

T.C

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**İNSAN NORMAL ENDOMETRİUM VE ENDOMETRİAL
ADENOKARSİNOM HÜCRE HATLARINDA NETRİN-1 VE
NETRİN-4 EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ERTAN KARAMAN

DANIŞMAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ ÜMİT ÇABUŞ

DENİZLİ – 2022

T.C

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**İNSAN NORMAL ENDOMETRİUM VE ENDOMETRİAL
ADENOKARSİNOM HÜCRE HATLARINDA NETRİN-1 VE
NETRİN-4 EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ERTAN KARAMAN

DANIŞMAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ ÜMİT ÇABUŞ

DENİZLİ – 2022

Dr. Öğr. Üyesi Ümit ÇABUŞ danışmanlığında Dr. Ertan Karaman tarafından yapılan “İnsan normal endometrium ve endometrial adenokarsinom hücre hatlarında netrin-1 ve netrin-4 ekspresyonunun değerlendirilmesi” başlıklı tez çalışması 11 / 05 / 2022 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

BAŞKAN: Dr. Öğr. Üyesi Ümit ÇABUŞ

ÜYE: Prof. Dr. İ. Veysel FENKÇİ

ÜYE: Prof. Dr. Hasan YÜKSEL

Yukarıda imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

11/05/2022

Prof. Dr. Z. Melek BOR KÜÇÜKATAY

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık tezi olarak sunduğum bu çalışmanın her aşamasında büyük emeği olan, bana bu mesleği sevdiren, bütün incelikleri ile öğreten, her fırsatta meslek hayatı boyunca kazandığı deneyimleri benimle paylaşan, bu mesleği yaptığım süre boyunca her daim örnek alacağım ve minnetle anacağım hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Ümit Çabuş'a

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık öğrenimim süresinde bilgilerinden ve engin tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum, ömrüm boyunca saygıyla ve minnetle anacağım başta Anabilim Dalı başkanımız sayın Prof. Dr. İbrahim Veysel Fenkçi'ye, Prof. Dr. Süleyman Erkan Alataş'a, Prof. Dr. Mehmet Babür Kaleli'ye, Prof. Dr. Özer Öztekin'e, Prof. Dr. Ömer Tolga Güler'e, Doç. Dr. Cihan Kabukçu'ya, Doç. Dr. Derya Kılıç'a, Dr. Öğr. Üyesi Özlem Koşar Can'a, Dr. Öğr. Üyesi Soner Gök'e

Tezin hazırlanmasında çok büyük katkıları olan hiçbir zaman desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Nazlı Çil'e

Laboratuvar çalışmalarında büyük katkıları olan Prof. Dr. Şevki Arslan'a

Bugünlere gelmem için her türlü desteği bana veren annem Hatice Karaman'a, babam Muharrem Karaman'a ve kardeşim Esra Karaman'a

Yoğun bir tempo ile geçen zorlu asistanlık sürecinin her anında desteğini benden esirgemeyen ve hayatımın geri kalan döneminde de her ne şart altında olursa olsun benim yanımda olacağından asla şüphe duymadığım sevgili eşim Yağmur Karaman'a

Çalışma saatlerini bir arada geçirdiğim tüm asistan ve hemşire arkadaşlarıma ayrı ayrı yürekten teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XI
ÖZET	XII
SUMMARY	XIV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ENDOMETRİUM KANSERİ	3
2.1.1. Epidemiyoloji	3
2.1.2. Endometrial Karsinom Risk Faktörleri	3
2.1.3. Sınıflama	9
2.1.4. Klinik Özellikler	12

2.1.5. Tanı	13
2.1.6. Önleme	15
2.1.7. Patoloji	16
2.1.8. Cerrahi Evreleme ve Tedavi	20
2.1.9. Prognostik Faktörler	23
2.1.10. Nüks	25
2.2. NETRİNLER	26
2.2.1. Genel Bilgiler	26
2.2.2. Netrin-1	27
2.2.3. Netrin-4	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
4. BULGULAR	38
5. TARTIŞMA	43
6.SONUÇ	47
KAYNAKLAR	48

SİMGELER VE KISALTMAR

A2bR	Adenosine 2b reseptör
ACS	American College of Surgeons
ACOG	Amerikan Jinekoloji ve Obstetri Derneği
BAP	Bilimsel araştırma projesi
BMI	Body mass index
BRCA	Breast Cancer Susceptibility
BRCA1	Breast Cancer Susceptibility-1
CA-125	Kanser antijeni 125
CBLN4	Serebellin 4
CNS	Merkezi sinir sistemi
CRC	Kolorektal kanser
DCC	Deleted colorectal cancer
DR	Bağımlılık reseptörleri
DSCAM	Down sendromu hücre adhezyon molekülü
ECM	Ekstraselüler matriks
EPC	Endotelyal progenitör hücreler
ERBB-2	Erythroblastic oncogene b 2

FIGO	Uluslararası Jinekoloji ve Obstetri Federasyonu
GOG	Jinekoloji Onkoloji Grubu
HCC	Hepatoselüler karsinom
HER-2/neu	Human epidermal growth factor receptor 2
HNPCC	Hereditör Nonpolipozis Kolorektal Kanseri
HRT	Hormon replasman tedavisi
IGF	Insulin-like growth factor
KRAS2	Kirsten rat sarcoma virüs 2
LncRNA	Long non-coding RNA
MLH1	MutL Homolog 1
MLH2	MutL Homolog 2
NTN1	Netrin-1
NTN3	Netrin-3
NTN4	Netrin-4
NTNG1	Netrin-G1
NTNG2	Netrin-G2
PI3K	Fosfoinositid-3 kinaz
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
RT-PCR	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

sFlt-1	Soluble fms-like thyrozine kinase-1
TP53	Tümör protein 53
TVU	Transvajinal ultrasonografi
UCEC	Uterin corpus endometrial carsinom
UNC5B-AS1	Unc-5 netrin receptor B antisense RNA 1
UNC5H	UNCoordinated-5 homolog
UNC-6	UNCoordinated-6
VEGF	Vasküler endotelyal growth faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Netrin-1 ve Netrin-1 Bağımlı Ana Reseptörleri

Şekil 2: Netrin-1 ve Sinyal Etkisini Göstermesini Sağlayan Reseptörleri

Şekil 3: Thoma Lamının Mikroskop Altındaki Görüntüsü

Şekil 4: Doku ve Hücre Hatlarından Elde Edilen RNA'nın %1'lik Agaroz Jel Elektroforezi

Şekil 5: RT-PCR PZR Sonuçlarına Göre Netrin-4 Geninin Ishikawa ve Hec1B Hücre Hatları ile Doku Örneğindeki Bağlı mRNA Ekspresyonu Analizi

Şekil 6: RT-PCR Erime Eğrisi Analizi

Şekil 7: PCR Ürünlerinden Elde Edilen Jel Görüntüsü

Şekil 8: RT-PCR Sonuçlarına Göre UNC5B Geninin Doku ve Hec1B Hücre Hatlarındaki Bağlı mRNA Ekspresyonu Analizi

Şekil 9: RT-PCR Sonuçlarına Göre Netrin-1 Geninin Ishikawa ve Doku Örneğindeki Bağlı mRNA Ekspresyonu Analizi

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Endometrial Karsinom Koruyucu Faktörler ve Risk Faktörleri

Tablo 2: Endometrium Kanseri Bokhman Sınıflaması

Tablo 3: Endometrium Kanseri Histolojik Alt Tipleri

Tablo 4: Endometrium Kanseri Histolojik Alt Tip Görülme Oranları

Tablo 5: Endometrium Kanseri için FIGO Cerrahi Evreleme Sistemi

Tablo 7: Kuyucuklara Yüklenen RNA Örnekleri ve Marker Konsantrasyonları

Tablo 8: cDNA Sentez Karışımı ve Protokolü

Tablo 9: Çalışmada Kullanılan Genlerin Primer Dizileri

ÖZET

İnsan normal endometrium ve endometriyal adenokarsinom hücre hatlarında netrin-1 ve netrin-4 ekspresyonunun değerlendirilmesi

Dr. Ertan Karaman

Netrin ailesi, semaforinler, yarıklar ve efrinler gibi protein aileleri ile birlikte nöronal rehberlik ipuçlarını oluşturan yüksek oranda korunmuş bir protein sınıfıdır. Tüm netrinler, laminin süper ailesinin üyeleridir. Netrinlerin birçok sistemde eksprese edildiği ve doku morfogenez, anjiyogenez, lenfanjiyogenez, tümör gelişimi, hücre göçü, invazyon ve adhezyon, apoptoz ve inflamasyonun düzenlenmesinde görev aldığı gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle netrinler çeşitli maligniteler üzerinde araştırmalara konu olmuş ve netrin protein ailesinin bazı kanserlerin gelişiminde hayati rol oynadığını bulunmuştur.

Endometrium kanseri en sık görülen jinekolojik malignitedir. Sağ kalım genellikle hastalığın evresi ve histolojisine ile belirlenir. Endometrium kanserlerinde evreleme cerrahi olarak yapılır. Yüksek riskli grubundaki hastalarda ise adjuvan radyoterapi endikedir. İleri evre endometrium kanseri için kemoterapi uygulamaları ilave tedavi seçeneklerinden biridir. Tüm kanser türlerinde olduğu gibi endometrium kanserinde de patofizyolojide etken rol oynayan basamakları araştırmak ve hastalığın önceden tespit edilmesine yönelik çalışmalar günümüzde temel amaç haline gelmiştir.

Biz de çalışmamızda insan normal endometriumu ile endometrium adenokarsinomunda netrin-1 ve netrin-4 düzeylerinin ve reseptörlerinin ekspresyon farkını değerlendirilerek endometrium kanserinin patofizyolojisine yönelik veriler elde etmeyi amaçladık.

Bu amaçla reproduktif dönemdeki kadın hastadan, endometrial biyopsi yöntemiyle alınan ve herhangi patoloji saptanmayan fonksiyonel taze endometrium

dokusu kullanılmıştır. Ayrıca iki farklı insan endometriyum kanseri (Hec1B ve Ishikawa) hücre hattı kullanılmıştır. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu çalışması ile netrin-1, netrin-4 ve UNC5B genlerinin Ishikawa ve Hec1B hücre hatları ile doku örneğindeki ekspresyonları araştırılmıştır.

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu sonuçlarına göre; netrin-4 geninin Ishikawa hücre hattına göre Hec1B hücre hattında 5,64 kat fazla ($p<0.0001$, one-way ANOVA), doku örneğinin ise Ishikawa hücre hattına göre 1,43 kat fazla ($p=0.03144$, one-way ANOVA) eksprese olduğu tespit edilmiştir. UNC5B geninin Doku örneklerine göre Hec1B hücre hattında 3.64 kat fazla ($p<0.05$, Unpaired t-test) artış olduğu görülmüş ayrıca netrin-1 geninde ise doku örneklerinde Ishikawa hücre hattına göre 1.54 kat fazla ($p<0.05$, Unpaired t-test) artış saptanmıştır.

Sonuç olarak, çalışmamızdan elde edilen bu veriler ışığında netrin-1'in östrojen ve progesteron reseptör bağımlı tip I endometrium kanser gelişiminde önleyici, netrin-4 ve UNC5B reseptörünün ise tip 2 endometrium kanseri gelişiminde proonkogen olarak rol oynadığını söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: Endometrial adenokarsinom, Netrin-1, Netrin-4, UNC5b, Hec1B, Ishikawa, Onkogen

SUMMARY

Evaluation of netrin-1 and netrin-4 expression in human normal endometrium and endometrial adenocarcinoma cell lines

Dr. Ertan Karaman

The netrin family is a highly conserved class of proteins that together with protein families such as semaphorins, slits, and ephrins form neuronal guidance cues. All netrins are members of the laminin superfamily. It has been shown that netrins are expressed in many systems and are involved in the regulation of tissue morphogenesis, angiogenesis, lymphangiogenesis, tumor growth, cell migration, invasion and adhesion, apoptosis and inflammation. Because of these properties, netrins have been the subject of research on various malignancies and it has been found that the netrin protein family plays a vital role in the development of some cancers.

Endometrial cancer is the most common gynecological malignancy. Survival is usually determined by the stage and histology of the disease. Staging of endometrial cancers is done surgically. Adjuvant radiotherapy is indicated for patients in the high-risk group. Chemotherapy for advanced endometrial cancer is one of the additional treatment options. As in all types of cancer, research on the steps that play an active role in the pathophysiology of endometrial cancer and studies to detect the disease beforehand have become the main objective today.

In our study, we aimed to obtain data on the pathophysiology of endometrial cancer by evaluating the difference in expression of netrin-1 and netrin-4 levels and receptors in human normal endometrium and endometrial adenocarcinoma.

For this purpose, fresh endometrium application was used in a female patient with reproductive sense, using the endometrial biopsy method, in which no pathology was detected. In addition, two different human endometrial cancer (Hec1B and Ishikawa) cell lines were used. Expressions of netrin-1, netrin-4 and UNC5B genes in

Ishikawa and Hec1B cell lines and tissue samples were investigated by real-time polymerase chain reaction study.

According to real-time PCR results; Netrin-4 gene was found 5.64 times more ($p < 0.0001$, one-way ANOVA) in Hec1B cell line compared to Ishikawa cell line. It was determined that the tissue sample was 1.43 times more expressed ($p = 0.03144$, one-way ANOVA) compared to the Ishikawa cell line. It was observed that the UNC5B gene increased 3.64 times ($p < 0.05$, Unpaired t-test) in Hec1B cell line compared to tissue samples. In addition, an increase of 1.54 times ($p < 0.05$, Unpaired t-test) in netrin-1 gene was detected in tissue samples compared to Ishikawa cell line.

In conclusion, in the light of these data obtained from our study, we can say that netrin-1 is inhibitory in the development of estrogen and progesterone receptor dependent type I endometrial cancer. Also we can say that netrin-4 and UNC5B receptors play a role as prooncogenes in the development of type 2 endometrial cancer.

Keywords: Endometrial adenocarcinoma, Netrin-1, Netrin-4, UNC5b, Hec1B, Ishikawa, Oncogene

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Endometrium kanseri en sık görülen jinekolojik malignitedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde kadınlarda meme, akciğer ve kolorektal kanserlerden sonra en sık görülen dördüncü kanserdir. Risk faktörleri, karşılanmamış östrojen tedavisi, erken menarş, geç menopoz, tamoksifen tedavisi, nulliparite, infertilite veya yumurtlama yetersizliği ve polikistik over sendromu dahil olmak üzere endometriumun östrojene aşırı maruz kalmasıyla ilişkilidir. Ek risk faktörleri artan yaş, obezite, hipertansiyon, diyabetes mellitus ve hereditör nonpolipozis kolorektal kanserdir (HNPCC). Endometrium kanserinin en yaygın prezentasyonu postmenopozal kanamadır. Amerikan Kanser Derneği, 65 yaşından büyük tüm kadınların endometrial kanserin riskleri ve semptomları hakkında bilgilendirilmesini ve semptomlar ortaya çıkarsa değerlendirmeye alınmasını tavsiye etmektedir. Asemptomatik kadınlarda endometrial kanser taramasını destekleyecek kanıt yoktur. Çoğu kılavuz, ilk çalışma olarak ya transvajinal ultrasonografi ya da endometrial biyopsiyi önerir. Endometrial kanser tedavisinin temeli, bilateral salpingo-ooferektomi ile birlikte total histerektomidir. Radyasyon ve kemoterapi de tedavide rol oynayabilir. Düşük ve orta riskli endometrial hiperplazi, cerrahi olmayan seçeneklerle tedavi edilebilir. Sağ kalım genellikle hastalığın evresi ve histoloji ile tanımlanır ve evre I ve II'deki hastaların çoğu olumlu bir prognoza sahiptir. Obezite, diyabet ve hipertansiyon gibi risk faktörlerini kontrol etmek, endometrial kanserin önlenmesinde rol oynayabilir. (1)

Netrin ailesi, semaforinler, yarıklar ve efrinler gibi protein aileleri ile birlikte nöronal rehberlik ipuçlarını oluşturan yüksek oranda korunmuş bir protein sınıfıdır (2). Tüm netrinler, laminin süper ailesinin üyeleridir. Omurgalıları çoklu netrin genlerini ifade ederler. Memelilerde, Netrin-1 (NTN1), Netrin-3 (NTN3), Netrin-4 (NTN4), Netrin-G1 (NTNG1) ve Netrin-G2 (NTNG2) olmak üzere beş ağın ekspresyonu tespit edilmiştir (3). Yapılan ilk çalışmalar netrinlerin sinir sisteminde aksonal iletim sırasında eksprese edildiğini göstermekle beraber son çalışmalarda netrinlerin sinir sistemi dışında eksprese edildiği ve doku morfogenez, anjiyogenez, lenfanjiyogenez, tümör gelişimi, hücre göçü, invazyon ve adhezyon, apoptoz ve inflamasyonun düzenlenmesinde görev aldığı gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle netrinler çeşitli maligniteler üzerinde araştırmalara konu olmuş ve netrin protein ailesinin bazı

kanserlerin gelişiminde hayati rol oynadığını bulunmuştur. Temel olarak netrinlerin apoptoz mekanizması üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda netrinlerin kanser gelişimi ile ilişkili farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Bu konuda literatürde daha çok NTN1 ile ilişkili çalışmalara ulaşılmaktadır. Örneğin çeşitli kanser türlerinde plazma NTN-1 düzeyleri ölçülmüş, meme kanseri, renal kanser, prostat kanseri, karaciğer kanseri, meningioma, hipofiz adenomu ve glioblastomada plazmada NTN-1 düzeylerinin artmış olduğu görülmüşken akciğer kanseri, pankreas kanseri ve kolorektal kanserden alınan plazma örneklerinde NTN-1 düzeylerinde artış izlenmemiştir.

Endometrial kanserler ve NTN1 incelendiğinde ise NTN1 ile indüklenen apoptozun yokluğunda kanser hücre hatlarında Deleted Colorectal Cancer (DCC) ekspresyonunun yeniden düzenlendiği ancak NTN1 varlığında hiçbir değişiklik gözlenmediği görülmüştür. NTN4 ile ilgili çalışmaların NTN1'e kıyasla daha kısıtlı olduğu izlenmiştir. Mevcut çalışmalarda ise NTN4'ün özellikle anjiyogenez üzerinde etkili olduğu ve bu sayede tümör gelişimine katkıda bulunduğu görülmüştür.

Yaptığımız literatür taramasında netrin ailesi ile jinekolojik kanserler arasında bağlantının değerlendirildiği araştırma sayısının kısıtlı olduğu görülmüştür. Bunun yegâne örneklerinden biri olan Hao ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptıkları çalışmadır. Bu çalışmada netrin ailesinin kanserlerdeki mutasyon oranının düşük olduğu ancak netrin mutasyonlu kanser hastaları arasında en yüksek sayının, vakaların %13,6'sını oluşturan Uterin Korpus Endometrial Karsinom (UCEC) hastaları olduğu görülmüştür (4). NTN1 ve NTN4'ün birlikte endometrial kanser ilişkisini irdeleyen herhangi bir çalışmaya ise rastlanmamıştır.

Çalışmamızda insan normal endometriumu ile endometrium adenokarsinomunda NTN1 ve NTN4 düzeylerinin ve reseptörlerinin ekspresyon farkını değerlendirilerek endometrium kanserinin patofizyolojisine yönelik veriler elde etmeyi amaçladık. Yaptığımız literatür taramasında endometrium adenokarsinomunda NTN1 ve NTN4 ekspresyon düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışma görülmemiş olup yapacağımız çalışma alanındaki ilk çalışma olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ENDOMETRİUM KANSERİ

2.1.1 Epidemiyoloji

Endometrium kanseri gelişmiş ülkelerde en sık, gelişmekte olan ülkelerde serviks kanserinden sonra 2. en sık gözlenen jinekolojik kanserdir. (5)

Gelişmiş ülkelerdeki düzenli periyodik muayene alışkanlığı ve gelisen servikovaginal smear, kolposkopi gibi erken tanı yöntemlerinin yardımıyla serviksin preinvaziv lezyonlarının invaziv kansere dönüşmeden tanınması serviks kanseri insidansını önemli oranda azaltmıştır.

GLOBOCAN değerlendirmesine göre endometrium kanseri kadınlarda tüm kanserler arasında meme, kolorektal, akciğer, serviks ve tiroid kanserleri sonrasında 6. sırada gözlenir. İnsidansı 8,71/100.000 olarak bildirilmiştir. 2020 yılında tüm dünyada 417,367 yeni vaka ve 97,370 ölüm bildirilmiştir (6).

Türkiye’de yapılan istatistiksel çalışmalara göre endometrium kanseri kadınlarda meme, tiroid ve kolorektal kanserden sonra 4. sıklıkta izlenmektedir ve insidansı 10,5/100.000 olarak bildirilmiştir. Ülkemizdeki bütün yaş gruplarındaki kadın kanserleri incelendiğinde %5’ini endometrium kanserinin oluşturduğunu ve tanı anındaki yayılımına göre değerlendirildiğinde endometrium kanserlerinin %74’ünün lokalize, %18,6’sının bölgesel ve %7,4’ü uzak yayımlı olarak izlenmiştir (7).

2.1.2 Endometrial Karsinom Risk Faktörleri

Tip 1 endometrial kanser için risk faktörleri:

Erken menarş, geç menopoz, tamoksifen tedavisi, nulliparite, infertilite, kronik anovulasyon ve polikistik over sendromu dahil olmak üzere, karşılanmamış östrojen maruziyeti ile ilgilidir. Karşılanmamış östrojen maruziyeti içermeyen diğer risk faktörleri arasında ailede endometrial kanser öyküsü, 50 yaşın üzeri olmak,

hipertansiyon, diabetes mellitus, obezite, tiroid hastalığı ve Lynch sendromu bulunur (8).

Tip 2 endometrial kanser için risk faktörleri:

Genelde daha az yaygın olmalarına rağmen, tip 2 endometrial kanserler ağırlıklı olarak 50 yaşın üzeri siyah kadınlarda görülür (8). Göreceli olarak östrojen fazlalığı ve obezite ile ilişkili değildir.

Tablo 1: Endometrial Karsinom Koruyucu Faktörler ve Risk Faktörleri (9)

RİSK FAKTÖRLERİ	KORUYUCU FAKTÖRLER
Karşılanmamış östrojen tedavisi	Kombine oral kontraseptifler
Obezite	Progestinli kontraseptifler
Tamoksifen	Laktasyon
Kronik anovulasyon (PCOS, hipotiroidi, hiperprolaktinemi)	Multiparite
Nulliparite	Artmış fiziksel aktivite
İleri yaş	Kahve tüketimi
Erken menarş ve geç menopoz	Yeşil çay tüketimi
Estrojen salgılayan tümörler	Sigara
Aile öyküsü	Aspirin kullanımı
Lynch Sendromu	
Diabetes mellitus	
Hipertansiyon	
Meme kanseri öyküsü	
BRCA genlerinde mutasyon	
Cowden sendromu	
Diyette yüksek glisemik yük	

Karşılanmamış Östrojen Tedavisi:

Sistemik östrojen tedavisi östrojenin etkisini karşılayacak bir progestin olmadan verildiğinde, endometrial hiperplazi veya karsinoma riski belirgin olarak artmaktadır. Bir progesteron olmadan sistemik östrojen tedavisi alan kadınların yüzde 20 ile 50'sinde bir yıl sonra endometrial hiperplazi tespit edilmiştir (10,11). Yapılan çalışmalarda, göreceli riskin 1.1 ile 15 kat arasında değişen oranlarda endometrial karsinom insidansını arttırdığı gösterilmiştir (12). Hem östrojen dozu hem de kullanım süresi endometrial kanser riski ile ilişkili olup eşzamanlı progestin kullanımı ile risk azalmaktadır (13).

Obezite:

Erken evre endometrial kanser hastalarının yaklaşık %70'i obezdir. Vücut kitle indeksi artışı ile morbidite arasında pozitif korelasyon izlenmiştir (14). Premenopozal kadınlarda aşırı kilo, insülin direncine, yumurtalık androjen fazlalığına, anovulasyona ve kronik progesteron eksikliğine neden olur. Menopoz sonrası kadınlarda, androjenlerin ekstrasgladüler dönüşümünden daha yüksek dolaşımdaki biyoyararlı östrojen konsantrasyonlarına neden olur. Obezite, dolaşımdaki östrojen konsantrasyonları normal olduğunda bile endometrial kanser için bir risk faktörü olmaya devam etmektedir (15).

Tamoksifen:

Meme kanseri öyküsü olan hastalarda bir selektif östrojen reseptör modülatörü olan tamoksifen tedavide sıklıkla tercih edilmektedir. Tamoksifen ile tedavi gören hastalar, yüksek endometrial kanser riski altındadır (16).

Kronik Anovulasyon:

Polikistik over sendromu (PCOS) ve perimenopozal geçiş dönemlerinde anovulatuvar sikluslar sıklıkla görülür. Kronik anovulatuvar sikluslarda seks steroid hormonları sıklık olmayan bir şekilde üretmeye devam edilir ve normal endometrial siklus gerçekleşmez. Yeterli progesteron üretimi ile karşılanamayan kronik östrojen

üretimine bağılı olarak devamlı endometrial dokunun proliferasyonu endometrial hiperplazi ve endometrial kansere yol açabilir (17).

Parite:

Yoğun plasental progestagen üretimi ile gebelik, endometrial kansere karşı korur. Nulliparite, infertilite de varsa daha önemli olan bir risk faktörüdür; aksine multiparite korur (18).

İleri Yaş:

Endometrium kanseri genellikle postmenopozal dönemde ortaya çıkmaktadır. Ortalama görülme yaşı 61'dir. 65 yaşından sonra görülme insidansı azalmaktadır. 50 yaş altında tanı alan hastalarda sıklıkla obezite ve kronik anovulasyon gibi risk faktörleri bulunmaktadır (19).

Erken Menarş ve Geç Menopoz:

Östrojen maruziyeti ve anovulatuvar siklus sayısının artması sebebiyle endometrial kanser riski artar (20).

Östrojen Salgılayan Tümörler:

Östrojen salgısını arttıran bazı over tümörleri endometrial kanser için predispozan faktör olabilirler. Endometrial kanser ile en ilişkili olan over tümörü granüloza hücreli tümördür. Eşlik eden endometrial kanser genellikle erken evre ve iyi diferansiyedir (21).

Aile Öyküsü:

Birinci derece akrabalarında endometrium kanseri olanlarda risk artmıştır (22).

Lynch Sendromu:

Esas olarak MutL Homolog 1 (MLH1) ve MutL Homolog 2 (MLH2) hata onarım genlerindeki germline mutasyonlardan kaynaklanır (23). Endometrial kanser

vakalarının çoğu sporadik olmakla birlikte, kalıtsal endometrial kanser, Lynch II sendromu olarak da bilinen HNPCC ile ilişkili olarak tanımlanmıştır. Endometrial kanserin ortalama görülme yaşı normal popülasyonda 61 iken Lynch Sendromuna sahip olan popülasyonda 46-54'tür. Lynch Sendromu bağlantılı endometrial kanserlerin büyük kısmı endometrioid histolojidedir ve erken evredir. Lynch tip II varlığında hastalar endometrium kanseri açısından taranmalı veya anormal kanama olması halinde vakit geçirmeden değerlendirilmelidir (24).

Diabetes Mellitus ve Hipertansiyon:

Diabetes mellitus ve hipertansiyonu olan kadınlar için artmış endometrium kanseri riski mevcuttur (25). Özellikle obezite birlikteliği olmak üzere komorbid faktörler bu durumda etkilidir (26). İnsülin rezistansı, serbest ovaryen steroid hormon seviyelerinin yüksekliği, artmış insulin-like growth factor (IGF) düzeyleri ve kronik inflamasyon endometrial kanser ilişkisi için olası mekanizmalardır (27).

Meme Kanseri Öyküsü:

Meme kanseri nadiren endometriuma metastaz yapabilir ancak tedavide tamoksifen kullanılması, obezite gibi ortak davranışsal özellikler taşımaları ve Cowden Sendromu gibi bazı genetik patolojileri paylaşmaları sebebi ile meme kanseri olan kadınlar endometrium kanseri riski altındadır (28).

BRCA Genlerinde Mutasyon:

BRCA (Breast Cancer Susceptibility) gen mutasyonuna sahip kadınlarda artmış meme ve over kanseri riski bulunmaktadır. BRCA mutasyon taşıyıcıları sıklıkla geçirilmiş meme kanseri tedavisinde kullanılan tamoksifen nedeniyle hafif artmış endometrial kanser riskine sahiptirler ancak yapılan bazı çalışmalarda da BRCA1 gen mutasyonuna sahip kadınlarda endometrium kanserinin özellikle seröz kanserin gelişme riskinin arttığı ortaya koyulmuştur (29).

Cowden Sendromu:

PTEN (Phosphatase and tension homolog) tümör baskılayıcı geninde mutasyon ile karakterize otozomal dominant bir hastalıktır. Cowden sendromu karakteristik mukokutanöz lezyonlar ile seyreder ve uterus leiomyomları ile görülme oranı yüksektir. Bu hastalarda ayrıca endometrial, kolorektal meme, tiroid, böbrek kanseri riskinde artış olduğu bildirilmiştir. Cowden sendromlu hastalarda yaşam boyu endometrium kanserine yakalanma riski %13-19'dur (30).

Diyette Yüksek Glisemik Risk:

Yapılan çalışmalarda, diyetle yüksek glisemik yük ile gelişen endometrial karsinom arasında ilişki bulmuştur ancak bu riskin daha çok obeziteye bağlı olduğu düşünülmektedir (31).

Kombine Oral Kontraseptifler:

Östrojen ve progestagen içeren doğum kontrol hapları endometrial kanser riskini azaltır (32). Riskin azaltan temel faktör endometrial proliferasyonu azaltan progesteron içeriğidir.

Progestinli Kontraseptifler:

Yapılan Çalışmalar, sadece progestin içeren kontraseptiflerin (depo medroksiprogesteron asetat, progestin implantları, progestin salgılayan intrauterin araçlar vs.), endometrial neoplazinin gelişmesine karşı endometrial koruma sağladığını bulmuştur (33,34).

Hormon replasman tedavisi (HRT):

HRT alan kadınlar için menopoza sonra, östrojene genellikle ayda 10-14 gün veya günlük progestagen eklenmesi östrojenlerin endometrium üzerindeki olumsuz etkilerine karşı koyar; bu yaklaşım, özellikle iki hormon sürekli olarak birleştirilirse ve özellikle obez ($BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$) kadınlarda endometrial kanser riskini azaltır (35).

Fito - Östrojenler:

Obez olsalar bile postmenopozal kadınlarda fito-östrojen tüketiminin artmasının endometrial kanser riski üzerinde koruyucu etkisi olduğuna dair öneriler var (36).

Tubal Sterilizasyon:

Yapılan çalışmalarda tubal sterilizasyonun endometrium kanseri riskini azalttığı görülmüştür (37).

Diyet ve Egzersiz:

Yapılan çalışmalar artmış fiziksel aktivite, kahve ve yeşil çay tüketiminin endometrial kanser riskini azalttığını göstermiştir (38,39,40) Fiziksel hareketsizlik, yüksek enerji alımı, 140/90 mm Hg'nin üzerinde kan basıncı ve yüksek serum glukoz konsantrasyonları BMI (Body Mass Index)'den bağımsız risk faktörleridir öte yandan polikistik overlerin varlığı BMI'ye bağlı risk faktörüdür (41,42).

Sigara:

Östrojen üretimini ve metabolizmasını etkilediği için endometrium kanseri riskini azaltır (43).

Alkol Kullanımı:

Yüksek östrojen konsantrasyonları ile ilişkilidir. Bununla birlikte, epidemiyolojik çalışmalar, meme kanseri için gösterildiği gibi alkol kullanımı ile endometrial kanser arasında pozitif bir ilişkiyi desteklememektedir (44).

2.1.3 Sınıflama

2.1.3.1 Histopatolojik Sınıflama Sistemi

Endometrial karsinomların histolojik tipleri arasında önemli bir prognostik fark vardır. Geleneksel Bokhman sınıflamasına göre 2 gruba ayrılmıştır:

Tablo 2: Endometrium Kanseri Bokhman Sınıflaması (45)

Özellik	Tip I	Tip II
Risk Faktörü	Karşılanmamış östrojen Obezite Diabetes mellitus	Yok
Grade	Düşük	Yüksek
Hormon reseptör ekspresyonu	Pozitif	Negatif
Histoloji	Endometrioid	Non-endometrioid
Genomik stabilite	Diploid, sıklıkla mikrosatellit instabilite(%40)	Anöploid
İlişkili genler	PTEN, CTNN1B, KRAS, PIK3CA, PIK3R1, ARID1A	p53, HER2
Prognoz	İyi (5 yıllık sağkalım oranı %85)	Kötü (5 yıllık sağkalım oranı %55)

Tip 1 Endometrium Kanseri:

%80-90 oranla daha sık görülen tip 1 endometrial kanserlerdir, bu terim, mikroskopta kolayca tanınabilen, farklılaşma gösteren endometrial tip bezleri ifade eder, tipik olarak hormona duyarlıdır, düşük evredir, iyi veya orta derecede

diferansiyedir ve mükemmel bir prognoza sahiptir. Endometrium, adet döngüsü sırasında östrojen ve progesteron dalgalanmalarına yanıt olarak özel hücrelerde yapısal modifikasyona ve değişikliklere uğrar. Uzun süreli karşılanmamış östrojen maruziyeti, atipik hiperplazi ve sonunda tip-1 endometrial kanser gelişme şansını artıran endometrial hiperplaziye yol açar (46).

Mikrosatelit instabilitesi, KRAS (Kirsten rat sarcoma virus), β -katenin ve PTEN mutasyonları, özellikle MSH6 (MutS Homolog 6) başta olmak üzere DNA mismatch repair genlerindeki defektler hem endometrial hiperplazi hem de endometrioid karsinomlarda en sık tanımlanan genetik anomalilerdir (47).

Ayrıca tip 1 endometrium kanserlerinde ARID1A (AT-Rich Interaction Domain 1A- AT (Baz Dizlimi) bakımından zengin, etkileşim alanı içeren 1A), PIK3CA (Phosphatidylinositol-4,5- biphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha) gibi birçok farklı genetik değişiklik de tanımlanmıştır (48).

Tip 2 Endometrium Kanseri:

Görülme oranı daha düşük (%10-20) olan tip 2 endometrium kanserleri erken evrede bile tekrarlama eğilimi olan, prognozu daha kötü ve agresif tümörlerdir. Bu tümörler östrojen kaynaklı değildir ve çoğu endometrial atrofi ile ilişkilidir; cerrahiye genellikle adjuvan tedavi izler. Histolojik tip ya zayıf şekilde farklılaşmış endometrioiddir veya endometrioid değildir (49). Tip II tümörler anoplöidi ile ilişkilidir, çoğunda p53 gen mutasyonu izlenir. PIK3CA, (HER2/neu (Human epidermal growth factor receptor 2) amplifikasyonu, EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) aşırı ifadesi, E-kadherin kaybı ve BAF250 (BRG1/BRM-associated factor 250) kaybı gibi mutasyonlar da izlenir (50).

2.1.3.2 Moleküler Sınıflama Sistemi:

Endometrium kanseri üzerinde yapılan araştırmalar yıllar içerisinde geleneksel sınıflandırmanın yanında yeni sınıflandırmaların da oluşturulmasına sebep oldu. 2013 yılında TGCA (The Cancer Genome Atlas Research Network- Kanser Genom Atlası) endometrium kanserli hastaları kategorize etmek amacıyla ilk büyük ölçekli, kapsamlı

genomik karakterizasyonunu sundu. Çalışmalardan elde edilen sonuçlara ve klinikopatoloji özelliklere göre endometrium kanserini dört ayrı genomik alt tipte tanımladı (51);

- Ultramutated DNA Polimeraz Epsilon (POLE) mutasyonu görülen grup
- Hypermuted mikrosatellite unstable grup
- Kopya sayısı düşük grup
- Kopya sayısı yüksek (seröz benzeri) grup

2.1.4. Klinik Özellikler

Anormal Uterin Kanama:

Hastalık tipik olarak kendisini anormal uterin kanama ile gösterir. Hastaların %75-90'ında kanama şikayeti mevcuttur, çoğunluğunu postmenopozal hasta grubu oluşturur. Ancak kanama miktarı endometrium kanseri riski ile uyumlu değildir (52). Premenopozal kadınlarda, uzamış ağır menstruasyon ya da ara kanamaları öyküsü nedeniyle şüphelenilmelidir, ancak diğer benign hastalıkların birçoğu da benzer semptomlar verir.

Servikal Sitoloji Bulguları:

Endometrium kanseri açısından ileri değerlendirme gereken anormal servikal sitoloji bulguları endometrial hücreler (40 yaş ve üstündeki kadınlarda endometrial hücrelerin varlığı sitoloji sonuçlarında rapor edilir), atipik glandüler hücreler ve adenokarsinom hücreleridir (53,54).

Görüntüleme Sırasında Rastlantısal Bulgu:

Endometrial kalınlık artışı endometrial düzensizlik bazen başka bir endikasyon sebebiyle yapılan ultrason, bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile tespit edilir. Bu durumla endometrium kanseri açısından detaylı inceleme gerekir.

Histerektomi Sonrası veya Abdominopelvik Cerrahi Esnasında Rastlantısal Bulgu:

Benign endikasyonla yapılan histerektomi sonrası yapılan patolojik inceleme ile bazen endometrial karsinom tesadüfen keşfedilir. Bu oluşumu en aza indirmek ve yapılan cerrahi işlemi optimize etmek için, histerektomi yapılan anormal uterin kanamalı tüm kadınlara endometrial örnekleme yapılması ve sonuçların ameliyattan önce mevcut olması gerekmektedir. Abdominopelvik metastazlara intraoperatif olarak rastlanırsa, tedavi cerrahın deneyimine bağlıdır. Bir jinekolojik onkoloğun intraoperatif konsültasyonu istenmelidir. Bir jinekolojik onkolog bulunmuyorsa ve cerrahın tecrübesi yoksa, ameliyat sonlandırılmalı ve ikinci bir prosedürü planlamak için bir uzmanla hızlı bir şekilde ameliyat sonrası konsültasyon ayarlanmalıdır (55).

2.1.5 Tanı

Çoğu kılavuz, endometrial kanserin değerlendirilmesi için ilk çalışma olarak transvajinal ultrasonografiyi veya endometrial biyopsiyi önermektedir (56).

Semptomatik premenopozal kadınlarda ve hormon replasman tedavisi kullananlarda TVU'nun değeri daha düşüktür çünkü “normal” endometrial kalınlık dolaşımdaki kadın steroid hormon konsantrasyonlarına göre değişir (57).

ACOG, postmenopozal bir hastada normal transvajinal ultrasonografi için eşik değerinin 4 mm veya daha az olması gerektiğini belirtmiştir, 5 mm ve üzeri değerler izlenmesi durumunda endometrial doku örneği alınmasını önermiştir çünkü endometrial kanserin kesin teşhisi, endometrial doku örneği gerektirir (58).

Endometrial kanserde salin-infüzyon sonografi veya histeroskopinin sınırlamaları, malign hücrelerin periton boşluğuna yayılması için küçük bir risk içerir. Bu tür peritoneal yayılımın prognostik önemi bilinmediğinden endometrial biyopsi numunesi malign hücreler içerdiğinde veya TVU endometrial kanseri kuvvetle önerdiğinde ne salin-infüzyon sonografisi ne de histeroskopi kullanılmamalıdır (59).

Manyetik rezonans görüntüleme, transvajinal ultrasonografi yeterli olmadığında endometrial kalınlaşma, fibroidler veya adenomiyoz gibi yapısal anormallikler

hakkında ek bilgi sağlayabilir (60). MRG, özellikle myometrial invazyonun preoperatif değerlendirilmesinde güvenilirliği yüksek bir tekniktir (61). Ayrıca servikal uzanımlı endometrium kanserinin primer endoservikal adenokarsinomdan ayrımında yardımcı olabilir. Seröz ya da yüksek riskli histolojik tip endometrium kanserinde, özellikle ileri evre şüphesinde, BT yaygınlığının değerlendirilmesi için faydalı olabilir.

Akciğer grafisi, akciğer metastazlarının saptanması ve incelenmesi amacıyla kullanılabilir.

CA-125 (Kanser antijeni – 125), potansiyel bir tümör belirteçidir. Konsantrasyonunun tip-2 veya ileri evre kanserlerde (seröz hücreli ve berrak hücreli gibi) daha erken evre kanserlere göre yükselmesi daha olasıdır, ancak normal bir değer daha ileri tümörleri dışlamaz (62).

Özellikle ileri evre endometrial kanserlerde (vajinal, parametrial yayılım ve uzak organ metastazı gibi klinik bulguları olan hastalarda) metastazın değerlendirilmesi amacıyla anormal karaciğer fonksiyon testleri yararlı olabilir.

Endometrial kanseri tanısı alan hastaların büyük çoğunluğunun postmenopozal dönemde olması ilk başvuru şikayetlerinin anormal uterin kanama olması sebebiyle bu noktada ACOG (Amerikan Jinekoloji ve Obstetri Derneği) komitesinin 2018 yılındaki toplantısında, postmenopozal kanamaya yaklaşım ile ilgili görüşleri paylaşmak uygun olacaktır (63);

- Menopoz sonrası kanamaya klinik yaklaşım, endometrial karsinomu ve endometrial intraepitelyal neoplaziyi dışlamak veya teşhis etmek için hızlı ve etkili bir değerlendirme gerektirir.
- Transvajinal ultrasonografi, ultrason görüntülerinde ince bir endometrial eko (4 mm'ye eşit veya daha az) ortaya çıkarsa, 4 mm veya daha az endometrial kalınlığının %99'dan fazla negatif prediktif değeri olduğu göz önüne alındığında, postmenopozal kanamanın ilk değerlendirmesi için uygundur.

- Transvajinal ultrasonografi, ilk kanama epizodu olan postmenopozal bir kadının değerlendirilmesinde ilk yaklaşım olarak endometrial örneklemeye makul bir alternatiftir.
- Transvajinal ultrasonografi, ofis endometrial örnekleme yapılan ancak doku tanı için yetersiz olan kadınların triyajında faydalı olabilir.
- Menopoz sonrası kanaması olan bir kadında ince, belirgin endometrial ekoyu yeterince tanımlayamamak sonohisterografi, ofis histeroskopi veya endometrial örneklemeyi tetiklemelidir.
- Kör örnekleme endometrial hiperplazi veya maligniteyi ortaya çıkarmazsa, inatçı veya tekrarlayan kanaması olan kadınların değerlendirilmesinde dilatasyon ve küretaj ile histeroskopi gibi ileri testler garanti edilir.
- Aksiyel bir uterus, obezite, birlikte var olan miyomlar, adenomyozis veya önceki uterus cerrahisi, endometrial kalınlık ve dokunun güvenilir transvajinal ultrason değerlendirmesini elde etmede zorluklara katkıda bulunabilir.
- Nadir endometrial karsinom vakaları (özellikle tip II) 3 mm'den daha az endometrial kalınlıkla ortaya çıkabileceğinden, kalıcı veya tekrarlayan uterus kanaması, endometrial kalınlıktan bağımsız olarak endometriumun histolojik değerlendirmesini gerektirmelidir.
- Menopoz sonrası kanaması olmayan bir hastada tesadüfen keşfedilen 4 mm'den büyük bir endometrial ölçümün rutin olarak değerlendirmeyi tetiklemesi gerekmez, ancak hasta özelliklerine ve risk faktörlerine dayalı bireyselleştirilmiş bir değerlendirme uygun olur.

2.1.6 Önleme

Endometrium kanseri taramasının bir anlamı yoktur; taramanın hastalıktan ölümleri azaltması olası değildir. Esas olarak düşük riskli tümörleri olan kadınları tespit edecektir (64).

Transvajinal ultrasonografi (TVU) ve Pap smear veya endometrial fırçadan alınan sitoloji de dahil olmak üzere kitle taraması için potansiyel olarak uygun olan minimal invaziv modaliteler, asemptomatik bir popülasyonda endometrial kanser teşhisi için sınırlı doğruluğa sahiptir (65).

American College of Surgeons (ACS), 65 yaşından büyük tüm kadınların endometrial kanserin riskleri ve semptomları hakkında bilgilendirilmesini ve semptomlar ortaya çıkarsa değerlendirilmeleri için bir jinekoloğa başvurmalarını önerir. Lynch sendromu olan veya yüksek risk altında olanlar dışında, asemptomatik kadınların taranmasını destekleyen hiçbir kanıt bulunamamıştır. Öneri tartışmalı olsa da, bu hastalar yaşamları boyunca % 22 ila %50 arasında endometrial kanser riski olması nedeniyle 35 yaşından itibaren endometrial biyopsi ile yıllık olarak taranmalıdır (66). Lynch sendromlu hastalara bir adet takvimi tutmaları ve anormal kanamayı bildirmeleri tavsiye edilmelidir. Mutasyona sahip olan ve gelecekte hamile kalmak istemeyen 40 yaşından büyük kadınlar profilaktik histerektomi düşünebilirler (67).

2.1.7 Patoloji

Tablo 3: Endometrium Kanseri Histolojik Alt Tipleri (68)

Endometrioid adenokarsinom • Skuamöz diferansiasyon gösteren • Villoglandüler • Sekretuar
Musinöz karsinom
Seröz karsinom
Berrak hücreli karsinom
Mikst hücreli karsinom
Nöroendokrin tümör
Undiferansiye karsinom
Skuamöz karsinom
Diğerleri

Tablo 4: Endometrium Kanseri Histolojik Alt Tip Görülme Oranları (69)

Histolojik Tip	Görülme Oranı (%)
Endometrioid adenokarsinom	77
Müsinöz karsinom	1
Seröz karsinom	7
Berrak hücreli karsinom	2
Mikst hücreli karsinom	8
Karsinosarkom	3
Diğer	1

Endometrioid adenokarsinom:

Endometrial kanserlerin sınıflamasına göre; endometrioid adenokarsinom, müsinöz karsinom, seröz karsinom, berrak hücreli karsinom, skuamöz karsinom, undiferansiye karsinom, mikst karsinom gibi tipleri olmasına karşın endometrioid tip endometrial karsinomların %80'ini oluşturur (70).

Endometrioid karsinomun skuamöz diferansiyasyon gösteren, villoglandüler karsinom ve sekretuar karsinom gibi birkaç alt tipi veya varyantı tanımlanmıştır. Skuamöz farklılaşma, endometrioid karsinomda yaygın bir bulgudur. Önceden, görünüşte iyi huylu skuamöz farklılaşmaya sahip endometrioid karsinomlar, açıkçası kötü huylu bir skuamöz bileşene sahip karsinomlardan ayırt ediliyordu. Eski tümörler adenoakantom, ikincisi adenoskuamöz karsinom olarak belirlendi. Daha yeni araştırmalar, bu türlerin aslında bir aralığın parçası olduğunu göstermiştir (71).

Endometrial kanserler, moleküler bir bakış açısından da, sekretuar endometriumdan çok proliferatife benzer (72).

Bir endometrioid karsinom, solid büyüme miktarının (skuamöz ve skuamöz olmayan epitel arasında hiçbir ayrım olmaksızın), invazyon paterninin ve tümör nekrozunun varlığının düşük büyütmeli değerlendirmesi kullanılarak düşük grade

veya yüksek grade olarak sınıflandırılır. Aşağıdaki üç kriterden en az ikisi karşılanıyorsa bir tümör yüksek dereceli olarak sınıflandırılır(73) :

- %50'den fazla solid büyüme;
- Yaygın olarak infiltratif büyüme
- Tümör hücre nekrozu

Histolojik derecelendirme sadece endometrioid karsinomlar için geçerlidir; seröz ve berrak hücreli karsinomlar tanım gereği yüksek dereceli olarak sınıflandırılır. Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu (FIGO) sistemine göre grade sınıflaması şu şekildedir:

- Grade 1: Solid büyüme paterni %5'ten az
- Grade 2: Solid büyüme paterni %6-50 arası
- Grade 3: Solid büyüme paterni %50'den fazla

Belirgin nükleer atipi varlığında grade 1 tümörün derecesi grade 2'ye, grade 2 tümörün derecesi grade 3'e yükseltilir (74).

Müsinöz karsinom:

Endometrium kanserlerinin yaklaşık %1-2'sini oluşturur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tanımına göre müsinöz endometrial karsinom %50 den fazla müsinöz hücreden oluşur ve tümörün geri kalanı endometrioid morfoloji gösterir. Vimentin ile pozitif boyanması ile endoservikal adenokarsinomdan ayrılır. Bu tümörler tipik olarak iyi prognozlu, düşük derecelidir (75).

Seröz karsinom:

En sık görülen ikinci endometrial karsinom olup tüm endometrium kanserlerinin yaklaşık %5-10'unu oluşturur. Tip II endometrium kanserleri grubuna dahildir. Over ve tubanın seröz karsinomlarına benzer olup uterus, adneksiyal alan, lenfatik ve damarlara invazyon gösteren agresif bir tümördür ve kötü prognozludur. Sıklıkla lenfovasküler saha invazyonu (LVSI) ve derin myometrial invazyon ile ilişkilidir (76). Seröz endometrial karsinomda neoplastik hücreler, papiller yapıları ve düzensiz kenarlara sahip bezleri oluşturur ayrıca hücreler belirgin nükleoller ve çok sayıda mitotik şekillere sahip nükleer atipi gösterir. Psammoma cisimcikleri bulunabilir (77)

Epitelyal over tümörleri gibi CA-125 salgılayabilmektedir ve postoperatif takipte seri CA-125 ölçümü faydalıdır. Seröz karsinomda genellikle immünohistokimyasal olarak mutant nükleer protein birikimini gösteren p53 proteini güçlü bir şekilde pozitifdir (78).

Berrak hücreli karsinom:

Tip II endometrial karsinom grubundadır ve tüm endometrial kanserlerin % 5'inden azını oluşturur (79). Genellikle mikst paternde izlenirler, bol miktarda berrak sitoplazmaya sahip hücrelerden oluşan papiller, glandüler, tubulokistik ve diffüz tipleri olabilir. Çoğunlukla, hücreler, hyalinize edilmiş saplarla papilla içinde düzenlenmiş bir kabarcıklı konfigürasyona sahiptir (kabara çivisi veya mezar taşı görünümü). Karakteristik olarak yaşlı kadınlarda görülür ve seröz karsinomdaki gibi myometrial invazyon ve LVSİ kötü prognostik faktör kabul edilir (80). Prognozu kötü olan bu hastalarda 5 yıllık sağ kalım oranı %33-64'dür. Tamamen sitoredüksiyon uygulanan hastaların ameliyat sonrası rezidüel hastalık bırakmış olan kadınlara kıyasla progresyonsuz ve genel sağkalımlarında iyileşme olduğu görülmektedir (81).

Mikst hücreli karsinom:

Hem tip I hem de tip II endometrium kanserlerinden oluşabilir. Seröz ve berrak hücreli karsinom dışındaki kombinasyonların genel olarak klinik önemi yoktur. İkinci bileşenin minimum miktarı %5 olarak kabul edilmiştir, çünkü %5'lik bir seröz karsinom bileşeni bile prognozu daha kötü hale getirir (82).

2.1.8 Cerrahi Evreleme ve Tedavi

2.1.8.1 Cerrahi Evreleme

Tablo 5: Endometrium Kanseri için FIGO Cerrahi Evreleme Sistemi (83)

Evre^a
I Tümör korpusta sınırlı
IA Myometrial invazyon yok veya ½ den az
IB Myometrial invazyon ½ ye eşit veya ½ den fazla ^b
II Tümör servikal stromayı invaze etmiş ancak uterus dışına yayılmamıştır
III Lokal ve/veya bölgesel tümör yayılımı
IIIA Tümör korpus uterinin serozasını ve/veya adneksi invaze etmiş ^c
IIIB Vajinal ve/veya parametrial tutulum ^c
IIIC Pelvik ve/veya paraaortik lenf nodlarına metastaz ^c
IIIC1 Pelvik lenf nodlarına metastaz
IIIC2 Paraaortik lenf nodlarına metastaz
IV Mesane ve/veya barsak mukozasına yayılmış ve/veya uzak metastaz
IVA Tümör mesane veya barsak mukozasına yayılmış
IVB Uzak metastaz, intraabdominal metastaz
^a Grade 1, Grade 2 veya Grade 3 dahildir
^b Endoservikal glandüler invazyon sadece evre 1 gibi düşünülebilir, evre 2 değildir
^c Pozitif sitoloji evreyi değiştirmeden ayrıca bildirilmelidir
FIGO: Uluslararası Jinekoloji ve Obstetri Federasyonu

2.1.8.2 Cerrahi tedavi

Endometrial kanserlerde klinik evreleme önerilmez, endometrial kanser tedavisinin temel taşı cerrahidir, bu sadece evreleme amaçları için önemli olmakla kalmaz, aynı zamanda sadece yüksek riskli hastalara fayda sağlayan adjuvan tedavi yöntemlerinin uygun şekilde uyarlanmasını sağlar. Kabul gören yönetim biçimi; periton sıvısı veya sitoloji için yıkama, uterus serviksi dahil total histerektomi ve

bilateral salpingo-ooferektomi; seçilmiş vakalarda omentektomi ve kapsamlı bir retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu içeren cerrahi evrelemedir (84). Çoğu klinikte cerrahi tedavide öncelikli tercih laparotomik yöntemler olsa da erken evre kanserlerde özellikle uterusu sınırlı olan endometrium kanserlerinde laparoskopik, robotik ve vajinal yöntemler de kullanılmaktadır (85). Seçilmiş vakalarda pelvik ve paraaortik lenfadenektomi yapılır. Lenfadenektomi, evrelemenin doğru bir şekilde yapılabilmesi için gereklidir, ancak terapötik faydaları tartışmalıdır. Şu anda lenfadenektomi öncelikle evreleme için kullanılmaktadır ve yüksek risk faktörleri olan kadınlarda düşünmek gerekir (86). Lenf nodu metastazının yüksek olduğu hastalar konusunda kesin bir fikir birliği olmamakla beraber, yüksek histolojik grade, derin invaziv hastalık ve endometrioid tip dışı yüksek riskli tipler artmış risk olarak değerlendirilmektedir. Yapılan bir çalışmaya göre histolojik grade 1-2, yüzeysel invaze ve 2 cm'den küçük tümör dokusu olan hastalarda lenf nodu metastazı riski %5'ten azdır ve bu hastalarda LND işlemi atlanabilir (87). Rutin tam bilateral pelvik ve aortik LND, adjuvan tedaviyi planlamak amacıyla malignite derecesi hakkında en fazla bilgi sağlar, ancak evrensel kullanımı ile ilgili temel endişe, alt ekstremiteler lenfödem ve ilişkili selülit morbiditesidir (88). Bu sebeple hastanın komorbiditeleri ve genel durumunu değerlendirip seçilmiş vakalarda pelvik lenfadenektomiye paraaortik lenfadenektomi ekleyen klinikler de halen bulunmaktadır (89). Sentinel lenf nodu diseksiyonu da alternatif bir lenfadenektomi yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. SLND kullanımını destekleyen veriler, lenf nodu metastazının daha fazla saptanmasını ve sistematik LND'ye kıyasla düşük yanlış negatif oranını gösteren prospektif ve retrospektif çalışmaları içerir (90). Metastaz varlığında sitoreduktif cerrahi uygulanır, seröz veya berrak hücreli vakalarda infrakolik omentektomi, pelvis, perikolik alan ve diafragmadan bilateral periton biyopsileri de eklenir. Laparatomik yöntemde vertikal insiyon yapılmalı, batına girişte sitoloji için sıvı örnekleme alınmalıdır.

2.1.8.3 Kemoterapi

Endometrium kanserinde etkinliği gösterilen ve en sık kullanılan kemoterapötik ajanlar doksorubisin, sisplatin, paklitakseldir ve karboplatindir (91). Bu ajanlar ileri evre endometrium kanseri için adjuvan tedavi seçeneklerini oluşturur. Bu zamana kadar doksorubisin, sisplatin ve paklitaksel (TAP) 92 ile karboplatin ve paklitaksel

kombinasyonlarının en etkili olduğu gösterildiğinden, en çok çalışma yapılan kombinasyonlar bunlardır. Bununla birlikte, ilk kombinasyon çok daha toksiktir ve tedaviye bağılı ölümlerle sonuçlanmıştır. (TAP) veya karboplatin-paklitaksel kemoterapisi için yapılan GOG'un randomize karşılaştırmalı bir çalışmasında, daha düşük morbidite nedeniyle karboplatin- paklitaksel tercih edildi ve her iki kombinasyonun da etkinlikleri benzerdi. (92). Yapılan çalışmalarda faz II evresinde Karboplatin-paklitaksel kombinasyonu, ileri evre veya nüks endometrium kanserlerinde test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre %65-75 yanıt oranı ile yaklaşık 14 aylık progresyonsuz sağkalım gösterilmiştir. Mevcut sonuçlar değerlendirildiğinde karboplatin-paklitakselin TAP kombinasyonuna kıyasla daha iyi tolere edilebilirlik profili nedeniyle ileri evre ve nüks hastalıkta adjuvan tedavi için standart olarak karboplatin-paklitaksel kullanımı önerilmiştir (93).

2.1.8.4 Radyoterapi

Primer radyoterapi:

Her ne kadar endometrium kanserinde primer tedavi cerrahi olsa komorbiditeleri fazla, cerrahi için kötü aday olan nadir bir hasta grubunda düşünülür. Eksternal-beam pelvik radyasyon birlikte ya da tek başına vajinal brakiterapi tipik yöntemdir. Genel olarak sağ kalım oranı, cerrahi tedaviden %10-15 daha düşüktür, bundan dolayı cerrahiden kaçınılacak hastaları seçmek için titiz bir preoperatif hazırlık yapılmalı ve doğru hasta grubu seçilmelidir (94).

Adjuvan radyoterapi:

Günümüzde adjuvan radyoterapi endikasyonu, risk faktörlerinin varlığına dayanmaktadır ve düşük risk grubundaki hastalar için (Endometrioid histoloji, Grade 1 veya 2 olgular, Hastalığı endometriuma sınırlı olgular, Evre 1A hastalık, Yüzeyel invazyon) standart tedavi cerrahidir ve genelde prognoz çok iyi olması sebebiyle adjuvan radyoterapi sıklıkla önerilmemektedir (95). Yüksek riskli grubundaki hastalarda (evrede olmasından bağımsız olarak, seröz, berrak hücreli adenokarsinomlar ve evre II-IV hastalığı olan hastalar) ise adjuvan radyoterapi endikedir (96).

2.1.9 Prognostik Faktörler

Endometrium kanserinde en önemli prognostik özellikler cerrahi FIGO evresi, myometrial invazyon, histolojik tip ve farklılaşma derecesidir; çoğu birbirinden bağımsızdır (97-101).

Evre:

Sağ kalım oranlarını belirleyen en önemli faktördür. Endometrium kanserinde evreleme cerrahi olarak yapılmalıdır. Cerrahi evreleme sonucunda derin myometrial invazyonu, servikal stromal tutulumu, lenf nodu pozitifliği ve uzak organ tutulumu varlığı belirlenerek adjuvan tedavinin verilme gerekliliği ve adjuvan tedavi tipinin ne olması gerektiğine karar verilir. Evre I hastalıkla myometriuma invazyon derinliği önemli bir prognostik faktördür ve 5 yıllık sağ kalım yaklaşık %90 oranında izlenmektedir. Evre II hastalıkta servikal stromal invazyon mevcut olup prognoz Evre I endometrium kanserine kıyasla daha kötü seyretmektedir. Evre III endometrium kanserinde ekstrauterin tutulum ve lenf nodu pozitifliği görülmekte olsa da 5 yıllık sağ kalım oranları yaklaşık %50-60'dır. Evre IV endometrium kanseri uzak metastaz ile ilişkili olup 5 yıllık sağ kalım oranları %20 oranında izlenmekte olup prognoz kötüdür.

Tablo 6: Herbir Cerrahi Evre İçin Endometrium Kanseri 5 Yıllık Sağkalım Oranları (102)

FIGO EVRESİ	5 YILLIK SAĞKALIM (%)
IA	90.3
IB	80.8
II	80.5
IIIA	68.5
IIIB	53.1
IIIC1	58.3
IIIC2	51.2
IVA	22
IVB	21.1

Myometriyal invazyon:

Endometrium kanserinde myometriyal invazyon derinliğinin 1/2 den fazla izlenmesi durumunda lenfatik sisteme ulaşım dolayısıyla ekstrauterin yayılım ve rekürrens riski artmıştır. Myometriyal invazyon derinliğinin artış sağ kalım oranlarında azalmayı da beraberinde getirir. Yapılan bir çalışmada myometrium invazyonu görülmeyen hastalarda sadece %1 oranında pelvik lenf nodu metastazı varken, dış üçte birlik kısımda myometrium invazyonu olan hastalarda %25 pelvik lenf nodu metastazı ve %17 paraaortik lenf nodu metastazı izlenmiştir (103). Yine yapılan çalışmalarda myometriyal invazyonun sağ kalıma etkisini belirlemede en duyarlı belirteçin tümörün myometriyal birleşim yerinin uterin serozaya olan mesafesi olduğu görülmüştür. Serozaya 5 mm'den daha az mesafede tümörü olan hastalarda 5 mm'den daha fazla yakınlıkta tümörü olan hastalara göre daha fazla nüks ve ölüm görülmektedir (104).

Histolojik Tip:

Endometrioid tip kanserler tüm endometrium kanserlerinin yaklaşık %90'ını oluşturur ve iyi prognozludur. Geri kalan %10'u oluşturan Non-Endometrioid tip kanserler daha kötü prognozlu olup daha düşük 5 yıllık sağ kalım oranları izlenmektedir. Wilson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada endometrioid tip tümörlü hastalarda %92'lik 5 yıllık sağ kalım oranına karşılık, diğer agresif histolojik subtiplerde 5 yıllık sağ kalım oranı %33 olarak izlenmiştir ve cerrahi evreleme sırasında kötü histolojik tip görülen hastaların %62'sinde ekstrauterin yayılım olduğu gözlenmiştir (105).

Yaş:

Endometrial kanseri olan genç kadınların prognozu yaşlı kadınlardan daha iyidir ve ileri yaşın sağ kalımı kötü etkilediği düşünülmektedir (106). Jinekolojik Onkoloji Grubunun (GOG-Gynecologic Oncology Group) verilerine göre yaşa göre 5 yıllık sağ kalım oranları; 50 yaş ve altındaki hastalar için %96,3; 51 ila 60 yaş arası hastalar için %87,3; 61-70 yaş arası hastalar için %78; 71 ila 80 yaş arası hastalar için %70,7; 80 yaşından büyük hastalar için %53.6 olarak bildirilmiştir (107).

Pozitif Periton Sitolojisi:

Yapılan çalışmalarda pozitif peritoneal sitolojinin sağ kalımı azalttığı ve nüks oranlarını arttırdığı raporlanmıştır. Pozitif peritoneal sitolojinin diğer kötü prognostik faktörler veya ekstrasuterin hastalık ile ilişkili olduğunda nüksü artırdığı ve sağ kalım üzerinde önemli bir olumsuz etkiye sahip olduğu görülmüştür. Ekstrasuterin hastalık veya diğer kötü prognostik faktörlerin yokluğunda pozitif periton sitolojisinin rekürrens ve sağ kalım üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı izlenmiştir (108).

Lenfovasküler Alan İnvazyonu:

Kurman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Lenfo-vasküler alan invazyonu, tüm endometrial kanser türlerinde nüks ve ölüm için bağımsız bir risk faktörü gibi görünmektedir (109). Yine Ayhan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada pelvik ve paraaortik lenfadenektomi de dahil olmak üzere tam cerrahi evreleme prosedürleri geçiren düşük riskli endometrial kanserli hastalarda pozitif lenfovasküler alan invazyonu (LVSI) önemli bir prognostik parametre gibi görünmektedir (110).

2.1.10 Nüks

Nükslerin %75'i teşhisten sonraki ilk 3 yıl içinde oluşur. Tekrarlayan veya metastatik endometrial kanser habercisi olan semptomlar spesifik olmamakla birlikte, çoğu kadında vajina, mesane veya rektumdan kaynaklanan kanama, anoreksi, kilo kaybı, pelvik ağrı, öksürük, nefes darlığı görülebilir (111).

Nüks endometrium kanseri olan hastalarda, genellikle tedavinin bireyselleştirilmesi gerekir. Genel olarak nüksün yeri, sağ kalımın en önemli belirteçidir. Durumlara bağlı olarak cerrahi, radyasyon, kemoterapi ya da tüm bu seçeneklerin kombinasyonundan oluşan stratejiler her hasta özelinde değerlendirilip belirlenir.

En iyi tedavi edilebilir senaryo daha önce ışın tedavisi almamış hastalarda vajinal apeksteki izole nükstür ve bu hastalar genellikle, eksternal beam radyoterapi ile etkili şekilde tedavi edilir (112).

Metastatik endometrial kanserli hastalarda ilk basamak kemoterapi olarak karboplatin ve paklitaksel kombinasyonları önerilir (113).

2.2 NETRİNLER

2.2.1 Genel Bilgiler

Netrin kelimesi Sanskritçe 'netr' kelimesinden köken almakta ve 'kılavuzluk eden, öncülük yapan' anlamına gelmektedir. İlk bildirilen netrin olan UNC-6 (UNCoordinated-6), sinir gelişimini düzenleyen proteinler için bir taramada nematod kurdu *Caenorhabditis elegans*' ta 1990 yılında tanımlanmıştır (114).

Netrin ailesi, semaforinler, yarıklar ve efrinler gibi protein aileleri ile birlikte nöronal rehberlik ipuçlarını oluşturan yüksek oranda korunmuş bir protein sınıfıdır (115).

Tüm netrinler, laminin süper ailesinin üyeleridir. Omurgalılar çoklu netrin genlerini ifade ederler. Memelilerde, NTN1, NTN3, NTN4, NTNG1 ve NTNG2 olmak üzere beş ağı ekspresyonu tespit edilmiştir. NTN1, NTN3 ve NTN4, ekstraselüler matrikse salgılanırken (ECM), NTNG1 ve NTNG2, bir glikosilfosfatidilinositol bağı yoluyla hücre yüzeyine bağlanır. NTN1, NTN2 ve NTN3'ün amino terminal üçte ikisinin sekansı, en çok laminin- γ 1 zincirinde bulunan amino terminal sekanslarına benzerken, NTNG1, NTNG2 ve NTN4, en çok laminin- β 1 zincirinin amino terminaline benzer. Laminin- α , laminin- γ ve laminin- β zincirlerinin heterotrimerlerinde bu amino-terminal alanları kendi kendine birleşmeye aracılık ederek karmaşık laminin ağlarının oluşumuna yol açar. Netrin-4, amino terminal alanlarının lamininlerle etkileşimi yoluyla temel membranlara entegre olur, bununla birlikte, diğer salgılanan netrinler, ECM'te lamininlere bağlanmıyor gibi görünmektedir (116,117).

Tanımlanan ilk Netrin reseptörleri, omurgalılarda DCC (Deleted Colorectal Cancer) ve DCC ile yaklaşık %50 amino asit benzerliği olan neogenini de içeren DCC protein alt ailesine aittir. DCC, neogenin ve bunların ortologları, dört immünglobülin alanından ve altı fibronektin tip III (FNIII) tekrarlarından oluşan bir hücre dışı alana

sahip transmembran proteinlerdir. DCC'deki dördüncü ve beşinci FNIII tekrarları, NTN1'i bağlamak için gereklidir (118).

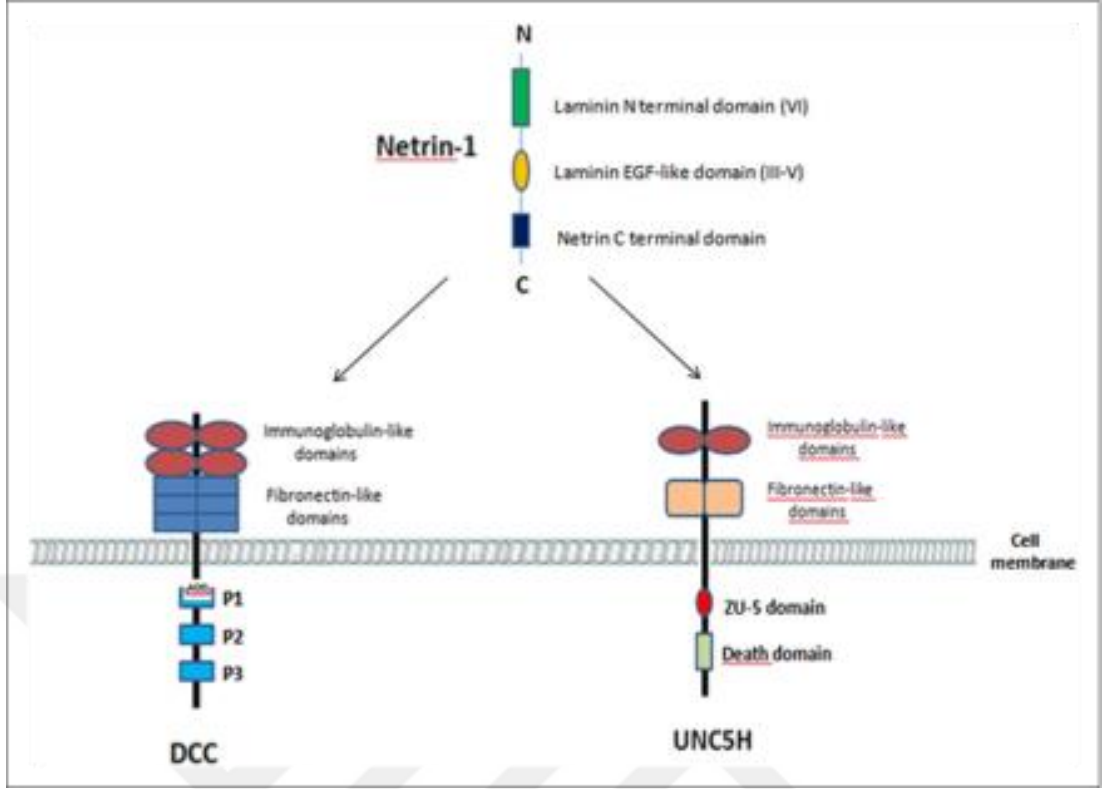
Netrinler de dahil olmak üzere birkaç molekülün hem nöronal hem de vasküler büyümenin düzenleyicileri olduğunu öne süren artan bir literatür vardır. Nöral büyümeyi ve gelişmeyi yönlendiren moleküllerin, vasküler ağacın morfogenezini düzenlemede de rol oynadığına inanılmaktadır. Ayrıca, netrinlerin akciğer ve pankreasta epitelial hücre dallanma morfogenezini kontrol etmede son zamanlarda rol oynadığı belirtilmiştir (119).

Netrin ailesinin üyelerinin genellikle onkogenlerin özelliklerini sergilemelerine rağmen, bazı tümörlerde aşağı regüle edilmiş ekspresyon sergilediklerini belirtmekte fayda var. Yani Netrin proteinleri farklı kanser türlerinde farklı etkilere sahip olabilir ve kanseri inhibe edebilir veya teşvik edebilir. Bu varyasyon için olası bir açıklama, birçok insan kanserinde, Netrin ailesi üyelerinin yukarı regülasyonunun DCC ve UNC5H gibi bağımlı reseptörler tarafından indüklenen apoptozu inhibe etmesi ve böylece tümör ilerlemesini teşvik etmesidir. Bu nedenle, farklı kanserlerde bir tür netrin proteininin davranışına dayalı uygun tedavi müdahalelerini tahmin etmek zordur veya kanserde çoklu netrinlerin karmaşık etkilerini tahmin etmek zordur.

2.2.2 Netrin-1

NTN1, tüm netrinlerden ilk tanımlanan ve en kapsamlı araştırılanıdır. İlk olarak memelilerde 1990'larda keşfedilmiştir. NTN1, aksonları, kemoatraktif ve kemorepulsif sinyallerin dengesi yoluyla sinaps oluşumuna yol açan son konumlarına yönlendirir ve bunu, büyüyen aksonların ucunda bulunan nöron büyüme konisinin rehberliğinde yapar (120).

NTN1, iki ana reseptör aracılığıyla etki eder: DCC ve UNC5H (UNCoordinated-5 homolog). Netrin-1'in bu reseptörlerle etkileşimi, enflamasyon, anjiyogenez ve apoptozu düzenlemesine bağlı olarak, tümör oluşumunda rol oynamaktadır (121).



Şekil 1: Netrin-1 ve Netrin-1 Bağımlı Ana Reseptörleri (122)

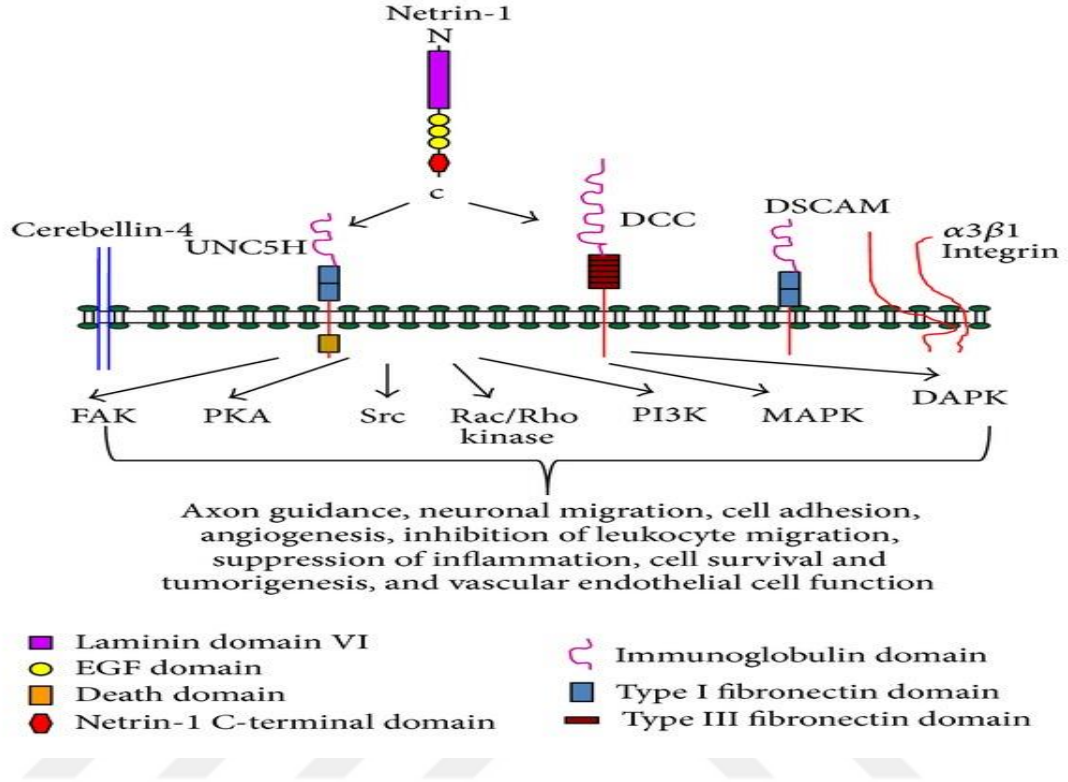
İki ana NTN1 reseptörü, DCC ve UNC5H, sırasıyla ligandlarının yokluğunda veya varlığında apoptozu pozitif veya negatif olarak düzenleme yeteneğini paylaşan bağımlılık reseptörleri (DR'ler) ailesine aittir. Bu nedenle, bir tümör hücresinin bu DR aktivitesini kaybetmesi avantajlıdır. Bu avantaj daha önce çeşitli insan kanserlerinde de anlatılmıştır (123).

NTN1'in sinir sisteminin gelişimi sırasında, bu molekülün, UNC5H ailesi üyelerinden UNC5A, UNC5B, UNC5C ve UNC5D ile etkileşim yoluyla aksonları hedeflerine yönlendirerek önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (124).

NTN1'in reseptörlerine bağlanması, aktin ve mikrotübül ağlarının yeniden düzenlenmesi yoluyla sitoskeletonun yapısını değiştirir. Reseptörü UNC5B aracılığıyla hareket eden Netrin-1'in in vitro ve in vivo olarak güçlü bir monosit ve lenfosit göçü inhibitörü olduğu gösterilmiştir (125).

NTN1 sinyal etkisini, UNC5A-D, down sendromu hücre adhezyon molekülü (DSCAM), integrin $\alpha 3 \beta 1$ ve $\alpha 6 \beta 3$, serebellin 4 (CBLN4) içeren dört ilave reseptörün

yanı sıra reseptör olup olmadığı net olarak açıklığa kavuşturulamamış olan adenozin 2b reseptörü (A2bR) aracılığıyla gösterir (126).



Şekil 2: Netrin-1 ve Sinyal Etkisini Göstermesini Sağlayan Reseptörleri
(127)

NTN1, merkezi sinir sistemindeki rolünün yanı sıra, kanserlerin, kardiyovasküler hastalıkların ve böbrek hastalıklarının düzenlenmesinde rol oynar. Son yıllarda, Netrin-1'in birçok multisistem hastalığının altında yatan patolojide yer alabileceği görülmüş ve bu durumun netrinleri çekici bir potansiyel terapötik hedef haline getirmiştir (128,129).

Yapılan bir çalışmada NTN1 ile endometriozis ilişkisi de incelenmiş, endometriotik lezyonlarda makrofajlar tarafından netrin-1 üretiminin endometriozis ile ilişkili ağrıda önemli bir rol oynayabileceği düşünülmüştür (130).

NTN1'in osteoblast farklılaşmasını engellediği ve iki netrin reseptörünün kombinasyonunun incelendiği bir çalışmada, osteoblast farklılaşmasının Netrin-1 tarafından düzenlenmesi için gerekli olduğu bulunmuştur (131).

NTN1 ile ilgili yapılan bir başka çalışmada osteoklast multinükleasyonu baskıladığını, ancak osteoklast farklılaşmasını baskılamadığını ve fareleri in vivo otoimmün kemik yıkımına karşı koruduğunu bildirerek, Netrin-1'in kemik metabolizmasında pozitif bir düzenleyici olduğunu belirtmişlerdir (132).

Ayrıca NTN1 seviyelerinin birçok kanser türünde önemli ölçüde artarak dolaşıma salındığı ve bu nedenle biyobelirteç olarak kullanımının uygunluğu son dönemde ilgi çekici araştırmalar yapılmasına sebep olmuştur (133). Yapılan çalışmalarda tümör baskılayıcı p53'ün, NTN1 ve bazı reseptörlerinin ekspresyonunu düzenlediği görülmüştür. Bu açıdan bakıldığında NTN1 bir onkogen olarak kabul edilebilir ve p53, NTN1 yolunun düzenlenmesi yoluyla hücre kaderini belirleyebilir (134). NTN1 reseptörlerinden UNC5C, kolorektal kanserin (CRC) ailesel formlarına yatkınlık yaratan yeni bir gen olarak tanımlanmıştır (135).

2009 yılında yapılan bir çalışmada küçük hücreli dışı akciğer kanseri olan hastalarda immünohistokimyasal olarak NTN1 düzeyleri değerlendirilmiş ve yaklaşık yarısında NTN1 ekspresyonunda artış izlenmiştir (136).

Benzer şekilde mide kanseri dokularında NTN1 ekspresyonunun araştırıldığı çalışmada, kanser evresi ve lenf düğümü metastazı ile ters orantılı olarak aşırı eksprese edildiği bulunmuştur (137).

Han ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hepatoselüler karsinom (HCC) dokuları ve hücre hatlarında NTN1 ekspresyonunun arttığı gözlemlenmiş ve HCC'de PI3K (fosfoinositid-3 kinaz) / AKT sinyalinin aktive edildiği gösterilmiştir (138).

Akciğer kanserli hastaların serumunda NTN1 düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada ise NTN1 düzeylerinin arttığı ve kemoterapi ile NTN1 düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (139).

Kato ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptığı endometrial kanserler ile ilgili bir çalışmada, normal endometrial bezlerde ve kanser hücre dizilerinde DCC ve NTN1 ekspresyonu RT-PCR ve immünohistokimya ile incelenmiştir. Bu çalışmada eksojen DCC ve NTN1 ekspresyonunun etkileri, ilgili ekspresyon vektörü transfeksiyonu ile

birlikte gözlenmiştir. DCC/NTN1 sinyalleşmesinin, hücreleri endometrial bez yapısının veya fonksiyonunun çoğalmadan sekretuar faza geçişine bağlayabileceği gösterilmiştir. Ayrıca tüm endometrial kanser hücre hatları normal DCC ekspresyonunu kaybettiği ve NTN1 ile indüklenen apoptozun yokluğunda kanser hücre hatlarında DCC ekspresyonunun yeniden düzenlendiği görülmüş ancak NTN1 varlığında hiçbir değişiklik gözlenmemiştir (140).

2.2.3 Netrin-4

NTN1'in aksine NTN4 ile ilgili literatür çalışmaları daha sınırlı ancak en az netrin-1 kadar ilgi çekicidir. NTN4, düşük konsantrasyonlarda nörit uzamasını destekleyen ancak yüksek konsantrasyonlarda nörit uzamasını önleyen 628 amino asitlik bir bazal membran bileşenidir (141).

Fattet ve arkadaşları, NTN-4'ün NTN1 reseptörlerinin hiçbirisiyle – örneğin DCC veya UNC5'ler – etkileşime giremediğini ve aslında laminin $\gamma 1$ 'e yüksek afinitesi sayesinde bazal membranın düzenleyici bir bileşeni olduğunu gösterdi (142).

In vitro, NTN4, E14 sıçan koku alma soğanı eksplantlarından nörit büyümesini teşvik eder, bu da aksonal uzamayı teşvik eden bir haptotaktik faktör olarak veya nöronal göç için bir substrat olarak önemli olabileceğini düşündürür. Buna ek olarak, NTN4'ün kan damarlarının bazal membranlarında bulunduğu ve bu nedenle anjiyogeneze önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (143).

Endotelial progenitor hücreler (EPC'ler), vasküler yaralanma bölgelerine göç ederek neovaskülarizasyonu ve doku onarımını destekler. Bu nedenle, EPC'nin hasarlı dokulara yönlendirilmesini artıran faktörler ilgi konusudur. Lee ve arkadaşları yaptıkları çalışma sonucunda NTN4'ü anjiyogeneze bağımlı hastalıkların tedavisi için endotelial progenitor hücre tabanlı bir terapi olarak önermektedir (144).

NTN4'ün, intravillus anjiyogenezinin düzenlenmesinde doğrudan bir rolü olduğu öne sürülmüş ve insan plasental endotelial hücre proliferasyonunu, tüp benzeri oluşumu, göçü ve sfero filizlenmeyi inhibe ettiği gösterilmiştir (145).

Yapılan bir çalışmada, preeklampsia hastalarında maternal soluble fms-like thyrozine kinase-1(sFlt-1) seviyeleri ile maternal NTN4 seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. NTN4 düzeylerindeki yükselmenin preeklampside ortaya çıkan plasental hipoksiye sekonder olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışma, preeklampsinin teşhisi ve prognozunun belirlenmesine yardımcı olarak klinik kullanım için otomatik antianjiyogenik biyobelirteçlerin (sFlt-1 ve NTN4) dikkate alınmasına yol açmıştır (146).

NTN4'ün rolü, anjiyogenezi ve kanser hücresi göçünü hem teşvik ettiği hem de engellediği bildirildiği için hala tartışmalıdır (147).

In vitro kanser hücre hatları ve in vivo fare modellerinde bazal membranda kanserle ilişkili fibroblastlar ve endotelial hücreler tarafından salgılanan NTN4'ün varlığının tümör hücresi istilasını ve metastazını engellediği gösterilmiştir (148).

Başka bir çalışmada NTN4'ün aşırı ekspresyonunun, kolorektal tümör ilerlemesini ve VEGF/VEGF reseptör yolu yoluyla anjiyogenezi inhibe ettiği görülmüştür (149).

Mide kanseri ile yapılan çalışmada ise NTN4'ün, tümör progresyonunu ve metastazı düzenlediği bulunan bir molekül olduğu görülmüştür (150).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

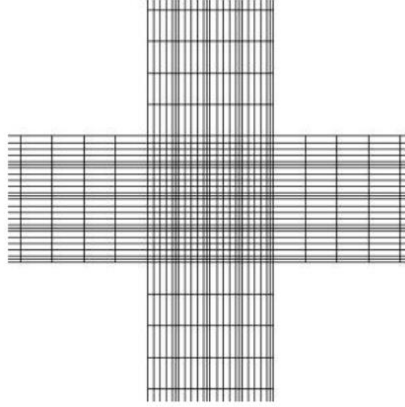
HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI

Çalışmamızda normal fonksiyonel insan endometrium (Lifeline firması - Human Endometrial (Uterine) Epithelial Cells (HEuEC) / FC-0078 kodlu hücre hattı) ve iki farklı insan endometriyum kanseri (Hec1B – ATCC firması / htb-113 kodlu hücre hattı ve Ishikawa – ECACC firması) hücre hatları kullanılmıştır. Fakat hücre hatları geldiğinde insan endometrium epitelial hücreler (HEuEC) hücre hattında gerekli deneyleri başlatmak için hücre ekimi yapılmış ancak hücreler üretilenmemiştir. Bunun üzerine Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan çalışma ile ilgili 05/04/2022 tarihli ve 60116787-020-193952 numaralı etik kurulu onayı alınarak, reproduktif dönemdeki kadın hastadan, endometrial biyopsi yöntemiyle endometrial doku örneği alındı. Herhangi patoloji saptanmayan fonksiyonel taze endometrium dokusu çalışma için kullanıldı.

Hücrelerin gelişimi ve çoğalması için %10 Fetal Sığır Serum (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin karışımı içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) besiyeri kullanılmıştır. Hücreler 75cm²'lik kültür plakalarında 37°C'de, %5 CO₂ ve %95 nemli ortamda inkübe edilmiştir. Hücreler yaklaşık olarak %80-90 yoğunluğa ulaştığında her 2-3 günde bir pasajlanmıştır. Pasajlama işlemi sırasında; ortamdaki besiyeri uzaklaştırılmış ve ortam fostat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ile yıkanmıştır. Ardından, Tripsin-EDTA yardımıyla hücreler kaldırılmış ve santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Daha sonra, hücreler taze besiyeri içeren steril plakalara ekilmiştir.

HÜCRE CANLILIĞI VE SAYILMASI

Hücre canlılığının belirlenmesi ve sayılması amacıyla Tripan mavi boyası kullanılmıştır. Tripan mavi, negatif yüke sahip bir boyadır ve bütünlüğü bozulmamış canlı hücrelerin sayılmasına olanak sağlamaktadır. Boya, cansız hücrelerin membran bütünlüğü olmadığı için içine nüfuz etmekte ve ışık mikroskobu altında sayım için görüntülenememektedir. Thoma lamına eşit hacimde (1:1) tripan mavi boyası ile karıştırılan hücre süspansiyonu yüklenerek sayım işlemi gerçekleştirilmiştir. (Şekil 3).



Şekil 3: Thoma lamının mikroskop altındaki görüntüsü

Hücre canlılığı, aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir:

Toplam hücre sayısı = (Sayılan hücre sayısı x 10^4 (sabit değer) x seyreltme faktörü) / Sayılan alan (aritmetik ortalama)

TOPLAM RNA İZOLASYONU

Toplam RNA izolasyonu Analytik Jena innuPREP RNA Kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Özetle, Hec1B ve Ishikawa hücreleri 75cm²'lik kültür plakalarına ekilmiş ve %90 yoğunluğa ulaştığında ortamdaki besiyeri uzaklaştırılmış ve PBS ile yıkanmıştır. Ardından kitde yer alan liziz tamponu ile hücreler ve endometriyum doku örneği liziz solüsyonu kullanılarak parçalanmış ve izolasyon üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen toplam RNA örnekleri -80 °C'de saklanmıştır.

TOPLAM RNA'NIN SPEKTROFOTOMETRİK ANALİZİ

İzole edilen RNA örneklerinin konsantrasyonu Epoch Take3 mikro RNA/DNA ölçüm aparatı (BioTek) kullanılarak mikropłaka okuyucuda optik yoğunluk (OD 260/280) ile ölçülmüştür.

TOPLAM RNA’NIN AGAROZ JEL ELEKTROFOREZİ İLE GÖRÜNTÜLENMESİ

İzole edilen RNA’ların görüntülenmesi için yatay jel elektroforezi kullanılmıştır. %1’lik agaroz jel ile Tris-Asetik asit-EDTA (TAE) tamponu hazırlanmıştır. Hazırlanan jel mikrodalga fırında kontrollü olarak ısıtılmış ve agarozun çözünmesi sağlanmıştır. Çözünmüş olan agaroz çözeltisi soğutulurak 0,75 µL EtBr eklenmiştir ve elektroforez tablasına dökülerek jelin polimerleşmesi beklenmiştir. Jel katılaştıktan sonra elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Kuyucuklara yüklenen DNA marker ve RNA’lar elektroforezin (–) kutbuna doğru yerleştirilerek, güç kaynağına bağlanmıştır. Elektroforez tankı 1x TAE tamponu ile jelin üstü kapanana kadar doldurulmuştur. Kuyucuklara yüklenen miktarlar Tablo 7’de belirtilmiştir.

Tablo 7: Kuyucuklara Yüklenen RNA Örnekleri ve Marker Konsantrasyonları

RNA için;

5 µl RNA örneği	Yüklenen hacim: 8 µL
2 µl boya (6x loading dye)	
1µl enjeksiyonlu su	

Marker için;

6 µl kb DNA ladder marker	Yüklenen hacim: 5 µL
2 µl boya (6xloading dye)	
2 µl enjeksiyonlu su	

cDNA SENTEZİ

cDNA sentezi için A.B.T. cDNA sentez kiti kullanılmıştır. Sentez işlemi üretici firmanın önerdiği protokol doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. cDNA sentez

karışım protokolü ve yapılışı Tablo 8’de verilmiştir. Gerçek zamanlı polimeraz Zincir reaksiyonu (RT-PCR) yapmak üzere sentezlenen cDNA’lar, -20°C’de saklanmıştır.

Tablo 8: cDNA Sentez Karışımı ve Protokolü

Bileşenler	Hacim	Son konsantrasyon
Total RNA	10µl	2,5µg/ml
Oligo (dT) Primer	1µl	0.5 µM
dNTP Karışımı (her biri 2.5mM)	1µl	500µM
RNAaz içermeyen su	3.5µl	14.5µl
10X RT Tamponu	2µl	1X
Ribonükleaz İnhibitörü	0.5µl	20U/rxn
Reverse Transkriptaz Enzimi (200U/µl)	1µl	200U/rxn
Karışım cDNA sentezi için 25°C’de 10 dakika ve 37 °C’de 120 dakika inkübe edildikten sonra reaksiyonu sonlandırmak amacıyla 85°C’de 5 dakika bekletilmiştir.		

RT-PCR REAKSİYONU

RT-PCR çalışmaları A.B.T. 2X qPCR SYBR-Green MasterMix (without ROX) kiti kullanılarak üretici firmanın önerdiği talimatlara göre gerçekleştirilmiştir. Primer ve cDNA miktarları laboratuvarımızda optimize edilmiştir. RT-PCR sonucunda elde edilen sonuçlar Stepone Software V2.3 programı kullanılarak hesaplanmış ve “housekeeping” GAPDH genine göre normalize edilmiştir. Her gen için ayrı ayrı amplifikasyon analizi ile standart kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve her primer için erime eğrisi analizleri yapılmıştır. Amplifikasyon sonucunda elde edilen Ct (threshold) değerleri kullanılarak dört genin uygulamalar sonucunda mRNA

düzeyinde ekspresyon değişimleri belirlenmiştir. Genlerin primer dizileri Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9: Çalışmada Kullanılan Genlerin Primer Dizileri

Gen	Primer dizileri
GAPDH	F: GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG R: ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA
NETRIN-1	F: ACTGCGATTCTACTGCAAGGC R: TTGTCCGCCTTCAGGATGTGGA
NETRIN-4	F: CAGAAGGACAGTATTGCCAGAGG R: GCAGAAGGTCCTGAGTTGGCA
UNC5B	F: GCTCGACTCTAAGAACTGCACAG R: TGAGGATTGCCACGACCACGAA

F: Forward, **R:** Reverse

Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi Onayı:

Çalışmamız 16/07/2022 tarihinde Pamukkale Üniversitesi BAP birimi tarafından 2021TIPF015 numaralı proje olarak kabul edilmiş ve mali desteği sağlanmıştır.

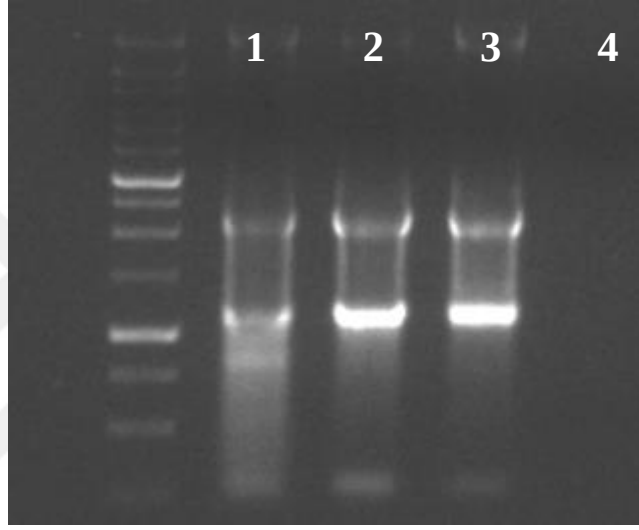
İstatistiksel Analiz

Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar Ortalama $\pm$ Standart Sapma (her bir veri için) olarak verilmiştir. Gruplar arasında fark olup olmadığı GraphPad Prism v.9 uygulaması yardımıyla Tek Yönlü Anova (one-way ANOVA) testi uygulanarak analiz edilmiştir.

4.BULGULAR

TOPLAM RNA'NIN GÖRÜNTÜLENMESİ

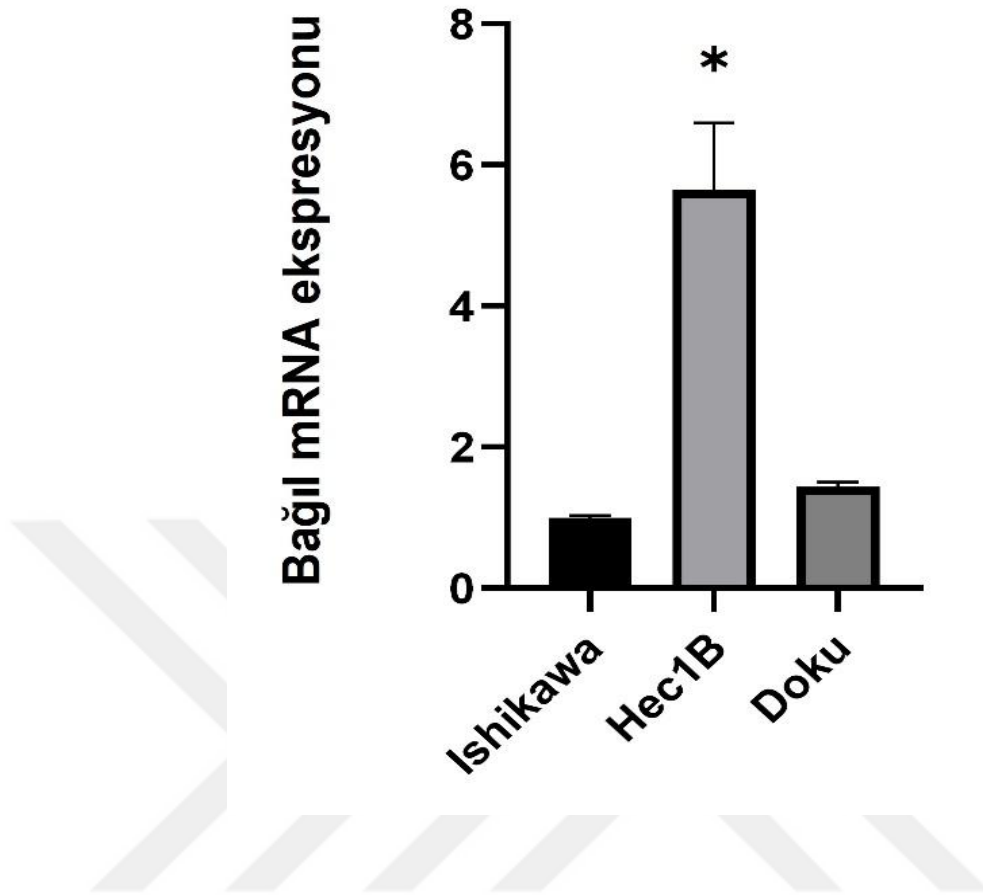
Materyal ve Metod kısmında verildiği gibi hazırlanan bileşenlerin yüklendiği jel güç kaynağına bağlanmış ve 90 Volt, 500 mA'de 45 dakika boyunca yürütülmüştür. Yürütme işlemi sonunda jel UV transilluminatörde gelLite Jel Görüntüleme Cihazı'nda görüntülenmiştir (Şekil 4).



Şekil 4: Doku ve Hücre Hatlarından Elde Edilen RNA'nın %1'lik Agaroz Jel Elektroforezi. Soldan Sağa (1) 1kb Opti-DNA Marker, (2) Doku, (3) Ishikawa ve (4) Hec1B Hücre Hattından İzole Edilen RNA

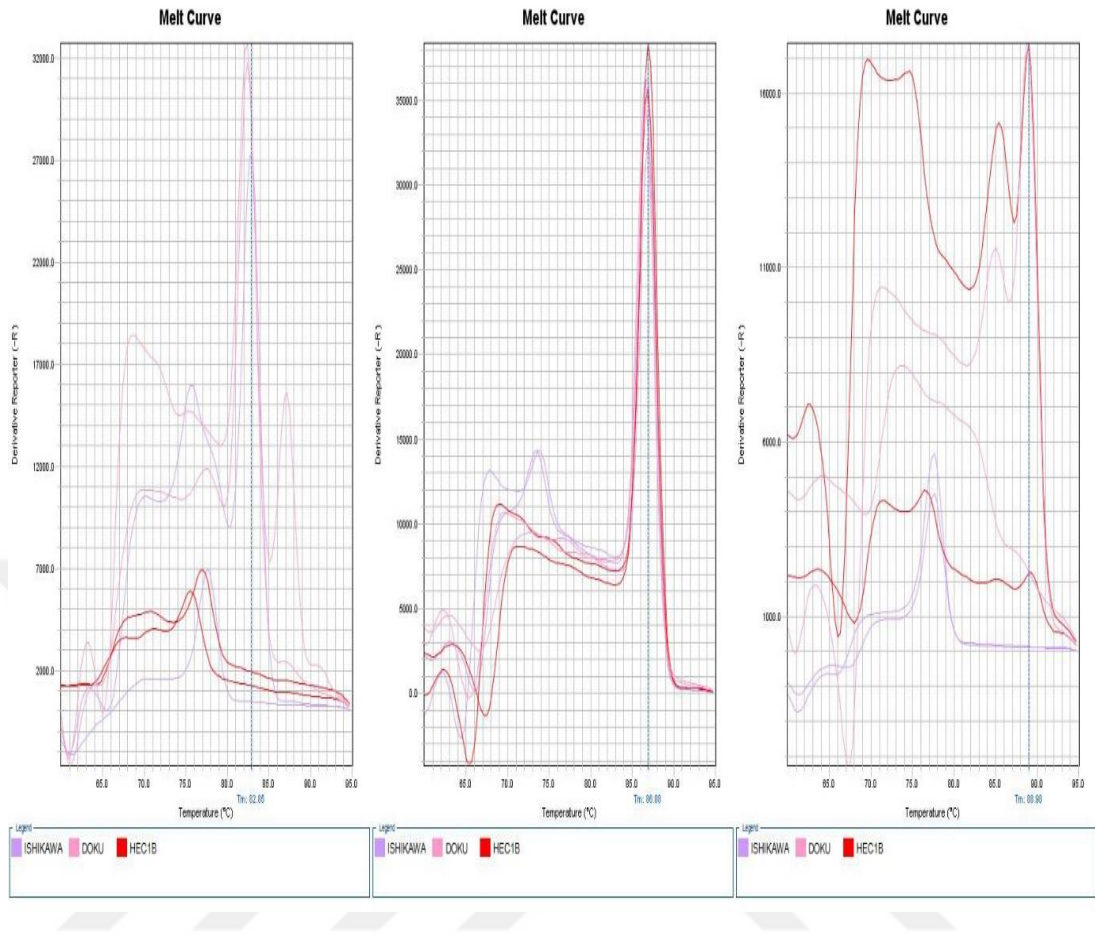
RT-PCR ile mRNA EKSPRESYONLARININ TAYİNİ

RT-PCR çalışması ile NTN1, NTN4 ve UNC5B genlerinin Ishikawa ve Hec1B hücre hatları ile doku örneğindeki ekspresyonları araştırılmıştır (Şekil 5). Şekil 6'te verildiği gibi erime eğrisi analizi doğrultusunda NTN4 geninin tüm örneklerde eksprese olduğu, NTN1 geninin Ishikawa hücre hattı ile doku örneğinde, UNC5B geninin ise Hec1B hücre hattı ile doku örneğinde eksprese olduğu gözlemlenmiştir.



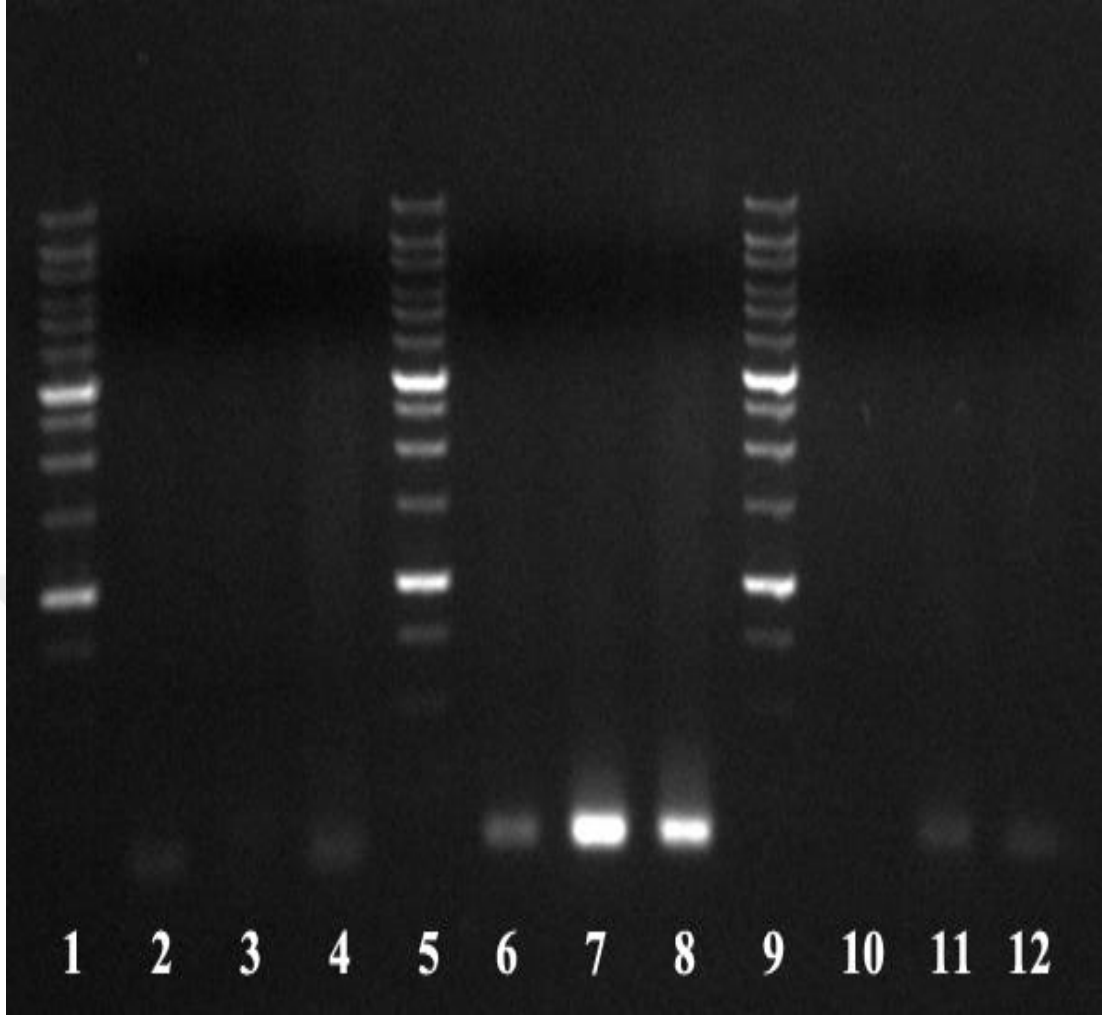
Şekil 5: RT-PCR Sonuçlarına Göre Netrin-4 Geninin Ishikawa ve Hec1B Hücre Hatları ile Doku Örneğindeki Bağıl mRNA Ekspresyonu Analizi. *Ishikawa'dan Önemli Derecede Farklı ($P < 0.0001$, one-way ANOVA). Doku için P Değeri: 0.3144.

RT-PCR sonuçlarına göre NTN4 geninin Ishikawa hücre hattına göre Hec1B hücre hattında 5,64 kat fazla, doku örneğinin ise Ishikawa hücre hattına göre 1,43 kat fazla eksprese olduğu tespit edilmiştir.



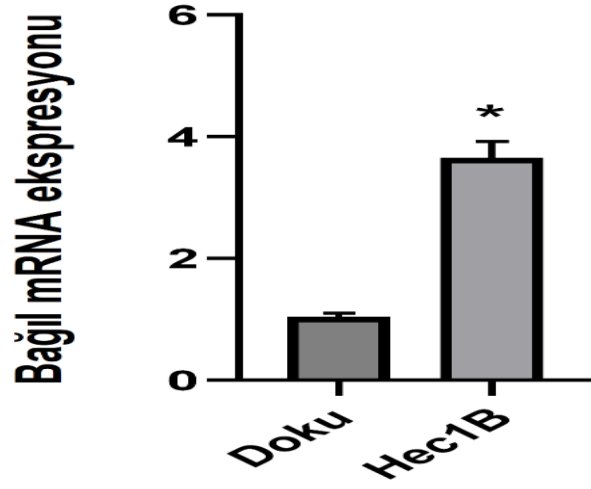
Şekil 6: RT-PCR Erime Eğrisi Analizi.

Aynı zamanda, RT-PCR sonucunda ürün oluşumu Agaroz jel elektroforezi ile doğrulanmıştır (Şekil 5).

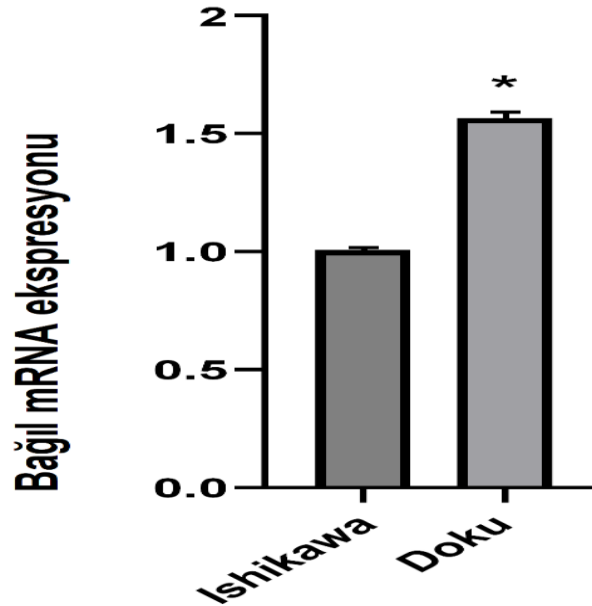


Şekil 7: PCR Ürünlerinden Elde Edilen Jel Görüntüsü. Soldan Sağa (1,5,9) 1kb Opti-DNA Marker, (2) Ishikawa/Netrin-1, (3) Hec1B/Netrin-1 ve (4) Doku/Netrin-1, (6) Ishikawa/Netrin-4, (7) Hec1B/Netrin-4 ve (8) Doku/Netrin-4, (10) Ishikawa/UNC5B, (11) Hec1B/ UNC5B ve (12) Doku/ UNC5B.

RT-PCR sonuçlarına göre UNC5B geninin Doku örneklerine göre Hec1B hücre hattında 3.64 kat fazla artış olduğu saptanmıştır (Şekil 8). NTN1 geninde ise doku örneklerinde Ishikawa hücre hattına göre 1.54 kat artış saptanmıştır (Şekil 9).



Şekil 8: RT-PCR Sonuçlarına Göre UNC5B Geninin Doku ve Hec1B Hücre Hatlarındaki Bağıl mRNA Ekspresyonu Analizi. *Doku'dan önemli derecede farklı ($P < 0.05$, Unpaired t-test). P değeri: 0.0375



Şekil 9: RT-PCR Sonuçlarına Göre Netrin-1 Geninin Ishikawa ve Doku Örneğindeki Bağıl mRNA Ekspresyonu Analizi. *Ishikawa'dan önemli derecede farklı ($P < 0.05$, Unpaired t-test) P Değeri: 0.0492

5. TARTIŞMA

Endometrium kanseri gelişmiş ülkelerde en sık, gelişmekte olan ülkelerde serviks kanserinden sonra 2. en sık gözlenen jinekolojik kanserdir (151). İnsidansı 8.71/100.000 olarak bildirilmiştir. Türkiye’de yapılan istatistiksel çalışmalara göre endometrium kanseri kadınlarda meme, tiroid ve kolorektal kanserden sonra 4. sıklıkta izlenmektedir ve insidansı 10,5/100.000 olarak bildirilmiştir. Endometrium kanserleri çoğunlukla erken evrede tespit edilir. Creasman ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada başvuru anında endometrium kanseri tespit edilen hastaların %75’inin Evre I olduğu saptanmıştır (152). Endometrium kanserlerinde evreleme cerrahi olarak yapılır ve önerilen standart cerrahi prosedür tip I histerektomi ve bilateral salpingo-ooferektomidir. Bilateral pelvik ve paraaortik lenf nodu diseksiyonu günümüzde yüksek riskli hastalarda önerilmektedir (153). Yüksek riskli grubundaki hastalarda (evreden bağımsız olarak, seröz, berrak hücreli adenokarsinomlar ve evre II-IV hastalığı olan hastalar) ise adjuvan radyoterapi endikedir (96). İleri evre endometrium kanseri için kemoterapi uygulamaları ilave tedavi seçeneklerinden biridir (91). Tüm kanser türlerinde olduğu gibi endometrium kanserinde de patofizyolojide etken rol oynayan basamakları araştırmak ve hastalığın önceden tespit edilmesi günümüzde temel amaç haline gelmiştir.

Tüm netrinler, laminin süper ailesinin üyeleridir. Netrinlerin birçok sistemde eksprese edildiği ve doku morfogenez, anjiyogenez, lenfanjiyogenez, tümör gelişimi, hücre göçü, invazyon ve adhezyon, apoptoz ve inflamasyonun düzenlenmesinde görev aldığı gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle netrinler çeşitli maligniteler üzerinde araştırmalara konu olmuş ve netrin protein ailesinin bazı kanserlerin gelişiminde hayati rol oynadığını bulunmuştur. Temel olarak netrinlerin apoptoz mekanizması üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (116,117). Son yıllarda, NTN1’in birçok multisistem hastalığının altında yatan patolojide yer alabileceği görülmüş ve bu durumun netrinleri çekici bir potansiyel terapötik hedef haline getirmiştir (128,129). NTN1, iki ana reseptör aracılığıyla etki eder: DCC ve UNC5H (UNCordinated-5 homolog). Netrin-1’in bu reseptörlerle etkileşimi, enflamasyon, anjiyogenez ve apoptozu düzenlemesine bağlı olarak, tümör oluşumunda rol oynamaktadır (121).

Arakawa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda tümör baskılayıcı p53'ün, NTN1 ve bazı reseptörlerinin ekspresyonunu düzenlediği görülmüştür. Bu açıdan bakıldığında NTN1 bir onkogen olarak kabul edilebilir ve p53, NTN1 yolunun düzenlenmesi yoluyla hücre kaderini belirleyebilir (134).

Ayrıca NTN1 seviyelerinin birçok kanser türünde önemli ölçüde artarak dolaşıma salındığı ve bu nedenle biyobelirteç olarak kullanımının uygunluğu son dönemde ilgi çekici araştırmalar yapılmasına sebep olmuştur. Örneğin Ramesh ve arkadaşlarının çalışmada çeşitli kanser türlerinde plazma NTN-1 düzeyleri ölçülmüş, meme kanseri, renal kanser, prostat kanseri, karaciğer kanseri, meningioma, hipofiz adenomu ve glioblastomada plasmada NTN-1 düzeylerinin artmış olduğu görülmüşken akciğer kanseri, pankreas kanseri ve kolorektal kanserden alınan plazma örneklerinde NTN-1 düzeylerinde artış izlenmemiştir (133).

Yin ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptığı çalışmada, NTN1 ekspresyonunun mide kanseri dokularında, kanser evresi ve lenf düğümü metastazı ile ters orantılı olarak aşırı eksprese edildiği bulunmuştur (137). Aksine, Han ve ark. hepatoselüler karsinom (HCC) dokuları ve hücre hatlarında NTN1 ekspresyonunun arttığı gözlemlenmiş ve hepatoselüler karsinomda PI3K (fosfoinositid 3-kinaz)/AKT sinyalinin aktive edildiğini göstermiştir (138). Benzer şekilde Yıldırım ve arkadaşları akciğer kanserli hastaların serumunda NTN1 düzeylerinin arttığını ve kemoterapi ile netrin-1 düzeylerinin azaldığını göstermişlerdir (139).

Yapılan literatür taramasında netrin ailesi ile jinekolojik kanserler arasında bağlantının değerlendirildiği araştırma sayısının kısıtlı olduğu görülmüştür. Papanastasiou ve arkadaşları over kanseri üzerine yaptıkları çalışmada NTN1 mRNA' sının over kanseri dokusunda yüksek oranda eksprese edildiği ancak benign over dokusunda eksprese edilmediği izlenmiştir (154). Yine benzer şekilde Li ve arkadaşları NTN1'in over karsinomu dokusunda artış gösterdiğinde tümör proliferasyonu, invazyonu ve tümör hücrelerinin anjiogenezinin arttığını göstermişlerdir (155).

Jinekolojik kanserler arasında en sık görülen kanser olan endometrium kanseri ve NTN1 arasındaki ilişkiye yönelik yapılmış yalnızca bir çalışma bulunmuştur. Kato

ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada normal endometrium dokusunda NTN1 ve DCC reseptör ekspresyon izlenmiş ancak ekspresyon paterni arasında fark bulunamamıştır. Ishikawa hücre hattında ise hem NTN1 hem de DCC reseptör ekspresyonu izlenmemiştir. Normal fonksiyonel endometrium DCC cDNA sı ile kodlanmış ORF'un Ishikawa hücre hattına transfekte edilmesi sonucunda ise NTN1 varlığının DCC ekspresyonunu baskılayarak apoptozis mekanizmasını bozduğu ve kanser gelişimini hızlandırdığı sonucuna ulaşılmıştır (140).

Bizim çalışmamızda RT-PCR sonuçlarına göre NTN1' in normal endometrial doku örneğinde ve Ishikawa hücre hattında eksprese olduğu ancak HEC1B hücre hattında eksprese olmadığı izlendi. Normal endometrium dokusundaki NTN1 ekspresyon seviyesi Ishikawa hücre hattındaki ekspresyon seviyesine göre 1,54 kat daha fazla olup, istatistiksel olarak da anlamlı bulundu. Ishikawa hücreleri, iyi diferansiye grade II endometrial adenokarsinom morfolojisine sahip 39 yaşındaki bir kadın hastadan elde edilir. Hem östrojen hem de progesteron reseptörleri pozitif olarak saptanan Ishikawa hücreleri tip I endometrium kanseri için bir model olarak kullanılır. Yine çalışmada kullanılan insan normal endometrium dokusu üreme çağındaki bir hastadan alınmıştır. Buradan hareketle NTN1'in östrojen ve progesteron reseptör bağımlı tip I endometrium kanser hücre hattındaki ekspresyonunun azalması Netrin-1'in kanser gelişiminde önleyici bir rol oynadığı şeklinde yorumlanabilir.

NTN4 ile ilgili çalışmaların NTN1'e kıyasla daha kısıtlı olduğu izlenmiştir. Mevcut çalışmalarda ise NTN4'ün rolü, anjiyogenezi ve kanser hücresi göçünü hem teşvik ettiği hem de engellediği bildirildiği için hala tartışmalıdır (147). Örneğin Lv ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda NTN4'ün, tümör progresyonunu ve metastazı düzenlediği bulunan bir molekül olduğu görülürken (156), Reuten ve arkadaşları in vitro kanser hücre hatları ve in vivo fare modellerinde bazal membranda kanserle ilişkili fibroblastlar ve endotelyal hücreler tarafından salgılanan NTN4'ün varlığının tümör hücresi istilasını ve metastazını engellediğini göstermiştir (157). Benzer şekilde Eveno ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada NTN4'ün aşırı ekspresyonunun, muhtemel bir antianjiyogenetik etki ile kolorektal tümör ilerlemesini yavaşlattığı görülmüştür (149). Jinekolojik kanserler ve NTN4 arasındaki ilişkiyi gösterir yalnızca bir çalışma izlenmiştir. Zhang ve ark. NTN4' ün serviks kanseri dokusunda miR-192a için bir

hedef olduğunu ve servikal kanser dokusunda, normal servikal dokuya kıyasla down regüle olduğunu belirtmişlerdir (158).

Biz de çalışmamızda RT-PCR sonuçlarına göre NTN4 geninin Ishikawa hücre hattına göre Hec1B hücre hattında 5,64 kat fazla, normal endometrial doku örneğinde ise Ishikawa hücre hattına göre 1,43 kat fazla eksprese olduğunu tespit ettik ve Hec1B ile Ishikawa hücre hatları arasındaki bu ekspresyon farkı istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gördük. Çalışmamızda kullanılan Hec1B hücre hattı iyi diferansiye grade II endometrium adenokarsinom morfolojisine sahip 71 yaşındaki kadın hastadan elde edilmekte ve temel histopatolojik özellikleri bakımından tip II endometrium kanseri ile uyumluluk göstermektedir. Bu sonuçlara göre NTN4'ün özellikle östrojen ve progesteron reseptörlerinin olmadığı, daha kötü prognoz gösteren, genellikle postmenapozal dönemde karşılaşılan ve atrofik endometrium zemininde gelişen tip 2 endometrium kanser oluşumunda etken bir faktör olduğu söylenebilir.

Netrin ailesinin üzerinden etki gösterdiği reseptörlerden biri olan UNC5B reseptörü birçok kanser yolağında veya patofizyolojisinde etkin rol oynamaktadır. Örneğin Huang ve ark. mesane kanserinde UNC5B'nin hücre içi alanının, çok sayıda ribozomal proteine bağlanarak in vitro hücre proliferasyonunu ve in vivo tümör oluşumunu desteklediğini göstermiştir (159). Fu ve ark. ise servikal kanser dokusu ve hücrelerinde long non-coding RNA (lncRNA) unc-5 netrin receptor B antisense RNA 1 (UNC5B-AS1) miktarının arttığını, UNC5B-AS1'in susturulduğunda ise hücre proliferasyonu, migrasyonu ve invazyonunu inhibe ederken servikal kanser dokusu apoptozisini artırdığını bildirmişlerdir (160). Yine Wang ve ark. over kanserinde UNC5B-AS1 seviyesinin yükseldiğini ve UNC5B-AS1'in susturulması over kanserinde proliferasyonu kısıtladığını ve apoptozu kolaylaştırdığını bulmuşlardır (161). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da RT-PCR sonuçlarına göre UNC5B reseptörü, Hec1B endometrium kanser hücre hattında normal endometrium dokusuna kıyasla 3,64 kat daha fazla eksprese edildi. Buradan hareketle UNC5B nin endometrium kanseri oluşumunda etkin bir rol oynadığı görüldü. Özellikle Netrin-4 ve UNC5B reseptör ekspresyon seviyesinin Hec1B hücre hattında paralel şekilde artması, tip 2 endometrium kanserinde NTN4'ün UNC5B reseptörü üzerinden proonkogen etki gösterdiği söylenebilir.

6. SONUÇ

Sonuç olarak, çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler ışığında NTN1'in östrojen ve progesteron reseptör bağımlı tip I endometrium kanser gelişiminde önleyici, NTN4 ve UNC5B reseptörünün ise tip 2 endometrium kanseri gelişiminde proonkogen olarak rol oynadığını söyleyebiliriz. Bildiğimiz kadarıyla NTN1, NTN4, UNC5B ve endometrium kanseri ilişkisini değerlendiren çalışmamız, bu alanda literatürdeki ilk çalışmadır. Mevcut çalışma, moleküler düzeyde endometrium kanseri araştırmasına ilişkin umut verici görüşler sunmaktadır.



KAYNAKLAR

1. Braun MM, Overbeek-Wager EA, Grumbo RJ. Diagnosis and Management of Endometrial Cancer. *Am Fam Physician*. 2016;93(6):468-474.
2. Dickson BJ. Molecular mechanisms of axon guidance [published correction appears in Science. 2003 Jan 24;299(5606):515]. *Science*. 2002;298(5600):1959-1964. doi:10.1126/science.1072165
3. Rajasekharan S, Kennedy TE. The netrin protein family. *Genome Biol*. 2009;10(9):239. doi:10.1186/gb-2009-10-9-239
4. Hao W, Yu M, Lin J, et al. The pan-cancer landscape of netrin family reveals potential oncogenic biomarkers. *Sci Rep*. 2020;10(1):5224. Published 2020 Mar 23. doi:10.1038/s41598-020-62117-5
5. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics [published correction appears in CA Cancer J Clin. 2011 Mar-Apr;61(2):134]. *CA Cancer J Clin*. 2011;61(2):69-90. doi:10.3322/caac.20107
6. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660
7. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanserdb/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2016.pdf
8. Sorosky JI. Endometrial cancer. *Obstet Gynecol*. 2012;120(2 Pt 1):383-397. doi:10.1097/AOG.0b013e3182605bf1
9. Brinton LA, Berman ML, Mortel R, et al. Reproductive, menstrual, and medical risk factors for endometrial cancer: results from a case-control study. *Am J Obstet Gynecol*. 1992;167(5):1317-1325. doi:10.1016/s0002-9378(11)91709-8
10. Woodruff JD, Pickar JH. Incidence of endometrial hyperplasia in postmenopausal women taking conjugated estrogens (Premarin) with medroxyprogesterone acetate or conjugated estrogens alone. *The Menopause*

- Study Group. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;170(5 Pt 1):1213-1223. doi:10.1016/s0002-9378(94)70129-6
11. Furness S, Roberts H, Marjoribanks J, Lethaby A, Hickey M, Farquhar C. Hormone therapy in postmenopausal women and risk of endometrial hyperplasia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;(2):CD000402. Published 2009 Apr 15. doi:10.1002/14651858.CD000402.pub3
 12. Henderson BE. The cancer question: an overview of recent epidemiologic and retrospective data. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161(6 Pt 2):1859-1864. doi:10.1016/s0002-9378(89)80007-9
 13. Shapiro S, Kelly JP, Rosenberg L, et al. Risk of localized and widespread endometrial cancer in relation to recent and discontinued use of conjugated estrogens. *N Engl J Med.* 1985;313(16):969-972. doi:10.1056/NEJM198510173131601
 14. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med.* 2003;348(17):1625-1638. doi:10.1056/NEJMoa021423
 15. Potischman N, Hoover RN, Brinton LA, et al. Case-control study of endogenous steroid hormones and endometrial cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88(16):1127-1135. doi:10.1093/jnci/88.16.1127
 16. Davies C, Pan H, Godwin J, et al. Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial [published correction appears in *Lancet.* 2013 Mar 9;381(9869):804] [published correction appears in *Lancet.* 2017 May 13;389(10082):1884]. *Lancet.* 2013;381(9869):805-816. doi:10.1016/S0140-6736(12)61963-1
 17. Gottschau M, Kjaer SK, Jensen A, Munk C, Mellemkjaer L. Risk of cancer among women with polycystic ovary syndrome: a Danish cohort study. *Gynecol Oncol.* 2015;136(1):99-103. doi:10.1016/j.ygyno.2014.11.012
 18. Husby A, Wohlfahrt J, Melbye M. Pregnancy duration and endometrial cancer risk: nationwide cohort study. *BMJ.* 2019;366:l4693. Published 2019 Aug 14. doi:10.1136/bmj.l4693

19. Burbos N, Musonda P, Duncan TJ, Crocker SG, Morris EP, Nieto JJ. Estimating the risk of endometrial cancer in symptomatic postmenopausal women: a novel clinical prediction model based on patients' characteristics. *Int J Gynecol Cancer*. 2011;21(3):500-506. doi:10.1097/IGC.0b013e31820c4cd6
20. Xu WH, Xiang YB, Ruan ZX, et al. Menstrual and reproductive factors and endometrial cancer risk: Results from a population-based case-control study in urban Shanghai. *Int J Cancer*. 2004;108(4):613-619. doi:10.1002/ijc.11598
21. Schumer ST, Cannistra SA. Granulosa cell tumor of the ovary. *J Clin Oncol*. 2003;21(6):1180-1189. doi:10.1200/JCO.2003.10.019
22. Mahboubi E, Eyler N, Wynder EL. Epidemiology of cancer of the endometrium. *Clin Obstet Gynecol*. 1982;25(1):5-17. doi:10.1097/00003081-198203000-00004
23. Bansal N, Yendluri V, Wenham RM. The molecular biology of endometrial cancers and the implications for pathogenesis, classification, and targeted therapies. *Cancer Control*. 2009;16(1):8-13. doi:10.1177/107327480901600102
24. Ollikainen M, Abdel-Rahman WM, Moisio AL, et al. Molecular analysis of familial endometrial carcinoma: a manifestation of hereditary nonpolyposis colorectal cancer or a separate syndrome?. *J Clin Oncol*. 2005;23(21):4609-4616. doi:10.1200/JCO.2005.06.055
25. Noto H, Osame K, Sasazuki T, Noda M. Substantially increased risk of cancer in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of epidemiologic evidence in Japan. *J Diabetes Complications*. 2010;24(5):345-353. doi:10.1016/j.jdiacomp.2010.06.004
26. Shoff SM, Newcomb PA. Diabetes, body size, and risk of endometrial cancer. *Am J Epidemiol*. 1998;148(3):234-240. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a009630
27. Anastasi E, Filardi T, Tartaglione S, Lenzi A, Angeloni A, Morano S. Linking type 2 diabetes and gynecological cancer: an introductory overview. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(9):1413-1425. doi:10.1515/cclm-2017-0982

28. Harvey EB, Brinton LA. Second cancer following cancer of the breast in Connecticut, 1935-82. *Natl Cancer Inst Monogr.* 1985;68:99-112.
29. Beiner ME, Finch A, Rosen B, et al. The risk of endometrial cancer in women with BRCA1 and BRCA2 mutations. A prospective study. *Gynecol Oncol.* 2007;104(1):7-10. doi:10.1016/j.ygyno.2006.08.004
30. Pilarski R, Stephens JA, Noss R, Fisher JL, Prior TW. Predicting PTEN mutations: an evaluation of Cowden syndrome and Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome clinical features. *J Med Genet.* 2011;48(8):505-512. doi:10.1136/jmg.2011.088807
31. Mulholland HG, Murray LJ, Cardwell CR, Cantwell MM. Dietary glycaemic index, glycaemic load and endometrial and ovarian cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer.* 2008;99(3):434-441. doi:10.1038/sj.bjc.6604496
32. Hinkula M, Pukkala E, Kyörönen P, Kauppila A. Grand multiparity and incidence of endometrial cancer: a population-based study in Finland. *Int J Cancer.* 2002;98(6):912-915. doi:10.1002/ijc.10267
33. Montz FJ, Bristow RE, Bovicelli A, Tomacruz R, Kurman RJ. Intrauterine progesterone treatment of early endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;186(4):651-657. doi:10.1067/mob.2002.122130
34. Hubacher D, Grimes DA. Noncontraceptive health benefits of intrauterine devices: a systematic review. *Obstet Gynecol Surv.* 2002;57(2):120-128. doi:10.1097/00006254-200202000-00024
35. Beral V, Bull D, Reeves G; Million Women Study Collaborators. Endometrial cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet.* 2005;365(9470):1543-1551. doi:10.1016/S0140-6736(05)66455-0
36. Horn-Ross PL, John EM, Canchola AJ, Stewart SL, Lee MM. Phytoestrogen intake and endometrial cancer risk [published correction appears in *J Natl Cancer Inst.* 2006 Oct 18;98(20):1501]. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(15):1158-1164. doi:10.1093/jnci/djg015
37. Kjaer SK, Møller M, Brinton LA, Johansen C, Gridley G, Olsen JH. Tubal sterilization and risk of ovarian, endometrial and cervical cancer. A

- Danish population-based follow-up study of more than 65 000 sterilized women. *Int J Epidemiol.* 2004;33(3):596-602. doi:10.1093/ije/dyh046
38. Friedenreich CM, Orenstein MR. Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. *J Nutr.* 2002;132(11 Suppl):3456S-3464S. doi:10.1093/jn/132.11.3456S
 39. Bravi F, Scotti L, Bosetti C, et al. Coffee drinking and endometrial cancer risk: a metaanalysis of observational studies. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;200(2):130-135. doi:10.1016/j.ajog.2008.10.032
 40. Tang NP, Li H, Qiu YL, Zhou GM, Ma J. Tea consumption and risk of endometrial cancer: a metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201(6):605.e1-605.e6058. doi:10.1016/j.ajog.2009.07.030
 41. Colbert LH, Lacey JV Jr, Schairer C, Albert P, Schatzkin A, Albanes D. Physical activity and risk of endometrial cancer in a prospective cohort study (United States). *Cancer Causes Control.* 2003;14(6):559-567. doi:10.1023/a:1024866827775
 42. McTiernan A, Tworoger SS, Ulrich CM, et al. Effect of exercise on serum estrogens in postmenopausal women: a 12-month randomized clinical trial. *Cancer Res.* 2004;64(8):2923-2928. doi:10.1158/0008-5472.can-03-3393
 43. Viswanathan AN, Feskanich D, De Vivo I, et al. Smoking and the risk of endometrial cancer: results from the Nurses' Health Study. *Int J Cancer.* 2005;114(6):996-1001. doi:10.1002/ijc.20821
 44. Bandera EV, Kushi LH, Olson SH, Chen WY, Muti P. Alcohol consumption and endometrial cancer: some unresolved issues. *Nutr Cancer.* 2003;45(1):24-29. doi:10.1207/S15327914NC4501_3
 45. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 1983;15(1):10-17. doi:10.1016/0090-8258(83)90111-7
 46. 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. doi:10.1097/00125480-200205000-00001

47. Hecht JL, Mutter GL. Molecular and pathologic aspects of endometrial carcinogenesis. *J Clin Oncol.* 2006;24(29):4783-4791. doi:10.1200/JCO.2006.06.7173
48. Murali R, Soslow RA, Weigelt B. Classification of endometrial carcinoma: more than two types. *Lancet Oncol.* 2014;15(7):e268-e278. doi:10.1016/S1470-2045(13)70591-6
49. Lax SF, Kurman RJ, Pizer ES, Wu L, Ronnett BM. A binary architectural grading system for uterine endometrial endometrioid carcinoma has superior reproducibility compared with FIGO grading and identifies subsets of advance-stage tumors with favorable and unfavorable prognosis. *Am J Surg Pathol.* 2000;24(9):1201-1208. doi:10.1097/00000478-200009000-00002
50. Fanning J, Tsukada Y, Piver MS. Intraoperative frozen section diagnosis of depth of myometrial invasion in endometrial adenocarcinoma. *Gynecol Oncol.* 1990;37(1):47-50. doi:10.1016/0090-8258(90)90306-6
51. Cancer Genome Atlas Research Network, Kandoth C, Schultz N, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma [published correction appears in *Nature*. 2013 Aug 8;500(7461):242]. *Nature.* 2013;497(7447):67-73. doi:10.1038/nature12113
52. Seebacher V, Schmid M, Polterauer S, et al. The presence of postmenopausal bleeding as prognostic parameter in patients with endometrial cancer: a retrospective multi-center study. *BMC Cancer.* 2009;9:460. Published 2009 Dec 22. doi:10.1186/1471-2407-9-460
53. Gu M, Shi W, Barakat RR, Thaler HT, Saigo PE. Pap smears in women with endometrial carcinoma. *Acta Cytol.* 2001;45(4):555-560. doi:10.1159/000327864
54. Wright TC Jr, Massad LS, Dunton CJ, et al. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197(4):340-345. doi:10.1016/j.ajog.2007.07.050
55. Vernooij F, Heintz P, Witteveen E, van der Graaf Y. The outcomes of ovarian cancer treatment are better when provided by gynecologic oncologists and in

- specialized hospitals: a systematic review. *Gynecol Oncol*. 2007;105(3):801-812. doi:10.1016/j.ygyno.2007.02.030
56. ACOG committee opinion no. 557: Management of acute abnormal uterine bleeding in nonpregnant reproductive-aged women. *Obstet Gynecol*. 2013;121(4):891-896. doi:10.1097/01.AOG.0000428646.67925.9a
 57. Van den Bosch T, Van Schoubroeck D, Ameye L, De Brabanter J, Van Huffel S, Timmerman D. Ultrasound assessment of endometrial thickness and endometrial polyps in women on hormonal replacement therapy. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188(5):1249-1253. doi:10.1067/mob.2003.272
 58. ACOG Committee Opinion No. 440: The Role of Transvaginal Ultrasonography in the Evaluation of Postmenopausal Bleeding. *Obstet Gynecol*. 2009;114(2 Pt 1):409-411. doi:10.1097/AOG.0b013e3181b48feb
 59. Revel A, Tsafir A, Anteby SO, Shushan A. Does hysteroscopy produce intraperitoneal spread of endometrial cancer cells?. *Obstet Gynecol Surv*. 2004;59(4):280-284. doi:10.1097/01.ogx.0000120173.09136.4a
 60. Khati NJ, et al; Expert Panel on Women's Imaging. ACR Appropriateness Criteria: abnormal vaginal bleeding. Reston, Va.: American College of Radiology; 2014:1--13. <http://www.guideline.gov/content.aspx?id=48294>. Accessed February 27, 2015.
 61. Saarelainen SK, Kööbi L, Järvenpää R, Laurila M, Mäenpää JU. The preoperative assessment of deep myometrial invasion by three-dimensional ultrasound versus MRI in endometrial carcinoma. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2012;91(8):983-990. doi:10.1111/j.1600-0412.2012.01439.x
 62. Dotters DJ. Preoperative CA 125 in endometrial cancer: is it useful?. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;182(6):1328-1334. doi:10.1067/mob.2000.106251
 63. ACOG Committee Opinion No. 734: The Role of Transvaginal Ultrasonography in Evaluating the Endometrium of Women With Postmenopausal Bleeding. *Obstet Gynecol*. 2018;131(5):e124-e129. doi:10.1097/AOG.0000000000002631
 64. Gerber B, Krause A, Müller H, et al. Ultrasonographic detection of asymptomatic endometrial cancer in postmenopausal patients offers no prognostic advantage over symptomatic disease discovered by uterine

- bleeding. *Eur J Cancer*. 2001;37(1):64-71. doi:10.1016/s0959-8049(00)00356-7
65. Smith RA, von Eschenbach AC, Wender R, et al. American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer: update of early detection guidelines for prostate, colorectal, and endometrial cancers. Also: update 2001--testing for early lung cancer detection [published correction appears in *CA Cancer J Clin* 2001 May-Jun;51(3):150]. *CA Cancer J Clin*. 2001;51(1):38-80. doi:10.3322/canjclin.51.1.38
 66. Robertson G. Screening for endometrial cancer. *Med J Aust*. 2003;178(12):657-659. doi:10.5694/j.1326-5377.2003.tb05400.x
 67. Vasen HF, Blanco I, Aktan-Collan K, et al. Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts. *Gut*. 2013;62(6):812-823. doi:10.1136/gutjnl-2012-304356
 68. Chang SJ, Wang TY, Tsai CY, Hu TF, Chang MD, Wang HW. Increased epithelial stem cell traits in advanced endometrial endometrioid carcinoma. *BMC Genomics*. 2009;10:613. Published 2009 Dec 16. doi:10.1186/1471-2164-10-613
 69. Steinhoff M, Brown University, 2016, personal communication. Data from 1300 cases from Women and Infants Hospital Cancer Registry 2010-2014, Providence, Rhode Island.
 70. Zaino RJ, Kurman RJ. Squamous differentiation in carcinoma of the endometrium: a critical appraisal of adenoacanthoma and adenosquamous carcinoma. *Semin Diagn Pathol*. 1988;5(2):154-171.
 71. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, et al. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(11):924-930. doi:10.1093/jnci/92.11.924
 72. Enomoto T, Fujita M, Inoue M, et al. Alterations of the p53 tumor suppressor gene and its association with activation of the c-K-ras-2 protooncogene in premalignant and malignant lesions of the human uterine endometrium. *Cancer Res*. 1993;53(8):1883-1888.

73. Zaino RJ, Kurman RJ, Diana KL, Morrow CP. The utility of the revised International Federation of Gynecology and Obstetrics histologic grading of endometrial adenocarcinoma using a defined nuclear grading system. A Gynecologic Oncology Group study. *Cancer*. 1995;75(1):81-86. doi:10.1002/1097-0142(19950101)75:1<81::aid-cnrcr2820750114>3.0.co;2-f
74. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG practice bulletin, clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists, number 65, August 2005: management of endometrial cancer. *Obstet Gynecol*. 2005;106(2):413-425. doi:10.1097/00006250-200508000-00050
75. Ross JC, Eifel PJ, Cox RS, Kempson RL, Hendrickson MR. Primary mucinous adenocarcinoma of the endometrium. A clinicopathologic and histochemical study. *Am J Surg Pathol*. 1983;7(8):715-729.
76. Jordan LB, Abdul-Kader M, Al-Nafussi A. Uterine serous papillary carcinoma: histopathologic changes within the female genital tract. *Int J Gynecol Cancer*. 2001;11(4):283-289. doi:10.1046/j.1525-1438.2001.011004283.x
77. Silva EG, Jenkins R. Serous carcinoma in endometrial polyps. *Mod Pathol*. 1990;3(2):120-128.
78. Brown L. Pathology of uterine malignancies. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2008;20(6):433-447. doi:10.1016/j.clon.2008.04.005
79. Abeler VM, Kjørstad KE. Clear cell carcinoma of the endometrium: a histopathological and clinical study of 97 cases. *Gynecol Oncol*. 1991;40(3):207-217. doi:10.1016/0090-8258(90)90279-t
80. Abeler VM, Vergote IB, Kjørstad KE, Tropé CG. Clear cell carcinoma of the endometrium. Prognosis and metastatic pattern. *Cancer*. 1996;78(8):1740-1747. doi:10.1002/(sici)1097-0142(19961015)78:8<1740::aid-cnrcr14>3.0.co;2-y
81. Thomas MB, Wright JD, Leiser AL, et al. Clear cell carcinoma of the cervix: a multi-institutional review in the post-DES era. *Gynecol Oncol*. 2008;109(3):335-339. doi:10.1016/j.ygyno.2008.02.007

82. Quddus MR, Sung CJ, Zhang C, Lawrence WD. Minor serous and clear cell components adversely affect prognosis in "mixed-type" endometrial carcinomas: a clinicopathologic study of 36 stage-I cases. *Reprod Sci*. 2010;17(7):673-678. doi:10.1177/1933719110368433
83. Petru E, Lück HJ, Stuart G, et al. Gynecologic Cancer Intergroup (GCIG) proposals for changes of the current FIGO staging system. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2009;143(2):69-74. doi:10.1016/j.ejogrb.2008.12.015
84. Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E, Vergote I. Endometrial cancer. *Lancet*. 2005;366(9484):491-505. doi:10.1016/S0140-6736(05)67063-8
85. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium [published correction appears in *Int J Gynaecol Obstet*. 2010 Feb;108(2):176]. *Int J Gynaecol Obstet*. 2009;105(2):103-104. doi:10.1016/j.ijgo.2009.02.012
86. Aalders JG, Thomas G. Endometrial cancer--revisiting the importance of pelvic and para aortic lymph nodes. *Gynecol Oncol*. 2007;104(1):222-231. doi:10.1016/j.ygyno.2006.10.013
87. Mariani A, Webb MJ, Keeney GL, Haddock MG, Calori G, Podratz KC. Low-risk corpus cancer: is lymphadenectomy or radiotherapy necessary?. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;182(6):1506-1519. doi:10.1067/mob.2000.107335
88. Todo Y, Yamamoto R, Minobe S, et al. Risk factors for postoperative lower-extremity lymphedema in endometrial cancer survivors who had treatment including lymphadenectomy. *Gynecol Oncol*. 2010;119(1):60-64. doi:10.1016/j.ygyno.2010.06.018
89. Todo Y, Kato H, Kaneuchi M, Watari H, Takeda M, Sakuragi N. Survival effect of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer (SEPAL study): a retrospective cohort analysis [published correction appears in *Lancet*. 2010 Aug 21;376(9741):594]. *Lancet*. 2010;375(9721):1165-1172. doi:10.1016/S0140-6736(09)62002-X
90. Ballester M, Dubernard G, Lécuru F, et al. Detection rate and diagnostic accuracy of sentinel-node biopsy in early stage endometrial cancer: a

- prospective multicentre study (SENTI-ENDO). *Lancet Oncol.* 2011;12(5):469-476. doi:10.1016/S1470-2045(11)70070-5
91. Barrena Medel NI, Bansal S, Miller DS, Wright JD, Herzog TJ. Pharmacotherapy of endometrial cancer. *Expert Opin Pharmacother.* 2009;10(12):1939-1951. doi:10.1517/14656560903061291
 92. Miller D, Filiaci V, Fleming G, et al. Late-breaking Abstract 1: Randomized phase III noninferiority trial of first line chemotherapy for metastatic or recurrent endometrial carcinoma: A Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol.* 2012;125:771.
 93. Sorbe B, Andersson H, Boman K, Rosenberg P, Kalling M. Treatment of primary advanced and recurrent endometrial carcinoma with a combination of carboplatin and paclitaxel-long-term follow-up. *Int J Gynecol Cancer.* 2008;18(4):803-808. doi:10.1111/j.1525-1438.2007.01094.x
 94. Chao CK, Grigsby PW, Perez CA, Mutch DG, Herzog T, Camel HM. Medically inoperable stage I endometrial carcinoma: a few dilemmas in radiotherapeutic management. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1996;34(1):27-31. doi:10.1016/0360-3016(95)02110-8
 95. Nout RA, Smit VT, Putter H, et al. Vaginal brachytherapy versus pelvic external beam radiotherapy for patients with endometrial cancer of high-intermediate risk (PORTEC-2): an open-label, non-inferiority, randomised trial. *Lancet.* 2010;375(9717):816-823. doi:10.1016/S0140-6736(09)62163-2
 96. Miller DS, Fleming G, Randall ME. Chemo- and radiotherapy in adjuvant management of optimally debulked endometrial cancer. *J Natl Compr Canc Netw.* 2009;7(5):535-541. doi:10.6004/jnccn.2009.0036
 97. Creasman WT, Morrow CP, Bundy BN, Homesley HD, Graham JE, Heller PB. Surgical pathologic spread patterns of endometrial cancer. A Gynecologic Oncology Group Study. *Cancer.* 1987;60(8 Suppl):2035-2041. doi:10.1002/1097-0142(19901015)60:8+<2035::aid-cncr2820601515>3.0.co;2-8
 98. Gal D, Recio FO, Zamurovic D. The new International Federation of Gynecology and Obstetrics surgical staging and survival rates in early

- endometrial carcinoma. *Cancer*. 1992;69(1):200-202. doi:10.1002/1097-0142(19920101)69:1<200::aid-cnrcr2820690132>3.0.co;2-d
99. Kosary CL. FIGO stage, histology, histologic grade, age and race as prognostic factors in determining survival for cancers of the female gynecological system: an analysis of 1973-87 SEER cases of cancers of the endometrium, cervix, ovary, vulva, and vagina. *Semin Surg Oncol*. 1994;10(1):31-46. doi:10.1002/ssu.2980100107
 100. Alektiar KM, McKee A, Lin O, et al. Is there a difference in outcome between stage I-II endometrial cancer of papillary serous/clear cell and endometrioid FIGO Grade 3 cancer?. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2002;54(1):79-85. doi:10.1016/s0360-3016(02)02913-9
 101. Creasman WT, Kohler MF, Odicino F, Maisonneuve P, Boyle P. Prognosis of papillary serous, clear cell, and grade 3 stage I carcinoma of the endometrium. *Gynecol Oncol*. 2004;95(3):593-596. doi:10.1016/j.ygyno.2004.08.019
 102. Watanabe Y, Satou T, Nakai H, et al. Evaluation of parametrial spread in endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol*. 2010;116(5):1027-1034. doi:10.1097/AOG.0b013e3181f80a49
 103. Kaku T, Tsuruchi N, Tsukamoto N, Hirakawa T, Kamura T, Nakano H. Reassessment of myometrial invasion in endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol*. 1994;84(6):979-982.
 104. Lutz MH, Underwood PB Jr, Kreutner A Jr, Miller MC. Endometrial carcinoma: a new method of classification of therapeutic and prognostic significance. *Gynecol Oncol*. 1978;6(1):83-94. doi:10.1016/0090-8258(78)90008-2
 105. Wilson TO, Podratz KC, Gaffey TA, Malkasian GD Jr, O'Brien PC, Naessens JM. Evaluation of unfavorable histologic subtypes in endometrial adenocarcinoma. *Am J Obstet Gynecol*. 1990;162(2):418-426. doi:10.1016/0002-9378(90)90399-r
 106. Alektiar KM, Venkatraman E, Abu-Rustum N, Barakat RR. Is endometrial carcinoma intrinsically more aggressive in elderly patients?. *Cancer*. 2003;98(11):2368-2377. doi:10.1002/cncr.11830

107. Zaino RJ, Kurman RJ, Diana KL, Morrow CP. Pathologic models to predict outcome for women with endometrial adenocarcinoma: the importance of the distinction between surgical stage and clinical stage--a Gynecologic Oncology Group study [published correction appears in *Cancer* 1997 Jan 15;79(2):422]. *Cancer*. 1996;77(6):1115-1121.
108. Takeshima N, Nishida H, Tabata T, Hirai Y, Hasumi K. Positive peritoneal cytology in endometrial cancer: enhancement of other prognostic indicators. *Gynecol Oncol*. 2001;82(3):470-473. doi:10.1006/gyno.2001.6301
109. Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, et al. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 1991;40(1):55-65. doi:10.1016/0090-8258(91)90086-k
110. Ayhan A, Şahin H, Sari ME, Yalçın I, Haberal A, Meydanli MM. Prognostic significance of lymphovascular space invasion in low-risk endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2019;29(3):505-512. doi:10.1136/ijgc-2018-000069
111. Del Carmen MG, Boruta DM 2nd, Schorge JO. Recurrent endometrial cancer. *Clin Obstet Gynecol*. 2011;54(2):266-277. doi:10.1097/GRF.0b013e318218c6d1
112. Barakat RR, Goldman NA, Patel DA, Venkatraman ES, Curtin JP. Pelvic exenteration for recurrent endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 1999;75(1):99-102. doi:10.1006/gyno.1999.5536
113. Vale CL, Tierney J, Bull SJ, Symonds PR. Chemotherapy for advanced, recurrent or metastatic endometrial carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;2012(8):CD003915. Published 2012 Aug 15. doi:10.1002/14651858.CD003915.pub4
114. Ishii N, Wadsworth WG, Stern BD, Culotti JG, Hedgecock EM. UNC-6, a laminin-related protein, guides cell and pioneer axon migrations in *C. elegans*. *Neuron*. 1992;9(5):873-881. doi:10.1016/0896-6273(92)90240-e

115. Dickson BJ. Molecular mechanisms of axon guidance [published correction appears in Science. 2003 Jan 24;299(5606):515]. *Science*. 2002;298(5600):1959-1964. doi:10.1126/science.1072165
116. Rajasekharan S, Kennedy TE. The netrin protein family. *Genome Biol*. 2009;10(9):239. doi:10.1186/gb-2009-10-9-239
117. Kociok N, Crespo-Garcia S, Liang Y, et al. Lack of netrin-4 modulates pathologic neovascularization in the eye. *Sci Rep*. 2016;6:18828. Published 2016 Jan 6. doi:10.1038/srep18828
118. Keino-Masu K, Masu M, Hinck L, et al. Deleted in Colorectal Cancer (DCC) encodes a netrin receptor. *Cell*. 1996;87(2):175-185. doi:10.1016/s0092-8674(00)81336-7
119. Nacht M, St Martin TB, Byrne A, et al. Netrin-4 regulates angiogenic responses and tumor cell growth. *Exp Cell Res*. 2009;315(5):784-794. doi:10.1016/j.yexcr.2008.11.018
120. Bruikman CS, Zhang H, Kemper AM, van Gils JM. Netrin Family: Role for Protein Isoforms in Cancer. *J Nucleic Acids*. 2019;2019:3947123. Published 2019 Feb 24. doi:10.1155/2019/3947123
121. Llambi F, Causeret F, Bloch-Gallego E, Mehlen P. Netrin-1 acts as a survival factor via its receptors UNC5H and DCC. *EMBO J*. 2001;20(11):2715-2722. doi:10.1093/emboj/20.11.2715
122. Kefeli U, Ucuncu Kefeli A, Cabuk D, et al. Netrin-1 in cancer: Potential biomarker and therapeutic target?. *Tumour Biol*. 2017;39(4):1010428317698388. doi:10.1177/1010428317698388
123. Mehlen P, Guenebeaud C. Netrin-1 and its dependence receptors as original targets for cancer therapy. *Curr Opin Oncol*. 2010;22(1):46-54. doi:10.1097/CCO.0b013e328333dcd1
124. Barclay AN. Membrane proteins with immunoglobulin-like domains--a master superfamily of interaction molecules. *Semin Immunol*. 2003;15(4):215-223. doi:10.1016/s1044-5323(03)00047-2
125. Ranganathan P, Mohamed R, Jayakumar C, Ramesh G. Guidance cue netrin-1 and the regulation of inflammation in acute and chronic kidney disease. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:525891. doi:10.1155/2014/525891

126. Ly NP, Komatsuzaki K, Fraser IP, et al. Netrin-1 inhibits leukocyte migration in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(41):14729-14734. doi:10.1073/pnas.0506233102
127. Lai Wing Sun K, Correia JP, Kennedy TE. Netrins: versatile extracellular cues with diverse functions. *Development*. 2011;138(11):2153-2169. doi:10.1242/dev.044529
128. Layne K, Ferro A, Passacuale G. Netrin-1 as a novel therapeutic target in cardiovascular disease: to activate or inhibit?. *Cardiovasc Res*. 2015;107(4):410-419. doi:10.1093/cvr/cvv201
129. Ramesh G, Kwon O, Ahn K. Netrin-1: a novel universal biomarker of human kidney injury. *Transplant Proc*. 2010;42(5):1519-1522. doi:10.1016/j.transproceed.2009.11.040
130. Ding S, Guo X, Zhu L, et al. Macrophage-derived netrin-1 contributes to endometriosis-associated pain. *Ann Transl Med*. 2021;9(1):29. doi:10.21037/atm-20-2161
131. Sato T, Kokabu S, Enoki Y, et al. Functional Roles of Netrin-1 in Osteoblast Differentiation. *In Vivo*. 2017;31(3):321-328. doi:10.21873/invivo.11062
132. Maruyama K, Kawasaki T, Hamaguchi M, et al. Bone-protective Functions of Netrin 1 Protein. *J Biol Chem*. 2016;291(46):23854-23868. doi:10.1074/jbc.M116.738518
133. Ramesh G, Berg A, Jayakumar C. Plasma netrin-1 is a diagnostic biomarker of human cancers. *Biomarkers*. 2011;16(2):172-180. doi:10.3109/1354750X.2010.541564
134. Arakawa H. Netrin-1 and its receptors in tumorigenesis. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(12):978-987. doi:10.1038/nrc1504
135. Kürty S, Garrec C, Airaud F, et al. Evaluation of the colorectal cancer risk conferred by rare UNC5C alleles. *World J Gastroenterol*. 2014;20(1):204-213. doi:10.3748/wjg.v20.i1.204
136. Delloye-Bourgeois C, Brambilla E, Coissieux MM, et al. Interference with netrin-1 and tumor cell death in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(4):237-247. doi:10.1093/jnci/djn491

137. Yin K, Wang L, Zhang X, et al. Netrin-1 promotes gastric cancer cell proliferation and invasion via the receptor neogenin through PI3K/AKT signaling pathway. *Oncotarget*. 2017;8(31):51177-51189. Published 2017 May 10. doi:10.18632/oncotarget.17750
138. Han P, Fu Y, Liu J, et al. Netrin-1 promotes cell migration and invasion by down-regulation of BVES expression in human hepatocellular carcinoma. *Am J Cancer Res*. 2015;5(4):1396-1409. Published 2015 Mar 15.
139. Yıldırım ME, Kefeli U, Aydın D, Sener N, Gümüş M. The value of plasma netrin-1 in non-small cell lung cancer patients as diagnostic and prognostic biomarker. *Tumour Biol*. 2016;37(9):11903-11907. doi:10.1007/s13277-016-5025-y
140. Kato HD, Kondoh H, Inoue T, et al. Expression of DCC and netrin-1 in normal human endometrium and its implication in endometrial carcinogenesis. *Gynecol Oncol*. 2004;95(2):281-289. doi:10.1016/j.ygyno.2004.07.050
141. Koch M, Murrell JR, Hunter DD, et al. A novel member of the netrin family, beta-netrin, shares homology with the beta chain of laminin: identification, expression, and functional characterization. *J Cell Biol*. 2000;151(2):221-234. doi:10.1083/jcb.151.2.221
142. Fattet L, Jung HY, Matsumoto MW, et al. Matrix Rigidity Controls Epithelial-Mesenchymal Plasticity and Tumor Metastasis via a Mechanoresponsive EPHA2/LYN Complex. *Dev Cell*. 2020;54(3):302-316.e7. doi:10.1016/j.devcel.2020.05.031
143. Yin Y, Sanes JR, Miner JH. Identification and expression of mouse netrin-4. *Mech Dev*. 2000;96(1):115-119. doi:10.1016/s0925-4773(00)00369-5
144. Lee NG, Jeung IC, Heo SC, et al. Ischemia-induced Netrin-4 promotes neovascularization through endothelial progenitor cell activation via Unc-5 Netrin receptor B. *FASEB J*. 2020;34(1):1231-1246. doi:10.1096/fj.201900866RR
145. Dakouane-Giudicelli M, Brouillet S, Traboulsi W, et al. Inhibition of human placental endothelial cell proliferation and angiogenesis by netrin-4. *Placenta*. 2015;36(11):1260-1265. doi:10.1016/j.placenta.2015.09.007

146. İçen MS, Ağa ayak E, Findık FM, et al. Are serum Netrin-4 levels predictive of preeclampsia?. *Ginekol Pol.* 2020;91(12):733-739. doi:10.5603/GP.a2020.0124
147. Mehlen P, Fattet L. Netrin-4 regulates stiffness and metastasis. *Nat Mater.* 2021;20(6):722-723. doi:10.1038/s41563-021-01012-4
148. Reuten R, Patel TR, McDougall M, et al. Structural decoding of netrin-4 reveals a regulatory function towards mature basement membranes. *Nat Commun.* 2016;7:13515. Published 2016 Nov 30. doi:10.1038/ncomms13515
149. Eveno C, Broqueres-You D, Feron JG, et al. Netrin-4 delays colorectal cancer carcinomatosis by inhibiting tumor angiogenesis. *Am J Pathol.* 2011;178(4):1861-1869. doi:10.1016/j.ajpath.2010.12.019
150. Lv B, Song C, Wu L, et al. Netrin-4 as a biomarker promotes cell proliferation and invasion in gastric cancer. *Oncotarget.* 2015;6(12):9794-9806. doi:10.18632/oncotarget.3400
151. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(2):87-108. doi:10.3322/caac.21262
152. Creasman WT, Morrow CP, Bundy BN, Homesley HD, Graham JE, Heller PB. Surgical pathologic spread patterns of endometrial cancer. A Gynecologic Oncology Group Study. *Cancer.* 1987;60(8 Suppl):2035-2041. doi:10.1002/1097-0142(19901015)60:8+<2035::aid-cncr2820601515>3.0.co;2-8
153. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up [published correction appears in *Ann Oncol.* 2017 Jul 1;28(suppl_4):iv167-iv168]. *Ann Oncol.* 2016;27(1):16-41. doi:10.1093/annonc/mdv484
154. Papanastasiou AD, Pampalakis G, Katsaros D, Sotiropoulou G. Netrin-1 overexpression is predictive of ovarian malignancies. *Oncotarget.* 2011;2(5):363-367. doi:10.18632/oncotarget.258

- 155.** Li Y, Xiao M, Guo F. The role of Sox6 and Netrin-1 in ovarian cancer cell growth, invasiveness, and angiogenesis. *Tumour Biol.* 2017;39(5):1010428317705508. doi:10.1177/1010428317705508
- 156.** Lv B, Song C, Wu L, et al. Netrin-4 as a biomarker promotes cell proliferation and invasion in gastric cancer. *Oncotarget.* 2015;6(12):9794-9806. doi:10.18632/oncotarget.3400
- 157.** Reuten R, Patel TR, McDougall M, et al. Structural decoding of netrin-4 reveals a regulatory function towards mature basement membranes. *Nat Commun.* 2016;7:13515. Published 2016 Nov 30. doi:10.1038/ncomms13515
- 158.** Zhang J, Zheng F, Yu G, Yin Y, Lu Q. miR-196a targets netrin 4 and regulates cell proliferation and migration of cervical cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;440(4):582-588. doi:10.1016/j.bbrc.2013.09.142
- 159.** Huang Y, Zhang Z, Miao M, Kong C. The intracellular domain of UNC5B facilitates proliferation and metastasis of bladder cancer cells. *J Cell Mol Med.* 2021;25(4):2121-2135. doi:10.1111/jcmm.16172
- 160.** Fu J, Zhang Y, Wang M, Hu J, Fang Y. Inhibition of the long non-coding RNA UNC5B-AS1/miR-4455/RSPO4 axis reduces cervical cancer growth in vitro and in vivo. *J Gene Med.* 2021;23(12):e3382. doi:10.1002/jgm.3382
- 161.** Wang H, Su H, Tan Y. UNC5B-AS1 promoted ovarian cancer progression by regulating the H3K27me on NDRG2 via EZH2. *Cell Biol Int.* 2020;44(4):1028-1036. doi:10.1002/cbin.11300