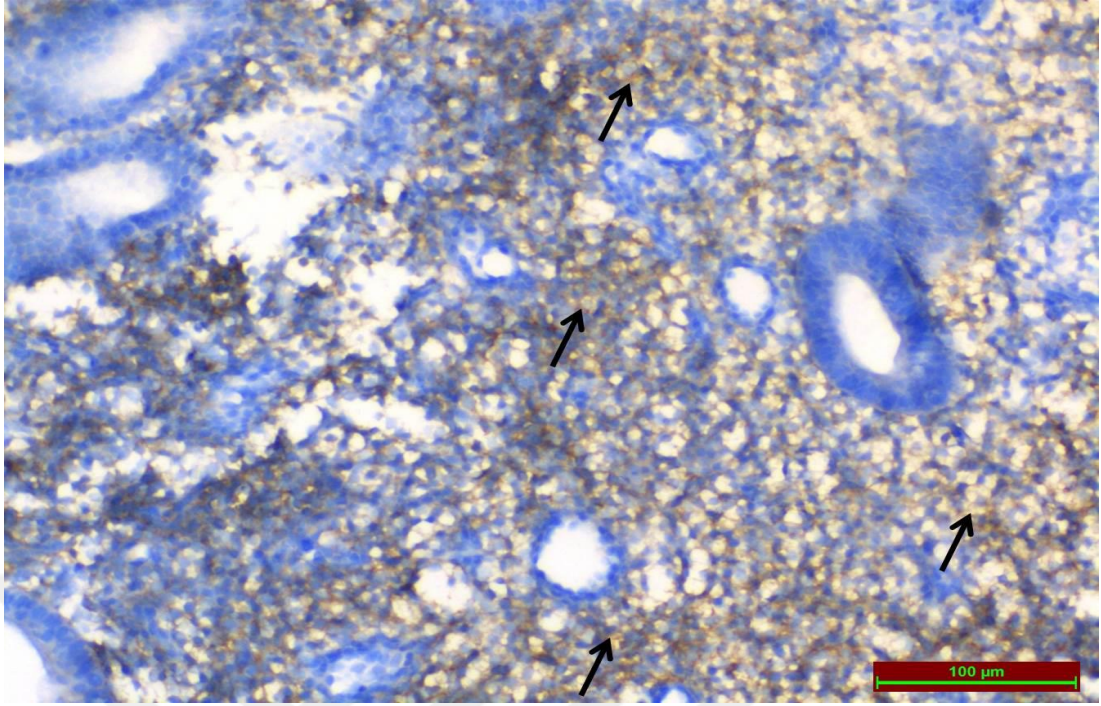
GRUPLAR	CD44 İmmünreaktivitesi histoskoru
GRUP I	0,44±0,11
GRUP II	1,86±0,53 ^a
GRUP III	1,53±0,77 ^a
GRUP IV	1,35±0,68 ^a

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

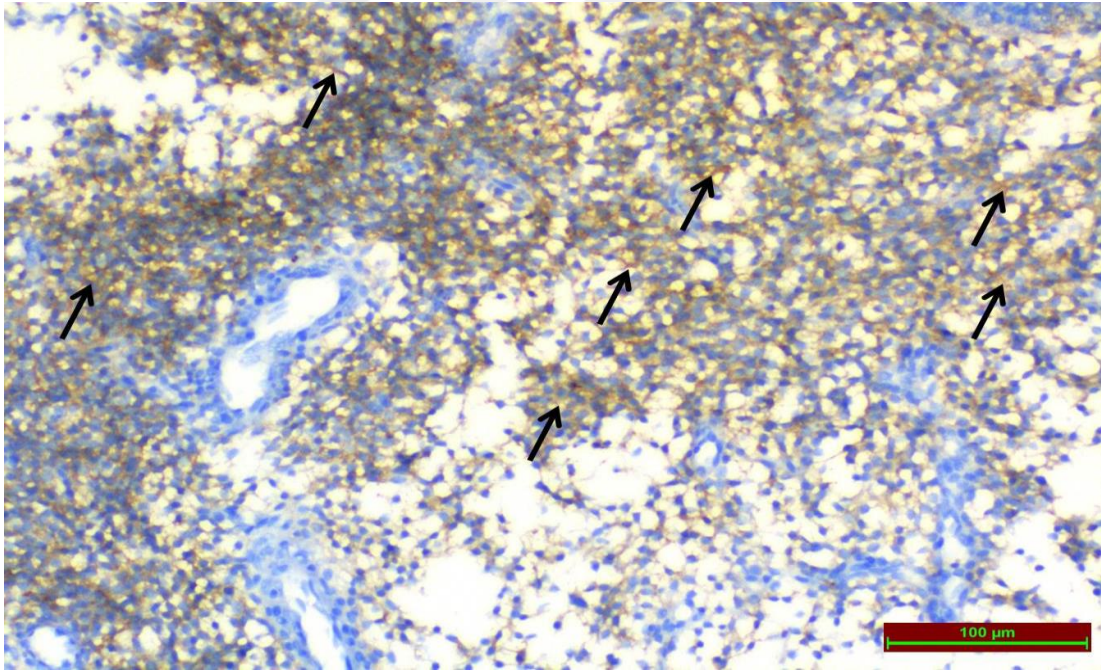
^a Grup I'e göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$)



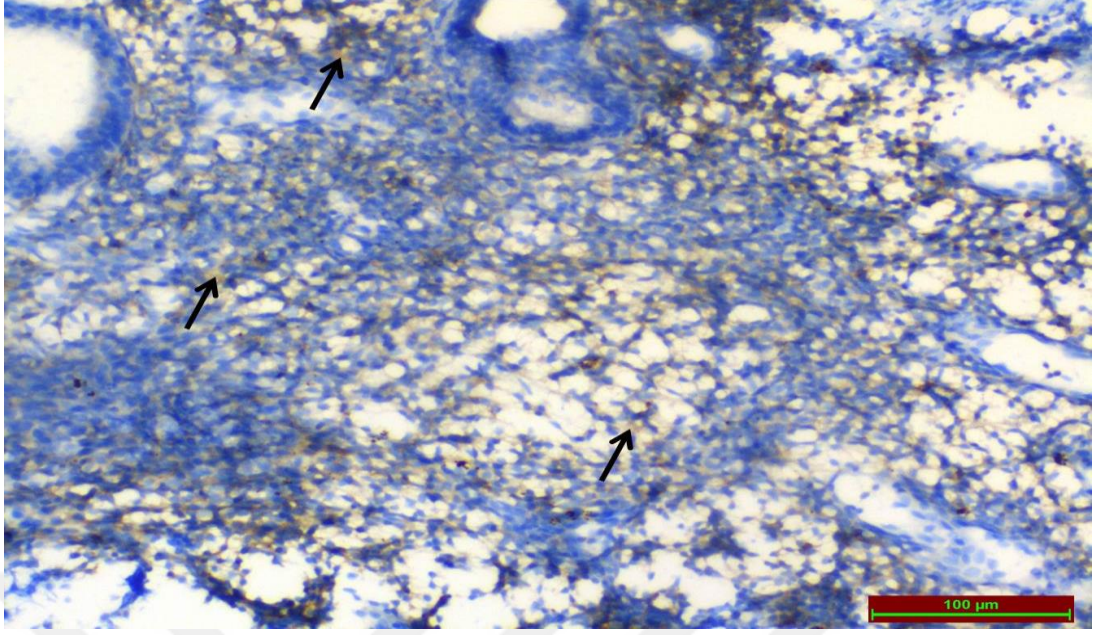
Resim 10: Grup 1 dokusuna ait CD44 İmmünreaktivitesi (siyah ok)



Resim 11: Grup 2 dokusuna ait CD44 İmmünreaktivitesi (siyah ok)



Resim 12. Grup 3 dokusuna ait CD44 İmmünreaktivitesi (siyah ok)



Resim 13. Grup 4 dokusuna ait CD44 İmmünreaktivitesi (siyah ok)

4. TARTIŞMA

Çalışmamızın sonucunda HAS 2 immünreaktivitesinin endometrial hiperplazi gruplarımızın tümünde proliferatif endometrium grubuna göre arttığını gördük. Progesteron tedavisine yanıt veren grupta HAS 2 immünreaktivitesi tekrar azalır iken tedaviye dirençli grupta tedaviyle düzelen gruba göre anlamlı derecede daha yüksek olduğunu gösterdik. Çalışmamızın diğer bir sonucu olarak da CD44 immünreaktivitesinin endometrial hiperplazi gruplarımızın tümünde proliferatif endometrium grubuna göre arttığını gördük. Ancak progesteron tedavisine yanıt veren grup ile tedaviye dirençli grup arasında CD44 immünreaktivitesinde anlamlı bir fark olmadığını gördük. Bu da HAS 2 immünreaktivitesinin dirençli endometrial hiperplazi olgularını öngörmede immünohistokimyasal bir marker olabileceğini göstermektedir.

Endometrial hiperplazi (EH), endometrial glandların düzensiz şekil ve boyutlarda fizyolojik olmayan proliferasyonudur. Östrojen endometrium dokusunda proliferasyonu stimüle ederken, progesteron proliferasyonu inhibe eder. Bizim de çalışmamızda atipisiz endometrial hiperplazilerin tedavisi için hastalara 6 ay süresince progesteron tedavisi verildi.

Hyaluronik asit veya hyaluronan (HA) belki de birkaç normal fizyolojik süreci düzenleyen ve aynı zamanda kanser dahil çeşitli kronik ve akut hastalıkların tezahürüne katkıda bulunan en karmaşık büyük polimerlerden biridir. HA sinyal yolu üyelerinin (HA sentazları, HA reseptörleri ve HYAL-1 (hyaluronidaz) deneysel olarak tümör büyümesini, metastazı ve anjiyogenezi desteklediği gösterilmiştir ve bu nedenle bunların her biri kanser tedavisi için potansiyel bir hedeftir. Ayrıca, bu üyeler çeşitli karsinomlarda aşırı eksprese edildiğinden, HA ailesinin hedeflenmesi klinik olarak önemlidir. HA molekül ailesi ayrıca meme, mesane, endometrial, over ve prostat dahil olmak üzere çeşitli karsinomlar için potansiyel tanı ve prognostik belirteçlerdir. Her bir HA sentazı tek başına veya birlikte eksprese edilir; tümör hücresi proliferasyonu, motilitesi ve istilasına ve xenograflarda gelişmiş tümör büyümesine, metastazına ve anjiyogeneze katkıda bulunur; tersine, bu genlerin yıkılması, tümör hücre fonksiyonlarını inhibe eder (77). Bu nedenle biz de çalışmamızda tedaviye dirençli olguları saptamada bir belirteç olarak HAS 2 immünreaktivitesinin değerlendirilmesini uygun gördük.

CD44, embriyonik kök hücrelerde ve bağ dokuları ve kemik iliği dahil olmak üzere diğer hücre tiplerinde çeşitli seviyelerde eksprese edilen bir transmembran glikoprotein ailesidir. CD44, çeşitli kanserlerde bir kanser kök hücre belirteci olarak yaygın şekilde yer almıştır. CD44'ü aşırı eksprese eden hücreler, kendini yenileme ve epitelyal-mezenkimal geçiş gibi çeşitli kanser kök hücre özelliklerine sahiptir. CD44 geni düzenli olarak standart (CD44'ler) ve varyant (CD44v) izoformları ile sonuçlanan alternatif birleşmeye uğrar. Bu tür izoformların ligandlar, özellikle hyaluronik asit (HA), osteopontin (OPN) ve matris metalloproteinazlar (MMP'ler) ile etkileşimi, kanserle ilişkili çok sayıda sinyali harekete geçirir.

CD44 için ana ligand, stromal ve kanser hücreleri tarafından eksprese edilen hücre dışı matrisin (ECM) bol bir bileşeni olan hyaluronik asittir (HA). HA, CD44 ligand bağlanma alanını bağlar, adaptör proteinlerin veya hücre iskeleti elemanlarının hücre içi alanlara bağlanmasına izin veren konformasyonel değişiklikleri indükler ve bu da hücre proliferasyonu, yapışması, göçü ve istilasına yol açan çeşitli sinyal yollarını aktive eder (78, 79). Çalışmamızda proliferasyon ile olan güçlü ilişkisinden dolayı HAS 2 ve CD44 aktivitesini çalışmayı tercih ettik. Hiperplazilerde HAS 2 blokajının proliferasyonu durdurarak tedavide fayda sağlayabileceği düşüncesiyle düzelen ve dirençli hiperplazilerde HAS 2 aktivitesini araştırdık.

Hyaluronan sentazın (HAS) immünohistokimyasal ekspresyonunun ve serum hyaluronan düzeylerinin endometrial karsinomun klinikopatolojik belirtileri ile korele olup olmadığını araştıran bir çalışmada, serum hyaluronan seviyelerinin endometrial kanser grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve myometrial invazyon derinliği, histolojik derece ve lenf-vasküler boşluk tutulumu ile de seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Çalışmanın sonucunda HAS 1 ekspresyonunun ve endometrial kanserde serum hyaluronan artışının, myometrial invazyon ve lenf-vasküler boşluk tutulumu yoluyla hastalığın ilerlemesi ile ilişkili olabildiği bildirilmiştir (80). Biz de çalışmamızda HAS 2 immünreaktivitesini hiperplazi şiddetiyle korele olacak şekilde arttığını gösterdik.

Mclaughlin ve ark. (81)'in 4-metilumbeliferonun (4-MU) ile hyaluronik asit (HA) sentezini inhibe ettiği bir çalışmada kontrole kıyasla endometriyal epitelyal (EEC'ler) ve stroma hücrelerinin (ESC'ler), peritoneal mezotelyal hücrelere (PMC'ler) bağlanması, göçü ve istilasının azaldığı görülmüştür. Bu etkiye HAS 2, HAS 3 ve

CD44'teki bir azalmanın aracılık ettiği öne sürülmüştür (81). Bu çalışma sonucuna göre bizim çalışma sonuçlarımıza da paralel olarak 4-MU'nun endometrial hiperplazinin tedavisinde terapötik bir ajan olarak kullanılabilmesi düşünülebilir. Bunun için daha geniş kapsamlı *invivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

Jing Wang ve ark., KLF7'nin GNA14'ü stimüle edip, HAS2'nin up-regülasyonunu sağlayıp endometrial kanserin malign büyümesini teşvik ettiğini göstermişlerdir. Tersine, HAS 2'nin yıkılması, KLF7'nin endometrial kanser hücre proliferasyonu, göçü ve xenografli tümör gelişimi üzerindeki onkojenik rolünü tersine çevirmiştir (82). Bu bulgular da bizim çalışmamızdaki HAS 2 ve tedaviye dirençli hiperplaziler arasındaki ilişkiyi desteklemektedir.

M. Saegusa ve Isao Okayasu CD44 varyant ekzonlarının ekspresyonu ile tümör ilerlemesi arasındaki ilişkiyi netleştirmek için, bir ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) kullanarak 34 endometriyal karsinom (endometrioid tipi) ve 27 normal endometrium örneğini karşılaştırmışlardır. Normal endometrium ile karşılaştırıldığında endometriyal karsinomlarda varyant izoformlarının yüksek düzeyde ekspresyonunu göstermişlerdir. Eksona özgü RT-PCR/SBH (Southern Blot Hibridizasyon) deneyleri, tümörlerde özellikle v3, v4 ve v5 olmak üzere bireysel varyant ekzonların büyük, bol transkriptlerini ortaya çıkarmıştır, ancak bu izoformlar normal endometriumda da eksprese edilmiştir. Bu bulgular da bunun tümöre özgüllüğünün olmadığını düşündürmüştür. Hiçbir bireysel CD44 varyant transkripti, araştırılan prognostik faktörlerin hiçbirisiyle ilişkilendirilememiştir. Bu bulgular, endometrial karsinomlarda, bireysel varyant CD44 ekzonlarının ekspresyonunun belirgin şekilde yukarı regüle edildiğini, ancak bu molekülün, tümör ilerlemesinin tutarlı bir göstergesi olarak faydalı olmayabileceğini göstermektedir (83). Biz de çalışmamızda normal proliferatif endometrium grubuna göre tüm hiperplazi gruplarında CD44 immünreaktivitesinde artış saptamakla birlikte; tedaviye direnç gösteren ve yanıt veren gruplar arasında CD44 immünreaktivitesinde anlamlı bir fark izlemedik. Bu da M. Saegusa ve Isao Okayasu'nun CD44'ün prognoza etkisi olmadığını gösteren çalışması ile uyumaktadır.

Saegusa ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışmada toplam 140 endometrial karsinom (endometrioid tip), 72 hiperplazi (41 basit veya kompleks ve 31 atipik tip) ve 141 normal endometrium (35 proliferatif ve 106 sekretuar fazda) ekspresyon için

immünohistokimyasal olarak araştırılmıştır. Normal endometriumda, standart ve varyant CD44 formlarının ekspresyonu, sekreuarda proliferatif faza göre belirgin şekilde daha yüksek tespit edilmiş, immünoaktivite skorlarının östrojen ve progesteron reseptörlerinin sayısı ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir. Proliferatif faz ve hiperplazi ile karşılaştırıldığında endometrial karsinomlarda önemli ölçüde yüksek CD44 ekspresyonu seviyeleri hem immünohistokimyasal hem de RT-PCR/SBH tahlilleri ile ortaya çıkarılmış, ancak herhangi bir prognostik faktörle hiçbir ilişki kaydedilmemiştir. Sonuçlar, normal adet döngüsündeki CD44 ekspresyonunun, glandüler epitelyumun salgı farklılaşması ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca, anormal ekspresyonun saptanması, endometrial karsinomun erken teşhisi için faydalı olabilir, ancak tümör ilerlemesinin bir göstergesi olarak faydalı olmayabilir sonucuna varılmıştır. Sonuçlar, normal adet döngüsündeki CD44 ekspresyonunun, glandüler epitelyumun salgı farklılaşması ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca, anormal ekspresyonun saptanması, endometrial karsinomun erken teşhisi için faydalı olabilir, ancak tümör ilerlemesinin bir göstergesi olarak faydalı olmayabilir (83).

Silva ve ark. (84), 47 endometrioid karsinom ve 10 proliferatif endometrium örneğinden oluşan bir seride CD44v6 ekspresyonunu değerlendirdi. Endometrioid karsinomda CD44v6 ekspresyon oranı proliferatif endometrial numunelerdekinden daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermedi. Bu da her CD44 varyantının proliferasyonu artırma ve hiperplaziye ilerleme ile ilişkili olmayabileceğini düşündürmektedir (84).

Öte yandan C. Temper ve ark.'nın yaptığı 156 insan endometrium kanseri örneğinde v3, v5, v6 ve v7-8 varyant eksonlarını içeren CD44 izoformlarının ekspresyonunu immünohistokimya yoluyla araştırdığı çalışmada CD44 izoformlarının CD44v3, CD44v5, CD44v6 ve CD44v7-8 ekspresyonu prognostik bir etki göstermemiştir. 45 normal endometrial doku örneğinde CD44 izoformları CD44v3, CD44v5, CD44v6 ve CD44v7-8'in ekspresyonunu karşılaştırarak, adet döngüsünün proliferatif fazı ile karşılaştırıldığında sekresyon fazında araştırılan tüm CD44 izoformlarının yukarı regülasyonu bulunmuştur. Çalışma sonucuna göre CD44 izoformlarının ekspresyonunun, normal endometriumun fonksiyonel değişikliklerinde açıkça rol oynamasına rağmen, endometrial kanserde olumsuz bir prediktif faktör

olmadığını göstermişlerdir (85). Bizim çalışmamızda tüm hiperplazi gruplarına göre kontrol grubumuzda CD44 immünreaktivitesini anlamlı olarak düşük saptamamızın sebebi proliferatif fazdaki endometrium dokularını olgu olarak seçmiş olmamız olabilir. Sekretuar dönem endometrium dokularıyla hiperplazik dokuda CD44 ve varyantlarının immünreaktivitesinin kıyaslanması başka bir çalışmanın konusu olabilir.

Sonuç olarak, endometrial tedaviye dirençli endometrial hiperplazi olgularının tespitinde, belki de maligniteye ilerleyişi öngörmeye HAS 2, immünohistokimyasal bir marker olarak kullanılabilir. HAS 2 biyosentezini inhibe eden moleküllerin endometrial hiperplazi ve endometrium kanserinde terapötik ajanlar olarak kullanılması için daha geniş çaplı çalışmalar yapılması uygun görülmektedir. Ayrıca CD44'ün endometrial hiperplazi olgularında normal endometrium dokusuna göre artmış aktivitesi izlenmiş olup prognozu belirlemede etkisinin olmadığı görüldü.



5. KAYNAKLAR

1. Crum CP. The female genital tract. Kumar, Abbas, Fausto. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed, China: Elsevier Saunders 2005; 1059- 1117.
2. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi, 6th ed. İstanbul 2002; 329-330
3. Kayalı H, Şatıroğlu G, Taşyürekli M. İnsan Embriyolojisi, İstanbul 1992.
4. Young ES, Diaz-arrastia C, Castro CY. The hysterectomy. Ann Diagn Pathol 2005; 9: 202- 208.
5. Kurman RJ, Ellenson LH, Ronnett B, Soslow RA. Zaiona RJ. Endometrial carcinoma. M.Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract 2011; 9: 394-441.
6. Blaustein A. Pathology of the Female Genital Tract. The American Journal of Surgical Pathology, 1978; 2(1): 111-112.
7. Michael R. Hendrickson, Kristen A. Atkins, and Richard L. Kempson. Female Genital System. Stacey E. Mills. Histology For Pathologists. 3th ed, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2007; 1011-1063.
8. Michael HR, Gordon IK, Wojciech P. Female Reproductive System. Histology: A Text and Atlas. 4th ed, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 743-751.
9. Michael TM, Robert JK. Normal endometrium and infertility evaluation. Diagnosis of endometrial biopsies and curettings. 2th ed, USA: Springer 2004: 7-31.
10. Hendrickson MR, Atkins KA, Kempson RL. Uterus and fallopian tubes. Mills SE, (editör). Histology for Pathologists. 3rd ed: Lippincott Williams & Wilkins 2007: 1012-56.

11. Landrum LZ, Walker JL. Endometrial Hyperplasia, Estrogen Therapy, and the Prevention of Endometrial Cancer. *Clinical Gynecologic Oncology*. 8th ed: Elsevier, 2012: 121-39.
12. Bengisu E, Ermiş H: Endometriyal Hiperplaziler. *Jinekolojik Onkoloji* 1996: 312-35.
13. Jindal A. Mohi MK. Kaur M. Kaur B. Endometrial evaluation by ultrasonography hysteroscopy and histopathology in cases of breast carcinoma on Tamoxifen therapy. *Journal of Mid-Life Health* 2015; 6:6-12,
14. Goldzier JW, Axelrod LR. Klinikal and biocemikal features of the polycystic ovarian disease. *Fertil Steril* 1963; 14: 631-638.
15. Emons G, Beckmann MW, Schmidt D, Mallmann P. New WHO Classification of Endometrial Hyperplasias. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2015; 75(2): 135-136.
16. Mutter GL. Endometrial Intraepithelial Neoplasia (EIN): Will It Bring Order to Chaos? *Gynecol Oncol* 2000; 76(3): 287-290.
17. Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ. Definitions and Explanatory Notes. In: *Histological Typing of Female Genital Tract Tumours* 1994;14: 1-2
18. Allison KH, Reed SD, Voigt LF, Jordan CD, Newton KM, Garcia RL. Diagnosing endometrial hyperplasia: Why is it so difficult to agree? *Am J Surg Pathol* 2008; 32(5): 691-698.
19. Mutter GL. Endometrial intraepithelial neoplasia (EIN): will it bring order to chaos? The Endometrial Collaborative Group. *Gynecol Oncol* 2000; 76(3): 287-290.
20. Mutter GL, Baak JP, Crum CP, Richart RM, Ferenczy A, Faquin WC. Endometrial precancer diagnosis by histopathology, clonal analysis, and computerized morphometry. *J Pathol* 2000; 190(4): 462-469.
21. Baak JP, Mutter GL. EIN and WHO94. *J Clin Pathol* 2005; 58(1): 1-6.

22. Carcangiu M. WHO classification of tumours of female reproductive organs. 2014: International Agency for Research on Cancer. 2014
23. Mazur, M. Kurman RJ. Diagnosis of endometrial biopsies and curettings: a practical approach. Springer Science & Business Media 2005:
24. Zheng W, Chambers SK. Histopathology of endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma. *Annals of Diagnostic Pathology* 2007; 11: 297- 311.
25. Morice P, Leary A, Creutzberg C, Abu-Rustum N, Darai E. Endometrial cancer. *Lancet* 2016; 387(10023): 1094-1108.
26. Robert J. Kurman, Maria Luisa Carcangiu, C.Simon Herrington RHY. WHO Classification Tumours of Female Reproductive Organs. 4th ed. Lyon: IARC 2014. 124–154 p.
27. Giordano A, Bovicelli A, Kurman RJ. Molecular pathology of gynecologic cancer. Springer Science & Business Media. 2007:
28. Liu FS. Molecular carcinogenesis of endometrial cancer. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2007; 46(1): 26-32.
29. Ronnett BM, Ellenson LH, Kurman RJ. Endometrial Karsinom: Kurman RJ Blaustein's Pathology of the female genital tract. 6th. ed. USA: Spinger, 2011; 305- 453.
30. Clement PB, Young RH. Endometrioid carcinoma of the uterine corpus: a review of its pathology with emphasis on recent advances and problematic aspects. *Adv Anat Pathol* 2002; 9(3): 145-184.
31. Schmidt T, Breidenbach M, Nawroth F, Mallmann P, Beyer IM, Fleisch MC, et al. Hysteroscopy for asymptomatic postmenopausal women with sonographically thickened endometrium. *Maturitas* 2009; 62(2): 176-178.
32. Okaro EBS, T. Abnormal Vaginal Bleeding. *Current Diagnosis & Treatment, Obstetrics & Gynecology*: McGraw 2002: 334-40.

33. Lidor A, Ismajovich B, Confino E, David MP. Histopathological findings in 226 women with post-menopausal uterine bleeding. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1986; 65(1): 41-43.
34. Duraiyan J, Govindarajan R, Kaliyappan K, Palanisamy M. Applications of immunohistochemistry. *J Pharm Bioallied Sci* 2012; 4: 307-309.
35. Zhao C, Austin RM, Pan J, Barr N, Martin SE, Raza A, et al. Clinical significance of atypical glandular cells in conventional pap smears in a large, high-risk U.S. west coast minority population. *Acta Cytol* 2009; 53(2): 153-9.
36. Wright TC, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D, et al. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *J Low Genit Tract Dis* 2007; 11(4): 201-222.
37. DiSaia PR, McMeekin DS, Mutch D. *Clinical Gynecologic Oncology*. 9th ed: Elsevier, 2017.
38. Grimbizis GF, Tsolakidis D, Mikos T, Anagnostou E, Asimakopoulos E, Stamatopoulos P, et al. A prospective comparison of transvaginal ultrasound, saline infusion sonohysterography, and diagnostic hysteroscopy in the evaluation of endometrial pathology. *Fertil Steril* 2010; 94(7): 2720-2725.
39. Clark TJ, Mann CH, Shah N, Khan KS, Song F, Gupta JK. Accuracy of outpatient endometrial biopsy in the diagnosis of endometrial cancer: a systematic quantitative review. *BJOG* 2002; 109(3): 313-21.
40. Nagar H, Dobbs S, McClelland HR. The diagnostic accuracy of magnetic resonance imaging in detecting cervical involvement in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2006; 103: 431-436.
41. Prevarskaya N, Skryma R, Bidaux G, Flourakis M, Shuba Y. Ion channels in death and differentiation of prostate cancer cells. *Cell Death Differ* 2007; 14: 1295-1304.

42. La Sala GB, Blasi I, Gallinelli A, Debbi C, Lopopolo G, Vinci V, et al. Diagnostic accuracy of sonohysterography and transvaginal sonography as compared with hysteroscopy and endometrial biopsy: a prospective study. *Minerva Ginecol* 2011; 63(5): 421-427.
43. Gautier M, Dhennin-Duthille I, Ay AS, Rybarczyk P, Korichneva I, OuadidAhidouch H. New insights into pharmacological tools to TR (i)P cancer up. *Br J Pharmacol* 2014; 171: 2582-2592.
44. Tavassoli FA, Devilee P. Tumours of the uterine corpus. In: Tavassoli FA, Devilee P. *World Health Organization Classification of Tumours of the Breast and Female Genital Organs*. Germany: IARC Press 2003: 217-257.
45. Ronnett BM, Zaino RJ, Ellenson LH, Kurman RJ. Endometrial Karsinom. Kurman RJ Blaustein's *Pathology of the female genital tract*. 5th. ed. USA: Springer 2002: 501-559.
46. Rubin SC, Hoskins WJ, Saigo PE, Nori D, Mychalczak B, Chapman D, et al. Management of endometrial adenocarcinoma with cervical involvement. *Gynecol Oncol* 1992; 45: 294-299.
47. Pliskow S, Penalver M, Averette HE. Stage IH and IV endometrial carcinoma: a review of 41 cases. *Gynecol Oncol* 1990; 38: 210-215.
48. Vergote I, Jorstad J, Abeler V, Kolstad P. A randomized trial of adjuvant progesterone in early endometrial cancer. *Cancer* 1989; 64:1011-90.
49. Lu P, Takai K, Weaver VM, Werb Z. Extracellular Matrix degradation and remodeling in development and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; 3: 005058.
50. Karamanos NK, Theocharis AD, Neill T, Iozzo RV. Matrix modeling and remodeling: a biological interplay regulating tissue homeostasis and diseases. *Matrix Biol* 2019; 75–76: 1–11.

51. Sainio A, Järveläinen H. Extracellular matrix-cell interactions: focus on therapeutic applications. *Cell Signal* 2020; 66: 109487.
52. Maquart FX, Pasco S, Ramont L, Monboisse J-C. An introduction to matrikines: extracellular matrix—derived peptides which regulate cell activity—implication in tumor invasion. *Crit Rev Oncol/Hematol* 2004; 49:199–202.
53. Wells JM, Gaggari A, Blalock JE. MMP generated matrikines. *Matrix Biol* 2015; 44–46: 122–129.
54. Iijima J, Konno K, Itano N. Inflammatory alterations of the extracellular matrix in the tumor microenvironment. *Cancers* 2011; 3: 3189–3205.
55. Bartolini B, Caravà E, Caon I, Parnigoni A, Moretto P, Passi A, Vigetti D, Viola M, Karousou E. Heparan sulfate in the tumor microenvironment. *Adv Exp Med Biol* 2020; 1245: 147–161.
56. Kim JH, Moon MJ, Kim DY, Heo SH, Jeong YY. Hyaluronic Acid-Based Nanomaterials for Cancer Therapy. *Polymers (Basel)* 2018; 10(10): 1011-1033
57. Weigel PH, Hascall VC, Tammi M. Hyaluronan synthases. *J Biol Chem* 1997; 272: 13997–4000.
58. Itano N, Kimata K. Mammalian hyaluronan synthases. *IUBMB Life* 2002; 54: 195–199.
59. Itano N, Sawai T, Yoshida M, Lenas P, Yamada Y, Imagawa M, et al. Three isoforms of mammalian hyaluronan synthases have distinct enzymatic properties. *J Biol Chem* 1999; 274: 25085–25092.
60. Camenisch TD, Spicer AP, Brehm-Gibson T, Biesterfeldt J, Augustine ML, Calabro A, et al. Disruption of hyaluronan synthase-2 abrogates normal cardiac morphogenesis and hyaluronan-mediated transformation of epithelium to mesenchyme. *J Clin Invest* 2000; 106: 349–360.

61. Udabage L, Brownlee GR, Waltham M, Blick T, Walker EC, Heldin P, et al. Antisense-mediated suppression of hyaluronan synthase 2 inhibits the tumorigenesis and progression of breast cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 6139–6150.
62. Harris KS, Kerr BA. Prostate cancer stem cell markers drive progression, therapeutic resistance, and bone metastasis. *Stem Cells Int* 2017; 2017: 8629234.
63. Mattheolabakis G, Milane L, Singh A, Amiji MM. Hyaluronic acid targeting of CD44 for cancer therapy: from receptor biology to nanomedicine. *Journal of Drug Targeting* 2015; 23(7-8): 605-618.
64. Huang WY, Lin JN, Hsieh JT, Chou SC, Lai CH, Yun EJ, Lin YH. Nanoparticle targeting CD44-positive cancer cells for site-specific drug delivery in prostate cancer therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces* 2016; 8(45): 30722-30734.
65. Prochazka L, Tesarik R, Turanek J. Regulation of alternative splicing of CD44 in cancer. *Cell Signal* 2014; 26(10): 2234-2239.
66. Louderbough JM, Schroeder JA. Understanding the dual nature of CD44 in breast cancer progression. *Molecular Cancer Research* 2011; 9(12): 1573-1586.
67. Chen C, Zhao S, Karnad A, Freeman JW. The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *J Hematol Oncol* 2018; 11(1): 64-68.
68. Bankfalvi A, Terpe HJ, Breukelmann D, Bier B, Rempe D, Pschadka G, et al. Gains and losses of CD44 expression during breast carcinogenesis and tumour progression. *Histopathology* 1998; 33(2): 107-116.
69. Naor D, Sionov RV, Ish-Shalom D. CD44: structure, function, and association with the malignant process. *Adv Cancer Res* 1997; 71: 241-319.
70. Marhaba R, Zoller M. CD44 in cancer progression: adhesion, migration and growth regulation. *J Mol Histol* 2004; 35(3): 211-231.

71. Huet S, Groux H, Caillou B, Valentin H, Prieur AM, Bernard A. CD44 contributes to T cell activation. *J Immunol* 1989; 143(3): 798-801.
72. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414(6859): 105-111.
73. Pan Q, Li Q, Liu S, Ning N, Zhang X, Xu Y, Wicha MS. Concise Review: Targeting Cancer Stem Cells Using Immunologic Approaches. *Stem Cells* 2015; 33(7): 2085-2092.
74. Orian-Rousseau V. CD44, a therapeutic target for metastasising tumours. *European Journal of Cancer* 2010; 46(7): 1271-1277.
75. Choi KY, Saravanakumar G, Park JH, Park K. Hyaluronic acid-based nanocarriers for intracellular targeting: interfacial interactions with proteins in cancer. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2012; 99: 82-94.
76. Gupta RC, Lall R, Srivastava A, Sinha A. Hyaluronic acid: molecular mechanisms and therapeutic trajectory. *Frontiers Vet Sci* 2019; 6: 192-198.
77. Lokeshwar VB, Mirza S, Jordan A. Targeting hyaluronic acid family for cancer chemoprevention and therapy. *Adv Cancer Res* 2014; 123: 35-65.
78. Ponta H, Sherman L, Herrlich PA. CD44: from adhesion molecules to signal regulators. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4(1): 33-45.
79. Zoller M. CD44: Could a cancer-initiating cell benefit from an abundantly expressed molecule? *Nat Rev Cancer* 2011; 11(4): 254-267.
80. Yabushita H, Kishida T, Fusano K, Kanyama K, Zhuo L, Itano N, Kimata K, Noguchi M. Role of hyaluronan and hyaluronan synthase in endometrial cancer. *Oncol Rep* 2005; 13(6): 1101-1105.
81. McLaughlin JE, Santos MT, Binkley PA, Sultana M, Tekmal RR, Schenken RS, Knudtson JF. Inhibition of Hyaluronic Acid Synthesis Decreases Endometrial Cell Attachment, Migration, and Invasion. *Reprod Sci* 2020; 27(4): 1058-1063.

- 82.** Wang J, Teng F, Chai H, Zhang C, Liang X, Yang Y. GNA14 stimulation of KLF7 promotes malignant growth of endometrial cancer through upregulation of HAS2. *BMC Cancer* 2021; 21(1): 456-460.
- 83.** Saegusa M, Hashimura M, Okayasu I. CD44 expression in normal, hyperplastic, and malignant endometrium. *J Pathol* 1998; 184(3): 297-306.
- 84.** Gun BD, Bahadir B, Bektas S, Barut F, Yurdakan G, Kandemir NO, Ozdamar SO. Clinicopathological significance of fascin and CD44v6 expression in endometrioid carcinoma. *Diagn Pathol* 2012; 7: 80-85.
- 85.** Tempfer C, Haeusler G, Kaider A, Hefler L, Hanzal E, Reinthaller A, et al. The prognostic value of CD44 isoform expression in endometrial cancer. *Br J Cancer* 1998; 77(7): 1137-1139.