

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

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. N. Cenk SAYIN

**ENDOMETRİUM KANSERLİ OLGULARDA TÜMÖR
ANJİOGENEZİNİN HIF 1 ALFA VE MİKRODAMAR
DANSİTESİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Aysun AYBATLI

EDİRNE – 2011

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile katkıda bulunan tez yöneticim Doç. Dr. N. Cenk Sayın'a, Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Füsün Varol'a, Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Mustafa Küçük'e, Prof. Dr. Mehmet Ali Yüce'ye, Doç. Dr. Petek Balkanlı Kaplan'a ve Patoloji AD'dan Doç. Dr. Şemsi Altaner'e ve Uzm. Dr. Ebru Taştekin'e, istatistiksel analizlere katkılarından dolayı Doç. Dr. Necdet Süt'e, immünohistokimyasal boyamalarda yardımcı olan Biyolog Muzaffer Tudan'a, tüm asistan doktor arkadaşlarıma, bölüm sekreterlerine, servis hemşirelerine ve diğer çalışanlarımıza teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
UTERUSUN ANATOMİSİ VE HİSTOLOJİSİ	3
ENDOMETRİAL HİPERPLAZİLER	4
ENDOMETRİUM KANSERİ	5
HİPOKSİ VE ANJİOGENEZ.....	17
ENDOMETRİUM KANSERİ VE HİPOKSİ İLE İNDÜKLENEBİLİR	
FAKTÖR İLİŞKİSİ.....	23
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	25
BULGULAR	31
TARTIŞMA.....	53
SONUÇLAR.....	62
ÖZET	64
SUMMARY	66
KAYNAKLAR	68
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FIGO	: The International Federation of Gynecology and Obstetrics
H+E	: Hematoksilen Eozin
HIF-1α	: Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α , “Hypoxia Inducible Factor-1 α ”
IGF	: İnsulin benzeri büyüme faktörü
MDD	: Mikrodamar dansitesi
MSI	: Mikrosatellit instabilitesi
PCO	: Polikistik over
SHBG	: Seks hormonu bağlayıcı globulin
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü “Vascular Endothelial Growth Factor”

GİRİŞ VE AMAÇ

Endometrium kanseri gelişmiş ülkelerde son yıllarda en sık görülen kadın genital sistem kanseri haline gelmiştir (1). Sağlık Bakanlığı Kanser Kayıt Merkezi 2005 yılı istatistiklerine göre en sık görülen 10. kanser türüdür (2). Yüksek insidansına ve etkili bir tarama testinin olmamasına rağmen erken semptom vermesi nedeniyle ölüme neden olan kanserler arasında alt sıralarda yer almaktadır. Genel olarak bakıldığında yaşamları boyunca kadınların %2-3'ünde endometrium kanseri gelişecektir (3).

Endometrium kanserlerinin yaklaşık %80'i endometrioid tip adenokarsinomdur. Tip I endometrium kanseri olarak da sınıflandırılır. Tip II endometrium kanseri ise daha invaziv ve yüksek dereceli olan seröz ya da şeffaf hücreli kanserlerden oluşur. Endometrium kanserinin risk faktörleri arasında karşılanmamış östrojen, endometrial hiperplaziler, endokrin faktörler ve aile öyküsü gelmektedir. Endometrial kanserlerin patogenezi tam olarak anlaşılamamış olup, yapılan genetik çalışmalarla onkogen aktivasyonu ve tümör süpresör gen inaktivasyonu ile ilgili olabileceği düşünülmüştür (4). Endometrial kanserlerin karsinogenezisinde rol alan faktörler ve bunların prognostik etkileri en çok araştırılan konular arasındadır. Bu faktörlerin histolojik “grade” (derecelendirme, grad), evre ve yaşam süresi üzerine olan etkilerinin ortaya konması, yeni tedavi planlarının geliştirilmesinde, risk faktörlerinin belirlenmesinde ve hastaların takibinde yol gösterici olacaktır.

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α (Hypoxia Inducible Factor-1 α) (HIF-1 α) bir nükleer protein olup, O₂ bağımlı transkripsiyon faktörü olan “ubiquitin” proteazomal sistem ile degrade edilerek ortadan kaldırılır. Ancak ortamdaki O₂ azlığı HIF-1 α 'nın yıkılımına engel olur ve stabil, parçalanamayan bir HIF-1 α molekülü oluşmasını sağlar. Bu durum ise pek çok hücre içi yaşamsal mekanizmaların aktive olmasına neden olur. Deneysel ve klinik çalışmalar

hipoksik ortamın solid tümörlerde malign progresyonu arttırdığını göstermiştir (5). HIF-1 α 'nın up-regülasyonu erken evre endometrioid tip adenokarsinomlarda tanımlanmıştır (6). Ancak HIF-1 α 'nın diğer endometrial kanser türleriyle veya prognoz ile sağkalım arasında olan ilişkisi literatürde tam olarak belirlenmemiştir.

Çalışmamızda, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü'nde 2001 ile 2010 tarihleri arasında ameliyat olarak Tip I ve Tip II endometrial kanser tanısı almış 100 hastanın patoloji piyesleri incelendi. Bu ameliyat piyeslerinde HIF-1 α varlığı ve mikrodamar dansitesi (MDD) araştırıldı ve evre, grad, sağkalım gibi klinik ve histopatolojik prognostik faktörlerle olan bağlantısı aydınlatılmaya çalışıldı.

GENEL BİLGİLER

Endometrium kanseri kadın genital sisteminin en sık görülen invaziv tümörü olup, Sağlık Bakanlığı Kanser Kayıt Merkezi 2005 yılı istatistiklerine göre en sık görülen 10. kanser türüdür ve kadınlarda görülen kanser türleri arasında 9. sırada yer almaktadır (1,2). Dünyada her yıl yaklaşık 150.000, Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 34.000 yeni vaka bildirilmektedir (1). Genel olarak bakıldığında ise kadınların yaşamları boyunca %2-3'ünde endometrium kanseri gelişecektir (3).

UTERUSUN ANATOMİSİ VE HİSTOLOJİSİ

Uterus, anatomik olarak pelvis boşluğunda yer alır ve önde mesane, arkada rektum ile komşu olup, kas dokusu ağırlıklı bir organdır (1). Erişkin nulliparlarda 8 cm uzunluğunda, 5 cm. genişliğinde ve 2.5 cm kalınlığında olup, 30-40 gram ağırlığındadır. Uterus anatomik olarak fundus, korpus, istmus ve serviks olmak üzere dört bölümde incelenir (1). Fundus, uterusun en üst kısmı olup tuba uterinaların uterusu açıldıkları düzeyin üzerinde kalan bölümüdür. Korpus, uterusun esas parçası olup tuba uterinaların uterusu açıldıkları düzeyden istmusa kadar uzanır. İstmus 0.5 cm uzunluktadır ve serviks ile korpus arasında kalan bölümdür. Serviks, vagina ön duvarında sonlanan uterusun en alt parçasıdır. Serviks, vagina duvarının altında kalan *portio vaginalis* ve vagina duvarının üzerinde kalan *portio supravaginalis* olarak iki bölüme ayrılır (4).

Uterus içindeki boşluk kavum uteri adını alır. Kavum uteri yukarıda tuba uterinalar aracılığıyla periton boşluğuna, aşağıda servikal kanal aracılığıyla da vaginaya açılır. Servikal kanalın uterus kavitesine açılan kısmı internal os, vaginaya açılan kısmı ise eksternal os adını alır. Uterus önde uterovesikal çıkmazla mesaneyle, arkada ise Douglas çıkmazı ile kolon ile

komşuluk gösterir. Yanlarda *ligamentum latum*, uterin arter, uterin ven ve üreterler ile komşuluk yapar. Uterusu yerinde tutan beş adet bağ bulunmaktadır. *Ligamentum latum uteri* (broad ligament), uterusu çepeçevre saran peritondan oluşur, uterusu pelvis yan duvarlarına bağlayarak parietal periton ile devam eder. *Ligamentum rotundum* (*ligamentum teres uteri*); uterusun yan köşelerinden başlayıp inguinal kanal yolu ile *labium majus*'un subkutan dokusuna karışır. *Ligamentum cardinale* (Mackenrodt bağı) ise; serviks ve vaginanın üst kısmını pelvis yan duvarlarına bağlayan pelvik fasyanın bir parçasıdır ve fibromusküler dokudan yoğundur. *Ligamentum uterosacrale*, serviks ile sakrum üzerindeki fasya arasında sağlı-sollu uzanan bir dokudur. Son olarak *ligamentum pubocervicale* ise uterusu alttan destekler (1).

Uterus iki taraflı olarak internal iliak arterlerden gelen uterin arterlerle beslenir. Uterin ven, arterleri takip ederek internal iliak vene dökülür. Fundusun lenfatikleri ovarian arter boyunca giderek birinci lomber vertebra hizasında paraaortik lenf nodlarına dökülür. Korpus ve serviksin lenfatikleri ise internal ve eksternal iliak lenf nodlarına dökülür. Bazı lenf damarları da *ligamentum rotundum* boyunca ilerleyerek yüzeysel inguinal lenf nodlarına açılır.

Korpus uteri histolojik olarak üç tabakadan oluşur. Sırasıyla içten dışa doğru; 1)Endometrium: *Stratum bazale* ve endometrial glandların bulunduğu *stratum fonksiyonale*'den oluşur. 2)Myometrium: Düz kas liflerinden, kan ve lenf damarlarından oluşur. 3)Seroza: Korpus uteriye ön ve arkadan, serviks uteriye ise sadece arkadan saran periton yaprağıdır. Serviks uteri ise iç kısımda histolojik olarak tek katlı silyalı kolumnar epitelden oluşan endoserviks ve çok katlı keratinize skuamöz epitel ile döşeli ektoserviks ve bunun dışında fibröz ve musküler komponentleri bulunan servikal stromadan oluşur (4).

ENDOMETRIAL HİPERPLAZİLER

Endometrium, hipotalamo-pitüiter-ovarian aksın etkisinde aktif ve devamlı değişkenlik gösterir. Endometrial hiperplaziler artmış östrojenik uyarı, obezite, eksojen hormon kullanımı ile ilişkilidir ve 45-55 yaşlar arasında, perimenopozal dönemde, anovulatuvar siklusu olan kadınlarda görülür (7).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 1994 yılında endometrium hiperplazileri yapısal kompleksite ve sitolojik atipi varlığına göre sınıflandırılmıştır. Günümüzde daha çok kabul gören ve yaygın olarak kullanılan bir sınıflamadır (8).

Hiperplazilerin Sınıflaması

Hiperplaziler (atipi içermeyen)

- Basit hiperplazi
- Kompleks hiperplazi

Atipik hiperplaziler

- Basit atipik hiperplazi
- Kompleks atipik hiperplazi

Histopatolojik olarak, atipi içermeyen basit hiperplazide, gland stroma oranında gland lehine artış izlenir. Glandlar arasında şekil ve boyut farkı vardır. Bu bulgulara ek olarak hücrel atipinin görülmesi, basit atipi içeren hiperplazi olarak tanımlanır (9).

Kompleks hiperplazide ise glandlar hem stromaya hem lümene doğru çıkıntılar göstererek daha kompleks görünüm kazanırlar. Glandlar, sırt sırta vermiştir. Arada dar bir stroma mevcuttur. Ancak gland epitelinde atipi görülmez. Atipi varlığında, kompleks atipi içeren hiperplazi olarak adlandırılır (9).

Hiperplaziler kansere progresyon gösterebilirler. Atipi içermeyen basit hiperplazide bu oran %1, atipi içermeyen kompleks hiperplazide %3, basit atipik hiperplazilerde %8, kompleks atipik hiperplazilerde %29 oranında kansere progresyon görülmektedir (10).

ENDOMETRİUM KANSERİ

Endometrium kanseri kadın genital sisteminin en sık görülen kanseridir. Son yıllarda, klinikopatolojik, immünohistokimyasal ve moleküler genetik çalışmalar endometrial karsinogeneizde “dualistik” modelin varlığını ortaya koyan veriler sağlamıştır. Bu modelde, tip I ve tip II olmak üzere iki tip endometrial kanser vardır (11).

Tip I tümörler premenapozal-perimenapozal beyaz kadınlarda görülür, karşılanmamış östrojen ve endometrial hiperplazi ile ilişkilidir. Östrojen sekrete eden tümörü olan kadınlarda, östrojen yerine koyma tedavisi alanlarda, postmenopozal kadınlarda adrenal ve ovaryan androjen prekürsörlerinden vücut yağında büyük miktarda östrojen sentezlenmesi ile artmış kanser riski vardır. Mikrosatellit instabilite (MSI) ve PTEN tümör süpresör gen mutasyonu hiperplazi ve kanserde yaygındır. PTEN mutasyonu %30-50 olguda saptanmıştır (7,12). Ayrıca laboratuarda uzun süre dietilstilbesterol verilen hayvanlarda endometrial polip, hiperplazi ve kanser geliştiği de görülmüştür. Ovaryan agenezisi olan ve hayatın erken

dönemlerinde kastrasyon yapılanlarda ise EH ve kanser nadir görülür. Tüm bu bulgular endometriumda hiperplazi ve kanser arasındaki ilişkiyi destekler. Tip 1 tümörler minimal invaziv olup düşük derecelidir. Endometrioid adenokarsinom prototipidir.

Tip II tümörler ise, ileri yaşta postmenapozal dönemde ve daha çok siyah kadınlarda görülür. Genel olarak yüksek dereceli, invaziv, seröz ya da şeffaf hücreli (clear-cell) kanserlerdir (13). Seröz tip, endometrioid tipe göre daha az mikrosatellit instabilite gösterir ve p53 mutasyonuna bağlıdır. Ekzojen ya da endojen hiperöstrojenizm ile ya da endometrial hiperplazi ile ilişkisizdir ve agresif davranış gösterir (8).

Epidemiyoloji

Endometrium kanserinin iki farklı patogenetik tipi bilinmektedir. En sık rastlanan tipi endojen ya da ekzojen karşılanmamış östrojene maruz kalma öyküsü olan genç, perimenapozal kadınlarda görülmektedir. Bu kadınlarda tümör hiperplazik endometrium olarak başlamakta ve kansere ilerlemektedir. Bu tümör östrojen bağımlı olup, iyi diferansiye olma eğilimindedir. Diğer endometrium kanseri endometriumu uyaracak östrojen kaynağı bulunmadan gelişmektedir. Kendiliğinden gelişen bu kanserler patolojik olarak endometrial hiperplazi ile birlikte değildir ve çoğunlukla östrojen bağımlı tümörlere göre daha kötü prognozludurlar. Bu östrojen bağımlı olmayan tümörler daha yaşlı, postmenapozal, zayıf kadınlarda görülme eğilimindedirler (14). Dengelenmemiş östrojen endometriumda öncelikle hiperplazi geliştirir. Bilindiği gibi endometrial hiperplazi uterus kavitesini döşeyen endometrium bez ve stromasının aşırı mitotik aktivitesi ile karakterize patolojik bir tablodur. Östrojenik uyarı devam ederse endometrium atipik karakter kazanarak sonunda kanser gelişmektedir (15).

Endometrium Kanseri Risk Faktörleri

1. Yaş: Endometrium kanseri genellikle 40 yaşın üzerindeki kadınlarda görülmektedir. 45 yaşından sonra insidans artar, 60 yaşa doğru en üst düzeye ulaşır ve sonra hafifçe düşer. Ortalama görülme yaşı 61'dir, %3-5 olguda ise 40 yaşın altında görülebilir (16).

2. Parite: Endometrial kanserli kadınlarda nulliparite daha sık görülür. Kanserli kadınların %23-31'i nullipardır. Kanser riski nullipar olgularda primiparlara göre 2 kat, ≥ 5 doğum yapmışlara göre ise 3 kat daha fazladır (12). Bu kadınlarda anovulasyon ve dolayısıyla kronik östrojen uyarısı daha sıktır. Ayrıca gebelikteki yüksek progesteron düzeyinin

endometrial kansere karşı koruyucu bir etkisinin olduğu ileri sürülmekte ve nulliparlarda bu etki oluşmamaktadır.

3. Irk: Bilinmeyen bir nedenle zenci ırkta aynı yaş grubundaki beyaz kadınlara göre daha az kanser tanısı konulmuştur. Beyaz ırkta endometrium kanseri gelişme riski iki kat daha fazladır (16).

4. Obezite: Endometrium kanserli kadınlardaki en yaygın problemin obezite olduğunu, obezitenin ise endometrium kanseri için ciddi bir risk faktörü oluşturduğunu gösteren pek çok çalışma vardır (17,18). Obezite ekstrahepatik aromataz sistemini değiştirerek periferik östrojen (östron) üretimini arttırmaktadır. Periferik östrojen üretiminin en önemli kaynağı olan yağ dokusu yüksek aromataz aktivitesine sahip olduğundan bu dokuda androstenodion'dan östron ve testosterondan östradiol oluşmaktadır. Ayrıca kanserli kadınlarda yağ dokusunun her gramının aromataz kapasitesi de artmıştır. Ek olarak obez kadınlarda seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG) düzeylerinin de azalması nedeniyle aktif hormon miktarı artarak endometrium daha fazla östrojen etkisinde kalır (1).

5. Endokrin faktörler: Bunların başında over fonksiyon bozuklukları gelmektedir ve anovulasyondan korpus luteum yetmezliğine kadar gidebilir. Polikistik over sendromlu (PCO) kadınlarda yine anovulasyona bağlı olarak risk artar. PCO'lu kadınlarda androstenodion ve östron normalden 3-4 kez daha fazla üretilir. Kronik anovulasyon nedeniyle normalden çok yüksek olan östronun progesteronla karşılanmaması, endometrial hiperplaziyi ve premalign değişimleri tetikler veya artırır. Ayrıca PCO'lu kadınlarda hiperinsülinemi vardır. Artmış insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF)'nin endometrium kanserine yakalanma riskini arttırdığı düşünülmektedir.

6. Diabet: Artmış endometrium kanseri riski ile diabet arasındaki ilişkiyi destekleyen çalışmalar mevcuttur (13,18). Ancak, diabet endometrium kanseri için istatistiksel anlamlı kabul edilen bir risk faktörü değildir.

7. Östrojen salgılayan tümörler: Overin östrojen salgılayan granüloza ve teka hücreli tümörlerinin kanser için risk faktörü olduğu kesindir. Aslında ovaryan stromayı uyarak hormon üretimine neden olan primer ya da metastatik herhangi bir tümör de dolaylı olarak endometrial hiperplazi ve kanserojenik etki yaparak risk faktörü oluşturabilir (10).

8. Erken menarş-geç menopoz: 12 yaşından önce adet görenlerde daha fazla anovulatuvar siklus olması nedeniyle 1.6 kez, 52 yaşından önce adetten kesilenlerde de daha fazla östrojen uyarısı olması nedeniyle 2.4 kez kanser riski artmıştır (19).

9. Diyet: Endometrium kanseri ile yüksek yağlı ve proteinli diyet arasında pozitif bir bağlantı vardır. Yine, obezite ile endometrium kanseri sağkalımı arasında negatif yönde bir ilişki olduğu gösterilmiştir (20).

10. Aile öyküsü: Endometrium kanserinde heredite ve aile öyküsünün rolü açık değildir. Endometrium kanserinin kesin ailevi geçişi tanımlanamamasına karşın dikkatli bir anamnezle ailede kanser varlığı anormal kanaması olan bir kadında değerlendirmenin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Ek olarak, 45 yaş altı tanı alan endometrium kanserli olguların Lynch Sendromu açısından taranması önerilmiştir (21).

11. Sigara: Bu alışkanlık çoğu kanserde tetikleyici olmasına rağmen endometrium kanseri ile olan ilişkisi açık değildir. Zhou ve arkadaşları (22) yaptıkları bir çalışmada sigara içen postmenapozal kadınlarda endometrium kanseri riskini daha düşük bulmuşlardır. Ancak bu koruyucu etki premenapozal kadınlar için mevcut değildir.

Endometrial Kanserlerin Morfolojik Özellikleri

Uterin korpus karsinomlarının belirgin ayırıcı makroskopik görünümü yoktur. Diffüz ya da fokal, ülser, ekzofitik ya da nodüler olabilir. Yerleşim olarak fundusu ya da alt uterin segmenti tutabilir. Genellikle açık kahverengi renktedirler. Ülser yüzey altında yumuşak ya da sert, beyaz renkli tümör myometriumu değişik oranlarda invaze eder. Özellikle kötü diferansiye olanlarda fokal hemoraji ve nekroz yaygındır. Kanserlere genellikle hiperplazi veya polip eşlik eder (11).

Endometrial Kanserlerin Morfolojik Tipleri

Endometrium kanserine ait güncel sınıflandırma Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Endometrial kanserlerin 2003 sınıflaması (8)

- | | |
|---|--------------------------|
| 1. Endometrioid adenokarsinom | |
| -Skumöz diferansiasyon gösteren varyant | -Sekretuar varyant |
| -Villoglandüler varyant | -Silyalı hücreli varyant |
| 2. Müsinöz adenokarsinom | |
| 3. Seröz adenokarsinom | |
| 4. Şeffaf hücreli adenokarsinom | |
| 5. Mikst tip adenokarsinom | |
| 6. Skumöz hücreli karsinom (SCC) | |
| 7. Transizyonel hücreli karsinom | |
| 8. Küçük hücreli karsinom | |
| 9. İndiferansiye karsinom | |

Endometrioid adenokarsinom: Endometrial kanserin en sık görülen tipidir, tüm vakaların $\frac{3}{4}$ ’ünden fazlasını oluşturur. Endometrioid olarak adlandırılmasının nedeni proliferatif fazdaki endometriuma benzemesidir. Çoğunluğu küboidal veya alçak kolumnar epitelle döşeli iyi diferansiye, irregüler kompleks glandüler yapılardan oluşur.

Skumöz diferansiasyon gösteren endometrioid adenokarsinom: Endometrioid adenokarsinomların %20-50 ya da daha fazlası değişen miktarlarda skumöz diferansiasyon gösteren neoplastik epitel içerir. Skumöz diferansiasyon gösteren ya da göstermeyen endometrial adenokarsinomlar arasındaki fark klinik olarak önemli değildir. Yine de skumöz diferansiasyonu tanımak gereklidir. Skumöz solid komponentin parçası sayılıp derece yükseltilmemelidir (23).

Villoglandüler karsinom: En sık görülen endometrioid adenokarsinom varyantıdır (8). Hafif-orta derecede atipi gösteren oval nükleuslu stratifiye kolumnar hücrelerle döşeli, ince santral korları olan villöz yapılar ile karakterizedir. Myometrial invazyon genellikle yüzeyeldir. Endometrioid karsinomdan daha iyi diferansiyedir. Genellikle tipik endometrioid karsinomla birlikte bu nedenle endometrioid karsinomun varyantı sayılır.

Sekretuar karsinom: Erken ya da orta sekretuar endometriuma benzer subn kleer ya da supranükleer sitoplazmik vakuol içeren hücrelerle d  eli, iyi geli mi  glandlardan oluşur. İyi prognozludur (24). Oldukça nadirdir, endometrial kanserlerin sadece %1-2'sini oluşturur.

Silyalı hücreli karsinom: Endometrioid karsinomun nadir bir varyantıdır. Kribriform patern sergiler. Glandlar tubal epitele benzer silyalı, belirgin eozinofilik sitoplazmalı hücrelerle d  elidir. Çoğu endometrioid karsinom ile birlikte ara sıra müsinöz karsinomla birlikte gösterir.

Müsinöz adenokarsinom: Endoserviks müsinöz karsinomuna benzer nadir bir tiptir. Endometrial kanserlerin çoğu fokal m sin içerir ancak müsinöz karsinom bol miktarda m sin içeren, bazalde yerle mi  nükleuslara sahip hücrelerden oluşur. Müsin ile dolu kistik glandüler alanlar tipiktir. Nükleer atipi hafif ya da orta derecededir. Mitotik aktivite belirgin değildir. D  uk dereceli ve minimal invaziv olma eğilimindedir. Prognoz çok iyidir.

Seröz adenokarsinom: Tip II endometrial kanserdir (25). Genellikle ya lı kadınlarda inaktif ya da atrofik endometriumdan gelişir (26). Overin seröz karsinomuna benzer papiller patern yaygın bulgusudur. Sıklıkla kompleks, geniş, kaba fibrovasküler koru d  eyen pleomorfik, belirgin atipi sergileyen epitelyal hücrelerden oluşur. Mitoz siktir ve atipik mitozlar içerir. Glandüler ve solid alanlar olabilir. %30-50 oranında “psammom cisimcikleri” görülebilir. Belirgin nükleer atipi her zaman vardır ve tümörü seröz karsinom olarak adlandırmak için gereklidir. Uterin ve adneksial, lenfatik ve damarlara invazyon gösteren oldukça agresif bir tümördür. Prognoz kötüdür.

Şeffaf hücreli adenokarsinom: Tip II endometrial kanserdir, görülme sıklığı %1-6 arasında de i ir. Solid, papiller, tübüler ve kistik patern sergileyebilir. Solid patern eozinofilik hücrelerle karışık şeffaf hücre kitlelerinden oluşur. Papiller, tübüler ve kistik patern ise dominant olarak hobnail hücreler ve arada şeffaf ve eozinofilik hücreleri içerir. Papiller alanlarda psammom cisimcikleri görülebilir. Şeffaf sitoplazma glikojen varlığı nedeniyledir. Nükleer atipi her zaman belirgindir. Mitotik aktivite yüksektir, anormal mitozlar görülür. Yüksek grade'li olma ve derin invazyon yapma eğiliminde olup agresif gidi lidir (10).

Mikst tip adenokarsinom: Endometrial Tip I (endometrioid karsinom, onun varyantları ya da müsinöz karsinom) ve tip II karsinomun (seröz ya da şeffaf hücreli) karışımından oluşur. Bu tanı için bir komponent, tümörün en az %10'unu oluşturmmalıdır (8).

Skumöz hücreli karsinom: Herhangi bir yerde görülen SCC ile aynı özellikte primer endometrium kanseridir. Endometrit, piyometra, endometriumun benign skumöz metaplazisi ile ilişkilidir. Bu tanının verilebilmesi için aynı zamanda endometriumda adenokarsinom olmamalı, serviksin primer odak olmadığından emin olunmalıdır (27).

Transizyonel hücreli karsinom: Tümörün %90'dan fazlası ürotelyal/transizyonel hücrelere benzer. Oldukça nadirdir. 15 vaka bildirilmiştir (28). Sıklıkla grade 2-3'tür (19). Yaşlı hastalarda görülür ve saldırgan davranış biçimi gösterir.

Küçük hücreli karsinom: Oldukça nadirdir, %1 görülür. Histolojik olarak diğer organların küçük hücreli karsinomları ile aynıdır. Prognozu kötüdür.

İndiferansiye karsinom: Tümör glandüler ya da skumöz diferansiasyon göstermez. %1-2 görülür (10).

Diğer nadir endometrial kanser tipleri ve metastazları: Primer endometrium tümörü olarak camısı hücreli karsinom, yolk sac tümör, dev hücreli karsinom, koryokarsinom, adenoid kistik karsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom, hepatoid adenokarsinom, Ewing sarkom, periferik primitif nöroektodermal tümör çok nadir olarak bildirilmiştir. Meme karsinomu uterusu en sık metastaz yapan ekstrasjenital tümördür. Mide tümörü, malign melanom, akciğer tümörü, kolon tümörü, pankreas tümörü ve böbrek tümörü de gittikçe azalan sıklıkla uterusu metastaz yapabilir (12).

Endometrial Kanserlerde Derecelendirme

Tümörün diferansiyasyon derecesi grad olarak da bilinmektedir. Endometrial kanserlerde önemli bir prognostik göstergedir. Derecelendirme histolojik ve nükleer özelliklere göre yapılır. Histolojik grad solid alanların varlığına göre belirlenir. Nükleer derecelendirme nükleer boyut ve şekil, kromatin dağılımı, nükleolusun boyutuna göre yapılır. Endometrial karsinomların derecelendirilmesi aşağıda verilmiştir (11).

Yapısal Derecelendirme

Grad 1 adenokarsinom: Solid alanlar tümörün %5'den azını oluşturur.

Grad 2 adenokarsinom: Solid alanlar tümörün %6-50'sini oluşturur.

Grad 3 adenokarsinom: Solid alanlar tümörün %50'den fazlasını oluşturur.

Skvamöz diferansiasyon alanları solid tümör alanları sayılmamalıdır. Yapısal grad, belirgin nükleer atipi (nükleer grad 3) varlığında bir grad arttırılır (12). Seröz adenokarsinom ve şeffaf hücreli adenokarsinomlarda grad verilmez (11). Yapısal ve nükleer grad belirgin uyumsuzluk gösteriyorsa tümörün seröz karsinom olabileceğinden şüphelenilmelidir.

Nükleer Derecelendirme

Grad 1 endometrioid adenokarsinom: Nükleus oval-yuvarlak, kromatin dağılımı düzgün, nükleus belirgin değildir.

Grad 2 endometrioid adenokarsinom: İrregüler oval nükleus, kromatin kümelenmesi ve orta büyüklükte nükleolus dikkati çeker.

Grad 3 endometrioid adenokarsinom: İri-pleomorfik nükleus, kaba kromatin ve iri düzensiz nükleolus izlenir (29).

Endometrial Kanserlerde Evrelendirme

Endometrium kanserinde evreleme, tedavinin belirlenmesi ve prognoz açısından önemlidir. Önceleri uterin korpus tümörleri; uterusun ultrasonografik incelemesi, fraksiyone küretaj ve pelvik muayeneye dayanan tümör hacmi ve yayılımının klinik olarak değerlendirilmesiyle evrelendirilmekteydi. 1988'de "The International Federation of Gynecology and Obstetrics" (FIGO) histerektomi, bilateral salpingooferektomi ve lenf nodu örneklerini değerlendirerek tümörleri uterusu sınırlılığı, uterin serviks ve pelvik organlara uzanımı, pelvis dışına ve uzak alanlara yayılımına göre dört evreye ayırmıştır (8) ve 20 yıl boyunca geçerliliğini koruyan FIGO 1988 evreleme sistemi 2009 yılında bazı değişiklikler yapılarak yenilenmiştir (24) (Tablo 2, 3).

Tablo 2. Endometrium korpus tümörlerinde cerrahi evreleme, The International Federation of Gynecology and Obstetrics, 1988 (8)

Evre IA	Tümör endometriumda sınırlıdır.
Evre IB	Tümör miyometriumun yarısından azını invaze etmiştir.
EvreIC	Tümör miyometriumun yarısından fazlasını invaze etmiştir.
Evre IIA	Tümör endoservikal glandları tutmuştur.
EvreIIB	Tümör serviks stromasını tutmuştur.
Evre IIIA	Tümör serozayı, adneksleri tutmuştur ya da periton sitolojisi pozitifdir.
Evre IIIB	Vajinal metastaz vardır.
Evre IIIC	Pelvik-paraaortik lenf nodlarına metastaz vardır.
Evre IVA	Mesane ve/veya barsak mukozası tutulmuştur.
Evre IVB	İntraabdominal ve/veya inguinal lenf nodu ya da uzak metastaz vardır

Tablo 3. Endometrium korpus tümörlerinde cerrahi evreleme, The International Federation of Gynecology and Obstetrics, 2009 (24)

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

Endometrial Kanserlerde Yayılım

Endometrium kanserlerin yaklaşık %50'si endometriumda sınırlıdır. %26'sı yüzeysel ve %12'si derin myometriyal invazyon gösterir. Uterus dışına yayılım oranı ise %12 olarak bildirilmiştir (30).

Lokal yayılım: Tümörün komşu organlara yayılımıdır. Bu yolla myometrium, serviks ve adnekslere yayılım olabilir. İyi diferansiye tümörler genellikle uterus kavitesine doğru büyürken, kötü diferansiye olanlar myometriyumu invaze etme eğilimindedirler.

Lenfatik yayılım: Bu yolla pelvik, paraaortik ve inguinal lenf nodlarının tutulabileceği bilinmektedir. Lenfatik tutulum tümörün histolojik farklılaşma derecesi (grad), myometriyal invazyon gibi risk faktörlerinden etkilenmektedir. Uterus fundusundaki tümörlerde, endometriumun lenfatik kanalları infundubulopelvik ligament içinden geçerek subovaryan pleksuslara gittiği için buradan hem eksternal iliak lenf nodlarına hem de doğrudan paraaortik lenf nodlarına yayılabilirler. Uterusun orta ve alt kısmının lenfatikleri ise ligamentum latum yaprakları arasındaki lenfatikler yoluyla pelvisteki eksternal iliak, internal iliak ve obturator lenf nodlarına yayılırlar. Tümör hücreleri buradan paraaortik lenf nodlarına gider. Endometrium kanserinde paraaortik lenf nodu tutulumu oranı %3.4-11.5'tir (31). Pelvik lenf nodu tutulumu bulunan olguların %28.6-66.7'sinde eş zamanlı paraaortik lenf nodu tutulumu saptanmaktadır (32). Endometrial lenfatiklerin parametriumu aşması hakkındaki bilgiler kısıtlıdır ve parametrial tutulumun serviks karsinomunun aksine çok az görüldüğü bildirilmektedir. Paraaortik lenf nodlarından pelvik ganglionlara retrograd lenfojen yayılım da olanaklıdır, ancak çok nadirdir. Nadiren ligamentum rotundum yoluyla inguinal lenf nodları tutulabilir.

Hematojen yayılım: Yaygın değildir ve hastalığın ancak ileri dönemlerinde görülebilir. Hematojen yayılım en sık akciğerler olmaktadır (%8.4). Karaciğer, beyin ve kemik metastazlarında bu yolla görülebilmektedir.

Peritoneal yayılım: Tubal orifislerden periton boşluğuna düşen tümör hücrelerinin yayılımında önemli olduğu ve bu nedenle periton sitolojisinin prognostik önemi bulunduğu savunulmaktadır. Ancak tubal ligasyon geçirmiş hastalarda da peritoneal sitoloji pozitifliği bildirilmiştir.

Endometrial Kanserlerde Prognostik Faktörler

Evre: Tanı anında tümörün yayılımını gösteren en önemli bir prognostik faktördür (33). Myometrial invazyon, adneksiyel tutulum, intraperitoneal metastaz, peritoneal sitoloji, pelvik ve paraaortik lenf nodu metastaz tümörün evrelendirilmesinde önemlidir. Myometrial invazyon düşük evreli olgularda bağımsız prognostik parametredir.

Histolojik grad: Önemli bir prognostik göstergedir. Grad arttıkça 5 yıllık sağ kalım oranı azalmaktadır. Evre 1 ve 2 endometrioid karsinomlarda 5 yıllık sağ kalım oranları grad

1'de %94, grad 2'de %84, grad 3'de %72 bulunmuştur. Histolojik grad yaş, evre, myometrial invazyon derinliği gibi diğer prognostik faktörlerle büyük bir uyum gösterir (33).

Histolojik tip: Histolojik tip biyolojik davranışın ve olası sağ kalım süresinin önemli bir göstergesidir (33). Seröz ve şeffaf hücreli tip daha agresiftir (34). Seröz kanserlerde uterus dışına yayılım, derin myometrial invazyon ve vasküler invazyon siktir. Şeffaf hücreli kanserler de oldukça agresif davranış sergiler. Prognoz açısından bakıldığında 5 yıllık yaşam oranları Tip I tümörler için %80-90 iken tip II tümörler için %10-30 oranındadır (34).

Myometrial invazyon: Myometrial invazyon derinliği düşük evreli olgularda bağımsız prognostik parametredir. İnvazyon derinliği arttıkça sağ kalım oranları azalmaktadır.

Lenfovasküler invazyon: Endometrioid adenokarsinomlarda vasküler invazyon nadir olmasına rağmen sıklığı derin myometrial invazyon, agresif hücre tipleri ve azalmış histolojik diferansiasyonla birlikte artmaktadır. Lenfatik invazyon, myometrial invazyon derinliği ve histolojik grad, bağımsız olarak rekürrens ve tümöre bağlı ölümün güçlü bir göstergesidir.

Periton sitolojisi: Periton sıvısı pozitifliğinin sıklıkla, yüksek grad, derin myometrial invazyon ve ekstrauterin yayılım gibi yüksek risk faktörleri ile birlikte görüldüğü, bağımsız prognostik faktör olmadığı ancak diğer yüksek risk faktörleri ile birlikte saptandığı zaman prognoz üzerinde olumsuz etkisi olduğu görüşü ağırlıktadır. Uterus içine sınırlı evre I ya da II tümörlerde tek başına periton sıvısı pozitifliğinin tedaviyi yönlendirmede etkinliği tartışmalıdır. Bu nedenle revize edilen FIGO evrelemesinde (2009) periton sıvısı pozitifliği evre III kategorisinden çıkarılmış ve ayrıca belirtilmesi önerilmiştir (35).

Ploidi: Endometrial adenokarsinomların 2/3'ü diploid hücrelerden oluşurlar. Diploid tümörler daha az agresif hücre tipleri, yüzeysel invazyon, düşük histolojik grad diferansiasyon ile birlikte olma eğilimindedirler. Sağ kalım süreleri daha uzundur (25).

Steroid reseptörler: Endometrial kanserlerin çoğu östrojen ve progesteron reseptörü içerir. Tümördeki steroid reseptör miktarı histolojik grad, FIGO evresi ve sağ kalım süresi ile korelasyon gösterir. Düşük rekürrens olasılığı ve uzun sağ kalım süresinin göstergesidir. Ancak steroid hücre reseptörlerinin bağımsız prognostik faktör olmadığını gösteren çalışmalar da vardır. Son dönem yapılan çalışmalarda steroid reseptörleri ile survi arasında ilişki

saptanmamıştır (36). Genel olarak bakıldığında steroid reseptörlerinin bağımsız bir prognostik parametre olmadığı ancak özellikle östrojen reseptör varlığı ile myometrial invazyon derinliği ve diferansiyasyon arasında anlamlı bir korelasyon olduğu görülmektedir.

Proliferasyon belirteçleri: Ki-67 seröz ve şeffaf hücreli kanserde daha fazla eksprese edilir, grad ve mitoz ile bağlantı gösterir (37).

Bcl-2 ve Apoptoz belirteçleri: Bcl-2 basit endometrial hiperplazide yüksek miktarda eksprese edilirken, atipik hiperplaziden adenokarsinoma doğru giderek azalır. Bcl-2 kaybı derin invazyon, negatif östrojen ve progesteron reseptör durumu, FIGO evresinin yüksekliği ve agresif hücre tipleri gibi kötü prognostik faktörler ve aynı zamanda rekürrens ve lenf nodu metastazı ile ilişkilidir (38).

p53 aşırı ekspresyonu: Tümör tipi, derecesi ve evresi ile ilişkilidir (33). Normal hücrelerde p53 proteini yüksek oranda bulunmaz, çünkü fizyolojik koşullarda ubiquitin aracılı proteoliz nedeniyle çok kısa yarılanma ömrüne sahiptir. Çevresel faktörler ile mutasyona uğrayan p53 geni anormal p53 proteini üretmeye başlar. Yarılanma ömrü daha uzun olan bu anormal p53 proteini hücre çekirdeğinde birikir (33). Endometrial kanserlerin daha kötü prognozlu tipleri olan seröz ve şeffaf hücreli histolojik tiplerinde p53 mutasyonu endometrioid tipe göre daha yüksek oranda bulunmuştur.

HER2/neu ekspresyonu: Bu onkogenin aşırı ekspresyonu kötü sağ kalım oranlarıyla birliktelik gösterir (33).

Epidermal büyüme faktörü reseptörü: Bu belirtecin ekspresyonu mikroskopik grad ve kısa sağkalım oranları ile ilişki gösterir (34).

Mikrosatellit instabilite (MSI): Mikrosatellitler tekrarlayan DNA sekanslarıdır. Tekrarın sık olması nedeniyle replikasyon sırasında hasara daha açık bölgelerdir. DNA “mismatch” tamir genlerinde meydana gelen mutasyonlar mikrosatellit hasarlarının giderilememesi ile sonuçlanır. MSI sporadik endometrioid endometrial kanserlerde %30 oranında saptanmaktadır ve iyi prognoz ile ilişkili bulunmuştur (39).

Anjiogenezis ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF): Tümörün büyümesi ve yayılımı yeni damar oluşumuna bağlıdır. Yeni damar oluşumu, tümör hücrelerinden, ekstraselüler matriksten ve konak hücrelerden salınan anjiogenik faktörlerle sağlanır. Yüksek mikrodamar dansitesi diğer risk faktörlerinden bağımsız önemli bir azalmış sağ kalım göstergesidir.

Yaş, ırk ve sosyoekonomik düzey: Genç kadınlarda tümör daha az invaziv ve daha düşük derecede olma eğilimindedir.

HİPOKSİ VE ANJİOGENEZ

Anjiogenezin Oksijen İle Düzenlenmesi

Hipoksi ile anjiogenezin regülasyonu hemostatik kontrol mekanizmalarının önemli bir parçasıdır. Bu sayede kardio-pulmoner-vasküler O₂ desteği ile dokuların metabolik ihtiyaçları arasında denge sağlanır (40). O₂'nin anjiogenezi regüle etmesindeki rolü vasküler ve neoplastik hastalıklarda yapılan patofizyolojik çalışmalar ile gösterilmiştir. Preterm doğanlarda oluşan prematüre retinopatisi bu duruma iyi bir örnek oluşturur (41). Tümör dokusu içinde O₂ ve besinsel kaynakların bulunulabilirliği aktif bir şekilde proliferen hücrelerin kendi arasındaki yarış nedeniyle sınırlıdır ve metabolitlerin difüzyonu yüksek interstisiyel basınç nedeniyle inhibe edilmiştir (42). Tümör içi hipoksiye cevap olarak tümör hücreleri tarafından üretilen anjiogenezi uyarıcı faktörler var olan damar yatağından yeni damarların oluşmasına neden olur. Bu aşama tümör hücrelerinin konak dokuda hayatta kalabilmesi ve proliferen olması için en kritik adımı oluşturur (43).

Hipoksiye Genetik Cevap

Önemli hücresel fonksiyonların idamesinde oksijen transkripsiyonel bir sinyal görevi görür. Böylece de fizyolojik ve patolojik bir süreç başlatılmış olur. Hipoksiye cevap olarak organizmalar adaptasyon aşamasında çeşitli mekanizmalar geliştirirler. Genetik olarak transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel olaylarla bazı genler pozitif yönde aktive edilirken bazı genler de inaktif ya da negatif yönde etkilenir. HIF-1 de uzun zamandır araştırılan ve hipoksi esnasında transkripsiyonu düzenleyen başlıca proteinlerden biridir (44).

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 (Hypoxia Inducible Factor-1) (HIF-1): Tümör hücrelerinin hipoksiye olan adaptasyon mekanizmalarından biri HIF-1'dir. HIF-1 bir nükleer

proteindir ve hücrenin O₂ hemostazında önemli bir role sahiptir. HIF-1, HIF-1 α ve HIF-1 β subünitelerinden oluşan bir heterodimerik komplekstir. HIF-1 β pek çok proteinde de bulunan ve hem hipoksi hem de normal O₂ saturasyonunda eksprese edilen parçadır. HIF-1 α ise ortamda bulunan O₂ miktarı ile regüle edilen ve HIF-1'in aktivitesini belirleyen subünittir.

İnsanlarda HIF1A, EPAS1 ve HIF3A genleri sırasıyla HIF-1 ve yapısal olarak benzerlik gösteren HIF-2 ve HIF-3'ü kodlarlar (45). HIF-1 ve HIF-2 yapısal olarak çok benzerler ve ikisi de hipoksik ortamla indüklenerek HIF-1 β subünitesinden ayrılır ve pek çok transkripsiyonel aktivitelere aracı olur. HIF-3 ise hipoksiye olan genetik cevabı negatif yönde etkileyerek görev yapar (46). HIF-1 tarafından aktive edilen 40'tan fazla gen olduğu bilinmektedir (Tablo 4) (47). Ancak son zamanlarda yapılan bir çalışmada arteriyal endotel hücrelerinde, tüm insan genlerinin %2'den fazlasının direkt ya da indirekt yoldan HIF-1 ile regüle edildiği gösterilmiştir (48).

Hipoksik koşullar altında hipoksi ile indüklenen faktör-1 aktivitesi: Oksijen konsantrasyonundaki değişimlere bağlı olarak HIF-1 ile regüle edilen genlerin transkripsiyonunda düzenlemeler gerçekleşir. HIF-1 β 'nın sürekli eksprese edilmesinden farklı olarak HIF-1 α ekspresyonu azalan O₂ konsantrasyonuna bağlı olarak artar (49). Hipoksiye hızlı bir şekilde cevap verebilmek için hücreler HIF-1 α proteinini düzenli ve devamlı olarak hipoksik olmayan koşullarda da sentez ve elimine ederler (50). Hipoksik ortamda ise HIF-1 α yıkımı inhibe olur ve bu protein miktar olarak artar. HIF-1 β 'nın dimerizasyonu sonrasında da HIF-1 α hedef genlerine aracı moleküller ile bağlanır ve transkripsiyon aktive olur (Şekil 1) (51,54).

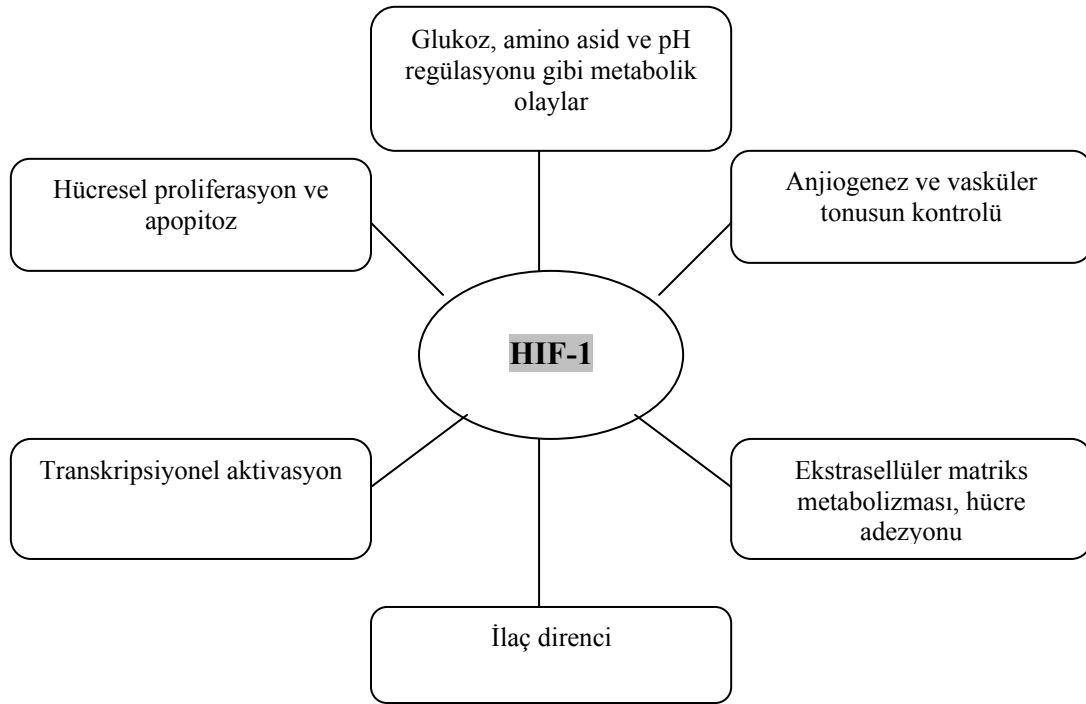
Tablo 4. Hipoksi ile indüklenen faktör-1 ile direkt olarak regüle edilen bazı genler (47)

Gen Ürünü
α 1B-Adrenerjik reseptör
Adrenomedüllin
Aldolaz A (ALDA)
Atrial natriüretik peptid
Endotelin-1
Enolaz 1
Eritropoetin
Fosfoglisarat kinaz 1
6-Fosfofrükto-2-kinaz / früktoz-2,6-bifosfotaz-3 (PFKFB3)
6-Fosfofrükto-2-kinaz / früktoz-2,6-bifosfotaz-4 (PFKFB4)
Glukoz transporter 1 (GLUT1)
Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz
Hem oksijenaz-1
HIF-1 α prolil hidroksilaz PHD3 (EGLN3)
HIF-1 α prolil hidroksilaz PHD2 (EGLN1)
İntegrin β 2
Karbonik anhidraz 9
Laktat dehidrogenaz A (LDHA)
Laktaz
Leptin
Membran tip-1 matriks metalloproteinaz
Myeloid hücre faktörü 1 (MNL1)
Nitrik oksit sentaz 2
Plasminojen aktivatör inhibitörü 1
Seruloplasmin
Telomeraz (TERT)
Transferrin
Transferrin reseptör
Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)
Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptör-1 (VEGFR-1)

ALDA : Aldolaz A, **PFKFB3:** 6-Fosfofrükto-2-kinaz / früktoz-2,6-bifosfotaz-3, **PFKFB4:** 6-Fosfofrükto-2-kinaz / früktoz-2,6-bifosfotaz-4, **GLUT1:** Glukoz transporter 1, **HIF-1 α :** Hipoksi ile indüklenen faktör, **EGLN3:** HIF-1 α prolil hidroksilaz PHD3, **EGLN1:** HIF-1 α prolil hidroksilaz PHD2, **LDHA:** Laktat dehidrogenaz A, **MNL1:** Myeloid hücre faktörü 1, **TERT:** Telomeraz, **VEGF:** Vasküler endotelial büyüme faktörü, **VEGFR-1:** Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptör-1.

Hipoksik olmayan koşullar altında hipoksi ile indüklenen faktör-1 aktivitesi:

Hipoksi dışındaki bazı fizyolojik uyarılar sonrasında da HIF-1 aktive olabilir ve hipoksik olmayan ortamda, hipoksi ile indüklenen genlerin transkripsiyonu gerçekleşebilir. HER2/neu ya da IGF-1 reseptörü tirozin kinaz O_2 bağımsız mekanizmalar ile HIF-1 ekspresyonunu indükleyebilir ve HIF-1 α proteini sentezi artabilir (53). Büyüme faktörlerine ek olarak prostaglandin E2, trombin, anjiotensin II, asetilkolin ve bazı nitrik oksit deriveleri hipoksik olmayan koşullarda da HIF-1 α sentezini arttırabilirler (54).



Şekil 1. Hipoksi ile indüklenen faktör-1 ile transkripsiyonel olarak aktive olan olaylar ve genler (52)

HIF-1: Hipoksi ile indüklenen faktör-1.

Kanser hücresinde hipoksi ile indüklenen faktör-1 aktivitesi: İnsan tümör dokusu biopsilerinin yapılan immünohistokimyasal çalışmalarında HIF-1 α 'nın pek çok kanser türlerinde aşırı miktarda eksprese olduğu gösterilmiştir (55). Tümörlerdeki yüksek düzeydeki HIF-1 α konsantrasyonu tümör içi hipoksinin sıklıkla var olduğunu ve kanser hücrelerinde artmış HIF-1 α ekspresyonu ile sonuçlanan bazı benzer genetik değişikliklerin varlığını göstermektedir (Tablo 5) (56).

Ek olarak, HIF-1 α 'nın glukoz transportu ve glikolitik enzimleri regüle eden genlerin aktivasyonuna da neden olduğu gösterilmiştir. Kanser hücresi metabolizması normal dokudaki hücreden farklılık gösterir. Kanser hücresi yüksek glikolitik hız sergiler ve artmış miktarda laktat ve pirüvat üretir. Bunlara ilaveten kanser hücrelerinde HIF-1 α 'nın aşırı ekspresyonuna neden olan benzer genetik değişikliklerin olması, tümör progresyonu için HIF-1 α 'nın önemini akıllara getirmiştir. Bu varsayım yapılan çalışmalar ile desteklenmiş ve HIF-1 α 'nın aşırı ekspresyonunun bazı kanser türlerinde artmış mortalite riski ile birlikteliği gösterilmiştir (57).

Tablo 5. Kanser hücresinde artmış hipoksi ile indüklenen faktör-1 α ekspresyonuna ait bazı mekanizmalar (56)

Tümördeki değişiklik	Altta yatan moleküler mekanizma
Hipoksi	↓ Ubiquitinizasyon
VHL fonksiyon kaybı	↓ Ubiquitinizasyon
SDH fonksiyon kaybı	↓ Ubiquitinizasyon
p53 fonksiyon kaybı	↓ Ubiquitinizasyon
PTEN fonksiyon kaybı	↑ Sentez

VHL: von Hippel-Lindau protein, **SDH:** süksinat dehidrogenaz, **PTEN:** fosfataz ve tensin homolog delesyonu kromozom 10.

Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1'in Anjiogenezdaki Rolü

Anjiogenez birbirinden bağımsız pek çok mekanizmaya bağlıdır. Damar duvarında oluşan bütünlük kaybı, endotel hücrelerin dinlenme döneminden çıkmasına ve proliferatif fenotipe dönmesine neden olur (Tablo 6) (49). VEGF aracılı artmış damar geçirgenliği ile matriks elemanları ve proteazlar lokal bir alanda damar dışına çıkarlar. Endotel hücreleri proliferate olur ve yeniden yapılanan matrikse doğru yönelerek içinden kanın rahatça geçebileceği tubal yapılar oluştururlar. Bunlara ek olarak, mezenkimal hücreler de proliferate olurlar ve yeni damarlar etrafına göç ederek perisitlere dönüşürler. Hücreler arası ilişkinin güçlenmesi ve yeni matriks elemanlarının varlığı ile yeni damar stabilize edilir (58).

Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1'i Hasarlanmış Farede Vasküler Değişiklikler:

Farelerde HIF1 α geni HIF-1 α 'yı, bir başka gen olan Arnt ise HIF-1 β 'yı kodlar. Bu iki genin hedef yapılararak yok edilmesi, çok fazla sayıda endotel hücresinin ölümüyle giden ciddi vasküler regresyona neden olan lethal değişikliklerle sonuçlanır (59). HIF1 α -/- farede, oluşan hasar hem yolk kesesi hem de gelişmekte olan embryo döneminde saptanır ve perfüzyon eksikliğine bağlı ciddi hipoksi oluşur (60). Nöronlarda HIF-1 α ekspresyonu eksikliğine bağlı olarak serebral atrofi de gözlenmiştir (61). HIF-1 α ekspresyonunun kaybına bağlı olarak endotel hücrelerinde proliferasyon, kemotaksis ve ekstrasellüler matriks penetrasyonu gibi anjiogenez aşamalarında farklılıklar olur. Endotel hücresindeki HIF-1 α geni hasarlanmış farelerde solid tümör vaskülarizasyonunda ciddi eksiklik olduğu görülmüştür (62).

Tablo 6. Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α ile regüle edilen anjiogenezin aşamaları (49)

<u>Anjiogenezin aşaması</u>	<u>Faktör</u>
Arterde destabilizasyon	VEGF, PLGF, Flt-1
Artmış vasküler geçirgenlik	VEGF, Flt-1, anjiopoetin-2, Tie-2
Ekstrasellüler matrikste yeniden şekillenme (remodelling)	MMPs, kollajen prolil-4-hidroksilaz
Endotel hücrelerinin proliferasyonu ve göçü	VEGF, PLGF, anjiopoetin-1, MCP-1, PDGF, SDF-1
Tubal oluşum ve hücreler arası kontakt	VEGF, PLGF, anjiopoetin-1
Damar bütünlüğünün sağlanması	PDGF, PAI-1, anjiopoetin-1, Tie-2

VEGF: vasküler endotelial büyüme faktörü, **PLGF:** plasental büyüme faktörü, **Flt-1:** fms-benzeri tirozin kinaz, **Tie-2:** tirozin kinaz ile immünoglobulin ve epidermal büyüme faktörü homolojisi, **MMP:** matriks metalloproteinaz, **MCP-1:** monosit kemoatraktan protein 1, **PDGF:** trombosit kaynaklı büyüme faktörü, **SDF-1:** stromal hücrelerel-derive faktör 1, **PAI:** plasminojen aktivatör inhibitörü.

Hipoksi İle İndüklenen Faktör-1 İle Regüle Edilen Anjiogenezin Tedavide Kullanımı

İskemik kardiovasküler hastalık: Tedavisel amaçlı anjiogenez anjiogenik büyüme faktörlerinin ya da bu proteinleri kodlayan DNA dizilerinin iskemik dokulara uygulanması yoluyla neovaskülarizasyonun bu dokularda uyarılmasını amaçlar. VEGF, PDGF ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi pek çok anjiogenik faktör prelinik çalışmalarda ve faz I klinik uygulamalarda güvenlilik anlamında umut verici olmakla birlikte, faz II çalışmalarda kısıtlı etkinliğe sahip olarak gösterilmiştir (63). Yine yapılan çalışmalarda belirli anjiogenik faktörlerin arttırılmasından çok HIF-1 aktivitesinin arttırılmasının daha iyi bir yaklaşım olacağı düşünülmüş ve deneysel çalışmalar bu hipotezi desteklemek üzere planlanmıştır.

Deneysel olarak HIF-1'in aktivasyonu için çeşitli stratejiler geliştirilmiştir. HIF-1'in O₂-bağımlı eliminasyonu aşamasının bloke edilmesi sürekli olarak aktif ve stabil bir HIF-1 α molekülü oluşmasına neden olur (64). Bir diğer mekanizma keratin 14 geni (K14) promoteri kullanılarak transgenetik yoldan HIF-1'in aktivasyonudur ve böylece yeni damarların geliştiği gözlemlenmiştir (65).

Bir diğer alternatif yol, AdCA5 ismi verilen ve replikasyon yeteneği olmayan rekombinant bir adenovirüsün kullanımıdır. HIF-1 α 'nın O₂ bağımlı eliminasyonunu bloke eden nokta mutasyonu ile sürekli olarak aktif formda HIF-1 α kodlanması sağlanmaktadır (64). AdCA5'in intravitröz enjeksiyonu sonrasında retinal damarlarda neovaskülarizasyonun

uyarıldığı gösterilmiştir (64). Bu etki VEGF ekspresyonunun aktive olması ile sağlanmıştır. AdCA5'in aterosklerotik tıkanmaya bağlı ekstremitelerde intravasküler oklüzyonu olan tavşanda intramüsküler enjeksiyonu sonrasında anjiogenezin aktive olduğu gösterilmiştir (66).

Kanser: HIF-1 α 'nın aşırı ekspresyonunun astrositom, gastrointestinal stromal tümörler, mesane, malign melanom, Wilms tümörü, kolon, ösafagus, endometrium, hepatoselüler, over, akciğerin küçük-hücre dışı tümörlerinde ve pankreas kanserinde artmış mikrodamar dansitesi ve/veya VEGF ekspresyonu ile birlikteliği bilinmektedir. HIF-1'in eksprese edilen miktarı arttıkça da pek çok karsinom türünde mortalitenin arttığı görülmüştür.

Tümör vaskülarizasyonundaki önemli rolü nedeniyle, HIF-1 kanser tedavisinde yeni bir hedef molekül olmuştur (57). Bu aşamada HIF-1'i inhibe eden küçük bir molekülün saptanmasına çalışılmış ve "kamptotekinler" olarak da bilinen topoizomerez I inhibitörlerinin HIF-1 α proteini akümülyasyonunu engellediği görülmüştür (67). FDA onaylı bir semi-sentetik kamptotekan analogu olan topotekanın klinik çalışmalar ile insanlar üzerindeki etkinliği farklı başarı oranları ile literatürde bildirilmiştir (68,69). HIF-1 α proteini akümülyasyonunu inhibe eden ikinci ilaç olan 2-metoksiöstradiol ile ilgili olarak da klinik çalışmalar devam etmektedir (70). Klinik çalışma aşamasında olan diğer ilaçlar da PX-478 ve YC-1'dir (71). Ancak kanser patogenezindeki her protein gibi, HIF-1 α aşırı ekspresyonu her kanserde gözlenmemektedir ve her aşırı eksprese olduğu durumda da artmış mortalite ile birlikte değildir. Bu durum da HIF-1'in her kanser türü için tedavisel anlamda bir hedef molekül olmaması gerektiğini göstermektedir.

ENDOMETRİUM KANSERİ VE HİPOKSİ İLE İNDÜKLENEN FAKTÖR-1 İLİŞKİSİ

Hipoksi İle İndüklenen Faktör-1 ve Endometrial Karsinogenez

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α 'nın postmenopozal kadınlarda inaktif endometriumdan hiperplazi ve endometrioid kansere doğru gelişen süreçte aşırı miktarda eksprese olduğu gösterilmiştir (72). Bu bulgular eşliğinde de hipoksi ve HIF-1 α 'nın, endometrial karsinogenezde ve hastalığın progresyonundaki önemi dikkat çekmiştir. Endometrioid kanserlerde PTEN tümör süpresör geni kaybının hipoksi-olmayan mekanizmalarla HIF-1 α ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (73). Ancak HIF-1 α ile tümör evresi, grad ve myometrial invazyon arasındaki korelasyon halen tartışma konusudur.

Hipoksi İle İndüklenen Faktör-1 ve Endometrial Kanserlerde Prognoz

Literatürde HIF-1 α aşırı ekspresyonunun endometrial kanserlerdeki prognostik değerine dair tartışmalı sonuçlar mevcuttur. HIF-1 α , bağımsız bir prognostik faktör olmamakla birlikte, nüks endometrial kanserlerde primer tümörlere oranla daha fazla eksprese edilmektedir (74). Benzer şekilde HIF-1 α 'nın aşırı ekspresyonunun evre I endometrial kanserlerde kötü prognozu gösterdiğine dair yayınlar olsa da karşıt yönde çalışmalar da vardır (6,75). Bu sonuçlarla tümör büyümesindeki önemli yolları bloke ederek oluşturulacak HIF-1 α odaklı tedavi stratejileri güncel bir araştırma konusu olmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü'nde 01.01.2001 ve 13.08.2010 tarihleri arasında Tip I ve Tip II endometrial kanser tanısı almış ve opere edilmiş hastaların kayıtları incelendi. Tip I tümörler olarak endometrioid kanserler çalışma grubuna alınıp, müsinöz tip kanserler çalışma dışı bırakılmıştır. Bu dönemde opere edilmiş ve Tip II endometrial kanser (seröz ve şeffaf hücreli kanserler) tanısı almış ve kayıtlarına ulaşılabilen tüm hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Kriterlere uygun olan 100 hastanın patoloji piyesleri belirlendi. Olguların 9 tanesi şeffaf hücreli, 9'u seröz tip ile toplam 18 hasta Tip II endometrial kanser, kalan 82 tanesi ise endometrioid tip (Tip I) endometrial kanserdi. Tip I (endometrioid) endometrial kanser vakaları seçilirken belirtilen tarihler arası opere edilmiş ileri evre kanser hastalarının (Evre III ve IV) ve yüksek grad saptanan (Grad 3) tümü alınmış, erken evre hastalar için ise Tip II kanserli hastalara evre olarak uyan kişilerin piyesleri dahil edilmiştir. Ek olarak Tip I endometrial kanserli olguların kendi arasında homojen bir dağılıma sahip olması amacıyla birbirine yakın sayıda Tip I grad 1 ve Tip I grad 2 olgu çalışmaya alınmıştır. Tip II olguların tümünün grad 3 olduğu göz önüne alınarak bu tarihler arasında opere edilmiş tüm grad 3 Tip I endometrial olgular çalışmaya alınmıştır ve grad 1, 2, 3 olguların çalışmadaki toplam oranları eşitlenmeye çalışılmıştır.

İlk değerlendirme sonrasında 100 olgudan 6 olgunun arşiv kesitleri ve parafin blokları tamamlanamayarak çalışma dışı bırakıldı ve 94 histerektomi materyali immünohistokimyasal boyama sürecine tabii tutuldu. Çalışmaya alınamayan olguların tümü (n=6) Tip I endometrium kanseri tanısı alan grupta idi. Tüm vakalar FIGO 2009 evreleme sistemine göre yeniden değerlendirildi. 1988 FIGO sınıflamasından farklı olarak, Evre I olgular

miyometrium invazyon derinliğine göre 2 alt gruba ayrıldı: IA: Endometrium içine sınırlı ya da %50'den az miyometrial invazyon, IB: % 50 ya da daha fazla invazyon olarak sınıflandırıldı. Benzer şekilde servikal invazyon 1988 evrelemesinden farklı şekilde yeni revize edilen sisteme göre yapılandırıldı ve IIA alt grubu kaldırıldı ve yalnızca stromal invazyon varlığı Evre II olarak belirtildi. Evreleme sistemi ile ilgili bir diğer ayrıntısal farklılık da periton sitolojisi ile bağlantılı idi. Revize edilen 2009 FIGO evrelemesinde periton sıvısı pozitifliğinin evre III kategorisinden çıkarıldığı ve ayrıca belirtilmesi önerildiği için bu şekilde değerlendirmeye alındı. Lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazları, serviks ve adneksiyal tutulum, pozitif ve negatif olarak değerlendirildi. Derecelendirme (grad) için ise Sayfa 14'de belirtilen kriterler kullanıldı. Tip II kanserler Grad 3 olarak sınıflandırıldı.

Çalışmaya dahil edilen olguların sağkalım bilgileri incelendi. "Toplam sağkalım" belirlenen grup içerisinde belirlenen süre zarfında hayatta kalması öngörülen olgu oranı olarak tanımlandı. Burada meydana gelebilecek ölümlerin kanser ve/veya kanser dışı nedenlerle olabileceği kabul edildi. "Hastalıksız sağkalım" ise kanser nedeniyle tedavi uygulandıktan sonra, olguların belirli bir süre içerisinde hastalık olmadan yaşayan oranı olarak tanımlandı. "Progresyonsuz sağkalım", kanser nedeniyle tedavi uygulandıktan sonra belirlenmiş bir zaman diliminde, hastalıkları stabil olarak kalan (ilerleme bulguları göstermeyen) olgu oranı olarak ifade edildi. Hastalara ait prognoz ve sağ kalım gibi klinik bilgilere hasta takip dosyalarından ve telefon aracılığı ile kendilerinden ve yakınlarından ulaşıldı. Ayrıca bu süreçte Radyasyon Onkolojisi ile Medikal Onkoloji Anabilim Dalları ve Avicenna Hasta Bilgi Yönetim Sistemi kayıtları da tarandı ve bilgiler edinildi.

Çalışmamız 2009/01 protokol numarası ile Edirne Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'nın 18.11.2009 tarihli oturumunda görüşülmüş ve onaylanmıştır (Ek-1). Ek olarak çalışmamız 2010/61 proje numarası ile Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) Komisyonu'nun 26.01.2010 tarihli oturumunda görüşülmüş ve TÜBAP tarafından desteklenmiştir.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM

İmmunohistokimya, immunolojik ilkelere dayanarak varlığı araştırılan antijenlere karşı geliştirilmiş, poliklonal veya monoklonal antikorlar aracılığıyla dokudaki antijeni göstermek amacıyla kullanılan bir yöntemdir.

Her olgudan tümörü en iyi gösterdiğine inanılan bir kesit immunohistokimyasal çalışma için kullanıldı. Seçilen kesitlerin mümkün olduğunca normal endometrium dokusu içermesine dikkat edildi. Tüm olgularda immunohistokimyasal olarak Avidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi kullanılarak HIF-1 α reaksiyonları araştırıldı (Tablo 7).

Tablo 7. Çalışmamızda kullanılan antikorlar ve özellikleri

Antikor	Cinsi	Kaynak /Kod	Uygulama süresi
HIF-1 α Ab-4 (Clone H1alpha67)	MKL- fare	Thermo-Scientific / MS-1164-P1	1 gece
CD34 (Clone QBEND-10)	MKL- fare	Seytek / A00070	30 dakika

HIF-1 α : Hipoksi ile indüklenen faktör-1, **MKL:** Monoklonal

Yöntemin Uygulanışı

1. Endometrioid, seröz ve şeffaf hücreli kanserleri en iyi örnekleyen kesite ait parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler yapıldı. Kesitler 1/10'luk Poly-L-Lysine solüsyonu ile muamele edilmiş camlara alındı.
2. Kesitler 1 gece 37°C bekletilerek deparafinize edildi.
3. Boyama öncesi deparafinizasyona ksilen ile devam edildi. Bu işlem 60°C etüvde 3 kez onar dakika bekletme ve her 10 dakikanın ardından beşer dakika dışarıda soğumaya bırakma şeklinde uygulandı.
4. Ksilenin giderilmesi için %96'lık alkol muamelesine geçildi. Kesitler 60°C etüvde 4 defa onar dakika tutuldu.
5. Lamlar 3 kez distile sudan geçirildi.
6. HIF-1 α için antijen geri kazanımı işlemi yapıldı.
“EDTA buffer pH 6.0 antijen anmaster” (10X, heat- induced epitope) solüsyonu kullanıldı. 90 ml distile suya 10 ml sitrat buffer solüsyonundan eklenerek seyreltildi.
 - a) Mikrodalga fırında maksimum watt'ta 20 dakika, 600 watt'ta 10 dakika kaynatıldı.
 - b) Dışarıda oda sıcaklığına gelene kadar 20 dakika bekletildi.
 - c) Lamlar 3 kez distile sudan geçirildi.
7. Dokularda bulunan endojen peroksiti bloke etmek için 10 dakika 37°C etüvde metanolde hazırlanmış %3'lük H₂O₂ uygulaması yapıldı.

8. Lamlar 3 kez distile sudan geçirildi.
9. Lamlar pH 7.4 olarak hazırlanmış fosfat tampon salin (PBS) solüsyonunda 10 dakika bekletildi.
10. Reaktiflerin kesit dışına taşmasını engellemek için lamlardaki kesitlerin etrafı Pappen ile çizildi.
11. Her bir lama Large Volume Ultra V Blok (Kod No: TA-125-UB, Neomarkers, Fremont, CA, ABD) damlatıldı ve 7 dakika bekletildi. Sonra solüsyon lamlar üzerinden uzaklaştırıldı.
12. Her bir vaka için ayrı ayrı numaralandırılmış lamlara HIF-1 α için +4°C’de bir gece inkübasyon yapıldı.
13. Lamlar üzerindeki antikorlar distile su ile uzaklaştırılıp PBS solüsyonuna alınarak 5 dakika bekletildi.
14. UltraVision Large Volume Detection System Anti-Polyvalent, HRP kitinin (Kod No. TA 125-HL, Neomarkers, Fremont, CA, ABD) 1 nolu Biotinylated Goat Anti-Polyvalent (Kod No. TP-125-BN, Neomarkers, Fremont, CA, ABD) solüsyonu damlatıldı. 1 saat bekletildi.
15. Beş dakika PBS solüsyonu ile yıkanan lamlara, 2 no’lu biotine bağlanacak olan işaretleyici ‘Streptavidin Peroxidase’ (Kod No. TS-125-HR, Neomarkers, Fremont, CA, ABD) damlatıldı ve 1 saat daha bekletildi.
16. Distile su ile yıkanan lamlar PBS solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
17. UltraVision Detection System Large Volume AEC Substrate System (RTU) (Kod No. TA-125-HA, Neomarkers, Fremont, CA, ABD) kitinden karıştırılarak hazırlanan renklendirici solüsyon kesitler üzerine damlatılarak 30 dakika bekletildi.
18. Distile su ile yıkanan lamlar Mayer Hematoksilen solüsyonunda 1 dakika tutularak zıt boyama yapıldı.
19. Lamlar musluk suyunda yıkandı.
20. Lamlar %5’lik amonyak solüsyonuna bir kez batırılarak morartma işlemine tabi tutuldu.
21. Lamlar musluk suyunda yıkandı.
22. Gliserol jel kullanılarak lamel ile kapatıldı.

İmmunohistokimyasal Değerlendirme

Çalışmaya alınan vakalar boyanmadan önce antikorların çalışıp çalışmadığını kontrol etmek amacıyla HIF-1 α antikoruna için katalogta belirtilen kontrol dokuları arşivden temin edilerek boyama yapıldı. Bu amaçla HIF-1 α için serviks skuamöz hücreli karsinom, CD34 içinse normal endometrium dokusu blokları kullanıldı. Boyamalar sonucunda antikorun çalıştığı görüldü. Bu antikorlardan HIF-1 α nükleer, CD34 sitoplazmik boyanma göstermektedir. Bazı araştırmacılar HIF-1 α için sitoplazmik boyanmayı da anlamlı kabul etmektedir (76). Ancak biz çalışmamızda HIF-1 α 'nın moleküler özelliklerini de göz önüne alarak sadece nükleer boyanmayı pozitif kabul ettik.

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α immunreaktivitesi yaygınlık ve yoğunluk için ayrı ayrı değerlendirilmiş, bulunan değerlerin toplanmasıyla elde edilen skoru >2 olanlar pozitif, ≤ 2 olanlar ise negatif olgular olarak kabul edilmiştir (77,78).

HIF-1 α boyanma yaygınlığı

% 0-25	(1+)
% 26-50	(2+)
% 51-75	(3+)
% 76-100	(4+) olarak değerlendirildi.

HIF-1 α boyanma yoğunluğu

Zayıf boyanma.....	(1+)
Orta şiddetli boyanma.....	(2+)
Kuvvetli boyanma.....	(3+) olarak değerlendirildi.

yaygınlık + yoğunluk > 2 ise.....HIF-1 α POZİTİF olarak değerlendirildi.

CD34 antikorları ile mikrovasküler yoğunluğun değerlendirilmesinde; kesitler 40X ve 100X büyütme ile taranarak, en yoğun vasküler yapının olduğu 5 alanda 200X büyütme ile sayım yapıldı. Sayım yapılırken lümen varlığı şartı olmaksızın, pozitif boyanma gösteren hücreler ve hücre kümeleri mikrovasküler yapı olarak değerlendirildi. Eritrosit varlığı damar sayımı için ölçüt olarak alınmadı. Preperatta 5 alandan elde edilen mikrodamar sayısının ortalaması alınarak MDD elde edildi (79).

Olguların immünohistokimyasal boyama ve değerlendirmeleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Tüm incelemeler tek bir öğretim üyesi tarafından gerçekleştirildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Veriler bilgisayarda Statistica 7.0 (Lisans kodu: 31N6YUCV38) paket programı kullanılarak değerlendirildi. Niceliksel verilerin normal dağılıma uygunlukları Tek örneklem Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Gruplar arasında kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki Kare testi kullanıldı. İki grup arasında nicel değişkenlerin karşılaştırılmasında veriler normal dağılıma uymadıkları için Mann Whitney U Testi kullanıldı. Üç ya da daha fazla grup arasında nicel verilerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ANOVA test ullanıldı. Korelasyon analizlerinde sürekli değişkenler için Pearson korelasyon, sıralı değişkenler için Spearman sıra korelasyonu analizleri kullanıldı. Sağkalım analizleri ise Kaplan-Meier testi ile yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Tip I ve Tip II endometrial kanserlerde, HIF-1 α varlığı ve MDD aracılığıyla anjiogenez ile evre, grad ve sağkalım gibi klinik ve histopatolojik prognostik faktörler arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla 2001 ile 2010 tarih aralığında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü'nde endometrial kanser tanısı almış ve ameliyat olmuş, arşiv kesitleri ve parafin blokları tamamlanabilen, 94 hastanın patoloji piyesleri geriye dönük olarak incelendi. Çalışma grubundaki 94 olgunun demografik özellikleri Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Hastaların demografik özellikleri

Klinik Özellikler	
Yaş (yıl)	59.96 $\pm$ 9.8
Menopozal durum (postmenopozal/toplam olgu)(n,%)	80 / 94 (%85.1)
Parite	3 (0 – 7)
Ağırlık (kg.)	79.7 $\pm$ 16.3

Çalışma grubumuzdaki olguların yaşları ortalama 59.96 $\pm$ 9.8 yıl idi ve en genç olgu 31, en yaşlı olgu ise 80 yaşlarındaydı. Olguların parite ortancası 3 olup (minimum 0 - maksimum 7), 94 olgunun 80'i (%85.1) menopozda idi.

Tüm olguların klinik ve histopatolojik özellikleri ise Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. Endometrium kanserli olguların klinik ve histopatolojik özellikleri

Klinik ve histopatolojik bulgular		Olgu sayısı (%)
Tip	I	76 (%80.9)
	II	18 (%19.1)
Evre	IA	45 (%47.9)
	IB	8 (%8.5)
	II	11 (%11.7)
	IIIA	7 (%7.4)
	IIIB	1 (%1.1)
	IIIC1	12 (%12.8)
	IIIC2	7 (%7.4)
	IVB	3 (%3.2)
Grade	1	36 (%38.3)
	2	30 (%31.9)
	3	28 (%29.8)
Histolojik Tip	Endometrioid	76 (%80.9)
	Şeffaf hücreli	9 (%9.6)
	Seröz	9 (%9.6)
Nüks	Yok	85 (%90.4)
	Var	9 (%5.6)

Çalışmaya alınan olguların evreleri alt gruplara ayrılmadan incelendiğinde 53 olgu (%56.4) evre I, 11 olgu (%11.7) evre II, 27 olgu (%28.7) evre III ve 3 olgu (%3.2) evre IV idi. Histolojik tiplerin evre gruplarında dağılımına bakılacak olursa ise evre I ‘deki 53 olgudan 50 olgu (%53.2) tip I iken 3 olgu (%3.2) tip II, evre II 11 olgudan 10 olgu (%10.6) tip I ve 1 olgu (%1.1) tip II, evre III 27 olgudan 14 olgu (%14.9) tip I ve 13 olgu (%13.8) tip II ve son olarak evre IV 3 vakadan 2 vaka (%2.1) tip I ve 1 vaka (%1.1) tip II histolojisine sahipti (Tablo 10). Tip I ve Tip II olguların kendi içerisinde evrelere göre dağılımına bakılacak olursa tip II kategorisinde bulunan vakaların daha ileri evrede olduğu ve bu farkın anlamlı olduğu görülmüştür (p=0.001) (Tablo 10).

Tablo 10. Tip I ve Tip II endometrial kanser olgularının evrelere göre dağılımı

Evre	Tip I	TipII
	Olgu sayısı (%)	
I	50 (%53.2)	3 (%3.2)
II	10 (%10.6)	1 (%1.1)
III	14 (%14.9)	13 (%13.8)
IV	2 (%2.1)	1 (%1.1)

p=0.001, Ki-Kare testi ile hesaplanmıştır.

Olgularımızda en uzun takip süresi 95 ay olup, en kısa takip süresi 1 aydır. Seksenbeş vakada (%90.4) takip edilen sürede nüks izlenmez iken 9 olguda (%9.6) kanserin nüks ettiği görüldü. Nüks gelişen olguların ortalama takip süresi 44.8 ay idi. Bahsedilen 9 olguda nüks ortalama 21.5 ay sonra gelişti. Nüks eden vakaların kanser histolojisine bakıldığında 4 olgunun şeffaf hücreli, 3 olgunun seröz ve 2 olgunun da endometrioid tip histolojiye sahip olduğu görüldü. Benzer şekilde bu hastalar evrelerine göre incelendiğinde nüks vakalardan 7 olgu evre III, 1 olgu evre II ve 1 olgu evre I grubunda idi. Olguların 5'i halen sağ iken, 4 olgunun hayatta olmadığı belirlendi. Nüks yeri açısından bakıldığında 3 vakada barsak üzerinde, 5 olguda lomber vertebrada ve 1 olguda da toraks, batin, baş, boyun ve pelvis gibi çok sayıda odakta nüks izlendi.

Olguların operasyon esnasında disseke edilen lenf nodları pelvik ve paraaortik lenf nodu olarak ayrı ayrı incelendiğinde tüm vakalara pelvik lenf nodu diseksiyonu uygulandığı, 38 (%40.4) olguya ise paraaortik lenf nodu diseksiyonu yapıldığı görüldü. Diseke edilen lenf nodları incelendiğinde 19 vakada (%20.2) pelvik lenf nodu metastazı ve 8 vakada (%21) paraaortik lenf nodu metastazı saptanmıştır. 6 olguda pelvik ve paraaortik lenf nodu metastazı beraber görülür iken bu olguların 3'ü seröz hücreli, diğer 3'ü de endometrioid tip adenokanser olgusu idi. Çalışmamızda yer alan olguların lenfadenektomi materyallerine ait bulgular da Tablo 11'de belirtilmiştir. Sadece pelvik lenf nodu metastazı olan olguların ortalama toplam sağkalım süresi 30 ay, sadece paraaortik metastazı olan olguların toplam sağkalım süresi ortalaması 25.5 ay ve her iki lenf nodunda da metastaz saptanan olguların ortalaması ise 32.3 ay idi ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Çalışmaya alınan 18 tip II kanserli olgudan 3'ünde paraaortik lenf nodu metastazı saptandı ve bu olguların ortalama toplam sağkalım süresi 12.6 ay idi, diğer 15 olguda bu süre 25.3 aydı ve anlamlı bir fark izlenmedi. Benzer şekilde 76 tip I olgudan 19'unda pelvik lenf

nodu metastazı var idi ve bu olguların ortalama toplam sağkalım süresi 28.4 ay idi, diğer 57 vakada ise bu süre 35. 5 aydı ve anlamlı fark görülmedi.

Tablo 11. Olguların lenf nodu özellikleri

Lenfadenektomi materyali	Tüm Olgularda	Tip I	Tip II
Toplam lenf nodu	28.6 ± 14.6	30.6 ± 16.3	20.2 ± 13.9
Pelvik lenf nodu	26.41 ± 13.4	28.5 ± 14.4	16.3 ± 7.7
Para-aortik lenf nodu	2.28 ± 4.3	2.13 ± 3.9	3.05 ± 2.9

Olguların histopatolojik diğer özellikleri de Tablo 12’da sunulmuştur.

Tablo 12. Olguların histopatolojik özellikleri

Histopatolojik bulgular		Olgu sayısı (%)
Myometrial invazyon	Yok	10 (%10.6)
	Var	84 (%89.4)
Servikal invazyon	Yok	63 (%67)
	Var	31 (%33)
Lenfovasküler invazyon	Yok	60 (%63.8)
	Var	34 (%36.2)
Lenf nodu metastazı	Yok	67 (%71.2)
	Var	27 (%28.7)
Adneksial tutulum	Yok	74 (%78.7)
	Var	20 (%21.3)

Çalışma grubundaki olguların operasyon öncesi ve operasyon sonrası bir tümör belirteci olan CA-125 değerine bakıldığında ise iki değer arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü (p=0.667). Ancak olgular tip I ve tip II olarak ayrı ayrı değerlendirildiğinde pre-operatif CA-125 değerinde iki grup arasında anlamlı bir fark saptandı (p=0.001), ancak bu fark post-operatif CA-125 değerleri arasında izlenmedi (p=0.115) (Tablo13).

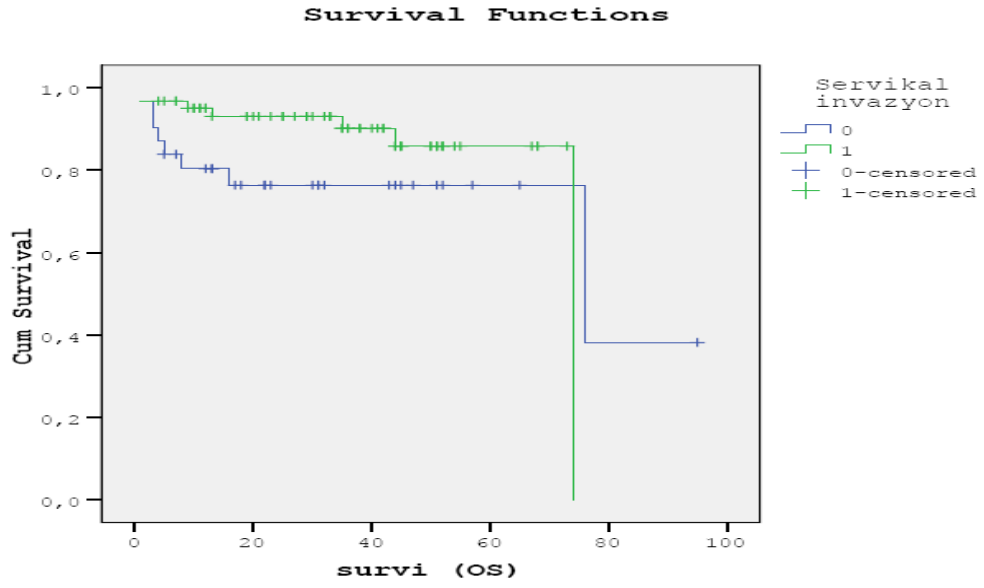
Tablo 13. Olguların CA-125 değerleri

CA-125 (U/mL)	Pre-operatif	Post-operatif	P
Tüm Olgular	35.1 ± 77.0	22.1 ± 92.7	0.667
Tip I Endometrium kanseri	22.0 ± 22.0	12.7 ± 29.1	0.001
Tip II Endometrium kanseri	97.6 ± 168.8	71.3 ± 221.6	0.115

Mann-Whitney U testi ile hesaplanmıştır.

Çalışmadaki olguların operasyon sonrası adjuvan tedavi ihtiyacı açısından yapılan değerlendirmesinde post-op brakiterapi (BT) alan olgu sayısı 59 (%62.8), eksternal pelvik radyoterapi (RT) uygulanan olgu sayısı 52 (%55.3) ve post-op kemoterapi (KT) tedavisi alan olgu sayısı ise 21 (%22.3) olarak saptandı. Erken evre (evre IA) grubundaki 42 tip I kanserli olgunun 21'ine (%50) BT uygulanmış, diğer yarısına gözlem ile takip kararı alınmıştır. Tip I ve II grupları arasında yapılan analizde ise, BT alan olgu sayısı sırasıyla 48 (%63.2) ve 11 (%61.1) idi ve bu iki grup arasında fark saptanmadı ($p=0.538$). Benzer şekilde tip I kanserlerde RT alan olgu sayısı 39 (%51.3), tip II histolojisinde ise 13 (%72.2) idi ve bu iki grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p=0.094$). Adjuvan KT uygulanan hastalara bakıldığında ise toplam 21 olgunun bu tedaviyi aldığı, bu olguların 7'sinin (%33.3) tip I, 14'ünün (%66.6) ise tip II kanserli olgu olduğu görüldü. KT uygulanan hastalar grup içerisinde incelendiğinde ise seröz ve şeffaf hücreli kanser histolojik tipinde olan 14 olgunun [14/18; 14/94 (%14.8)] post-operatif kemoterapi aldığı görüldü. Buna karşılık tip I histolojisine sahip 7 olguya [7/76; 7/94 (%7.4)] post-operatif kemoterapi uygulandığı ve bu farklılığın anlamlı olduğu saptandı ($p<0.001$).

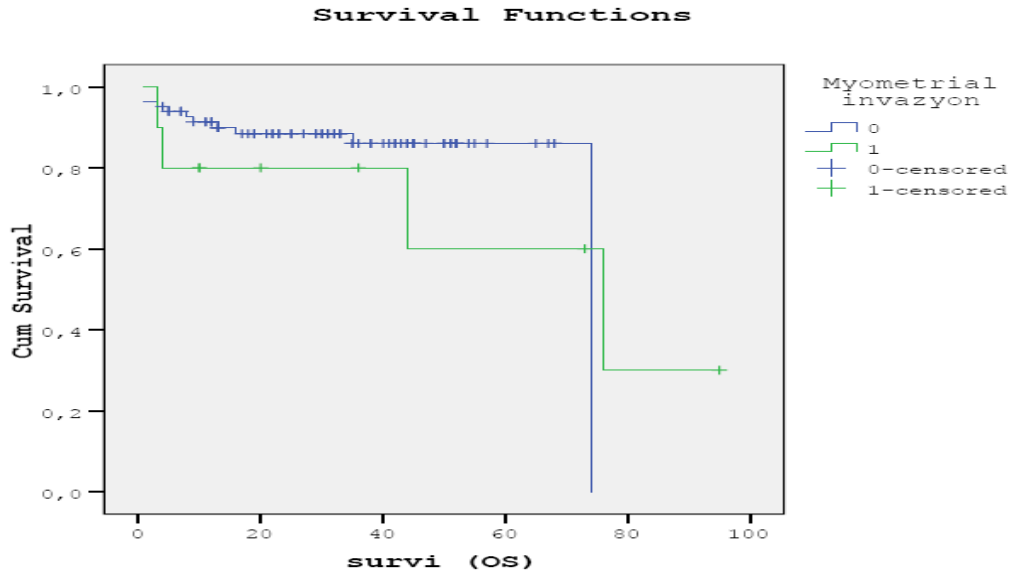
Çalışmadaki olguların servikal, myometriyal, adneksiyal ve lenfovasküler invazyon pozitifliğinin toplam sağkalım üzerindeki etkisi incelendi. Adneksiyal invazyon varlığının ve lenfovasküler invazyon pozitifliğinin olguların toplam sağkalımı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde etkisi olduğu görüldü ($p<0.001$, $p<0.001$). Servikal ve myometriyal invazyonun ise toplam sağkalım üzerine etkisi saptanmadı. Toplam sağkalım analizleri Şekil 2, 3, 4, 5'te gösterilmiştir.



Şekil 2. Servikal invazyonun toplam sağkalım üzerine olan etkisi

Cum Survival: Toplam sağkalım, **Survi (OS):** Yaşam süresi (ay),

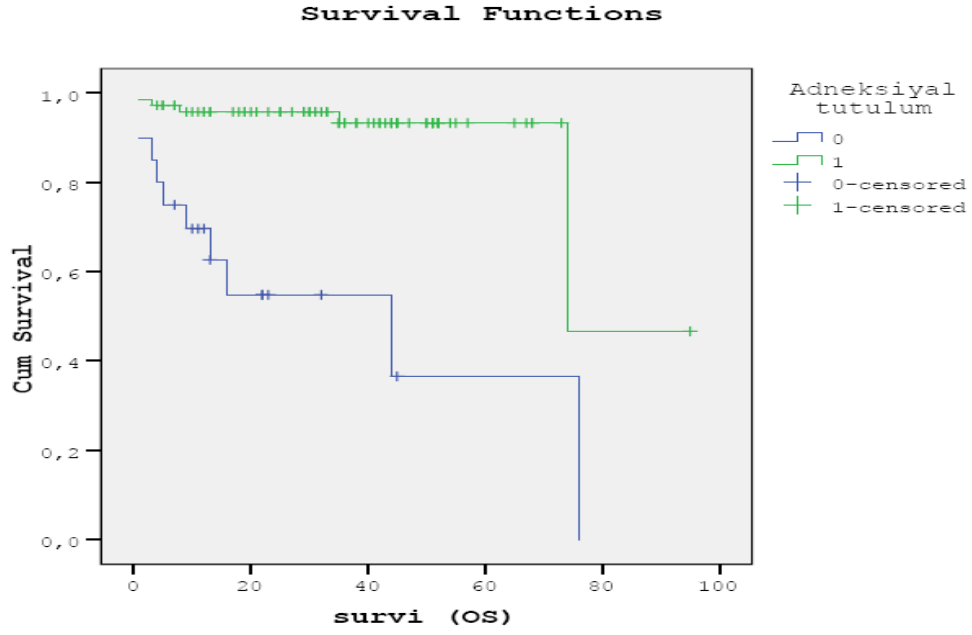
0: İnvazyon pozitif, **1:** İnvazyon negatif, Kaplan-Meier analizi kullanılmıştır.



Şekil 3. Myometriyal invazyonun toplam sağkalım üzerine olan etkisi

Cum Survival: Toplam sağkalım, **Survi (OS):** Yaşam süresi (ay),

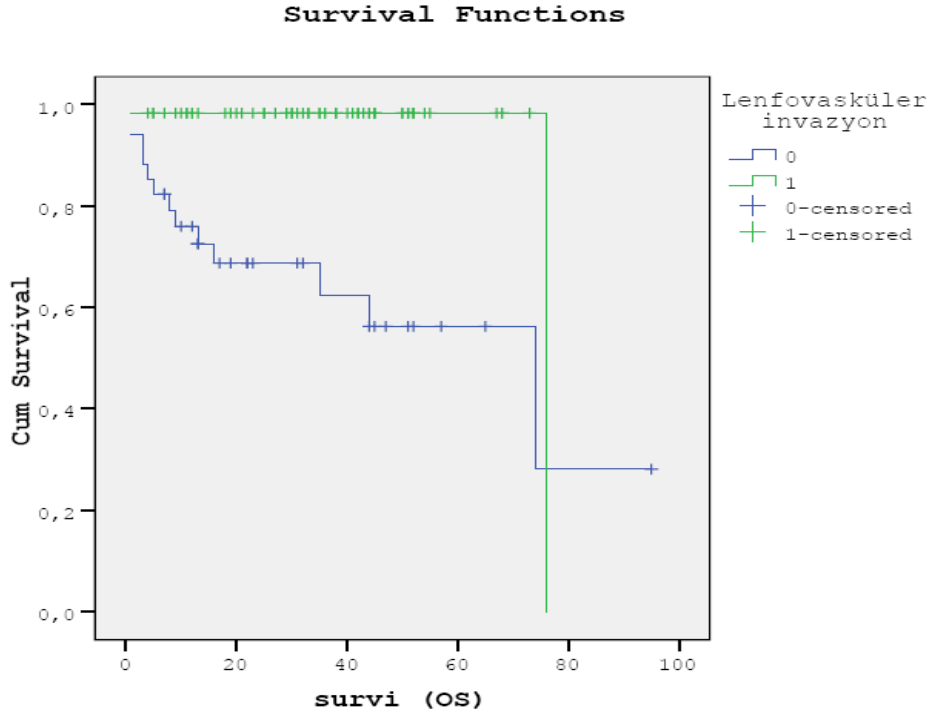
0: İnvazyon pozitif, **1:** İnvazyon negatif, Kaplan-Meier analizi kullanılmıştır.



Şekil 4. Adneksiyal tutulumun toplam sağkalım üzerine olan etkisi

Cum Survival: Toplam sağkalım, **Survi (OS):** Yaşam süresi (ay),

0: İnvazyon var, **1:** İnvazyon yok, Kaplan-Meier analizi kullanılmıştır.



Şekil 5. Lenfovasküler invazyonun toplam sağkalım üzerine olan etkisi

Cum Survival: Toplam sağkalım, **Survi (OS):** Yaşam süresi (ay),

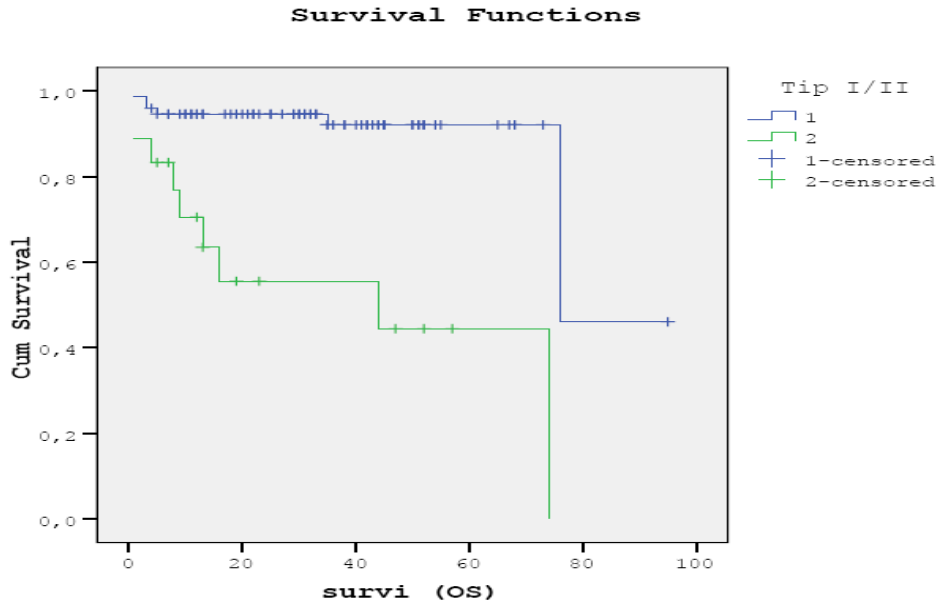
0: İnvazyon var, **1:** İnvazyon yok, Kaplan-Meier analizi kullanılmıştır.

Olguların toplam sağkalım, hastalıksız sağkalım ve progresyonsuz sağkalım süreleri ve sağkalım oranları Tablo 14’te sunulmuştur. Tip I ve tip II histolojik grupları arasında yapılan sağkalım analizlerinde toplam sağkalım, hastalıksız sağkalım ve progresyonsuz sağkalım oranlarında iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark izlendi (Şekil 6, 7, 8). Sağkalım oranları ve ortalama sağkalım süreleri kıyaslandığında ise evre arttıkça bu değerin azaldığı görüldü ancak bu ilişki istatistiksel anlamlı bulunmadı.

Tablo 14. Tüm olguların ortalama sağkalım süreleri ve oranları

	Tüm olgular (n=94)	Tip I (n=76)	Tip II (n=18)	p
Toplam sağkalım süresi (ay)	31.61	79.7	41.3	<0.001
Hastalıksız sağkalım süresi (ay)	29.47	87.2	24.7	<0.001
Progresyonsuz sağkalım süresi (ay)	28.56	87.0	19.6	<0.001
Sağkalım oranı (%)	83.9	92.1	55.5	<0.001

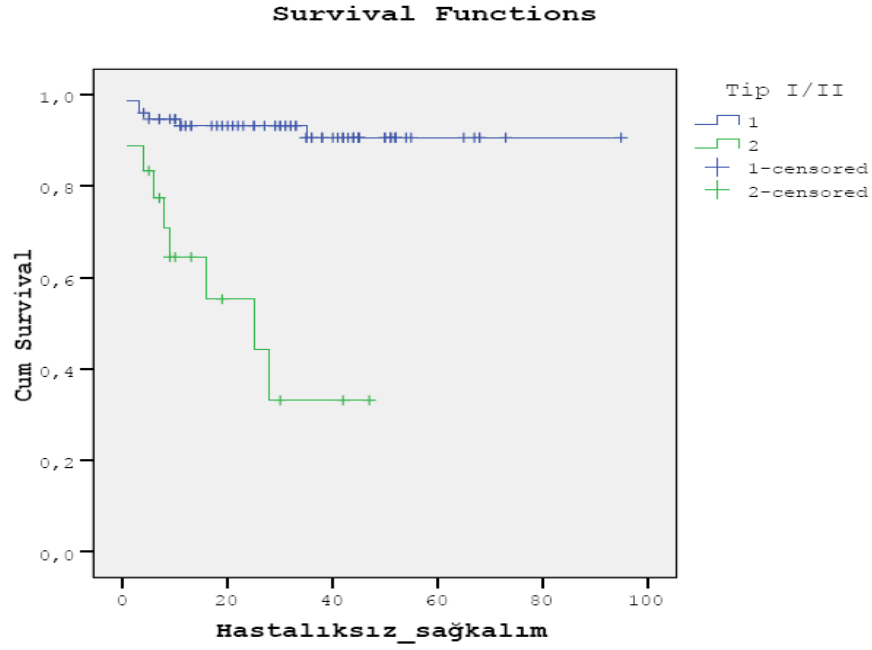
Kaplan-Meier sağkalım analizi kullanılmıştır.



Şekil 6. Tip I ve II olguların toplam sağkalım olasılıkları

Cum Survival: Toplam sağkalım, **Survi (OS):** Yaşam süresi (ay),

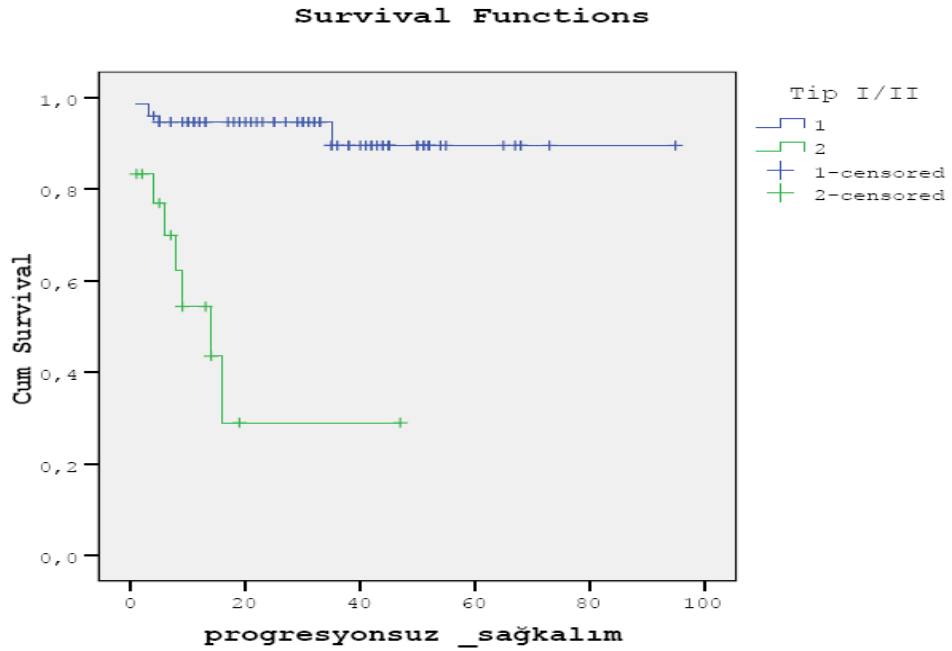
1: Tip I kanserler, **2:** Tip II kanserler, Kaplan-Meier analizi kullanılmıştır.



Şekil 7. Tip I ve II olguların hastaliksız sağkalım olasılıkları

Cum Survival: Toplam sağkalım, **Survi (OS):** Yaşam süresi (ay),

1: Tip I kanserler, **2:** Tip II kanserler, Kaplan-Meier analizi kullanılmıştır.



Şekil 8. Tip I ve II olguların progresyonsuz sağkalım olasılıkları

Cum Survival: Toplam sağkalım, **Survi (OS):** Yaşam süresi (ay),

1: Tip I kanserler, **2:** Tip II kanserler, Kaplan-Meier analizi kullanılmıştır.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Çalışmamıza aldığımız 94 olgunun 28'i (%29.7) HIF-1 α antikoru ile pozitif nükleer reaksiyon verdi. HIF-1 α antikoru nükleer reaksiyon veren bir immünohistokimyasal belirleyici olduğundan çalışmamızda “nükleer reaksiyon veren” olgular pozitif olarak kabul edildi. HIF-1 α ile nükleer pozitiflik gösteren 28 olgunun 24'ü (%31.6) tip I, 4'ü (%22.2) tip II histolojik sınıfında idi (Tablo 15). Ancak histolojik tipler arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.318).

Tablo 15. Olguların histolojik alt tiplerinde hipoksi ile indüklenen faktör-1 α 'nın boyanma oranları

Histolojik tip		HIF-1 α (+) (n=94, %)
Tip I	Endometrioid tip (n=76)	24 (%31.6)
Tip II	Seröz tip (n=9)	3 (%33.3)
	Şeffaf hücreli (clear-cell) (n=9)	1 (%11.1)
TOPLAM		28

HIF-1 α : Hipoksi ile indüklenen faktör-1.

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α ile boyanan olguların 7'si (%19.4) grad 1, 14'ü (%46.7) grad 2 ve 7'si (%25) grad 3 idi. HIF-1 α pozitifliği ile gradlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0.044) (Tablo 16). Bu farklılığın yapılan ek değerlendirme ile grad 2'den kaynaklandığı belirlendi. Ancak artan grad ile HIF-1 α pozitifliği arasında pozitif bir korelasyon elde edilmedi.

Tablo 16. Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α pozitif olgularda grad (derece) dağılımı

	Grad 1 (n,%)	Grad 2 (n,%)	Grad 3 (n,%)
HIF-1 α (+)	7/36(%19.4)	14/30(%46.7)	7/28(%25)

HIF-1 α : Hipoksi ile indüklenen faktör-1, p= 0.044, Ki-Kare testi ile hesaplanmıştır.

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α ile grad arasındaki ilişki, analiz edilecek popülasyondaki tip II olguların değerlendirme dışına alınarak yapılması ile farklı bir sonuç oluşturdu. Tip II olguların hepsi grad 3 kabul edildiği için grad 3 28 olgudan 18 tip II olgunun

ıkarılması ile tip I grad 3 on olgu elde edilmiş oldu. Bu olguların 7'si HIF-1 α negatif, 3'ü HIF-1 α pozitif reaksiyon (3/10, %30) verdi. HIF-1 α pozitifliği ile tüm grubun tip I'den oluştuğu 76 vakanın yapılan analizinde grad ile HIF-1 α pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlılık devam etti (p=0.008) (Tablo 17).

Tablo 17. Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α pozitif tip I olgularda grad (derece) dağılımı

	Grad 1 (n,%)	Grad 2 (n,%)	Grad 3 (n,%)
HIF-1α (+)	7/36(%19.4)	14/30(%46.7)	3/10(%30)

HIF-1 α : Hipoksi ile indüklenen faktör-1, p= 0.008, Ki-Kare testi ile hesaplanmıştır.

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α pozitif olgular evrelere göre değerlendirildiğinde 15'i (%53.5) evre I, 4' (%14.3) evre II, 7'si (%25) evre III iken 2 olgu (%7.1) evre IV idi. HIF-1 α pozitif ve negatif olgularla evre arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı (p=0.489) (Tablo 18).

Tablo 18. Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α pozitifliğinin evrelere göre dağılımı

	Evre I (n,%)	Evre II (n,%)	Evre III (n,%)	Evre IV (n,%)	TOPLAM
HIF-1α (+)	15/53(%28.3)	4/11(%36.4)	7/27(%25.9)	2/3(%66.7)	28
HIF-1α (-)	38/53(%57.6)	7/11 (%63.6)	20/27(%74.1)	1/3 (%33.3)	66

HIF-1 α : Hipoksi ile indüklenen faktör-1.

Menopozal durum, nüks oranı, post-operatif adjuvan tedavi (RT, BT, KT) ihtiyaı ve servikal, lenfovasküler, adneksiyal ve myometriyal invazyon varlığı gibi klinik ve patolojik özelliklere göre HIF-1 α pozitifliği kıyaslandığında bu parametrelerden hiçbirinde anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 19).

Tablo 19. Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α pozitif ve negatif olgularda klinik ve patolojik özellikler

	HIF-1α (+) (n)	HIF-1α (-) (n)	P
Nüks varlığı (n=9)	1	8	0.555
Postmenopozal hastalar (n=80)	24	56	0.594
Post-operatif RT (n=52)	12	40	0.173
Post-operatif BT (n=59)	17	42	0.819
Post-operatif KT (n=21)	4	17	0.285
Servikal invazyon (+) (n=31)	10	21	0.811
Myometriyal invazyon (+) (n=84)	25	59	0.622
Adneksiyal tutulum (+) (n=20)	5	15	0.784
Lenfovasküler invazyon (+) (n=34)	10	24	0.573

HIF-1 α : Hipoksi ile indüklenen faktör-1, **RT:** Eksternal radyoterapi, **BT:** Brakiterapi, **KT:** Kemoterapi. **p:** Ki-Kare testi ile hesaplanmıştır.

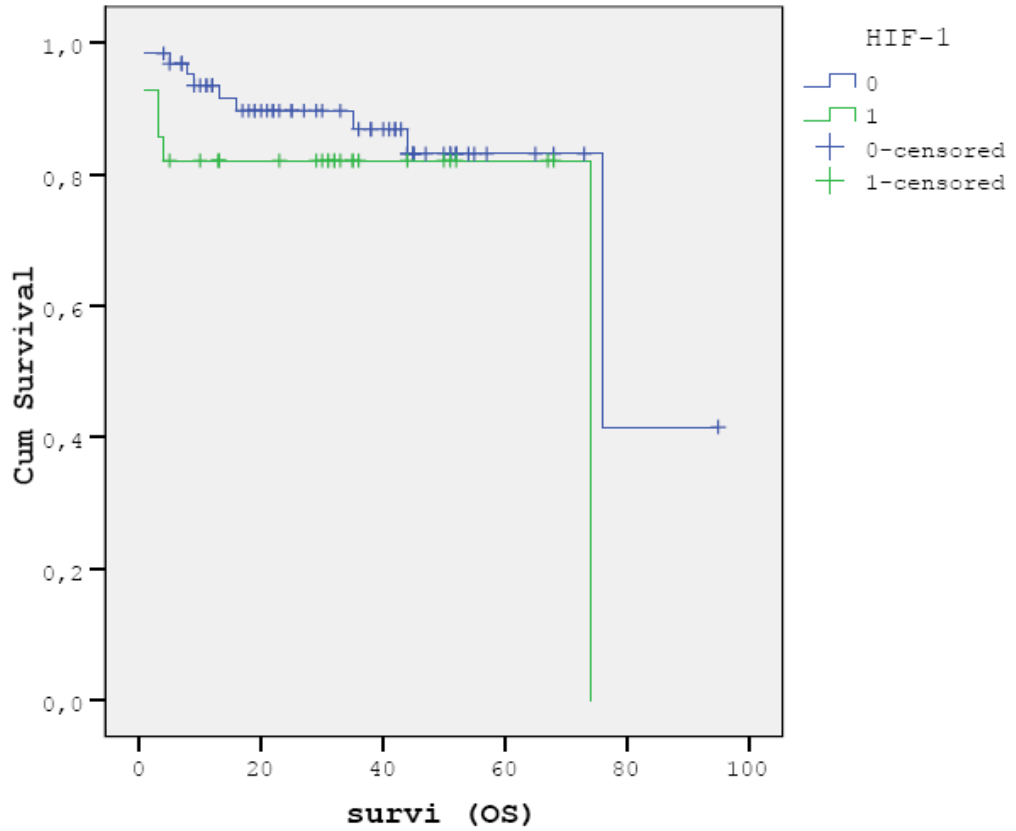
Çalışmadaki olguların kilo, pre-operatif ve post-operatif CA-125 değeri ve operasyonda disseke edilen metastatik lenf nodu sayısına göre HIF-1 α antikoru ile olan reaksiyonuna bakıldığında elde edilen veriler Tablo 20’de sunulmuştur. Bu tablodan da anlaşılabacağı gibi hastaların operasyon sonrasında bakılan CA-125 değerinde HIF-1 α (+) ve (-) olgular arasında anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0.019).

Tablo 20. Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α pozitif ve negatif olgularda klinik ve patolojik özellikler

	Kilo (kg)	Pre-operatif CA-125 (U/mL)	Post-operatif CA-125 (U/mL)	Metastatik lenf nodu sayısı
HIF-1α (+)	77.56 $\pm$ 14.28	21.68 $\pm$ 13.49	12.37 $\pm$ 5.67	0.72 $\pm$ 1.32
HIF-1α (-)	80.61 $\pm$ 17.1	41.06 $\pm$ 91.4	25.89 $\pm$ 108.9	1.35 $\pm$ 1.27
p	0.355	0.593	0.019 *	0.322

HIF-1 α : Hipoksi ile indüklenen faktör-1, **p*:** Mann-Whitney U testi ile hesaplanmıştır.

Çalışmadaki HIF-1 α pozitif ve negatif olguların sağkalım analizi Şekil 9’de gösterilmiştir.



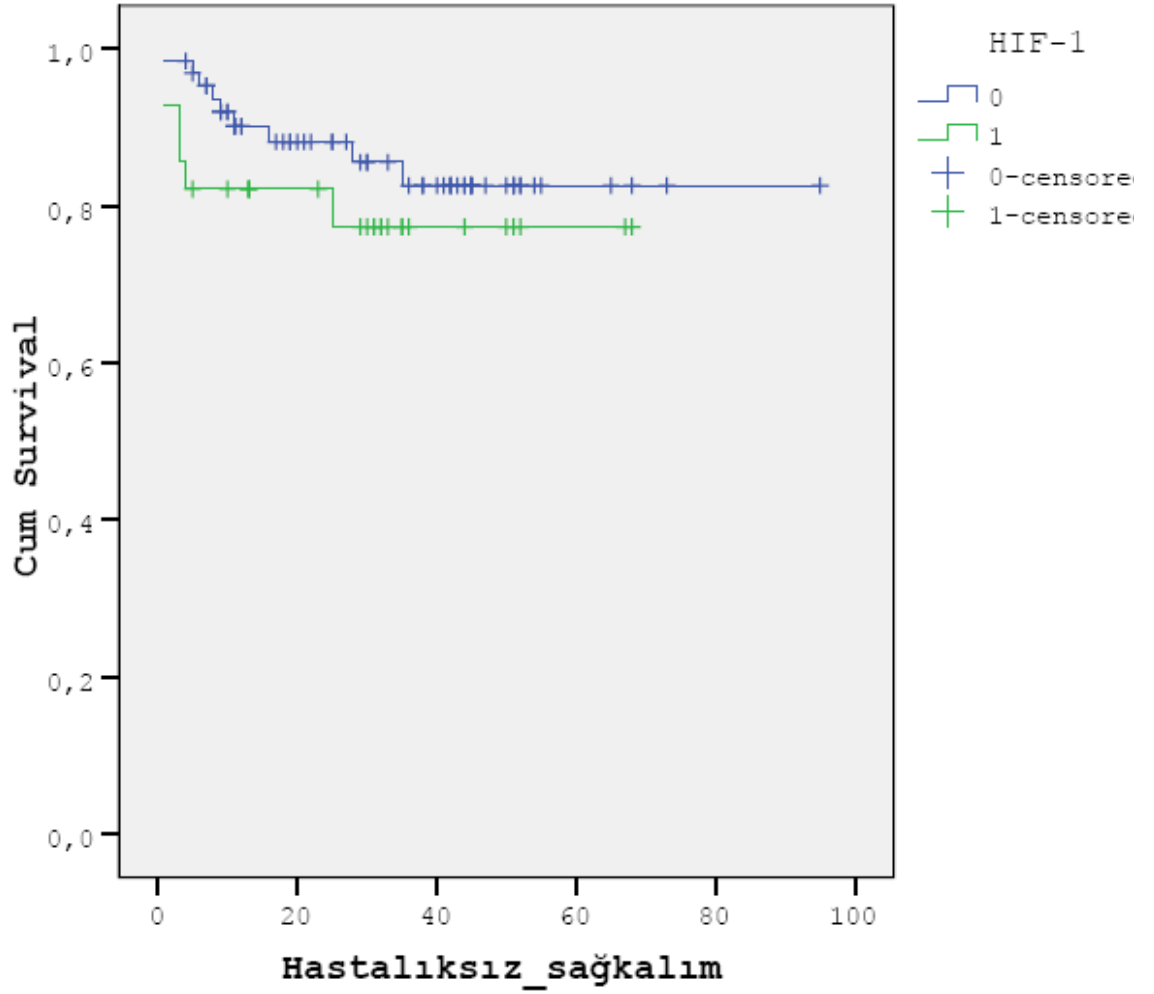
Şekil 9. Olguların toplam sağkalım olasılıkları

Cum Survival: Toplam sağkalım, **Survi (OS):** Yaşam süresi (ay),

1: HIF-1 α pozitif, **0:** HIF-1 α negatif, Kaplan-Meier analizi kullanılmıştır.

Çalışmadaki HIF-1 α pozitif olgularda toplam sağkalım (OS) oranı %78.6 ve ortalama sağkalım süresi 61.2 ay iken negatif olgularda sağkalım oranı %86.2 ve ortalama sağkalım süresi 74.6 ay idi (Şekil 9). HIF-1 α pozitif olguların sağkalım oranları ve ortalama yaşam süreleri daha kısa idi. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.222$).

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α pozitif ve negatif olguların hastalıksız ortalama sağkalım süreleri ise sırasıyla 54.2 ay ve 81.2 ay idi. HIF-1 α negatif olguların sağkalım süresi daha uzun olsa da bu fark anlamlı değildi ($p=0.328$) (Şekil 10).

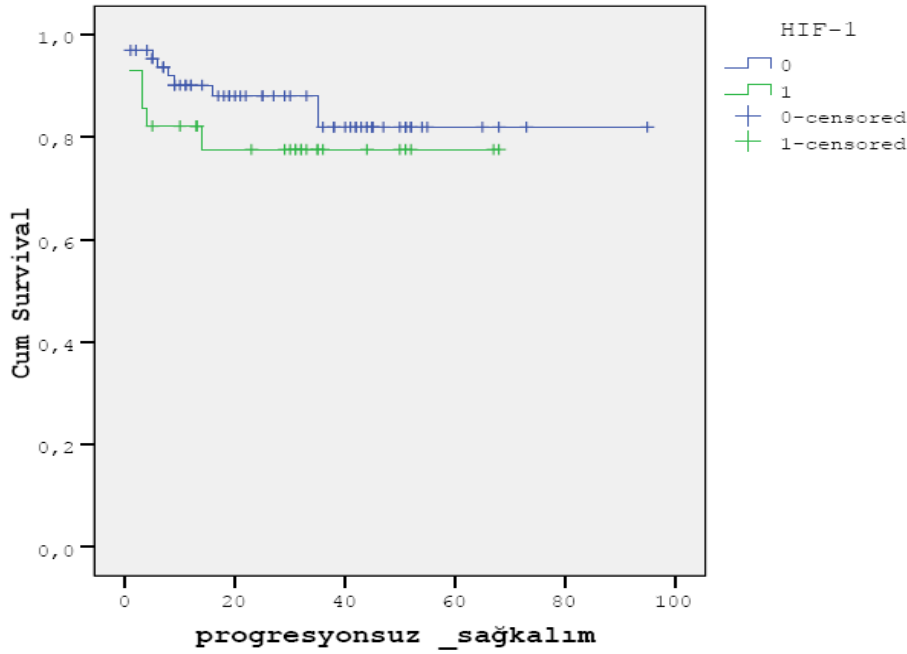


Şekil 10. Olguların hastalıksız sağkalım olasılıkları

Cum Survival: Toplam sağkalım, **Hastalıksız sağkalım:** Yaşam süresi (ay),

1: HIF-1 α pozitif, **0:** HIF-1 α negatif, Kaplan-Meier analizi kullanılmıştır.

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α pozitif ve negatif olguların progresyonsuz ortalama sağkalım sürelerine bakıldığında ise sırasıyla 53.8 ay ve 80.8 ay değerleri elde edildi. HIF-1 α negatif olguların sağkalım süresi daha uzun olsa da bu fark anlamlı değildi ($p=0.321$) (Şekil 11).



Şekil 11. Olguların progresyonsuz sağkalım olasılıkları

Cum Survival: Toplam sağkalım, **Progresyonsuz sağkalım:** Yaşam süresi (ay),

1: HIF-1α pozitif, **0:** HIF-1α negatif, Kaplan-Meier analizi kullanılmıştır.

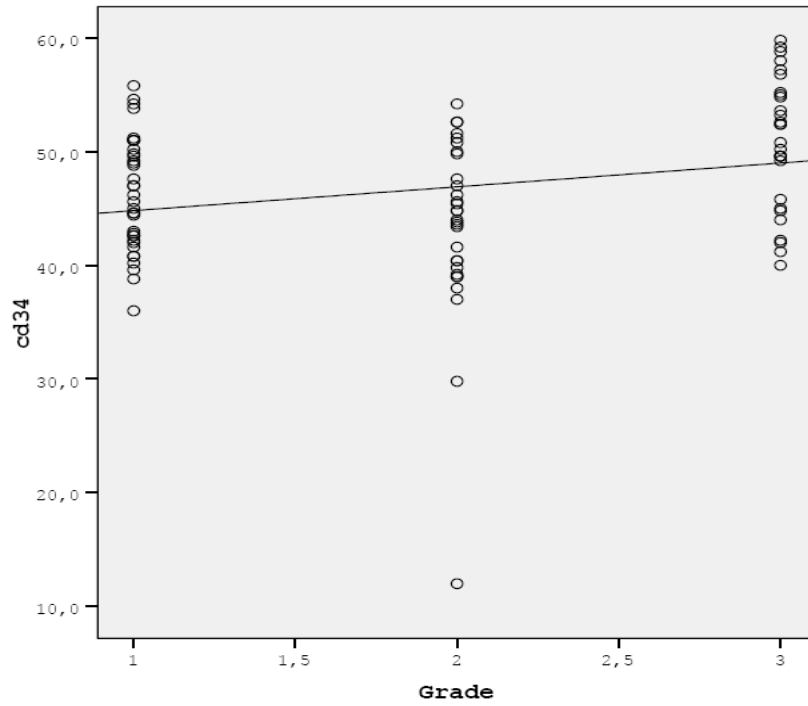
Çalışmamıza alınan olgular histolojik tipler için ayrı ayrı değerlendirildiğinde CD34 boyanan damar sayıları ortalaması yani mikrodamar dansitesi (MDD) tip I kanserlerde 45.24 ± 6.61 , tip II kanserlerde ise 52.98 ± 4.55 olarak belirlendi. Tip II tümörlerde CD34 boyanan damar sayısı yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.001$) (Tablo 21).

Tablo 21. Olguların histolojik alt tiplerinde CD34 ile boyanan hücre sayıları

Histolojik tip	CD34 (MDD)
Tip I	45.24 ± 6.61
Tip II	52.98 ± 4.55
<i>P</i>	<0.001

MDD: Mikrodamar dansitesi, Spearman Korelasyon Analizi ile hesaplanmıştır.

CD34 ile boyanan olgular derecelerine (grad) göre değerlendirildiğinde; grad ile CD34 arasındaki pozitif yönde anlamlı ilişki saptandı. Bir başka deyişle grad arttıkça MDD’de artma, boyanan damar sayısında da artma mevcuttu ($p=0.009$, $r:0.268$) (Şekil 12). CD34 ile evre ve toplam sağkalım süreleri arası ilişki analiz edildiğinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0.05$).



Şekil 12. CD34 ile grad arasındaki ilişki

Spearman Korelasyon Analizi ile hesaplanmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız immünohistokimyasal belirleyicilerin boyanma sonuçları birbiri ile karşılaştırıldığında HIF-1 α pozitifliği izlenen olgularda MDD 48.27 ± 8.04 iken negatif olgularda bu sayı 42.61 ± 5.50 idi. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi ($p < 0.001$) (Tablo 22).

Tablo 22. Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α ve mikrodamar dansitesi ile boyanan hücre sayıları

	CD34 (MDD)
HIF-1 α (+)	48.27 ± 8.04
HIF-1 α (-)	42.61 ± 5.50
<i>p</i>	<0.001

HIF-1 α : Hipoksi ile indüklenen faktör-1, **MDD:** Mikrodamar dansitesi, Mann-Whitney U testi ile hesaplanmıştır.

Olgularımızın bazılarına ait mikroskopik görünüm Şekil 13-14'te, HIF-1 α ile boyanma özellikleri Şekil 15-16'da, CD34 ile boyanma özellikleri Şekil 17-18'de sunulmuştur. Çalışmamızda yer alan olguların demografik özellikleri, histolojik ve immünohistokimyasal boyanma sonuçları Tablo 23'de özetlenmiştir.

Tablo 23. Çalışmadaki olguların listesi

Sıra	Ad Soyad	Operasyon tarihi	Biopsi No	Protokol No	Yaş	Nüks	Evre 1	Evre 2	Grade	Histolojik tip	Tip I/II	HIF-1a	CD34	Pre-op CA125	Post-op CA125	Toplam LN	Toplam PALN	Toplam PLN	PLN (Re)	PLN (M)	PALN (Re)	PALN (M)	Si	Mi	At	Li	Toplam sağkalım	Son durum
1	DE	14.01.2010	352.10	414184	44	0	IA	I	2	Endometrioid	1	0	45,34,49,50,46	17, 4	8, 6	50	0	50	50	0	0	0	1	0	1	1	11	0
2	FH	29.03.2007	2493.07	281890	70	0	IA	I	2	Endometrioid	1	0	50,53,60,37,58	9, 2	7, 3	41	0	41	41	0	0	0	1	0	1	1	45	0
3	ST	15.08.2007	5086.07	83096	60	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	48,46,57,53,44	11, 3	9, 2	17	0	17	17	0	0	0	1	0	1	1	40	0
4	FK	13.09.2006	7084.06	258205	48	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	53,51,56,54,59	6, 2	6	17	0	17	17	0	0	0	1	0	1	1	51	0
5	NB	29.05.2007	3614.07	287196	63	0	IIIC2	III	1	Endometrioid	1	0	59,50,55,64,51	42, 2	4, 3	53	1	52	52	0	0	1	0	0	1	1	43	0
6	MC	04.05.2006	3490.06	242594	60	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	45,47,43,45,42	4, 2	3, 6	5	0	5	5	0	0	0	1	0	1	1	55	0
7	AŞ	17.11.2008	8239.08	362573	61	0	IA	I	2	Endometrioid	1	0	51,55,45,56,43	70	14, 3	37	8	29	29	0	8	0	1	0	1	1	25	0
8	EED	06.08.2002	5568.02	72437	57	2	IIIC2	III	2	Endometrioid	1	0	51,57,56,54,53	7, 8	4, 7	58	7	51	45	6	0	7	0	1	0	1	76	1
9	GE	26.05.2009	3879.10	425352	57	0	IIIB	III	1	Endometrioid	1	0	36,40,45,41,53	42	12, 5	44	20	24	24	0	20	0	1	0	1	0	19	0
10	HK	04.04.2007	2642.07	251058	55	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	51,56,59,43,42	133	255	17	0	17	17	0	0	0	1	0	1	1	44	0
11	NA	31.03.2008	2278.08	330072	45	0	IA	I	2	Endometrioid	1	0	43,40,41,53,50	10, 1	5, 7	12	0	12	12	0	0	0	1	0	1	1	33	0
12	MH	24.04.2006	3154.06	2790	56	0	IB	I	1	Endometrioid	1	0	35,31,40,47,60	21, 2	9, 6	48	4	44	44	0	4	0	1	0	1	0	35	1
13	NÇ	13.06.2008	4360.08	18777	59	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	48,53,56,61,37	12, 5	10, 1	16	0	16	16	0	0	0	1	0	1	1	30	0
14	FA	01.03.2007	1933.07	279109	60	0	IIIC1	III	1	Endometrioid	1	0	56,51,48,49,51	42, 1	11,8	34	1	33	32	1	1	0	0	0	1	0	45	0
15	FU	13.08.2010	5970.10	435761	58	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	54,34,50,58,60	20, 3	7, 9	40	0	40	40	0	0	0	1	0	1	1	4	0
16	ZK	08.03.2010	1675.10	11289	68	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	37,42,45,51,35	6, 7	3, 3	19	5	14	14	0	5	0	1	0	1	1	9	0
17	MÖ	04.10.2007	6040.07	166632	43	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	39,40,36,45,44	6, 5	2, 7	23	0	23	23	0	0	0	1	0	1	1	38	0
18	ÜÖ	09.01.2003	181.03	100061	68	0	II	II	2	Endometrioid	1	0	45,36,50,41,48	8, 9	15, 3	64	0	64	64	0	0	0	0	1	1	0	95	0
19	MB	13.06.2007	3892.07	291949	70	0	IB	I	3	Endometrioid	1	0	41,53,50,39,42	17, 2	18, 2	29	5	24	24	0	5	0	1	0	1	1	42	0
20	SN	09.06.2006	4510.06	247615	57	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	45,42,32,52,30	11	16, 1	21	0	21	21	0	0	0	1	0	1	1	54	0
21	NT	15.08.2006	6317.06	138223	66	0	II	II	1	Endometrioid	1	0	40,41,37,36,40	12, 4	5, 6	43	0	43	43	0	0	0	0	0	1	0	52	0
22	ŞK	29.03.2007	2511.07	280741	65	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	46,35,42,38,52	6, 7	6, 9	21	0	21	21	0	0	0	1	0	1	1	45	0
23	HD	13.02.2009	1243.09	369484	68	0	IIIA	III	2	Endometrioid	1	0	51,32,54,33,49	20, 1	8, 4	16	2	14	14	0	2	0	0	0	0	0	22	0
24	FB	02.09.2008	6252.08	352884	65	0	IB	I	1	Endometrioid	1	0	40,38,44,51,50	84, 24	18, 3	17	0	17	17	0	0	0	1	0	1	1	27	0
25	HI	12.06.2007	3849.07	291013	78	0	IB	I	3	Endometrioid	1	0	39,53,51,46,35	8, 3	7, 5	35	3	32	32	0	3	0	1	0	1	1	42	0
26	AK	25.08.2006	6592.06	252394	64	1	IA	I	3	Seröz	2	0	48,55,53,61,46	7	2, 1	26	0	26	26	0	0	0	1	0	1	1	52	0
27	GÇ	18.05.2010	3692.10	429647	51	0	IIIC2	III	2	Endometrioid	1	0	34,54,36,41,43	23, 5	5, 7	54	6	48	48	0	5	1	1	0	1	0	7	0
28	SÇ	19.10.2007	6316.07	118545	43	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	45,42,40,49,35	7, 9	8, 8	22	0	22	22	0	0	0	1	0	1	1	38	0
29	EA	08.07.2008	4952.08	273891	59	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	33,43,41,44,37	23	6, 7	65	0	65	65	0	0	0	1	0	1	1	29	0
30	AK	24.08.2006	6546.06	255251	65	0	IB	I	1	Endometrioid	1	0	42,33,40,51,57	10, 9	5, 6	36	0	36	36	0	0	0	1	0	1	1	52	0
31	TS	03.11.2008	7800.08	11432	31	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	44,44,48,56,36	12, 3	8, 8	24	0	24	24	0	0	0	1	0	1	1	25	0
32	VÖ	03.07.2007	4320.07	294571	54	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	38,55,53,43,60	9, 6	5, 5	16	0	16	16	0	0	0	1	0	1	1	41	0

Nüks: Nüks yeri (0=yok, 1=barsak, 2=vertebra, 3=multiple), **Evre 1:** FIGO evreleme alt tipleri, **Evre 2:** FIGO evreleme, **Grad:** Derecelendirme (1,2,3), **TipI/II:** Tip I=1, Tip II=2, **HIF-1a:** HIF-1a boyanma (0=boyanma yok, 1=boyanma var), **CD34:** CD34 boyanma (boyanan damar sayıları), **Pre-op CA125:** Operasyon öncesi CA 125 değeri (U/mL), **Post-op CA125:** Operasyon sonrası CA 125 değeri (U/mL), **LN:** Lenf nodu sayısı **PALN:** Paraaortik lenf nodu sayısı, **PLN:** Pelvik lenf nodu sayısı, **(Re):** Reaktif lenf nodu sayısı, **(M):** Metastatik lenf nodu sayısı, **Si:** Servikal invazyon (0=var, 1=yok), **Mi:** Myometrial invazyon (0=var, 1=yok), **At:** Adneksiyal tutulum (0=var, 1=yok), **Li:** Lenfovasküler invazyon (0=var, 1=yok), **Toplam sağkalım:** Sağkalım süresi (ay), **Son durum:** Son sağlık durumu (o=sağ, 1=ölü).

Tablo 23 (devamı). Çalışmadaki olguların listesi

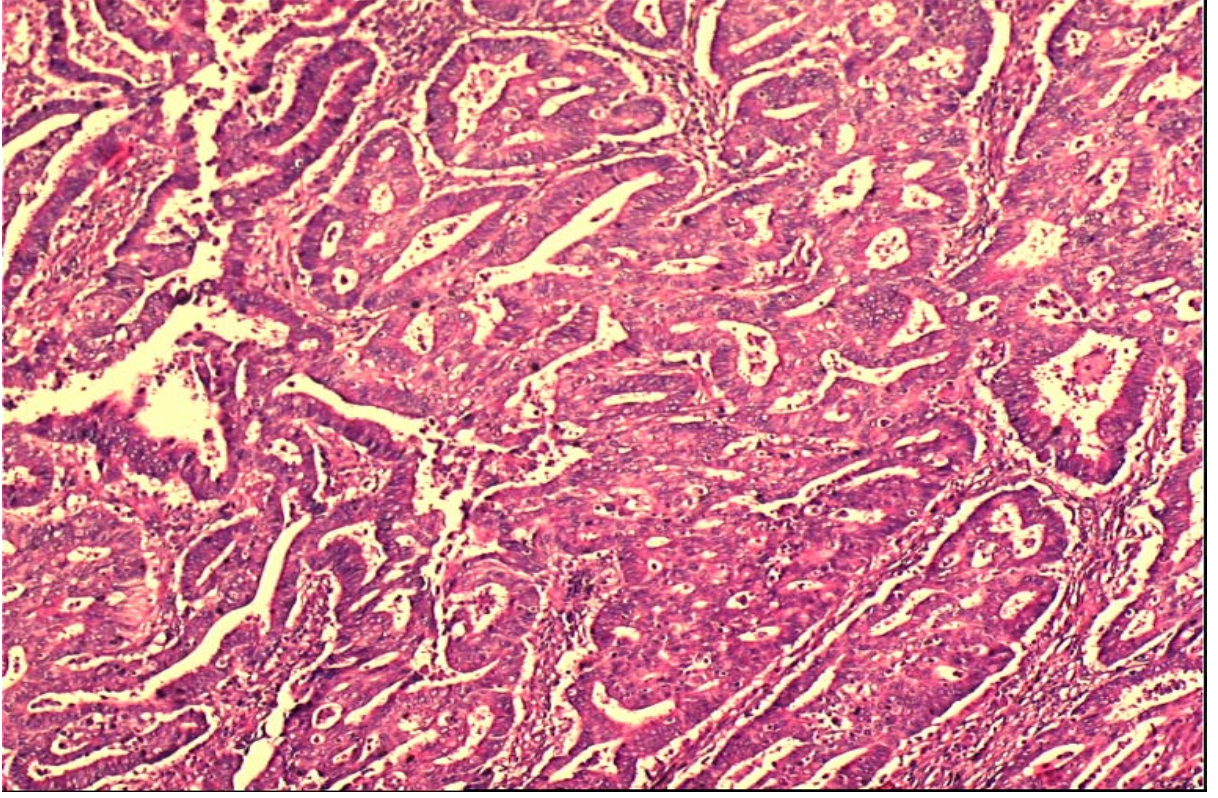
Sıra	Ad Soyad	Operasyon tarihi	Biopsi No	Protokol No	Yaş	Nüks	Evre 1	Evre 2	Grade	Histolojik tip	Tip I/II	HIF-1α	CD34	Pre-op CA125	Post-op CA125	Toplam LN	Toplam PALN	Toplam PLN	PLN (Re)	PLN (M)	PALN (Re)	PALN (M)	Si	Mi	At	Li	Toplam sağkalım	Son durum
33	AE	24.02.1010	1364.10	416699	65	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	45,46,51,46,43	15	13,0	28	2	26	26	0	2	0	1	1	0	0	10	0
34	SY	30.04.2009	3583.09	381497	55	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	53,49,49,45,49	16, 3	6, 1	44	0	44	44	0	0	0	1	1	1	1	20	0
35	SK	09.02.2009	1033.09	365476	38	1	IIIC1	III	1	Endometrioid	1	0	47,45,46,39,58	13, 8	5, 5	45	4	41	36	5	4	0	0	0	0	0	22	0
36	FÇ	04.10.2006	7652.06	259838	59	0	IA	I	2	Endometrioid	1	0	36,57,48,43,54	4, 1	3, 3	17	0	17	17	0	0	0	1	0	1	1	50	0
37	MŞ	04.09.2006	6768.06	92684	56	0	IA	I	3	Endometrioid	1	0	51,57,56,54,58	6	2, 6	15	0	15	15	0	0	0	1	0	1	1	51	0
38	HB	13.08.2010	6007.10	442492	79	0	IIIC1	III	3	Seröz	2	0	55,59,64,54,58	302		21	0	21	19	2	0	0	0	0	0	0	1	1
39	NB	20.07.2005	5799.05	206939	73	0	IVB	IV	3	Endometrioid	1	0	55,51,53,45,44	65, 8	16, 3	21	2	19	18	1	2	0	0	0	0	0	5	1
40	EA	12.01.2009	261.09	365518	75	2	IIIC1	III	3	Clear	2	0	61,66,64,50,58	29, 6	11, 8	19	0	19	17	2	0	0	0	0	0	0	23	0
41	YB	15.06.2009	4921.09	389566	56	0	II	II	1	Endometrioid	1	0	57,54,55,50,53	23, 7	6, 1	42	3	39	39	0	3	0	0	0	1	1	18	0
42	YÜ	12.09.2008	6569.08	351230	66	0	IA	I	2	Endometrioid	1	0	44,61,45,53,51	7, 4	2, 3	15	0	15	15	0	0	0	1	0	1	1	27	0
43	HB	17.11.2004	8111.04	179067	51	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	41,38,36,54,56	12, 1	7	28	3	25	25	0	3	0	1	1	1	1	73	0
44	NK	25.05.2010	3889.10	433223	52	0	IA	I	3	Endometrioid	1	0	58,39,57,56,52	5, 7	2, 3	21	3	18	18	0	3	0	1	0	1	1	7	0
45	GS	18.05.2009	4037.09	384534	59	0	IA	I	3	Clear	2	0	62,70,56,43,55	19, 2	7, 1	17	4	13	13	0	4	0	1	0	1	1	19	0
46	ZK	07.09.2006	6921.06	145043	51	0	II	II	1	Endometrioid	1	0	56,52,44,49,54	7, 9	2, 1	40	0	40	40	0	0	0	0	0	1	1	51	0
47	HT	17.12.2009	9757.09	412796	53	0	IA	I	3	Endometrioid	1	0	59,63,59,54,49	11, 6	10, 7	56	10	46	46	0	10	0	1	0	1	1	12	0
48	MK	25.04.2005	4112.05	199790	70	0	IB	I	2	Endometrioid	1	0	45,58,35,42,44	46, 1	12, 6	23	4	19	19	0	4	0	1	0	1	1	68	0
49	SE	17.12.2007	7516.07	122923	66	0	IA	I	1	Endometrioid	1	0	43,38,54,55,54	10, 3	13, 6	11	0	11	11	0	0	0	1	1	1	1	36	0
50	FM	01.12.2004	8146.04	177392	71	0	IIIC1	III	3	Clear	2	0	56,59,61,61,59	15, 5	14, 5	23	0	23	20	3	0	0	0	0	1	0	8	1
51	SK	22.01.2007	593.07	273803	70	0	IIIC1	III	3	Clear	2	0	53,58,57,64,62	12, 8	8, 7	19	2	17	15	2	2	0	0	0	1	0	47	0
52	BD	08.01.2010	184.10	412767	55	0	IIIC1	III	2	Endometrioid	1	0	40,34,50,35,40	67, 4	10, 3	33	7	26	21	5	7	0	1	0	0	1	11	0
53	ŞK	07.07.2010	5008.10	435447	63	0	IA	I	3	Clear	2	0	44,42,39,50,45			13	0	13	13	0	0	0	1	0	1	1	5	0
54	NT	05.05.2010	3285.10	426899	64	0	IIIC1	III	3	Clear	2	0	48,59,56,58,54	198	4, 6	4	0	4	0	4	0	0	0	0	0	0	7	0
55	ŞÇ	01.01.2003	7552.03	135859	59	0	IIIA	III	3	Clear	2	0	48,44,61,51,50	27, 7	12, 5	8	0	8	8	8	0	0	1	0	0	0	9	1
56	MA	23.03.2005	2178.05	193061	68	1	IIIA	III	3	Clear	2	0	60,39,44,56,49	19, 9	7, 5	27	0	27	27	0	0	0	1	1	0	0	44	1
57	ŞS	10.12.2009	9545.09	325760	57	3	IIIC2	III	3	Seröz	2	0	54,47,44,53,50	657, 1	841	40	11	29	10	19	4	7	0	0	0	0	12	0
58	HD	30.05.2008	3985.08	332996	66	2	IIIC2	III	3	Seröz	2	0	57,51,53,52,49	86, 5	23, 7	12	3	9	9	4	0	3	1	0	0	0	13	1
59	FK	30.04.2007	3022.07	283187	53	0	II	II	2	Endometrioid	1	0	52,53,47,41,35	28, 3	7, 4	30	0	30	30	0	0	0	0	0	1	0	44	0
60	MÖ	31.03.2006	2419.06	239753	75	2	II	II	3	Seröz	2	0	55,53,51,49,60	44, 6	13, 1	33	4	29	29	0	4	0	0	0	1	0	57	0
61	CE	01.07.2009	5414.09	390868	51	0	II	II	2	Endometrioid	1	0	42,39,33,45,43	17, 6	13, 3	20	0	20	20	0	0	0	0	0	1	0	17	0
62	SŞ	28.12.2009	9999.09	414166	63	0	IB	I	1	Endometrioid	1	0	58,53,61,46,53	13, 5	7, 9	22	2	20	20	0	2	0	1	0	1	1	12	0
63	MA	16.04.2007	2799.07	284197	46	0	IIIC1	III	2	Endometrioid	1	0	56,56,52,45,54	23, 4	7, 9	17	0	17	16	1	0	0	1	0	0	1	45	0

Nüks: Nüks yeri (0=yok, 1=barsak, 2=vertebra, 3=multiple), **Evre 1:** FIGO evreleme alt tipleri, **Evre 2:** FIGO evreleme, **Grad:** Derecelendirme (1,2,3), **TipI/II:** Tip I=1, Tip II=2, **HIF-1α:** HIF-1α boyanma (0=boyanma yok, 1=boyanma var), **CD34:** CD34 boyanma (boyanan damar sayıları), **Pre-op CA125:** Operasyon öncesi CA 125 değeri (U/mL), **Post-op CA125:** Operasyon sonrası CA 125 değeri (U/mL), **LN:** Lenf nodu sayısı **PALN:** Paraaortik lenf nodu sayısı, **PLN:** Pelvik lenf nodu sayısı, **(Re):** Reaktif lenf nodu sayısı, **(M):** Metastatik lenf nodu sayısı, **Si:** Servikal invazyon (0=var, 1=yok), **Mi:** Myometrial invazyon (0=var, 1=yok), **At:** Adneksiyal tutulum (0=var, 1=yok), **Li:** Lenfovasküler invazyon (0=var, 1=yok), **Toplam sağkalım:** Sağkalım süresi (ay), **Son durum:** Son sağlık durumu (0=sağ, 1=ölü).

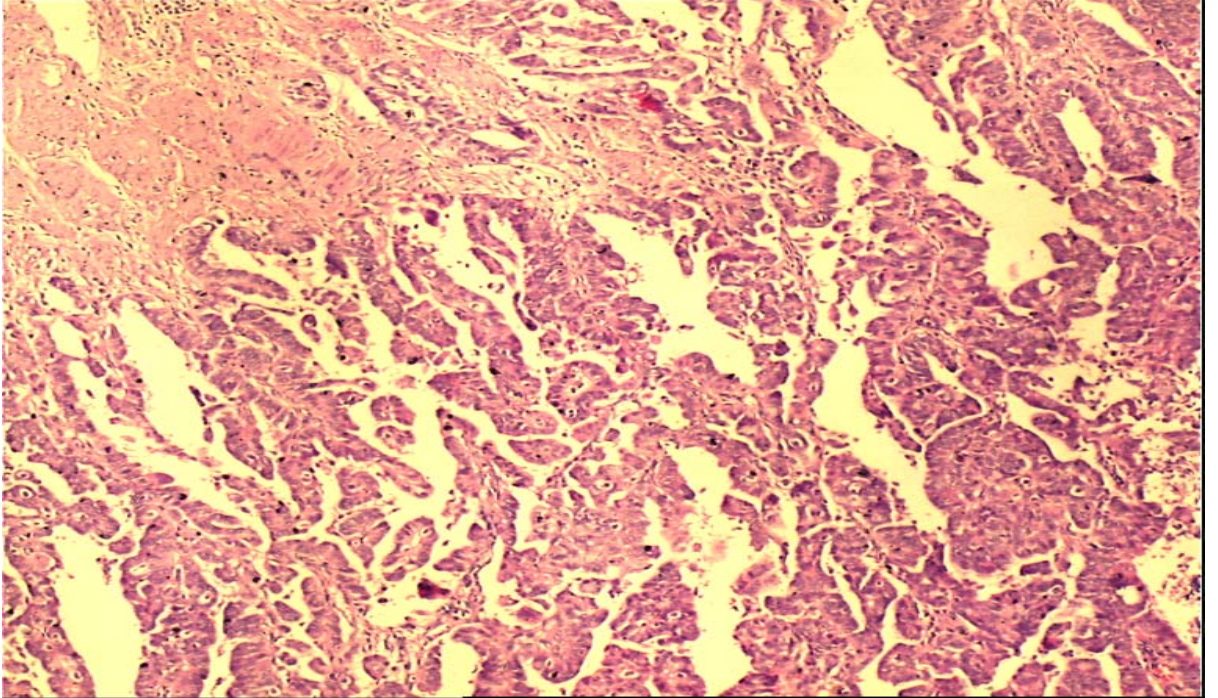
Tablo 23 (devamı). Çalışmadaki olguların listesi

Sıra	Ad Soyad	Operasyon tarihi	Biopsi No	Protokol No	Yaş	Nüks	Evre 1	Evre 2	Grade	Histolojik tip	Tip I/II	HIF-1α	CD34	Pre-op CA125	Post-op CA125	Toplam LN	Toplam PALN	Toplam PLN	PLN (Re)	PLN (M)	PALN (Re)	PALN (M)	Si	Mi	At	Li	Toplam sağkalım	Son durum
64	HS	18.03.2009	2262.09	375476	64	0	IA	I	2	Endometrioid	1	0	59,54,48,46,49	12, 8	5, 9	29	0	29	29	0	0	0	1	0	1	1	21	0
65	VA	02.07.2003	7713.03	138177	63	0	IIIA	III	3	Seröz	2	0	60,57,53,53,51			17	0	17	17	0	0	0	0	0	0	0	16	1
66	GÇ	13.07.2005	5641.05	208082	66	0	IIIC2	III	3	Endometrioid	1	0	37,42,45,51,35	80, 6	14, 6	25	2	23	18	5	0	2	0	0	1	0	65	0
67	MP	16.04.2008	2789.08	200696	75	0	IIIA	III	2	Endometrioid	1	1	51,39,44,42,41	56, 7	6, 7	19	0	19	19	0	0	0	0	0	0	0	32	0
68	AA	12.04.2005	3484.05	195317	56	0	IA	I	3	Endometrioid	1	1	36,43,40,39,42	11, 8	15	23	0	23	23	0	0	0	1	0	1	1	68	0
69	AA	12.11.2009	8853.09	407030	51	0	IA	I	2	Endometrioid	1	1	40,53,51,37,50	12,0	11,0	37	13	24	24	0	13	0	1	0	1	1	13	0
70	AT	09.11.2009	8735.09	217380	66	0	IIIC2	III	3	Seröz	2	1	45,38,40,54,52	32, 8	21, 8	51	28	23	22	1	21	7	0	0	0	0	13	0
71	SÇ	26.04.2005	3417.05	197157	68	0	IVB	IV	3	Endometrioid	1	1	45,32,34,43,57	15, 3		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3	1
72	MYT	02.07.2010	4919.10	434764	62	0	II	II	1	Endometrioid	1	1	45,44,51,39,35	14	5	15	0	15	15	0	0	0	0	0	1	1	5	0
73	SI	10.04.2008	2580.08	329278	76	0	IIIA	III	2	Endometrioid	1	1	39,42,42,30,49	45, 7		22	4	18	18	0	4	0	0	0	1	0	3	1
74	SS	20.11.2009	9117.09	377843	41	0	IIIC1	III	2	Endometrioid	1	1	39,43,39,33,41	11	6,0	52	1	51	46	5	0	1	0	0	1	0	13	0
75	HK	25.01.2007	791.07	199315	68	0	IIIA	III	3	Seröz	2	1	47,44,56,50,54	53, 3		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
76	SA	01.06.2006	4250.06	75993	70	0	IVB	IV	3	Seröz	2	1	56,48,54,59,49	36, 3	21, 7	12	0	12	12	0	0	0	0	1	0	0	4	1
77	MA	12.05.2008	3455.08	332340	54	0	II	II	2	Endometrioid	1	1	39,35,34,36,41	22, 1	10, 8	30	4	26	26	0	4	0	0	0	1	1	31	0
78	HÖ	01.01.2001	8099.01	41282	66	2	IIIC1	III	3	Clear	2	1	51,52,46,52,45	20, 3	8, 6	22	0	22	17	5	0	0	1	0	1	0	74	1
79	EA	22.08.2006	6491.06	205497	76	0	IA	I	2	Endometrioid	1	1	40,40,39,50,49	22, 6	15, 2	38	2	36	36	0	2	0	1	0	1	1	52	0
80	GE	02.06.2008	3998.08	75891	56	0	II	II	1	Endometrioid	1	1	36,41,26,34,43	34, 2	14, 3	27	0	27	27	0	0	0	0	0	1	1	30	0
81	MB	06.01.2009	81.09	368777	66	0	IA	I	3	Endometrioid	1	1	54,34,39,36,43	25, 2	10, 4	39	5	34	34	0	5	0	1	0	1	1	23	0
82	FT	30.04.2008	3105.08	335673	52	0	IA	I	2	Endometrioid	1	1	55,64,51,36,57	11, 6	14, 6	33	4	29	29	0	4	0	1	0	1	1	32	0
83	FD	07.05.2009	3754.09	380079	61	0	IB	I	1	Endometrioid	1	1	43,45,42,51,57	19, 1		18	3	15	15	0	3	0	1	0	1	1	1	1
84	SK	15.02.2010	1094.10	361218	56	0	IA	I	1	Endometrioid	1	1	51,44,48,56,36	10, 2	11, 7	44	0	44	44	0	0	0	1	1	1	1	10	0
85	BM	04.04.2007	2601.08	277335	49	0	IA	I	2	Endometrioid	1	1	40,45,41,55,50	31, 1	13, 8	20	0	20	20	0	0	0	1	0	1	1	44	0
86	AE	24.05.2005	4450.05	203312	64	0	IA	I	2	Endometrioid	1	1	3945,44,37,35	6, 5	12, 4	28	0	28	28	0	0	0	1	0	1	1	67	0
87	HK	15.01.2008	354.08	318715	56	0	IA	I	2	Endometrioid	1	1	45,50,41,48,51	21, 9	9, 1	49	7	42	42	0	7	0	1	0	1	1	35	0
88	AK	11.03.2008	1728.08	54574	58	0	IA	I	2	Endometrioid	1	1	41,53,5050,35	5, 4	6, 4	47	0	47	47	0	0	0	1	0	1	1	33	0
89	MS	09.07.2008	4962.08	341281	47	0	IA	I	2	Endometrioid	1	1	38,44,42,42,30	13, 8	10, 3	26	0	26	26	0	0	0	1	0	1	1	29	0
90	FK	17.01.2008	364.08	318930	39	0	IA	I	1	Endometrioid	1	1	39,51,46,35,33	9, 6	8, 2	33	0	33	33	0	0	0	1	0	1	1	35	0
91	RG	06.09.2006	6880.06	257369	56	0	IIIC1	III	1	Endometrioid	1	1	33,40,53,47,35	19, 4	5	20	0	20	19	1	0	0	1	0	1	0	51	0
92	SS	09.10.2006	7749.06	161416	80	0	IA	I	2	Endometrioid	1	1	33,41,44,34,43	14, 7	22, 3	27	0	27	27	0	0	0	1	0	1	1	50	0
93	ST	07.12.2007	7355.07	239679	49	0	IA	I	2	Endometrioid	1	1	45,31,39,39,36	11, 2	11, 3	61	10	51	51	0	10	0	1	0	1	1	36	0
94	RD	21.05.2008	3712.08	336932	72	0	II	II	1	Endometrioid	1	1	40,58,39,57,52	19, 4	25, 3	49	5	44	44	0	5	0	0	0	1	0	31	0

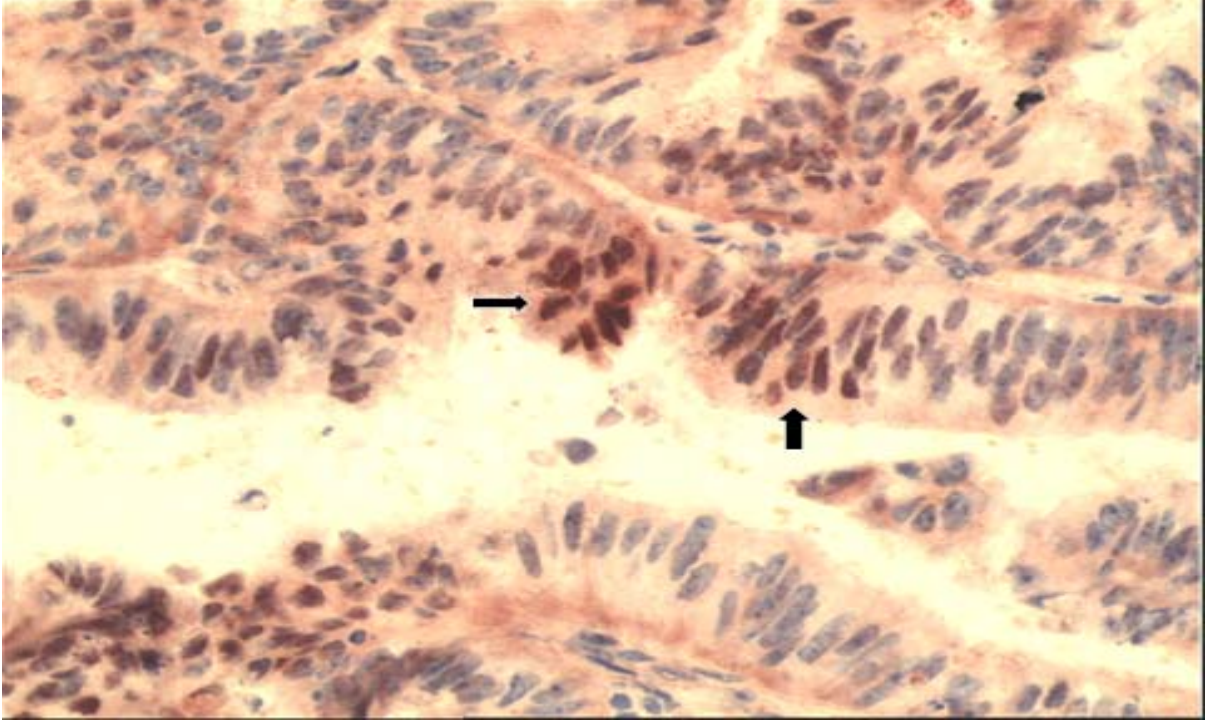
Nüks: Nüks yeri (0=yok, 1=barsak, 2=vertebra, 3=multiple), **Evre 1:** FIGO evreleme alt tipleri, **Evre 2:** FIGO evreleme, **Grad:** Derecelendirme (1,2,3), **TipI/II:** Tip I=1, Tip II=2, **HIF-1α:** HIF-1α boyanma (0=boyanma yok, 1=boyanma var), **CD34:** CD34 boyanma (boyanan damar sayıları), **Pre-op CA125:** Operasyon öncesi CA 125 değeri (U/mL), **Post-op CA125:** Operasyon sonrası CA 125 değeri (U/mL), **LN:** Lenf nodu sayısı **PALN:** Paraaortik lenf nodu sayısı, **PLN:** Pelvik lenf nodu sayısı, **(Re):** Reaktif lenf nodu sayısı, **(M):** Metastatik lenf nodu sayısı, **Si:** Servikal invazyon (0=var, 1=yok), **Mi:** Myometrial invazyon (0=var, 1=yok), **At:** Adneksiyal tutulum (0=var, 1=yok), **Li:** Lenfovasküler invazyon (0=var, 1=yok), **Toplam sağkalım:** Sağkalım süresi (ay), **Son durum:** Son sağlık durumu (0=sağ, 1=ölü).



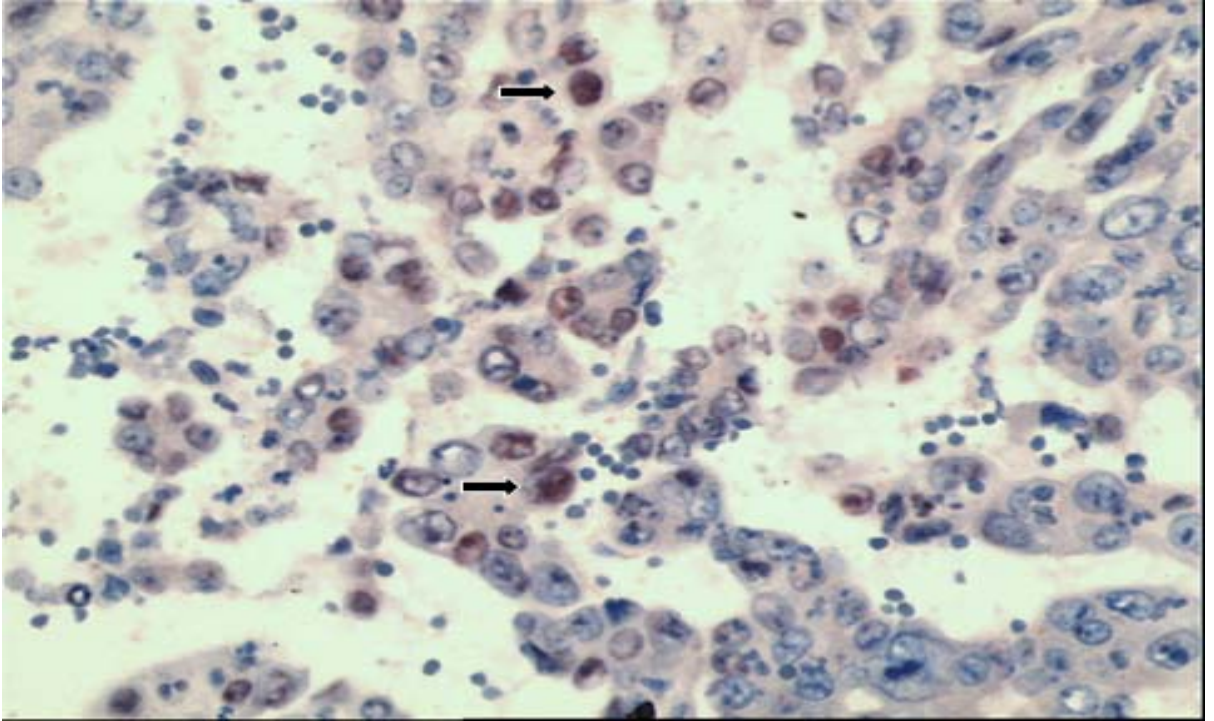
Şekil 13. Endometrioid tip adenokarsinom, (H+E, X50)



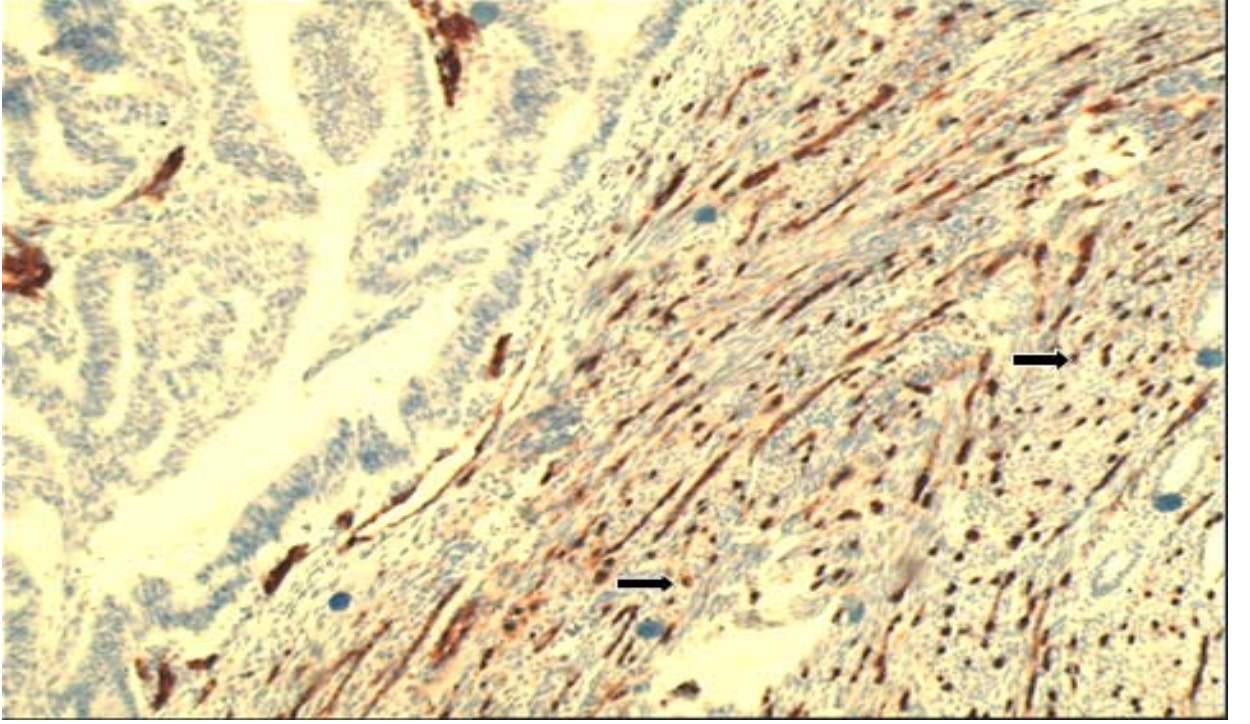
Şekil 14. Seröz tip adenokarsinom, (H+E, X50)



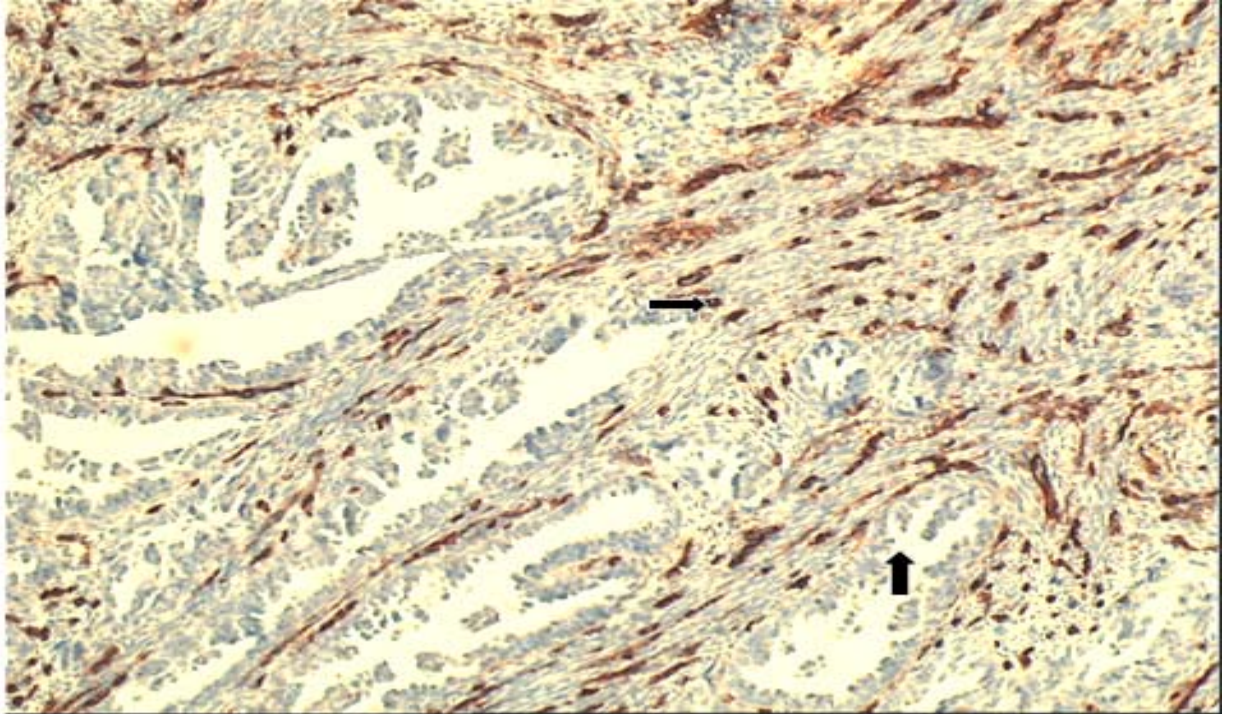
Şekil 15. Endometriod tip adenokarsinomda HIF-1 α pozitifliği (HIF-1 α , X200), Tümör hücre nukleuslarında kuvvetli pozitiflik görülmekte



Şekil 16. Seröz tip adenokarsinomda HIF-1 α pozitifliği (HIF-1 α , X200), Tümör hücre nukleuslarında kuvvetli pozitiflik görülmekte



Şekil 17. Endometriod tip adenokarsinomda CD34 pozitifliği (CD34, X200), Tümör hücre nükleuslarında kuvvetli pozitiflik görülmekte



Şekil 18. Seröz tip adenokarsinomda CD34 pozitifliği (CD34, X200), Tümör periferinde vasküler yapılarda endotel hücre sitoplazmasında kuvvetli pozitif reaksiyon

TARTIŞMA

Endometrium kanseri kadın genital sisteminin en sık görülen invaziv neoplazmi olup, genel olarak bakıldığında dünyada her yıl 150 000 yeni vaka tanı almaktadır (80). Klinik, patolojik, immünohistokimyasal ve moleküler çalışmalara dayanılarak endometrium kanseri Tip I ve Tip II şeklinde iki ana gruba ayrılır. Tip I adenokarsinomlar vakaların %80'ini oluşturmaktadır (81). Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü'nde 01.01.2001 – 13.08.2010 tarihleri arasında endometrium kanseri tanısı almış olgulardan 94'ü çalışmamıza dahil edilmiştir. Bunların 76'sı (%80.9) endometrioid tip adenokanserdir. Diğer olgulardan 9'u (%9.6) seröz, 9'u (%9.6) şeffaf hücreli kanserdir. Hastalar çalışmaya alınırken bu tarihler arasında opere edilmiş tüm Tip II kanserler çalışmaya dahil edilmiş ve diğer olgular Tip I vakalardan alınmış olmakla beraber bu oran literatür ile uyumluluk göstermektedir.

Endometrium kanseri en sık 5.-7. dekatlar arası görülür (82). Vakalarımızın yaş aralığı 31–80 olup, yaş ortalaması 59.9 idi ve bu sonuç da literatüre benzerlik göstermektedir. Endometrium kanseri post-menopozal kadınlarda daha sıklıkta gözlenmekte olup, vakalarımızın %85.1'i menopozda olan kadınlardan oluşmakta idi (83). Obezitenin de endometrium kanseri için önemli bir risk faktörü olduğuna dair mevcut yayınlara benzer şekilde çalışmamızda vakalarının kilo ortalaması 79.7 kg ile yüksekti (84).

Endometrium kanserlerinde cerrahi evreleme tedavinin en önemli basamağıdır ve en önemli prognostik faktördür (85). Bu kanserlerde 5 yıllık sağkalım oranı histolojik tipe göre değişmekle birlikte erken evrelerde %85-90 iken ileri evrelerde bu oran %5-10'a kadar düşmektedir (81). Olgularımızda en uzun takip süresi 95 ay olup, en kısa takip süresi 1 aydır. Genel sağkalım oranı yaklaşık %84, ortalama sağkalım süresi 31.6 aydır. Çalışma grubundaki

olguların 5 yıllık sağkalım oranları evre I için %96.2 iken, evre III için %62.9 olmuştur. Evre IV grubundaki 3 olgu da 5 yıllık takip sonrasında yaşamıyor olup, evre ile sağkalım arasındaki ilişki mevcut literatür ile uyumludur.

Endometrioid tip düşük-riskli bir histolojik tip olup, erken dönemde tanı alırsa prognozu iyidir. Grad 1 ve 2 tip I tümörler için 5 yıllık sağkalım oranları %87-93 iken grad 3 için %61 olarak gösterilmektedir (85). Çalışmaya dahil edilen 76 tip I histolojisine sahip olgunun 5 yıllık sağkalım oranı %92.1 olup, literatür ile benzerdir. Tip II histolojisindeki seröz ve şeffaf hücreli kanserlerin ise sırasıyla 5 yıllık sağkalım oranları Bassarak ve ark. (85)'nın yaptıkları çalışmada %42 ve %24-34 olarak bildirilmiştir. Olgularımızdan 18'i tip II histolojisinde olup, bu olguların 5 yıllık sağkalım oranı %50 idi.

2009 yılında FIGO evreleme sistemi bazı değişiklikler yapılarak yenilenmiştir. 1988 FIGO sınıflamasında Evre I olgular miyometrium invazyon derinliğine göre 3 alt gruba ayrılmakta idi: IA: endometrium içine sınırlı, IB: %50'den az miyometrial invazyon, IC: %50 ya da daha fazla invazyon olarak sınıflanmıştı. Endomyometrial bileşkenin düzensiz oluşunun özellikle yüzeysel myometrial invazyonu değerlendirmede zorluk yaratması ve hatalara yol açması ve en son FIGO verilerinin 5 yıllık sağkalım açısından Evre IA ve Evre IB olguları arasında fark olmadığını göstermesi (%92, %91) yeni evrelemede IA ve IB alt gruplarının birleştirilmesi ile sonuçlandı (86). Bu çalışmada değerlendirilen olgulardan 53'ü (%56.3) evre I idi ve 5 yıllık sağkalım oranı bu grupta %96.2 idi. Myometrial invazyon varlığı bu çalışmada değerlendirilmiş olup, 84 (%89.4) olguda saptanmıştır, ancak myometrial invazyonun toplam, hastalıksız ve progresyonsuz sağkalım üzerine etkisi olmadığı gösterilmiştir. Benzer şekilde 1988 FIGO sınıflamasında evre II servikal tutulumu bağlı olarak iki gruba ayrılmış idi. Ancak bu iki grup arasında sağkalım üzerinde önemli bir değişiklik olmadığı gösterildiği için (87), 2009 sınıflandırmasında evre II sadece "stromal invazyon varlığı" olarak belirtilmiştir (88). Servikal invazyon varlığı çalışmamızda da 31 (%33.0) olguda saptanmıştır ve analiz sonucunda da servikal invazyonun sağkalım üzerine etkisi saptanmamıştır.

Lenfovasküler invazyon ve tümör derecesinin endometrial kanserlerde önemli bir diğer prognostik belirteç olduğu bilinmektedir (88). Briet ve ark. (89) lenf nodu tümör negatif bulunan olgularda lenfovasküler invazyonun nüks açısından bağımsız prognostik faktör olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da hastaların 34'ünde (%36.2) lenfovasküler invazyon saptanmıştır ve lenfovasküler invazyonu olan olguların olmayanlara göre anlamlı şekilde daha az toplam, hastalıksız ve progresyonsuz sağkalım süresine sahip olduğu görülmüştür.

Endometrium kanseri cerrahisinde, FIGO'nun da önerdiği gibi, pelvik ± paraaortik lenfadenektomi özellikle yüksek grad ya da lenfatik yayılımın fazla olduğu bilinen histolojik tipler için yapılmaktadır. Lenf nodu metastazının önemli bir prognostik faktör olduğu bilinmekle birlikte, lenfadenektominin toplam sağkalım üzerine olan etkisi araştırma konusu olmuştur (90,91). Ceccaroni ve ark. (90) lenfadenektominin sağkalım üzerine bir etkisi olmadığını bildirirler de Barakat ve ark. (92) on iki yıllık bir retrospektif çalışma sonucunda lenfadenektomi oranının 1993 yılında %23 olduğunu fakat 2004 yılında bu oranın %84'e çıktığını raporlamışlardır. Smith ve ark. (93) yayınladıkları bir analizde 2007 yılında Amerika'da 42 814 endometrium kanserli olguyu değerlendirip, bu hastaların %47'sine lenfadenektomi uygulandığı göstermişlerdir. Bu sonuç doğrultusunda yapılan analizde lenfadenektominin toplam sağkalımda bağımsız bir faktör olduğu iddia edilmiştir. Çalışmamızdaki olguların hepsine pelvik lenfadenektomi uygulanmış olup, paraaortik lenfadenektomi oranı %40.4'tür. Ortalama 26.4 pelvik ve 2.28 adet de paraaortik lenf nodu disseke edilmiştir. Lenfadenektomi materyallerinin patolojik incelemesinde metastatik pelvik lenf nodu oranı %20.2 ve metastatik paraaortik lenf nodu oranı da %21 olarak saptanmıştır. Pelvik, paraaortik ve hem pelvik hem de paraaortik lenf nodu metastazı olan olguların kendi arasında yapılan analizinde toplam sağkalım süreleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Çalışmamızda tip I ve tip II olgularda pelvik ve paraaortik lenf nodu metastazı saptanan olguların metastaz olmayan olgulara göre yapılan sağkalım analizinde bir fark gösterilmemiştir. Yapılan pek çok çalışmada pelvik lenfadenektominin sağkalım üzerinde bağımsız bir prognostik faktör olduğunun gösterilmesi nedeniyle çalışmamızdaki tüm olgulara pelvik lenf nodu diseksiyonu uygulanmıştır. Lutman ve ark. (94) evre I,II ve grad 3 ile tip II kanserlerde pelvik lenfadenektominin toplam ve progresyonsuz sağkalımı iyileştirdiğini göstermişlerdir. Düşük riskli hastalarda ise böyle bir sonuca ulaşmamışlardır.

Günümüzde hastalıkların prognozunun öngörüsünde, değişik yöntemler geliştirilmektedir. Endometrium kanseri prognozunun belirlenmesinde belirtildiği gibi evre, histolojik tip, grad, lenf nodu metastazının yanı sıra son yıllarda immünohistokimyasal çalışmalar önemli yer tutmaktadır (38,95). Endometrium kanserine özgü sağkalım öngörüsünde kullanılabilecek moleküler ve genetik prognostik faktörlerin ortaya konulması, bu konuda yapılan güncel çalışmaların en önemli hedefi haline gelmiştir. Endometrium kanseri prognozu için çok sayıda moleküler belirteç önerilmiştir. İmmünohistokimyasal belirteçlerin ise prognozdaki yeri son yıllarda ivme kazanmıştır (96,97).

Endometrium kanserlerinde histopatolojik inceleme yapıldığı takdirde anjiogenez ve anormal kan damarı gelişimi bu kanserlerdeki prognostik faktörler arasında önemli bir yer

tutmaktadır. Bu faktörler hastalığın seyri, nüks potansiyeli ve geliştirilebilecek tedavi stratejileri açısından farklı ipuçları verebilir. HIF-1 α 'nın endometrium kanserinde prognoza olan etkisini gösteren yayınlar mevcuttur (6,95). HIF geni transkripsiyonel heterodimerik yapıda faktör salan β -alt grubu ve oksijen düzenleyici α -alt grubundan oluşur. Kanser durumunda artmış HIF-1 α aktivitesi genin “up-regülasyonu”na, kanser progresyonu ile ilgili metabolik adaptasyon, apoptoz direnci ve özellikle de anjiogenezi içeren birçok duruma neden olur (98). Daha önceki çalışmalar bize HIF-1 α 'nın “up-regülasyonu”nun endometrioid kanserlerde prognoza olumsuz etkisinin olduğunu göstermektedir (95,99). Bu nedenle çalışmamızda HIF-1 α gibi bir immünohistokimyasal belirteci kullanarak bu antikorun endometrium kanserlerinde histolojik tip, grad, evre gibi tümörün histolojik özellikleri ve prognozla ilişkilerini araştırmayı amaçladık. Endometrium kanseri prognozunda önemli belirleyicilerden olan anjiogenezin değerlendirilmesinde CD34 antikorunu kullanılarak MDD ölçümü yapıldı ve bu boyanmanın HIF-1 α boyanması ile olan ilişkisi araştırıldı.

Hipoksi birçok kanser patogenezinde önemli bir yer tutmaktadır. HIF-1 oksijene bağımlı bir proteindir. Normal oksijen konsantrasyonlarında HIF-1 α alt ünitisi prolin hidroksilasyona uğrar ve yıkılır. Hipoksida ise bu yıkım basamakları gerçekleşmez ve HIF-1 α birikir (98). HIF-1 α anjiogenezin düzenlenmesinde, glukoz metabolizmasında, proliferasyon ve apoptoz ile ilgili genleri aktive ettiğinden bir çok kanser türünde progresyon ile ilişkilidir (100,101). HIF-1 α 'nın tümörlerde salınımı iki farklı mekanizmaya bağlanmaktadır. İlk mekanizma solid tümörlerde oluşan hipoksik ortam nedeniyle bu proteinin birikmesidir. Glioblastome multiforme buna iyi bir örnektir. Buna ek olarak genetik bir diğer yol ile de HIF-1 α pozitifliği oluşabilir. Özellikle kanlanması fazla olan hemanjioblastom, kolon kanserleri ve renal hücreli kanserlerde bu mekanizma ile HIF-1 α birikir. Endometrium kanserlerinde ise kronik hipoksi ve nekroz sonrasında HIF-1 α ekspresyonunun arttığı görülmektedir (99).

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α ile endometrium kanseri alt gruplarında boyanma özellikleri araştırılmıştır. Pansare ve ark. (95) endometrioid ve seröz tip kanserli olguları dahil ettikleri çalışmalarında HIF-1 α boyanmasının endometrioid tipe göre seröz kanserlerde daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda 94 olgunun 28'i (%29.8) HIF-1 α antikoruna pozitif reaksiyon vermiş olup, bu olguların 24'ü endometrioid tip kanser, 4'ü tip II (3'ü seröz, 1'i şeffaf hücreli) histolojisinde idi. Literatürden farklı olarak, çalışmamızda tip I ve tip II endometrium kanserleri HIF-1 α pozitifliği açısından benzer bulundu. Pansare ve ark. (95)'nin yaptıkları çalışmada tip II grubundaki tüm olguların seröz tipte olup, şeffaf hücreli vaka bulunmamaktadır. Çalışmamızda 9 olgunun şeffaf hücreli kanser olması ve bu vakaların tip II

grubuna dahil edilmesi nedeniyle HIF-1 α pozitifliği açısından böyle farklı bir sonuç oluşabileceği düşünülmüştür. Nitekim şeffaf hücreli dokuz olgunun sadece birinde (%11.1) HIF-1 α pozitifliği bulunmuş, seröz tip kanserde ise bu oran %33.3 (3/9) ile yine de Tip I ile benzer saptanmıştır (24/76, %31.6). Ancak şeffaf hücreli olgu sayısı artırılarak yapılacak benzer çalışmalarla literatürden farklı elde ettiğimiz bu bulgumuz desteklenmelidir. Ek olarak çalışmaya dahil edilen 76 tip I endometrium kanserli olgudan 24'ünde (%31.6) HIF-1 α pozitifliği saptanmış olması bu konu ile ilgili yapılmış önemli çalışmalardan biri olan Pansare ve ark. (95)'nin saptadığı %25 oranından biraz daha yüksek bir oran ortaya koymaktadır.

Literatürde endometrium kanserinden farklı kanserlerde de HIF-1 α ile kanser alt gruplarında boyanma özellikleri araştırılmıştır. Örneğin Lee ve ark. (102) over kanserli hastalarla yaptıkları çalışmalarında endometrioid, seröz, müsinöz over kanseri alt tiplerine göre şeffaf hücreli over kanserlerinde anlamlı şekilde HIF-1 α pozitifliğini daha yüksek saptamışlardır. Ancak Osada ve ark. (103) over kanseri alt histolojik gruplarında (seröz, müsinöz, endometrioid ve şeffaf hücreli) HIF-1 α 'nın boyanma paterni açısından anlamlı bir fark gözlemlememiştir. Ayrıca küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde HIF-1 α pozitifliği araştırılmış ve adenokanser olan ve adenokanser olmayan akciğer kanseri alt tiplerinde HIF-1 α boyanma özellikleri açısından bir farklılık tespit edilmemiştir (104).

Endometrium kanseri prognostik faktörlerinden biri olan grad ile HIF-1 α arasında yapılan değerlendirmede HIF-1 α pozitifliği ile grad arasında pozitif anlamlı ilişki mevcuttur. Daha yüksek grad'larda daha fazla HIF-1 α pozitifliği elde edilmektedir (99). Çalışmamızdaki 28 HIF-1 α pozitif olgunun 7'si grad 1, 14'ü grad 2 ve 7'si grad 3 idi. Literatür ile uyumlu olarak bulduğumuz yüksek grad ile HIF-1 α pozitifliği arasındaki ilişkinin yapılan alt istatistik analizi ile grad 2 olgularından kaynaklandığı belirlenmiştir. HIF-1 α pozitif grad 2 olgu sayısının rölatif olarak fazla olmasının da böyle bir sonuca neden olabileceği düşünülmüş olup, grad açısından homojen olarak oluşturulmuş çalışma dizaynları ile bu farklılık daha net ortaya konabilecektir. Öte yandan tip II kanserli hastaların grad 3 grubuna katılarak incelenmesi sonucu bu doğrusal ilişki tam anlamıyla bulunmamış olabilir. Bu nedenle tip II olgular çıkarıldıktan sonra tekrar bir analiz yapılmıştır. Tüm olguların tip I histolojisinde olduğu, HIF-1 α pozitifliği saptanmış grad 1, 2, ve 3 vakaların kendi arasında yapılan incelemesinde de grad ile HIF-1 α pozitifliği ilişkisi istatistiki olarak anlamlı şekilde devam etmiştir. Sivridis ve ark. (6) evre I endometrioid adenokanserli olgulardan oluşan çalışmalarında düşük grad'lı kanserlerde istatistiksel anlamlı şekilde daha yüksek oranda HIF-1 α pozitifliği olduğunu göstermişlerdir. Literatürde farklı kanserlerde grad ile HIF-1 α pozitifliği de incelenmiş olup farklı sonuçlar elde edilmiştir. Lee ve ark. (102) over kanserinde

HIF-1 α pozitifliği ile grad arasında çalışmamızdaki ile benzer şekilde bir ilişki saptamıştır. Zhang ve ark. (105) pankreas duktal adenokanserleri ile ilgili yaptıkları çalışmalarında grad ile HIF-1 α pozitifliği arasında anlamlı bir korelasyon izlememişlerdir.

Endometrium kanserinin en önemli prognostik belirleyicisi “evre”dir. Artan evre ile sağkalım oranı azalmaktadır. Çalışmamızda HIF-1 α pozitif olguların 15’i (%53.5) evre I, 4’ü (%14.2) evre II, 7’si (%25) evre III ve 2’si (%7.1) evre IV idi. Yapılan analiz sonucunda da evreler arasında HIF-1 α ile boyanma açısından anlamlı bir fark saptanmadı. HIF-1 α ’nın evre ile olan ilişkisi de literatürde araştırma konusu olmuştur. Yapılan bir çalışmada tip I endometrium kanserinde HIF-1 α pozitifliği ile evre arasında anlamlı ilişki saptanırken tip II endometrium kanserinde bu ilişki izlenmemiştir (95). Ozbudak ve ark. (106) endometrioid tip endometrial kanserli olgularda HIF-1 α ’nın ileri evrelerde erken evrelere göre daha fazla eksprese edildiğini bildirmişlerdir. Evre ile HIF-1 α pozitifliği mesane kanserlerinde de araştırılmış ve Deniz ve ark. (101) mesane kanserlerinde artan evre ile HIF-1 α pozitifliğinin de arttığını belirlemişlerdir.

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α ekspresyonu arttığında tümörün saldırgan bir davranış gösterme eğilimi artarak metastatik kapasitesi de artmaktadır. Bu durumun bir sonucu olarak da servikal, myometrial, adneksiyal ve lenfovasküler invazyon artmaktadır. Patolojik evrenin belirleyici özelliklerinden olan myometrial invazyon ve adneksiyal metastaz Pansare ve ark. (95)’nin yaptıkları çalışmada HIF-1 α pozitif olgularda daha yüksek oranda saptanmıştır. Ancak literatürde myometrial ve lenfovasküler invazyon ile HIF-1 α pozitifliği arasında bir ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (6). Çalışmamızdaki servikal, myometrial, adneksiyal ve lenfovasküler invazyonu olan olguların HIF-1 α pozitifliği oranlarına bakıldığında sırasıyla %32.2, %29.7, %25 ve %29.4 rakamları elde edildi. Ancak invazyon varlığı ile HIF-1 α pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Olgularımızın 66’sı (%70.2) HIF-1 α antikoru ile pozitif reaksiyon gösterdi. HIF-1 α pozitif olgularda toplam sağkalım oranı %78.6 ve ortalama toplam sağkalım süresi 61.2 ay iken negatif olgularda toplam sağkalım oranı %86.2 ve ortalama toplam sağkalım süresi 74.6 ay idi. HIF-1 α pozitif olguların toplam sağkalım oranları ve ortalama yaşam süreleri daha kısaydı. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.222$). Benzer şekilde hastalıksız ve progresyonsuz sağkalım istatistiki sonuçlarında da HIF-1 α pozitif ve negatif olgular arasında fark izlenmedi. Bu bulgular eşliğinde Pansare ve ark. (95)’nin bulgularına benzer olarak bizim olgularımızda da HIF-1 α pozitifliği ile toplam sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ancak Sivridis ve ark. (6)’nın yaptıkları endometrium kanserli olgulardaki çalışmada HIF-1 α ‘nın aşırı eksprese edilmesinin kötü prognoz ile ilişkisi gösterilmiştir. Fakat

bu çalışmada tüm olgular evre I endometrioid adenokanser vakalarından seçilmiştir. Çalışmamızdaki olguların histolojik tip ve evrelerinin farklı olması nedeniyle literatürden farklı bir sonuç elde ettiğimizi düşünmekteyiz.

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α pozitifliği ile endometrium kanseri arasındaki prognoza ilişkin bulgular diğer tümör tipleri ile farklılıklar da oluşturmaktadır. Birner ve ark. (107)'ları erken evre invaziv serviks kanserlerindeki çalışmalarında HIF-1 α aşırı ekspresyonu ile daha kısa toplam sağkalım oranlarının olduğunu göstermişlerdir. İleri evre mide kanserlerinde yapılan bir diğer çalışmada da HIF-1 α pozitifliği ile daha kısa sağkalım süreleri saptanmıştır (108). Yoshimura ve ark. (109) kolorektal kanserlerde yaptıkları çalışmada HIF-1 α pozitifliğinin erken evre kanserlerde daha fazla olduğuna dikkati çekmişlerdir. Birner ve ark. (110) buna benzer bir şekilde over kanserleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada iyi diferansiye over kanserlerinde kuvvetli HIF-1 α salınımını göstermişlerdir. Diğer kanser tipleri üzerinde yapılan çalışmalarda HIF-1 α salınımı belirlenmiş ve özellikle meme, over, özofagus, orofarengeal kanserlerde ve yumuşak doku sarkomlarında kötü prognoz ve agresivite ile ilişkilendirilmiştir (111).

Bu zamana kadar yapılan çalışma sonuçlarında değişik organ türlerinde HIF-1 α pozitifliğinin prognoz üzerine farklı etkileri olabileceği gösterilmektedir. Biz çalışmamızda endometrium kanserlerinde HIF-1 α pozitifliğinin kötü prognoz ile ilişkilendirebileneğine dair veriler elde etmedik.

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α 'nın boyanma özelliği de bir diğer tartışma konusudur. HIF-1 α sadece nükleusta aktive olan bir proteindir ancak hem sitoplazmada hem de nükleusta boyanmaktadır (112). Çalışmamızda sadece nükleer HIF-1 α pozitifliği değerlendirmeye alınmıştır. Bu konudaki literatürdeki yorum farklılıkları boyanma paterninin tartışmaya hala açık olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

CD34 molekülü mikrodamar yoğunluğu (MDD) ölçmede kullanılan ve tümör stromasında anjiogeneze aşamasında belirlenebilir. CD34 antikorunun prognozu belirlemede diğer mikrodamar hesaplamada kullanılan antikorlardan daha iyi sonuçlar verdiği ve bu sayede prognoz hakkında bilgi verdiği gösterilmiştir (113). HIF-1 α anjiogenetik bir belirleyici olduğu için yapılan çalışmalarda HIF-1 α pozitifliği ile yüksek MDD arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (6). Yapılan bu çalışmada da daha önce yapılan çalışmaları destekleyici şekilde, HIF-1 α pozitif olgularda MDD 48.27 ± 8.04 iken, HIF-1 α negatif olgularda MDD 42.61 ± 5.50 olarak saptandı. Ek olarak MDD ile histolojik tipler karşılaştırıldığında tip I endometrium kanserli olgularda MDD 45.2 ± 6.61 iken, tip II olgularda 52.9 ± 4.55 olarak tespit edildi. Benzer şekilde çalışma olgularında grad ilerledikçe MDD değerinde artma

olduğu da belirlendi ($p=0.009$). Tip II tümörlerin daha saldırgan seyirli ve yüksek dereceli olduğu düşünüldüğünde çalışmamızda MDD ile elde edilen bulgular literatür ile uyumludur. Yıldız ve ark. (114) çalışmalarında yüksek MDD'nin düşük evre için bir belirleyici olduğu belirtilmektedir. Ancak çalışmamızda MDD ile evre ve sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Endometrium kanseri kadın genital sisteminin en sık görülen kanseri olsa da 5 yıllık sağkalım oranları özellikle erken evrelerde yüksektir. Nüks %10-15 oranında gelişir. Nüks gelişen hastaların ise %50'sinde nüks pelviste sınırlıdır (115). Çalışma olgularında takip edilen süre içerisinde 9 (%9.6) olguda nüks gelişmiş olup, 5 vakada nüks yeri vertebra idi. Bilindiği gibi nüks genellikle cerrahi sonrası ilk iki yıl içerisinde gelişmektedir. Çalışmadaki nüks eden olgularda ortalama takip süresi 44.8 ay, ortalama nüks süresi 21.5 ay idi. Cerrahi tedavi sonrasında nüksün en sık vajinada gelişmesi nedeniyle adjuvan intrakaviter BT uygulamaları ile ilgili literatürde yapılan pek çok çalışma mevcuttur. Nout ve ark. (116) evre I ve II, orta-yüksek riskli endometrial kanserli olguları dahil ettikleri çalışmalarında BT'nin vajinal kontrolü sağlamak açısından güvenli bir tedavi olduğunu göstermişler ve orta-yüksek riskli hasta popülasyonunda vajinal BT'nin adjuvan tedavi seçeneği olarak eksternal pelvik RT'ye tercih edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Erken evre olgularda ise adjuvan terapinin (BT/RT) yeri tartışmalıdır. Kong ve ark. (117) risk faktörü olmayan erken evre hastalarda toksisite etkisi taşıması nedeniyle eksternal pelvik RT'den kaçınılması gerektiğini saptamışlardır. İntrakaviter BT'nin düşük morbiditesi nedeniyle orta-riskli hasta grubunda adjuvan tedavi seçeneği olduğu bildirilmiştir (118). Çalışmamızdaki evre IA olguların yarısına intrakaviter BT uygulanıp diğer yarısı gözlem ile takip edilmiştir ve her iki grupta da vajinal nüks izlenmemiştir.

Anjiogeneze tümörün seyri ve metastatik yayılımı için önemlidir. HIF-1 α , anjiogenetik faktörlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Bu nedenle son zamanlarda HIF-1 α 'ya yönelik olarak oluşturulan tedavi stratejileri giderek artan oranda araştırma konusu olmuştur (99). Hipoksinin kanser gelişimindeki rolü dikkate alındığında, HIF-1 α gibi hipoksik olayları genetik düzeyde regüle eden moleküllere yönelen tedavi seçenekleri ivme kazanarak artmaktadır. Karna ve ark. (119) çalışmalarında, tümör hücrelerinde apoptoz ve anti-anjiogenetik faktörlerin gelişimini sağlayan betulinik asitin endometrial adenokanser hücrelerinde HIF-1 α ekspresyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir. Benzer şekilde Jiang ve ark. (120), over kanserlerinde HIF-1 α inhibisyonu ve kemoterapi ile over kanseri progresyonunun engellenebileceğini göstermişlerdir. Yeo ve ark. (121) ise genetik ve farmakolojik düzeyde HIF-1'i hedef alan anti-kanser ajanlarını özetledikleri çalışmalarında

önümüzdeki yıllarda kanser hastalarının prognozunu iyileştirebilecek yeni ilaçların gündeme gelebileceğini bildirmişlerdir. HIF-1 α 'nın hücrenin hipoksiye adaptasyon aşamasındaki vazgeçilmez rolü düşünüldüğünde, endometrium kanserinde HIF-1 α 'yı selektif olarak inhibe eden moleküllerin klinik kullanımının yaygınlaşması için bu konu ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

Endometrium kanseri ile ilgili literatürde yapılan çalışmalar değerlendirilecek olursa, HIF-1 α 'nın anjiogenez ve prognostik önemi ile ilgili farklı sonuçlar olduğunu görebiliriz. Olgu ve alt histolojik tiplerin sayısı arttırılarak daha sağlıklı veriler ortaya konulabilir. Ayrıca immünohistokimyasal kriterler standardize edilmeli (nükleer/sitoplazmik) ve moleküler çalışmalarla desteklenmelidir.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma Ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü'nde 2001 ile 2010 tarihleri arasında endometrium kanseri nedeniyle opere edilen olguların parafin blokları tekrar değerlendirilip, immünohistokimyasal belirteçler eşliğinde anjiogenetik ve klinik-patolojik faktörlerin incelenmesi sonucu elde ettiğimiz sonuçlar şunlardır;

1. Olguların histolojik tip, grad, evre, sağkalım oranları gibi özellikleri HIF-1 α ve CD 34 immünohistokimyasal belirleyicilerle karşılaştırılmış ve birbirleri ile olan ilişkileri incelenmiştir.

2. Çalışma grubundaki olguların histolojik tiplerine göre evre dağılımına bakıldığında tip II grubundaki vakaların daha ileri evrede olduğu görüldü ($p=0.001$).

3. Olguların servikal, adneksiyal, myometriyal ve lenfovasküler invazyon açısından toplam sağkalım süreleri incelendiğinde adneksiyal invazyon varlığının ve lenfovasküler invazyon pozitifliğinin olguların toplam sağkalımı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde etkisi olduğu görüldü ($p<0.001$, $p<0.001$). Servikal ve myometriyal invazyonun ise toplam sağkalım üzerine etkisi saptanmadı.

4. Pelvik $\pm$ paraaortik lenf nodu metastazı saptanan olguların metastaz olmayan olgulara göre toplam sağkalım sürelerinde bir farklılık saptanmadı.

5. Tip I ve tip II olgularda pre-operatif ve post-operatif CA-125 değerleri incelendiğinde tip I vakalarda iki değer arasında anlamlı fark izlendi ($p=0.001$).

6. Tip I ve tip II histolojik grupları arasında yapılan sağkalım analizlerinde toplam sağkalım, hastalıksız sağkalım ve progresyonsuz sağkalım oranlarında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlendi ($p<0.001$).

7. Olgularımızın HIF-1 α boyanma özellikleri ile histolojik tip, evre, yaş, kilo, menopozal durum arasında yapılan istatistiksel analizde anlamlı bir ilişki saptanmadı.
8. Çalışma grubundaki olgularda grad ile HIF-1 α pozitifliği arasında anlamlı bir fark izlendi ($p=0.044$).
9. Grad 3 tip II olgular dışlanarak yapılan analizde grad ile HIF-1 α pozitifliği arasındaki anlamlı farklılık devam etti ($p=0.008$).
10. Olguların servikal, adneksiyal, myometriyal ve lenfovasküler invazyon açısından HIF-1 α boyanma özellikleri karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı.
11. Olguların sağkalım analizi yapıldığında HIF-1 α ile boyanma özelliği açısından toplam, hastalıksız ve progresyonsuz sağkalım oranları açısından bir fark tespit edilmedi.
12. Çalışma grubundaki olguların MDD değerlendirmesi yapıldığında CD 34 ile boyanan damar sayısı ile grad arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($r=0.268$; $p=0.009$). Grad arttıkça CD 34 ile boyanan damar sayısında artma izlendi.
13. Çalışmamızda histolojik tipler açısından bakıldığında tip II endometrium kanserinde MDD tip I'e göre daha yüksekti ($p<0.001$).
14. MDD ile sağkalım oranları ve evre arasında yapılan istatistiksel analizde ise anlamlı bir fark tespit edilmedi.
15. Çalışmamızda kullanılan immünohistokimyasal belirleyicilerin (HIF-1 α ve CD34) boyanma özellikleri açısından birbirleri ile arasında anlamlı bir ilişki görüldü ($p<0.001$). HIF-1 α pozitifliği saptanan olgularda MDD daha yüksek izlendi.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı endometrium kanserli olgularda tümör anjiogenezini immünohistokimyasal belirteçler ile incelemek ve evre, grad, sağkalım gibi klinik ve histopatolojik prognostik faktörlerle olan bağlantısını aydınlatmaya çalışmaktır.

Ocak 2001 ile Ağustos 2010 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü'nde endometrium kanseri nedeniyle ameliyat edilen olgular çalışmaya dahil edildi. Olguların tümörü en iyi gösterdiğine inanılan kesitlerinin parafin blokları tekrar oluşturulup, hipoksi ile indüklenen faktör 1 alfa ve CD34 antikorları kullanılarak anjiogenez ve mikrodamar dansitesi değerlendirildi.

Çalışmamızda ileri dereceli (grad) ve mikrodamar dansitesi yüksek olgularda hipoksi ile indüklenen faktör 1 alfa pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edildi. Bu antikor ile yaş, kilo, menopozal durum, evre, toplam sağkalım, histolojik tip arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Hipoksi ile indüklenen faktör 1 alfa pozitif ve negatif olguların, evrenin önemli belirleyicilerinden olan servikal, adneksiyal, lenfovasküler ve myometrial invazyon özellikleri kıyaslandığında iki grup arasında fark gözlenmedi. CD34 ile değerlendirilen mikrodamar dansitesinin derece (grad) ve histolojik tip ile yapılan analizinde ise ileri grad tümörlerde ve tip II histolojik tip endometrium kanserlerinde mikrodamar dansitesi yüksek olarak belirlendi. Mikrodamar dansitesi ile evre ve sağkalım üzerinde ise anlamlı bir ilişki görülmedi.

Sonuç olarak endometrium kanserlerinde hipoksi ile indüklenen faktör 1 alfa ile yapılan immünohistokimyasal değerlendirmede, derece ve mikrodamar dansitesi gibi histopatolojik parametre ve angiogenetik özelliklerin literatür ile uyumlu olarak anlamlı bir

ilişkiye sahip olduğu görüldü. Çalışmamızda hipoksi ile indüklenen faktör 1 alfa pozitifliğinin diğer organ tümörlerinde olan kötü prognosis ile olan ilişkisi de bulgu olarak saptanmamıştır. Ancak immünohistokimyasal verilerin moleküler araştırmalarla birleştirildiği daha geniş çalışmalar ile bu konu desteklenmelidir.

Anahtar kelimeler: Endometrium kanseri, hipoksi, anjiogenez

THE INVESTIGATION OF TUMORAL ANGIOGENESIS WITH HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR 1ALPHA AND MICROVESSEL DENSITY IN WOMEN WITH ENDOMETRIUM CANCER

SUMMARY

The aim of this study was to determine tumoral angiogenesis with immunohistochemical markers in endometrium cancer and its relation with stage, grade, survival rates and other clinical and histopathological prognostic factors.

Ninety-four hysterectomy specimen operated as endometrium cancer were evaluated in Trakya University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology between January 2001 and August 2010. The paraffin blocks believed to demonstrate the optimum part of the tumor were reprepared. Angiogenesis and microvessel density were investigated with the aid of hypoxia inducible factor 1alpha and CD34 antibodies.

Statistically significant difference between the hypoxia inducible factor 1alpha positivity and advanced grade and high microvessel density were observed. However lacks of relation among age, weight, menopausal status, stage, overall survival rates and histological types were analyzed with hypoxia inducible factor 1 alpha. When we compare hypoxia inducible factor 1alpha positive and negative cases with cervical, adnexial, lenfovacular and myometrial invasion, being the most important factors determining stage, there was no difference between these groups. High microvessel density was evaluated with CD34 and it was remarkable and significantly different on advanced grade tumors and type II histology.

However there was no relationship between the microvessel density and stage or survival rates.

In conclusion, consistent with the literature, the difference was statistically significant among grade and microvessel density, which were one of the most important factors of histopathological parameters and angiogenetic features, with hypoxia inducible factor 1 alpha in endometrial cancers. Our results also showed that there was no correlation between the hypoxia inducible factor 1 alpha positivity and poor prognosis as oppositely reported in other cancers. However more detailed studies supporting the immunohistochemical findings based on molecular investigations are needed in the future.

Key words: Endometrium cancer, hypoxia, angiogenesis

KAYNAKLAR

1. Crum CP. The female genital tract. In: Kumar, Abbas, Fausto. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed, China: Elsevier Saunders;2005.p.1059-117.
2. www.saglik.gov.tr: erişim tarihi:01.09.2010.
3. Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics 1996. CA Cancer J Clin 1996;46:5-28.
4. Hecht LJ, Mutter GL. Molecular and pathologic aspects of endometrial carcinogenesis. J Clin Oncol 2006;24:4783-91.
5. Vaupel P, Kelleher DK, Hockel M. Oxygen status of malignant tumors: pathogenesis of hypoxia and significance for tumor therapy. Semin Oncol 2001;28:29-35.
6. Sivridis E, Giatromanolaki A, Gatter K, Haris AL, Koukourakis MI. Association of hypoxia-inducible factors 1a and 2a with activated angiogenic pathways and prognosis in patients with endometrial carcinoma. Cancer 2002;95:1055-63.
7. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 9th ed. A Times Mirror Company, Mosby;2004.p.234-53.
8. Tavassoli FA, Devilee P. Tumours of the uterine corpus. World Health Organization Classification of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Germany: IARC Press. 2003;p. 217-57.
9. Steven G, Sirverberg MD. Problems in the differential diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma. Mod Pathol 2000;13:309-27.
10. Ronnett BM, Seidman JD, Zaino RJ, Ellenson LH, Kurman RJ. Pathology of the endometrial hyperplasia and carcinoma. USA: Marcel Dekker 2005.p.93-147.

11. Zaino RJ. Endometrial hyperplasia and carcinoma. 5th ed. Spain: Churchill Livingstone;2003.p.443-95.
12. Ronnett BM, Zaino RJ, Ellenson LH, Kurman RJ. Endometrial Karsinom 5th ed. USA:Springer;2002.p.501-59.
13. Nicolucci A. Epidemiological aspects of neoplasms in diabetes. *Acta Diabetol* 2010;47(2):87-95.
14. Mulligan AM, Plotkin A, Rouzbahman M, Soslow RA, Gilks CB, Clarke BA. Endometrial giant cell carcinoma: a case series and review of the spectrum of endometrial neoplasms containing giant cells. *Am J Surg Pathol* 2010;34(8):1132-8.
15. Matias-Guru X, Catasus L, Bussaglia E, Lagarda H, Garcia A, Pons C et al. Molecular pathology of endometrial hiperplasia and carcinoma. *Hum Pathol* 2001;32:569-77.
16. Benshushan A. Endometrial adenocarcinoma in young patients: evaluation and fertility-preserving treatment. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;117(2):132-7.
17. Yu W, Cline M, Maxwell LG, Berrigan D, Rodriguez G, Warri A et al. Dietary vitamin D exposure prevents obesity-induced increase in endometrial cancer in Pten +/- mice. *Cancer Prev Res (Phila)* 2010 Sep 21- Epub ahead of print
18. Friberg E, Orsini N, Mantzonos CS, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of endometrial cancer: a meta-analysis. *Diabetologia* 2007;50(7):1365-74.
19. Ramirez NC, Lawrence WD. Uterus. *Modern Surgical Pathology Hong Kong: Saunders*;2003.p. 1327-77.
20. McTiernan A, Irwin M, Vongruenigen V. Weight, physical activity, diet, and prognosis in breast and gynecologic cancers. *J Clin Oncol* 2010;28(26):4074-80.
21. Walsh CS, Blum A, Walts A, Alsabeh R, Tran H, Koeffler HP et al. Lynch syndrome among gynecologic oncology patients meeting Bethesda guidelines for screening. *Gynecol Oncol* 2010;116(3):516-21.
22. Zhou B, Yang L, Sun Q, Cong R, Gu H, Tang N, et al. Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer: a meta-analysis. *Am J Med* 2008;121(6):501-8.
23. Hendrickson MR, Longacie TA, Kempson RL. The uterine corpus. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. 4th ed, India: Lippincott Williams&Wilkins;2004.p. 2435-41.
24. Eren FT. Endometrium kanserlerinde prognostik faktörler ve raporlama. 19. Ulusal Patoloji Kongresi 7-11 Ekim Kıbrıs 2009:113-8.
25. Larson DM, Berg R, Shaw G, Krawisz BR. Prognostic significance of DNA ploidy in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1999;74: 356-60.
26. Burkley CH, Fox H. Carcinoma of the endometrium (endometrial müllerian epithelial tumours). *Biopsy Pathology of the Endometrium*. 2nd ed. Italy: Arnold; 2002.p.145-72.

27. Anderson MC, Robboy SJ, Russell P, Morse A. Endometrial carcinoma. Pathology of the Female Reproductive Tract. China: Churchill Livingstone; 2002. p.331-59.
28. Labonte S, Tetu B, Boucher D, Larue H. Transitional cell carcinoma of the endometrium associated with a benign ovarian Brenner tumor: a case report. Hum Pathol 2001;32:230-32.
29. Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, Creasman WT, Heller P, Homesley HD et al. Relationship between surgical-pathologic risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: A Gynecologic Oncology Group study. Gynecol Oncol 1991;40:55-65.
30. Papanikolaou A, Kalogiannidis I, Goutzioulis M, Misailidou D, Makedos A, Vergote I. Pelvic lymphadenectomy as alternative to postoperative radiotherapy in high risk early stage endometrial cancer. Arch Gynecol Obstet 2006;274(2):91-6.
31. Fujimoto T, Nanjyo H, Nakamura A, Yokoyama Y, Takano T, Shoji T et al. Para-aortic lymphadenectomy may improve disease-related survival in patients with multipositive pelvic lymph node stage IIIC endometrial cancer. Gynecol Oncol 2007;107:253-9.
32. Fujimoto T, Fukuda J, Tanaka T. Role of complete para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer. Curr Opin Obstet Gyn 2009;21:10-4.
33. Mariani A, Webb MJ, Keeney GL, Aletti G, Podratz KC. Assessment of prognostic factors in stage IIIA endometrial cancer. Gynecol Oncol 2002;86(1):38-44.
34. Wheeler DJ, Bell KA, Kurman RJ, Sherman ME. Minimal uterine serous carcinoma: diagnosis and clinicopathological correlation. Am J Surg Pathol 2000;24(6):797-806.
35. 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):470-3.
36. Jeon YT, Park I, Kim YB, Kim JW, Park NH, Kang SB et al. Steroid receptor expression in endometrial cancer: Clinical significance and epidemiological implication. Cancer Lett 2006;239:198-204.
37. Stefansson IM, Salvesen HB, Immervoll H, Akslen LA. Prognostic impact of histological grade and vascular invasion compared with tumour cell proliferation in endometrial carcinoma of endometrioid type. Histopathology 2004;44:472-9.
38. Prat J. Prognostic parameters of endometrial carcinoma. Hum Pathol 2004;35(6):649-62.
39. Maxwell GL, Risinger JI, Alvarez AA, Barrett JC, Berchuck A. Favorable survival associated with microsatellite instability in endometrioid endometrial cancers. Obstet Gynecol 2001;97:417-22.
40. Giaccia AJ, Simon MC, Johnson R. The biology of hypoxia: the role of oxygen sensing in development, normal function, and disease. Genes Dev 2004;18:2183-94.

41. International Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. The International Classification of Retinopathy of Prematurity revisited. *Arch Ophthalmol* 2005;123:991-9.
42. Stohrer M, Boucher Y, Stangassinger M, Jain RK. Oncotic pressure in solid tumors is elevated. *Cancer Res* 2000;60:4215-55.
43. Semenza GL. HIF-1: using two hands to flip the angiogenic switch. *Cancer Metastasis Rev* 2000;19:59-65.
44. Rocha S. Gene regulation under low oxygen: holding your breath for transcription. *Trends Biochem Sci* 2007;32(8):389-97.
45. Hu CJ, Wang LY, Chodosh LA, Keith B, Simon MC. Differential roles of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) and HIF-2 in hypoxic gene regulation. *Mol Cell Biol* 2003;23:9361-74.
46. Raval RR, Lau KW, Tran MG, Sowter HM, Mandriota SJ, Li JL et al. Contrasting properties of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) and HIF-2 in von Hippel-Lindau-associated renal cell carcinoma. *Mol Cell Biol* 2005;25:5675-86.
47. Kiichi H, Semenza GL. Regulation of angiogenesis by hypoxia-inducible factor 1. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006;59:15-26.
48. Manalo DJ, Rowan A, Lavoie T, Natarajan L, Kelly BD, Ye SQ et al. Transcriptional regulation of vascular endothelial cell responses to hypoxia by HIF-1. *Blood* 2005;105:659-69.
49. Jiang BH, Semenza GL, Bauer C, Marti HH. Hypoxia-inducible factor 1 levels vary exponentially over a physiologically relevant range of O₂ tension. *Am J Physiol* 1996;271:C1172-80.
50. Salceda S, Caro J. Hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redoxinduced changes. *J Biol Chem* 1997;272:22642-7.
51. Ruas JL, Poellinger L, Pereira T. Role of CBP in regulating HIF-1-mediated activation of transcription. *J Cell Sci* 2005;118:301-11.
52. Quintero M, Mackenzie N, Brennan PA. Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) in cancer. *EJSO* 2004;30:465-8.
53. Laughner E, Taghavi P, Chiles K, Mahon PC, Semenza GL. HER2 (neu) signaling increases the rate of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) synthesis: novel mechanism for HIF-1-mediated vascular endothelial growth factor expression. *Mol Cell Biol* 2001;21:3995-4004.
54. Page EL, Robitaille GA, Pouyssegur J, Richard DE. Induction of hypoxia-inducible factor-1 α by transcriptional and translational mechanisms. *J Biol Chem* 2002;277:48403-9.

55. Talks KL, Turley H, Gatter KC, Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ et al. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1 α and HIF-2 α in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages. *Am J Pathol* 2000;157:411-21.
56. Semenza GL. HIF-1 and tumor progression: pathophysiology and therapeutics. *Trends Mol Med* 2002;8(4):62-7.
57. Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003;3:721-32.
58. Papetti M, Herman IM. Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol* 2002;282:C947-70.
59. Iyer NV, Kotch LE, Agani F, Leung SW, Laughner E, Wenger RH et al. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 α . *Genes Dev* 1998;12:149-62.
60. Kotch LE, Iyer NV, Laughner E, Semenza GL. Defective vascularization of HIF-1 α - null embryos is not associated with VEGF deficiency but with mesenchymal cell death. *Develop Biol* 1999;209:254-67.
61. Tomita S, Ueno M, Sakamoto M, Kitahama Y, Ueki M, Maekawa N et al. Defective brain development in mice lacking the HIF-1 α gene in neural cells. *Mol Cell Biol* 2003;23:6739-49.
62. Tang N, Wang L, Esko J, Giordano FJ, Huang Y, Gerber HP et al. Loss of HIF-1 α in endothelial cells disrupts a hypoxia-driven VEGF autocrine loop necessary for tumorigenesis. *Cancer Cell* 2004;6:485-95.
63. Rajagopalan S, Mohler Er, Lederman R, Mendelsohn FO, Saucedo JF, Goldman CK et al. Regional angiogenesis with vascular endothelial growth factor in peripheral arterial disease: a phase II randomized, double-blind, controlled study of adenoviral delivery of vascular endothelial growth factor 121 in patients with disabling intermittent claudication. *Circulation* 2003;108:1933-8.
64. Kelly BD, Hackett SF, Hirota K, Oshima Y, Cai Z, Berg-Dixon S et al. Cell type-specific regulation of angiogenic growth factor gene expression and induction of angiogenesis in nonischemic tissue by a constitutively active form of hypoxia-inducible factor 1. *Circ Res* 2003;93:1074-81.
65. Elson DA, Thurston G, Huang LE, Ginzinger DG, McDonald DM, Johnson RS et al. Induction of hypervascularity without leakage or inflammation in transgenic mice overexpressing hypoxia-inducible factor-1 α . *Genes Dev* 2001;15:2520-32.
66. Patel TH, Kimura H, Weiss CR, Semenza GL, Hofmann LV. Constitutively active HIF-1 α improves perfusion and arterial remodeling in an endovascular model of limb ischemia. *Cardiovasc Res* 2005;68:144-54.
67. Rapisarda A, Uranchimeg B, Sordet O, Pommier Y, Shoemaker RH, Melillo G. Topoisomerase I-mediated inhibition of hypoxia-inducible factor 1: mechanism and therapeutic implications. *Cancer Res* 2004;64:1475-82.

68. Traina TA, Sabbatini P, Aghajanian C, Dupont J. Weekly topotecan for recurrent endometrial cancer: a case series and review of the literature. *Gynecologic Oncology* 2004;95:235-41.
69. Wadler S, Levy DE, Lincoln ST, Soori GS, Schink JC, Goldberg G. Topotecan is an active agent in the first-line treatment of metastatic or recurrent endometrial carcinoma: Eastern Cooperative Oncology Group Study E3E93," *J Clin Oncol* 21:2110-4.
70. Mabjeesh NJ, Escuin D, LaVallee TM, Pribluda VS, Swartz GM, Johnson MS et al. 2ME2 inhibits tumor growth and angiogenesis by disrupting microtubules and dysregulating HIF. *Cancer Cell* 2003;3:363-75.
71. Welsh S, Williams R, Kirkpatrick L, Paine-Murrieta G, Powis G. Antitumor activity and pharmacodynamic properties of PX-478, an inhibitor of hypoxia-inducible factor-1 α . *Mol Cancer Ther* 2004;3:233-44.
72. Horrée N, van Diest PJ, van der Groep P, Sie-Go DM, Heintz AP. Hypoxia and angiogenesis in endometrioid endometrial carcinogenesis. *Cell Oncol* 2007;29(3):219-27.
73. Cully M, You H, Levine AJ, Mak TW. Beyond PTEN mutations: the PI3K pathway as an integrator of multiple inputs during tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2006;6(3):184-92.
74. Pijnenborg JMA, Wijnakker M, Hagelstein J, Delvoux B, Groothuis PG. Hypoxia contributes to development of recurrent endometrial carcinoma. *International J Gynecol Cancer* 2007;17(4):897-904.
75. Acs G, Xu X, Chu C, Acs P, Verma A. Prognostic significance of erythropoietin expression in human endometrial carcinoma. *Cancer* 2004;100(11):2376-86.
76. Lidgren A, Hedberg Y, Grankvist K, Rasmuson T, Bergh A, Ljungberg B. Hypoxia-inducible factor 1 α expression in renal cell carcinoma analyzed by tissue microarray. *Eur Urol* 2006;50(6):1272-7.
77. Masunaga R, Kohno H, Dhar DK, Ohno S, Shibakita M, Kinugasa S et al. Cyclooxygenase-2 expression correlates with tumor neovascularization and prognosis in human colorectal carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2000;6:4064-8.
78. Yoshimura H, Dhar DK, Kohno H, Kubota H, Fujii T, Ueda S et al. Prognostic impact of hypoxia-inducible factors 1 α and 2 α in colorectal cancer patients: correlation with tumor angiogenesis and cyclooxygenase-2 expression. *Clin Cancer Res* 2004;10(24):8554-60.
79. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324(1):1-8.
80. Kurman RJ (ed). *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*, 5th ed, New York:Springer;2002.p. 501-60.
81. Mendivil A, Schuler KM, Gehrig PA. Non-Endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus: A review of selected histological subtypes. *Cancer Control* 2009;16(1):46-52.

82. Pilka R, Marková I, Dusková M, Procházka M, Tozzi M, Kudela M. Immunohistochemical evaluation and lymph node metastasis in surgically staged endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2010;31(5):530-5.
83. Jillani K, Khoro RB, Maqsood S, Siddiqui MA. Prevalence of malignant disorders in 50 cases of postmenopausal bleeding. *J Pak Med Assoc* 2010;60(7):540-3.
84. Fader AN, Arriba LN, Frasure HE, von Gruenigen VE. Endometrial cancer and obesity: epidemiology, biomarkers, prevention and survivorship. *Gynecol Oncol* 2009;114(1):121-7.
85. Bassarak N, Blankenstein T, Brüning A, Dian D, Bergauer F, Friese K et al. Is lymphadenectomy a prognostic marker in endometrioid adenocarcinoma of the human endometrium? *BMC Cancer* 2010;21(10):224.
86. Ali A, Black D, Soslow RA. Difficulties in assessing the depth of myometrial invasion in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2007;26:115-23.
87. Jordan LB, Al-Nafussi A. Clinicopathological study of the pattern and significance of cervical involvement in cases of endometrial adenocarcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2002;12: 42-8.
88. Zaino RJ. FIGO staging of endometrial adenocarcinoma; A critical review and proposal. *Int J Gynecol Pathol* 2008;28: 1-9.
89. Briet JM, Hollema H, Roesink N. Lymphovascular space involvement: an independent prognostic factor in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2005;96:799-802.
90. Ceccaroni M, Savelli L, Bovicelli A, Alboni C, Ceccarini M, Farina A, Bovicelli L. Prognostic value of pelvic lymphadenectomy in surgical treatment of apparent stage I endometrial cancer. *Anticancer Res* 2004;24(3b):2073-8.
91. May K, Bryant A, Dickinson HO, Kehoe S, Morrison J. Lymphadenectomy for the management of endometrial cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;20(1):CD007585.
92. Barakat RR, Lev G, Hummer AJ, Sonoda Y, Chi DS, Alektiar KM, Abu- Rustum NR. Twelve-year experience in the management of endometrial cancer: a change in surgical and postoperative radiation approaches. *Gynecol Oncol* 2007;105(1):150-6.
93. Smith DC, Macdonald OK, Lee CM, Gaffney DK. Survival impact of lymph node dissection in endometrial adenocarcinoma: a surveillance, epidemiology, and end results analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2008;18(2):255-61.
94. Lutman CV, Havrilesky LJ, Cragun JM, Secord AA, Calingaert B, Berchuck A et al. Pelvic lymph node count is an important prognostic variable for FIGO stage I and II endometrial carcinoma with high-risk histology. *Gynecol Oncol* 2006;102(1):92-7.

95. Pansare V, Munkarah AR, Schimp V, Haitham Arabi M, Saed GM, Morris RT et al. Increased expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha in type I and type II endometrial carcinomas. *Mod Pathol* 2007;20(1):35-43.
96. Seeber LM, Horree N, Vooijs MA, Heintz AP, van der Wall E, Verheijen RH et al. The role of hypoxia inducible factor-1alpha in gynecological cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010 Jun 3. [Epub ahead of print]
97. Koda M, Sulkowska M, Wincewicz A, Kanczuga-Koda L, Musiatowicz B, Szymanska M, et al. Expression of leptin, leptin receptor, and hypoxia-inducible factor 1 alpha in human endometrial cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1095:90-8.
98. Charlesworth PJ, Haris AL. Mechanisms of disease: angiogenesis in urologic malignancies. *Nat Clin Pract Urol* 2006;3(3):157-69.
99. Seeber LM, Zweemer RP, Verheijen RHM, van Deist PJ. Hypoxia-Inducible Factor-1 as a Therapeutic Target in Endometrial Cancer Management. *Obstet Gynecol Int* 2010;2010:580971. Epub 2010 Feb 14.
100. Generali D, Berruti A, Brizzi MP, Campo L, Bonardi S, Wigfield S et al. Hypoxia-inducible factor-1A expression predicts a poor response to primary chemoendocrine therapy and disease-free survival in primary human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12(15):4562-8.
101. Deniz H, Karakök M, Yagcı F, Güldür ME. Evaluation of relationship between HIF- 1 α immunoreactivity and stage, grade, angiogenic profile and proliferative index in bladder urothelial carcinomas. *Int Urol Nephrol* 2010;42:103-7.
102. Lee S, Garner El, Welch WR, Berkowitz RS, Mok SC. Over-expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha in ovarian clear cell carcinoma. *Gynecol Oncol* 2007;106(2):311-7.
103. Osada R, Horiuchi A, Kikuchi N, Yoshida J, Hayashi A, Ota M et al. Expression of hypoxia-inducible factor 1alpha, hypoxia-inducible factor 2alpha, and von Hippel-Lindau protein in epithelial ovarian neoplasms and allelic loss of von Hippel-Lindau gene: nuclear expression of hypoxia-inducible factor 1alpha is an independent prognostic factor in ovarian carcinoma. *Hum Pathol* 2007;38(9):1310-20.
104. Hung JJ, Yang MH, Hsu HS, Hsu WH, Liu JS, Wu KJ. Prognostic significance of hypoxia-inducible factor-1 a, TWIST1 and Snail expression in resectable non-small cell lung cancer. *Thorax* 2009;64:1082-9.
105. Zhang JJ, Wu HS, Wang L, Tian Y, Zhang JH, Wu HL. Expression and significance of TLR4 and HIF-1 α in pancreatic ductal adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2010;16(3):2881-8.
106. Ozbudak IH, Karaveli S, Simsek T, Erdogan G, Pestereli E. Neoangiogenesis and expression of hypoxia-inducible factor 1 α , vascular endothelial growth factor, and glucose transporter-1 in endometrioid type endometrium adenocarcinomas. *Gynecol Oncol* 2008;108(3):603-8.

107. Birner P, Schindl M, Obermair A, Plank C, Breitenecker G, Oberhuber G. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha is a marker for an unfavorable prognosis in early-stage invasive cervical cancer. *Cancer Res* 2000;60: 4693-6.
108. Nakamura J, Kitajima Y, Kai K, Hashiguchi K, Hiraki M, Noshiro H, Miyazaki K. HIF-1a is an unfavorable determinant of relapse in gastric cancer patients who underwent curative surgery followed by adjuvant 5-FU chemotherapy. *Int J Cancer* 2010;127(5):1158-71.
109. Yoshimura H, Dhar DK, Kohno H, Kubota H, Fujii T, Ueda S et al. Prognostic impact of hypoxia-inducible factors 1alpha and 2alpha in colorectal cancer patients: correlation with tumor angiogenesis and cyclooxygenase-2 expression. *Clin Cancer Res* 2004;10(24):8554-60.
110. Birner P, Schindl M, Obermair A, Breitenecker G, Oberhuber G. Expression of hypoxia-inducible factors 1alpha in epithelial ovarian tumors: its impact on prognosis and on response to chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2001;7(6):1661-8.
111. Urano N, Fujiwara Y, Doki Y, Tsujie M, Yamamoto H, Miyata H et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor-1 alpha in gastric adenocarcinoma. *Gastric Cancer* 2006;9(1):44-9.
112. Talks KL, Turley H, Gatter KC, Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ et al. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1alpha and HIF-2alpha in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages. *Am J Pathol* 2000;157(2):411-21.
113. Toge H, Inagaki T, Kojimoto Y, Shinka T, Hara I. Angiogenesis in renal cell carcinoma: the role of tumor-associated macrophages. *Int J Urol* 2009;16(10):801-7.
114. Yıldız E, Ayan S, Goze F, Gökçe G, Gültekin EY. Relation of microvessel density with microvascular invasion, metastasis and prognosis in renal cell carcinoma *BJU Int* 2008;101(6):758-64.
115. Jhingran A, Burke TW, Eifel PJ. Definitive radiotherapy for patients with isolated vaginal recurrence of endometrial carcinoma after hysterectomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003;56(5):1366-72.
116. Nout RA, Smit VT, Putter H, Jürgenliemk-Schulz IM, Jobsen JJ, Lutgens LC 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):816-23.
117. Kong A, Johnson N, Cornes P, Simera I, Collingwood M, Williams C. Adjuvant radiotherapy for stage I endometrial cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007 18;(2):CD003916.

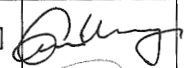
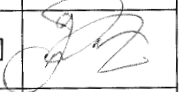
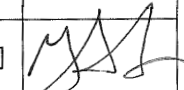
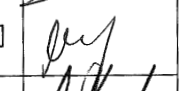
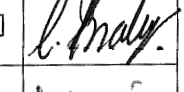
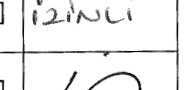
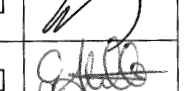
118. Alektiar KM, Venkatraman E, Chi DS, Barakat RR. Intravaginal brachytherapy alone for intermediate-risk endometrial cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005;62(1):111-7.
119. Karna E, Szoka L, Pakla JA. Betulinic acid inhibits the expression of hypoxia-inducible factor 1 α and vascular endothelial growth factor in human endometrial adenocarcinoma cells. *Mol Cell Biochem* 2010;340:15-20.
120. Jiang H, Feng Y. Hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) correlated with tumor growth and apoptosis in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16:405-12.
121. Yeo EJ, Chun YS, Park JW. New anticancer strategies targeting HIF-1. *Biochem Pharmacol* 2004;68:1061-9.

EKLER

Ek 1

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 02	Tarih: 18.11.2009
	Doç. Dr. N. Cenk SAYIN'ın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr. Aysun AYBATLI'nın tez çalışmasının klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmaya ilişkin giderlerin Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) tarafından karşılanması ve TÜBAP onay yazısının Kurulumuza gönderilmesinden sonra çalışmanın başlatılmasına toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, ve Etik Kurul SOP
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ	
ETİK KURUL ÜYELERİ	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		İlişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ	Farmakoloji	Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	izinli
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA	Deontoloji	Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Uzm. Dr. Gökhan İnan YÜCEL	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Özel Ekol Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Sedat ÜSTÜNDAĞ	İç Hastalıkları Nefroloji Uzm.	Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	izinli
Uzm. Dr. Çağatay Yalçın AYDINER	Çocuk Cerrahisi	Edirne Devlet Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Uzm. Dr. Emine ÖZÇELİK	Biyokimya	Edirne Devlet Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Ecz. Tuğçe KARAKUŞ	Eczacılık	Serbest Eczacı	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU	Fizyoloji	Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	izinli
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN	Biyostatistik	Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Av. Gülden ATILLA ÖZTÜRK	Hukuk	Trakya Üniversitesi Rektörlüğü	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Mimar Özcan TOPSEL	Mimar	Serbest Mimar	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* :Araştırma ile İlişki

** :Toplantıda Bulunma