

T.C.  
SSK TEPECİK EĞİTİM HASTANESİ  
PATOLOJİ BÖLÜMÜ

Şef: Doç.Dr. Ümit BAYOL

**HİPERPLASTİK ve NEOPLASTİK  
ENDOMETRİUM'UN AYIRIMINDA c erbB2,  
EMA, B 72.3 EKSPRESYONLARININ YERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr.Leyla BULUT TEKİN  
İZMİR-2004**

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimimin her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam SSK Tepecik Eğitim Hastanesi Patoloji Bölümü Şefi Doç.Dr.Ümit Bayol'a, eğitimime katkıda bulunan bölüm uzmanlarıma, dostlukları ve yardımları ile beni destekleyen asistan arkadaşlarıma, laboratuvarımız teknisyenleri ve çalışanlarına, SSK Ege Doğum Evi ve Kadın Hastalıkları Hastanesi 4. Klinik Şefi Doç.Dr.Cüneyt E. Taner ve asistan Dr.Tolga Mızrak'a,sevgi ve desteklerini kalbimde hissettiğim eşime ve kızım Dila'ya teşekkür ederim.

Dr.Leyla Bulut Tekin

İzmir-2004

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No:

GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
GEREÇ ve YÖNTEM.....	18
BULGULAR.....	23
TARTIŞMA.....	32
SONUÇ.....	39
KAYNAKLAR.....	40

## GİRİŞ

Endometrium kadın genital sistemi hastalıklarının en sık yerleşim yeridir. Progesteron seviyesine göreceli olarak östrojen fazlalığı uzun süre yada belirgin oranda yüksekliği endometriumu etkiler ise basitten kompleks hiperplaziye kadar uzanan değişik derecelerde endometrial hiperplaziye neden olur. Bu da kliniğe anormal vajinal kanama şeklinde yansıyabilmektedir. Zamanla endometrial hiperplaziden karsinom gelişimi de beklenen bir durumdur. Bu durum hiperplastik değişikliklerin şiddetine ve sellüler atipinin derecesine bağlıdır.

Gelişmiş ülkelerde en sık görülen kadın üreme sistemi malignitesi endometrial karsinomdur; akciğer, meme, barsak kanserlerinden sonra dördüncü sırada yer alır. Kişiyi karşılanmamış östrojene maruz bırakan bazı durumlar; obesite, anovuluar sikluslar, hormon replasman tedavisi, diabetes mellitus ve östrojen salgılayan tümörler endometrial karsinom riskini artırır.

Endometrial karsinom ile hiperplazi; her ikisi de östrojen ile ilişkili durumlardır ancak hiperplazinin karsinoma geçişte ara bir dönem olduğu kesin olarak kanıtlanmamıştır.

Jinekolojik patolojide immünohistokimyasal çalışmalar ayırıcı tanıda ve direkt tanısal yaklaşımda kullanılmaktadır. İmmünohistokimya, farklılaşmanın kanıtı olarak histogenez hakkında ipucu verir. Kanserlerin ortaya çıkışı sıklıkla çeşitli gen anomalileri ile birlikte.

Bu çalışmada nonneoplastik (istirahat halinde endometrium+ hiperplastik endometrium) ile neoplastik endometriumun immünohistokimyasal olarak ayırımında proto-onkogen c erbB2 ve epitelyal işaretleyiciler EMA veB72.3'ün yerini belirleyebilmek amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### ENDOMETRİUM HİSTOLOJİSİ

Endometrial mukozanın histolojik karekteri 2 ana bölgeye ayrılır.

\*Stratum basalis

\*Stratum fonksiyonalis(str. spongiosum)

Basalis endometriumun alt 1/3'ünü oluşturur.Glandları düz ve elonge nukleuslu pseudostratifiye kolumnar hücrelerle döşelidir.Mitoz nadir görülür. Stroma mitotik inaktif işi şekilli hücrelerle karakterizedir. Basalisin arterleri subendotelial elastik yapı gösterirler, myometrial arterlere benzerler, vazokonstrüksiyon yetenekleri ile menstruasyon sırasında kanamayı kontrol ederler(1). Bu arterler östrojen ve progesterona cevapsızdırlar. Daha küçük arterlerin subendotelial elastikaları yoktur, menstruasyon boyunca östrojen ve progesteron değişimine cevap verirler(2). Menstruasyon sonrasında fonksiyonalisin rejenerasyonunda esas rolü oynamaları sebebiyle basalisin bütünlüğü esastır.

Fonksiyonalis endometriumun üst 2/3'ünü oluşturur, menstrual siklusla siklik hormonal değişimlere glandüler-stromal cevap verir. Proliferatif faz (ovarian follüküler faz) başlıca östrojen etkisi ile birlikte, ovulasyondan sonra sekretuar faz (ovarian luteal faz) progesteron ve östrojen seviyelerinin yükselmesi ile birlikte. Hormon seviyelerinin düşmesi ile endometrial dejenerasyon, nekroz ve dökülme ile menstruasyon gerçekleşir.(3)

Proliferatif fazda östrojen etkisi altındaki glandlar kısa , tubuler kolumnar hücrelerle döşeli nükleer pseudostratifikasyon ve mitoz gösterirler. İşli hücreli stroma

ödemlidir, spiral arterlerde artış vardır. Ovulasyon zamanında progesteronun sirkulasyon seviyeleri yükselmeye başlar. Sekresyon fazının başında subnukleer , sonrasında supranükleer vakuolizasyon izlenir.Sekresyon fazının sonlarına doğru supranükleer vakuol içeriği lumene salınır ve glandlar eğrilir, lumenler genişler,bol sekresyon vardır, kısa kolumnar epitelle sınırlıdır. Perivasküler stromadan başlayan desidualizasyon, vasküler endotelial proliferasyon izlenir.Sekresyon fazının sonunda glandüler sekresyon tükenir, luminal sınırlar testere dişi görünümü alır, stromada mononükleer hücreler görülmeye başlar ve desidualizasyon artar.

## **ENDOMETRİAL HİPERPLAZİ**

Endometrial hiperplazi (EH) endometrium gland ve stromasının östrojenin aşırı uyarısına bağlı olarak proliferasyon gösterdiği histopatolojik bir durumdur. Progesteron tarafından baskılanmamış östrojen hormonu endometriumda ilerleyen dönemlerde malign potansiyel kazanabilecek hiperplazik değişikliklere yol açmaktadır.(4,5)

Bağlanmamış östrojenin devamlı yüksek seviyeleri endometriumda mitotik aktiviteye yol açmaktadır .(6)

EH'li kadınlarda en sık görülen semptom anormal uterin kanamadır (7).

Hiperplazi tanısı için gland/stroma oranı en azından 3/1 olmalıdır. Basit hiperplazide bezler yuvarlak ve çok küçük tomurcuklanmalar gösterirken, kompleks hiperplazide bezlerde daha fazla dallanma , tomurcuklanma ve papiller yapı sonucunda kompleks yapı izlenmektedir.

Atipisiz hiperplazide bezlerin görünümü orta ve geç dönem proliferatif faz endometriumu yansıtır; nukleus sıklıkla elonge ve nukleer pseudostratifikasyon yaygın, fakat hücreler düzenli ve nukleer kromatin anomalisi yoktur, nukleer şekil ve boyut değişikliği göstermezler ve nukleolusları belirgin değildir. Atipili hiperplazide genel olarak nukleer şekil ve boyut farklılıkları belirgin, nukleolus ve nukleer kromatin anomalileri belirgindir. Polarite kaybı veya düzensiz nukleer pseudostratifikasyon hiperplazi ve atipi birlikteliğini düşündürür.

EH'leri sınıflamak için pekçok sınıflama yapılmıştır.Günümüzde kullanılan sınıflama Dünya Sağlık Örgütü desteğinde Uluslararası Jinekolojik Patoloji Cemiyeti (IGSP) tarafından 1984'te tanımlanmış olan sınıflamadır. (Tablo 1)

Hiperplazi tipi	Sitolojik atipi	Bez yapısı
Basit	yok	regüler
Kompleks	yok	irregüler
Basit atipili	var	regüler
Kompleks atipili	var	irregüler

Endometrium karsinomu (EK) ve hiperplazisi östrojenle ilişkili durumlardır. Fakat EH'nin EK'nun geçici bir evresi veya basamağı olduğu kesin değildir(8). İnvaziv kanserlerin çoğunda tümör invaziv hale gelmeden lezyonların insitu bir evreden geçtikleri kabul edilen görüştür. Kabul edilmesi gereken diğer bir görüş ise EK'nun başlangıç olarak prekürsör lezyonlardan gelişebileceğidir.(9)

ISGP sınıflamasını temel alarak Kurman ve arkadaşları 1985 yılında 170 tedavi edilmemiş EH'li olguda karsinom gelişme ve süregen olma olasılıklarını ortaya koymuşlardır.(10) (Tablo 2)

Hiperplazi tipi	Süregenlik	Karsinom gelişimi
Basit	%19	%1
Kompleks	%17	%3
Basit atipili	%23	%8
Kompleks atipili	%14	%29

Bu çalışmaya göre en yüksek riskli grupta bile karsinom gelişme oranı %29 olarak bulunmuştur.

Sherman 201 EK'lu hastayı retrospektif olarak değerlendirmiş ve tüm olguların geçmiş 10 yıl içerisinde yapılan küretaj materyallerini yeniden mikroskopik olarak inceleyerek, bunların %72'sinde prekürsör lezyonlardan bir tanesinin var olduğunu saptamıştır (11).

Sherman EH tespit ettiği 204 kadını da 2-15 yıl boyunca takip etmiş ,karsinom gelişme insidansını yüksek bulmuş, öte yandan bu olguların %20'sinde endometriumun eski haline dönüştüğünü saptamıştır.

## ENDOMETRİAL KARSİNOM

Endometrial Karsinom (EK) en sık görülen kadın genital sistem malignitesidir. Kadınlarda ortaya çıkan tüm malignitelerin %11 ni oluşturur. Ayrıca tüm jinekolojik kanserlerden ölümlerin yalnızca %13'ünü oluşturması dikkat çekicidir ve bunun esas nedeni erken teşhis edilmesidir.(12)

EK en sık 55-65 yaş arasındaki postmenapozal dönemdeki kadınlarda görülmektedir. 40 yaşın altında nadirdir ve premenapozal dönemdeki kadınlarda tanıda gecikme ile uyumlu şekilde yaklaşık %29 'u ileri evrededir(13,14,15). Olguların çoğu anormal vajinal kanama ile başvururlar. Bazen de asemptomatik olup, tesadüfen tanı konur.(13)

Anovulatuvar sikluslar, östrojen üreten neoplazmlar ve polikistik overlerin bir sonucu olarak uzamış yada artmış endojen östrojen uyarımı; düşük parite, obezite, hipertansiyon , diabetes mellitus gibi yapısal nedenler; eksojen östrojen kullanımı ve meme karsinomu tedavisinde kullanılan tamoksifen EK etyolojisinde önemli rol oynamaktadır (13,14,15,16). Obez kadınlarda yağ dokusunda androstenodionun östrona ve bununda daha etkili olan östrodirole dönüşmesinin kanser riskini %20-80 artırdığı ortaya konulmuştur; 10-25kg fazlalığı olanlarda bu risk 3 kat artmış iken, 25kg'ın üzerinde fazlalığı olanlarda bu risk 10 kat artar. (17) (Tablo 3)

Tablo 3: EK insidansını artıran nedenler:

Risk nedenleri	Risk artış oranı
Obezite 12kg	3X
25kg	10X
Nulliparite	2X
Geç menapoz	2.4X
Diabet mellitus	2.8X
Hipertansiyon	1.5X
Karşılanmamış östrojen	9.5X
Kompleks atipik hiperplazi	29X
Oral kontraseptif	0.5X
Sigara	0.7-0.9X
Tamoksifen	7.5X

EK'lu hastaların çoğu anormal vajinal kanama ile başvururlar. Pelvik ağrı ise genellikle ileri evre hastalığın bir semptomudur (16,18). Hastalık nadiren asemptomatik olup,bunlara tesadüfen tanı konur (13). Tanı için son yıllarda endometriyum biopsisi uygulanmaktadır (16). Ancak EK'un fokal ve multisentrik olabileceği göz önünde bulundurulmalı ve tanı yöntemi tam kavite küretajı olmalıdır.(19).

EK'lar klinik görünüm ve davranışlarındaki farklılıkların temelinde iki gruba ayrılabilirler. Birinci grupta EH ile ilişkili olan, göreceli olarak daha genç yaş grubunda ve dengelenmemiş östrojen uyarımı zemininde gelişen , myometriuma daha az invazyon gösteren, daha iyi diferansiye olgular yer alır. İkinci grupta ise östrojen

uyarısı ile ilişkisi olmayan, daha yaşlı kadınlarda ortaya çıkan ve myometriuma daha derin invazyon gösteren daha az diferansiye histolojiye sahip olanlar bulunur (13,14,16,20,21).

Makroskopik bulgular nonspesifiktir, endometriumda diffüz kalınlaşma, kavitede kolay parçalanır nitelikte polipoid kitle şeklinde izlenebilmektedir (14,16,18,22). Endometrial yüzey kaba, parlak ve sarımsı kahverengindedir. Odaksal kanama alanları görülebilir (13). Uterus arka duvarı ön duvara göre daha fazla tutulur(18).

FIGO'nun ve WHO'nun modifiye EK sınıflaması: (15)

1-Endometrioid karsinom

- Villoglandüler
- Sekretuar
- Silli hücreli
- Skvamöz diferansiasyonlu

2-Seröz karsinom

3-Berrak hücreli karsinom

4-Skuamöz hücreli karsinom

5-Musinöz karsinom

6-mikst tipte karsinom

7-İndiferansiye karsinom

EK'ların yaklaşık %80'nini endometrioid adenokarsinom (EAK) oluşturmaktadır.(18)

FIGO ile beraber alışan ISGP ve WHO komitelerinin geliştirdiği yaygın görüş histolojik derecelendirme sisteminde nükleer ve yapısal gelişim özellikleri temel alınmıştır.(23)

-İyi diferansiye EAK (FIGO grade 1); en az %95'i glandüler komponentten oluşmaktadır. Sadece tümörün %5'i veya daha az kısmı solid komponentten oluşmaktadır. ( Solid alan hesaplanırken skuamöz ve morular diferansiasyon alanları değerlendirilmeye alınmamalıdır.). Bez yapıları genel olarak küçük, çok sayıdadır. Hafif nükleer atipi, sellüler stratifikasyon ve az sayıda mitoz sitolojik özellikleridir. Nukleus yuvarlak , hafif kromatin kümelenmesi ve belirgin nukleolus içermektedir.

Bu zellikler ile iyi diferansiye EAK ile atipik EH arasında ayırıcı tanı yapmak zorlaşmaktadır. Tek histolojik tanı kriteri stromal invazyonun gösterilmesidir.

-Orta derecede diferansiye EAK (FIGO grade 2); Solid komponent tümörün %6 ile %50'sini oluşturmaktadır. Glanduler komponent grade 1'den daha atipiktir, kompleks bez yapıları artmıştır. Atipik mitoz izlenir.

-Az diferansiye EAK (FIGO grade 3); Tümörün %50'den fazlası solid alanlardan oluşmaktadır. Hücrelerde belirgin atipi izlenir. Nukleus büyük , pleomorfik, kaba kromatin kümelenmesi ve belirgin eozinofilik nukleolus içermektedir.

FIGO bu dereceleme sistemine ek olarak yapısal özellikleri grade 1 veya 2 olan tmrlerde nukleer atipi belirgin olduğunda bir grade eklenmesi gerektiğini vurgulamaktadır.(23)

Grade sistemi klasik, endometrioid adenokarsinomlar için geçerlidir. Özel tipler için grade sistemi geçersizdir, çünkü onlar yüksek grade tmrler olarak kabul edilmektedirler.(24)

EAK'ın birçok alt tipi vardır fakat ISGP/WHO sınıflaması sadece 4 tip tanımlamıştır: (23)

1-yassı epitel diferansiyasyonlu

2-sekretuar alt tip

3-silia hücreli alt tip

4-villoglandüler (papiller ) alt tip.

Yassı epitel diferansiyasyonlu adenokarsinom olarak isimlendirebilmek için tümörün en azından %10'nunda yassı epitele farklılaşma görülmelidir.

Sekretuar alt tip EAK (sekretuar adenokarsinom) terimi; menstrual siklusun erken sekretuar faz özelliklerine benzer sekretuar özelliklerin endometrioid lezyona eklenmiş olmasını ifade etmektedir.(25,26)

Silyalı adenokarsinom terimi EAK'da çoğu hücrede silia görülmesi ile kullanılabilir. Belirgin eozinofilik sitoplazmalı ve silli hücrelerle döşeli bezler sıklıkla kribriform yapılar oluşturmaktadırlar.

Villoglandüler adenokarsinom en iyi şekilde iyi farklılaşmış EAK alt tipi olarak tanımlanabilir.(27,28). Yapısal özellikleri ince papiller yapraklar, hafif-orta atipi gösteren hücreler tarafından sarılmış ince fibrovasküler kor'dan ibarettir. Bu tipin önemi oldukça agresif gidiş gösteren yüksek grade'li endometrial papiller seröz karsinom ile karıştırılmaması gereğindedir.

FIGO'nun 1988 yılında geliştirdiği evreleme sistemi:

Evre I: Korpusa sınırlı tümör

Ia:Endometriuma sınırlı

Ib:Myometriumun ½'sinden daha azına invazyon

Ic:Myometriumun ½'sinden daha fazlasına invazyon

Evre II:Servikal tutulum

Ila:Yalnızca glandüler tutulum

IIb:Servikal stromal invazyon

Evre III:Tümör uterus dışında ancak pelvise sınırlıdır (mesane ve rektum tutulumu hariç)

IIIa:Uterus serozası ve/veya adneksiyal tutulum ve/veya pozitif peritoneal sitoloji

IIIb:Vajinal yayılım

IIIc:Pelvik ve/veya paraaortik nodlara yayılım

Evre IV:Mesane,rektum ve uzak bölgelere yayılım

IVa:Mesane ve/veya rektum mukozasına yayılım

IVb:İntraabdominal ve/veya inguinal lenf nodlarına yayılım, uzak metastaz.

Evreleme yaparken řu noktalara da dikkat edilmelidir:

1-Belirgin nükleer atipi (nükleer derece III) histolojik dereceyi bir puan artırır

2-Seröz papiller, berrak hücreli ve yassı hücreli karsinomlarda nükleer derece önem kazanır.

3-Yassı epitel diferansiyasyonlu adenokarsinomlar glandüler komponent temel alınarak derecelendirilir (13,16,22,29,30).

### **Prognostik Faktörler:**

Tüm uterin kanserlerin yaklaşık %78'i tanı anında uterusu sınırlı ise de evre I hastalıkta bile düşük kür oranları göze çarpmaktadır. Bu nedenle bazı prognostik faktörler tanımlanmıştır. Tümör evresi ve histolojik dereceye ilave olarak nükleer derece, myometrial invazyon derinliği, servikal tutulum ve vasküler invazyon önemli uterin faktörlerdendir (13,16,30,31,32,33). Bazı araştırmacılar non-tümöral faktörlerden atipik endometrial hiperplazi ve metaplazi varlığında prognozun daha iyi seyredebileceğini bildirmişlerdir (13,34).

DNA plooidinin hastalık rekürrensini belirlemede en güçlü moleküler genetik belirleyici olduğu bildirilmiştir (35). Ayrıca S faz fraksiyonu ile belirlenen tümör hücre proliferasyon derecesi önemli bir prognostik göstergedir (22).

Yüksek apoptotik indeks kötü klinik seyir ile paralel özellikler gösterse de bağımsız bir prognostik gösterge olarak değeri yerleşmemiştir (36).

Ekstrauterin faktörler arasında adneksiyal tutulum, intraperitoneal metastaz, pelvik ve paraaortik lenf nodu tutulumu ve pozitif peritoneal sitoloji yer almaktadır (16,30).

## **JİNEKOLOJİK PATOLOJİDE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRLEYİCİLER**

İmmünohistokimya (IHK) ile dokudaki antijenlerin tespit olanağı, morfolojinin fonksiyonel ve biyokimyasal karakteristiği ile ilişkilendirilerek patoloğa faydalı olmuştur. Bu nedenle IHK tanıda bir vasıta olarak ve jinekolojik patolojilerin sınıflandırılmasında yaygın araştırmalarla uygulanmıştır. IHK tüm jinekolojik neoplastik hastalıklarda , özellikle over neoplazilerinde yoğun olarak çalışılmıştır.

Jinekolojik patolojide IHK'sal çalışmaların çoğunluğu tümörün ayırıcı tanısında ve direkt tanısal yaklaşımda kullanılmıştır. IHK farklılaşmanın kanıtı olarak, histogenez hakkında ipucu verir ve tümörün ürettiği enzim ve hormonların tespitinde , neoplazinin fonksiyonel aktivitesi hakkında bilgi verir. Kanserlerinin ortaya çıkışı ve devamlılığı ile çeşitli gen anormalliklerinin birlikteliği bulunmuştur. Onkogenlere örnek olarak HER-2/neu ve K-ras (37,38), tümör supresör genlere örnek olarak p53(39) ve DNA onarıcı gene örnek olarak hMLH1 (40)'in endometrial onkogeneizde önemli rol oynadıkları görülmüştür.

## **HER-2/neu (c-erb-B2)**

Bir proto-onkogen olup, epitelial büyüme faktörü (EGFR) ile homologdur ve tirozin kinaz aktivitesi gösterir. C-erb-B2 proto-onkogeni 17 kromozomun q21'de lokalizedir.c-erb-B2 için geni amplifikasyonu meme, over, prostat, mide, tükürük bezi, akciğer, kalın barsak, endometrium ve yassı hücreli karsinomlarda tanımlanmıştır (41,42,43). Overekspresyonda, protein hücre membranında birikir ve membranda izlenir, protein veya gen overekspresyonu sitoplazmik bir paternle birliktelik göstermez.(41,44). C erbB2 overekspresyonunun kötü prognoz, agresif hastalık, kısa hastalısız sağ kalım, myometrial invazyon ve düşük diferansiyasyon ile pozitif korelasyona sahip olduğu saptanmıştır (41,43,45,46,47,48,49).

C-erb-B2 overekspresyonu ve amplifikasyonu çeşitli tümörlerde gösterilmiştir, çoğu çalışma meme ile ilgilidir. C erbB2'nin primer meme karsinomlarında %10-34 oranında overekspresyonu gösterilmiştir (50). Overekspresyonu yüksek grade'li tümörle birliktelik gösterir ve meme karsinomlarında prognostik bir belirleyici olarak düşünülmektedir (41,50,51).

Normal endometrial bezlerde c erbB2 ekspresyonu görülmez (52). Ancak frozen kesitlerde yapılan bir çalışmada normal endometrial bezlerde menstrual siklusun fazından etkilenmeksizin zayıftan orta şiddetliye kadar c-erb-B2 ile boyanma izlendiği bildirilmiştir (53). Bu çalışmada sitoplazmik boyanma pozitif boyanma olarak değerlendirilmeye alınmıştır.

## **EMA (Epitelial membran antijen)**

Büyük oranda hücre membranına özgün musin benzeri transmembran glikoproteindir, insan süt yağ globül membranına karşı gelişmiş antiserum antijenidir. Bu antijen epitelial hücrenin sitoplazmasında ve yoğun olarak hücre membranında ve epitel hücrelerinin oluşturduğu lümenlerde bulunur. EMA benign ve malign epitelial dokuda IHK'sal olarak tespit edilmiştir(54,55). EMA basit bir molekül değildir, düşük protein ve yüksek karbonhidrat içerikli yüksek molekül ağırlıklı bir grup molekülden oluşur. EMA immünreaktifi birçok normal epitelde saptanmıştır . Bunlar; pankreas, mide, incebarsak, tükrük bezi, solunum epiteli ve ter bezleri (54,56) dir. Malign dokuda benign dokuya oranla çok daha güçlü ve yaygın boyanma saptanmıştır (57). EMA hemapoetik lenfoid dokuda negatiftir ve lenfoma ayırıcı tanısı için kullanılmıştır, bununla beraber bazı lenfomalarda ve neoplastik plazma hücrelerinde reaktivite tespit edilebilir (58,59). Çeşitli adenokarsinomlarda (meme,akciğer, kalınbarsak , mide, pankreas, mesane, prostat, endokrin bezler, endometrium, over, böbrek, tiroid) EMA ile malign mezotelyoma ve deri tümörleri kadar iyi pozitif sonuç alınmıştır.(55,59). Endokrin neoplaziler, germ hücreli tümörler, malign melanoma ve yumuşak doku tümörleri genellikle hafif veya negatif immün cevap verir(59).

Bu antijen epitelial farklılaşmanın tayininde kusursuzdur ve EMA'dan az diferansiye karsinom ile lenfoma ayırımında , malign deri tümörlerinin ayırıcı tanısında , küçük hücreli anaplastik karsinomun belirlenmesinde ve meme karsinomunun karaciğere, kemik iliğine ve lenf nodlarına metastazlarının tespiti için faydalanılmaktadır (54,59,60,61). Kadın organlarında EMA immünbelirleyicisi endometriumda, fallop tüplerinde ve overlerin epitelinde pozitifdir, fakat serviks

yassı epitelinde (metaplastik hücreler hariç) negatiftir. (59,62). Normal endometriumda EMA pozitifliği menstrual siklusun her iki fazında da gözlenmiştir, ancak menstrual faza bağlı olarak dağılımı farklıdır (63). Tabibzadeh (64) proliferatif faz sırasında zayıf boyandığını veya boya almadığını, erken ve geç sekretuar fazda ise bez epitelinin belirgin boya aldığını göstermiştir. Endometriumda EMA ekspresyonundan hiperplastik ve neoplastik endometrium arasında ayırımı yararlanılmıştır. Normal veya hiperplastik endometriomla karşılaştırıldığında malign endometriumun daha yüksek ekspresyonu tanımlanmıştır (54,65,66).

### **B-72.3 (tumör associated glikoprotein = TAG-72)**

Yüksek molekül ağırlıklı müsin benzeri glikoprotein kompleksi tümör ilişkili glikoprotein (TAG-72) olarak bilinir. Benign dokuda B72.3 antijeni için çok az reaktiflik tanımlanmıştır (67,68) bunlar meme apokrin metaplazisi (69,70), normal gastrik mukoza, benign gastrik polipler (71), normal kolon mukozası, benign kolonik polipler (72), prostatik hiperplazi (73), endometrial hiperplazi ve sekretuar endometrium (74) dur. Proliferatif endometrium bu antijeni eksprese etmez (74). İnce iğne aspirasyon materyallerinde yapılan çeşitli çalışmalarda adenokarsinomları malign mezotelyomadan (75,76), reaktif mezotel hücrelerinden (77,78), küçük hücreli karsinomdan (79) ve benign hücrelerden (68,80) ayırmadaki etkinliği vurgulanmıştır. B-72.3 sıklıkla epitelial malignitelerde bunlardan da sıklıkla over karsinomu, kolorektal karsinom ve meme karsinomlarında sıklıkla pozitifdir. Normal erişkin hücrelerde, sarkomlar, melanomlar ve hematopoetik neoplazmlarda B-72.3 için negatiflik söz konusudur (67). Endometrial karsinomların büyük çoğunluğu (%90) TAG-72'yi eksprese ederken , ekspresyon şiddeti ile prognostik bir ilişki saptanamamıştır (81). TAG-72 epitelyal neoplazilere özgün işaretleyici olarak kabul görerek farklı epitelyal neoplazi tiplerinin (over, kolorektal, pankreas, endometrial adenokarsinomlar) seröz efüzyonlarında TAG-72 ve onun ikinci kuşak derivelere (CC49, CC15,CC83 ve CC92) boyama özellikleri karşılaştırılmıştır (82). Çeşitli adenokarsinomlarda (over, endoserviks, distal özafagus-mide, kolon, akciğer, meme, prostat, pankreas, safra kesesi, tiroid, renal cell karsinom, hepatosellüler karsinom) B72.3 reaktivitesinin dağılımını belirlemek üzere yapılan bir çalışmada endometrial adenokarsinomlarda %98 oranında bir immünreaktivite bulunmuştur (83).

## GEREÇ VE YÖNTEM

SSK Ege Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim Hastanesi 4. Jinekoloji Kliniği'ne eylül 2003-mart 2004 tarihleri arasında menometroraji ve postmenapozal kanama nedeni ile başvuran 47 hasta bu çalışma kapsamına alınmıştır.

Hastaların lokal anestezi altında pipelle ile yapılan endometrial biopsileri SSK Tepecik Eğitim Hastanesi Patoloji Bölümü'nde histopatolojik değerlendirmeleri yapılarak 9 olgu basit hiperplazi, 8 olgu istirahat halinde-sekretuar (n=5), proliferatif (n=3) faz-endometrium , 10 olgu kompleks hiperplazi , 21 olgu endometrial adenokarsinom tanıları almıştır. Bir olguda fokal olarak hem basit ve hem de kompleks hiperplazi odakları tespit edildiğinden bu olgu her iki grupta da yer almıştır.

Vakalar 3 gruba ayrılmıştır:

Grup I:Basit hiperplazi ve istirahat halinde endometrium (17)

Grup II:Kompleks atipisiz hiperplazi (10)

Grup III:Endometrial karsinom (21)

Hastalardan pipelle ile alınan küretaj materyalleri %70'lik etil alkol ile 24 saat süre ile tespit edildikten sonra derecesi giderek artan alkol serileri ile dehidrastasyonu yapılan doku örneklerine ksilen ile şeffaflaştırma uygulandıktan sonra parafine gömüldü.Parafin takip protokolü Tablo 4'de verilmiştir. Parafin bloklardan 5 mikronluk kesitler alınarak histokimyasal ve IHK'sal tekniklerle boyanmak üzere ayrıldı.

Tablo 4:Parafin takip protokolü:

A- Tespit	%70 etil alkol	24saat
B- Dehidratasyon	%70 etil alkol	40dak
	%80 etil alkol	40dak
	%90 etil alkol	40dak
	%90 etil alkol	50dak
	%96 etil alkol	60dak
	%96 etil alkol	60dak
	İzopropil alkol	60dak
	İzopropil alkol	60dak
C- Şeffaflaştırma	Ksilen	60dak
	Ksilen	60dak
D- Emdirme 65° etüv	Parafin	60dak
	Parafin	60dak
	Parafin	60dak
	Parafin	80dak
E- Gömme	Parafin	

Histolojik değerlendirme için alınan 5-6 mikronluk kesitler deparafinizasyon ve rehidratasyonu takiben hematoksilen-eozin ile boyandı. H-E boyama protokolü Tablo5'tedir.

Tablo 5: H-E Boyama protokolü

Deparafinizasyon	60 °etüv	60dak
Deparafinizasyon	Ksilen	2dk
	Ksilen	2dk
	Ksilen	2dk
Rehidratasyon	İzopropil alkol	2dk
	%96 etil alkol	2dk
	%90 etil alkol	2dk
	%80 etil alkol	2dk
	%70 etil alkol	2dk
Yıkama	Çeşme suyu	1dk
Boyama	Hematoksilen	4dk
Yıkama	Çeşme suyu	1dk
Diferansiyasyon	Asit alkol	5sn
Yıkama	Çeşme suyu	1dk
	Amonyak	20sn
Yıkama	Çeşme suyu	1dk
Boyama	Eosin	5sn
Yıkama	Çeşme suyu	1dk
Şeffaflaştırma	%80 etil alkol	1dk
	%90 etil alkol	30sn
	%96 etil alkol	1dk
	İzopropil alkol	1dk
	Aseton	20sn
	Ksilen	1dk
	Ksilen	1dk
	Ksilen	2dk
Kapama		

incelenerek patolojik tanıları konulan vakalar gruplara ayrılarak İHK'sal olarak peroksidaz anti peroksidaz (PAP) AEC tekniği ile c erbB2, EMA, B72.3 ekspresyonları yönünden olguların karşılaştırmalı olarak boyamasına geçildi.(Tablo 6).

Tablo 6:İHK peroksidaz anti-peroksidaz AEC sistemi

Deparafinizasyon	60 °etüv	60dk
Deparafinizasyon	Ksilen	15dk
Yıkama	Distile su	10dk
	Tris Buffer Saline (pH:7.6)	10dk
Çevreleme		
Birincil antikor*		2,5 saat
Yıkama	TBS	3x5dk
Üniversal kit	Biotinylated goat antipolivalent	30dk
Yıkama	TBS	3x5dk
	Streptavidin peroksidaz	30dk
Yıkama	TBS	3x5dk
Boyama	AEC	15dk
Yıkama	Distile su	10dk
Artalan boya	Hematoksilen	1dk
Yıkama	Çeşme suyu	10dk
Kapama	Aqueous-mount	

Birincil antikor olarak monoclonal mouse anti-human EMA (Clone E29) (IgG2a isotype) (Dako), mouse monoclonal antibody TAG-72 (Clone B72,3)(IgG1 isotype) (Neomarker) ve polyclonal rabbit anti-human c erbB2 oncoprotein (Dako) 1:200 oranında sulandırarak kullandık. Çevreleme Dakopen ile yapıldı.

IHK'sal boyalar değerlendirilirken EMA için membranöz , sitoplazmik ve luminal boyanma, B72,3 için membranöz , sitoplazmik ve luminal boyanma, c erbB2 için sadece sitoplazmik membran boyanması pozitif olarak kabul edildi.

Her üç immünreaktifin spesifitesini kontrol etmek amacı ile IHK'sal boyamaları sırasında aynı lam üzerinde işaretlenen eşdeğer birer kesit negatif kontrol boyama olarak çalışıldı. Pozitif olgular pozitivite paternine göre negatif, diffüz (bez epitelinin %50'sinden fazla ) ve fokal (bez epitelinin %50'sinden az ), boyanma şiddetine göre negatif, zayıf (+) ve güçlü (++) olmak üzere yarı-sayısal değerlendirildi.

İstatistiksel olarak\* İHK'sal boyanmaların söz konusu parametrelerde neoplazi (grup-III) ve diğerleri (grup-I+grup-II) arasındaki ikili karşılaştırması Mann-Whitney testi ile, üç grubun ayrı ayrı karşılaştırması Kruskal-Wallis testi ile yapılmıştır. P=0,018 anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiştir.

\*İstatistik alışması Ege Üniversitesi Bilgisayar Mühendisliği İstatistik Bölümünde Uzman Timur Köse tarafından yapılmıştır.

## BULGULAR

Olguların tümü üç grup altında toplandı:

Grup I; Basit hiperplazi ve istirahat halinde endometrium vakaları (n=17)

Grup II; Kompleks hiperplazi vakaları (n=10)

Grup III; Endometrial kanser vakaları (n=21).

Gruplara ait klinik özellikler; yaş, vücut kitle indeksi (BMI), oral kontraseptif kullanımı (OK), hormon replasman tedavisi (HRT) ve sigara kullanımına (S) göre neoplazi grubu ile diğer gruplar arasında ikili ve üç grup arasında ayrı ayrı istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Neoplazi ve diğer iki grup arasında yaş ve BMI açısından karşılaştırma T Testi ile yapıldı ve sadece yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (Tablo 8)

Tablo 8

	Grup I+II	Grup III	P
Yaş	45.07 (38-56)	59.10 (43-83)	<b>0,000</b>
BMI	27.836 (21.6-39.1)	28.60 (20.8-34.2)	0.509

OK, HRT ve sigara kullanımı ve DM ve/veya HT'lu olguların iki grup arası karşılaştırması için yapılan Ki-Kare testine göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 9)

Tablo 9

	Grup I+II (%)	Grup III (%)	P
OK	18.5 (5)	23.8 (5)	0.729
HRT	0	0	
Sigara	33.3 (9)	19.0 (4)	0.338
DM	18.5 (5)	19.0 (4)	1.000
HT	22.2 (6)	38.1 (8)	0.338

EK vakalarımızın tamamı “endometrioid” alt tiptedir. 21 tümör olgusundan 11’i G-2, 8’i G-1 ve 2’si G-3 olarak grade’lendirildi. Tümör grade ve stage’i ile hiçbir immünbelirleyici arasında boyanma özellikleri açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınamadı.

Cerb B2 onkogen; istirahat halinde endometrium (proliferatif ve sekretuar faz) ile basit hiperplazi ve kompleks hiperplazi olgularında negatif sonuç, 21 endometrial adenokarsinom olgusunun 2’sinde (%9,5) sitoplazmik membranı çizen fokal güçlü pozitif sonuç verdi.

EMA ile sekretuar faz 5 olgunun tümünde (%100) diffüz güçlü boyanma , proliferasyon fazında 3 olgunun 1’inde (%33.3), basit hiperplazili 9 olgunun tümünde (%100), kompleks hiperplazili 10 olgunun 9’unda (%90) ve endometrial adenokarsinomlu 21 olgunun 20’sinde (%95) pozitif boyanma izlendi.

B72.3 ile sekretuar faz 5 olgunun 4’ünde (%80) fokal güçlü boyanma elde edilir iken proliferatif faz, basit hiperplazi ve kompleks hiperplazi olgularının tümünde negatif sonuç alındı. 21 endometrial adenokarsinom olgusunun 16’sında (%76) pozitivite izlendi. (Tablo 7)

Tablo 7:

Tablo	TANI	c erb B2	EMA	B72,3
1	Proliferasyon fazı	∅	∅	∅
2	Proliferasyon fazı	∅	○	∅
3	Proliferasyon fazı	∅	∅	∅
4	Sekresyon fazı	∅	●	∅
5	Sekresyon fazı	∅	●	▲
6	Sekresyon fazı	∅	●	▲
7	Sekresyon fazı	∅	●	▲
8	Sekresyon fazı	∅	●	▲
9	Basit hiperplazi	∅	△	∅
10	Basit hiperplazi	∅	△	∅
11	Basit hiperplazi	∅	●	∅
12	Basit hiperplazi	∅	△	∅
13	Basit hiperplazi	∅	△	∅
14	Basit hiperplazi	∅	○	∅
15	Basit hiperplazi	∅	●	∅
16	Basit hiperplazi	∅	●	∅
17	Basit hiperplazi	∅	●	∅
18	Kompleks hiperplazi	∅	●	∅
19	Kompleks hiperplazi	∅	●	∅
20	Kompleks hiperplazi	∅	△	∅
21	Kompleks hiperplazi	∅	●	∅
22	Kompleks hiperplazi	∅	△	∅
23	Kompleks hiperplazi	∅	○	∅
24	Kompleks hiperplazi	∅	●	∅
25	Kompleks hiperplazi	∅	●	∅
26	Kompleks hiperplazi	∅	∅	∅
27	Kompleks hiperplazi	∅	○	∅
28	Endometrial karsinom	∅	●	▲
29	Endometrial karsinom	∅	●	∅
30	Endometrial karsinom	∅	●	▲
31	Endometrial karsinom	∅	●	▲
32	Endometrial karsinom	∅	●	▲
33	Endometrial karsinom	∅	∅	▲
34	Endometrial karsinom	∅	△	▲
35	Endometrial karsinom	∅	●	∅
36	Endometrial karsinom	∅	●	∅
37	Endometrial karsinom	∅	○	∅
38	Endometrial karsinom	∅	●	▲
39	Endometrial karsinom	∅	●	▲
40	Endometrial karsinom	∅	●	▲
41	Endometrial karsinom	∅	●	△
42	Endometrial karsinom	∅	●	▲
43	Endometrial karsinom	▲	▲	▲
44	Endometrial karsinom	∅	▲	▲
45	Endometrial karsinom	∅	●	∅
46	Endometrial karsinom	∅	▲	▲
47	Endometrial karsinom	▲	●	●
48	Endometrial karsinom	∅	●	△

∅:Negatif △:Fokal Zayıf ▲:Fokal Güçlü ○:Diffüz Zayıf ●:Diffüz Güçlü boyanma

İHK'sal boyaların immünreaktivitelelerini neoplazi grubu ile diğer iki grup arasında karşılaştırmak için istatistiksel olarak Mann-Whitney Test uygulanmış ve B72.3 ile patern, şiddet ve patern+şiddet ve EMA ile şiddet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 10)

Tablo 10

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>P</b>
C erbB2-I	25,79	23,50	0,105
EMA-I	25,93	23,39	0,434
<b>B72.3-I</b>	32,88	17,98	<b>0,000</b>
C erbB2-II	25,79	23,50	0,105
<b>EMA-II</b>	28,98	21,02	<b>0,018</b>
<b>B72.3-II</b>	32,60	18,20	<b>0,000</b>
C erbB2-EM	25,79	23,50	0,105
EMA-EM	27,45	22,20	0,143
<b>B72.3-EM</b>	32,69	18,13	<b>0,000</b>

A:tümörler, B:kompleks hiperplazi+basıthiperplazi, faz endometriyumlar

EM (patern+şiddet), I (boyanma paterni), II (boyanma şiddeti)

Neoplazi grubu ile diğer iki grubun klinik özellikler ve İHK'sal boyanma özelliklerine göre istatistiksel olarak ikili karşılaştırmasından sonra üç grubun aynı özellikler açısından karşılaştırmasına geçildi.

Olguların yaş ve BMI'leri açısından her üç grup arasında karşılaştırmasında tek yönlü varyans analizi kullanıldı ve bunun sonucunda üç grup arasında yaş ve BMI açısından anlamlı fark bulundu (Tablo 11).Anlamlı fark bulunması üzerine ikili analiz için uygulanan Benferroni Testi sonucunda Grup III ile Grup II ve Grup III ile Grup I arasında yaş açısından; Grup I ile Grup II arasında BMI açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı

Tablo 11

	Grup I	Grup II	Grup III	P
Yaş	44.9 (38-56)	45.3 (41-50)	59.1 (43-83)	<b>0,000</b>
BMI	26.2(21.6-39.1)	30.5 (25.4-36.8)	28.6 (20.8-34.2)	<b>0.018</b>

Olguların OK, HRT ve sigara kullanımları ile DM ve HT'lu olmalarına göre üç grup arasında Ki-Kare Testi ile karşılaştırmaları sonucunda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 12)

Tablo12

	Grup I (%)	Grup II (%)	Grup III (%)	P
OK	17.6 (3)	20.0 (2)	23.8 (5)	0.895
HRT	0	0	0	
Sigara	23.5 (4)	50.0 (5)	19.0 (4)	0.178
DM	17.6 (3)	20.0 (2)	19.0 (4)	0.988
HT	11.8 (2)	40.0 (4)	38.1 (8)	0.144

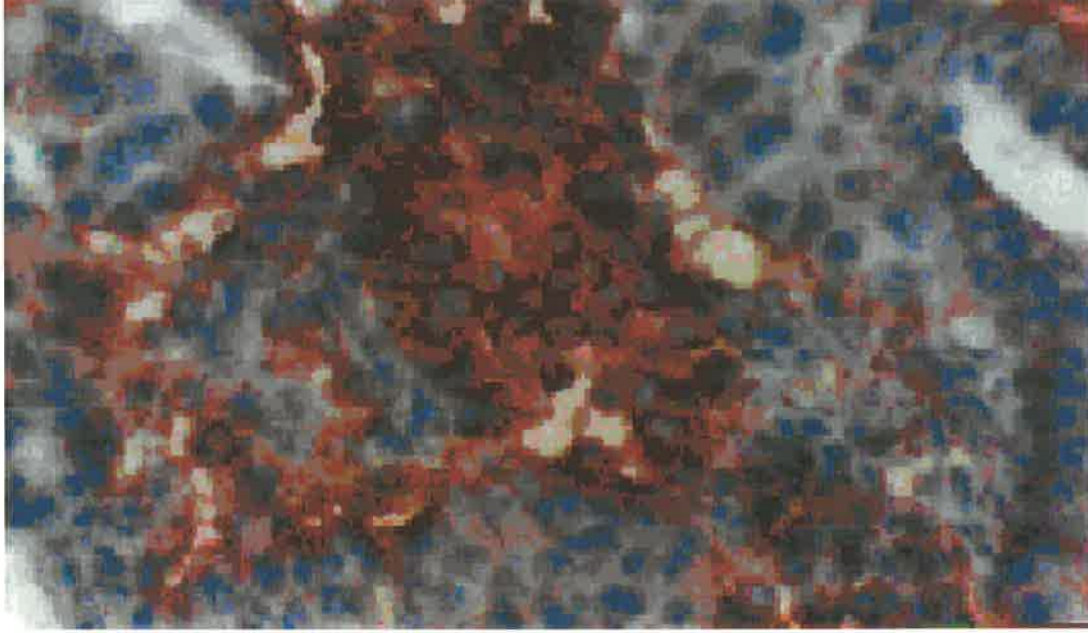
IHK'sal boyanmalar her immünreaktif için 3 grup arasında boyanma paternine ve boyanma şiddetine göre ayrı ayrı, ayrıca boyanma patern-şiddeti birlikte ele alınarak 3 farklı kategoride değerlendirilerek Kruskal Wallis Test ile karşılaştırmaları yapıldı ve sadece B72.3 için üç kategoride de istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (Tablo 13). İkili karşılaştırma için yapılan Mann Whitney Test sonucunda istatistiksel olarak anlamlı farkın Grup III ile Grup II ve Grup III ile Grup I arasında olduğu sonucuna varıldı.

Tablo 13

	Grup- I	Grup- II	Grup-III	P
C erbB2-I	23,50	23,50	25,79	0,269
EMA-I	22,91	24,20	25,93	0,706
<b>B72.3-I</b>	20,03	14,50	32,88	<b>0,000</b>
C erbB2-II	23,50	23,50	25,79	0,269
EMA-II	21,21	20,70	28,98	0,062
<b>B72.3-II</b>	20,38	14,50	32,60	<b>0,000</b>
C erbB2-EM	23,50	23,50	25,79	0,269
EMA-EM	22,18	22,25	27,45	0,342
<b>B72.3-EM</b>	20,26	14,50	32,69	<b>0,000</b>

EM:(boyanma patern+şiddet), I (boyanma paterni), II (boyanma şiddeti)

GrupI (basit hiperplazi+faz endometrium) Grup II (kompleks hiperplazi), grupIII(tümör)



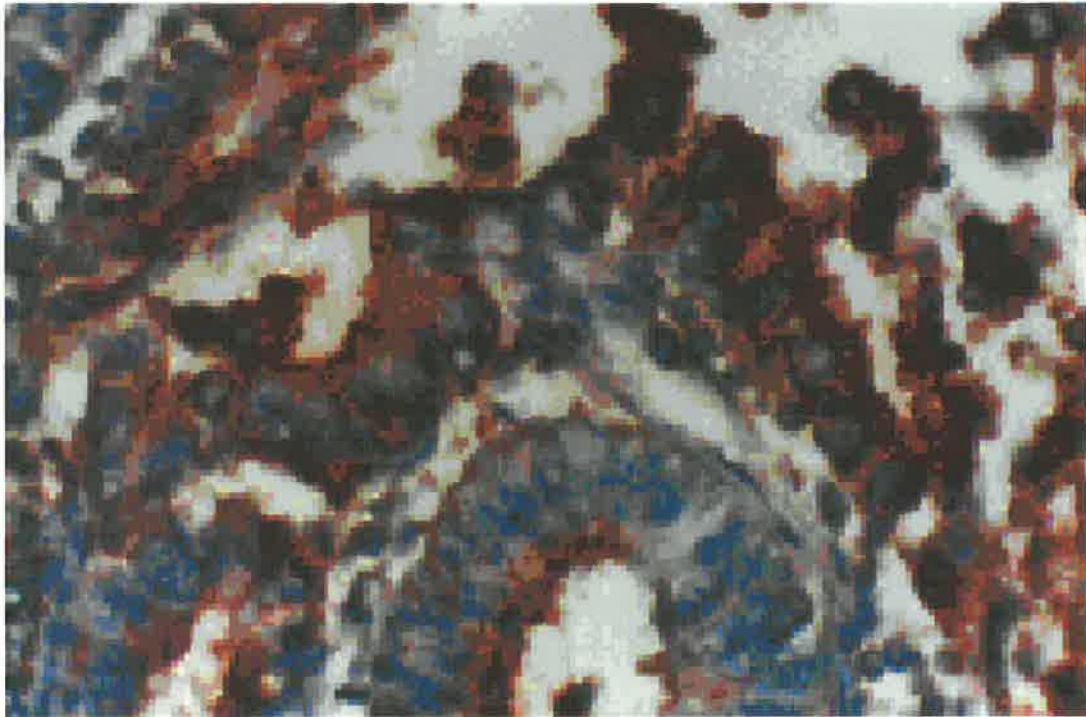
Resim 1: PAPx250 Neoplastik dokuda c erbB2. Hücre membranlarını kesintisiz çizen pozitiflik.



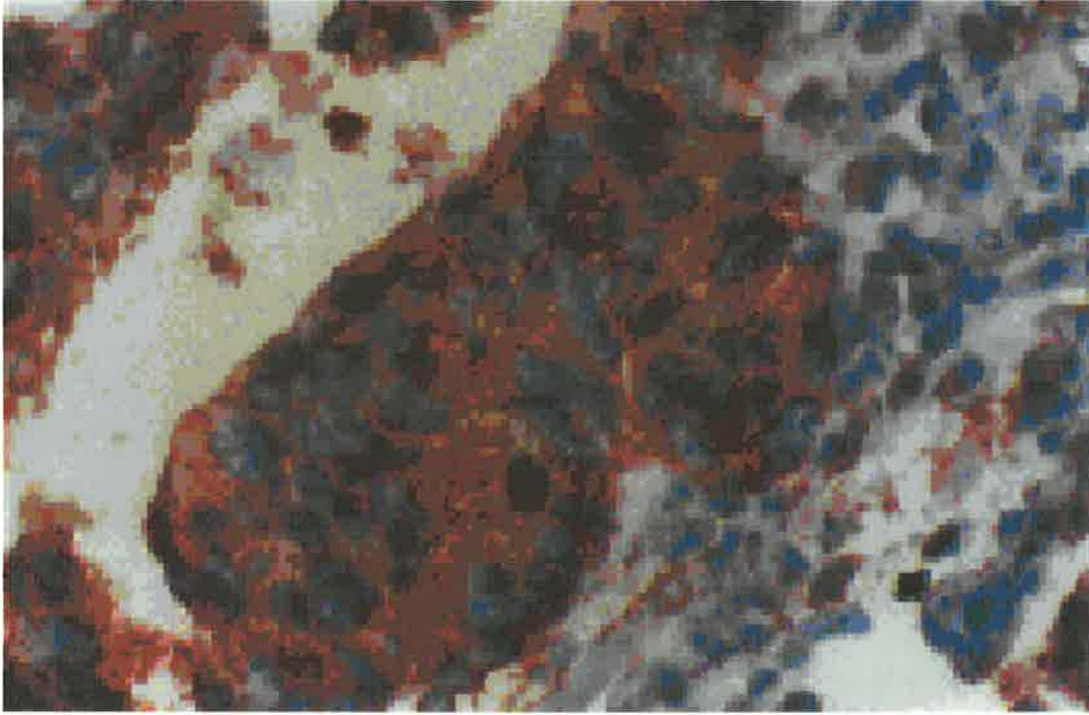
Resim 2: PAPx250 Neoplastik Dokuda EMA ile sitoplazmik + membranöz pozitivite.



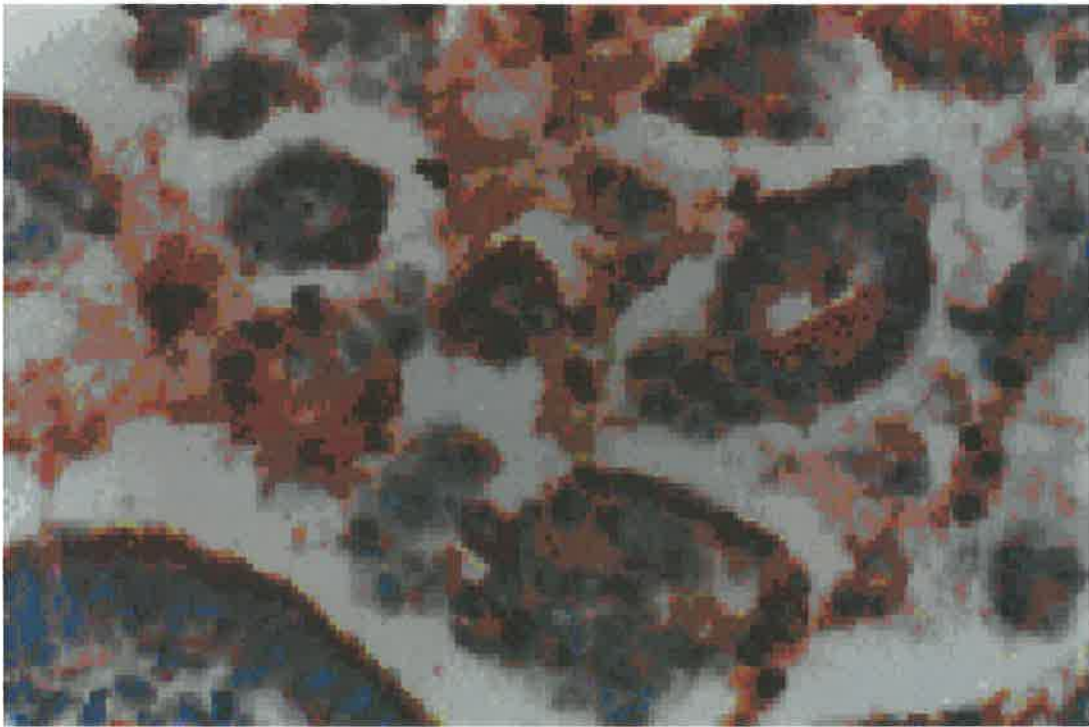
Resim 3: PAPx250 Neoplastik dokuda EMA ile sitoplazmik + luminal pozitive.



Resim 4: PAPx250 Neoplastik dokuda EMA sitoplazmik + luminal pozitive.



Resim 5: PAPx250 Neoplastik dokuda B 72.3 sitoplazmik pozitive.



Resim 4: PAPx250 Neoplastik dokuda B 72.3 sitoplazmik + luminal pozitive.

## TARTIŞMA

EK en sık görülen kadın genital sistem malignitesidir (12). En sık 55-65 yaş arasındaki postmenapozal dönem kadınlarda görülmektedir; çoğu anormal vajinal kanama ile başvururlar (13). Tümör olgularımızın yaş dağılımı 43-83 arasında değişmektedir.

Endometrial Karsinom (EK) vakalarının %80'inini Endometrioid Adenokarsinom (EAK) oluşturur (18). Tümör olgularımızın tamamını EAK oluşturmaktadır. Bunların 8'i grade-1, 11'i grade-2, 2'si grade -3 şeklinde gradelenmiştir.

EAK'ların ISGP/WHO sınıflamasına göre 4 alt tipi vardır (23).

- 1-Yassı epitel diferansiasyonlu
- 2-Sekretuar alt tip
- 3-Sillialı alt tip
- 4-Villoglandüler (papiller) alt tip

Tümör olgularımızın 4'ünde fokal yassı epitel yönünde farklılaşma, 4'ünde papiller özellikler izlenmiştir. Bu özellikler %19 gibi az bir oranda olduğu için çalışmamızda histolojik alt tipler yönünden değerlendirme yapılmamıştır.

**C erbB2** bir protoonkogendir. Epitelial büyüme faktörü ile homologdur ve tirozin kinaz aktivitesi gösterir (46,47). C erbB2'nin potansiyel onkojenitesi çeşitli genetik mekanizmalarla açıklanabilir. Bu mekanizmalar nokta mutasyonu, nonkatalitik sekansların birleşmesi ve normal genlerin overekspresyonudur (84,85). C erbB2 için geni amplifike eden kod meme, over, prostat, mide, tükrük bezi, akciğer, kalınbarsak, endometrium kanserlerinde tanımlanmıştır (41,42,43). Overekspresyonda protein membran hücrelerinde birikir, protein ve gen overekspresyonu sitoplazmik bir paternle birliktelik göstermez (41,44). C erbB2

çalışmalarının çoğu meme ile ilgilidir ve overekspresyon yüksek grade tümörlerle birliktelik gösterir (41,50,51).

Berhuck ve arkadaşları (53) çalışmalarında normal endometriumda menstrual siklusun fazından etkilenmeksizin zayıftan orta şiddetliye kadar boyanma izlemişlerdir. Ioffe ve arkadaşlarının(52) çalışmalarında c erbB2 ile ne proliferatif ne de hiperplazik endometriumda ekspresyon gözlenmemiştir. Çalışmamızda proliferatif ve hiperplazik endometriumda c erbB2 ekspresyonu izlemedik. Sonuçlar arasında bu uyumsuzluk ilk bahsi geçen çalışmanın frozen kesitlerle yapılmış olması ve sitoplazmik boyanmanın pozitif kabul edilmesinden kaynaklanıyor olabilir.

EAK vakalarında cerbB2 overekspresyonu ile ilgili bir Bigsby ve arkadaşları (86) 45 vakalık çalışmalarında düşük grade ve düşük stage tümörlerle birlikteliği bulmuşlardır. Bunun tersine Berchuck ve arkadaşları (53) 95 vakalık (71 EAK ve 24 endometrioid dışı tipler) serilerinde yüksek grade ve yüksek stage tümörlerde overekspresyon tespit etmişler, fakat ancak %9 vakada güçlü boyanma izlemişlerdir. Ancak onların çalışmasına endometrioid tipin dışındakiler de dahil edilmiş ve frozen kesitlerde çalışılmıştır . Ferrara ve arkadaşları (87) EK'lu 73 vakalık çalışmalarında sadece 5 vakada (%6.8) c erbB2 pozitifliği bulmuşlar ve kısa yaşam süresi ve tümörün agresif tavrı ile overekspresyonu arasında istatistiksel olarak pozitif korelasyon bulmuşlardır. Khalifa ve arkadaşlarının (43) yaptığı 69 vakalık (45 endometrioid, 16 seröz papiller, 8 clear cell endometrial karsinom) başka bir çalışmada vakaların %59'unda cerbB2 immünreaktivitesi bulmuşlar ve derin myometrial invazyon, nonendometrioid hücre tipi ve tanı anında metastatik tümör birlikteliğine işaret etmişler ancak immünreaktivite ile tümör stage ve grade'i arasında bir birliktelik bulamamışlardır. Sato ve arkadaşları (88) 23 EK olgusunun 7'sinde (%30,4) c erbB2 pozitivitesi bulmuşlar ve klinik prognostik faktörlerle korelasyon

saptamamışlardır. Aynı şekilde Reinartz ve arkadaşlarının (45) 128 vakalık çalışmalarında c erbB2 ile tümör tipi (özellikle clear cell ca) birlikteliğine işaret edilmiş (%20) ancak grade, stage, myometrial invazyon veya vasküler invazyon varlığı ile bir korelasyon izlenmemiştir. Çalışmamızda tümör vakalarının %9,5'unda (2/21) bezlerin bir kısmında güçlü sitoplazmik membranı çizen c erbB2 ekspresyonu izlenmiştir ve bu iki vaka FIGO evrelemesine göre ileri evre (evre IIIC) tümörlerdir. Tümör grubunda immünreaktivite gösteren iki vaka ileri evre olmasına rağmen ne evre ne de diğer geleneksel prognostik faktörlerle korelasyon göstermemiştir.

Diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında ortaya çıkan fark bizim vaka grubumuzun homojenliğine (tümü endometrioid adenokarsinom), bazı çalışmalarda parafine gömülü doku örnekleri kullanılırken bazılarında frozen kesitlerin kullanılmasına, antikor tipi ve konsantrasyonuna ve çalışma grubunda bulunan olguların evre dağılımlarına bağlı olabilir.

**EMA** yüksek membran ağırlıklı müsin benzeri transmembran glikoproteinidir ve insan süt yağ globül membranına karşı gelişmiş antiserum antijenidir. Bu antijen epitelyal dokunun lumeninde ve membran yüzeyinde, az miktarda da sitoplazmada bulunur (59).

Normal endometriumda EMA; menstrual siklusun her iki fazında da pozitif boyar, fakat menstrual faza bağlı olarak dağılımı farklıdır. Tabibzadeh (64) proliferatif fazda boyanmayı çok zayıf ve yok şeklinde bulmuş, ancak erken ve geç sekretuar fazda aşikar EMA boyaması izlemiştir. Biz proliferatif fazda sadece bir (1/3) vakada yaygın-zayıf boyanma ve tüm sekretuar faz vakalarında (5/5) yaygın-güçlü EMA pozitifliği bulduk.

Endometriumda EMA boyanmasından hiperplastik ve neoplastik endometriumun ayırımında yararlanılmıştır. Malign dokuda benign ve hiperplastik dokuyla karşılaştırıldığında aşikar daha güçlü boyanma göstermiştir (54,65,66).

Morse ve arkadaşları (66) 47 endometriyal adenokarsinom vakalarında değişik dilüsyonlarda hazırlanan EMA kullanarak yaptıkları çalışmada çoğu normal ve hiperplastik dokuların boyanmadığını, indiferansiye endometriyal karsinomların daha zayıf boyanırken, iyi diferansiye tümörlerin daha kuvvetli boyandığını izlemişlerdir. Az sayıda vaka grubunda yapılmış olsada bu çalışma sonucunda normal ile hiperplastik endometrium ve hiperplastik ile neoplastik endometrium ayırımını EMA boyaması ile göstermenin mümkün olmadığı kanısına varmışlardır.

Coronado ve arkadaşlarının (57) çalışmalarında 105 EK olgusunun 63'ünde (%60), 40 hiperplazi olgusunun 6'sında (%15), 33 benign endometrium olgusunun 3'ünde (%9,1) EMA boyanması izlemişlerdir. EMA overekspresyonunu malign endometriumda benign endometriuma göre yüksek bulmuş, fark istatistiksel olarak anlamlı olmasa da EMA overekspresyonun ileri evre, derin myometrial invazyon ve kötü diferansiye tümörlerde daha sık olduğuna işaret etmişlerdir.

Nakapoulo ve arkadaşları (65) çalışmalarında EMA ekspresyonunu adenomatöz hiperplazilerde %26, atipik adenomatöz hiperplazilerde %67 ve endometriyal adenokarsinomlarda %95 olarak izlemişlerdir. EMA ekspresyonunu neoplastik endometriumda hiperplastik endometriuma göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulmuşlardır. İyi diferansiye tümörlerde güçlü, kötü diferansiye tümörlerde zayıf boyanma olduğunu vurgulamışlardır. EMA dağılımının tümör grade'i ile korelasyon göstermediğini saptamışlardır. Yine Sloane (54) ve Morse (66) iyi diferansiye tümörlerde güçlü, kötü diferansiye tümörlerde zayıf EMA boyanması izlemişlerdir. Çalışmamızda tümör vakalarının %95'i, kompleks hiperplazi vakalarının

%90'ı, ve diğer (basit hiperplazi+sekretuar ve proliferatif faz endometrium) vakaların %88'inde EMA boyanması izlenmiştir. Boyanma şiddeti bakımından EMA ile tümör grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p=0,018). Ancak boyanma patern-şiddeti birlikte değerlendirildiğinde tümör ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,143). Çalışmamızda hiçbir immünreaktifin boyanması ile tümör grade ve stage'i arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır. İHK'sal olarak tek başına boyanma şiddeti güvenilebilir ve tekrarlanabilir bir bulgu değildir; çünkü tespit için kullanılan solüsyonun cinsi ve oranı, boyanma için alınan kesitlerin kalınlığı, immünreaktifin dilüsyon oranı ve boyanma yöntemi gibi pek çok değişkenden etkilenebilmektedir. Morse ve arkadaşları (66) EK vakalarında değişik dilüsyonlarda hazırladıkları EMA'yı kullanarak yaptıkları çalışmada farklı dilüsyon oranlarında farklı boyanma şiddeti bulmuşlardır.

**B72.3** yüksek molekül ağırlıklı müsin benzeri glikoprotein kompleksi tümör ilişkili glikoprotein (TAG-72) olarak bilinir (74). Normal erişkin dokularda, B72.3 için negatiflik söz konusudur, fakat endometriumun sekretuar fazı için güçlü pozitive izlenir. Proliferatif faz endometriumda negatiflik izlenir (74). Çalışmamızda proliferatif faz vakaların tümünde (3/3) B72.3 için negatiflik, sekretuar faz örneklerinin %80'inde (4/5) fokal-güçlü pozitiflik söz konusudur.

Bartolazzi ve arkadaşlarının (89) yaptığı çalışmada atipisiz hiperplazi vakalarının tümünde B72.3 için negatiflik söz konusu iken, Mottolese ve arkadaşlarının (90) çalışmasında 27 atipisiz hiperplazi vakasının 6'sında (%22) pozitiflik mevcuttur. Bizim çalışmamızda 19 atipisiz hiperplazi (9 basit, 10 kompleks) vakasının tümünde B72.3 için negatiflik söz konusudur.

Bartolazzi'nin çalışmasında tümör vakalarının tümünde (5/5) B72.3 pozitifliği, Mottolese'nin çalışmasında 20 tümör vakasının 19'unda (%95) B72.3 pozitifliği söz konusudur. Loy ve arkadaşları (83) B72.3 ile 476 adenokarsinom vakasında yaptıkları çalışmada 41 EK vakasından 40'ında (%98) B72.3 pozitifliği bulmuşlar ve over, endoserviks, endometrium, distal özafagus-mide, kolon, akciğer, meme, prostat, pankreas ve safra duktus neoplazilerinde %75-100 oranında pozitiflik elde ederek epitelyal neoplazilere özgün bir işaretleyici olduğunu vurgulamışlardır. Katari ve arkadaşları (82) farklı tipte epitelyal neoplazilerin (over, kolorektal, pankreatik ve endometrial karsinomlar) seröz efüzyonlarında yaptıkları 43 vakalık çalışmalarında B72.3'ü epitelyal neoplazilere özgün kabul ederek B72.3 ve ikinci kuşak derivelerinin boyama güçlerini karşılaştırmışlardır. Çalışmamızda neoplazi vakalarımızın %79,5'unda (16/21) B72.3 pozitifliği saptanmıştır ve bu şekilde B72.3 ile sadece sekretuar faz olgular ile neoplazi olgularında boyanma izlenmiştir.

Literatürdeki çalışmalarda B72.3 boyanması tümör grade ve stage ile ilişkilendirilmemiştir.

Endometrium dokusunda normal, hiperplastik ve kanser olgularında B72.3 ile EMA immünreaktiviteilerinin karşılaştırılmasına ait çalışma yayınlanmamıştır. Bizim çalışmamızda neoplazi grubu ile diğer iki grup birlikte alınarak istatistiksel olarak yapılan ikili karşılaştırılmada;

. B72.3'ün boyanma paterninde  $p=0,000$

. B72.3'ün boyanma şiddetinde  $p=0,000$

. B72.3'ün boyanma patern-şiddeti birlikte değerlendirildiğinde  $p=0,000$

anlamlı fark saptandı.

Her üç grup olgularının istatistiksel olarak ayrı ayrı karşılaştırılmasında;

. B72.3'ün boyanma paterninde  $p=0,000$

. B72.3'ün boyanma şiddetinde  $p=0,000$

.B72.3'ün boyanma patern-şiddeti birlikte değerlendirildiğinde  $p=0,000$

anlamli fark saptandı.

EMA için sadece tümör ile diğer gruplar birlikte ele alındığında boyanma şiddeti açısından anlamli fark bulundu ( $p=0,018$ ). Gruplar ayrı ayrı ele alındığında üç grubun boyanma şiddeti ( $p=0,062$ ), boyanma paterni ( $p=0,706$ ) ve patern-şiddet birlikte değerlendirildiğinde yapılan karşılaştırmalarında ( $p=0,342$ ) farklar anlamli değildi.

Küçük bir olgu grubuna dayanan çalışmamızda B72.3 için elde etmiş olduğumuz bu sonuçlar, söz konusu immünreaktifin neoplastik endometriyal hücreleri non neoplastik endometriyal hücrelerden ayırmada seçilmiş, etkin bir işaretleyici olabileceği fikrini destekler niteliktedir. Bu sonuçlar daha büyük serilerde daha ayrıntılı bir şekilde planlanabilecek çalışmalar için umut vericidir.

## SONUÇ

- . Çalışmamızda neoplastik endometriyumda c erbB2, EMA ve B72.3 ekspresyon paterni ve şiddeti ile prognostik faktörler arasında korelasyon izlenmemiştir.
- . C erbB2 ekspresyonu yalnızca neoplastik grupta görülmüş olmakla birlikte neoplastik ve nonneoplastik endometriyum ayırımında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,269$ ) (Mann Whitney Test).
- . C erbB2 ekspresyonu ileri evre endometriyal karsinomlarda saptanmış olmakla birlikte bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,269$ ) (Kruskal Wallis Test).
- . EMA ekspresyonunun şiddeti; neoplastik/nonneoplastik endometriyum arasında istatistiksel olarak anlamlı ( $p=0,018$ ) (Mann Whitney Test) bulunmuş olmakla birlikte immünohistokimyasal değerlendirmelerde şiddet, çoğul değişkenlerden etkilenen göreceli bir kavram olduğundan güvenilebilir ve tekrarlanabilir görünmemektedir.
- . B72.3 ekspresyonu patern ve şiddet değişkenlerinin her ikisi için ayrı ayrı ve birlikte neoplastik/nonneoplastik endometriyum ve hiperplastik (kompleks hiperplazi)/neoplastik endometriyum ayırımında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı ( $p=0,000$ ) (Mann Whitney ve Kruskal Wallis Testleri) bulunmuştur. B 72.3 bu özelliği ile neoplastik endometriyuma özgün bir işaretleyici olarak görünmektedir.

## KAYNAKLAR

- 1-Ferenczy A;Anatomi and histology of the uterine corpus.In Kurman RJ (ed):  
Blaustein's Pathology of the Female Tract 5th ed. New York, Springer-Verlag 1995,  
327-366
- 2-Hendrickson MR, Kempson RL; Normal histology of the uterus and fallopian tube.  
In Stenberg SS: Histology for Pathologist 2nd ed. Philadelphia, Lippincott-Raven  
1997, 879-929
- 3-Ramirez NC, Lawrence WD; Anatomi and histology of the uterus. In Weidner N  
(ed), Modern Surgical Pathology,Philadelphia,Sauder Company. 2003, 1327-1368
- 4-Gray LA, Barnes ML;Histogenesis of endometrial carcinoma. Ann Surg 1964;159 ;  
976
- 5-Gray LA, Barnes ML;Histogenesis of endometrial carcinoma Ann Surg 1974;2; 93
- 6-Piver MS, Marchetti DL; Endometrial carcinoma in Piver MS (ed) Manual of  
Gynecologic Oncology and Gynecology, Little brown co 87,1989
- 7-Herting AT, Sommers SC, Bengloff H: Genesis of endometrial carcinoma.  
Carcinoma in situ. Cancer 1959;2:946
- 8-Atasütü T, Aydınlı K; Endometrial Hiperplazi, Jinekolojik Onkoloji 2.baskı Logos  
Yayıncılık 1999.322-345
- 9-Stewart FW, Factors influencing the curability of cancer . Proceedings of the third.  
National Cancer Coference , Lippincott, Philadelphia 1957;62
- 10-Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HY:The behavior of endometrial hyperplasia. A  
long-term study of untreated hyperplasia in 170 patients. Cancer .1985;56,403
- 11-Sherman AI; Precursors of endometrial cancer.İsrael J. Med Science 1978;14:370
- 12-Esteller M, Garcia A, Palones JMM, Cabero A, Reventos J;Detection of c erbB2/  
neu and fibroblast growth factor-3/INT-2 but not epidermal growth factor receptor

gene amplification in endometrial cancer by differential polymerase chain reaction. Cancer 1995;75:2139-46

13-Kurman RJ, Zaino RJ, Norris HJ; Endometrial carcinoma. In Kurman RJ, Zaino RJ, Norris HJ, ed. Blaustein's Pathology of the female genital tract. Fourth edition, Baltimore, Springer-Verlag. 1994;439-86

14-Crum CP; Female genital tract. In Cotran R, Kumar R, Robbins S. Pathologic Basic of Disease. 5th ed. Philadelphia, WB. Saunders Company 1994:1060-63

15-Gitsch G, Hanzal E, Jensen D, Hacker NF; Endometrial cancer in premenopausal women 45 years and younger. Obstet Gynecol 1995;85:504-8

16-Longacre TA, Kempson RL, Hendrickson MR; Endometrial hyperplasia, metaplasia and carcinoma. In Fox E, Wells M ed. Obstetrical and gynecological pathology. 4th ed. London, Churchill Livingstone, 1995;420-499

17-Kösebay D, Arvaz M: Endometrium karsinomu. In Jinekolojik onkoloji. Atasütü Aydın K. İstanbul 1996;336-352

18-Hoskins W, Perez C, Young RC; Gynecologic tumors. In De Vita Vt; Hellman S, Rosenberg SA, ed Cancer, Principles and practice of oncology. 3th ed, Philadelphia, JB Lippincott Company. 1989;1134-37

19-Kaleli S, Gezer A, Aksu F, Atasütü T: Endometrial hiperplazi endometrium kanseri ilişkisi: 7490 olgunun analizi. Jinekoloji ve obstetrik 1996; 10(2);68-73

20-Sherman ME, Bur ME, Kurman RJ; p-53 in endometrial cancer and its putative precursors; Evidence for diverse pathways of tumorigenesis. Hum Pathol 1995;26; 1268-74

21-Deligdish L, Holinka C; Progesterone receptors in two groups of endometrial carcinoma. Cancer 1986;57;1385-8

22-Rosai J; Uterus-corporis. In Rosai J.Ackerman's Surgical Pathology.8th ed. St Louis, Mosby.1996;1408-19

23-Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ,Histological Typing of Female Genital Tract Tumours. World Health Organization Histological Classification of Tumours, 2nd ed. New York, Springer-Verlag, 1994

24-Silverberg SG;Protocol for examination of specimens from patients with carcinomas of the endometrium: A basis for checklists. Cancer Committee, College of American Pathologists. Arch Pathol Lab Med 1999;123;28-32

25-Lax SF, Pizer ES, Ronnett BM, et al;Clear cell carcinoma of the endometrium is characterized by a distinctive profile of p53, Ki-67, estrogen and progesterone receptor expression. Hum Pathol 1998;29; 551-558

26-Tobon H, Watkins GJ; Secretory adenocarcinoma of the endometrium. Int J Gynecol Pathol 1985;4;328-335

27-Zaino RJ, Kurman RJ, Brunetto VL, et al: Villoglandular adenocarcinoma of the endometrium. A clinicopathologic study of 61 cases. A Gynecologic Oncology Group study. Am J Surg Pathol 1998;22;1379-1385

28-Esteller M, Garcia A, Martinez-Palones JM; et al; Clinicopathologic features and genetic alterations in endometrioid carcinoma of the uterus with villoglandular differentiation. Am J Clin Pathol 1999;111;336-342

29-Cresman WT; New gynecologic cancer staging.Obstet Gynecol 1990;75;287-8

30-Mikuta JJ; International federation of gynecology and obstetrics staging of endometrial cancer 1988. Cancer 1993;71;1460-3

31-Khalifa MA, Mannel RS, Haraway SD, Walker J, Min KW:Expression of EGFR, Her-2/neu, p53 and PCNA in endometrioid, serous papillary and clear cell endometrial adenocarcinomas. Gynecol Oncol 1994;53;84-92

- 32-Ambros RA, Kurman RJ; Combined assessment of vascular and myometrial invasion as a model predict prognosis in stage I endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus. *Cancer* 1992;69:1424-31
- 33-Geisenger KR, Homesley HD, Morgan TM, Kute TE, Marshall RB; Endometrial adenocarcinoma. A multiparameter clinicopathologic analysis including the DNA profile and the sex steroid hormone receptors. *Cancer* 1986;58:1518-25
- 34-Ayhan A, Yaralı H; Endometrial adenocarcinoma: a pathologic evaluation of 142 cases with and without associated endometrial hyperplasia. *J Surg Oncol* 1991;46(3):182-4
- 35-Pisani AL, Barbuto DA, Chen D, Ramos L, Lagasse LD, Karlan BY; Her-2/neu, p53 and DNA analyses as prognosticators for survival in endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1995;85:729-34
- 36-Heatley MK; Association between the apoptotic index and established prognostic parameters in endometrial adenocarcinoma. *Histopathology* 1995;27:469-72
- 37-Rasty G, Murray R, Kubilis P, Benrubi G, Masood S; Expression of HER-2/neu oncogene in normal, hyperplastic and malignant endometrium. *Ann Clin Lab Sci* 1998;28:138-43
- 38-Sasaki H, Nishii H, Takahashi H, Tada A, Furusato M, Terashima Y, Siegal GP, Parker SL, Kohler MF, Berhuck A; Mutation of the Ki-ras protooncogene in human endometrial hyperplasia and carcinoma. *Cancer Res* 1993;53:1906-10
- 39-Enomoto T, Fujita M, Inoue M, Rice JM, Nakajima R, Tanazawa O, Nomura T; Alterations of the p53 tumor suppressor gene and its association with activation of the K-ras protooncogene in premalignant and malignant lesions of the human uterine endometrium. *Cancer Res* 1993;53:1883-8

40-Esteller M, Catusus L, Matias-Guiu X, Mutter GL, Prat J, Baylin SB, Herman JG; hMLH1 promoter hypermethylation is an early event in human endometrial tumorigenesis. *Am J Pathol* 1999;155:1767-72

41-Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, et al; Studies of the Her-2/neu protooncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989;244:707-12

42-D'Emilia J, Bulovas K, D'Ercole K, et al; Expression of the c erbB2 gene product (p185) at different stages of neoplastic progression in the colon. *Oncogene* 1989;4:1233

43-Nielsen AL, Nyholm HCJ; p53 protein and c erbB2 protein (p185) expression in endometrial adenocarcinoma of endometrioid type: an immunohistochemical examination on paraffin sections. *Am J Clin Pathol* 1994 Jul; 102(1):76-9

44-Press MF, Pike MC, Chazin VR, et al; Her-2/neu expression in node-negative breast cancer. Direct tissue quantitation by computerized image analysis and association of overexpression with increased risk of recurrent disease. *Cancer Res* 1993;53:4960

45-Reinartz JJ, George E, Lindgren BR, Niehans GA; Expression of p53, transforming growth factor alpha, epidermal growth factor receptor and c erbB2 in endometrial carcinoma and correlation with survival and known predictors of survival. *Hum Pathol* 1994;25:1075-83

46-Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL; Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of Her-2/neu oncogene. *Science* 1987;235:177-82

47-Berhuck A, Kamel A, Whitaker R, et al; Overexpression of Her-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1990;50:4087-91

- 48-Singleton TP, Strickler JG; Clinical and pathologic significance of the c-erbB2 (Her-2/neu) oncogene. *Pathol Annu* 1992; 27:165-90
- 49-Borst MP, Baker W, Dixon D, et al; Oncogene alterations in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1990;38:364-6
- 50-Ross JS, Fletcher JA; Her-2/neu (c-erbB2) gene and protein in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 199;112:53-67
- 51-Wright C, Angus B, Nicholson S, et al; Expression of c-erbB2 oncoprotein. A prognostic indicator in human breast cancer. *Cancer Res* 1989;49:2087
- 52-Ioffe OB, Papadimitriou JC, Drachenberg CB; Correlation of proliferation indices, apoptosis and related oncogene expression (bcl-2 and c-erbB2) and pin proliferative, hyperplastic and malignant endometrium. *Hum Pathol* 1998 oct;29(10):1150-9
- 53-Berhuck A, Rodriguez G, Kinney RB, et al; Overexpression of Her-2/neu in endometrial cancer is associated with advanced stage. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:15-21
- 54-Sloane JP, Ormerod MG; Distribution of epithelial membrane antigen in normal and neoplastic tissues and its value in diagnostic tumor pathology. *Cancer* 1981;47:1786-95
- 55-Heyderman E, Strudley I, Powell G, Richardson TC, et al; A new monoclonal antibody epithelial membrane antigen (EMA)-E29. A comparison of its immunohistochemical reactivity with polyclonal anti-EMA antibodies and with another monoclonal antibody, HMFG-2. *BR J Cancer* 1985;52(3):355-61
- 56-Heyderman E, Steele K, Ormerod MG; A new antigen on the epithelial membrane: its immunoperoxidase localization in normal and neoplastic tissue. *J Clin Pathol* 1979;32(1):35-9

57-Coronado D, Fasero M, Vidart JA et al; A comparison of epithelial membrane antigen overexpression in benign and malignant endometrium. *Gynecol Oncol* 2001; 82:483-8

58-Delson G, Gatter KC, Stein H; Human lymphoid cells Express epithelial membrane antigen. Implications for diagnosis of human neoplasms. *Lancet* 1984; 2(8412):1124-9

59-Pinkus GS, Kurtin PJ; Epithelial membrane antigen-a diagnostic discriminant in surgical pathology: immunohistochemical profile in epithelial, mesenchymal and hematopoietic neoplasms using paraffin sections and monoclonal antibodies. *Hum Pathol* 1985;16(9):929-40

60-Dearney DP, Soane JP, Ormerod MG, Steele K, et al; Increased detection of mammary carcinoma cells in marrow smears using antisera to epithelial membrane antigen. *BR J Cancer* 1981;44(1):85-90

61-Pinkus GS, Etheridge CL, O'Connor EM; Are keratin proteins a better tumor marker than epithelial membrane antigen? A comparative immunohistochemical study of various paraffin-embedded neoplasms using monoclonal and polyclonal antibodies. *Am J Clin Pathol* 1986;85(3):269-77

62-Valkova B, Ormerod MG, Moncrieff D, Coleman DV; Epithelial membrane antigen in cells from the uterine cervix: immunocytochemical staining of cervical smears. *J Clin Pathol* 1984;37(9):984-9

63-Pelusi G, Bondi A, Morichelli MR, Cavallina R, Giangaspero F, Eusebi V; Morphofunctional changes in normal cyclic endometrium. *Basic Appl Histochem* 1984;28(2):151-8

64-Tabibzadeh S; Immunoreactivity of human endometrium :correlation with endometrial dating. *Fertil Steril* 1990 oct;54(4):624-31

- 65-Nakopoulou L, Minaretzis D, Tsionou CH, Mastrominas M; Value of immunohistochemical demonstration of several epithelial markers in hyperplastic and neoplastic endometrium. *Gynecol Oncol* 1990;37:346-53
- 66-Morse AR, Curan GJ; Distribution of epithelial membrane antigen in normal and abnormal endometrium tissue. *BR J Obstet Gynaecol* 1985;92:1286-90
- 67-Thor A, Ohuchi N, Szpak CA, Johnston WW, Schlom J; Distribution of oncofetal antigen tumor associated glycoprotein-72 defined by monoclonal antibody B72.3. *Cancer Res* 1986;46:3118-24
- 68-Johnston WW, Szpak CA, Lottich SC, Thor A, Schlom J; Use of a monoclonal antibody (B72.3) as a novel immunohistochemical adjunct for the diagnosis of carcinomas in fine needle aspiration biopsy specimens. *Hum Pathol* 1986;17:501-13
- 69-Castagna M, Nuti M, Squartini F; Mammary cancer antigen recognized by monoclonal antibody B72.3 in apocrine metaplasia of the human breast. *Cancer Res* 1987; 47:902-6
- 70-Tavassoli FA; Jones MW, Majeste RM, Bratthauer GL, O'Leary TJ; Immunohistochemical staining with monoclonal Ab B72.3 in benign and malignant breast disease. *Am J Surg Pathol* 1990;14:128-33
- 71-Ohuchi N, Thor A, Nose M, Fujita J, Kyooku M, SchlomJ; Tumor-associated glycoprotein (TAG-72) detected in adenocarcinomas and benign lesions of the stomach. *Int Cancer* 1986;38:643-50
- 72-Listrom MB, Little JV, McKinley M, Fnoglio-Preiser CM; Immunoreactivity of tumor-associated glycoprotein (TAG-72) in normal, hyperplastic and neoplastic colon. *Hum Pathol* 1989;20:994-1000
- 73-Mazur MT, Shultz JJ;Prostatic adenocarcinoma: evaluation of immunoreactivity to monoclonal antibody B72.3: *Am J Clin Pathol* 1990;93:466-70

- 74-Thor A, Viglione MJ, Muraro R, Ohuchi N, Schlom J, Gorstein F; Monoclonal antibody B72.3 reactivity with human endometrium: A study of normal and malignant tissues. *Int J Gynecol Pathol* 1987;6:235-47
- 75-Otis CN, Carter D, Cole S, Battifora H; Immunohistochemical evaluation of pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma: a multi-institutional study of 47 cases. *Am J Surg Pathol* 1987;11:445-56
- 76-Wick MR, Loy T, Mills SE, Legier JF, Manivel JC; Malignant epithelioid pleural mesothelioma versus peripheral pulmonary adenocarcinoma: a histochemical, ultrastructural and immunohistologic study of 103 cases. *Hum Pathol* 1990;21:759-66
- 77-Bickel J, Bulatao I, Diaz-Arias A, Loy T; Utility of monoclonal antibody B72.3 in the cytologic diagnosis of adenocarcinoma in body fluids. *Mod Pathol* 1990;62:10
- 78-Szpak CA, Soper JT, Thor A, Schlom J, Johnston WW; Detection of adenocarcinoma in peritoneal washings by staining with monoclonal antibody B72.3. *Acta Cytol* 1989;33:205-14
- 79-Johnston WW, Szpak CA, Thor A, Schlom J; phenotypic characterization of lung cancers in fine needle aspiration biopsies using monoclonal antibody B72.3. *Cancer Res* 1986;46:6462-70
- 80-Morgan WP, Dundas SAC, Howat AJ, Shorthuse AJ; Can monoclonal antibody B72.3 increase the sensitivity of fine needle aspiration cytology? *BR J Surg* 1988; 75:1271
- 81-Soisson AP, Berhuck A, Lessey BA et al ; Immunohistochemical expression of TAG-72 in normal and malignant endometrium: Correlation of antigen expression with estrogen receptor and progesterone receptor levels. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:1258-63

- 82-Katari RS, Fernsten PD, Schlom J; Characterization of the shed form of the human tumor associated glycoprotein (TAG-72) from serous effusions of patients with different types of carcinomas. *Cancer Res* 1990;50:4885-90
- 83-Loy TS, Nashelsky MB; Reactivity of B72.3 with adenocarcinomas. An immunohistochemical study of 476 cases. *Cancer* 1993 Oct15;72:2495-8
- 84-Bergmann CI, Hung MC, Weinberg RA; Multiple independent activations of the neu oncogene by a point mutation altering the transmembrane domain of p185. *Cell* 1986;45:649-57
- 85-Bergmann CI, Weinberg RA; Oncogenic activation of the neu-encoded receptor protein by point mutation and deletion. *EMBO J* 1998;7:2043-52
- 86-Bigsby RM, Aixin L, Bomalaski J, Stehman FB, Look KY, Sutton GP; Immunohistochemical study of Her-/neu, epidermal growth factor receptor and steroid receptor expression in normal and malignant endometrium. *Obstet Gynecol* 1992;79:95-100
- 87-Ferrara F, Santis LD, Mangili F, et al; Role of DNA ploidy and ERB-B2 oncogene expression in the prognosis of endometrial carcinoma. *Pathol Res Pract* 1994;190:1039-43
- 88-Sato S, Ito K, Ozawa N, et al; Expression of c-myc, epidermal growth factor receptor and c-erbB2 in human endometrial carcinoma and cervical adenocarcinoma. *Tohoku J Exp Med* 1991;165:137-45
- 89-Bartolazzi A, Mottolose M, Vocatura A et al; Expression of CAR-3 and TAG-72 macromolecules in normal and transformed endometrium: Potential diagnostic application in postmenopausal patients. *Cancer Res* 1991;June 1;51:3001-5

90-Mottolose M, Vocatura A, Bartolazzi A, et al: Immunocytoagnosis of typical hyperplasia and endometrial carcinoma in post-menopausal women. *Int J Cancer* 1992;51:869-72.