

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

**ENDOMETRİUMUN ENDOMETRİOİD KARSİNOMLARINDA
USP (UBIQUITIN-SPESİFİK PROTEAZ) 17’NİN
İMMUNOHİSTOKİMYA İLE İNCELENMESİ VE PROGNOSTİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. DENİZ GÖKÇAY

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İZMİR

2022

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

**ENDOMETRİUMUN ENDOMETRİOİD KARSİNOMLARINDA
USP (UBIQUITIN-SPESİFİK PROTEAZ) 17’NİN
İMMUNOHİSTOKİMYA İLE İNCELENMESİ VE PROGNOSTİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. DENİZ GÖKÇAY

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. MERAL KOYUNCUOĞLU

İÇİNDEKİLER

TABLO, ŞEKİL, RESİM VE GRAFİK LİSTESİ.....	iii
KISALTMALAR.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1 Endometrium Kanseri.....	7
2.1.1 Epidemiyoloji.....	7
2.1.2 Tanı Yöntemleri.....	7
2.1.3 Etiyoloji ve Sınıflandırma.....	7
2.1.4 Histopatoloji.....	10
2.1.4.1 Endometrial Epitelyal Tümörlerin ve Prekürsörlerin DSÖ 2020 Sınıflaması.....	10
2.1.4.2 Endometrioid Karsinom.....	11
2.1.4.2.1 Histolojik Derecelendirme.....	12
2.1.4.2.2 İmmunohistokimya.....	12
2.1.5 Evreleme ve Sağ Kalım.....	13
2.1.6 Prognostik Faktörler.....	15
2.2 Ubiquitin-Proteazom Sistemi.....	17
2.3 Ubiquitin-Spesifik Proteaz (USP) 17.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22

3.1 Olguların Seçilmesi.....	22
3.2 Morfolojik Parametreler.....	22
3.3 USP17 İmmunohistokimyasal İncelemesi.....	23
3.4 İstatistiksel Analiz.....	24
4. BULGULAR.....	25
4.1 Olguların Demografik ve Klinikopatolojik Özellikleri.....	25
4.2 USP17'nin İmmunohistokimyasal Ekspresyonu ve Morfolojik Parametrelerle İlişkisi.....	29
4.3 Tanı Gruplarının Karşılaştırılması.....	35
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇLAR.....	47
7. KAYNAKLAR.....	48

TABLO, ŞEKİL, RESİM VE GRAFİK LİSTESİ

Tablo-1. Endometrium kanserlerinde kullanılan TNM ve FIGO evreleme sistemleri

Tablo-2. Endometrium kanserlerinde prognostik risk gruplarının tanımı

Tablo-3. USP17 immunohistokimyasal ekspresyonunun yoğunluk skorlaması

Tablo-4. Hastaların yaş ve klinik izlem sürelerine ait veriler

Tablo-5. Hastaların tanı gruplarına göre dağılımı

Tablo-6. Hastaların evrelere göre dağılımı (sıklık ve yüzdelik değer%)

Tablo-7. Uzak metastazı olan hastalara ilişkin bilgiler

Tablo-8. Ex olan hastalara ilişkin bilgiler

Tablo-9. Evrelere göre ex olan ve sağ kalan hasta sayıları

Tablo-10. Olguların USP17 boyanma yoğunluğu

Tablo-11. Evrelere göre USP17 boyanma yoğunluğunun durumu

Tablo-12. Tanı gruplarına göre USP17 boyanma yoğunluğunun durumu

Tablo-13. USP17 boyanma yoğunluğu ile karşılaştıran prognostik parametreler ve istatistiksel analiz değerleri

Tablo-14. Tanılara göre tümörün yapısal derecesinin durumu

Şekil-1. Endometrial karsinomların entegre genomik-patolojik sınıflandırması için tanısal algoritma

Şekil-2. Protein ubiquitinasyon yolağı

Resim-1. Mide glandlarında USP17'nin sitoplazmik ekspresyonu (x10)

Resim-2. USP17 immunohistokimyası kuvvetli boyanma (x10)

Resim-3. USP17 immunohistokimyası kuvvetli boyanma (x10)

Resim-4. USP17 immunohistokimyası zayıf boyanma (x20)

Resim-5. USP17 immunohistokimyası zayıf boyanma (x20)

Grafik-1. Hastaların evrelere göre dağılımı (yüzdelik değer%)

Grafik-2. Tanı gruplarına göre USP17 boyanma yoğunluğunun durumu

Grafik-3. Tanılara göre hastalık evrelerinin dağılımı

Grafik-4. Tanılara göre tümörün yapısal derecesinin durumu

Grafik-5. Tanılara göre tümörde lenfovasküler aralık invazyonu durumu

Grafik-6. Tanılara göre lenf nodu metastazı durumu

Grafik-7. Tanılara göre uzak metastaz durumu

Grafik-8. Tanılara göre hastaların sağ kalım durumu

KISALTMALAR

AJCC: The American Joint Committee on Cancer
ATP: Adenozin Trifosfat
BBA: Büyük Büyütme Alanı
BT: Bilgisayarlı Tomografi
CC1: Cell Conditioning 1
CDK1: Cyclin-Dependent Kinase 1
CDK2: Cyclin-Dependent Kinase 2
CEA: Karsinoembriyonik Antijen
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
DUB: Deubiquitinaz
E6-AP: E6-Associated Protein
EGF: Epidermal Growth Factor
EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor
EMT: Epitelyal-Mezenkimal Transizyon
ER: Östrojen Reseptör
ESGO: European Society of Gynaecological Oncology
ESP: European Society of Pathology
ESTRO: European Society for Radiotherapy and Oncology
FIGO: Federation of Gynecology and Obstetrics
HE: Hematoksilen-Eozin
HPV: Human Papilloma Virus
IL: İnterlökin
KBA: Küçük Büyütme Alanı
KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
LVAİ: Lenfovasküler Aralık İnvazyonu
MCL1: Myeloid Cell Leukemia 1
MMR: Mismatch Repair
MMR-d: Mismatch Repair-deficient
MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MSI: Mikrosatellit İnstabilite

NCCN: National Comprehensive Cancer Network
NRF2: Nükleer Fakt r Eritroid 2-İlişkili Fakt r 2
NSMP: No Specific Molecular Profile
PCR: Polymerase Chain Reaction
PET: Pozitron Emisyon Tomografi
POLE: DNA Polimeraz- 
PR: Progesteron Reseptör
RCE1: Ras-Converting Enzyme 1
RT-PCR: Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction
SEER: Surveillance, Epidemiology, and End Results Program
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences
TCGA: The Cancer Genome Atlas
TKİ: Tirozin Kinaz İnhibitörü
UICC: The Union for International Cancer Control
UPS: Ubiquitin-Proteazom Sistemi
USP: Ubiquitin-Spesifik Proteaz

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık tezimin her aşamasında bana destek olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Meral Koyuncuoğlu başta olmak üzere, uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaşarak yol gösteren Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı 'ndaki saygıdeğer hocalarıma,

Çalışmanın istatistiksel analizlerinin yapılmasında yardımını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Hülya Ellidokuz 'a,

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte emek harcadığım değerli asistan hekim arkadaşlarıma,

Çalışmanın hayata geçirilmesine katkıda bulunan patoloji teknisyenleri Ayşen Çayan ve Nalan Okay 'a,

Başarılarımın kaynağı, beni bugünlere getiren annem Prof. Dr. Elif Barışkın ve babam Dr. Mehmet Kabakcı başta olmak üzere tüm aileme,

Hayatımın her anında varlığıyla bana güç veren sevgili eşim Dr. Oğuzcan Gökçay 'a sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Deniz Gökçay

ÖZET

ENDOMETRİUMUN ENDOMETRİOİD KARSİNOMLARINDA USP (UBIQUITIN-SPESİFİK PROTEAZ) 17’NİN İMMUNOHİSTOKİMYA İLE İNCELENMESİ VE PROGNOSTİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Deniz Gökçay

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı / İZMİR

Endometrium kanserleri, global kanser istatistikleri (GLOBOCAN) verilerine göre dünyada 2020 yılında 417,000 yeni vaka ile kadınlarda en sık görülen altıncı kanserdir. SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results Program) verilerine göre uterin kanserlerde 5 yıllık göreceli sağ kalım oranı %81.1’dir. Evre ilişkili 5 yıllık göreceli sağ kalım oranları ise lokalize (primer alana sınırlı) kanserlerde %94.9, bölgesel lenf nodlarına yayılım olduğunda %69.3 ve uzak metastaz varlığında %17.8’dir. Endometrioid karsinom, endometrium kanserlerinin en sık görülen histolojik alt tipidir ve glandüler/villoglandüler büyüme paterni gösteren, psödostratifye nükleuslu kolumnar hücrelerden oluşur. Etiyolojisinde esas olarak karşılanmamış östrojen maruziyeti yer alır. Endometrioid karsinomlarda intrasitoplazmik müsin içeren, bazal yerleşimli nükleuslara sahip kolumnar hücrelerle tanımlanan müsinöz diferansiasyon oldukça yaygındır.

Ubiquitin 76 amino asitten oluşan, küçük, ısıya dayanıklı ve evrimsel olarak korunmuş düzenleyici proteindir. Post-translasyonel modifikasyon olan ubiquitinasyon, proteolitik sinyal olarak işlev görür. Proteinlerin ubiquitinasyon süreci, deubiquitinasyon enzimleri (deubiquitinazlar-DUB) tarafından geri dönüştürülebilir bir mekanizmadır. USP17/DUB3’ün ekspresyonu sitokinler, kemokinler ve epidermal büyüme faktörü (EGF) uyarısına yanıt olarak indüklenir. Tümörlerde USP17 ekspresyon artışının kötü prognozla ilişkili olabileceği öne sürülmektedir. USP17 azalmasının birçok kanser hücresi türünün büyümesini, migrasyonunu ve in vivo tümör modellerini engelleyebilmesi; USP17’nin potansiyel bir terapötik hedef olmasına yol açmaktadır.

Bu çalışmada 2013-2019 yılları arasında, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda endometrioid karsinom ya da müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinom tanısı alan 99 olguya ait dokuların parafin bloklarından mikroarray yöntemi ile elde edilen kesitlerde immunohistokimyasal olarak USP17 ekspresyonu incelenmiştir ve ekspresyon yoğunluğu ile prognostik faktörlerin ilişkisi araştırılmıştır.

Olguların 23'ünde (%23.2) kuvvetli, 41'inde (%41.4) zayıf ekspresyon gözlenmiştir; 35 olguda ise (%35.4) ekspresyon saptanmamıştır. Prognostik parametrelerin hiçbirisi ile USP17 ekspresyon yoğunluğu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$).

Endometrium kanserlerinin anormal vajinal kanama şeklinde erken bulgu vermesi, hastaların tanı ve tedaviye vakit kaybetmeden ulaşmasını sağlamaktadır. Çalışmamızda yer alan olguların büyük bir kısmının erken evrede ve düşük dereceli tümörlere sahip hastalar olması nedeniyle; kötü prognostik parametrelerin anlamlı istatistiksel analizlerle değerlendirilebilmesi için endometrium kanserlerinde daha büyük olgu serilerinin araştırılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: USP17, immunohistokimya, endometrium kanseri

ABSTRACT

IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS AND INVESTIGATION OF THE PROGNOSTIC EFFECTS OF USP (UBIQUITIN-SPECIFIC PROTEASE) 17 IN ENDOMETRIOID CARCINOMA OF THE ENDOMETRIUM

Endometrial cancer is the sixth most commonly diagnosed cancer in women, with 417,000 new cases in 2020 according to global cancer statistics (GLOBOCAN). According to SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results Program) data, the 5-year relative survival rate in uterine cancer is 81.1%. Stage-related 5-year relative survival rates in uterine cancer are 94.9% in localized cancers (disease limited to the primary area), 69.3% in the presence of regional lymph node metastasis and 17.8% in the presence of distant metastasis respectively. Endometrioid carcinoma is the most common histological type of endometrial cancers and consists of columnar cells with pseudostratified nuclei showing a glandular/villoglandular pattern. The main etiology of endometrioid carcinoma is unopposed estrogen exposure. Mucinous differentiation, characterized by columnar cells with basally oriented nuclei and containing intracytoplasmic mucin, is common in endometrioid carcinomas.

Ubiquitin is a small, thermostable and evolutionarily conserved regulatory protein consisting of 76 amino acids. Ubiquitination is a post-translational modification, which functions as a proteolytic signal. The ubiquitination process of proteins is a mechanism that is reversed by deubiquitination enzymes (deubiquitinases-DUB). Expression of USP17/DUB3 is induced in response to cytokines, chemokines and epidermal growth factor (EGF). It has been suggested that increased USP17 expression in tumors may be associated with poor prognosis. USP17 reduction inhibits the growth, migration and in vivo tumor models of many cancer cell types, thus these features led USP17 to be a potential therapeutic target.

In this study, USP17 immunohistochemistry was performed to the sections obtained by tissue microarray technology from paraffin embedded tissues of 99 patients diagnosed with endometrioid carcinoma or endometrioid carcinoma with

mucinous differentiation, between 2013 and 2019 at Dokuz Eylul University Faculty of Medicine Department of Pathology. The relationships between expression intensity and prognostic factors were investigated.

USP 17 immunohistochemistry showed strong staining in 23 (23.2%) cases, weak staining in 41 (41.4%) cases and negative staining in 35 cases (35.4%). We did not find a statistically significant relationship between the prognostic parameters and USP17 staining intensity ($p>0.05$).

Presentation of endometrial cancers in the form of abnormal vaginal bleeding helps patients to reach early diagnosis and treatment. Since most of the cases in our study were patients with early-stage disease and low-grade tumors; it was concluded that larger case series should be investigated in endometrial cancers in order to evaluate poor prognostic parameters with significant statistical analysis.

Keywords: USP17, immunohistochemistry, endometrial cancer

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Endometrium kanserleri, global kanser istatistikleri (GLOBOCAN) verilerine göre dünyada 2020 yılında 417,000 yeni vaka ile kadınlarda en sık görülen altıncı kanser ve genel olarak en sık görülen on yedinci kanserdir¹. Gelişmiş ülkelerde 5 yıllık sağ kalım oranı yüksektir². Hastaların ortalama yaşı 63'tür; vakaların %70'ini perimenopozal veya postmenopozal hastalar oluşturmaktadır³. Obezite prevalansının ve yaşam süresi beklentisinin artması nedeniyle endometrium kanseri insidansının da artacağı ön görülmektedir^{4,5}. Tümörün histopatolojik tipi, derecesi, myometrial invazyon derinliği ile lenfovasküler aralık invazyonu gibi özellikler; endometrium kanseri olgularının patoloji raporlarında bulunması gereken ve prognozu değerlendirmede kılavuzlarda yer alan önemli parametrelerdir⁶.

Ubiquitin-proteazom sistemi, protein yıkımı başta olmak üzere pek çok hücrel fonksiyonun gerçekleştirilmesinde görev alır. Degradasyonu hedeflenen hücrel proteinler, ubiquitin olarak bilinen 76 aminoasitlik bir protein tarafından etiketlenir ve 26S proteazom aracılığıyla parçalanır⁷⁻⁹. Ubiquitinasyonun DNA onarımı, endositoz ve histon regülasyonu gibi işlevleri de vardır¹⁰. Ayrıca ubiquitin-proteazom sisteminin bazı kanser türleri ve nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir¹¹.

Ubiquitin'in bağlandığı proteinlerden deubiquitinaz enzimler (DUB) aracılığıyla uzaklaştırılması; transkripsiyon, DNA onarımı, hücre döngüsünün ilerlemesi, apoptozis gibi birçok önemli hücrel fonksiyonun düzenlenmesi için gereklidir¹². DUB/Ubiquitin Spesifik Proteaz 17 (USP17) deubiquitinaz ailesi, orijinal olarak farelerde (DUB1, DUB1A, DUB2) tanımlanmıştır. İnsan homologu USP17/DUB3'ün ekspresyonu sitokinler, kemokinler ve epidermal büyüme faktörü (EGF) uyarısına yanıt olarak indüklenir¹³. Prostat, meme, akciğer, kolon, serviks, özefagus gibi farklı tümör gruplarında USP17'nin aşırı eksprese olduğu gösterilmiştir¹⁴. Farklı çalışmalarda akciğer, over ve prostat tümör hücrelerinde USP17 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğu bulunmuş, USP17'yi hedefleyen yeni stratejilerin kanser tedavisinde yer alması gerektiği önerilmiştir^{13,15-18}.

Bu çalışmanın amacı, endometrium kanserlerinin en sık görülen histolojik alt tipi olan endometrioid karsinomlarda USP17 ekspresyon durumunu immunohistokimyasal yöntem ile değerlendirmek ve boyanma yoğunluğunun prognostik parametrelerle ilişkisini incelemektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Endometrium Kanseri

2.1.1 Epidemiyoloji

Endometrium kanseri, global kanser istatistikleri (GLOBOCAN) verilerine göre dünyada 2020 yılında 417,000 yeni vaka ile kadınlarda en sık görülen altıncı kanser ve genel olarak en sık görülen on yedinci kanserdir. Kadın genital sistem kanserleri arasında ise serviks kanserlerinden sonra ikinci sırada yer almaktadır¹. Gelişmiş ülkelerde 5 yıllık sağ kalım oranı yüksektir (Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık %80). Dünya genelinde yılda yaklaşık 90,000 ölümle kansere bağlı ölümlerde 14. sıradadır². Hastaların ortalama yaşı 63'tür; vakaların %70'i perimenopozal veya postmenopozal kadınlarda görülürken %4'ü 40 yaşından önce ortaya çıkar³.

Kadınlarda obezite prevalansının artması ile endometrium kanseri insidansının da artması beklenmektedir^{4,5}. Sheikh, Althouse, Freese ve ark. yaptıkları çok değişkenli doğrusal regresyon modelinde 2030 yılına kadar endometrial kanser insidansının 100,000 kadında 42.13 vakaya ulaşacağını öngörmektedir ve bu, 2010 yılı oranlarına göre %55 artış anlamına gelmektedir⁴.

2.1.2 Tanı Yöntemleri

Endometrium kanseri hastalarının yaklaşık %90'ında, en sık postmenopozal dönemde olmak üzere, anormal vajinal kanama vardır. Tanı genellikle endometrial biyopsi ile konur ve alınan histolojik bilgi ile tedavi planlanır. Endometrial biyopsilerde yaklaşık %10 oranında yanlış negatiflik görülür. Bu nedenle semptomatik bir hastada negatif endometrial biyopsiyi, fraksiyone küretaj takip etmelidir. Bilgisayarlı Tomografi (BT), Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) ve/veya Pozitron Emisyon Tomografi (PET) gibi görüntüleme yöntemleri; hastalığın yaygınlığını ve olası metastazları değerlendirmek için kullanılabilir¹⁹.

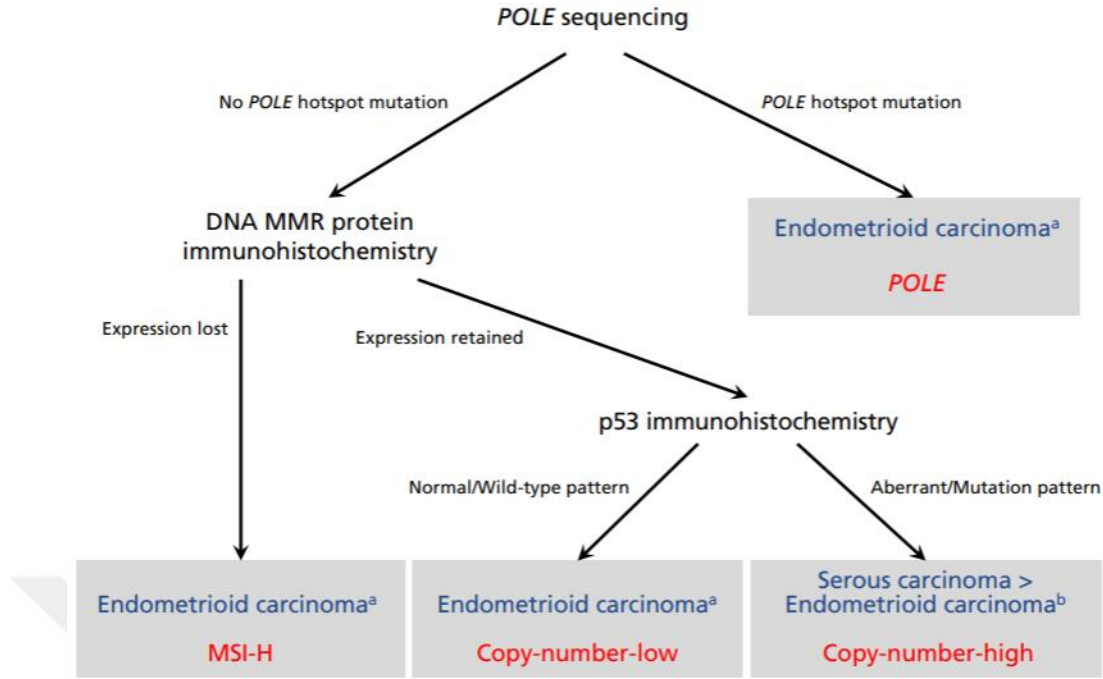
2.1.3 Etiyoloji ve Sınıflandırma

Endometrium kanserlerini sınıflandırmak için patogenetik, histopatolojik ve moleküler olmak üzere üç farklı, fakat örtüşen bakış açısı kullanılır²⁰. Bokhman endometrial karsinomların klinik, metabolik ve endokrin özelliklerine dayanan iki patogenetik tipte kategorize edilmesini önermiştir²¹. Tip I ve tip II tanımlamaları,

endometrium kanserlerini hem etiyoloji hem de klinik davranış açısından değerlendirmek için yararlı bir yol olarak hizmet eder ve patogenezi anlamak için kavramsal bir çerçeve sağlar²¹⁻²⁴. Tip I kanserler genellikle düşük dereceli, östrojen bağımlı ve iyi prognozlu iken; Tip II kanserler yüksek dereceli, östrojenden bağımsız ve kötü prognozludur²⁴⁻²⁶. Tip I endometrial karsinomlar sporadik yeni vakaların %70-80'ini oluşturur, sıklıkla endometrioid histolojik tiptedir ve esas olarak karşılanmamış östrojen maruziyeti ile ilişkilidir^{5,22}. Risk faktörleri arasında obezite, tip 2 diabetes mellitus, yağdan zengin diyet, erken menarş, geç menopoza, nulliparite, Lynch sendromu, östrojen salgılayan over tümörleri, polikistik over sendromu, anovulasyon, ilaç kullanımı (Tamoksifen, ekzojen östrojen vs) gibi durumlar yer almaktadır^{2,5,24,27}. Karşılanmamış östrojende olduğu gibi endokrin kaynaklı değişiklikler; endometrial glandlarda zaman ve doz ile ilişkili olarak, histolojik paterni kademeli şekilde değiştiren bir “alan etkisi” meydana getirir²². Bu dinamik süreç, düzensiz proliferatif endometrium ile başlar; önce atipisiz hiperplazi, daha sonra da prekürsör lezyon olan atipik hiperplazi/endometrioid intraepitelyal neoplaziye ilerler^{2,22}. Tip II kanserler ise endometrial kanserlerin %10-20'sini oluştururlar, genellikle endometrioid olmayan yüksek dereceli histolojiye sahiptirler (seröz veya berrak hücreli) ve endometrial hiperplazi zemininde değil polip veya atrofik endometriumda gelişme eğilimindedirler^{22-24,28}. Tip II vakalar genelde tip I'e göre daha yaşlı, multipar ve normal kiloda olan hastalardır²³.

Morfolojik ve klinik özelliklerinin yanı sıra tip I ve tip II endometrial kanserler genetik değişikliklerle de ayırt edilirler. Tip I'in prototipi olan endometrioid karsinomlarda en sık görülen genetik değişiklik, endometrioid karsinomların %83'ünde ve atipik endometrial hiperplazi vakalarının %55'inde bulunan PTEN mutasyonlarıdır^{22,26,29}. PTEN mutasyonları, tip I tümörlerin neoplastik sürecinde erken dönemde ortaya çıkar ve sıklıkla fosfatidilinositol-3-OH kinaz PI3K/AKT yolağındaki mutasyonlarla birlikte bulunur. Tip I tümörlerde yaygın olarak mutasyona uğramış diğer genler arasında FGFR2, ARID1A, CTNNB1, PIK3CA, PIK3R1 ve KRAS yer alır. Mikrosatellit instabilite (MSI), tip I tümörlerin yaklaşık üçte birinde bulunur; ancak tip II tümörlerde nadirdir. Tip II kanserlerde görülen en yaygın genetik değişiklikler ise TP53, PIK3CA, ERBB2 (HER2) ve PPP2R1A gen mutasyonlarıdır^{20,30}.

2013 yılında yapılan The Cancer Genome Atlas (TCGA) çalışması, endometrial karsinomun tek gen mutasyonlarından ziyade entegre genomik yapıya dayalı olarak dört moleküler prognostik grupta yeniden sınıflandırılabilceğini göstermiştir^{28,30,31}. Bu dört yeni grup DNA polimeraz-ε (POLE) ultramutasyonlu, mikrosatellit instabil (MSI) hipermutasyonlu, kopya sayısı düşük (endometrioid) ve kopya sayısı yüksek (seröz benzeri) olarak tanımlanmıştır^{30,32}. POLE ultramutasyonlu alt grup, diğer gruplara göre POLE ekzonükleaz bölgesinde çok yüksek mutasyon oranına sahiptir. MSI (hipermutasyonlu) alt grup; MLH1, PMS2, MSH2, MSH6 gibi yanlış eşleşme tamir (mismatch repair-MMR) genlerinde yüksek mutasyon oranı ile karakterlidir. MLH1 promotörünün sık hipermetilasyon ile epigenetik susturulması bu alt grubun çoğunluğundan sorumludur; ancak yanlış eşleşme tamir genlerinin herhangi birindeki hem somatik hem de germline (Lynch sendromu) mutasyonlar mikrosatellit instabiliteye yol açar. Kopya sayısı düşük grup, diğerlerinden düşük mutasyon oranı ve düşük düzeyde somatik kopya sayısı değişiklikleri olması nedeniyle genellikle genomik olarak stabildir. Kopya sayısı yüksek (seröz benzeri) alt grup ise yüksek somatik kopya sayısı değişiklik oranı ve TP53'te sık somatik mutasyonlar ile tanımlanmaktadır^{20,30-33}. TCGA çalışmasındaki seröz karsinomların neredeyse tümü kopya sayısı yüksek alt grup içinde yer almaktadır. Buna karşılık, endometrioid karsinomlar dört alt grup içerisinde dağılmaktadır (Şekil-1)^{20,30}.



Şekil-1. Endometrial karsinomların entegre genomik-patolojik sınıflandırması için tanısal algoritma (mavi renk histotipi, kırmızı renk TCGA genomik sınıfı temsil eder)³⁴[Murali R, Delair DF, Bean SM, Abu-Rustum NR, Soslow RA. *Evolving roles of histologic evaluation and molecular/genomic profiling in the management of endometrial cancer. JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network.*2018;16(2):201-209.]

Tanımlanan alt gruplar; moleküler anormallikler, kalıtsal risk faktörleri, çevresel risk faktörleri, prognoz ve tedaviye yanıt açısından birbirinden farklılık gösterir³³. Klinik sonuçlara bakıldığında POLE mutant tümörler diğerlerinden önemli ölçüde daha iyi progresyonsuz sağ kalıma sahip, en iyi prognozlu grup iken; MSI hipermutasyonlu ve kopya sayısı düşük olanlar orta prognozlu, kopya sayısı yüksek tümörler ise en kötü prognozlu gruptur^{30,34}.

2.1.4 Histopatoloji

2.1.4.1 Endometrial Epitelyal Tümörlerin ve Prekürsörlerin DSÖ 2020 Sınıflaması²

- Atipisiz hiperplazi
- Atipik hiperplazi/endometrioid intraepitelyal neoplazi

- Endometrioid adenokarsinom

POLE ultramutasyonlu endometrioid karsinom

Yanlış eşleşme tamir yetersiz (MMR-d) endometrioid karsinom

p53 mutant endometrioid karsinom

Spesifik moleküler profili olmayan (NSMP) endometrioid karsinom

- Seröz karsinom
- Berrak hücreli adenokarsinom
- Karsinom, andiferansiye
- Mikst hücreli adenokarsinom
- Mezonefrik adenokarsinom
- Skuamöz hücreli karsinom
- Müsinöz karsinom, intestinal tip
- Mezonefrik benzeri adenokarsinom
- Karsinosarkom

2.1.4.2 Endometrioid Karsinom

Endometrioid karsinom, endometrium kanserlerinin en yaygın histolojik alt tipidir ve glandüler/villoglandüler büyüme paterni gösteren, psödostratifiye nükleuslu kolumnar hücrelerden oluşur. Neoplastik hücreler genelde eozinofilik ve granüler sitoplazmaya sahiptir. Yüksek dereceli olmayanlarda nükleer atipi hafif-orta derecelidir ve nükleoller belirsizdir. Skuamöz diferansiasyon siktir (%10-25) ve keratinizasyon gösterebilen eozinofilik hücrelerin oluşturduğu moruller veya solid tabakalar şeklinde görülür. Sekretuar patern, küçük non-villöz papillalar, mikroglandüler patern, iğsi hücreli patern, sertoliform patern, seks kord benzeri yapılar ve hyalinizasyon; prognozu etkilemeyen diğer histolojik bulgulardır².

Endometrioid karsinomlarda intrasitoplazmik müsin içeren, bazal yerleşimli nükleuslara sahip kolumnar hücrelerle tanımlanan müsinöz diferansiasyon oldukça yaygındır. Farklılaşma tümörün %50'den fazlasında mevcut olduğunda müsinöz karsinom olarak sınıflandırılır. Müsinöz diferansiasyon sıklıkla endoservikal tiptedir; endometriumda intestinal farklılaşma ve goblet hücrelerinin varlığı nadirdir³⁵⁻³⁷.

Yapılan çalışmalarda endometrium tümörlerinde müsinöz histoloji ve endometrioid histoloji arasında anlamlı prognostik fark saptanmamıştır^{36,38,39}.

2.1.4.2.1 Histolojik Derecelendirme

Endometrioid karsinom tipik olarak; stratifiye veya psödostratifiye alçak kolumnar epitel ile döşeli, düzgün luminal kontura sahip, oval veya yuvarlak şekilli endometrial glandların proliferasyonundan oluşur. Ek olarak, glandları döşeyen hücrelere benzerlik gösteren hücrelerin lümenleri doldurup genişletmesiyle meydana gelen solid büyüme paterni görülebilir⁴⁰. Bu solid büyüme paterni yüzdesine bağlı olarak FIGO (Federation of Gynecology and Obstetrics) tarafından üç yapısal derece (1-3) tanımlanmıştır. Derece 1 tümörler $\leq 5\%$, derece 2 tümörler $6-50\%$, derece 3 tümörler ise $>50\%$ solid (non-glandüler, non-skumöz) alan içerirler. DSÖ 2020 sınıflandırmasında önerilen ikili derecelendirme sistemine göre, derece 1-2 tümörler düşük dereceli ve derece 3 tümörler yüksek dereceli olarak sınıflandırılır².

Nükleer derecelendirme sınıflamasında uniform yuvarlak-oval nükleuslar, düzenli dağılım gösteren kromatin, belirsiz nükleoller derece 1; irregüler oval nükleuslar, kromatin kümelenmesi, orta büyüklükte nükleoller derece 2; büyük pleomorfik nükleuslar, kaba kromatin ve büyük irregüler nükleoller derece 3 olarak tanımlanmıştır. Bu derecelendirme, neoplastik hücrelerin çoğunluğunun gösterdiği özellik esas alınarak yapılır⁴¹. Hücrelerin çoğunluğunda ($>50\%$) şiddetli nükleer atipi (derece 3) varsa, yapısal derece bir kademe yükseltilmelidir^{2,41}.

Endometriumun müsinöz karsinomları, endometrioid karsinomlarla yakın ilişkili olduğundan, bunlar için de FIGO derecelendirme sistemi kullanılır. Bununla birlikte, endometrioid veya müsinöz farklılaşma şüpheli olduğunda ya da belirlenemediğinde bu sistem kullanılmamalıdır. Diğer tüm endometrial tümör tiplerinde belirlenmiş bir intrinsek tümör derecesi vardır. Örneğin seröz, berrak hücreli ve andiferansiyel karsinomlar ile karsinosarkomlar yüksek derecelidir⁴².

2.1.4.2.2 İmmunohistokimya

Endometrioid karsinomların karakteristik immunohistokimyasal profilinde sitokeratin 7, vimentin, östrojen (ER), progesteron (PR) reseptörlerinin yaygın ekspresyonu görülürken; p53 ekspresyonu genellikle “wild” tiptedir (zayıf-yamasal)

ve p16 fokal-yamasal tarzda pozitifdir³. FIGO derece 3 endometrioid karsinomların yaklaşık %30'unda p53 mutant paternde boyanır ve ER ekspresyonunda kayıp görülebilir (%15-50)²⁸. Düşük dereceli endometrioid karsinomların küçük bir kısmı TP53 mutasyonları içerir ve mutant tip p53 immunoreaktivitesi sergiler⁴³. Müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinomlarda CDX2 ve CEA ekspresyonunda artış izlenebilir⁴⁴. Djordjevic ve ark. yaptıkları çalışmada endometrioid tümörlerin, non-endometrioid tümörlerden önemli ölçüde daha yüksek oranda PTEN dizi anormalliklerine (%51) ve immunohistokimya ile PTEN kaybına (%75) sahip olduğunu göstermiştir⁴⁵. İmmunohistokimya ile endometrium tümörlerinde MMR proteinlerinin (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) ekspresyon durumları da değerlendirilir⁴⁶⁻⁴⁸. İmmunohistokimya ve PCR tabanlı MSI analizi sonuçları arasında yüksek düzeyde konkordans vardır⁴⁹.

2.1.5 Evreleme ve Sağ Kalım

Endometrial kanserlerin cerrahi evrelemesi; uterus, serviks, adneksler, pelvik ve paraaortik lenf nodlarının çıkarılması ile pelvik yıkamaların yapılmasını takiben patolojik incelemeyi içerir. Bu da doğru tanıya, hastalığın yayılımının belirlenmesine, prognostik değerlendirmeye ve adjuvan tedavi alması gereken hastaların seçilmesine olanak tanır. Kapsamlı cerrahi evreleme ile radyoterapi ve/veya kemoterapi gerektiren ileri evre hastalığı olan hastalar belirlenir; yüksek riskli özelliklere sahip (yüksek dereceli, derin myometrial invazyon ve lenfovasküler aralık invazyonu olan tümörler) düşük evreli hastaların adjuvan tedavi alması gerekirken, yüksek riskli özellikler taşımayan hastaların kemoradyasyondan ve yol açtığı morbiditeden korunması sağlanır³⁴.

Endometrial kanserlerin evrelemesinde AJCC (The American Joint Committee on Cancer) ve UICC (The Union for International Cancer Control) tarafından onaylanan TNM sistemi ve FIGO tarafından oluşturulan paralel sistem kullanılmaktadır (Tablo-1)^{2,50,51}.

Tablo-1. Endometrium kanserlerinde kullanılan TNM ve FIGO evreleme sistemleri^{2,50,51}

TNM Kategorisi	FIGO Evresi	Tanım
TX		Primer tümör değerlendirilemiyor
T0		Primer tümöre ait kanıt yok
T1	I	Tümör uterin korpusa sınırlı ^a
T1a	IA	Tümör endometriuma sınırlı veya myometriumun yarısından daha azını invaze ediyor
T1b	IB	Tümör myometriumun yarısını veya daha fazlasını invaze ediyor
T2	II	Tümör servikal stromayı invaze ediyor
T3	III	Lokal ve/veya bölgesel yayılım
T3a	IIIA	Tümör uterin korpus serozasını ve/veya adneksleri invaze ediyor (direkt yayılım veya metastaz)
T3b	IIIB	Vajinal veya parametrial tutulum (direkt yayılım veya metastaz)
T4	IVA	Tümör mesane ve/veya barsak mukozasını invaze ediyor ^b
NX		Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0		Bölgesel lenf nodu metastazı yok ^c
N0(i+)		Bölgesel lenf nodlarında 0.2 mm'den büyük olmayan izole tümör hücreleri
N1	IIIC1	Pelvik lenf nodlarına metastaz
N1mi	IIIC1	Pelvik lenf nodlarına metastaz (çapı 0.2 mm'den büyük ancak 2 mm'den büyük olmayan)
N1a	IIIC1	Pelvik lenf nodlarına metastaz (çapı 2 mm'den büyük)
N2	IIIC2	Paraaortik lenf nodlarına metastaz (pelvik lenf nodlarına metastaz var veya yok)
N2mi	IIIC2	Paraaortik lenf nodlarına metastaz (çapı 0.2 mm'den büyük ancak 2 mm'den büyük olmayan) (pelvik lenf nodlarına metastaz var veya yok)
N2a	IIIC2	Paraaortik lenf nodlarına metastaz (çapı 2 mm'den büyük) (pelvik lenf nodlarına metastaz var veya yok)
M0		Uzak metastaz yok
M1	IVB	Uzak metastaz var ^d

Tablo-1 ile İlgili Notlar:

^a*Endoservikal glandüler tutulum evre I kabul edilmelidir.*

^b*Büllöz ödem tümörü T4 olarak sınıflandırmak için yeterli değildir; mukozal yüzey tutulumu olmalıdır.*

^c*Bölgesel lenf nodları; pelvik, obturator, internal iliak (hipogastrik), eksternal iliak, kommon iliak, paraaortik, presakral ve parametrial lenf nodlarını içerir.*

^d*Abdominal lenf nodlarına (paraaortik ve pelvik dışında) ve/veya inguinal lenf nodlarına metastazlar dahildir; vajina, pelvik seroza veya adnekslere metastazlar dahil değildir.*

SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results Program) verilerine göre uterin kanserlerde 5 yıllık göreceli sağ kalım oranı %81.1'dir. Evre ilişkili 5 yıllık göreceli sağ kalım oranları ise lokalize kanserlerde (primer alana sınırlı) %94.9, bölgesel lenf nodlarına yayılım olduğunda %69.3 ve uzak metastaz varlığında %17.8'dir.

2.1.6 Prognostik Faktörler

ESGO (European Society of Gynaecological Oncology), ESTRO (European Society for Radiotherapy and Oncology) ve ESP (European Society of Pathology) konsensusuyla endometrial karsinomlu hastaların yönetimi için oluşturulmuş kılavuzlarda tanımlanan prognostik risk grupları Tablo-2'de gösterilmiştir. Pozitif peritoneal sitoloji; kötü prognostik faktörler ve kötü sağ kalım ile ilişkilidir, ancak FIGO evrelemesinin bir parçası değildir ve tedaviyi etkileyip etkilemeyeceği belirsizdir⁶.

Tablo-2. Endometrium kanserlerinde prognostik risk gruplarının tanımı⁶

Risk grubu	Moleküler klasifikasyonu bilinmeyen	Moleküler klasifikasyonu bilinen
Düşük	➤ Evre IA endometrioid + düşük dereceli + LVAİ yok veya fokal	➤ Evre I-II POLEmut endometrial karsinom, rezidüel hastalık yok ➤ Evre IA MMRd/NSMP endometrioid karsinom + düşük dereceli + LVAİ yok veya fokal
Orta	➤ Evre IB endometrioid + düşük dereceli + LVAİ yok veya fokal ➤ Evre IA endometrioid + yüksek dereceli + LVAİ yok veya fokal ➤ Evre IA non-endometrioid*, myometrial invazyon yok	➤ Evre IB MMRd/NSMP endometrioid karsinom + düşük dereceli + LVAİ yok veya fokal ➤ Evre IA MMRd/NSMP endometrioid karsinom + yüksek dereceli + LVAİ yok veya fokal ➤ Evre IA p53abn ve/veya non-endometrioid*, myometrial invazyon yok
Yüksek-orta	➤ Evre I endometrioid + yaygın LVAİ (derece ve invazyon derinliğinden bağımsız olarak) ➤ Evre IB endometrioid yüksek dereceli (LVAİ durumundan bağımsız olarak) ➤ Evre II	➤ Evre I MMRd/NSMP endometrioid karsinom + yaygın LVAİ (derece ve invazyon derinliğinden bağımsız olarak) ➤ Evre IB MMRd/NSMP endometrioid karsinom yüksek dereceli (LVAİ durumundan bağımsız olarak) ➤ Evre II MMRd/NSMP endometrioid karsinom
Yüksek	➤ Evre III-IVA, rezidüel hastalık yok ➤ Evre I-IVA non-endometrioid*, myometrial invazyon var, rezidüel hastalık yok	➤ Evre III-IVA MMRd/NSMP endometrioid karsinom, rezidüel hastalık yok ➤ Evre I-IVA p53abn endometrial karsinom, myometrial invazyon var, rezidüel hastalık yok ➤ Evre I-IVA NSMP/MMRd seröz, andiferansiye karsinom, karsinosarkom; myometrial invazyon var, rezidüel hastalık yok
İleri metastatik	➤ Evre III-IVA, rezidüel hastalık var ➤ Evre IVB	➤ Evre III-IVA, rezidüel hastalık var, herhangi moleküler tip ➤ Evre IVB, herhangi moleküler tip

Tablo-2 ile İlgili Notlar:

**Non-endometrioid: seröz, berrak hücreli, andiferansiye karsinom, karsinosarkom, mikst*

^aİkili FIGO derecelendirmesine göre 1. derece ve 2. derece karsinomlar düşük dereceli, 3. derece karsinomlar yüksek dereceli olarak kabul edilir.

^bÖrtüşen moleküler sınıflarda değerlendirme Şekil-1'deki algoritmaya göre yapılır (Örneğin hem POLEmut hem de p53abn'li hastalar POLEmut olarak yönetilmelidir).

^cFokal LVAİ, tümör çevresinde tek bir odağın varlığı ile; yaygın LVAİ ise diffüz, multifokal, beş ya da daha fazla lenfovasküler boşlukta tümör hücrelerinin varlığı ile tanımlanır.

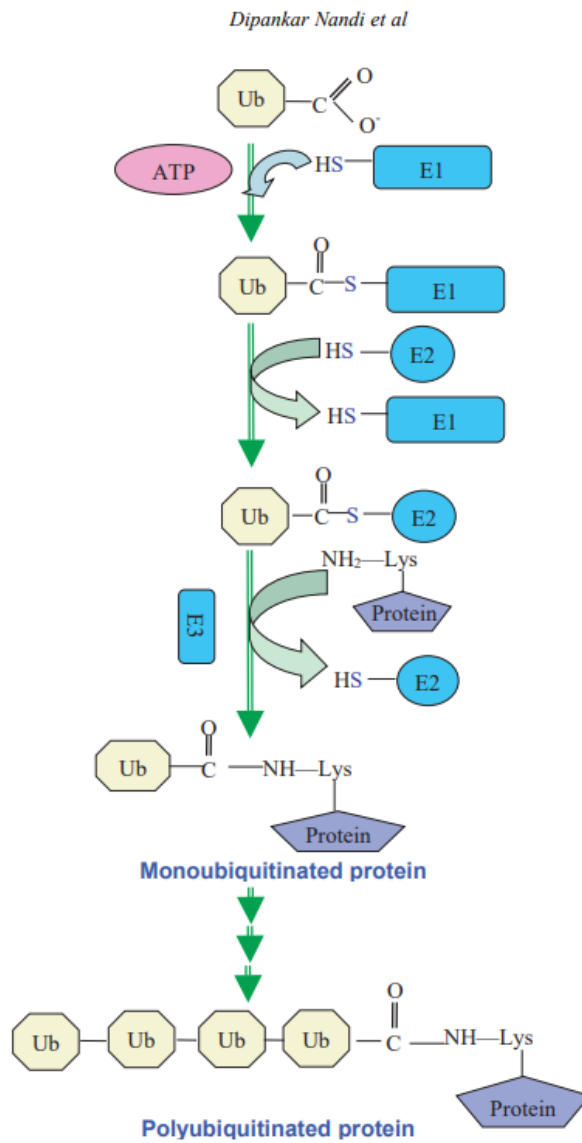
^dKısaltmalar; LVAİ: lenfovasküler aralık invazyonu, MMRd: yanlış eşleşme tamir yetersiz, NSMP: spesifik moleküler profili olmayan, p53abn: p53 anormal, POLEmut: POLE mutasyonlu

2.2 Ubiquitin-Proteazom Sistemi

Hücresel protein yıkımı sitozol, membran, lizozom ve endoplazmik retikulum gibi farklı hücre bölümlerinde meydana gelir. Ökaryotlarda protein yıkımının çoğu ubiquitin-proteazom sistemi aracılığıyla gerçekleşir. Bu süreçte degradasyonu hedeflenen hücresel proteinler, ubiquitin olarak bilinen bir protein tarafından etiketlenir ve 26S proteazom tarafından parçalanır⁷. Ubiquitin 76 amino asitten oluşan, küçük, ısıya dayanıklı ve evrimsel olarak korunmuş bir proteindir^{8,9}. Post-translasyonel modifikasyon olan ubiquitinasyon, proteolitik sinyal olarak işlev görür ve etiketlenmemiş proteinler korunmaya devam eder⁹. Yanlış katlanmış proteinlerin hücreler üzerindeki potansiyel toksisiteleri göz önüne alındığında, bunların ubiquitin-proteazom sistemi tarafından zamanında tanınması ve yok edilmesi hücre sağlığı için kritik öneme sahiptir¹¹. Ayrıca ubiquitinasyonun DNA onarımı, endositoz ve histon regülasyonu gibi proteolitik olmayan işlevleri de vardır¹⁰.

Proteinlerin ubiquitinasyonu çok adımlı bir işlemdir ve üç farklı sınıfa ait enzimleri içerir. İlk adımda ubiquitin aktive edici enzimler (E1), ATP hidrolizinden

gelen enerjiyi kullanarak, ubiquitin'in C-terminali ile E1 enzimlerinin aktif katalitik bölgesindeki bir sistein kalıntısı arasında tiyoester bağı oluşturur. Daha sonra aktive edilmiş ubiquitin, kendileri ile ubiquitin arasında bir tiyoester bağı oluşturan ubiquitin konjuge edici enzimlere (E2) aktarılır. Son olarak E3 ubiquitin ligazları, ubiquitin'in C-terminal glisinini ve hedef proteinin lizin kalıntısı arasındaki izopeptid bağı oluşumunu katalize etmek için E2-ubiquitin ara maddesini ve hedef proteini aynı anda bağlar (Şekil-2)^{9,52-56}. Ubiquitin ayrıca yedi lizin kalıntısından biri veya N-terminal ucu yoluyla kendisine bağlanabilir; bu da poli-ubiquitin zinciri ile etiketlenmiş bir hedef proteini ile sonuçlanır⁸.



Şekil-2. Protein ubiquitinasyon yolu⁷ [Nandi D, Tahiliani P, Kumar A and Chandu D 2006 The ubiquitin-proteasome system; *J. Biosci.* 31 137–155]

İnsan genomu iki adet E1, yaklaşık elli adet E2 ve yaklaşık yedi yüz adet E3 enzimini kodlar^{8,52}. Farklı E2-E3 enzim çiftleri arasındaki etkileşim sayesinde binlerce ayrı substratın spesifik degradasyonu gerçekleşir¹¹.

Hücre içi proteinlerin parçalanmasına esas olarak 26S proteazom aracılık eder. Bu 2.5 megadalton büyüklüğündeki kompleks, proteolizin meydana geldiği silindirik 20S kısım ile poli-ubiquitinlenmiş proteinleri bağlayan ve bunların 20S katalitik bölüme girişini yöneten 19S düzenleyici partikülü içerir⁵⁷⁻⁵⁹. ATP, yalnızca ubiquitin-protein ligasyon reaksiyonu için değil, aynı zamanda 26S proteazomun çalışması için de gereklidir^{55,60,61}. Substratın parçalanması sonucunda kısa peptitler ve yeniden kullanılabilir ubiquitin açığa çıkar⁹.

Ubiquitin aracılı proteoliz oranlarının artması veya azalması bazı hastalıkların patogenezinde altta yatan neden olabilir. Servikal kanserlerde HPV 16 ve 18'in E6 onkoproteini, "E6 ilişkili protein (E6-AP)" olarak adlandırılan bir hücresel proteine bağlanır. E6-AP aynı zamanda bir E3 ubiquitin ligazdır ve birincil hedefi p53'tür. E6-E6-AP kompleksinin tümör supressör p53 ile spesifik etkileşimi, p53'ün ubiquitin aracılı hızlı degradasyonuna yol açar. Düşük p53 seviyesi, hücresel DNA hasar kontrol mekanizmasının inaktivasyonu ve hücrenin malign transformasyonu ile sonuçlanır^{55,62,63}. İyi diferansiye ve dediferansiye liposarkom Mdm2 gen amplifikasyonunu içeren ortak bir moleküler patogeneze sahiptir. Mdm2, E6-AP'ye benzer şekilde, bir E3 ubiquitin ligaz olarak işlev görür ve substratı p53'tür. Bu nedenle Mdm2'nin amplifikasyonu da p53'ün artan proteazomal yıkımı ile sonuçlanır. Mdm2 amplifikasyonunun, p53'ün hücre büyümesini önleyici ve apoptotik fonksiyonlarını inhibe etmesi, bu sarkomların gelişiminde önemli rol oynar^{11,64,65}. Ayrıca E1, E2 veya E3 enzimlerine özgü küçük molekül inhibitörleri, p53 gibi tümör supressör proteinleri stabilize etmek için kullanılabilmeleri nedeniyle önemli terapötik potansiyele sahiptir⁸.

Alzheimer, Parkinson ve Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklarda nöronlar içinde çözünmeyen protein agregatları veya inklüzyon cisimlerinin anormal birikimi görülür. UPS'nin işlevsizliği, yanlış katlanmış/anormal proteinlerin degradasyonunu önleyerek nörodejeneratif hastalıkların gelişimine katkıda bulunur⁶⁶⁻⁶⁹.

2.3 Ubiquitin-Spesifik Proteaz (USP) 17

Proteinlerin ubiquitinasyon yoluyla post-translasyonel modifikasyonu, çok sayıda hücre içi işlemin uygun şekilde düzenlenmesi için kritik öneme sahiptir. Benzer şekilde ubiquitin bu modifiye edilmiş proteinlerden uzaklaştırılması da çok önemlidir ve transkripsiyon, DNA onarımı, hücre döngüsünün ilerlemesi, apoptozis dahil olmak üzere birçok hücresel fonksiyonun düzenlenmesi için gereklidir⁷⁰.

Proteinlerin ubiquitinasyon süreci, deubiquitinasyon enzimleri (deubiquitinaz-DUB) tarafından geri dönüştürülebilen bir mekanizmadır⁷¹. DUB'lar, ubiquitin zincirini hedef proteinlerden çıkararak E3 ligazların aktivitesine karşı koyabilir; bu da degradasyonu önler ve ubiquitinasyonun neden olduğu diğer fonksiyonel değişiklikleri tersine çevirir⁵².

İnsan genomunda 8 ailede sınıflandırılan yaklaşık yüz tane DUB kodlanmıştır⁸. Ubiquitin-spesifik proteazlar (USP) insanlarda bilinen DUB'ların yarısından fazlasını içeren en büyük DUB ailesidir⁷².

DUB3 olarak da bilinen USP17 ekspresyonu, hücre döngüsü sırasında düzenlenir ve döngünün ilerlemesine aracılık etmede temel bir rol oynar. USP17'nin tükenmesi, hücre proliferasyonunu belirgin şekilde inhibe eder ve hücrelerin G1'den S fazına geçişini engeller¹⁴. Hücre döngüsünün ilerlemesi sırasında çok önemli bir rol oynayan Cyclin A, CDK2 (Cyclin-dependent kinase 2) ile etkileşime girerek ve onu aktive ederek G1/S geçişini destekler. Ayrıca Cyclin A, CDK1 (Cyclin-dependent kinase 1)'e bağlanıp aktive etme yoluyla G2/M geçişinde de yer alır. Hu ve ark. yaptıkları çalışmada DUB3'ün Cyclin A'nın stabilizasyonunu deubiquitinasyon yoluyla sağladığını ve hücre döngüsünün ilerlemesi sırasında DUB3-Cyclin A etkileşiminin G1/S geçişi için kritik olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca DUB3'ün Cyclin A üzerindeki etkisinin, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) hücrelerinin proliferasyonunu desteklediğini; KHDAK hastalarının doku örneklerinde DUB3 ve Cyclin A düzeylerinin pozitif korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır⁷³.

Prostat, meme, akciğer, kolon, serviks, özefagus gibi birçok primer tümör biyopsisinde ve tümörden üretilmiş hücre dizilerinde yüksek seviyelerde USP17 ekspresyonu rapor edilmiştir¹⁴. Bir çalışmada USP17'nin, RCE1 (Ras-converting

enzyme 1) aktivitesini etkileyerek Ras aktivasyonunu düzenlediği gösterilmiştir. Ras'ın birçok kanser türünde önemli bir proto-onkogen olması, USP17'yi terapötik müdahale için aday haline getirmiştir¹⁵.

DUB3'ün tümörlerdeki yüksek protein seviyesinin hücre proliferasyonunu, metastazı ve epitelyal-mezenkimal transizyonu (EMT) düzenlemesi de yine kanser tedavisi için potansiyel bir terapötik hedef olduğunun göstergesidir⁷⁴. Snail1, EMT için önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Wu ve ark.'ın çalışmasında DUB3, Snail1 ile etkileşime giren ve onu stabilize eden bir Snail1 deubiquitinaz olarak tanımlanmıştır. DUB3'ün meme kanserinde aşırı eksprese edildiği ortaya konmuş; yıkımının ise Snail1'in degradasyonu yoluyla EMT'nin baskılanmasına ve tümör hücrelerinin migrasyon, invazyon, metastazının azalmasına neden olduğu gösterilmiştir⁷⁵.

USP17 ekspresyonunun kemotaksis, hücre göçü ve hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi için gerekli olduğu da ortaya konmuştur¹². Ek olarak tip I interferonların virüsle tetiklenen indüksiyonu için endojen USP17'nin gerekli olduğu ve USP17'nin yıkılmasının hücrel antiviral yanıtı negatif yönde etkilediği gösterilmiştir⁷⁶.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olguların Seçilmesi

Çalışmamızda 2013-2019 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Kliniği'nde histerektomi operasyonu geçiren veya patoloji preparatları konsültasyon amacıyla Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na getirilen ve endometrioid karsinom ya da müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinom tanısı alan hastalara ait materyaller incelendi. Çalışma dizaynı belirlendikten sonra Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2021/25-24 no'lu karar ile 08.09.2021 tarihinde onay alındı. Patoloji arşiv materyallerinin kullanımı için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndan izin alındı. Hastalara ait kişisel bilgilerin gizli kalması koşulu ile hastane bilgi yönetim sistemi üzerinden verilerin kullanımı için Dokuz Eylül Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Başhekimliği'nden izin alındı.

Parafin blok ve/veya lamaları hastalara verilen, yeterli miktarda tümörü bulunmayan veya immunohistokimyasal boya uygulandıktan sonra doku takibi/fiksasyon artefaktı nedeniyle optimal değerlendirme yapılamayan olgular çalışma dışı bırakıldı. Toplam 99 olgu çalışmaya dahil edildi.

Bu kesitsel çalışmada önceki araştırmalarda temin edilen immunohistokimyasal boya kitleri kullanıldığı için ek finansal kaynağa ihtiyaç duyulmadı.

3.2 Morfolojik Parametreler

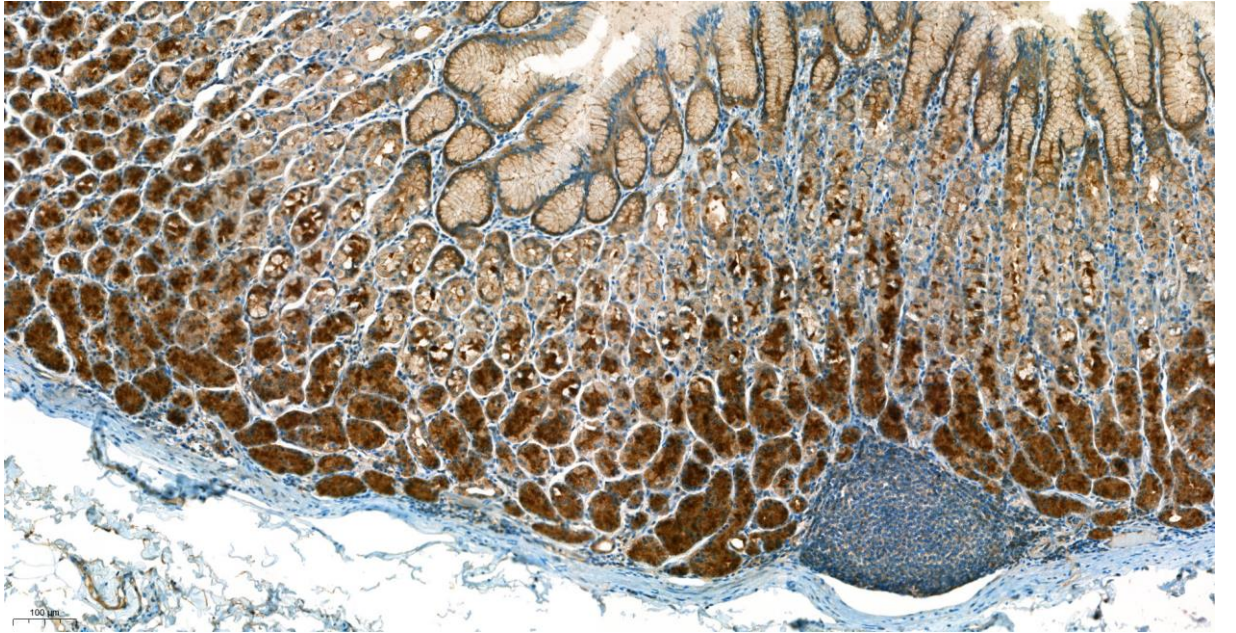
Olgulara ait hematoksilen-eozin (HE) boyalı kesitlerden tanı, evre, tümörün yapısal ve nükleer derecesi, lenf nodu metastazı, lenfovasküler aralık invazyonu, myometrial invazyon derinliği, endoservikal stromal tutulum ve alt uterin segment tutulumu; sitolojik preparatlardan ise batın sıvılarında tümör hücrelerinin durumu değerlendirildi. Ayrıca HE boyalı kesitler incelenerek her olgu için immunohistokimya uygulanacak optimal parafin blok ve tümör alanı seçildi.

3.3 USP17 İmmunohistokimyasal İncelemesi

Optimal tümör örneği elde edebilmek için işaretlenen parafin bloklardan Sakura® Tissue-Tek Quick-Ray doku mikroyarray sistemi ile 6 mm çaplı çekirdek kullanılarak doku çıkarıldı. Her kasette 11-14 olguya ait örnek olacak şekilde yeniden döküm/bloklama yapıldı. Daha sonra bu bloklardan Sakura® Accu-Cut SRM kesit alma cihazı ile 3 mikron kalınlıkta kesitler elde edildi.

Lizimli lamlara alınan 3 mikron kalınlığındaki kesitler 72°C’de deparafinizasyonun ardından önce “Cell Conditioning 1 (CC1)” solüsyonunda, 95 °C’de 76 dakika; sonra USP17 (Atlas Antibodies Anti-USP17L2 rabbit polyclonal antibody) antikoruyla 37°C’de 72 dakika inkübe edildi. Zemin boyamasında hematoksilin ile bluing reagent kullanıldı ve lamlara kapama yapıldı. Boyama işlemi Ventana BenchMark ULTRA tam otomatize immünohistokimyasal boyama sistemi aracılığıyla uygulandı.

USP 17 ekspresyonu için uygun dilüsyonu bulmak amacıyla immünohistokimya kitleri mide dokusunda pozitif kontrol boyama testine tabi tutuldu. 1/10 dilüsyonda optimal boyanma görüldü (Resim-1). Normal endometrium dokusu negatif kontrol olarak kullanıldı ve 1/10 dilüsyonda boyanma görülmeydi.



Resim-1. Mide glandlarında USP17’nin sitoplazmik ekspresyonu (x10)

USP17 immunohistokimyasal ekspresyonunu değerlendirmek için McFarlane ve ark.'ın küçük hücreli dışı akciğer kanseri olgularını inceledikleri çalışmada kullanılan yöntem revize edildi ve değerlendirme, hasta verileri hakkında bilgi sahibi olunmayacak şekilde ışık mikroskopta yapıldı¹⁷. Tümör hücrelerinde USP17 ekspresyon yoğunluğu her olguda (0-1-2 olarak) skorlandı (Tablo-3).

Tablo-3. USP17 immunohistokimyasal ekspresyonunun yoğunluk skorlaması

USP17 boyanma yoğunluğu	Skor
Boyanma yok.	0
Zayıf boyanma, sadece BBA*’da görünüyor.	1
Kuvvetli boyanma, KBA**’da kolayca görünüyor.	2

(*BBA: Büyük büyütme alanı, **KBA: Küçük büyütme alanı)

3.4 İstatistiksel Analiz

Çalışma sürecinde elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 24.0 bilgisayar paket programında yapıldı. Deęiřkenlerin karşılaştırılmasında Ki-Kare, Fisher’ın kesin olasılık testi ve Mann-Whitney U analizleri yapıldı. İstatistik anlamlılık düzeyi $p<0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Olguların Demografik ve Klinikopatolojik Özellikleri

Olguların yaş ve klinik izlem sürelerine ait veriler Tablo-4'te gösterilmiştir. Hastaların yaş aralığı 41-86 olup yaş ortalaması 60.36 ± 9.12 'dir. Ortalama klinik izlem süresi 46.68 ± 20.54 aydır.

Tablo-4. Hastaların yaş ve klinik izlem sürelerine ait veriler

	Operasyon Anındaki Yaş (yıl)	İzlem Süresi (ay)
Ortalama	60.36	46.68
Ortanca	60.00	45.00
Standart Sapma	9.12	20.54
Minimum	41	10
Maksimum	86	92

Çalışmaya dahil edilen olguların 52'si endometrioid karsinom, 47'si müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinom tanısı almıştır (Tablo-5).

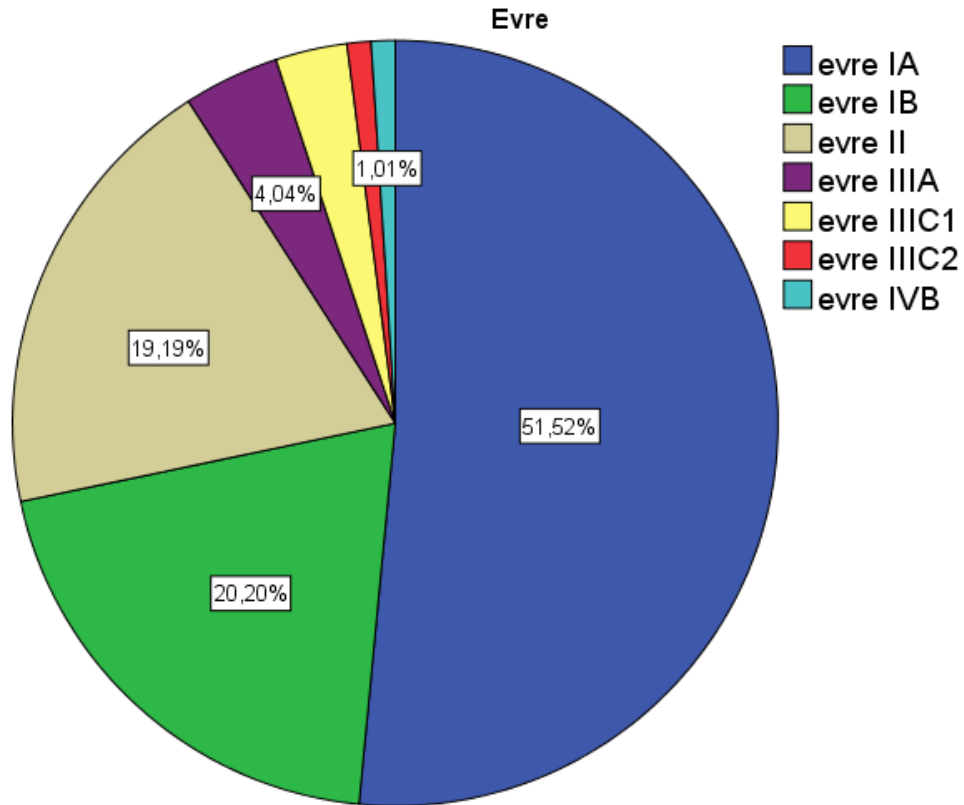
Tablo-5. Hastaların tanı gruplarına göre dağılımı

Tanı	Sıklık	Yüzdelik Değer (%)
Endometrioid karsinom	52	52.5
Müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinom	47	47.5
Toplam	99	100.0

Hastaların FIGO evrelerine göre dağılımı Tablo-6 ve Grafik-1'de özetlenmiştir. Evre IA ve IB hastaların çoğunluğu oluşturduğu görülmektedir.

Tablo-6. Hastaların tanı anındaki evrelere göre dağılımı (sıklık ve yüzdelik değer%)

		Sıklık	Yüzdelik Değer%
Evre	IA	51	51.5
	IB	20	20.2
	II	19	19.2
	IIIA	4	4.0
	IIIC1	3	3.0
	IIIC2	1	1.0
	IVB	1	1.0
Toplam		99	100.0



Grafik-1. Hastaların tanı anındaki evrelere göre dağılımı (yüzdelik değer%)

Çalışmada yer alan 99 hastadan 4'ünde (%4) uzak metastaz vardır. Bu hastaların birinde omentumda, birinde akciğerde, birinde ince barsakta ve birinde hem ince barsakta hem mesanede metastaz saptanmıştır. Uzak metastazı olan hastalara ilişkin detaylı bilgiler Tablo-7'de yer almaktadır. Bir hastada primer tanıdan 15 ay sonra vajende nüks görülmüştür; hastanın primer tümörü evre IIIC1, yapısal derece 2 ve nükleer derece 2'dir.

Tablo-7. Uzak metastazı olan hastalara ilişkin bilgiler

Hasta no	Tanı	Yaş	Evre	YD	ND	LVAİ	Lenf nodu metastazı	USP17 boyanma yoğunluğu	Metastaz yeri	Sağ kalım/ex (izlem süresi)
1	EK	45	IVB	3	2	Var	Var	Boyanma yok	Omentum	Sağ (22 ay)
2	MDEK	46	II	1	2	Yok	Yok	Zayıf boyanma	Mesane ve ince barsak	Sağ (61 ay)
3	MDEK	53	II	1	2	Var	Diseksiyon yapılmamış	Zayıf boyanma	Akciğer	Sağ (27 ay)
4*	MDEK	82	IB	3	2	Var	Diseksiyon yapılmamış	Zayıf boyanma	İnce barsak	Ex (56 ay)

(*Tablo-7 ve Tablo-8'de birlikte yer alan hasta; EK: endometrioid karsinom, MDEK: müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinom, YD: yapısal derece, ND: nükleer derece, LVAİ: lenfovasküler aralık invazyonu)

Lenf nodu diseksiyonu yapılan 51 hastanın 5'inde lenf nodlarına metastaz izlenmiştir. 48 hastaya ise diseksiyon yapılmamıştır. Batın sıvıları 95 hastada örneklenmiştir ve bunların 5'inde tümör hücresi görülmüştür. Batın sıvılarında tümör hücresi görülen hastalarda uzak metastaz yoktur.

99 hastanın 8'i izlemde ex olmuştur. Ex olan hastalara ilişkin bilgiler Tablo-8'de yer almaktadır. Evrelere göre ex olan hasta sayısı Tablo-9'da verilmiştir. Ex olan hasta sayısının az olması nedeniyle evre ve ölüm oranı ilişkisinin istatistiksel analizi yapılamamıştır.

Tablo-8. Ex olan hastalara ilişkin bilgiler

Hasta no	Tanı	Yaş	Evre	Yapısal derece	Nükleer derece	LVAİ	Lenf nodu metastazı	USP17 boyanma yoğunluğu
1	Endometrioid karsinom	82	IA	2	2	Yok	Yok	Zayıf boyanma
2	Endometrioid karsinom	72	IIIA	2	3	Var	Diseksiyon yapılmamış	Zayıf boyanma
3	Endometrioid karsinom	69	IA	3	3	Yok	Yok	Boyanma yok
4*	Müsinöz dif. gösteren endometrioid karsinom	82	IB	3	2	Var	Diseksiyon yapılmamış	Zayıf boyanma
5	Müsinöz dif. gösteren endometrioid karsinom	54	II	1	2	Yok	Diseksiyon yapılmamış	Boyanma yok
6	Müsinöz dif. gösteren endometrioid karsinom	72	II	1	2	Var	Yok	Boyanma yok
7	Müsinöz dif. gösteren endometrioid karsinom	59	IA	1	2	Yok	Diseksiyon yapılmamış	Kuvvetli boyanma
8	Endometrioid karsinom	56	IIIC1	2	2	Var	Var	Boyanma yok

(*Tablo-7 ve Tablo-8’de birlikte yer alan hasta, LVAİ: lenfovasküler aralık invazyonu)

Tablo-9. Evrelere göre ex olan ve sağ kalan hasta sayıları

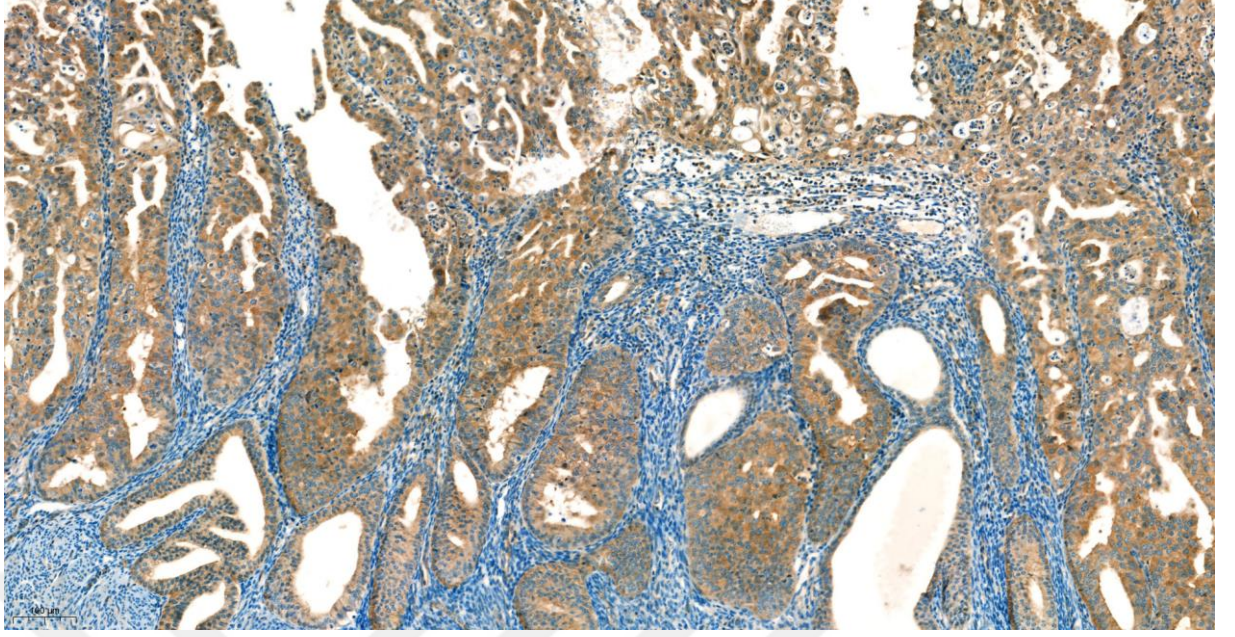
		Sağ kalan hasta (n)	Ex olan hasta (n)	Toplam (n)
Evre	IA	48	3	51
	IB	19	1	20
	II	17	2	19
	IIIA	3	1	4
	IIIC1	2	1	3
	IIIC2	1	0	1
	IVB	1	0	1
Toplam		91	8	99

4.2 USP17'nin İmmunohistokimyasal Ekspresyonu ve Morfolojik Parametrelerle İlişkisi

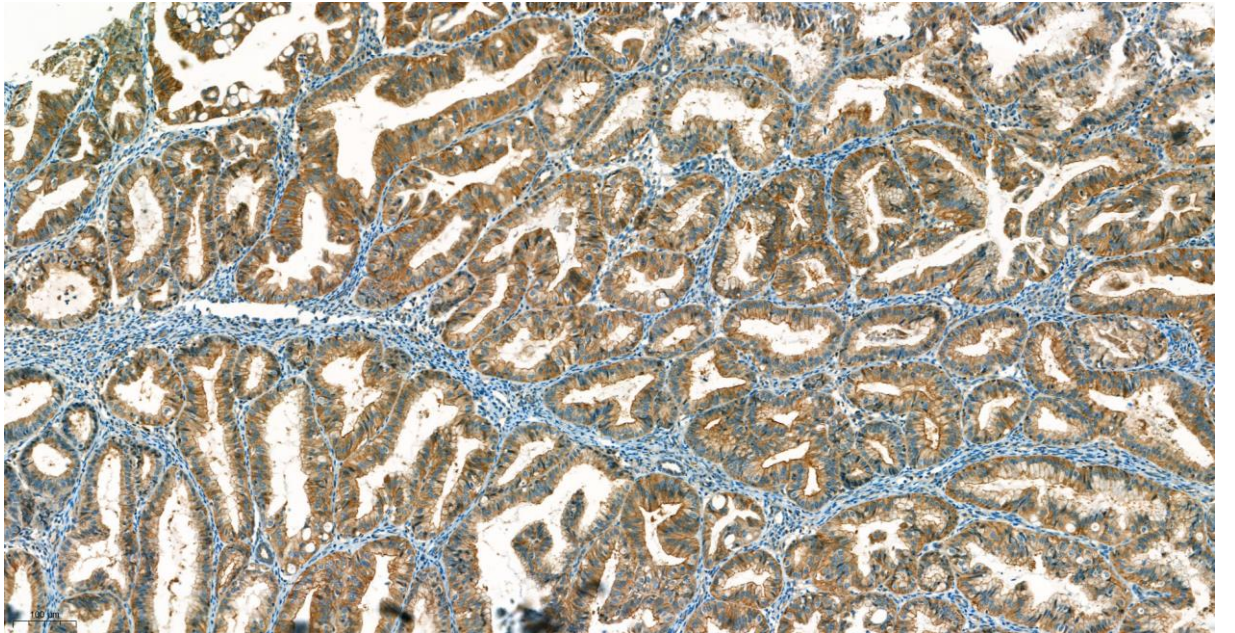
USP17 immunohistokimyasal incelemesi sonucunda değerlendirilen 99 olgunun 23'ünde (%23.2) kuvvetli, 41'inde (%41.4) zayıf boyanma gözlenmiştir; 35 olguda ise (%35.4) boyanma saptanmamıştır (Tablo-10). Resim-2 ve Resim-3'te kuvvetli boyanma, Resim-4 ve Resim-5'te ise zayıf boyanma gösteren farklı olgulardan örnekler verilmiştir.

Tablo-10. Olguların USP17 boyanma yoğunluğu

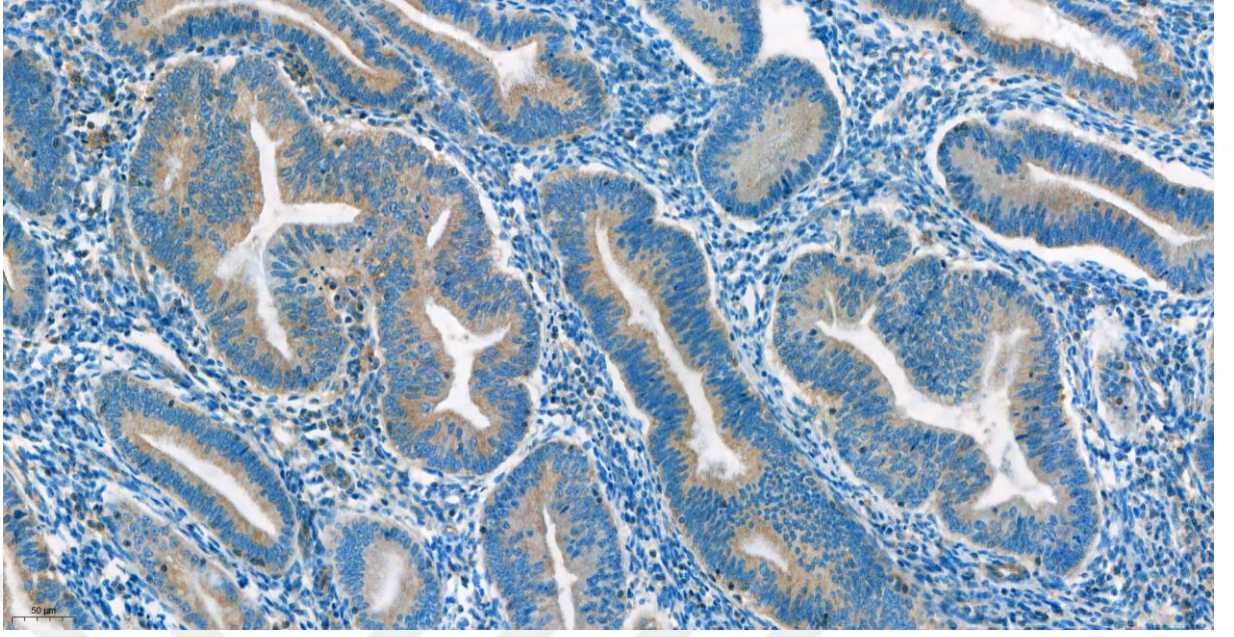
	USP17 Boyanma Yoğunluğu			Toplam
	Boyanma yok	Zayıf boyanma	Kuvvetli boyanma	
Sıklık	35	41	23	99
Yüzdelik Değer %	35.4	41.4	23.2	100.0



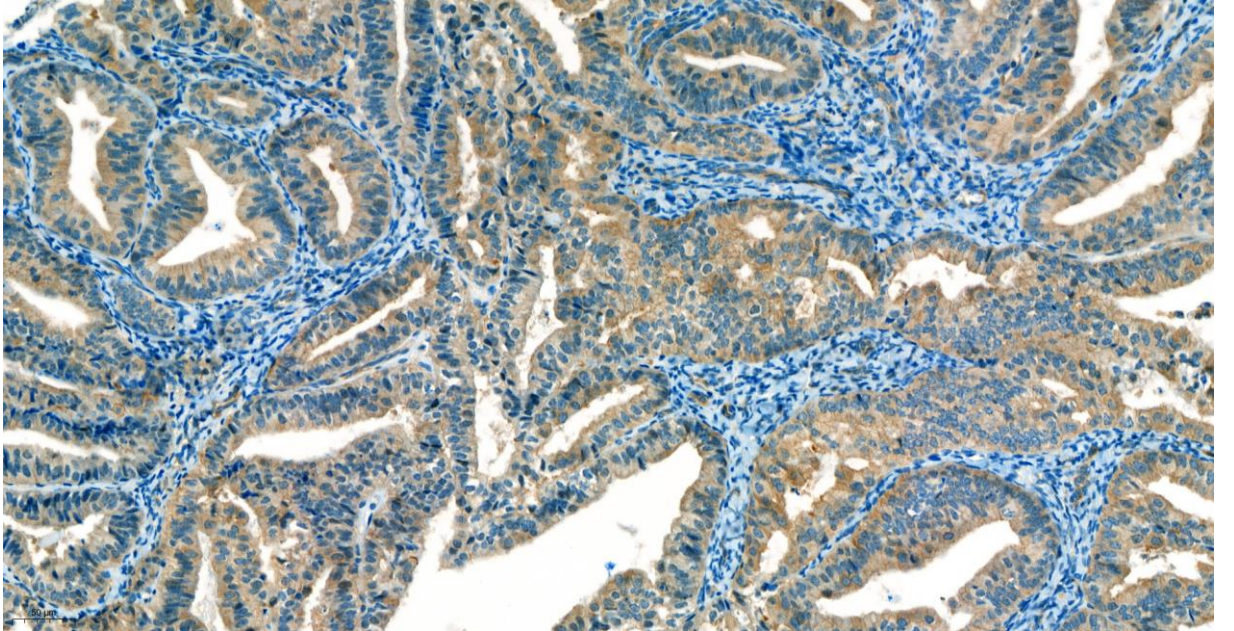
Resim-2. USP17 immunohistokimyası kuvvetli boyanma (x10)



Resim-3. USP17 immunohistokimyası kuvvetli boyanma (x10)



Resim-4. USP17 immunohistokimyası zayıf boyanma (x20)

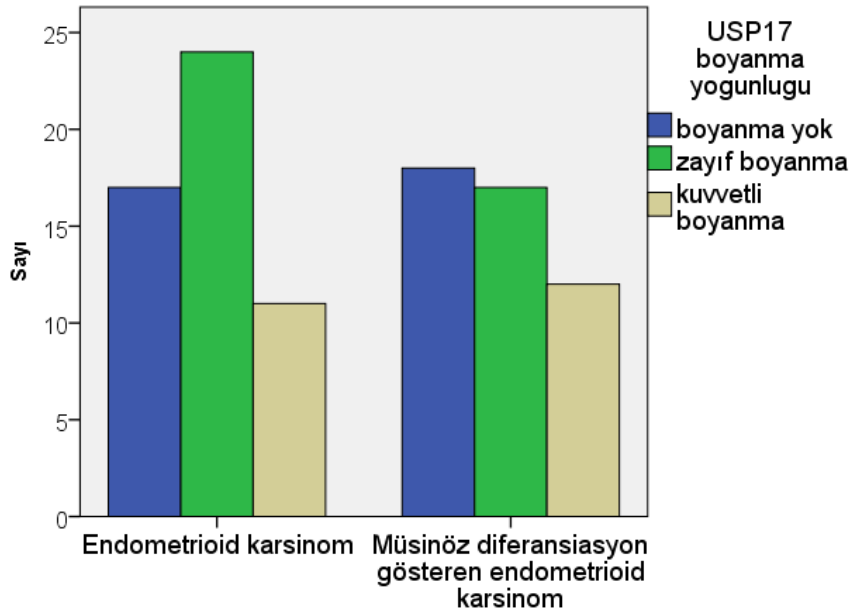


Resim-5. USP17 immunohistokimyası zayıf boyanma (x20)

Tanı grupları arasında USP17 boyanma yoğunluğu durumunun farklılaşp farklılaşmadığı Ki-Kare analiziyle incelenmiş ve istatistiksel anlamlı sonuç bulunmamıştır ($\chi^2=1.017$, sd=2, p=0.601) (Tablo-12 ve Grafik-2).

Tablo-12. Tanı gruplarına göre USP17 boyanma yoğunluğunun durumu

			USP17 Boyanma Yoğunluğu			Toplam
			Boyanma yok	Zayıf boyanma	Kuvvetli boyanma	
Tanı	Endometrioid Karsinom	Olgu sayısı	17	24	11	52
		Tanı içinde%	32.7	46.2	21.2	100.0
	Müsinöz Diferansiasyon Gösteren Endometrioid Karsinom	Olgu sayısı	18	17	12	47
		Tanı içinde%	38.3	36.2	25.5	100.0
Toplam		Olgu sayısı	35	41	23	99
		Tanı içinde%	35.4	41.4	23.2	100.0



Grafik-2. Tanı gruplarına göre USP17 boyanma yoğunluğunun durumu

Lenfovasküler aralık invazyonu, myometrial invazyon derinliği, endoservikal stromal tutulum ve alt uterin segment tutulumuna göre USP17 boyanma yoğunluğunun farklılaşıp farklılaşmadığı da Ki-Kare analizleriyle incelenmiş ve istatistiksel anlamlı sonuç bulunmamıştır. Bu analizlere ilişkin istatistiksel değerler Tablo-13'te özetlenmiştir.

Tablo-13. USP17 boyanma yoğunluğu ile karşılaştıran prognostik parametreler ve istatistiksel analiz değerleri

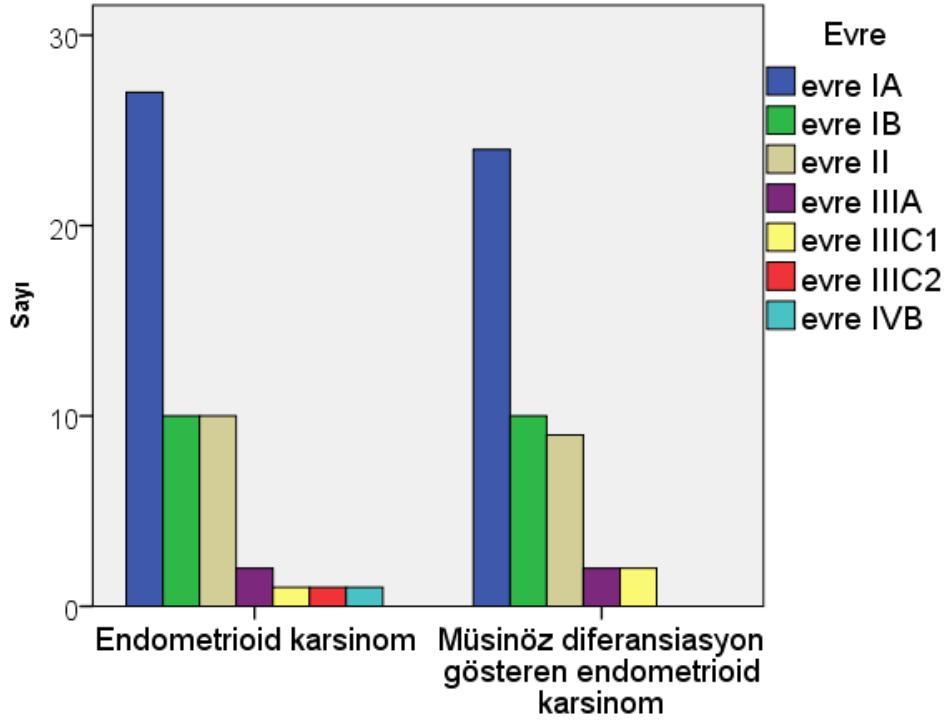
Prognostik Parametre	Ki-Kare Analiz Değerleri		
	χ^2	sd	p
Lenfovasküler aralık invazyonu	1,245	2	0,537
Myometrial invazyon derinliği	1,149	2	0,563
Endoservikal stromal tutulum	3,443	2	0,179
Alt uterin segment tutulumu	2,558	2	0,278

4.3 Tanı Gruplarının Karşılaştırılması

Çalışmamızda endometrioid karsinom ve müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinom olguları kendi içlerinde yaş ortalaması, evre, yapısal derece, lenf nodu metastazı, lenfovasküler aralık invazyonu, uzak metastaz ve sağ kalım açısından karşılaştırılmıştır.

Tanıya göre operasyon anındaki yaş ortalamasının farklılaşıp farklılaşmadığı Mann-Whitney U analizi ile değerlendirilmiştir. Operasyon anındaki yaş ortalaması tanıya göre farklılık göstermemektedir ($p=0.661$).

Tanılara göre hastalık evrelerinin dağılımı Grafik-3'te verilmiştir. Bazı evrelerde hasta sayısının az olması nedeniyle tanıya göre evrenin farklılaşıp farklılaşmadığına yönelik geçerli istatistiksel analiz yapılamamıştır.



Grafik-3. Tanılara göre hastalık evrelerinin dağılımı

Ki-Kare analizinde, Tablo-14 ve Grafik-4'ten de anlaşılabacağı üzere, tanıya göre yapısal derece anlamlı olarak farklılaşmaktadır ($p=0.039$). Endometrioid karsinomlarda, müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinomlara göre yapısal derecesi 3 olan tümörler anlamlı olarak fazladır. Ayrıca endometrioid

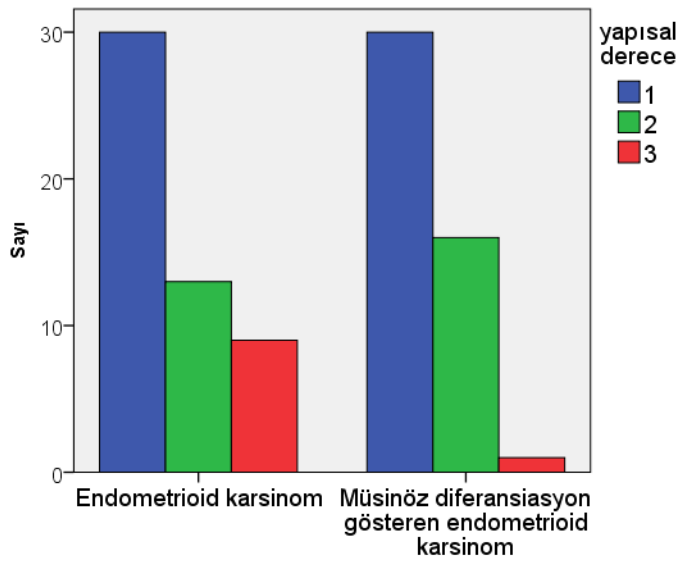
karsinomlarda yapısal derecesi 1 olan tümörler, derece 2 ve 3'e göre anlamlı olarak fazladır.

Müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinom grubunda da yapısal derecesi 1 olan tümörler, derece 2 ve 3'e göre anlamlı olarak fazladır. Yine bu grupta yapısal derecesi 2 olan tümörler de derece 3'e göre anlamlı olarak fazladır.

Tablo-14. Tanılara göre tümörün yapısal derecesinin durumu

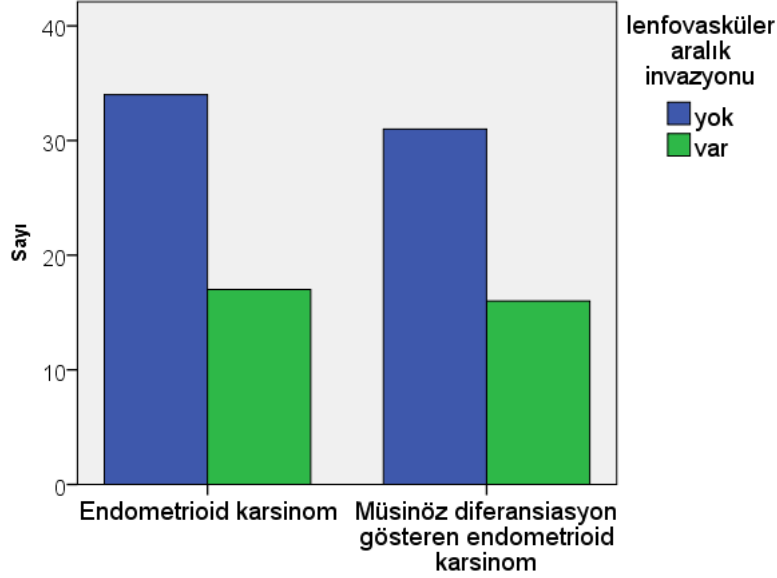
			Yapısal Derece			Toplam
			1	2	3	
Tanı	Endometrioid Karsinom	Olgu sayısı	30 _{a, b}	13 _b	9 _a	52
		Tanı içinde %	57.7	25.0	17.3	100.0
		Yapısal derece içinde %	50.0	44.8	90.0	52.5
	Müsinöz Diferansiasyon Gösteren Endometrioid Karsinom	Olgu sayısı	30 _{a, b}	16 _b	1 _a	47
		Tanı içinde %	63.8	34.0	2.1	100.0
		Yapısal derece içinde %	50.0	55.2	10.0	47.5
Toplam		Olgu sayısı	60	29	10	99
		Tanı içinde %	60.6	29.3	10.1	100.0
		Yapısal derece içinde %	100.0	100.0	100.0	100.0

(Her bir alt simge harfi, sütun oranları birbirinden .05 düzeyinde anlamlı olmayan yapısal derece değişkenine ait kategorileri belirtir.)



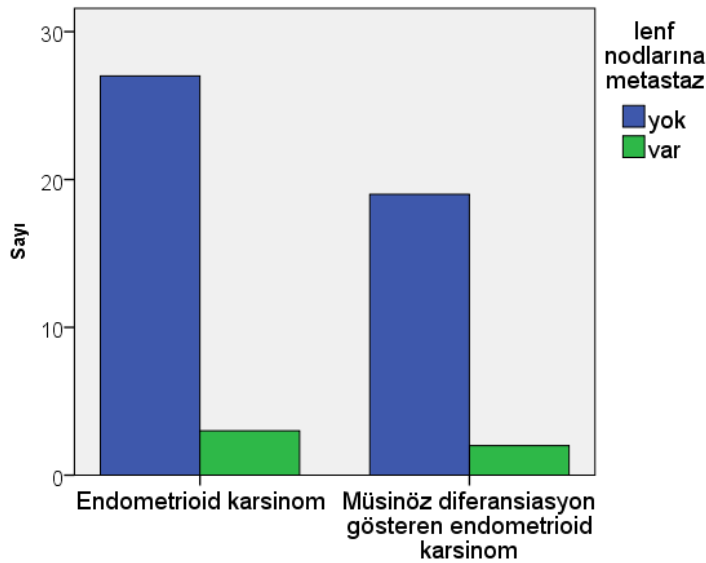
Grafik-4. Tanılara göre tümörün yapısal derecesinin durumu

Tanıya göre lenfovasküler aralık invazyonu durumu Ki-kare analizi ile değerlendirilmiştir ve anlamlı sonuç bulunmamıştır ($\chi^2=0.006$, sd=1, p=0.941) (Grafik-5).



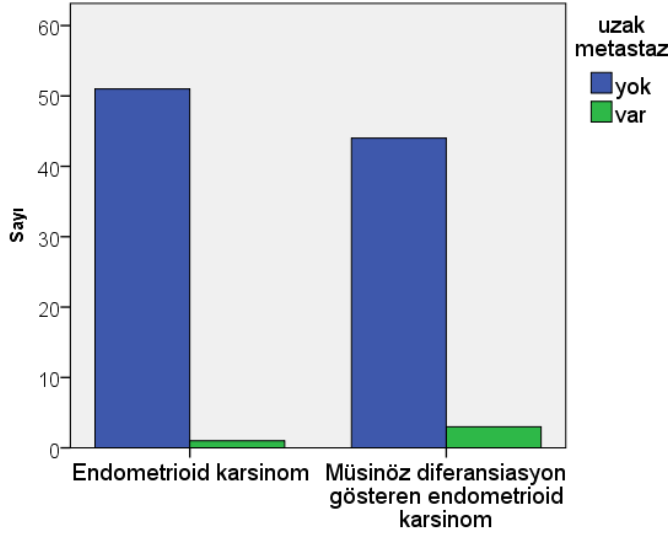
Grafik-5. Tanılara göre tümörde lenfovasküler aralık invazyonu durumu

Tanıya göre lenf nodu metastazı durumu için Fisher'ın kesin olasılık testi kullanılmış ve tanıya göre lenf nodu metastazı durumunun farklılaşmadığı anlaşılmıştır (Fisher's Exact; p=0.669) (Grafik-6).



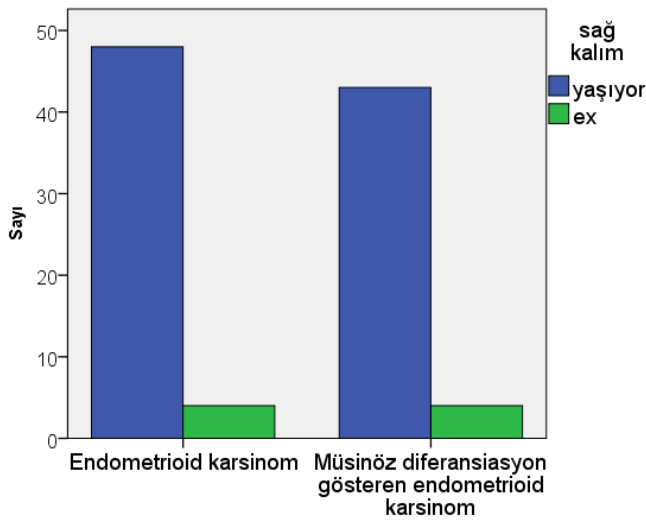
Grafik-6. Tanılara göre lenf nodu metastazı durumu

Taniya göre uzak metastaz durumunun farklılaşıp farklılaşmadığı sorusu Fisher'ın kesin olasılık testi ile incelenmiş ve taniya göre uzak metastaz açısından anlamlı fark olmadığı ortaya çıkmıştır (Fisher's Exact; $p=0.271$) (Grafik-7).



Grafik-7. Tanılara göre uzak metastaz durumu

Taniya göre hastaların sağ kalım durumu için Fisher'ın kesin olasılık testi yapılmış ve endometrioid karsinomlar ile müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinomlar arasında sağ kalım yönünden anlamlı fark olmadığı bulunmuştur (Fisher's Exact; $p=0.584$) (Grafik-8).



Grafik-8. Tanılara göre hastaların sağ kalım durumu

5. TARTIŞMA

Ubiquitin tarafından yapılan post-translasyonel modifikasyonun; protein yıkımı, hücre döngüsünün kontrolü, transkripsiyonel düzenlenme, immun yanıt, apoptozis, onkogeneze ve hücre içi sinyal yolları gibi pek çok hücre fonksiyonu için önemli bir rol oynadığı bilinmektedir⁷⁷. Deubiquitinazlar (DUB), poliubiquitin zincirini düzenleyerek veya sökerek ubiquitini hedef proteinden ayıran ve ubiquitinasyonun etkilerini tersine çeviren bir proteaz enzim ailesidir. Deubiquitinasyon enzimlerinin çoğunun tam işlevleri şu anda hala bilinmemektedir ancak artan kanıtlar; DNA onarımı, kromatin yeniden şekillenmesi, hücre döngüsünün kontrolü ve kanser gelişiminde sıklıkla değişen sinyal yolları dahil olmak üzere birçok hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde görev aldıklarını göstermektedir¹⁶. USP17/DUB3'ün ekspresyonu sitokinler, kemokinler ve epidermal büyüme faktörü (EGF) uyarısına yanıt olarak indüklenir. USP17 azalmasının birçok kanser hücresi türünün büyümesini, migrasyonunu ve in vivo tümör modellerini engelleyebilmesi, USP17'nin potansiyel bir terapötik hedef olmasına yol açmaktadır¹³.

Yapılan çalışmalarda USP17'nin farklı tümör gruplarında hücre proliferasyonu ve prognoz üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Zhou ve ark., DUB3 ekspresyonunu immunohistokimya ile incelemiş ve normal over dokularının çok az DUB3 immunoreaktivitesi sergilediğini ya da hiç sergilemediğini göstermişlerdir. Çalışmada 30 kistadenom, 20 borderline tümör, 73 epitelyal over karsinomu tanımlı olmak üzere; 123 tümörlü olguyu incelemiş ve immunohistokimyasal analiz ile kistadenomların %13.3'ünde, borderline tümörlerin %30'unda, over karsinomlarının ise %58.9'unda yüksek DUB3 ekspresyon seviyelerini saptamışlardır. Ayrıca DUB3 ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğunu ve over kanseri hastalarının genel sağ kalımı için bağımsız prognostik faktör olduğunu ortaya koymuşlardır¹⁶. McFarlane ve ark. 100 hasta ile yaptıkları çalışmada, USP17'nin KHDAK (skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom) dokularında aşırı eksprese edildiğini immunohistokimya ile saptamışlardır. USP17 pozitif tümörleri olan hastaların, USP17 negatif tümörleri olan hastalara göre rekürrensiz sağ kalımının önemli ölçüde düşük olduğunu; bununla birlikte yüksek USP17 seviyelerinin KHDAK uzak metastazları ile ilişkili

olabileceğini ortaya koymuşlardır¹⁷. Yine Zhang ve ark.'ın bir çalışmasında USP17'nin KHDAK hücrelerinde eksprese edildiği, invazyona katkı sağladığı ve bu işlevleri, matriks metalloproteinaz proteinlerinin ekspresyonunu düzenleyerek gerçekleştirdiği ortaya konmuştur⁷⁸.

USP17'nin kemoterapi direncine yol açabileceği de öne sürülmüş ve bu durum araştırmalarda çeşitli mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmıştır. Bir transkripsiyon faktörü olan NRF2'nin (nükleer faktör eritroid 2-ilişkili faktör 2) çeşitli tümör gruplarında aşırı eksprese olduğu ve NRF2'nin yüksek protein ekspresyonunun kanser hücrelerinde kemoterapötik ilaçlara direnç kazandırdığı gösterilmiştir. Zhang ve ark. yaptıkları çalışmada DUB3'ün, NRF2'yi deubiquitinize ederek degradasyondan koruduğunu ve kolon kanserinde gelişen NRF2 bağlı kemoterapi direncinde rolü olduğunu ortaya koymuşlardır⁷⁴. Wu ve ark., DUB3'ün over kanseri hücrelerinde MCL1'i (myeloid cell leukemia 1) deubiquitinasyon yoluyla degradasyondan koruduğunu bulmuşlardır. MCL-1'in kemorezistans gelişiminde görev aldığı ve antiapoptotik olduğu bilinmektedir⁷⁹.

Epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) birçok KHDAK'ta aşırı eksprese edilir ve hastaların önemli bir kısmında EGFR'nin tirozin kinaz aktive edici mutasyonları mevcuttur. Bu bilgiler ışığında tedaviye yönelik EGFR tirozin kinaz inhibitörleri (TKİ) geliştirilmiştir. Ancak hastalarda hızla direnç gelişimiyle bu ilaçlar etkisiz hale gelebilmektedir. McCann ve ark.'ın çalışmasında USP17 azalmasının, aktive edilmiş ve EGFR TKİ dirençli EGFR mutantlarını eksprese eden KHDAK hücrelerinin büyümesini engellediği ve apoptozisi tetiklediği gösterilmiş; USP17'yi hedefleyen yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi önerilmiştir¹³.

USP17'nin EMT ve metastaz üzerindeki etkileri de incelenmiştir. Yıldırım ve ark. yaptıkları çalışmada yüksek dereceli seröz over kanserli 10 hastaya ait primer tümördeki hücreleri, asit sıvısındaki malign hücreleri ve metastatik peritoneal implant hücrelerini karşılaştırarak bunlardaki gen ekspresyon farklılıklarını incelemişlerdir. USP17 gen ailesinin, primer tümör ve peritoneal implant ile karşılaştırıldığında, asitteki malign hücrelerde aşırı eksprese edildiğini ortaya çıkarmışlardır. USP17'nin serbest malign hücrelerde artmasının, metastaz kabiliyetine sahip hücrelerin apoptozis direncini açıklayabileceğini öne sürmüşlerdir. Yine aynı çalışmada primer tümör, asit

sıvısındaki malign hücreler ve peritoneal implant örnekleri; epitelyal ve mezenkimal fenotiplerin belirlenmesi için EMT belirteçleri ile boyanmıştır. E-cadherin epitelyal, N-cadherin ise mezenkimal belirteç olarak kullanılmıştır. Asitteki malign hücrelerde, primer tümör ve peritoneal implanta göre, E-cadherin ekspresyonu anlamlı olarak azalmış; N-cadherin ekspresyonu ise anlamlı olarak artmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda USP17 ailesine ait genlerin over kanserinde “primer tümör ve asitteki serbest malign hücreler” ile “peritoneal implant ve asitteki serbest malign hücreler” arasında anlamlı derecede farklı ifade edildiğini; USP17 artışının invazyon, EMT ve proliferasyonu indükleyerek metastatik süreçleri kolaylaştırdığını öne sürmüşlerdir⁸⁰. Song ve ark.’ın çalışmasında USP17 ekspresyonunun osteosarkom dokuları ile hücre dizilerinde arttığı; bir onkogen görevi görerek tümör hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ve invazyonunu desteklediği gösterilmiştir. Ayrıca, USP17’nin EMT’yi teşvik ederek osteosarkom hücrelerinin invazyon yeteneğine katkı sağladığı; yüksek USP17 ekspresyon seviyelerinin, tümör boyutu ve metastaz ile korele olduğu ortaya konmuştur⁸¹. Baohai ve ark. yaptıkları çalışmada USP17 ekspresyonunun prostat kanseri örneklerinde ve hücre dizilerinde de belirgin şekilde yüksek olduğunu belirlemişlerdir. USP17’nin uzaklaştırılmasıyla E-cadherinin mRNA seviyelerinin indüklendiğini, N-cadherin ekspresyonunun ise azaldığını ve böylelikle EMT’nin kısmen inhibe olduğunu göstermişlerdir. Düşük USP17 ekspresyonuna sahip hastaların daha iyi genel sağ kalım oranı sergilediğini saptamışlardır. Ayrıca USP17 ekspresyonunun baskılanmasının, prostat kanseri hücrelerinin proliferasyonunu, migrasyonunu ve invazyonunu belirgin şekilde azalttığını; apoptozisi ise indüklediğini ortaya koymuşlardır¹⁸.

USP17’nin olası tümör supressör işlevini öne süren çalışmalar da mevcuttur. Chen ve ark. yaptıkları çalışmada USP17’nin meme kanseri dokularında ve malign hücre dizilerinde azaldığını saptamışlardır. USP17 aşırı ekspresyonunun meme kanseri hücre büyümesini önemli ölçüde azalttığını; USP17 yıkımının ise meme kanseri hücre büyümesini in vitro ve in vivo olarak önemli ölçüde arttırdığını göstermişlerdir⁸². Hu ve ark. yaptıkları çalışmada USP17’nin gliomda da azaldığını ve USP17 ekspresyon seviyesinin tümörün histolojik derecesi ile ters ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca hem in vitro hem de in vivo verilerle USP17 aşırı ekspresyonunun, gliomda tümör oluşumunu ve proliferasyonu baskıladığını göstermişlerdir⁸³. Burrows ve ark.

yaptıkları çalışmada DUB3'ün IL-4 ve IL-6 uyarısına yanıt olarak indüklendiğini; DUB3 ekspresyonunun proliferasyonu bloke ettiğini ve apoptotik hücre sayısında artışa yol açtığını göstermişlerdir. Ancak yine bu çalışmada, DUB3 ekspresyonunun proliferasyonu bloke etmesine rağmen, hızlı çoğalan hücre dizilerinde de yüksek düzeyde DUB3 ekspresyonu gözlemlenmiştir⁸⁴.

Anlaşıldığı üzere USP17'nin hangi hücrel yolaklar üzerinden ne etki gösterdiği henüz net olarak tanımlanabilmiş değildir. Gelecekte USP17 için substratların izolasyonunu ve tanımlanmasını içeren çalışmalar, USP17'nin hücrel rollerini kavramamıza yardımcı olacaktır. Ayrıca USP17 ailesi proteinleri ve hücre canlılığı arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılması, hücre proliferasyonunun düzenlenmesi için terapötik stratejilerin geliştirilmesine olanak tanıyacaktır⁷⁷. Literatürde USP17 ekspresyonunu endometrium karsinomlarında inceleyen bir çalışmaya tarafımızca rastlanmamıştır.

Endometrium kanserleri, 2020 yılı global kanser istatistikleri (GLOBOCAN) verilerine göre kadınlarda en sık görülen altıncı kanserdir ve genital sistem kanserleri arasında serviks kanserlerinden sonra ikinci sırada yer almaktadır¹. Gelecek yıllarda endometrium kanseri insidansının artacağı ön görülmektedir⁴. Hastaların çoğu perimenopozal veya postmenopozal dönemdedir ve vakaların %4'ü 40 yaşın altındadır³. Çalışmamızda, endometriumda endometrioid karsinom tanısı alan 99 hastanın yaş ortalaması 60.36 ± 9.12 'dir ve hasta yaşları 41 ila 86 arasında değişmektedir.

Hastalığın ağırlıklı olarak postmenopozal hasta popülasyonunda görülen düzensiz vajinal kanama şeklinde erken prezentasyonu, hastaları erken aşamada tıbbi yardım almaya sevk ettiği için endometrial karsinomların tedavi edilebilir bir malignite olduğuna inanılmaktadır. NCCN (National Comprehensive Cancer Network) verilerine göre 2017 yılında endometrium karsinomu tanısı alan hastaların %67'sinde hastalık uterusu sınırlıdır; vakaların sırasıyla %21 ve %8'inde bölgesel ve uzak yayılım mevcuttur¹⁹. Gelişmiş ülkelerde 5 yıllık sağ kalım oranı yüksektir². Çalışmamızda bu verilerle uyumlu olarak olguların çoğunda hastalık evresi IA, IB ve II olup [sırasıyla %51.5 (n=51), %20.2 (n=20) ve %19.2 (n=19)]; uzak metastaz oranı ise %4 (n=4)'tür. İzlemde ex olan hasta sayısı sekizdir. Ex olan hasta sayısının az

olması nedeniyle sağ kalım ile ilgili istatistiksel analizlerin çoğu bu çalışmada yapılamamıştır. SEER verilerinin analizi; daha genç, erken evre ve düşük dereceli hastalığı olan hastalarda sağ kalımın arttığını göstermektedir. Kötü prognozla ilişkili olduğu bilinen risk faktörleri arasında myometrial invazyon derinliği, yaş, lenf nodlarının durumu, tümör boyutu, lenfovasküler aralık invazyonu ve alt uterin segment tutulumu yer almaktadır¹⁹.

Düşük dereceli tümörleri ve erken evre hastalığı olan hastaların prognozu iyi olsa da yüksek dereceli ve/veya ileri evre tümörleri olan hastalar için sonuçlar nispeten kötüdür. Cerrahiden sonra rekürrens riski yüksek olan hastalar sıklıkla adjuvan radyoterapi, kemoterapi ve/veya hormon tedavisi almaktadır. Ancak endometrium kanserlerinde geleneksel kemoterapötik rejimler, diğer organ kanserlerine kıyasla daha az etkilidir ve bu durum yeni moleküler hedeflerin belirlenmesinin önemini vurgulamaktadır⁸⁵. Bu amaç doğrultusunda çalışmamızda endometrium kanserlerinin en sık görülen histolojik alt tipi olan endometrioid karsinomlarda potansiyel bir terapötik hedef olan USP17'nin durumu immunohistokimya ile incelenmiş ve prognostik parametrelerle olası ilişkisi araştırılmıştır.

Çalışmamızda USP17 immunohistokimyasal incelemesi sonucunda değerlendirilen 99 endometrioid karsinom olgusunun 23'ünde (%23.2) kuvvetli, 41'inde (%41.4) zayıf boyanma gözlenmiştir; 35 olguda ise (%35.4) boyanma saptanmamıştır. Değerlendirme ölçütü olarak boyanma yoğunluğu kullanılmıştır. McFarlane ve ark.'ın bir çalışmasında USP17 ekspresyonu tümör dokularında farklı yöntemlerle incelenmiştir. Prostat, meme, kolon, özefagus, akciğer ve serviks kanserlerinin hücre dizilerinde USP17 mRNA seviyesi RT-PCR ile, USP17 protein ekspresyonu immunoblot analiziyle, dokudaki ekspresyon durumu ise immunohistokimyasal boyama ile araştırılmıştır. Tüm yöntemlerde tümörlerde USP17'nin arttığı öne sürülmüştür. İmmunohistokimyasal analizde normal dokuların USP17 ile boyanmadığı, tümörlü dokuların boyandığı gösterilmiş ancak boyama değerlendirmesinin nasıl yapıldığı detaylı açıklanmamıştır¹⁴. Yine McFarlane ve ark.'ın 100 KHDAK biyopsisinde uyguladıkları çalışmada boyanan tümör hücrelerinin oranı 0-3 aralığında skorlanmıştır. Pozitif tümörlerde ortalama sitoplazmik boyanma yoğunluğu zayıf, orta veya güçlü olarak kaydedilip yoğunluk puanı 1-3 aralığında skorlanmıştır. Oran ve yoğunluk skorları daha sonra toplam histolojik skor (0 veya 2-

6 aralığında) elde etmek için toplanmıştır. Olgular pozitif (skor ≥ 2) veya negatif (skor < 2) olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmada USP17 immunohistokimyasal incelemesinde pozitiflik oranı %43 olarak bulunmuştur¹⁷. Ancak görüldüğü üzere pozitif boyanan tümörler puanlarına göre karşılaştırılmadığı için bu skorlama sisteminin amacına ulaşmadığı tarafımızca düşünülmektedir. Hu ve ark.'ın 104 gliom olgusunda USP17 ekspresyonunu immunohistokimya ile inceledikleri çalışmada; tümör hücrelerinin %0'ı pozitif boyandıysa 0, %0-10'u boyandıysa 1, %11-50'si boyandıysa 2, %51-75'i boyandıysa 3 ve %75-100'ü boyandıysa 4 puan olacak şekilde skorlama yapılmıştır. Boyanma yoğunluğu ise 0 negatif, 1 zayıf, 2 orta ve 3 güçlü olarak değerlendirilmiştir. Daha sonra toplam puan (0-12 aralığında) elde etmek için oran ve yoğunluk skorları toplanmıştır. 0-6 arası puan alan 58 olgu düşük USP17 ekspresyonlu kabul edilirken; 7-12 arası puan alan 46 olgu yüksek USP17 ekspresyonlu olarak belirlenmiştir⁸³. Zhou ve ark., over kanserlerinde DUB3 immunohistokimyasını inceledikleri çalışmada benzer bir skorlama sistemi kullanmışlardır. Boyanma yoğunluğu; 0: boyanma yok, 1: zayıf boyanma, 2: orta derecede boyanma ve 3: güçlü boyanma olarak skorlanmıştır. Pozitif hücrelerin yüzdesi ise şu kriterlere göre puanlanmıştır: 0: pozitif hücre yok, 1: pozitif boyanan hücreler $< 10\%$, 2: pozitif boyanan hücreler $10\%-50\%$ ve 3: pozitif boyanan hücreler $> 50\%$. Boyanma yoğunluğu skoru ile pozitif tümör hücrelerinin yüzde skoru çarpılmıştır ve tümörler düşük ekspresyon (skor ≤ 3) ve yüksek ekspresyon (skor ≥ 4) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmalardan farklı olarak boyanan tümör hücrelerinin yüzdesi skorlanmamış olup yoğunluk skorlamasına göre 3 farklı grup oluşturulmuştur. Diğer çalışmalarda yoğunluk ve boyanma yüzdesi olarak iki ayrı puanlama sistemi uygulanmasına rağmen bunların birleştirilerek temelde tümörlerin yüksek ekspresyon seviyesi ve düşük ekspresyon seviyesi olacak şekilde iki ana gruba ayrılarak incelendiği dikkati çekmektedir. Bizim çalışmamızda ise USP17 immunohistokimyasında hiç boyanmayan tümörler ayrı grup olarak ele alınmıştır. Boyanan tümörler de zayıf boyanma ve kuvvetli boyanma olarak ayrı sınıflandırılmış ve sonuçta 3 farklı grup elde edilmiştir.

Prognostik parametre olarak evre, uzak metastaz, lenf nodu metastazı, lenfovasküler aralık invazyonu, myometrial invazyon derinliği, endoservikal stromal tutulum, alt uterin segment tutulumu, batın sıvılarında tümör hücrelerinin durumu,

tümörün yapısal ve nükleer derecesi ile sağ kalımın değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ancak uzak metastazı olan (n=4), batın sıvısında tümör hücresi görülen (n=5) ve ex olan (n=8) hasta sayısının az olması nedeniyle bu parametreler için istatistiksel analiz yapılamamıştır. İleri evre hastalığı olan hasta sayısının az olması nedeniyle evre ve USP17 boyanma yoğunluğu arasında geçerli istatistiksel analiz yapmak da mümkün olmamıştır. Yine yapısal derece ve nükleer derece parametrelerinin her ikisinde derece 3 grubunda az sayıda hasta bulunmasından kaynaklanan heterojen dağılım, geçerli istatistiksel analiz yapılmasına engel olmuştur. Ayrıca 48 hastaya lenf nodu diseksiyonu yapılmamış olması ve diseksiyon yapılan 51 hastanın yalnızca 5'inde metastaz saptanması, lenf nodu metastazı parametresi için de geçerli istatistiksel analiz yapılamamasına neden olmuştur. Bu bilgiler ışığında endometrium karsinomlarında örneklem büyüklüğünün artırılmasıyla daha anlamlı prognostik veri analizinin yapılabileceği sonucuna varılmıştır.

Geçerli analizlerde lenfovasküler aralık invazyonu, myometrial invazyon derinliği, endoservikal stromal tutulum ve alt uterin segment tutulumuna göre USP17 boyanma yoğunluğunun farklılaşmadığı bulunmuştur ($p>0.05$). USP17 boyanma yoğunluğunun endometrioid karsinomlar ve müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinomlar arasında farklılaşıp farklılaşmadığı da incelenmiş ve yine istatistiksel anlamlı sonuç çıkmamıştır ($p>0.05$).

Çalışmaya dahil edilen olguların 52'si endometrioid karsinom, 47'si müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinom tanısı almıştır ve bunlar kendi içlerinde yaş ortalaması, evre, yapısal derece, lenfovasküler aralık invazyonu, lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve sağ kalım yönlerinden karşılaştırılmıştır. Evre parametresinde yine gruplarda az kişi olması nedeniyle geçerli analiz yapılamamıştır. Yapısal derece dışındaki parametrelerin hiçbirinde istatistiksel anlamlı sonuç çıkmamıştır ($p>0.05$). Bu durum, endometriumun endometrioid karsinomlarında müsinöz diferansiasyonun prognoza etkili olmadığı yönündeki literatür bilgisiyle uyumlu bulunmuştur^{36,38,39}. Hem endometroid karsinom grubunda hem de müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinom grubunda yapısal derecesi 1 olan tümörlerin anlamlı olarak fazla, derece 3 tümörlerin ise anlamlı olarak az olmasının; hastalığın genel anlamda iyi seyri ve yüksek sağ kalım oranıyla uyumlu olduğu düşünülmüştür.

Bu çalışmanın kısıtlılıkları arasında araştırmanın immunohistokimya yöntemiyle yapılmış olması, normal endometrium dokularıyla tümördeki USP17 boyanma oranının karşılaştırılmamış olması ve endometriumun non-endometrioid histolojiye sahip tümörlerinin değerlendirilmemiş olması yer almaktadır. Literatürdeki çalışmaların büyük bir kısmında USP17 protein ekspresyonu, tümör hücre kültürlerinde ve hücre dizilerinde immunoblot analizleriyle değerlendirilmiştir. USP17 mRNA ekspresyonunu değerlendirmek için ise RT-PCR analizi uygulanmıştır. Az sayıda çalışmada immunohistokimyasal inceleme yapılmıştır. Dolayısıyla immunohistokimyasal pozitiflik ile USP17'nin gen ekspresyonu ve protein ekspresyonu arasındaki korelasyon düzeyi kesin olarak bilinmemektedir. Çalışmamızdaki olguların çoğunun erken evredeki düşük dereceli tümörler olması ve yine yüksek dereceli non-endometrioid histoloji gösteren tümörlerin incelenmemesi de USP17'nin endometrium karsinomlarında gerçek prognostik etkisini değerlendirmeyi güçleştirmektedir.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamız, USP17 ekspresyonunun daha önce endometrium tümörlerinde değerlendirilmemiş olması nedeniyle özgün nitelik taşımaktadır.
2. Endometriumun endometrioid karsinomlarında değerlendirilen prognostik parametrelerin hiçbiri ile USP17 boyanma yoğunluğu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmamıştır.
3. Çalışmada değerlendirilen endometrioid karsinom tanılı olguların çoğu erken evredeki düşük dereceli tümörler olup sağ kalım oranları yüksektir.
4. Bu çalışmada endometrioid karsinomlar ile müsinöz diferansiasyon gösteren endometrioid karsinomlar karşılaştırılmış ve müsinöz diferansiasyonun anlamlı prognostik fark oluşturmadığı bulunmuştur.

7. KAYNAKLAR

1. 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: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021;71(3):209-249.
2. WHO Classification of Tumours Editorial Board. *Female Genital Tumours*. 5th ed. International Agency for Research on Cancer; 2020.
<https://publications.iarc.fr/592>
3. Bartosch C, Pires M, Jerónimo C, Lopes JM. The role of pathology in the management of patients with endometrial carcinoma. *Future Oncology*. 2017;13(11):1003-1020.
4. Sheikh MA, Althouse AD, Freese KE, et al. USA Endometrial Cancer Projections to 2030: Should we be concerned? *Future Oncology*. 2014;10(16):2561-2568.
5. Lu KH, Broaddus RR. Endometrial Cancer. *The New England Journal of Medicine*. 2020;383(21):2053-2064.
6. Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I, et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *International Journal of Gynecological Cancer*. 2021;31(1):12-39.
7. Nandi D, Tahiliani P, Kumar A, Chandu D. The ubiquitin-proteasome system. *Journal of Biosciences*. 2006;31(1):137-155.
8. Leestemaker Y, Ovaa H. Tools to investigate the ubiquitin proteasome system. *Drug Discovery Today: Technologies*. 2017;26:25-31.
9. Ciechanover A. Intracellular protein degradation: From a Vague Idea, through the lysosome and the ubiquitin-proteasome system, and onto human diseases and drug targeting (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie - International Edition*. 2005;44(37):5944-5967.

10. Gao T, Liu Z, Wang Y, et al. UUCD: A family-based database of ubiquitin and ubiquitin-like conjugation. *Nucleic Acids Research*. 2013;41(D1):445-451.
11. Hanna J, Guerra-Moreno A, Ang J, Micoogullari Y. Protein Degradation and the Pathologic Basis of Disease. *American Journal of Pathology*. 2019;189(1):94-103.
12. de La Vega M, Kelvin AA, Dunican DJ, et al. The deubiquitinating enzyme USP17 is essential for GTPase subcellular localization and cell motility. *Nature Communications*. 2011;2(1).
13. McCann AP, Smyth P, Cogo F, et al. USP17 is required for trafficking and oncogenic signaling of mutant EGFR in NSCLC cells 06 Biological Sciences 0601 Biochemistry and Cell Biology. *Cell Communication and Signaling*. 2018;16(1):1-12.
14. McFarlane C, Kelvin AA, de La Vega M, et al. The deubiquitinating enzyme USP17 is highly expressed in tumor biopsies, is cell cycle regulated, and is required for G1-S progression. *Cancer Research*. 2010;70(8):3329-3339.
15. Burrows JF, Kelvin AA, McFarlane C, et al. USP17 regulates Ras activation and cell proliferation by blocking RCE1 activity. *Journal of Biological Chemistry*. 2009;284(14):9587-9595.
16. Zhou B, Shu B, Xi T, Su N, Liu J. Dub3 expression correlates with tumor progression and poor prognosis in human epithelial ovarian cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2015;70(C):84-89.
17. McFarlane C, McFarlane S, Paul I, et al. The deubiquitinating enzyme USP17 is associated with nonsmall cell lung cancer (NSCLC) recurrence and metastasis. *Oncotarget*. 2013;4(10):1836-1843.
18. Baohai X, Shi F, Yongqi F. Inhibition of ubiquitin specific protease 17 restrains prostate cancer proliferation by regulation of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) via ROS production. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2019;118(November 2018).

19. Koh WJ, Abu-Rustum NR, Bean S, et al. Uterine Neoplasms, Version 1.2018: Clinical practice guidelines in oncology. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2018;16(2):170-199.
20. Bell DW, Ellenson LH. Molecular Genetics of Endometrial Carcinoma. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2019;14:339-367.
21. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecologic Oncology*. 1983;15:10-17.
22. Akhtar M, al Hyassat S, Elaiwy O, Rashid S, Al-Nabet ADMH. Classification of Endometrial Carcinoma: New Perspectives beyond Morphology. *Advances in Anatomic Pathology*. 2019;26(6):421-427.
23. Felix AS, Weissfeld JL, Stone RA, et al. Factors associated with Type I and Type II endometrial cancer. *Cancer Causes and Control*. 2010;21(11):1851-1856.
24. Murali R, Soslow RA, Weigelt B. Classification of endometrial carcinoma: More than two types. *The Lancet Oncology*. 2014;15(7):e268-e278.
25. Conlon N, da Cruz Paula A, Ashley CW, et al. Endometrial carcinomas with a “serous” Component in young women are enriched for DNA mismatch repair deficiency, lynch syndrome, and POLE exonuclease domain mutations. *American Journal of Surgical Pathology*. 2020;44(5):641-648.
26. Liu FS. Molecular carcinogenesis of endometrial cancer. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2007;46(1):26-32.
27. National Comprehensive Cancer Network. Uterine Neoplasms (Version 4.2021). Accessed September 3, 2021.
https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/uterine.pdf
28. Goebel EA, Vidal A, Matias-Guiu X, Blake Gilks C. The evolution of endometrial carcinoma classification through application of immunohistochemistry and molecular diagnostics: past, present and future. *Virchows Archiv*. 2018;472(6):885-896.

29. Hayes MP, Wang H, Espinal-Witter R, et al. PIK3CA and PTEN mutations in uterine endometrioid carcinoma and complex atypical hyperplasia. *Clinical Cancer Research*. 2006;12(20 PART 1):5932-5935.
30. Getz G, Gabriel SB, Cibulskis K, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature*. 2013;497(7447):67-73.
31. Raffone A, Travaglino A, Mascolo M, et al. TCGA molecular groups of endometrial cancer: Pooled data about prognosis. *Gynecologic Oncology*. 2019;155(2):374-383.
32. la Rubia EC de, Martinez-Garcia E, Dittmar G, Gil-Moreno A, Cabrera S, Colas E. Prognostic biomarkers in endometrial cancer: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(6):1-20.
33. Huvila J, Pors J, Thompson EF, Gilks CB. Endometrial carcinoma: molecular subtypes, precursors and the role of pathology in early diagnosis. *Journal of Pathology*. 2021;253(4):355-365.
34. Murali R, Delair DF, Bean SM, Abu-Rustum NR, Soslow RA. Evolving roles of histologic evaluation and molecular/genomic profiling in the management of endometrial cancer. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2018;16(2):201-209.
35. Buell-Gutbrod R, Sung CJ, Lawrence WD, Quddus MR. Endometrioid adenocarcinoma with simultaneous endocervical and intestinal-type mucinous differentiation: Report of a rare phenomenon and the immunohistochemical profile. *Diagnostic Pathology*. 2013;8(1):2-5.
36. Galic V, Schiavone MB, Herzog TJ, et al. Prognostic significance of mucinous differentiation of endometrioid adenocarcinoma of the endometrium. *Cancer Investigation*. 2013;31(7):500-504.
37. Trippel M, Imboden S, Papadia A, et al. Intestinal differentiated mucinous adenocarcinoma of the endometrium with sporadic MSI high status: A case report. *Diagnostic Pathology*. 2017;12(1):1-6.

38. Worley MJ, Davis M, Berhie SH, et al. Mucinous differentiation does not impact stage or risk of recurrence among patients with grade 1, endometrioid type, endometrial carcinoma. *Gynecologic Oncology*. 2014;135(1):54-57.
39. Rauh-Hain JA, Vargas RJ, Clemmer J, et al. Mucinous adenocarcinoma of the endometrium compared with endometrioid endometrial cancer a SEER analysis. *American Journal of Clinical Oncology: Cancer Clinical Trials*. 2016;39(1):43-48.
40. Malpica A. How to approach the many faces of endometrioid carcinoma. *Modern Pathology*. 2016;29(S1):S29-S44.
41. Zaino RJ, Kurman RJ, Diana KL, Paul Morrow C. 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.
42. Soslow RA, Tornos C, Park KJ, et al. Endometrial Carcinoma Diagnosis: Use of FIGO Grading and Genomic Subcategories in Clinical Practice: Recommendations of the International Society of Gynecological Pathologists. *International Journal of Gynecological Pathology*. 2019;38(1):S64-S74.
43. Köbel M, Ronnett BM, Singh N, Soslow RA, Gilks CB, McCluggage WG. Interpretation of P53 Immunohistochemistry in Endometrial Carcinomas: Toward Increased Reproducibility. *International Journal of Gynecological Pathology*. 2019;38(1):S123-S131.
44. Chiang S, Soslow RA. Updates in diagnostic immunohistochemistry in endometrial carcinoma. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2014;31(3):205-215.
45. Djordjevic B, Hennesy BT, Li J, et al. Clinical assessment of PTEN loss in endometrial carcinoma: Immunohistochemistry outperforms gene sequencing. *Modern Pathology*. 2012;25(5):699-708.

46. Mittal K, Soslow R, McCluggage WG. Application of immunohistochemistry to gynecologic pathology. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2008;132(3):402-423.
47. Raffone A, Travaglino A, Cerbone M, et al. Diagnostic Accuracy of Immunohistochemistry for Mismatch Repair Proteins as Surrogate of Microsatellite Instability Molecular Testing in Endometrial Cancer. *Pathology and Oncology Research*. 2020;26(3):1417-1427.
48. Doghri R, Houcine Y, Boujelbène N, et al. Mismatch Repair Deficiency in Endometrial Cancer: Immunohistochemistry Staining and Clinical Implications. *Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology*. 2019;27(9):678-682.
49. McConechy MK, Talhouk A, Li-Chang HH, et al. Detection of DNA mismatch repair (MMR) deficiencies by immunohistochemistry can effectively diagnose the microsatellite instability (MSI) phenotype in endometrial carcinomas. *Gynecologic Oncology*. 2015;137(2):306-310.
50. Amant F, Mirza MR, Koskas M, Creutzberg CL. Cancer of the corpus uteri. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 2018;143:37-50.
51. Krishnamurti UG, Crothers BA. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma and Carcinosarcoma of the Endometrium. College of American Pathologists (CAP).
https://documents.cap.org/protocols/Uterus-Endo_4.2.0.0.REL_CAPCP.pdf
52. Park J, Cho J, Song EJ. Ubiquitin–proteasome system (UPS) as a target for anticancer treatment. *Archives of Pharmacal Research*. 2020;43(11):1144-1161.
53. Mansour MA. Ubiquitination: Friend and foe in cancer. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2018;101:80-93.
54. Huang X, Dixit VM. Drugging the undruggables: Exploring the ubiquitin system for drug development. *Cell Research*. 2016;26(4):484-498.

55. Hershko A, Ciechanover A, Varshavsky A. The ubiquitin system. *Nature Medicine*. 2000;6(10):1073-1081.
56. Pickart CM, Eddins MJ. Ubiquitin: Structures, functions, mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*. 2004;1695(1-3):55-72.
57. Grice GL, Nathan JA. The recognition of ubiquitinated proteins by the proteasome. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2016;73(18):3497-3506.
58. Lander GC, Estrin E, Matyskiela ME, et al. Complete subunit architecture of the proteasome regulatory particle. 2012;482(7384):186-191.
59. Sakata E, Eisele MR, Baumeister W. Molecular and cellular dynamics of the 26S proteasome. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*. 2021;1869(3):140583.
60. Bard JAM, GoodaBard, J. A. M., Goodall, E. A., Greene, E. R., Jonsson, E., Dong, K. C., & Martin, A. (2018). Annual Review of Biochemistry Structure and Function of the 26S Proteasome. *Annual Review of Biochemistry*. 2018;(1):1-28.
61. Coll-Martínez B, Crosas B. How the 26S proteasome degrades ubiquitinated proteins in the cell. *Biomolecules*. 2019;9(9):1-14.
62. Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD, Howley PM. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell*. 1993;75(3):495-505.
63. Martinez-Zapien D, Ruiz FX, Poirson J, et al. Structure of the E6/E6AP/p53 complex required for HPV-mediated degradation of p53. *Nature*. 2016;529(7587):541-545.
64. Hill DE, Burrell M, Oliner JD, Sidransky D, Kinzler KW, Vogelstein B. p53 Mutation and MDM2 Amplification in Human Soft Tissue Sarcomas. *Cancer Research*. 1993;53(10):2231-2234.

65. Ashcroft M, Vousden KH. Regulation of p53 stability. *Oncogene*. 1999;18(53):7637-7643.
66. Bachiller S, Alonso-bellido IM, Real LM, et al. The ubiquitin proteasome system in neuromuscular disorders: Moving beyond movement. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(17):1-20.
67. Höhn A, Tramutola A, Cascella R. Proteostasis Failure in Neurodegenerative Diseases: Focus on Oxidative Stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020;2020.
68. Zheng Q, Huang T, Zhang L, et al. Dysregulation of ubiquitin-proteasome system in neurodegenerative diseases. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2016;8(DEC):1-10.
69. Zheng C, Geetha T, Babu JR. Failure of ubiquitin proteasome system: Risk for neurodegenerative diseases. *Neurodegenerative Diseases*. 2014;14(4):161-175.
70. de La Vega M, Kelvin AA, Dunican DJ, et al. The deubiquitinating enzyme USP17 is essential for GTPase subcellular localization and cell motility. *Nature Communications*. 2011;2(1):257-259.
71. Farshi P, Deshmukh RR, Nwankwo JO, et al. *Deubiquitinases (DUBs) and DUB Inhibitors: A Patent Review*. Vol 25.; 2015.
72. Ducker C, Shaw PE. USP17-mediated de-ubiquitination and cancer: Clients cluster around the cell cycle. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2021;130(October 2020):105886.
73. Hu B, Deng T, Ma H, et al. Deubiquitinase DUB3 Regulates Cell Cycle Progression via Stabilizing Cyclin A for Proliferation of Non-Small Cell Lung Cancer Cells. *Cells*. 2019;8(4):297.
74. Zhang Q, Zhang ZY, Du H, et al. DUB3 deubiquitinates and stabilizes NRF2 in chemotherapy resistance of colorectal cancer. *Cell Death and Differentiation*. 2019;26(11):2300-2313.

75. Wu Y, Wang Y, Lin Y, et al. Dub3 inhibition suppresses breast cancer invasion and metastasis by promoting Snail1 degradation. *Nature Communications*. 2017;8:1-16.
76. Chen R, Zhang L, Zhong B, Tan B, Liu Y, Shu HB. The ubiquitin-specific protease 17 is involved in virus-triggered type I IFN signaling. *Cell Research*. 2010;20(7):802-811.
77. Shin JM, Yoo KJ, Kim MS, Kim D, Baek KH. Hyaluronan- and RNA-binding deubiquitinating enzymes of USP17 family members associated with cell viability. *BMC Genomics*. 2006;7:1-15.
78. Zhang S, Yuan J, Zheng R. Suppression of Ubiquitin-Specific Peptidase 17 (USP17) inhibits tumorigenesis and invasion in non-small cell lung cancer cells. *Oncology Research*. 2016;24(4):263-269.
79. Wu X, Luo Q, Zhao P, et al. MGMT-activated DUB3 stabilizes MCL1 and drives chemoresistance in ovarian cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2019;116(8):2961-2966.
80. Yildirim N, Kocal GC, Isik Z, et al. Ubiquitin-Proteasome Axis, Especially Ubiquitin-Specific Protease-17 (USP17) Gene Family, is a Potential Target for Epithelial-Mesenchymal Transition in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Reproductive Sciences*. 2019;26(6):794-805.
81. Song C, Liu W, Li J. USP17 is upregulated in osteosarcoma and promotes cell proliferation, metastasis, and epithelial-mesenchymal transition through stabilizing SMAD4. *Tumor Biology*. 2017;39(7):1-10.
82. Chen X, Wang C, Liao K, et al. USP17 suppresses tumorigenesis and tumor growth through deubiquitinating AEP. *International Journal of Biological Sciences*. 2019;15(4):738-748.
83. Hu M, Chen H, Han C, et al. Expression and functional implications of USP17 in glioma. *Neuroscience Letters*. 2016;616:125-131.

84. Burrows JF, McGrattan MJ, Rascle A, Humbert M, Baek KH, Johnston JA. DUB-3, A Cytokine-inducible Deubiquitinating Enzyme That Blocks Proliferation. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(14):13993-14000.
85. Cho KR, Cooper K, Croce S, et al. International Society of Gynecological Pathologists (ISGyP) Endometrial Cancer Project: Guidelines from the Special Techniques and Ancillary Studies Group. *International Journal of Gynecological Pathology*. 2019;38(1):S114-S122.

