

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**SERVİKS KARSİNOMUNDA EPİTELYAL VE
MEZENKİMAL GEÇİŞ DÜZENLEYİCİSİ OLAN
SNAIL EKSPRESYONUN PROGNOSTİK ÖNEMİ**

DR. CANAN FIRAT

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2015

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**SERVİKS KARSİNOMUNDA EPİTELİYAL VE
MEZENKİMAL GEÇİŞ DÜZENLEYİCİSİ OLAN
SNAIL EKSPRESYONUN PROGNOSTİK ÖNEMİ**

DR. CANAN FIRAT

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2015

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ: PROF. DR. MERAL KOYUNCUOĞLU

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ.....	I
RESİM LİSTESİ.....	II
GRAFİK LİSTESİ.....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR	IV
TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET.....	1
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	3
I GİRİŞ VE AMAÇ.....	4
1.1 Giriş	4
1.2 Amaç.....	4
II GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Serviks Karsinomu	5
2.1.1 Skuamöz Hücreli Karsinom	10
2.1.2 Adenokarsinom.....	16
2.1.3 Diğer Epitelyal Tümörler	18
2.1.4 Nöroendokrin Karsinomlar	18
2.2 İmmunohistokimyasal Belirleyici	19
2.2.1 Snail.....	19
III GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1 Araştırmanın şekli	20
3.2 Hastaların Seçimi	20
3.3 Verilerin Toplanması.....	20
3.4 İmmünhistokimyasal Yöntem ve Boyamanın Değerlendirilmesi	20
3.5 İstatistiksel Değerlendirme	22
IV BULGULAR	23
4.1 Klinik ve Patolojik bulgular.....	23
4.2 İmmunohistokimyasal Bulgular	28
V TARTIŞMA.....	32
KAYNAKLAR.....	36

TABLO LİSTESİ

1. DSÖ (2014) uterin serviks epitelyal tümörleri sınıflaması.....	7
2. FIGO invaziv uterin serviks karsinomu evrelemesi.....	9
3. Materyal türleri ve sayıları	23
4. Tümör tipleri ve sıklıkları.....	24
5. Tümör tiplerinin gruplandırılmış tablosu	24
6. Patolojik parametrelerin tutulumu	25
7. Cerrahi sınır durumu	25

RESİM LİSTESİ

1. Tümörlü bir alanın farklı büyütmelerdeki H&E boyalı görüntüleri 21
2. Snail ekspresyonunun değerlendirilmesi..... 30

GRAFİK LİSTESİ

1. Kaplan-Meier genel sağ kalım eğrisi 26
2. Kaplan-Meier eğrisinde Snail ekspresyonu ile sağ kalım arasındaki ilişki..... 31

SİMGELER VE KISALTMALAR

- ADK:** Az Diferansiye Karsinom
AIS: Adenokarsinoma in situ
AK: Adenokarsinom
AKK: Adenoid Kistik Karsinom
ASK: Adenoskuamöz Karsinom
BHNEK: Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom
BHNEK: Büyük hücreli Non-Keratinizan Karsinom
CIN: Servikal İntraepitelyal Neoplazi
CS: Cerrahi sınır
DEÜTF: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
EM: Endometrium
EMT: Epitelyal Mezenkimal Geçiş (transition)
FIGO: Jinekoloji ve Obstetri Federasyonu
H&E: Hematoksilen & Eozin
HPV: Human Papilloma Virus
İHK: İmmunohistokimya
Ki67: Karyotik indeks
KHK: Küçük Hücreli Karsinom
KS: Karsinosarkom
LN: Lenf Nodu
LVİ: Lenfovasküler İnvazyon
MIKA: Mikro-invaziv adenokarsinom
NET: Nöroendokrin Tümör
KHNEK: Küçük Hücreli Nöroendokrin Karsinom
PM: Parametrium
SHK: Skuamöz Hücreli Karsinom
SK: Serviks Karsinomu
SIL: Skuamöz İntraepitelyal Lezyon

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli tez danışmanım Prof. Dr. Meral KOYUNCUOĞLU başta olmak üzere;

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda hizmet veren, dekan hocamız Prof. Dr. Tülay CANDA, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sülen SARIOĞLU, ve değerli hocalarım Prof. Dr. Kutsal YÖRÜKOĞLU, Prof. Dr. Erdener ÖZER, Prof. Dr. Özgül SAGOL, Prof. Dr. Burçin TUNA, Prof. Dr. Banu Lebe, Prof. Dr. Sermin ÖZKAL, Prof. Dr. Çağnur ULUKUŞ, Doç. Dr. Duygu GÜREL, Doç. Dr. Merih GÜRAY DURAK, Doç. Dr. Mehtat ÜNLÜ'ye, Yrd. Doç. Dr. Ayça ERŞEN DANYELİ'ye, kendileri ile çalışmaktan onur duyduğum, saygıdeğer emekli hocam Prof. Dr. Şerefettin CANDA'ya,

hastaların klinik takiplerine ulaşmak konusunda destek gösteren ve verilerini benimle paylaşan Prof. Dr. İlknur Bilkay GÖRKEN'e, verilerin değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Hülya ELLİDOKUZ'a, tezimde jüri üyesi olarak katkıda bulunan Prof. Dr. Fulya ÇAKALAĞAOĞLU'na, çalışmanın planlanması aşamasında katkıları bulunan Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde görevli Yrd. Doç. Dr. Yasemen ADALI'ya, bu süreçte yanımda olan sevgili ve çok değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma, gerek uzmanlık eğitimi gerekse tez sürecinde büyük emekleri bulunan, Anabilim Dalımızın güleryüzlü ve içten tüm çalışanlarına,

Her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen güzel aileme Ayşe-İsmail FIRAT'a ve kardeşim Feyyaz FIRAT'a,

En içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Canan FIRAT

İzmir, 2015

ÖZET

SERVİKS KARSİNOMUNDA EPİTELYAL VE MEZENKİMAL GEÇİŞ DÜZENLEYİCİSİ OLAN SNAİL EKSPRESYONUN PROGNOSTİK ÖNEMİ

Dr. Canan FIRAT

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

canan.firat@deu.edu.tr

Amaç/Hipotez: Serviks karsinomu, dünya çapında en sık görülen jinekolojik malignitedir. Türkiye’de her yıl serviks karsinomu tanısı alan 1364 hastanın %50’si bu hastalıktan dolayı ölmektedir. Serviks karsinomunda tedavide ve hasta yönetiminde klinik evre, lenf nodu metastazı, tümör boyutu ve invazyon derinliği gibi bilinen prognostik faktörlere rağmen relaps riskini azaltmak ve tedavi protokollerini belirlemek için daha iyi prognostik belirleyicilere ihtiyaç duyulmaktadır. Epitelyal mezenkimal geçiş (transition) (EMT), embriyonezde anahtar rol oynayan, tümör gelişim ve progresyonuyla sıkı ilişki içinde olan bir konudur. Bu çalışmada EMT hipotezi üzerinden EMT indükleyici ve kötü prognozla ilişkili olarak tanımlanan Snail antikoru ile EMT’nin serviks karsinomundaki rolünü ve prognoz ile ilişkisi incelenmektedir.

Gereç ve yöntem: 2004 ile 2014 yılları arasında, DEÜTF Tıbbi Patoloji AD’de, serviks karsinomu tanısı alan 86 adet olguya ait tümörlü parafin bloklardan ve kontrol grubunu oluşturan 34 olgunun benign servikal dokularından kesitler hazırlanmıştır. Bu kesitlere epitelyal mezenkimal geçiş düzenleyicisi olan Snail immunohistokimyası uygulanmıştır. Daha sonra, mikroskopik olarak, boyanma durumlarının prognoza olan etkisi araştırılmıştır.

Bulgular: Snail boyanma varlığı ile lokal nüks, uzak metastaz, ölüm, tümör tipi, evre, pelvik lenf nodu, paraaortik lenf nodu, lenfovasküler invazyon, vajen tutulumu, parametrium tutulumu, cerrahi sınır durumu ve endometrium tutulumu gibi parametreler arasında Fisher’s exact testine göre istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır (sırasıyla p değerleri; $p= 0.717$, $p= 0.458$, $p= 0.395$, $p= 1.000$, $p= 0.272$, $p= 0.685$, $p= 1.000$, $p= 0.065$, $p= 0.532$, $p= 0.647$, $p= 1.000$, $p= 1.000$).

Sonuç: Serviks karsinomlu olgularda Snail ekspresyonu ile çok sayıda klinik ve patolojik verinin ilişkisinin incelendiği alışmamızda, Snail ekspresyonu ile literatürde prognozla bağlantılı olduğu belirtilen parametreler arasında anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: serviks karsinomu, Snail, epitelyal, mezenkimal, geiř

ABSTRACT

Aim: Cervix carcinoma is the most common gynecologic malignancy around the world. Each year in Turkey, 50% of 1364 cases with cervical carcinoma die due to this disease. On the treatment of cervix carcinoma, despite well-known prognostic factors like clinical stage on patient management, lymph node metastasis, tumor size, depth of invasion, better prognostic determinants are required to reduce the risk of relapse and to determine treatment protocols. EMT has a key role on embryogenesis and has a close relation to tumor progression and dissemination. In our study, through EMT hypothesis we will examine the role of EMT on cervix carcinoma and relation to prognosis, and Snail antibody that described as connected to worse prognosis and inductive EMT.

Method: 86 cases with cervical carcinoma were studied this study which had diagnosis of uterin cervix carcinoma between 2004-2014 years. Also there was a control group which was composed of 34 tumor-free benign cervical tissue. The sections were prepared from paraffin-embedded blocks. Later, epithelial mesenchymal transition regulator Snail immunohistochemical applied to these sections.

After that, microscopically, situation of staining was evaluated between two groups and the effect of staining to the prognosis.

Results: There was no relationship between Snail and local relapse, distant metastasis, overall survival, tumor type, stage, pelvic lymph nodes, paraaortic lymph nodes, lymphovascular invasion, vaginal involvement, parametrial involvement, surgical margins, and endometrial involvement ($p= 0.717$, $p= 0.458$, $p= 0.395$, $p= 1.000$, $p= 0.272$, $p= 0.685$, $p= 1.000$, $p= 0.065$, $p= 0.532$, $p= 0.647$, $p= 1.000$, $p= 1.000$, respectively).

Conclusion:

In contrast the current literature, we evaluated that there was no association between Snail expression and most clinic/pathologic parameters in uterin cervix carcinoma.

Key words: Cervical carcinoma, Snail, epithelial, mesenchymal, transition.

I GİRİŞ ve AMAÇ

1.1 Giriş

Serviks kanseri, dünya çapında meme karsinomundan sonra en sık görülen kanser olup akciğer ve meme kanserinden sonra en öldürücü olan kanser tipidir. Her yıl yaklaşık 529.000 yeni olgu tanı almaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda kansere bağlı ölümlerin önemli bir nedenidir [1]. 2012’de 12.170 yeni olgu ve 4.220 ölüm bildirilmiştir [2]. İnsidansın azalmasına rağmen Birleşik Devletler’deki 21-39 yaş arasındaki kadınlarda ölümlerin 2. en sık nedenidir [2]. Moleküler, klinik ve epidemiyolojik çalışmalar serviks karsinomu patogeneğinde HPV enfeksiyonunun rolünün olduğunu göstermektedir. Serviks karsinomlarının %90’ından fazlasında özellikle HPV 16 ve HPV 18 olmak üzere spesifik HPV tipleri saptanmıştır [3].

Türkiye’de serviks kanserleri, kanser nedenli ölümler arasında 13. Sıradadır. Serviks karsinomunda tedavide ve hasta yönetiminde klinik evre, lenf nodu metastazı, tümör boyutu ve invazyon derinliği gibi bilinen prognostik faktörlere rağmen relaps riskini azaltmak ve tedavi protokollerini belirlemek için daha iyi prognostik belirleyicilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla, biz, bugüne kadar diğer kanser türlerinde (over, böbrek, tiroid, mide, meme, karaciğer, nazofarenks) araştırılmış olan epitelyal mezenkimal geçiş (transition) (EMT) hipotezini serviks karsinomunda araştırmayı ve yeni bir prognostik belirteç bulmayı hedefledik [4-10]. EMT, embriyogeneizde anahtar rol oynayan, tümör gelişim ve progresyonu ile sıkı ilişki içinde olan bir konudur [11]. EMT, embriyonik süreçte farklı doku ve organ gelişiminde esas adımı oluştururken, erişkin dokuda homeostaz sağlanması için inhibe edilir. EMT’nin aberran aktivasyonu ise tümör gelişimine, tümör rekürrensine ve metastaza neden olur [12]. Bu çalışmada EMT hipotezi üzerinden EMT indükleyici ve kötü prognozla ilişkili olarak tanımlanan Snail antikorunun serviks karsinomunun prognozu ile ilişkisi incelenmektedir [13, 14].

1.2 Amaç

Retrospektif klinikopatolojik bir çalışma olarak planlanan bu çalışmada; immünohistokimyasal olarak diğer tümörlerde kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilen, EMT yolağı üzerinden etkili, Snail antikor ekspresyonunun serviks karsinomlu olgularda klinikopatolojik prognostik faktörler ve hastalık prognozu ile ilişkisinin ortaya konması amaçlanmıştır.

II GENEL BİLGİLER

2.1 Serviks Karsinomu (SK)

2012 yılında Birleşik Devletler’de, kadın genital sisteminde endometrium (47.130 olgu) ve over tümöründen (22.280 olgu) sonra 12.170 olgu ile (genital kanserlerin %14’ü) 3. en sık görülen neoplazidir [15]. 2012 yılında Birleşik Devletler’de serviks kanseri nedeniyle 4220 kadın (2.0 ölüm/100,000 kadın) ölmüştür. Neoplaziye bağlı ölümlerin %1,6’sından, genital sistem kanserlerine bağlı ölümlerin %14’ünden sorumludur [15]. Tüm dünyada, yaşam boyu bir kadında serviks karsinomu gelişme riski %3, Birleşik Devletler’de %1,1’dir. Serviks karsinomu insidansı bölgelere göre farklılık göstermektedir, bu durum sağlık sistemlerindeki farklılık, tarama programlarının yoğunluğu, major risk faktörlerine maruziyet gibi farklılıklardan kaynaklanır. En düşük insidans batı Asya’da (4.5/100,000) ve en yüksek insidans doğu Afrika’da (34.5/100,000) görülür [16]. Birleşik Devletler’de, yaşa bağımlı insidans Afro-Amerikanlar için 10.3/100.000 Hispanik kökenliler için 11.4/100.000, Hispanik olmayan beyaz kadınlar için 6.7/100.000 [17]. Son elli yılda, birçok gelişmiş ülkede, serviks karsinomuna bağlı hem insidans hem mortalite oranları azalmıştır. Bu azalmaya neden olan en önemli faktör servikal sitoloji taramasındaki başarıdır [18].

Geçmişte jinekolojik kanserlere bağlı ölümlerin önde gelen sebeplerinden biri olan serviks kanserinin (SK) insidansı preinvaziv hastalığın saptanmasını sağlayan Papanikolaou (PAP) smear tarama yönteminin yaygın kullanımı sayesinde belirgin olarak azalmıştır [2]. Buna rağmen günümüzde serviks kanseri meme kanserinden sonra kadınlarda kansere bağlı ölümün en sık 2. sebebini oluşturmaktadır. Çevresel faktörlerin etkisi ve tarama yöntemleri ile prekürsör lezyonları saptanma sıklığının değişmesi nedeni ile serviks kanseri insidansı toplumlar arasında belirgin farklılık gösterir [19]. İnvaziv karsinom tanısı alan kadınların yaşları 40-50 arasında olup, 17 ve 90 yaş arası herhangi bir yaşta da görülebilir [20].

Dünya sağlık örgütü (DSÖ) serviksin epitelyal tümörlerini: skuamöz hücreli karsinom (SHK) ve prekürsörleri, glandüler tümörler ve prekürsörleri, benign glandüler tümörler ve tümör benzeri lezyonlar, diğer epitelyal tümörler ve nöroendokrin tümörler olarak tanımlamıştır (Tablo 1). SHK birkaç dekad önce serviks primer neoplazilerinin nerdeyse %90’ını oluştururken, günümüzde görülme sıklığı %60-70 civarındadır [21]. Adenokarsinomun değişik histolojik varyantları, sarkom, lenfoma ve melanomlar da servikte görülebilir. Endometrial tümörler de

servikse yayılım gösterebilirler fakat diğer tümörlerin metastazlarının servikte görülmesi sık değildir [18].

SK evrelemesinde en son 2014 yılında güncellenen FIGO (Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu) evreleme sistemi kullanılır (Tablo 2)[22]. SK evrelemesi daha çok klinik tabanlı bir evreleme sistemidir [18]. Evre I tümörler servikse sınırlı tümörlerdir ve iki alt grupta incelenir: ilk grup stromaya 5 mm veya daha az invazyon gözteren ve makroskopik olarak görülmeyen tümörlerdir, ikinci grup ise stromaya 5 mm üzerinde invazyon gösteren veya makroskopik olarak görülebilen tümörlerdir. Evre II tümörler serviks dışına uzanım gösterip pelvik duvara uzanmazlar ve vajenin alt 1/3'ünü invaze etmezler. Evre III tümörler pelvik duvara uzanır, ve hidronefroza sebep olur veya vajen alt 1/3'ünü invaze ederler. Evre IV tümörler ise gerçek pelvise doğru uzanır veya klinik olarak mesane ya da rektum mukozasını tutarlar [20].

1847'de Mestwerdt tarafından prognostik olarak değerli olan mikroinvaziv karsinom (MIKA) tanımlanmıştır. MIKA preklinik evre olarak spektrumda skuamöz intraepitelyal lezyonlar (SIL) ile invaziv karsinomlar arasında yer alır. Disemine serviks karsinomundan ölen birçok olguda ya lenfatik yayılım ya 5 mm üzerinde stroma invazyonu ya da 2.5 cm³ üzerinde tümör hacmi vardır. Bu yüzden 5 mm altında stromal invazyon olan tümörler horizontal olarak 7 mm'yi geçmiyor ise evre IA olarak değerlendirilir. Evre IA ise kendi içinde derinlik 3 mm'nin altındaysa evre IA1 ve 3-5 mm arasında ise evre IA2 olarak 2 alt gruba ayrılır (Tablo 2). MIKA olgularının çoğunluğu 35-46 yaş arasında olup tüm SK'nin %20'sini oluşturmaktadır [20]. Birleşik Krallık Ulusal Sağlık Servisinin (NHS) serviks kanseri tarama programında 1991-1993 yılları arasında kadın popülasyonunda MIKA insidansını 100.000'de 3.8 olarak belirlemiştir[20].

Tablo 1: DSÖ (2014) uterin serviks epitelyal tümörler sınıflaması [21]

SKUAMÖZ HÜCRELİ TÜMÖRLER VE PREKÜRSÖRLERİ Skumöz intraepitelyal lezyonlar - Düşük dereceli skumöz intraepitelyal lezyon - Yüksek dereceli skumöz intraepitelyal lezyon Skumöz hücreli karsinom, NOS - Keratinizan - Non-keratinizan - Papiller - Bazaloid - Warthy - Verrüköz - Skuamotransizyonel - Lenfoepitelyoma benzeri Benign skumöz hücreli lezyonlar - Skumöz metaplazi - Kondiloma aküminatum - Skumöz papilloma - Transizyonel metaplazi
GLANDÜLER TÜMÖRLER VE PREKÜRSÖRLERİ Adenokarsinoma in situ Adenokarsinom - Endoservikal adenokarsinom, genel tip - Müsinöz karsinom . Gastrik tip . İntestinal tip . Taşlı yüzük hücreli tip - Villoglandüler karsinom - Endometrioid karsinom - Berrak hücreli karsinom - Seröz karsinom

- Mezonefrik karsinom - Adenokarsinom ve Nöroendokrin karsinomun birlikteliği
BENİGN GLANDÜLER TÜMÖRLER VE TÜMÖR BENZERİ LEZYONLAR Endoservikal polip Müllerian papilloma Naboth kisti Tünnel kümeleri Mikroglandüler hiperplazi Lobüler endoservikal glandüler hiperplazi Diffüz laminar endoservikal hiperplazi Mezonefrik kalıntılar ve hiperplaziler Arias stella reaksiyonu Endoservikozis Endometriozis Tubendometrioid metaplazi Ektopik prostat dokusu
DİĞER EPİTELYAL TÜMÖRLER Adenoskuamöz karsinom - Camsı hücreli karsinom Adenoid bazal karsinom Adenoid kistik karsinom Andiferansiye karsinom
NÖROENDOKRİN TÜMÖRLER Düşük dereceli nöroendokrin tümör - Karsinoid tümör - Atipik karsinoid tümör Yüksek dereceli nöroendokrin karsinom - Küçük hücreli nöroendokrin karsinom - Büyük hücreli nöroendokrin karsinom

Tablo 2: FIGO invaziv uterin serviks karsinomu evrelemesi (2014 modifikasyonu) [22]

Evre	Tanım
I	Tümör servikse sınırlı
IA	İnvaziv karsinom sadece mikroskopik olarak görülür. (Makroskopik olarak görülebilen tüm lezyonlar yüzeysel invazyon olsa dahi evre IB tümörlerdir) Stromaya 5 mm veya altında invazyon gösteren ve ve horizontal olarak 7 mm'yi geçmeyen tümörler
IA1	Stromaya 3 mm altında invazyon gösteren ve horizontal olarak 7 mm'yi geçmeyen tümörler
IA2	Stromaya 3-5 mm arasında invazyon gösteren ve horizontal olarak 7 mm'yi geçmeyen tümörler
IB	Klinik olarak servikse sınırlı veya evre IA'dan daha büyük preklinal lezyonların olması
IB1	Klinik olarak görülebilen tümör çapı 4 cm'yi aşmayan tümörler
IB2	Klinik olarak görülebilen tümör çapı 4 cm ve üzerinde
II	Tümör uterusu uzanım gösterirken pelvik duvara uzanmaz ve vajenin alt 1/3'ünü invaze etmez
IIA	Tümör vajenin üst 2/3'ünü invaze eder ve belirgin parametrial invazyon yoktur
IIA1	Klinik olarak görülebilen tümör çapı 4 cm ve altında
IIA2	Klinik olarak görülebilen tümör çapı 4 cm'nin üzerinde
IIB	Parametrial invazyon vardır ve pelvik duvara uzanım yoktur
III	Tümör pelvik duvara doğru uzanır, rektal muayenede tümör ve pelvik duvar arasında tümörsüz bir alan yoktur ve/veya vajen alt 1/3'ünü invaze eder ve/veya hidronefroza ya da nonfonksiyone böbreğe sebep olur
IIIA	Tümör vajen alt 1/3'ünü invaze eder ancak pelvik duvara uzanmaz
IIIB	Tümör pelvik duvara doğru uzanır veya hidronefroz/nonfonksiyone böbreğe neden olur
IV	Tümörler gerçek pelvise doğru uzanır veya klinik olarak mesane ve/veya rektum mukozası tutulumu yaparlar
IVA	Çevre organlara doğru yayılmış
IVB	Uzak organ metastazı yapmış

2.1.1 Skuamöz Hücreli Karsinom (SHK)

SHK invaziv karsinomlar içerisinde en sık görülen subtip olup tüm karsinomlar içerisindeki oranı %70-80'dir. Moleküler, klinik ve epidemiyolojik çalışmalar HPV enfeksiyonunun servikal SHK gelişiminde rol oynadığını göstermektedir. %90'dan fazla SK, spesifik HPV tiplerinin DNA sekanslarını taşımaktadır. Dünyada en fazla saptanan HPV tipi HPV16'dır. İkinci en sık HPV18 ve sonra sırasıyla 31, 33, 35, 45, 52 ve 58 gelmektedir [20]. DSÖ SK'ye neden olan tip 16, 18, 31,33, 35, 45, 52, 56, 58, 59 ve 60 olmak üzere 13 HPV tipini insanlar için karsinojenik olarak bildirmiştir. Ayrıca HPV dışında da bazı faktörlerin invaziv SK oluşmasında rol oynadığına dair kanıtlar bulunmaktadır. HPV kontrolü yapıldıktan sonra da SK ile belirgin ilişkisi olan faktörlere dayalı 2 çalışma bildirilmektedir. Bu faktörler seksüel partnerlerin sayısı, sigara ve veneryal hastalık öyküsüdür [20]. Yüksek riskli HPV tipleriyle enfekte olgularda oral kontraseptif kullanımı da yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (HSIL) ve invaziv karsinom gelişimini arttıran bir diğer faktördür [20].

SK'nin tüm histolojik tiplerinde semptomlar lezyonun boyutuna ve evresine bağlı değişkenlik göstermektedir. Rutin medikal bakım seviyesine bağlı olarak hastaların büyük bir kısmı anormal servikal sitoloji ile başvururlar. Günümüzde evre I tümörlü kadınların tanı anında ortalama yaşı 47, evre III ve IV'te ise 57'dir. Evre I tümörlerin %30'u 40 yaşının altındadır. Erken evre hastaların %60'ında aralıklı, ağrısız vajinal kanama vardır, bunların çoğu postmenopozal olup kanama bazen postkoitaldir. İleri hastalıkta, kanama, sürekli ve eşlik eden kötü kokulu akıntı vardır.

Endopelvik fasyanın serviksi anterior-posterior düzlemde sarmasıyla doğal bir bariyer görevi görür ve SK önce parametrium ve ureter yönünde büyüme gösterir, daha sonra mesane ve rektumu infiltre eder [23]. Üreteral obstrüksiyon ve renal yetmezlik, tedavi edilmemiş SK'nin işaretleridir. Ağrı %10'dan az olguda vardır, sıklıkla yan ağrısı ve bacak ağrısı şeklindedir bu da tümörün pelvik duvarı veya lumbosakral sinir köklerini invaze ettiğini gösterir. Ödemli alt ekstremiteler lenfatiklerin tutulduğunu gösterir. İleri evre hastalıkta dizüri, hematüri, rektal kanama, veya konstipasyon mesane ve rektum tutulumuna işaret eder [18, 20].

Erken evre invaziv skuamöz hücreli karsinomu (SHK) makroskopik olarak çıplak gözle ayırt etmek kolay değildir. Tümör; pütürlü, kabarık, manüplasyona bağlı kırmızı, granüler, kanamalı

görünümde olabilir. Bununla birlikte makroskopik olarak, erken invaziv karsinomu, endoservikal tip epitelin ektoserviksi döşediği ektropion ile ayırmak zordur. İleri evredeki tümörlerin makroskopik özellikleri bulunduğu bölgeye, büyüme paternine ve nekroz oranına göre değişiklik gösterir. Çoğu SHK klinik meydana getirdiğinde spekulum muayenesinde eksternal osta görünür haldedir. Bununla birlikte bazı hastalarda makroskopik olarak görünen tümör olmamasına rağmen serviksin diffüz tutulumu mevcuttur. Az sayıda SHK endoserviksi genişletmeden, fiçı serviks oluşturmada kanala sınırlı kalıp, makroskopik olarak görünür olmayabilir. SHK baskın olarak yüzeyden ekzofitik, polipoid büyüme paterni gösterebilir veya yüzeyde büyüme olmaksızın çevre yapıları infiltre ederek endofitik büyüme gösterebilir. İnfiltratif lezyonlar yaygın bir şekilde stromayı tutabilir ve bu lezyonlar yüzeyde minimal değişiklik gösteren sert lezyonlar olarak palpe edilebilir. Nekroz belirginse ülserasyon oluşur. Ülseratif olgularda genellikle ektoserviks ve bazen üst vaginal duvar tutulumu vardır [18].

Mikroskopik olarak invaziv SHK anastomoz yapan dil şeklinde yapılar veya kordlar oluşturan neoplastik epitelin stromayı invaze etmesiyle karakterizedir. Karakteristik olarak infiltratif ada ve kümelerin konturları düzensiz ve dağınıktır. Bazı olgularda ise tümör hücreleri tek tek dağılmış ya da stromayı tümüyle neoplastik skuamöz hücrelerle değiştirmiş olarak karşımıza çıkmaktadır. İnvaziv adaların merkezindeki hücreler sıklıkla nekroza ya da yaygın keratinizasyona gitmektedir. Tanımlanan hücreler genellikle poligonal ya da oval eozinofilik sitoplazmalı belirgin hücre membranı olan hücrelerdir. İntersellüler köprüler görülebilir ya da görülmeyebilir. Bazı olgularda nükleus göreceli olarak uniform görünümde olup diğer olgularda ise hafif pleomorfik olabilir. Çoğu olguda kromatin kaba ve kümelenmiş görünümündedir. Ayrıca anormal formları da içeren mitotik figürler sıklıkla dikkati çekmektedir [20].

DSÖ 2014 sınıflamasında invaziv SHK'nin 8 histolojik varyantı tanımlanmıştır. Bunlar: Keratinizan SHK, Nonkeratinizan SHK, Bazaloid, Verrüköz, Warty/Kondilomatöz, Papiller, Skuamotransizyonel, Lenfoepitelyoma-like karsinomdur [21].

Keratinizan Skuamöz Hücreli Karsinom

Olguların altıda birini oluşturur. Tanım için keratin incilerinin görülmesi gerekir. Keratin incileri, merkezinde asellüler keratin adası bulunan skuamöz epitel hücrelerinin yuvarlak, girdap

benzeri görüntü oluşturmaktadır. Tümör hücreleri genellikle matür ve organize tümör adaları ve kordlarından oluşur. Skuamöz hücreler, büyük ve genellikle bol eozinofilik sitoplazmalıdır. Hücreler birbirine sıkıca tutunmuştur ve belirgin hücreler arası köprü içerirler. Nükleus büyük veya piknotik olabilir. Mitotik aktivite diğer tümör tipleriyle karşılaştırıldığında göreceli olarak seyrek. Tek hücre keratinizasyonu (diskeratoz) olabilir. Skuamöz inciler veya yaygın keratinizasyon, keratinizan varyantı tanısı için gereklidir [18].

Nonkeratinizan Skuamöz Hücreli Karsinom

Olguların üçte ikisini oluşturur. Genellikle poligonal hücrelerden oluşur. Tek hücre keratinizasyonu olabilir ama keratin incileri yoktur. Sellüler ve nükleer pleomorfizm tipik olarak iyi diferansiye skuamöz tümörlerden daha belirgindir, mitotik figürler oldukça belirgindir. Hücre sınırları seçilebilir, bazen hücreler arası köprüler olabilir. Bazen tümör fokal skuamöz epitel diferansiasyonu içerebilir. Daha az diferansiye hücreler derin stromal alanları tutarken, yüzeyel alanlar yaygın intrasitoplazmik glikojen birikimine bağlı olarak sitoplazmik diferansiyasyon gösteren hücrelerden oluşur [18].

Bazaloid Skuamöz Hücreli Karsinom

Olguların yaklaşık altıda birini oluşturur. Küçük, oval, dar sitoplazmalı (HSIL’da görülen hücrelere benzer şekilde) bazaloid hücreler adalar ve kitleler oluşturur [24]. Nükleus genellikle uniform, hiperkromatik ve küçük olup belirgin mitotik aktivite izlenir. Nekroz sıklıkla vardır. Skuamöz diferansiyasyon ve keratinizasyon odağı olabilir, keratin incileri nadiren görülür. Endokrin karsinomlardan karakteristik olarak argirofilik görünümün olmaması ve diğer immunohistokimyasal ve ultrastrüktüel özellikler ile ayrılır. SHK’nin bu varyantı, pek iyi tanımlanmamıştır ve agresif bir tümördür [25].

Verrüköz Karsinom

SHK’nin bu çok iyi diferansiye varyantı vulvada daha sık görülür. Hiperkeratoz, ondülasyon, warty, yüzey ve alttaki stromaya doğru bulböz epitelyal çıkıntılar oluşturarak itici bir sınır oluşturur. Tümör hücreleri bol sitoplazmalıdır, nükleusları minimal atipi gösterir. HPV’nin sitopatik etkisi (koilositoz) spesifik olarak yoktur. Eksizyon sonrası lokal rekürrens gösterebilir fakat metastaz yapmaz [21].

Warty/Kondilomatöz Skuamöz Hücreli Karsinom

Warty yüzeyi olan ve küçük büyütmede yapısal olarak kondilom ya da vulvanın Bowenoid lezyonuna benzer görüntü vardır. Erken invaziv lezyonlarda epitelde keratinizasyon vardır. Hücrelerde karakteristik olarak koilositik atipi görülür [21].

Papiller Skuamöz Hücreli Karsinom

HSIL özellikleri gösteren epitel ile döşeli ince veya geniş bağ doku içeren papilladan oluşur. Bowenoid morfolojinin olmaması ve belirgin skuamöz diferansiyasyonla Warty SHK'den ayrılır [21].

Skuamotransizyonel Karsinom

Servikte nadir görülen bir tümördür. Mesanede görülen formuyla ayırt edilemez. Fibrovasküler kor yapıları içeren papiller yapı oluşturup çok sıralı HSIL benzeri epitel ile döşelidir [21].

Lenfoepitelyoma benzeri Karsinom:

Servikte nadir görülen bir tümördür. Andiferansiye skuamöz epitel hücrelerinin oluşturduğu adalar, zeminde çok sayıda lenfosit ve lenfositlerin epitelyal hücreleri infiltre ettiği görülür. Tümör hücreleri uniform, veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü ve silik eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Hücre sınırları belirsizdir ve çoğunlukla sinsityal yapı benzeri gruplar oluşturur [21].

Serviks SHK'de universal olarak kabul edilen derelendirme sistemi yoktur. Bununla birlikte en sık kullanılan derecelendirme sistemi ilk kez 1920'de Broder tarafından önerilen sistemin modifiye halidir [20]. Bu sistem, keratinizasyon derecesi, sellüler atipi ve mitotik aktivite göz önüne alınarak oluşturulmuştur [18].

İyi diferansiye (Derece I) tümörler tek hücre keratinizasyonu içeren yoğun eozinofilik sitoplazmalı hücrelerdir. Mitotik figürler sıklıkla vardır, özellikle tümör adalarının periferindedir. İyi diferansiye tümörler tipik olarak keratin incileri içerir.

Orta derecede diferansiye (Derece II) tümör hücreleri derece I tümörlerden daha pleomorfiktir, daha az sitoplazmalı ve nükleusları daha iri ve düzensizdir. Hücre sınırları belirsizdir. Keratin

incileri sık değildir, tümör hücreleri genellikle keratinizedir. Mitoz derece I tümörlerden daha fazladır.

Az diferansiye (Derece III) tümör hücreleri hiperkromatik oval nükleusları, dar, belirsiz sitoplazmaları ile HSIL hücrelerine benzer şekilde primitif görünümündedir. Mitoz sıktır ve sıklıkla yaygın nekroz vardır. Keratinizasyon kanıtı bulmak zordur [18].

Patologlar arasında dereceyi değerlendirme konusunda yüksek bir uyum olmasına rağmen, herhangi bir derecelendirme sisteminin prognoz üzerinde belirgin etkisi yoktur. Tek tek incelendiğinde ise keratinizasyonun, nükleer derecenin, infiltrasyonun veya mitotik aktivitenin prognozu etkilemediği görülmektedir [26].

SK'da çok sayıda prognostik faktör çalışılmıştır. Evre, hastalığın anatomik yayılımına ve tümör boyutuna bağlı olarak tek ve en önemli prognostik faktördür [27]. 5 yıllık sağkalım evre IA1'de % 97,5 iken IB2'de % 75,7'dir. Evre III' te tüm sağkalım % 40'dır [27].

Histolojik tip ve tümör derecesinin prognoz üzerine etkisi azdır. Cerrahi olarak tedavi edilen erken evre tümörlerde (evre IB ve IIA), tümör boyutu, invazyon derinliği, parametrial tutulum, nodal invazyon ve lenfovasküler invazyonun sağkalımda belirgin etkisi olduğu bildirilmektedir [26-28].

Evre I tümörlerde invazyon derinliği, sağkalım üzerine etkisi olan bir faktördür [18]. Lenfovasküler invazyon (LVİ) uzun zamandır kötü prognostik faktör olarak bilinmektedir [29]. Bununla birlikte kritik olan soru bağımsız bir faktör olup olmadığı ya da basitçe tümör boyutuna bağlı olup olmadığıdır. Bazı diğer faktörler örneğin LVİ pozitifliğinin kantitatif değeri daha önemli bir prediktördür [30]. Ayrıca LVİ olan ve olmayan olgularda sağkalım açısından bir fark bulunmadığını bildirilmektedir [31]. Genel kabul gören görüş metastatik lenf nodu sayısı, tutulan nodal grup sayısı, metastazların boyutunun prognostik önemi olduğudur [32]. Bu özellikler primer servikal tümör boyutu ile değişiklik gösterebilirken, bazı yayınlar lenf nodu metastazının bağımsız prognostik faktör olduğunu savunmaktadır [33]. Tutulan lenf nodu sayısı arttıkça sağkalım azalmaktadır. Bir seride lenf nodu tutulumu olmayan düşük evreli tümörlerde sağkalım %90, bir-üç adet lenf nodu tutulumunda %70, dört ve dördün üzerindeki lenf nodu tutulumunda ise % 38 sağkalım bildirilmektedir [34]. Lenf nodu pozitif olan olgularda servikal tümörü küçük olanların sağkalımı büyük tümörü olanlardan daha fazladır. Lenf nodu metastazı 2 mm'den

küçük olanlar, metastazı 2 cm' den büyük olanlardan daha yüksek sağkalım oranına sahiptir (%85'e %38) [34].

Tümör boyutu evre I ve II için ayırt edicidir. Beklendiği üzere prognozla koreledir. Çoğu çalışmada, tümör boyutu çap olarak verilmektedir [35]. Devamlı olarak bir değişken olarak kullanıldığında sağkalım üzerinde iyi bir prediktördür [36] Bazı çalışmalarda tümör hacminin anahtar prognostik parametre olduğu bildirilmektedir [34-37]. Tümör hacmi 2 cm³'ün altında olan olgularda sağkalım oranı %90 iken, 30 cm³'ten büyük olgularda sağkalım %65'tir. 2 ve 30 cm³ tümör çapı olarak sırasıyla 1,6 ve 3,8 cm'ye karşılık gelmektedir. Son yıllarda magnetik rezonans görüntüleme olanağı ile tümör hacmini öngörmek rutinde uygulanmaktadır [18].

Peritümöral lenfatik yoğunluk, D2-40 antikoru ya da lenfatik damara karşı gelişen hyaluronan reseptör 1 antikoru ile değerlendirilebilmekte ve erken evre SK'de prognostik belirleyici olarak kullanılabilmektedir. Yüksek peritümöral lenfatik damar yoğunluğu artmış lenf nodu metastazı ve azalmış sağkalımla ilişkilidir [38] [39]. Benzer şekilde, anjiogenezi uyaran artmış vasküler endotelial büyüme faktörü de ileri evre ve artmış lenf nodu metastazı ile ve bazı çalışmalarda da azalmış sağkalımla ilişkilidir [40-42]. Güncel bir jinekoonkoloji grup çalışmasında ise VEGF düzeyleri değil, artmış CD31 immunohistokimyasal boyası kullanılarak ölçülen mikrodamar dansitesinin yüksek bulunduğu ve erken evre SK'de yüksek risk içeren bağımsız bir prognostik faktör olduğu bildirilmektedir [42].

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda prognostik faktör olabilecek spesifik yüksek riskli HPV genotipini de içeren biyokimyasal belirleyiciler değerlendirilmektedir. 14 yüksek riskli HPV tipinden herhangi biri serviksin SHK'sine neden olabilmekle birlikte olguların üçte ikisinde HPV 16 ve 18 pozitifliği saptanmaktadır [43]. Birçok çalışma spesifik HPV genotipi ile sağkalım arasındaki ilişkiyi araştırmaktadır, bulunan sonuçlar ise HPV 18'in en kötü prognoza sahip olduğu yönündedir. Bir çalışmada ise HPV 18 ilişkili tümörün HPV 16 ilişkili tümöre göre ölüm rölatif riskinin 2.4 kat fazla olduğu, HPV 16/18 içermeyenlerden ise 4.4 kat fazla olduğu saptanmıştır [44].

Diğer araştırmacılar ise onkogen, tümör süpresör gen, hücre siklus protein ekspresyonu, hücre adezyon molekülleri, heterojenite kaybı ve mikrosatellit instabilite gibi değişkenleri incelemiştir [38, 45-48]. Siklooksijenaz 2'nin (COX-2) aşırı ekspresyonu metastatik potansiyeli ve anjiogenezi arttırırken, konağın immun yanıtını apoptozisi azalttığı

belirtilmiştir [49]. EGFR yaklaşık olarak üçte dört SK olgusunda eksprese edilmektedir ve kötü prognozla ilişkilidir [50]. p53 ve RAS mutasyonları ise SHK’de nadir görülmekte olup son çalışmalarda evre, derece ya da sağkalımla ilişkili bulunmamıştır. C-myc onkogen amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu % 20 servikal SHK’li olguda gösterilmiş olup HPV 16 ile ilişkili bulunmuştur. C-myc aşırı ekspresyonu ayrıca bazı çalışmalarda kötü prognoz ile ilişkili olarak saptanmıştır [20].

SHK’nin primer yayılım şekli lokal uzanım ve lenfatik invazyondur. Lokal uzanım bitişikteki vaginal mukozayı, parametrial yumuşak dokuyu ve pelvik duvarı, korpus uteriye, mesane ve rektumu kapsar. Peritona yayılım sık değildir, makroskopik olarak peritonda tümör olmadığı durumda periton sıvısında negatiflik oranı %98,3’tür [51]. Lenfatik yayılım primer olarak parametrial, paraservikal, obturator, hipogastrik, eksternal iliak ve sakral lenf nodlarını, sekonder olarak ise common iliak, inguinal ve para-aortik lenf nodlarına doğrudur. Evre ile lenf nodu metatazi sıklığı ve lokalizasyonu arasında sıkı bir korelasyon vardır. Pelvik lenf nodunda tümör bulunma olasılıkları evre I, II ve III/IV’te sırasıyla %15, %30 ve %40 şeklindedir. Çoğu rekürrens lokaldır ve tanıdan itibaren ilk 3 yıl içinde ortaya çıkar [18].

SK’de cerrahi, RT ve RT ve cerrahinin kombinasyonu veya eş zamanlı RT ve KT olmak üzere 3 temel tedavi yöntemi uygulanmaktadır. Evre IB ve erken evre II olgularda RT ile radikal histerektomi ve pelvik lenfadenektomi ile identik sonuçlar alınmaktadır. Evre IA1, IA2, IB1 olgularda tümör boyutu 2 cm altındaysa fertilitiyi korumak için radikal trakelektomi ve laparoskopik pelvik lenfadenektomi kabul gören tedavi şeklidir [20]. KT’de sıklıkla sisplatin yalnız başına ya da diğer ajanlarla birlikte kullanılır.

2.1.2 Adenokarsinom

Gelişmiş ülkelerde SK’lerin %10-25’ini oluşturur. Uzun süreli oral kontraseptif kullanımı, karşılanmamış östrojen gibi faktörlerle ilişkili olabileceği düşünülmekte olup henüz kanıtlanmamıştır. Ortalama görülme yaşı 50’dir. Olguların büyük bir kısmı (%94) yüksek riskli HPV tipleri olan tip 18, 16 ve 45 ile ilişkilidir. SHK’nin aksine tip 18, tip 16’dan daha sıktır. %80 olguda anormal uterin kanama ve kitle vardır [21].

Makroskopik olarak yaklaşık %50 olguda ekzofitik büyüme paterni görülür. Daha düşük oranda ise yüzey epitelinde ülserasyon ve servikal duvarın diffüz tutulumuna bağlı olarak fıçı serviks görünümü vardır [21].

Mikroinvaziv AK'lar, AK'ların %12'sini oluşturur ve görülme yaşı ortalama 39 olup invaziv AK'nin pik yaşından 7 yaş erkendir. Mikroinvaziv AK, adenokarsinoma in situ (AIS) histolojik özelliklerini gösteren, pembe, bol sitoplazmalı, parmak benzeri uzanımları olan epitelin stromaya girmesi sıklıkla invazyonun ilk histolojik belirtisidir ve mikroinvaziv SHK'ye göre irregüler dağılım ve normal endoservikal kriptlerin servikal stromadaki yapısı, erken stromal invazyon, ve AIS ayrımını zorlaştırmaktadır [52]. Histopatolojik olarak ödem, enflamasyon ve desmoplaziyi içeren stromal yanıt olabilir ya da olmayabilir. Konfluan glandüler patern ve kompleks gland yapısı invazyonun belirgin paternleridir [52].

DSÖ serviks AK'lerini; endoservikal AK, sık görülen tip, müsinöz karsinom, (NOS, gastrik tip, intestinal tip, taşlı yüzük hücreli tip), villoglandüler karsinom, endometrioid karsinom, berrak hücreli karsinom, seröz karsinom, mezonefrik karsinom ve nöroendokrin karsinomla birliktelik gösteren AK olarak sınıflandırmaktadır. Histolojik varyantlar arasında minimal prognostik fark mevcuttur [21].

Endoservikal AK, sık görülen tip tüm serviks AK'ların %90'ını oluşturur [21]. Histopatolojik olarak hücreler kolumnar, elonge, hiperkromatik nükleuslu olup belirgin atipi ve nükleer pleomorfizm gösterebilir. Ayrıca hücreler sıklıkla stratifiedir ve amfofilik ya da eozinofilik apikal sitoplazma içerir. Apoptotik cisimler yanısıra mitotik figürler sıktır. Kribriiform patern oldukça sık görülür. İyi diferansiye tümörler (%10'dan az solid alan içerenler), orta derecede diferansiye tümörler (%11-50 solid alan içerenler) ve az diferansiye tümörler (%51'den fazla solid alan içerenler) olarak sınıflandırılırlar [20].

AK'ların prognostik faktörleri tümör çapı, invazyon derinliği, lenfovasküler tutulum, parametrial tutulum, evre, yaş, lenf düğümü metastazlarının varlığı ve yokluğu olarak bildirilmektedir. Kötü prognostik faktörler ise 3 cm'nin üzerinde tümör çapı, uterin genişlik ve kötü histolojik dereceyi içerir [20].

5 yıllık sağkalım, aynı evredeki SHK'daki sağkalımla benzerlik gösterir. Evre IA1'de %100, IA2'de %93, IB1'de %89, IB2'de %83, II'de %49, III'te %34 ve IV'te %3 olarak

bildirilmektedir [21]. SHK ve AK genellikle benzer tedavi şekillerine sahiptir. Sıklıkla evre I ve II AK'lere yalnızca RT, RT ile birlikte KT, basit histerektomi sonrası RT ve radikal cerrahi tedavi seçenekleridir [53].

2.1.3 Diğer Epitelyal Tümörler

DSÖ sınıflamasında serviksin diğer invaziv karsinomları: adenoskuamöz karsinom, adenoid bazal karsinom, adenoid kistik karsinom ve andiferansiye karsinomdur [21].

Adenoskuamöz karsinom, adenokarsinom ve SHK alanlarını birlikte içerir. Histolojik olarak SHK olgularında saçılmış halde müsin üreten hücreler görülebilir, bunlar adenoskuamöz karsinom olarak değerlendirilmemelidir. Camsı hücreli karsinom, adenoskuamöz karsinomun az diferansiye bir varyantıdır [21].

Adenoid bazal karsinom, küçük iyi diferansiye, yuvarlak bazaloid hücre adalarından oluşan bir tümördür. Diğer karsinomların aksine rezerv hücrelerden köken alır. Adenoid kistik karsinom ile aynı morfolojik spektrumda bulunur [21]. Adenoid kistik karsinom tükrük bezindeki morfolojiye benzer görünümündedir. Sık lokal nüks ve ya metastatik yayılım ile agresif gidişlidir [20].

2.1.4 Nöroendokrin Tümörler

Serviksten kaynaklanan nöroendokrin tümörler için önerilen terminoloji gastro-enteropankreatik nöroendokrin tümörler için kullanılanın aynısıdır. DSÖ, düşük dereceli nöroendokrin tümör ve yüksek dereceli nöroendokrin karsinom olarak iki ana kategoriye ayırır. Düşük dereceli nöroendokrin tümörü de derece I (tipik karsinoid) ve derece II (atipik karsinoid) olarak iki sınıfta incelenir. Derece I tümörler bol sitoplazmalı, karakteristik granüler kromatinli ve nükleolü seçilebilen tümörlerdir. Büyüme paterni organoid, iğsi, yuvalanma benzeri, ada ve trabeküler görünümde olabilir. Derece II tümörler, derece I tümörlerden artmış nükleer atipi ve artmış mitoz ile ayırt edilir, nadiren nekroz olabilir. Gastro-entero-pankreatik NET'lerde kullanılan Ki67 immunohistokimyası ve mitoz sayısı temel alınarak tümör derecesi belirlemek serviks NET'lerinde geçerli değildir [21].

Yüksek dereceli Nöroendokrin karsinom (derece III) ise küçük hücreli nöroendokrin karsinom (KHNEK) ve büyük hücreli nöroendokrin karsinom (BHNEK) olarak iki grupta incelenir.

KHNEK, küçük, ovoid monoton hücre popülasyonundan oluşur. Hücreler hiperkromatik nükleuslu, molding yapan ve dar sitoplazmalıdır. Sıklıkla bol mitoz, apoptotik aktivite, yaygın nekroz birlikte bulunur. BHNEK diffüz, organoid, trabeküler veya kord benzeri büyüme gösterir. Hücreler bol sitoplazmalı, iri nükleuslu, belirgin nükleollü ve yüksek mitotik aktivitelidir. Yüksek dereceli Nöroendokrin karsinom oldukça agresif tümörlerdir ve sıklıkla ileri evrede tanı alırlar. 5 yıllık sağkalım KHNEK için %14-39'dur [21].

2.2 İmmunohistokimyasal Belirleyici

2.2.1 Snail

Snail ilk olarak *Drosophila melanogaster*'da tanımlanmış olup mesoderm formasyonu için gereklidir [54, 55]. Omurgalılarda üç adet Snail aile proteini tanımlanmıştır: Snail1 (Snail), Snail2 (Slug) ve Snail3 (Smuc) [56]. EMT, mikroçevreden kaynaklanan ekstrasellüler matriks (kollagen ve hyaluronik asit gibi) ve epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktör (FGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), kemik morfogenetik proteinleri (BMPs), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), Notch, Wnt, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve sitokinler gibi çok sayıda çözünebilir sekretuar faktörlerin tetiklenmesi ile oluşan dinamik bir süreçtir [57, 58]. Snail ekspresyonu bu EMT süreçlerinde saptanmış olup tümör mikroçevresinde çok sayıda sinyal molekülünün değişik hücresel aşamalarda Snail ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir [56]. Çok sayıda sinyal yolağının kritik düzenlenimi EMT'ye öncülük etmektedir ve Snail ekspresyonu kanser metastazı ile yakından ilişkilidir. İnsan meme karsinomlarında MDA-MB-231 hücrelerinde Snail'in lenf nodu metastazı için gerekli olduğu bildirilmiştir [59]. Ayrıca over karsinomunda metastatik lezyonlarda Snail ekspresyon düzeylerinin artmış olduğu bildirilmektedir [12]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada ise Snail'in indüklediği EMT'nin immünsüpresyonun indüksiyonu yoluyla metastaza yol açtığı gösterilmiştir [60]. Snail düzeylerinin düşük olması tümörü infiltre eden lenfositleri ve sistemik immun cevabı artırarak tümör büyümesi ve metastazını inhibe eder [60]. Bu yüzden Snail metastazı önlemede etkili bir hedefdir [61].

III. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Araştırmanın şekli

Bu çalışma, serviks karsinomlarında epitelyal mezenkimal geçiş düzenleyicisi olan Snail antikorunun prognostik önemini belirlemeye yönelik retrospektif klinikopatolojik bir çalışmadır.

3.2 Hastaların Seçimi

Bu çalışmada, 2004-2014 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı alan ve Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı ve Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda takibi olan 86 adet serviks karsinomu vakası ele alındı. Kontrol grubu olarak 34 adet tümörsüz benign servikal doku çalışmaya dâhil edildi. Patoloji materyalleri Punch biyopsi, LEEP ve Wertheim operasyonu uygulanan olgular yeniden değerlendirildi ve tanıları doğrulandı.

3.3 Verilerin Toplanması

Hastalara ait demografik ve patolojik verilere (yaş, tümörün tipi, histolojik derecesi, evre, tümör çapı, vagen, endometrium ve parametrium tutulumu, cerrahi sınır durumu, lenfovasküler invazyon, metastaz saptanan lenf nodları) patoloji raporlarından, klinik bilgilere (metastaz, lokal nüks, tedavi, takip süresi, uzak metastazsız sağkalım, hastalıksız sağkalım, ölüm) ise Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'na ait verilerden ulaşıldı.

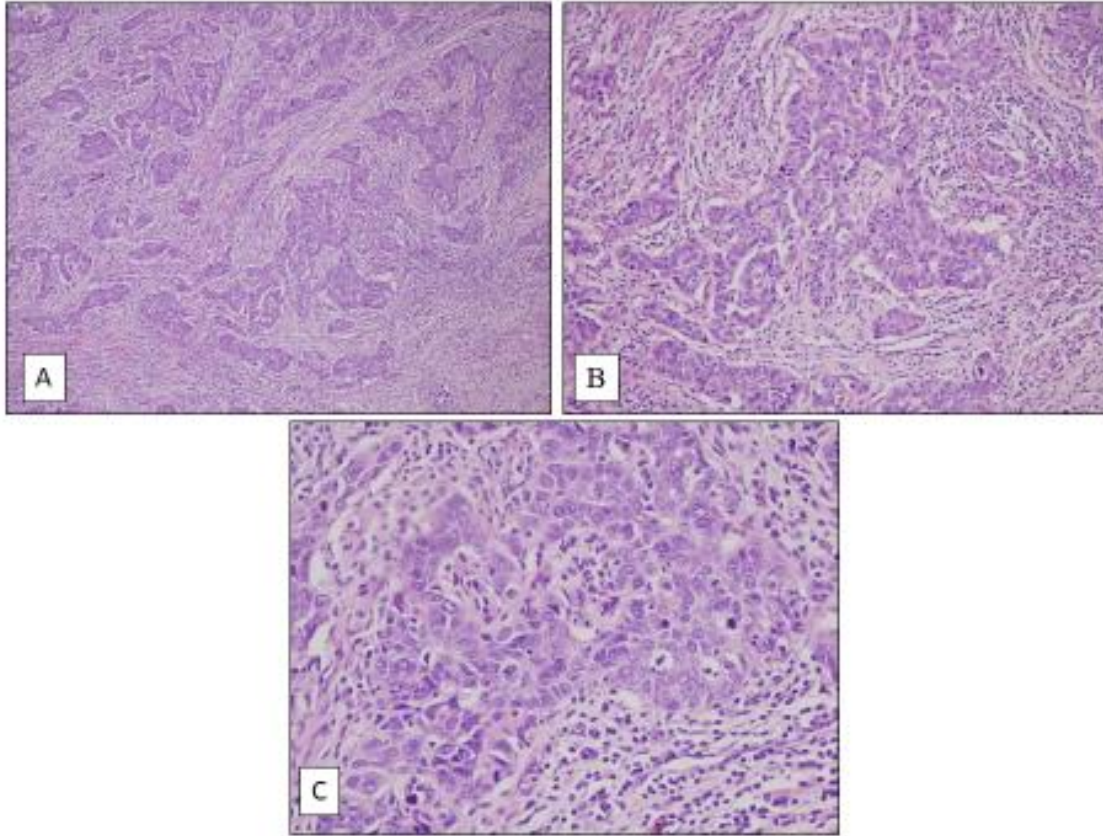
3.4 İmmünohistokimyasal Yöntem

%10'luk formaldehit ile tesbit edilen tümör dokularına ait parafin blok kesitleri incelenerek, her bir olguya ait tümörü en iyi temsil eden bir adet parafin blok seçildi (Resim 1). İmmünohistokimya (İHK) boyama protokolü özetle şu aşamaları içermektedir.

1. 3 mikron kalınlığında elde edilen kesitler poly-l-lysine kaplı lam üzerine alındı.
2. Kesitler etüvde yaklaşık 60°C'de 2-3 saat bekletilerek parafin eritildi.
3. Lamalar cihaza (Ventana Benchmark Ultra) yerleştirildi. 4E-BP1 (P-1) İHK'si uygulanan lamlarda 8 dakika İHK'si uygulanan lamlarda 52 dakika, 95 C'de CC1 solüsyonu ile antijen açığa çıkarma uygulandı.
4. Primer antikorlar (Santa Cruz, Mouse Anti-4E-BP1 (P-1) Monoclonal Antibody IgG, sc-9977 Lot G2314, 200 µg/ml) 1/50 dilüsyonda damlatılarak 40 dk inkübe edildi.

5. Ultra view Universal DAB Detection kit sekonder antikoru uygulandı.
6. Hematoksilen ile 8 dk kontrast boyama uygulandı.
7. Kesitler otomatik kapama cihazında (Sakura, Tissue-Tek Film) kapatıldı.

Pozitif kontrol dokusu olarak pankreas dokusu kullanılmıştır. Erken evre tümörlerde genellikle nükleus ve sitoplazmik boyanma birlikte görülürken, geç evre ve metastatik hastalıklarda nükleus boyanması görülmektedir [12]. Bu nedenle hem sitoplazmik hem nükleus boyanması pozitif kabul edilmiştir. Olguların tümü mikroskopta değerlendirilmiş olup nekroz, stroma, normal epitel alanları göz ardı edilmiştir.



Resim 1: Tümörlü bir alanın farklı büyütmelerdeki H&E boyalı görüntüleri
(A: x100 B: x200 ve C: x400)

3.5 İstatistiksel Değerlendirme

Klinik, histopatolojik ve immunohistokimyasal veriler Statistical Packace for Social Sciences (SPSS) 15.0 kullanılarak istatistiksel verilere dönüştürülmüştür. Analizlerde parametreler arasındaki anlamlılık Fisher's exact test ile sağkalım değerlendirmeleri Kaplan Meier ile yapılmıştır.

IV. BULGULAR

4. 1 Klinik ve Patolojik ve Bulgular

2004-2014 yılları arasında DEÜTF Tıbbi Patoloji ABD’de “Serviks Karsinomu” tanısı alan 86 olgu araştırmaya dâhil edilmiştir. Olguların tanı anındaki yaşları 27-81 arasında değişmekte olup ortalama değeri 53.38’dir (± 12.815). Olgulara ait materyal türleri radikal (histerektomi, bilateral salpingooferektomi ve lenf nodu diseksiyonu), biyopsi, endoservikal küretaj ve konizasyondan oluşmakta olup sırasıyla yüzdeleri %48,9, %45,3, %1,2 ve %4,6’ dır (Tablo 3). En sık görülen tümör tipi SHK (%88,4), SHK dışı diğerleri adenoskuamöz karsinom (ASK) (%5,8), Adenokarsinom (AK) (%3,5) ve az diferansiye karsinomdur (ADK) (%2,3) (Tablo 4). SHK dışı tümörlerin sayısının az olması nedeniyle istatistiksel analizler SHK ve SHKD diğer tümörler olarak gruplandırılmıştır (Tablo 5). Tümör boyutunu bildiğimiz 46 olguda, tümör boyutu 4 cm altında olanlar ile 4 cm ve üzeri olanlar (bulky) gruplandırılmıştır, sıklıkları ise %63,6 ve %33,4’tür. İleri evre olguların sayıları az olduğundan istatistiksel analizler evre I (tümör serviks sınırlı) ve diğer evreler (evre II, III, IV; serviks sınırlı olmayanlar) olarak yapılmıştır.

Tablo 3: Materyal türleri ve sayıları

Materyal türü	Olgu sayısı (n)	Yüzde (%)
Radikal	42	%47,6
Biyopsi	39	%46,5
Endoservikal küretaj	1	%1,1
Konizasyon	4	%4,6
Toplam	86	%100

Tablo 4: Tümör tipleri ve sıklıkları

Tümör tipi	Olgu sayısı (n)	Yüzde (%)
SHK	76	%88,4
AK	3	%3,5
ASK	5	%5,8
ADK	2	%2,3
Toplam	86	%100

Tablo 5: Tümör tiplerinin gruplandırılmış tablosu

Gruplandırılmış tümör tipleri	Olgu sayısı (n)	Yüzde (%)
SHK	76	%88,4
SHKD	10	%11,6
Toplam	86	%100

Olguların takip süreleri 2-90 ay arasında değişmekte olup ortalama takip süresi 35,63 (± 21.597) aydır. Sağkalım analizlerinde 5 yıllık yaşam süresi beklentisi yüksek olup yaklaşık %93'tür. 6 olgu (%6,9) takip esnasında ölmüştür. Genel sağkalım eğrisi 1 no'lu grafikte gösterilmektedir. Tanı esnasında 1 olguda (%1,16) olguda uzak metastaz saptanmıştır. Takip süresi boyunca 7 (%8,13) vakada uzak metastaz saptanmıştır. Uzak metastaz lokalizasyonları akciğer, karaciğer, mediasten, skapuladır. 7 (%8,13) olguda lokal nüks olduğu görülmüştür. Uzak metastazsız sağkalım 35,10 ay, lokal nüksüz sağkalım 35 ay, hastalıksız sağkalım 34,9 aydır. Olgular cerrahi, RT, KT ve bu seçeneklerin farklı kombinasyonlarıyla tedavi edilmiştir.

Radikal materyalleri olan olguların histopatolojik değerlendirilmesinde 7'sinde (%16,3) endometrium, 2'sinde (%5,4) vajen, 6'sında (%15,3) parametrium, 10'unda (%21,3) lenfovasküler aralık tutulumu vardır. Lenf nodu (LN) metastazı 10 (%23,8) vakada

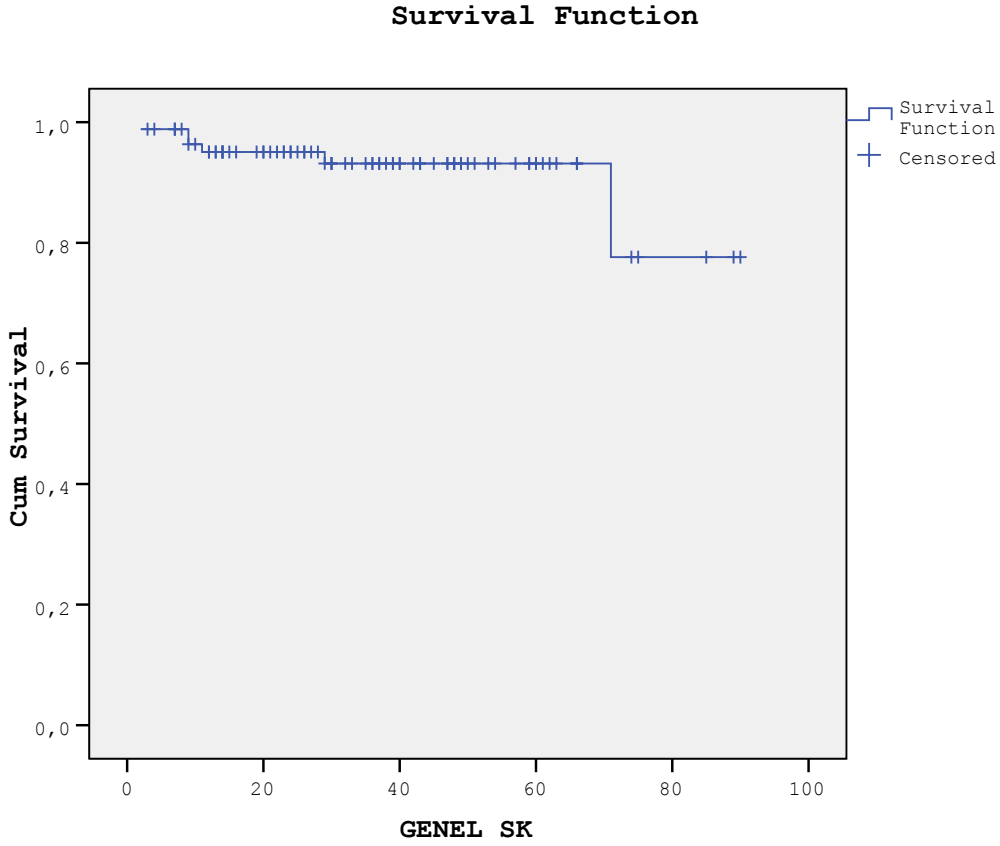
görülmüştür. Bunların 7'si pelvik ve 3'ü paraaortik LN'lerdir (Tablo 6). Cerrahi sınır durumu değerlendirilebilen 39 olgunun 2'sinde (%5,1) cerrahi sınırdaki tümör izlenmiştir (Tablo 7).

Tablo 6: Patolojik parametrelerin tutulumu

Patolojik parametreler	Tutulum var (n/%)	Tutulum yok (n/%)	Toplam (n/%)
Endometrium	7 (%16,3)	36 (%83,7)	43 (%100)
Parametrium	6 (%15,3)	33 (%84,7)	39 (%100)
Lenfovasküler invazyon	10 (%21,2)	37 (%78,8)	47 (%100)
Pelvik LN	7 (%16,3)	34 (%83,7)	41 (%100)
Paraaortik LN	3 (%6,9)	40 (%93,1)	43 (%100)
Vajen	2 (%5,4)	35 (%94,6)	37 (%100)

Tablo 7: Cerrahi sınır durumu

Cerrahi sınır durumu	Olgu sayısı (n)	Yüzde (%)
Cerrahi sınırdaki tümör yok	37	%94,6
Cerrahi sınırdaki tümör var	2	%5,4
Toplam	39	%100



Grafik 1: Genel sağ kalım eğrisi

Olguların izlemi sırasında 37 servikse sınırlı tümörü olan hastanın 3'ünde ölüm görülürken tümörün servikse sınırlı olmadığı 49 hastanın 3'ünde ölüm izlenmiştir. Bu bulgu Fisher's exact test ile karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p= 1.000$). Benzer şekilde 36 servikse sınırlı tümörü olan hastanın 1'inde uzak metastaz görülürken tümörün servikse sınırlı olmadığı 49 hastanın 7'sinde ölüm izlenmiştir. Fisher's exact test ile karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p= 0.130$). Benzer şekilde evre ile lokal nüks arasında da Fisher's exact test ile ilişki bulunmamıştır ($p= 0.458$).

SHK tanılı 76 hastanın 6'sında (%7,9) ölüm görülürken, SHK dışı olarak gruplanan 10 tümörlü hastanın hiçbirinde ölüm görülmemiştir. Buna göre tümör tipi ile ölüm arasında Fisher's exact test ile anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p= 1.000$). SHK tanılı 6 (%7,9) olguda lokal nüks bulunurken, SHK dışı olarak gruptaki 2 (%20) olguda lokal nüks görülmüştür. Tümör tipi ile

lokal nüks arasında Fisher's exact test ile anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p= 0.237$). Benzer şekilde tümör tipi ile uzak metastaz arasında da Fisher's exact test ile ilişki bulunmamıştır ($p= 1.000$).

Tümör boyutunu bildiğimiz olgular 4 cm altı (birinci grup) ile 4 cm ve üzeri (ikinci grup) olarak ayrıldığında; ikinci gruptaki 16 olgunun 3'ünde (%18,8) uzak metastaz görülürken, birinci grupta hiçbir olguda uzak metastaz görülmemiştir. Bu bulgu ile tümör boyutunun 4 cm ve üzerinde olması ile uzak metastaz arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p= 0.045$). Benzer şekilde tümör boyutu ve lokal nüks de ilişkili bulunmuştur ($p= 0.045$). Tümör boyutu ile ölüm ilişkisi araştırıldığında ise Fisher's exact test ile anlamlılık saptanmamıştır ($p= 1.000$).

LN tutulumu olmayan 2 olguda (%5,9) lokal nüks saptanırken, LN tutulumu olan 5 (%50) olguda lokal nüks saptanmıştır. LN tutulumu ve lokal nüks arasında Fisher's exact test ile yapılan analizlerde anlamlı fark bulunmuştur ($p= 0.008$). LN tutulumu olmayan olguların hiçbirinde uzak metastaz izlenmezken, LN metastazı olan 3 (%30) vakada uzak metastaz saptanmıştır. Fisher's exact test ile LN tutulumu ve uzak metastaz arasında ilişki bulunmuştur ($p= 0.005$).

Pelvik LN tutulumu olmayan hastalarda lokal nüks gelişmezken, pelvik LN tutulumu olan 4 (%57,1) olguda lokal nüks görülmüştür. Pelvik LN tutulumu ve lokal nüks arasında Fisher's exact test ile yapılan analizlerde anlamlı fark bulunmuştur ($p= 0.005$). Pelvik LN metastazı olmayan hastaların hiçbirinde uzak metastaz gelişmezken, pelvik LN pozitif olan 7 hastanın 3'ünde (%42,9) uzak metastaz olduğu görülmüştür. Bu bulgu Fisher's exact test ile yapılan analizlerde anlamlı bulunmuştur ($p= 0.003$). Paraaortik LN tutulumu olan (3) ve olmayan (40) hastalar arasında uzak metastaz açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0.204$).

Vajen, endometrium, parametrium, cerrahi sınır, lenfovasküler invazyon gibi diğer histolojik parametrelerle ölüm ilişkisi araştırıldığında Fisher's exact test ile anlamlı sonuç bulunmamıştır (tüm parametreler için p değeri; $p=1.000$). Bu histolojik parametrelerle ölümün istatistiksel olarak anlamlı çıkmamasının nedeninin çalışmamıza dâhil olan olgular arasında ölüm sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

Tedavi durumları değerlendirildiğinde operasyon sonrası radyoterapi almayan 4 (%8,3) olguda ölüm görülürken, operasyon sonrası radyoterapi alan 2 hastada (%5,3) ölüm görülmüştür. Bu bulgu ile anlamlı sonuç elde edilememiştir ($p= 0.690$). Benzer şekilde Fisher's exact test ile

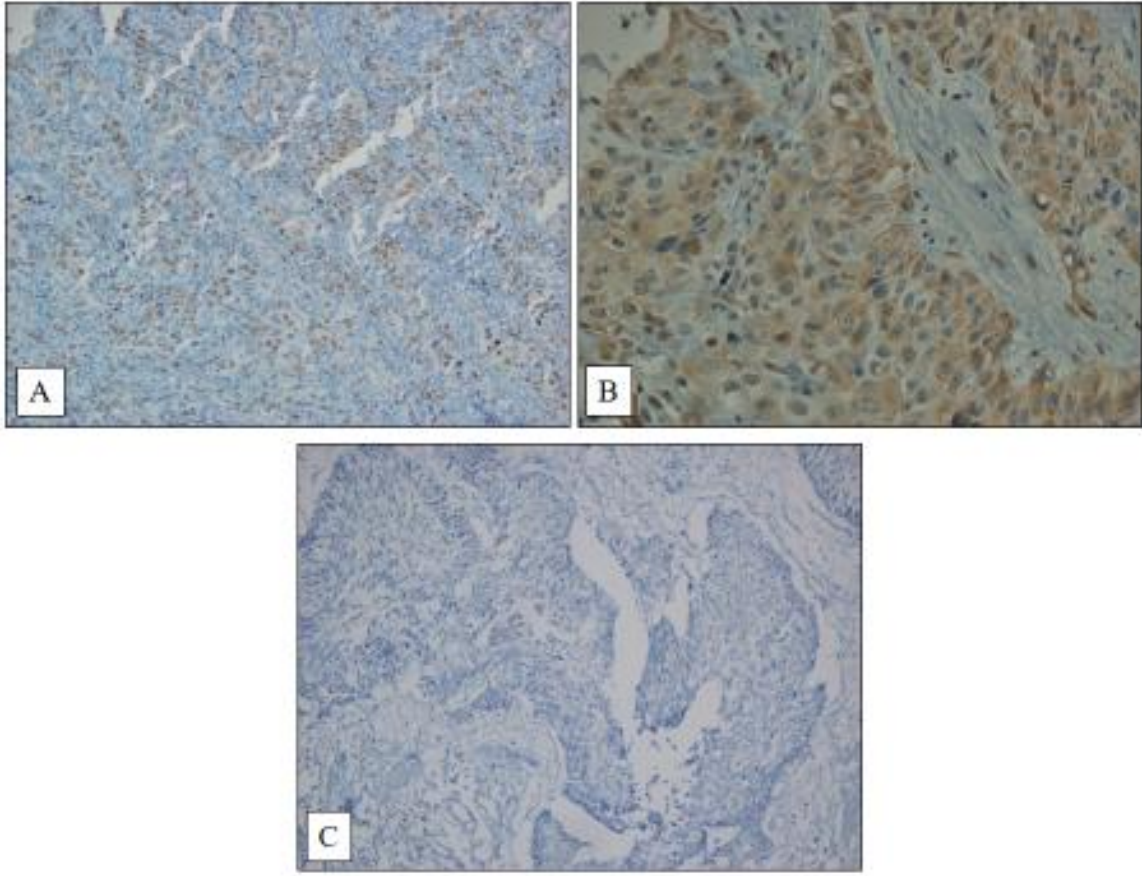
yapılan analizlerde operasyon sonrası radyoterapi ile lokal nüks ve uzak metastaz arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (sırasıyla p değerleri $p= 0.287$, $p= 0.073$). KT alan olguların 45 olgudan 3'ünde (%6,7) ölüm görülürken, KT almayan 41 hastanın 3'ünde (%7,3) ölüm görülmüştür. Bu sonuçlarla KT ve ölüm arasında anlamlılık izlenmemiştir ($p= 1.000$). Benzer şekilde Fisher's exact test ile yapılan analizlerde KT ile lokal nüks ve uzak metastaz arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (sırasıyla p değerleri $p= 0.268$, $p= 0.059$).

4.2 İmmunohistokimyasal Bulgular

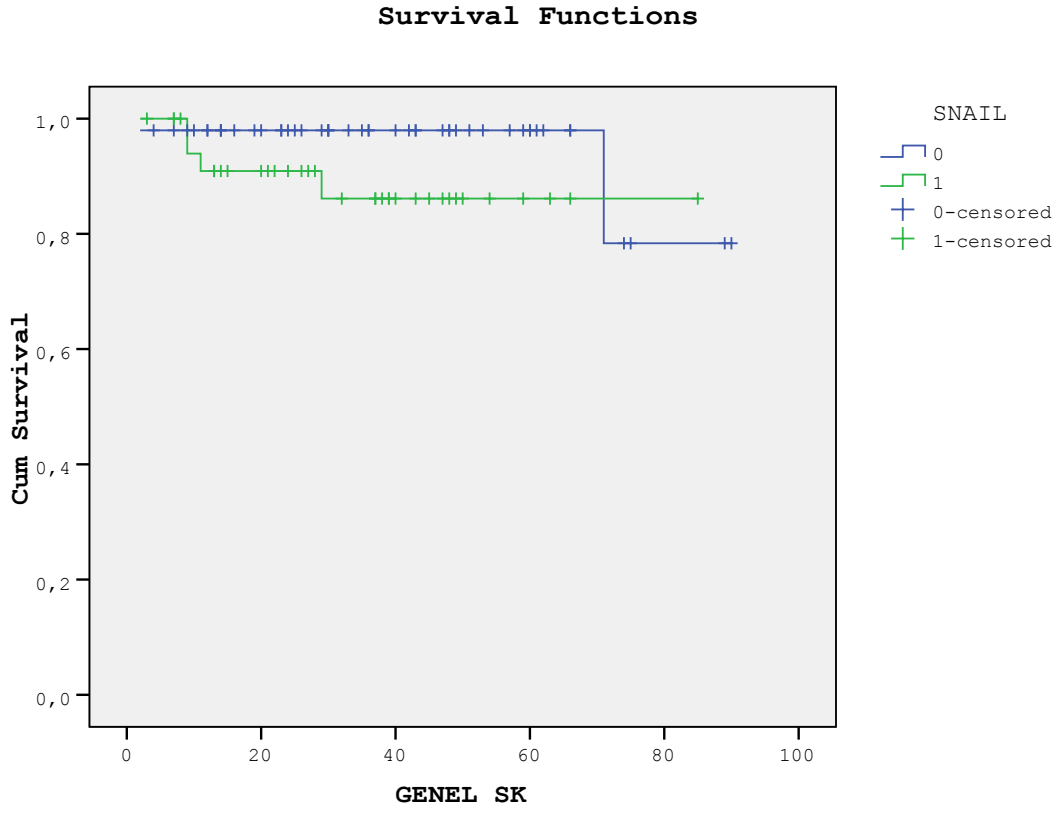
Snail immunohistokimyasal boyama sonuçları pozitif ve negatif olarak değerlendirilmiştir (Resim 2). Tümörlü 86 adet olguya uygulanan Snail immunohistokimyasında 37 (%43) olguda boyanma saptanmış olup 49 (%57) olguda boyanma olmamıştır. Kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilen 34 olgunun hiçbirinde Snail ile boyanma görülmemiştir. Snail ve tümör tipi arasındaki ilişki araştırıldığında, SHK tanılı 76 hastadan 33'ü (%43,4) Snail ile olumlu boyanırken, SHKD tümör tanısı olan 10 hastadan 4'ü (%40) Snail ile olumlu boyanmıştır. Fisher's exact test ile karşılaştırıldığında Snail ve tümör tipi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p= 1.000$). Toplam 8 olguda lokal nüks görülmüş olup, Snail negatif 49 hastanın 4'ünde (%8,2) lokal nüks, Snail pozitif 36 hastanın 4'ünde (%11,1) lokal nüks saptanmıştır. Snail ile lokal nüks arasında Fisher's exact test ile karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p= 0.717$). Snail negatif 49 hastanın 6'sında (%12,2) uzak metastaz, Snail pozitif 36 hastanın 2'sinde (% 5,6) uzak metastaz saptanmıştır. Snail ile uzak metastaz arasında Fisher's exact test ile karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p= 0.458$). Snail negatif 49 hastanın 2'sinde (%4,1) ölüm görülürken, Snail pozitif 37 hastanın 4'ünde (%10,8) ölüm görülmüştür. Snail ile ölüm arasında Fisher's exact test ile karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p= 0.395$). Benzer şekilde diğer patolojik parametreler ile Snail ekspresyonları arasında Fisher's exact test ile anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (tümör tipi için $p= 1.000$, evre için $p= 0.272$, pelvik LN için $p= 0.685$, paraaortik LN için $p= 1.000$, LVİ için $p= 0.065$, vajen tutulumu için $p= 0.532$, PM tutulumu $p= 0.647$, CS durumu için $p= 1.000$ ve EM tutulumu için $p= 1.000$).

Snail boyanma paternleri sadece nükleusta ($n=17$), sadece sitoplazmada ($n=11$) ve hem nükleus hem sitoplazmada ($n=9$) olmak üzere üç ana grupta değerlendirilmiştir. Boyanma paternleri ve

evre, lokal nüks, uzak metastaz, ölüm gibi değişkenler arasında ilişki araştırılmıştır. Buna göre evre I olguların 7'sinde (%41,2); evre II, III, IV olguların 10'unda (%58,8) sadece nükleus boyanması görülmüştür. Fisher's exact test ile nükleus boyanması ve evre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=1.000$). Aynı şekilde nükleus boyanması ile uzak metastaz ve ölüm arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (her ikisi için p değeri $p=1.000$). Evre I olguların 4'ünde (%36,4); evre II, III, IV olguların 7'sinde (%63,6) sadece sitoplazma boyanması görülmüştür. Fisher's exact test ile sitoplazma boyanması ve evre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=1.000$). Aynı şekilde sitoplazma boyanması ile ölüm arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p=1.000$). Evre I olguların 2'sinde (%22,2); evre II, III, IV olguların 7'sinde (%77,8) hem nükleus hem sitoplazma boyanması görülmüştür. Fisher's exact test ile nükleus ve sitoplazma boyanmasının birlikte görülmesi ile evre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=1.000$). Aynı şekilde nükleus ve sitoplazma boyanmasının birlikte görülmesi ile ölüm ve lokal nüks arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (sırasıyla p değerleri $p=0.250$ ve $p=1.000$). Snail pozitif ve negatif olgularda yapılan Kaplan Meier analizinde sağkalım ile anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p= 0.126$) (Grafik 2).



Resim 2: A- Snail ekspresyonunun nükleer pozitif olarak değerlendirildiği tümör alanları (x200), B- Sitoplazmik Snail pozitifliği gösteren tümör alanları (x400), C- Snail ekspresyonunun izlenmediği tümör alanı (x200)



Grafik 2: Snail ekspresyonu ile sağ kalım arasındaki ilişkiyi gösteren eğri

V. TARTIŞMA

Dünyada her yıl SK tanısı alan 493.000 yeni olgu bildirilmekte olup SK'ye bağlı yılda 274.000 ölüm rapor edilmektedir. Kanserlerin %85'i az gelişmiş ülkelerde görülmektedir. SK kadınlarda görülen kanserlerin %15'ini oluşturmaktadır [62] [15]. Türkiye'de ise SK, kadınlar arasında 9. en sık görülen kanser türüdür. Kanser ilişkili ölümler arasında 13. sırada yer almaktadır. GLOBOCAN veri tabanına göre her yıl Türkiye'de tanı alan 1364 hastanın %50'si SK nedeniyle hayatını kaybetmektedir [62]. SHK invaziv karsinomlar içerisinde en sık görülen subtip olup tüm karsinomlar içerisindeki oranı %70-80'dir [20]. Serviks karsinomunda tedavide ve hasta yönetiminde klinik evre, lenf nodu metastazı, tümör boyutu ve invazyon derinliği gibi bilinen prognostik faktörlere rağmen relaps riskini azaltmak ve tedavi protokollerini belirlemek için daha iyi prognostik belirleyicilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla, biz, bugüne kadar diğer kanser türlerinde (over, böbrek, tiroid, mide, meme, karaciğer, nazofarenks) araştırılmış olan epitelial mezenkimal geçiş (transition) (EMT) hipotezini serviks karsinomunda araştırmayı ve yeni bir prognostik belirteç bulmayı hedeflemekteyiz [4-10].

Metastaz, kansere bağlı ölümlerin büyük bir kısmından sorumludur. Metastatik mekanizma kompleks bir süreçtir. Tümör hücrelerinin primer tümörden ayrılması, invazyon, damar içi invazyon, dolaşımda hayatta kalma, ekstrasvazyon ve sekonder dokuya kolonizasyon gibi aşamaları içerir [61, 63]. Kanserde, EMT'nin sağladığı moleküler yeniden programlama ve fenotipik değişiklikler sayesinde immobil kanser epitel hücreleri mobil mezenkimal hücrelere dönüşebilmektedir. Snail/Slug ailesi, Twist, EF1/ZEB1, SIP1/ZEB2 ve E12/E47 gibi çok sayıda transkripsiyon faktörleri farklı mikroçevre uyaranlarına cevap verirler ve EMT programında moleküler değişikliklere neden olurlar [56, 64, 65].

Snail upregülasyonu EMT ile ilişkili olup adheran bağlantıların kaybolmasına, artmış migrasyona ve kanser hücrelerinin artmış invaziv kapasitelerine neden olur. Bununla birlikte Snail birçok kanserin metastatik ve rekürrens potansiyelini belirlemede önemli bir prediktördür [66-70].

Snail'in tümör ile bir diğer ilişkisi ise tümör kök hücre benzer özellikleri artırmasıdır. Kök hücreler erişkin organizmanın doku homeostazisinin temelini oluşturan, sınırsız bölünme kapasiteleri ve uzun süre hayatta kalma potansiyeli olan hücrelerdir. Tümörlerin, kendilerini yenileme yetenekleri ve kök hücre olmayan farklılaşmış hücreler üretebilmeleri nedeniyle gelişip

progrese olabildiğini gösteren kanıtlar artmaktadır [71]. Benzer şekilde tümör kök hücreleri akut myeloid lösemi, meme tümörleri, kolon tümörleri birçok tümörde tanımlanmıştır [72-74]. Son zamanlarda EMT ile tümör kök hücreleri arasındaki ilişki gösterilmektedir. EMT, tümör kök hücrelerinin sekonder tümörlere dönüşebilmesi için gerekli olan kendini yenilemelerini ve çoğalmalarını kolaylaştırır [75].

Snail tümör rekürrensini arttırabilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar EMT'nin tümör metastazında, ilaç rezistansı ve tümör rekürrensinde kritik rol oynadığını göstermektedir. EMT'nin ana düzenleyicisi olan ve tümör kök hücrelerine formasyon için bir çekirdek faktör olan Snail ekspresyonunun tümör rekürrensi ve KT ve RT'ye rezistans ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [61]. Snail terapötik ajanların geliştirilmesinde ilgi çekici bir hedeftir. Snail fonksiyonunu bloke ederek EMT'nin aracılık ettiği metastaz ve invazyon önlenabilir. Snail ve tümör kök hücreleri arasındaki ilişki nedeniyle de Snail inhibitörlerinin tümör rekürrensini önleyebileceği öngörülebilir [61].

Jin ve arkadaşlarının [12] yaptığı bir çalışmada, Snail ekspresyonunun over karsinom progresyonu ve metastazında kritik öneme sahip olduğu bildirilmektedir. Yine aynı çalışmada Snail ekspresyonunun tümör evresi ve metastaz ile korele olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Yang ve arkadaşlarının [65] meme karsinomlu hastalarda yaptığı bir çalışmada ise Snail'in E-cadherin ekspresyonunu süprese ederek metastaz ile ilişkili olduğu saptanmıştır. SK'de yaptığımız çalışmamızda ise Snail ile uzak metastaz ve lokal nüks arasında Fisher's exact test ile karşılaştırılığında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (sırasıyla $p=0.458$, $p=0.717$). Cao ve arkadaşlarının [76] meme karsinomlu olgularda yaptığı bir çalışmada ise artmış Snail ekspresyonunun belirgin bir şekilde yüksek tümör evresi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir ($p=0.013$). Aynı çalışmada artmış Snail ekspresyonunun LN metastazı ile belirgin bir şekilde ilişkili olduğu gözlenmiştir ($p=0.01$).

Yang ve arkadaşlarının [77] 123 hepatosellüler karsinomlu (HCC) olguda yaptığı bir çalışmada major EMT düzenleyicileri olan Snail, Twist ve Slug artmış ekspresyonları saptanmış olup sırasıyla yüzdeleri %56,9, %43,1 ve %51,4 olarak belirtilmiştir. Twist ve Snail'in birlikte artmış ekspresyonlarının ise HCC için kötü prognostik olduğu bildirilmiştir. Hung ve arkadaşlarının [78] 87 küçük hücreli dışı akciğer karsinomunda yaptığı çalışmada %55,2 olguda Snail ekspresyon artışı izlenmiştir. Snail'in kısa genel sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir ($p=0.009$). SK'de yaptığımız çalışmada ise Snail ile ölüm arasında Fisher's exact test ile

karşılaştırılığında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p= 0.395$). HIF-1 alfa, Twist1 ve Snail'in ekspresyonlarının birlikte görülmesinin küçük hücreli dışı akciğer karsinomu için progrostik prediktör faktör olduğu belirtilmiştir.

SK'de EMT regülasyonu hakkında ve SK'li hastalarda EMT ile klinik gidiş arasında sınırlı veriye sahibiz. Tümör hücrelerinden sekrete edilen farklı büyüme faktörlerinin ve ev sahibi hücrelerin lokal mikroçevrelerinin EMT ile ilişkili moleküler olayları tetiklediği düşünülmektedir [79].

Chen ve arkadaşlarının [70] SK'li olgular ile normal servikal epiteldeki Snail ve ZEB1 ekspresyonlarını karşılaştırdığı bir çalışmada, artmış Snail ve ZEB1 ekspresyonları ile ileri FIGO evresi arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır (sırasıyla $p= 0.015$ ve $p= 0.008$). Bizim çalışmamızda ise Snail ekspresyonu ile evre arasında Fisher's exact test ile anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p= 0.272$). Lin ve arkadaşlarının [80] SK ile EMT arasındaki araştırdığı bir başka çalışmada ise Twist 1, Twist 2, Snail 1, Snail 2 ve Vimentin'in artmış regülasyonlarının hücrelere bazal membranı aşp, göç ederek metastatik yetenek kazandırdığını saptanmıştır.

Chen ve arkadaşlarının [70] 70 SK olgusunda yaptığı çalışmada, 64 olgu (%91,3) Snail, 65 olgu (%95,71) olgu ZEB1 ile pozitif boyanmıştır. Tümörde saptanan Snail ve ZEB1'in nükleer pozitiflikleri FIGO evresi (sırasıyla $p= 0.018$ ve $p= 0.04$), LN metastazı (sırasıyla $p= 0.007$ ve $p= 0.007$) ile ilişkili bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise Snail ekspresyonu ile lenf düğümü metastazı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (pelvik LN için $p= 0.685$, pararaortik LN için $p= 1.000$). Zhao ve arkadaşlarının [81] normal servikal doku, in situ servikal karsinom ve invaziv serviks karsinomlu olgularda Snail mRNA ekspresyonlarını karşılaştırdıkları bir çalışmada, Snail ekspresyonunun normal servikal doku ile kıyaslandığında in situ servikal karsinom ve invaziv serviks karsinomunda anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bildirmiştir ($p < 0.05$). Fakat FIGO evresi, histolojik farklılaşma, invazyon derinliği ve LN metastazı ile Snail mRNA ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Zhao ve arkadaşlarının [82] 28 normal servikal doku ve 116 SHK olgusundan oluşan toplam 144 olguda yaptıkları analizde Snail ve Smuc ekspresyonlarının LN metastazı ile ilişki olduğu belirtilmiştir. Snail nükleer ekspresyonunun histolojik farklılaşma ilişkili olduğu saptanmıştır. Evre ve tümör boyutu ile Snail ve Smuc ekspresyonları arasında ilişki olmadığı bildirilmiştir.

Serviks karsinomlu olgularda Snail ekspresyonu ile çok sayıda klinik ve patolojik verinin ilişkisinin incelendiği alışmamızda, Snail ekspresyonu ile prognostik parametreler arasında literatürde prognozla bağlantılı olduğu belirtilen parametreler arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu sonucun metastatik hastalığa sahip SK olgu sayısının az olması ve çalışmamıza dâhil olan olgular arasında ölüm sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünölebilir.

KAYNAKLAR

1. Manzo-Merino, J., et al., *The role of signaling pathways in cervical cancer and molecular therapeutic targets*. Arch Med Res, 2014. **45**(7): p. 525-39.
2. Siegel, R., D. Naishadham, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2012*. CA Cancer J Clin, 2012. **62**(1): p. 10-29.
3. Clifford, G., et al., *Chapter 3: HPV type-distribution in women with and without cervical neoplastic diseases*. Vaccine, 2006. **24 Suppl 3**: p. S3/26-34.
4. Kim, K., et al., *The Role of TWIST in Ovarian Epithelial Cancers*. Korean J Pathol, 2014. **48**(4): p. 283-91.
5. *<High expression of Twist is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in patients.pdf>*.
6. Wang, N., et al., *Overexpression of HIF-2alpha, TWIST, and CXCR4 is associated with lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma*. Clin Dev Immunol, 2013. **2013**: p. 589423.
7. Gao, X.-H., et al., *Overexpression of Twist and Matrix Metalloproteinase-9 with Metastasis and Prognosis in Gastric Cancer*. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2013. **14**(9): p. 5055-5060.
8. Zhao, M., et al., *Expression and correlation of Twist and gelatinases in breast cancer*. Exp Ther Med, 2013. **6**(1): p. 97-100.
9. Che, N., et al., *The role of Twist1 in hepatocellular carcinoma angiogenesis: a clinical study*. Hum Pathol, 2011. **42**(6): p. 840-7.
10. Song, L.B., et al., *The clinical significance of twist expression in nasopharyngeal carcinoma*. Cancer Lett, 2006. **242**(2): p. 258-65.
11. Wendt, M.K., et al., *STAT3 and epithelial-mesenchymal transitions in carcinomas*. JAKSTAT, 2014. **3**(1): p. e28975.
12. Jin, H., et al., *Snail is critical for tumor growth and metastasis of ovarian carcinoma*. Int J Cancer, 2010. **126**(9): p. 2102-11.
13. Missaoui, N., et al., *Promoter hypermethylation of CDH13, DAPK1 and TWIST1 genes in precancerous and cancerous lesions of the uterine cervix*. Pathol Res Pract, 2011. **207**(1): p. 37-42.
14. Lee, M.Y., et al., *Epithelial-mesenchymal transition in cervical cancer: correlation with tumor progression, epidermal growth factor receptor overexpression, and snail up-regulation*. Clin Cancer Res, 2008. **14**(15): p. 4743-50.
15. American Cancer Society. Cancer facts & figures. <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@epidemiologysurveillance/documents/document/acspsc-031941.pdf>. 2012.
16. *Burden of cervical cancer globally. WHO/ICO Information Center on HPV and Cervical Cancer 2011*.
17. SEER. Cancer statistics. Bethesda, MD: National Cancer Institute. <http://seer.cancer.gov/> [accessed 01.03.11].
18. Mutter, G.L., *Cervical Squamous Cell Carcinoma*. Pathology of the Female Reproductive Tract., ed. T. Wright. 2014: Elsevier
19. Mohanty, G. and S.N. Ghosh, *Risk factors for cancer of cervix, status of screening and methods for its detection*. Arch Gynecol Obstet, 2015. **291**(247-9).

20. Kurman, R., *Carcinoma and the other tumors of cervix*. . Blaustein's Pathology of the female genital Tract, ed. T. Wright. 2011, New York: Springer.
21. Kurman, R.J., Carcangiu, M.L., Herrington, C.S., Young, R.H. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. Vol. 6. 2014, Lyon, France: IARC. 170-206.
22. Oncology, F.C.o.G., *FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and corpus uteri*. Int J Gynaecol Obstet, 2014. **125**(2): p. 97-8.
23. Nguyen HN, A.H., *Biology of cervical carcinoma*. Semin Surg Oncol 1999. **16**(212–16).
24. Kurman RJ, T.T., Schiffman MH, *Basaloid and warty carcinomas of the vulva. Distinctive types of squamous cell carcinoma frequently associated with human papillomaviruses*. Am J Surg Pathol, 1993. **17** (133–45).
25. Grayson W, C.K., *A reappraisal of “basaloid carcinoma” of the cervix, and the differential diagnosis of basaloid cervical neoplasms*. Adv Anat Pathol, 2002. **9**: p. 290–300.
26. Zaino RJ, W.S., Delgado G, et al., *Histopathologic predictors of the behavior of surgically treated stage IB squamous cell carcinoma of the cervix*. Cancer, 1992. **69**(1750–8).
27. Quinn, M.A., et al., *Carcinoma of the Cervix Uteri*. International Journal of Gynecology & Obstetrics, 2006. **95**: p. S43-S103.
28. Kristensen GB, A.V., Risberg B, et al, *Tumor size, depth of invasion, and grading of the invasive tumor front are the main prognostic factors in early squamous cell cervical carcinoma* Gynecol Oncol 1999. **74**(245–51).
29. Delgado, G., *Lymphovascular space involvement in cervical cancer: an independent risk factor*. Gynecol Oncol, 1998. **68**(219).
30. Roman, L.D., et al., *Influence of quantity of lymph-vascular space invasion on the risk of nodal metastases in women with early-stage squamous cancer of the cervix*. Gynecol Oncol, 1998. **68**(3): p. 220-5.
31. Zhang Y, Y.M., He J, et al., *Significant effects of lymph and blood vascular invasion on the prognosis of early-stage cervical squamous cell carcinoma*. J Obstet Gynaecol Res, 2010. **36**(1015–22).
32. Okazawa, M., et al., *The prognostic significance of multiple pelvic node metastases in cervical cancer patients treated with radical hysterectomy plus adjuvant chemoradiotherapy*. Int J Gynecol Cancer, 2012. **22**(3): p. 490-7.
33. Fyles, A.W., et al., *Prognostic factors in patients with cervix cancer treated by radiation therapy: results of a multiple regression analysis*. Radiother Oncol, 1995. **35**(2): p. 107-17.
34. Pickel, H., J. Haas, and M. Lahousen, *Prognostic factors in cervical cancer*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1997. **71**(2): p. 209-13.
35. Lambin, P., et al., *Tumour size in cancer of the cervix*. Acta Oncol, 1998. **37**(7-8): p. 729-34.
36. Finan, M.A., et al., *Radical hysterectomy for stage IB1 vs IB2 carcinoma of the cervix: does the new staging system predict morbidity and survival?* Gynecol Oncol, 1996. **62**(2): p. 139-47.
37. Kinney, W.K., et al., *Identification of a low-risk subset of patients with stage IB invasive squamous cancer of the cervix possibly suited to less radical surgical treatment*. Gynecol Oncol, 1995. **57**(1): p. 3-6.

38. Zhang, S.Q., H. Yu, and L.L. Zhang, *Clinical implications of increased lymph vessel density in the lymphatic metastasis of early-stage invasive cervical carcinoma: a clinical immunohistochemical method study*. BMC Cancer, 2009. **9**: p. 64.
39. Gombos, Z., et al., *Peritumoral lymphatic vessel density and vascular endothelial growth factor C expression in early-stage squamous cell carcinoma of the uterine cervix*. Clin Cancer Res, 2005. **11**(23): p. 8364-71.
40. Loncaster, J.A., et al., *Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression is a prognostic factor for radiotherapy outcome in advanced carcinoma of the cervix*. Br J Cancer, 2000. **83**(5): p. 620-5.
41. Cheng, W.F., et al., *Vascular endothelial growth factor and prognosis of cervical carcinoma*. Obstet Gynecol, 2000. **96**(5 Pt 1): p. 721-6.
42. Randall, L.M., et al., *Markers of angiogenesis in high-risk, early-stage cervical cancer: A Gynecologic Oncology Group study*. Gynecol Oncol, 2009. **112**(3): p. 583-9.
43. de Sanjose, S., et al., *Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study*. Lancet Oncol, 2010. **11**(11): p. 1048-56.
44. Lombard, I., et al., *Human papillomavirus genotype as a major determinant of the course of cervical cancer*. J Clin Oncol, 1998. **16**(8): p. 2613-9.
45. Baykal, C., et al., *Overexpression of the c-Met/HGF receptor and its prognostic significance in uterine cervix carcinomas*. Gynecol Oncol, 2003. **88**(2): p. 123-9.
46. Kim, G.E., et al., *Synchronous coexpression of epidermal growth factor receptor and cyclooxygenase-2 in carcinomas of the uterine cervix: a potential predictor of poor survival*. Clin Cancer Res, 2004. **10**(4): p. 1366-74.
47. Goff, B.A., et al., *Evaluation of p27 in preinvasive and invasive malignancies of the cervix*. Gynecol Oncol, 2003. **88**(1): p. 40-4.
48. Skomedal, H., et al., *Aberrant expression of the cell cycle associated proteins TP53, MDM2, p21, p27, cdk4, cyclin D1, RB, and EGFR in cervical carcinomas*. Gynecol Oncol, 1999. **73**(2): p. 223-8.
49. Takeda, N., et al., *Multivariate analysis of histopathologic prognostic factors for invasive cervical cancer treated with radical hysterectomy and systematic retroperitoneal lymphadenectomy*. Acta Obstet Gynecol Scand, 2002. **81**(12): p. 1144-51.
50. Kersemaekers, A.M., et al., *Oncogene alterations in carcinomas of the uterine cervix: overexpression of the epidermal growth factor receptor is associated with poor prognosis*. Clin Cancer Res, 1999. **5**(3): p. 577-86.
51. Takeshima, N., et al., *Prognostic value of peritoneal cytology in patients with carcinoma of the uterine cervix*. Gynecol Oncol, 1997. **64**(1): p. 136-40.
52. Ostor, A.G., *Early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix*. Int J Gynecol Pathol, 2000. **19**(1): p. 29-38.
53. Peters, W.A., 3rd, et al., *Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix*. J Clin Oncol, 2000. **18**(8): p. 1606-13.
54. Grau, Y., C. Carteret, and P. Simpson, *Mutations and Chromosomal Rearrangements Affecting the Expression of Snail, a Gene Involved in Embryonic Patterning in DROSOPHILA MELANOGASTER*. Genetics, 1984. **108**(2): p. 347-60.

55. Alberga, A., et al., *The snail gene required for mesoderm formation in Drosophila is expressed dynamically in derivatives of all three germ layers*. Development, 1991. **111**(4): p. 983-92.
56. Nieto, M.A., *The snail superfamily of zinc-finger transcription factors*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2002. **3**(3): p. 155-66.
57. Gavert, N. and A. Ben-Ze'ev, *Epithelial-mesenchymal transition and the invasive potential of tumors*. Trends Mol Med, 2008. **14**(5): p. 199-209.
58. Piedra, M.E. and M.A. Ros, *BMP signaling positively regulates Nodal expression during left right specification in the chick embryo*. Development, 2002. **129**(14): p. 3431-40.
59. Olmeda, D., et al., *SNAIL is required for tumor growth and lymph node metastasis of human breast carcinoma MDA-MB-231 cells*. Cancer Res, 2007. **67**(24): p. 11721-31.
60. Kudo-Saito, C., et al., *Cancer metastasis is accelerated through immunosuppression during Snail-induced EMT of cancer cells*. Cancer Cell, 2009. **15**(3): p. 195-206.
61. Wang, Y., et al., *The Role of Snail in EMT and Tumorigenesis*. Curr Cancer Drug Targets, 2013. **13**(9): p. 963-72.
62. Parkin, D.M., et al., *Global cancer statistics, 2002*. CA Cancer J Clin, 2005. **55**(2): p. 74-108.
63. Pantel, K. and R.H. Brakenhoff, *Dissecting the metastatic cascade*. Nat Rev Cancer, 2004. **4**(6): p. 448-56.
64. Hartwell, K.A., et al., *The Spemann organizer gene, Goosecoid, promotes tumor metastasis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(50): p. 18969-74.
65. Yang, J., et al., *Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis*. Cell, 2004. **117**(7): p. 927-39.
66. Imai, T., et al., *Hypoxia attenuates the expression of E-cadherin via up-regulation of SNAIL in ovarian carcinoma cells*. Am J Pathol, 2003. **163**(4): p. 1437-47.
67. Luo, W.R., et al., *High expression of nuclear Snail, but not cytoplasmic staining, predicts poor survival in nasopharyngeal carcinoma*. Ann Surg Oncol, 2012. **19**(9): p. 2971-9.
68. He, H., et al., *Snail is an independent prognostic predictor for progression and patient survival of gastric cancer*. Cancer Sci, 2012. **103**(7): p. 1296-303.
69. Chen, D., et al., *Transcriptional repressor snail and metastasis in hepatocellular carcinoma*. Hepatogastroenterology, 2012. **59**(117): p. 1359-65.
70. Chen, Z., et al., *The nuclear protein expression levels of SNAIL and ZEB1 are involved in the progression and lymph node metastasis of cervical cancer via the epithelial-mesenchymal transition pathway*. Hum Pathol, 2013. **44**(10): p. 2097-105.
71. Gupta, P.B., C.L. Chaffer, and R.A. Weinberg, *Cancer stem cells: mirage or reality?* Nat Med, 2009. **15**(9): p. 1010-2.
72. Al-Hajj, M., et al., *Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(7): p. 3983-8.
73. Ricci-Vitiani, L., et al., *Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells*. Nature, 2007. **445**(7123): p. 111-5.
74. Singh, S.K., et al., *Identification of human brain tumour initiating cells*. Nature, 2004. **432**(7015): p. 396-401.
75. Hollier, B.G., K. Evans, and S.A. Mani, *The epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells: a coalition against cancer therapies*. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2009. **14**(1): p. 29-43.

76. Cao, Y.W., et al., *Implications of the Notch1-Snail/Slug-epithelial to mesenchymal transition axis for lymph node metastasis in infiltrating ductal carcinoma*. Kaohsiung J Med Sci, 2015. **31**(2): p. 70-6.
77. Yang, M.H., et al., *Comprehensive analysis of the independent effect of twist and snail in promoting metastasis of hepatocellular carcinoma*. Hepatology, 2009. **50**(5): p. 1464-74.
78. Hung, J.J., et al., *Prognostic significance of hypoxia-inducible factor-1alpha, TWIST1 and Snail expression in resectable non-small cell lung cancer*. Thorax, 2009. **64**(12): p. 1082-9.
79. Mimeault, M. and S.K. Batra, *Interplay of distinct growth factors during epithelial mesenchymal transition of cancer progenitor cells and molecular targeting as novel cancer therapies*. Ann Oncol, 2007. **18**(10): p. 1605-19.
80. Lin, J., X. Liu, and D. Ding, *Evidence for epithelial-mesenchymal transition in cancer stem-like cells derived from carcinoma cell lines of the cervix uteri*. Int J Clin Exp Pathol, 2015. **8**(1): p. 847-55.
81. Zhao, L., W. Chen, and X. Li, *[Expression of SNAIL mRNA in uterine cervical cancer is detected by real-time PCR]*. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2008. **39**(3): p. 414-7.
82. Zhao, W., et al., *Snail family proteins in cervical squamous carcinoma: expression and significance*. Clin Invest Med, 2013. **36**(4): p. E223-33.