

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**NORMAL ENDOMETRİUM, ENDOMETRİAL HİPERPLAZİ
VE ENDOMETRİAL ADENOKARSİNOMLARDA PTEN, PAX2
VE PINCH EKSPRESYONLARI VE KLİNİKOPATOLOJİK
PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. ESRA KARAKUŞ**

**DANIŞMAN
DOÇ. Dr. ÖZLEM ERDEM**

**ANKARA
2012**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**NORMAL ENDOMETRİUM, ENDOMETRİAL HİPERPLAZİ
VE ENDOMETRİAL ADENOKARSİNOMLARDA PTEN, PAX2
VE PINCH EKSPRESYONLARI VE KLİNİKOPATOLOJİK
PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. ESRA KARAKUŞ**

**DANIŞMAN
DOÇ. Dr. ÖZLEM ERDEM**

**Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından SBE-01/2011-
66 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA
OCAK 2012**

TEŐEKKÜR

Asistanlığım süresi boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak yetişmemde büyük katkıları bulunan değerli hocalarım, Prof. Dr. Ömer Uluođlu, Prof. Dr. Leyla Memiş, Prof. Dr. Ayşe Dursun, Prof. Dr. Gülen Akyol, Prof. Dr. Aylar Poyraz, Doç. Dr. Nalan Akyürek ve tez danışmanım Doç. Dr. Özlem Erdem, Doç. Dr. İpek Işık Gönül, Yrd. Doç. Dr. Özgür Ekinci, Yrd. Doç. Dr. Güldal Yılmaz, Yrd. Doç. Dr. Pınar Uyar Göçün'e, daima birlikte çalışmaktan gurur duyduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma, tüm laboratuvar personeline, en sıkıntılı günlerimde devamlı yanımda olan, sabır, şevkat ve yardımlarını her zaman hissettiğim sevgili eşim Resul Karakuş'a en içten sevgi ve saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇİNDEKİLER	i
TABLO LİSTESİ	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
KISALTMALAR	vii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Uterus Anatomisi, Histolojisi ve Embriyolojisi	3
2.2 Normal Endometrium Morfolojisi ve Fizyolojisi	5
2.3 Endometrial Hiperplaziler	8
2.4 Endometrial Karsinomlar	11
2.4.1 İnsidans, Risk Faktörleri ve Etyopatogenez	11
2.4.2 Endometrial Kanserlerin Morfolojik Özellikleri	14
2.4.3 Endometrial Kanserlerin Morfolojik Tipleri	15
2.4.4 Endometrial Karsinomlarda Gradeleme	18
2.4.5 Endometrial Karsinomlarda Evrelendirme	19
2.4.6 Endometrial Karsinomlarda Prognostik Faktörler.	21
2.5 PTEN	25
2.6 PAX2	29
2.7 PINCH	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Olguların Seçilmesi	34

3.2. Dokuların Histopatolojik Değerlendirilmesi	34
3.3. İmmunhistokimyasal Boyanma	36
3.4. İmmunhistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi	40
3.5. İstatistiksel İnceleme	40
4. BULGULAR	41
4.1. Hastaların Demografik Özellikleri ve Tümör Karakteristikleri	41
4.2. İmmunhistokimyasal Bulgular	46
4.2.1. PTEN Ekspresyon Paterni	46
4.2.2. PAX2 Ekspresyon Paterni	51
4.2.3. PINCH Ekspresyon Paterni	56
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇ	78
7. ÖZET	80
8. SUMMARY	82
9. KAYNAKLAR	84

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Endometrial Hiperplazi sınıflamaları

Tablo 2 : Endometriyal karsinomlarda görülen genetik deęisiklikler

Tablo 3: Endometrium korpus tümörlerinde cerrahi evreleme, FIGO, 2009

Tablo 4: Primer antikorların klonları, inkübasyon süreleri ve dilüsyon oranları

Tablo 5: Grupların tanılarına göre sayısal dağılımı ve yaş ortalamaları

Tablo 6: Tümörlerde demografik ve prognostik özelliklerin dağılımı

Tablo 7: Olguların klinik ve patolojik özelliklerinin histolojik grade'e göre dağılımı

Tablo 8: PTEN, PAX2 ve PINCH antikorlarının boyanma yaygınlığının gruplara göre dağılımı

Tablo 9: PTEN, PAX2 ve PINCH antikorlarının boyanma şiddetlerinin gruplara göre dağılımı

Tablo 10: PTEN, PAX2 ve PINCH antikorlarının boyanma şiddetlerinin demografik ve prognostik özelliklerle dağılımı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Uterus anatomisi

Şekil 2: Uterin kaviteyi dolduran ve difüz irregüler kalınlaşmaya neden olan endometrial adenokarsinom

Şekil 3: Karsinogenezin erken döneminde meydana gelen PTEN mutasyonu

Şekil 4: ILK/PINCH/Parvin kompleksiyle PTEN'in PIP3 kinaz yolağı ile bağlantısı

Şekil 5: Olguların histopatolojik tanılara göre dağılımı

Şekil 6: Histolojik grade ile myometrial invazyonun karşılaştırılması

Şekil 7: Histolojik grade ile lenf nodu metastazının karşılaştırılması

Şekil 8: PTEN boyanma yaygınlığının gruplar arası dağılımı

Şekil 9: PTEN boyanma şiddetinin gruplar arası dağılımı

Şekil 10: Proliferatif endometriyumda +3 pozitif boyanma şiddetinde PTEN ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)

Şekil 11: FIGO grade II tümörde +1 pozitif boyanma şiddetinde PTEN ekspresyonu ve arada kalan normal endometriyumda +3 pozitif boyanma şiddetinde PTEN ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)

Şekil 12: FIGO grade III tümörde +1 pozitif boyanma kuvvetinde PTEN ekspresyonu ve beraberinde izlenen atipili kompleks hiperplazi alanında +2 pozitif boyanma şiddetinde PTEN ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)

Şekil 13: FIGO grade III tümörde PTEN negatifliği (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)

Şekil 14: PAX2 boyanma yaygınlığının gruplar arasında dağılımı

Şekil 15: PAX2 boyanma şiddetinin gruplar arasında dağılımı

Şekil 16: Proliferatif endometriumda +3 boyanma şiddetinde PAX2 ekspresyonu.

(Streptavidin-biyotin peroksidaz x 400)

Şekil 17: FIGO grade I tümörde +1 pozitif boyanma şiddetinde PAX2

ekspresyonu ve beraberinde izlenen atipisiz basit hiperplazi alanında +3 pozitif

boyanma şiddetinde PAX2 ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)

Şekil 18: FIGO grade I tümörde +0 pozitif boyanma kuvvetinde PAX2

ekspresyonu ve arada kalan normal endometriumda +3 pozitif boyanma

şiddetinde PAX2 ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)

Şekil 19: FIGO grade II tümörde +1 pozitif boyanma şiddetinde PAX2

ekspresyonu ve arada kalan normal endometriumda +3 pozitif boyanma

şiddetinde PAX2 ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)

Şekil 20: FIGO grade III tümörde PAX2 negatifliği (Streptavidin-biyotin

peroksidaz x 100)

Şekil 21: PINCH boyanma yaygınlığının gruplarda dağılımı

Şekil 22: PINCH boyanma şiddetinin gruplarda dağılımı

Şekil 23: Proliferatif endometriumda myoepitelyal hücre ve fibroblastlarda +1

PINCH ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)

Şekil 24: Basit atipisiz hiperplazide, myoepitelyal hücre ve fibroblastlarda +1

PINCH ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)

Şekil 25: Kompleks atipili hiperplazide +2 boyanma şiddetinde PINCH

ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)

Şekil 26: FIGO grade I tümörde myoepitelyal hücre ve fibroblastlarda +3 pozitif boyanma kuvvetinde PINCH ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)

Şekil 27: FIGO grade II tümörde myoepitelyal hücre ve fibroblastlarda +2 PINCH ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)

Şekil 28: FIGO grade III tümörde myoepitelyal hücre ve fibroblastlarda +2 PINCH ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)

KISALTMALAR

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

EEA : Endometrioid tipte endometrial adenokarsinom

EH : Endometrial hiperplazi

PE: Proliferatif endometrium

FİGO : The International Federation of Gynecology and Obstetrics

HE : Hematoksilen Eozin

MSI : Mikrosatellit instabilite

PBS : Fosfat tamponlu salin

PTEN : Fosfataz ve tensin homologu

PINCH: Particularly interesting cys-his rich protein/ Sistein ve histidinden zengin ilginç protein

HER2 (HER-2/neu, c-erb-B2): İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2

BY: Boyanma Yaygınlığı

EIN: Endometrial İntraepitelyal Neoplazi

KS: Korpus Serviks Sınırı

GOG: Gynecologic Oncology Group

1. GİRİŞ

Endometrial karsinomlar kadın genital sisteminde en sık görülen invaziv malign tümördür. Kadınlarda kansere bağlı ölümlerde beşinci sırada yer almaktadır (1).

Klinikopatolojik ve moleküler çalışmalara göre endometrial karsinomlar tip I ve tip II olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Tip I karsinomlar; endometrial hiperplazi zemininde ve östrojen stümulasyonuna bağlı olarak gelişen, prototipi endometrioid ve musinöz karsinomlar olan düşük dereceli karsinomlardır. Tip II karsinomlar ise atrofik endometrium zemininde gelişen, prototipleri seröz ve şeffaf hücreli karsinomlar olan yüksek gradeli tümörlerdir (1, 2). Moleküler modele göre tip I karsinomlar PTEN, PIK3CA, KRAS ve CTNNB1 (β katenin) ve mikrosatellit instabilite yollarındaki mutasyonlar sonucu gelişirken, Tip II karsinomların gelişiminde temel olarak p53 mutasyonu, heterozigosite kaybı ve Her2/neu amplifikasyonu rol oynamaktadır (3).

Endometrioid tip endometrial adenokarsinomlar, endometrial adenokarsinomların %80'ini oluşturan en sık görülen karsinom tipidir (4). Öncül lezyonlardan karsinom sürecine ilerleyiş; onkogen aktivasyonu ve tümör supresör gen inaktivasyonu gibi çok basamaklı bir yol izlemektedir. Bu yolda en sık mutasyona uğrayan gen grubu, %30-54 oranında PTEN tümör supresör genidir. PTEN mutasyonunda Fosfoinositid 3-kinaz (P13K)-AKT yolağının inhibe olması kontrolsüz hücre proliferasyonu ile sonuçlanmaktadır (5).

PAX gen ailesinin bir üyesi olan PAX2 ise transkripsiyon faktörü olarak çalışır. PAX2 santral sinir sistemi, göz, böbrek, mezonefrik (Wolffian) kanal ve bununla ilişkili Müllerian kanalın gelişiminden sorumludur (6).

PINCH (“Particularly interesting cys-his rich protein”) proteini 2q12.2 kromozomunda lokalizedir. PINCH, hücre adezyonunda rol alan integrin-linked kinase (ILK) ile LIM domaini aracılığı ile bağlanıp adaptör görevi görür. PINCH ekspresyonu, tümörle ilişkili stromada, fibroblastlarda, myoblastlarda ve endotel hücrelerinde görülmektedir (7, 8)

Bu çalışmada amaç; endometrioid tip endometrial adenokarsinom, endometrial hiperplazi ve normal endometriumlarda PTEN, PAX2 ve PINCH ekspresyonunu araştırmak ve evre, histolojik grade, myometrial invazyon gibi bilinen klinik ve histopatolojik prognostik faktörlerle ilişkisini tespit etmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Uterus Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi

Embriyoloji

Kadın genital sistemi lateral Müllerian (paramezonefrik) duktus ve urogenital sinüs (Müller kanalları) olmak üzere iki embriyolojik oluşumdan meydana gelir.

8. ve 9. haftalarda bu iki oluşumun füzyonu sonucunda uterovajinal primordium oluşur (1). Birleşmemiş kısımlardan fallop tüpleri, birleşmiş kısımlardan uterus ve vajinanın üst bölümü, ürogenital sinüsten ise vajinanın alt bölümü ve vestibül gelişir (9). 21. haftada uterus ve vajina oluşur (10).

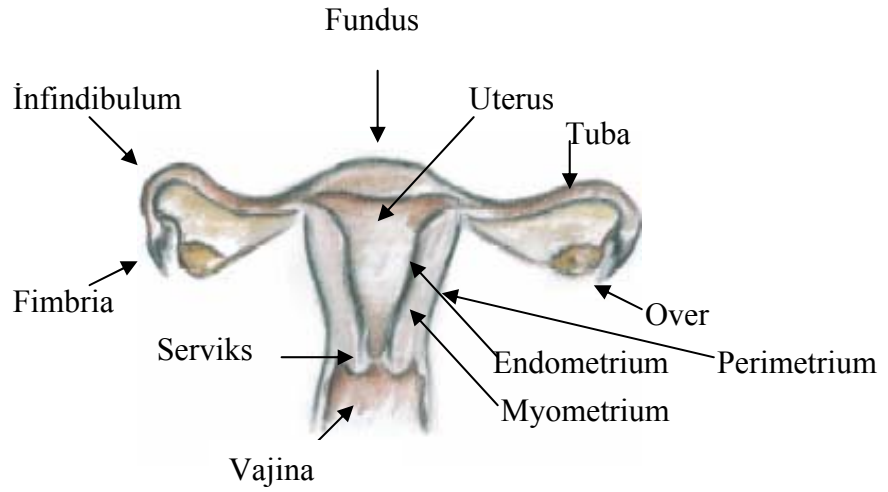
Doğumda uterus, uterin korpus ve serviksten oluşmakta olup, serviks /fundus oranı 3-5/1'dir. Yani uterus büyük oranda serviksten oluşmakta olup, dört cm uzunluğundadır (1, 10). Endometrium 0,5 cm'den daha incedir ve postmenopozal kadınlardaki gibi inaktiftir (1).

Uterus anatomisi

Uterus pelvik boşlukta yer alan, ön kısmında mesane arka kısmında rektum bulunan fibromuskuler bir organdır. Anatomik olarak fundus, korpus, istmus ve serviks olmak üzere dört bölüme ayrılır (Şekil 1).

Yaşa, menstrüel sıklusa ve doğurganlığa bağlı değişmekle birlikte nulliplarlarda 40-80 gr ağırlığında, yedi-sekiz cm uzunluğunda ve 2,5 cm kalınlığındadır.

Uterusa, iki lateral (broad), bir anterior, bir posterior, iki uterosakral ve iki round ligament olmak üzere tutunan sekiz ligament mevcuttur. Broad ligament (ligamentum latum uteri) uterin damarları ve efferent lenfatik trunkusları barındırır. Uterus hipogastrik (internal iliak) arterden gelen sağ ve sol uterin arterden beslenir. Uterin ven arterleri takip ederek internal vene dökülür. Uterusun lenfatik drenajı obturator, eksternal iliak, koman iliak ve periaortik lenf nodlarına olmaktadır (10)



Şekil 1: Uterus anatomisi

Uterus Histolojisi

Uterus endometrium, myometrium ve perimetrium (seroza) olmak üzere üç farklı tabakadan oluşmaktadır. Uterus iç yüzü, stroma ve glandlardan oluşan endometrial mukoza ile kaplıdır. Alt 1/3'ü bazal tabaka, üst 2/3'ü fonksiyonel tabaka olarak adlandırılır.

Myometrium kalın musküler tabakadır. Üç dōşeyici kattan oluşur. İç ve dış katmanlar uzun eksenine paralel kas tabakasından oluşmaktadır. En kalın katman olan orta katman ise vasküler ve lenfatik yapılardan zengindir. Myometrium; uterusu tutan bağlar, vajen ve tubayla devamlıdır (11).

2.2 Normal Endometrium Morfolojisi ve Fizyolojisi

Normal endometrium; premenarşial, perimenarşial, reproduktif dönem, perimenopozal dönem ve postmenopozal dönemde, hipotalamo-pituiter-ovarian aksın etkisinde değişikler gösterir.

Reproduktif dönemde, progesteron ve östrojenin siklik salınımı nedeniyle menstruel döngü oluşur. Menstruel siklus 28 gündür. Ondördüncü günde ovulasyon meydana gelir. Ovulasyondan sonra progesteronun etkisiyle sekretuar dönem (luteal faz), östrojenin etkisiyle de proliferatif (folliküler veya preovulatuvar) dönemle devam eder (1, 12).

Proliferatif fazın uzunluğu değişken olmakla birlikte histolojik olarak günden güne değişiklik göstermez. Ancak sekretuar faz günlere göre farklı

morfolojilerle izlenir. Noyes ve arkadaşları sekretuar faz boyunca endometriumda meydana gelen morfolojik değişiklikleri değerlendirerek “endometrial günlemeyi”yi tanımlamışlardır (13).

Proliferatif Faz

Proliferatif fazda ovulasyona kadar glandüler, stromal ve vasküler yapılarda büyüme görülür. Endometrium kalınlığı 4-5 mm’e ulaşır. Erken, orta ve geç olmak üzere üçe ayrılır. Endometrial glandlar uniform, transvers kesitte tubüler, orta ve geç proliferatif fazda geniş, dilate ve kıvrımlı bezlere dönüşür.

Glandlarda ve stromada mitotik figürler kolayca seçilebilir. Glandüler epitel psödostratifiye- yüksek kolumnar hücrelerle döşelidir. Hücreler bazofilik sitoplazmalı, veziküle, oval ve yuvarlak nükleuslu, küçük nükleollüdür. Nükleer değişiklikler endometrial hücrelerin nükleuslarında olan östrojen reseptörleriyle ilişkili olarak ultrastrüktürel değişikliklere bağlı meydana gelir. Endometrial stroma ise sellüler görünümde olup, küçük, oval, hiperkromatik nükleuslu, ve sınırları belirsiz hücrelerden oluşmaktadır. Küçük spiral arter ve kalın duvarlı venüller bulunur. Geç proliferatif fazda subnükleer vakuoller gözlenir. Yüzey epitelinde silyalı hücreler görülebilir. Bu normal proliferatif fazda görülen değişikliktir. Silya ve ya tubal metaplazi olarak adlandırılmaz. Proliferatif fazın en belirleyici özelliği mitotik aktif gland ve stroma ile nükleuslarda psödostratifikasyondur (1, 12).

Sekretuar Faz

Sekretuar fazdaki morfolojik değişiklikler ovulasyondan 36 ve 48 saat sonra başlar. Siklusun 15 ve 16. gününe gelen bu dönemde geç proliferatif fazda görülen subnükleer vakuolizasyon ve kıvrıntılı glandlar görülür. Glandların en az %50'sinde vakuolizasyon olması ovulasyonun göstergelerinden biridir. On yedinci ve 18. günde subnükleer vakuolizasyon maksimum düzeyde olup, nükleuslar glandların bazalinde yerleşir ve bazal membrana perpendiküler dizilim gösterirler. Ondokuzuncu ve 20. günde stromal değişiklikler, glandüler değişikliklerden daha ön plana geçmeye başlar. Glandlardaki apokrin tipte sekresyon glandüler lümene geçmeye başlar. Sekretuar eksudasyon 24 ve 25. günde daha belirgindir. Yirmi üç ile 28 günlerde predesidualizasyon görülür. Predesidual hücreler eozinofilik ve amfofilik sitoplazmalı, poligonal ve oval şekillidir. Yirmiüçüncü günden itibaren spiral arterioller belirginleşir. Yirmi altıncı ve 27. günde predesidual stromal hücrelerde mitoz mevcuttur. Granüler lenfosit görülebilir. Granüler lenfositler, geç sekretuar fazda görülen, immunhistokimyasal çalışmalarda da T lenfositlerdir (1, 12).

2.3 Endometrial Hiperplazi

Endometrial hiperplaziler klinik olarak anormal uterin kanamaya neden olan ve obesite, anovülasyon, östrojenik uyarı ve ekzojen hormon kullanımı ile ilişkili lezyonlardır. Ultrasonografik olarak , endometrium kalınlığında artış ile karakterlidir (12, 14).

Yaygın kullanılan hiperplazi sınıflaması, 1985'te Kurman ve Norris tarafından yapılan araştırmaya dayandırılan ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Uluslararası Jinekopatologlar Birliği (International Society of Gynecological Pathologists, ISGP) tarafından kabul gören sınıflamadır (12, 15). Diğer sınıflamalar endometrial intraepitelyal neoplazi (EIN) ve Avrupalılar tarafından kullanılan endometrial neoplazi sınıflamasıdır. Bu sınıflamaların karşılaştırılmaları tablo 1'de gösterilmiştir (14, 16).

DSÖ sınıflamasına göre hiperplaziler yapısal değişikliklerine göre basit ve kompleks hiperplazi olarak ayrıldıkları gibi, eşlik eden sitolojik ve nükleer atipiyeye göre atipisiz ve atipili olmak üzere sınıflandırılmaktadır. Böylece her iki tip hiperplazi kabaca atipili ve atipisiz, ayrıca glandüler kalabalıklaşma ve kompleksiteye dayanılarak basit ve kompleks hiperplazi olarak sınıflandırılırlar (14).

Basit endometrial hiperplaziler tek bir histolojik görünümünden ziyade, karşılanmamış östrojen maruziyetinin miktarını ve süresini yansıtır nitelikte farklı kombinasyon ve şiddette değişiklikler şeklinde karşımıza çıkar. Persistan östrojen stimülasyonunun patognomonik özelliği, endometriumun yüzeysel fonksiyonel

tabakası boyunca gelişigüzel dağılım gösteren her bir glanddaki yapısal değişikliklerdir. Uzamış proliferatif etki, öncelikle irregüler proliferatif endometrium ve zaman içerisinde basit hiperplazi olarak karşımıza çıkar (17, 18).

DSÖ	EIN	ENDOMETRİAL NEOPLAZİ
Basit hiperplazi, atipisiz	Hiperplazi	Hiperplazi
Kompleks hiperplazi, atipisiz	EIN	
Basit atipili hiperplazi		Endometrial Neoplazi
Kompleks atipili hiperplazi		
Karsinom	Karsinom	

Tablo 1: Endometrial Hiperplazi sınıflamaları

Basit atipisiz hiperplazi mikroskopik olarak proliferatif endometriuma benzer ancak gland/stroma oranı 3/1 kadar olup kistik dilate glandlar gözlenir.

Hiperplaziyi irregüler proliferatif endometriumdan ayıran en önemli özellik gland/ stroma oranındaki artıştır. Yapısal olarak glandlar arasında şekil ve

boyut farkı vardır. Tübüler, kistik ve dallanma gösteren glandlar tüm endometrium boyunca dağılmışlardır. Mikroskopik olarak küçük büyütmede endometrium uniform olarak etkilenmiş görünürken, orta büyütmede mikroskopik sahalar arasında değişen glandüler morfolojiler ile karakterli farklılık dikkati çeker. Basit atipisiz hiperplazinin önemli özelliği, daha kalabalık ve daha az kalabalık alanlarda sitolojinin değişmemesidir. Hücreler kolumnar, amfofilik sitoplazmalı, bazal membran oryantasyonu korunmuş, psödostratifikasyon gösteren nükleuslu olarak izlenir. Nükleuslar oval, düzgün kontürlü, veziküle kromatin paternine sahiptir ve küçük veya seçilemeyen nükleoller içerir. Silya değişikliği gözlenebilir. Stroma proliferatif endometriyumdan daha kompakttır. Hücreler işsi görünümde, fakat şişkin, genişlemiş nükleusludur. Sitoplazma belirsizdir, mitoz değişkendir (12, 14).

Kompleks hiperplazi anormal, irregüler, sırt sırta vermiş, papiller intraluminal tomurcuklanmalar gösteren glandlarla karakterizedir. Dar bir stroma içerir (19, 20).

Atipili kompleks hiperplazide glandların şekil ve boyutları birbirinden çok farklıdır. Glandların çevresinde ince bazal membran görülür. Stromaya ve lümene doğru uzanımlar, papiller yapılar ve köprüleşmeler izlenir. Glandlar düzensiz sınırlara sahiptir, belirgin yapısal kompleksite ile sırt sırta verme eğilimi gösterirler. Lümenlerinde ne köpük hücresi ne de akut inflamatuvar eksuda bulunur (12). Atipili hiperplaziyi değerlendirmede en önemli özellik nükleer atipinin değerlendirilmesidir. Epitelde hücrel sıralanma artmıştır, polarite kaybı vardır. Apoptotik cisimcikler izlenebilir. Nükleus/ sitoplazmik oran artmıştır, nükleus

büyük, yuvarlak, veziküle, bazen şeffaf, kromatin kaba granülerdir. Kromatin nükleer membrana yakın kondensasyon gösterir. Belirgin nükleol ile kalınlaşmış irregüler nükleer membran izlenir. Sitoplazma volümü artmıştır ve eozinofilik olarak gözlenir. Atipi bulguları glandların hepsinde olmayabileceği gibi bir glandın tamamında da olmayabilir. Mitozun az veya çok olması atipiyi belirlemez, ancak atipik mitotik figür olması önemlidir (21, 22).

Atipili kompleks hiperplazi ile iyi diferansiye adenokarsinom ayırımını yapmak, özellikle küretaj materyallerinde, güç olabilmektedir. Eğer materyal küçük, tümör çapı az, fiksasyon kalitesi düşük ve doku takibi kötü ise ayırıcı tanı daha da güçleşir (20).

Hiperplazilerin hepsinde adenokarsinomlarda daha çok gözlenen, fibröz kor içeren intraglandüler papillalar, metaplastik değişiklikler ve stromada köpüksü histiyositler görülebilir. (15). Burada ayırma öncelikle yardımcı olan stromal reaksiyon ve stromal invazyondur. Stromal invazyonu değerlendirmek için kriter vardır; 1) Dezmozplastik yanıt, 2) Yer yer kribriform yapı oluşturacak şekilde birleşik glandüler pattern oluşması, 3) Yaygın papiller pattern (1). Bu kriterler karsinomu hiperplaziden ayırmada yardımcı olmakla birlikte her zaman kesin bir ayırımı sağlayamamaktadır. Morfolojik kriterler yanında elektron mikroskopi, morfometrik teknikler, flow sitometri, immunhistokimya ve moleküler biyolojik teknikler iyi differansiye adenokarsinomu atipik hiperplaziden ayırmak için kullanılmış, ancak hiçbirinin morfolojiye üstünlüğü saptanmamıştır (23, 1).

2.4 Endometrial Karsinomlar

2.4.1 İnsidans, risk faktörleri ve etyopatogenez

Endometrial karsinom, gelişmiş ülkelerde kadın genital sisteminde en sık görülen tümördür. Olguların %80-85'ini östrojen bağımlı tümörler olup geri kalan % 10-15'ini östrojen bağımlı olmayan tümörler oluşturur (24).

En sık 55-60 yaşları arasında görülür.

Obezite, diabetes mellitus, hipertansiyon, erken menarş, geç menopoz, ekzojen östrojen kullanımı, infertilite ve parite sayısı, anovulatuvar sikluslar, polikistik over sendromu, sigara, beslenme biçimi, ailesel hikaye, endojen östrojen salgılayan tümörler, karaciğer yetmezliği gibi östrojenin yıkılamadığı durumlar endometriyum adenokarsinomu için risk faktörleridir (1, 4). Klinik olarak postmenopozal kanama ya da düzensiz vajinal kanamaya neden olur (15).

Endometrial karsinomlar klinikopatolojik ve moleküler genetik bulgularla Tip I ve Tip II olmak üzere iki ana kategoride incelenmektedir. Tip I karsinomlar klasik olarak premenopozal dönemde, karşılanmamış östrojen etkisi ve endometrial hiperplazi ile ilişkili olarak görülürler. Endometrioid tip Tip I karsinomların prototipidir. Tip II karsinomlar ise postmenopozal kadınlarda görülür. Prekürsör lezyonlarının endometrial intraepitelyal karsinom olduğu kabul edilmektedir. Şeffaf hücreli ve seröz karsinomlar ise bu grubun prototipidir (1, 4). Tip 1 endometrial adenokarsinomlar MSI ve PTEN, PIK3CA, K-Ras, CTNNB1 (β -katenin) mutasyonları, tip 2 endometrial karsinomlar ise p53 mutasyonları ve kromozomal instabilite, heterozigosite kaybı, Her2/neu amplifikasyonu gösterirler (25) (Tablo 2).

	Tip I (%)	Tip II(%)
PTEN inaktivasyonu	83	11
PIK3CA mutasyonu	36-26	5
KRAS mutasyonu	10-30	0-10
β Katenin mutasyonu	14-44	0-5
MSI	20-45	0-11
P53 mutasyonu	10-20	90
HER2/neu amplifikasyonu	10-30	18-80
P16 inaktivasyonu	10	40-45
E-kaderin kaybı	10-20	60-90

Tablo 2 : Endometriyal karsinomlarda görülen genetik deęisiklikler

2.4.2 Endometrial Karsinomların Morfolojik Özellikleri

Makroskopik olarak; sesil, polipoid, lokalize kitle, nodül veya diffüz irregüler kalınlaşmış plak şeklinde olabilir. Hemoraji ve nekroz izlenebilir (4) (Şekil 2).



Şekil 2: Uterin kaviteyi dolduran ve difüz irregüler kalınlaşmaya neden olan endometrial adenokarsinom

2.4.3 Endometrial Kanserlerin Morfolojik Tipleri

Endometrial karsinomlar DSÖ 2003 sınıflamasına göre şu şekilde sınıflandırılmaktadır (24):

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

Endometrioid Adenokarsinom: Endometrioid adenokarsinomlar, endometrial adenokarsinomların %80'ini oluşturmaktadır (2).

Mikroskopik olarak tümör derecesine göre morfolojisi değişkenlik göstermektedir. Stratifiye veya psödostratifiye kolumnar hücrelerden oluşan, sırt

sırtta vermiş glandüler yapılardan meydana gelir. Glandlar; küçük, büyük, kistik, oval, angüler,anastomoz gösteren kribriform yapılardan oluşabilir. Bunlar sırt sırta vermiştir ve aralarında stroma yoktur.

Skvamöz diferansiasyon gösteren varyant: Skvamöz diferansiasyon %20-50 oranında izlenmektedir. Skvamöz diferansiasyonun tanı kriterleri keratinizasyon, intersellüler köprüler, gland formasyonu olmaksızın tabaka halinde büyüme, belirgin hücre sınırları, eozinofilik sitoplazma, nükleus sitoplazma oranının artması şeklindedir (24, 26).

Villoglandüler varyant: Düşük dereceli endometrioid karsinomdur. Histolojik olarak uzun, kalın fibrovasküler kor içeren villöz papillalardan oluşur. Diğer papiller endometrial lezyonlardan ayrımı önemlidir (27).

Sekretuar varyant: Endometrial kanserlerin %1-2'sini oluşturmakta ve subnükleer ve supranükleer sitoplazmik vakuoller içeren sekretuar endometrium benzeri morfoloji gösterir (28).

Silyalı hücreli varyant: Düşük dereceli endometrial karsinomdur. Malign glandların çoğunluğu tubül benzeri şekilde, eozinofilik sitoplazmalı ve silyalıdır (29, 30).

Müsinöz adenokarsinom: Endometrial adenokarsinomlar içinde %1-9 oranında görülmektedir. PAS pozitif, diastaza-rezistans, intrasitoplazmik müsin içeren kolumnar hücreler yapısal olarak glandüler veya villoglandüler konfigürasyondadır (31).

Seröz adenokarsinom: Postmenopozal kadınlarda gelişen, Tip II endometrial karsinomdur. Agresif bir tümördür ve kötü prognozludur. Overin

seröz karsinomuna benzer şekilde fibrovasküler koku döşeyen, belirgin nükleer atipiye sahip hücrelerden oluşur (32, 33).

Şeffaf hücreli adenokarsinom: Postmenopozal kadınlarda, % 5-10 oranında görülen Tip II endometrial karsinomdur. Histolojik olarak şeffaf, glikojenden zengin, kabara çivisi şeklinde hücrelerden oluşan papiller yapılardan meydana gelir. Hücreler pleomorfik nükleuslu, bizar ve multinükleer morfolojidedir (34).

Mikst tip adenokarsinom: Tip I endometrial (endometrioid, varyantları ya da müsinöz karsinom) ve Tip II karsinomun (seröz ya da şeffaf hücreli) karışımından oluşur. Minör komponentin tümörün en az %10'unu oluşturması gerekir (1, 24).

Skuamöz hücreli karsinom: Nadir bir tümördür. Postmenopozal kadınlarda gözlenir ve hastalar servikal stenoz ve kanama ile başvururlar. Serviksin primer skuamöz hücreli karsinomu ile ayrımı önemlidir (24).

Transizyonel hücreli karsinom: Polipoid ve papiller büyüme paternine sahip, tümörün %90'nını oluşturan hücrelerin üretelyal transizyonel karsinom hücrelerine benzediği tümördür (24, 35, 36).

Küçük hücreli karsinom: Yüzde birin altında görülen, kötü prognozlu bir tümördür. Tümör hücreleri nöroendokrin belirleyiciler ve sitokeratin ile pozitif boyanırlar (24, 37).

İndiferansiye karsinom: Diferansiyasyonunu kaybetmiş ve % 1-2 oranında görülen nadir bir tümördür. Büyük hücreli ve küçük/intermediyer hücreli karsinom olmak üzere iki başlıkta sınıflandırılır (24).

Diğer nadir endometrial kanser tipleri: Camsı hücreli karsinom, yolk sac tümör, dev hücreli karsinom, koryokarsinom, adenoid kistik karsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom, hepatoid adenokarsinom, Ewing sarkom, periferal primitif nöroektodermal tümör primer olarak endometriumdaki geliştiği tanımlanan nadir görülen tümörlerdir (24, 38).

2.4.4 Endometrial Karsinomlarda Gradeleme

Gradeleme yapısal ve nükleer özelliklere göre yapılır. Yapısal gradeleme tümörün içerdiği solid alanların oranına göre belirlenir. Nükleer gradeleme ise nükleer boyut ve şekil, kromatin dağılımı, nükleolusun boyutuna göre yapılır. Skuamöz diferansiasyon alanları solid tümör alanları olarak değerlendirilmemelidir. Yapısal gradelemeye göre grade I ve grade II olan tümörlerde belirgin nükleer atipi varlığında yapısal grade bir basamak artar. Seröz adenokarsinom ve şeffaf hücreli adenokarsinomlar yüksek gradeli tümörler olup (grade 3) grade verilmez. Tümörün içinde belirgin yapısal grade farklılığı görülebilir. Tümör heterojen bir yapı gösterir ise baskın olan morfolojiye göre gradeleme yapılmalıdır (1).

Yapısal Gradeleme

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

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

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

Nükleer Gradeleme

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

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

Grade 3 endometrioid adenokarsinom: İri-pleomorfik nükleus, kaba kromatin ve iri düzensiz nükleolus izlenir.

2.4.5 Endometrial Karsinomlarda Evrelendirme

Evre tanı anında tümörün yayılımını gösteren en önemli prognostik belirteçtir. Evrelemede 2009 yılında gözden geçirilmiş olan 1988 ‘‘International Federation of Gynecology and Obstetrics’’ (FIGO) evreleme sistemi kullanılmaktadır (Tablo 3).

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

Tablo 3: Endometrium korpus tümörlerinde cerrahi evreleme, FIGO, 2009

2.4.6 Endometrial Karsinomlarda Prognostik Faktörler

“Gynecologic Oncology Group” (GOG) Endometrial kanserde risk faktörlerini Uterin ve Ekstrauterin faktörler şeklinde gruplamışlardır.

Uterin faktörler arasında histolojik tip, grade, myometrial invazyon derinliği, vasküler invazyon, atipik endometrial hiperplazi varlığı, servikal tutulum, hormon reseptör durumu, DNA ploidi ve S-faz fraksiyonu gibi faktörler yer alırken;

Ekstrauterin faktörler arasında adneksiyal tutulum, intraperitoneal yayılım, pozitif peritoneal sitoloji ve pelvik ve paraaortik lenf nodu metastazı sayılmaktadır (39, 40).

GOG’un belirlediği antiteler dışında, endometrium karsinomlarında risk faktörleri arasında proliferasyon markerleri, bcl-2 ve apopitoz belirteçleri, p53 aşırı ekspresyonu ve β katenin ekspresyonunda bulunmakta ve literatürde bu konuda birçok çalışma yer almaktadır (40).

Histolojik Grade: Yüksek gradeli tümörlerde derin myometrial invazyon oranlarının ve nüks oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (41). Evre I hastalarda grade en önemli prognostik faktördür. Grade III tümörü bulunan hastalar üç ile beş kat relaps ve kanser ölüm riskiyle karşı karşıyadır (42). Zaino ve arkadaşlarının 600 endometrioid tip endometrial adenokarsinom tanısı almış vakada, yaptığı çalışmada 5 yıllık sağkalım grade I tümörlerde %94, grade II tümörlerde %84, grade III tümörlerde %72 olarak bulunmuştur (40, 43).

Evre: Endometrium kanserlerinde en önemli prognostik belirleyici hastalığın yayılımı hakkında bilgi veren cerrahi evrelendirme olan FİGO evrelendirme sistemidir (40). Myometrial invazyon, adneksiyel tutulum,

intraperitoneal metastaz, peritoneal sitoloji, pelvik ve paraaortik lenf nodu metastazı tümörün evrelendirilmesinde önemlidir (40).

Histolojik tip: Endometrial karsinomun patogenezi 1983'te Bokhman'ın klinik modeli ile açıklanmıştır. Endometrial kanser Tip I endometrioid ve Tip II non-endometrioid (seröz ve şeffaf) hücreli olmak üzere sınıflandırılmıştır. Bu dualistik modele karşın, rutin pratikte mikst karsinomlar görülebilmektedir. Ancak seröz, şeffaf, skuamöz ve undifferansiye karsinomların 5 yıllık sağkalım oranları %30-70 civarında olup, kötü prognozlu tümörlerdir (40, 43).

Myometrial invazyon: Derin myometrial invazyon tümörün agresif davranışı ile ilişkilidir. Myometrial invazyon derinliği $\frac{1}{2}$ 'nin üzerine çıktığında tümör hücrelerinin lenfatik sisteme drene olarak ekstrauterin yayılım yapması artmaktadır. Bu nedenle intraoperatif konsültasyonlarda myometrial invazyon derinliği, pelvik ve paraaortik lenf nodu diseksiyonu kararında belirleyicidir (40, 44).

Vasküler invazyon: Vasküler invazyon kötü histolojik grade, myometrial invazyon ile korele olarak artmaktadır. Erken evrelerde, stromal retraksiyonla meydana gelen yapısal artefaktlar vasküler invazyonu taklit edebilir (40).

Periton sitolojisi: Periton sitolojisi pozitifliği; derin myometrial invazyon, ekstrauterin yayılım ve yüksek gradeli tümör ile ilişkilidir. Ancak kötü prognoz kriterlerinin yokluğunda sağkalım ve rekürrens üzerine olumsuz etkisi olmadığı bildirilmektedir (40, 45). Uterus içine sınırlı evre I ya da II tümörlerde tek başına periton sıvısı pozitifliğinin tedaviyi yönlendirmede etkinliği tartışmalıdır. Bu

nedenle revize edilen FIGO evrelemede periton sıvısı pozitifliği Evre 3 kategorisinden çıkarılmış ve ayrıca belirtilmesi önerilmiştir (46).

Servikal tutulum: Servikal tutulum, yüksek rekürrens riski ile beraberlik gösterir. Ekstrauterin metastaz yokluğunda sadece serviks tutulumunda rekürrens riski Morrow ve arkadaşları tarafından %16 bulunmuştur. Genel olarak servikal tutulumun olması, yüksek grade, derin myometrial invazyon ve yüksek tümör volümü ile ilişkili olup rekürrens için önemli bir belirleyici faktördür (47).

Ploidi: Cerrahi sonrası değerlendirilebilen tümör ploidi endometrial kanser olgularında güçlü bir prognostik faktördür. Stendahl ve arkadaşlarının 1991’de yaptığı çalışmada endometrioid karsinomların % 67’si diploid, non-endometrioid kanserlerin %55’i nondiploid DNA paterninde olduğu gösterilmiştir. Akım sitometrik analizle belirlenen S Fazı fraksiyonu değeri > % 20 olan hastalarda ölüm riski yüksek bulunmaktadır (40, 48, 49).

Steroid reseptörleri: Birçok endometrioid karsinom östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) pozitifdir. Reseptör homojenitesi neoplastik hücreler arasındaki metabolik durumlara göre değişkenlik gösterir. Bu nedenle endometrial kanser hastalarında belirli bir yüzdesinde hormonal tedaviye yanıt alınabilmektedir (40, 50, 51).

Proliferasyon markerleri: Ki 67, PCNA (“Proliferating Cell Nuclear Antigen”) ve AgNOR (“Nucleolar Organizer Region”) proliferatif belirleyici olarak kullanılırlar. Rutin pratikte çok kullanılan Ki 67 proliferasyon indeksi yüksek olan tümörler anöploid özellikte olup kötü prognozludur (40, 49).

Bcl-2 ve Apoptoz Belirteçleri: Bcl-2 protoonkogeni apoptozu inhibe etmektedir. Bcl-2 ekspresyonu; normal dokuda yüksek iken, tümörlü dokularda boyanma oranı azalır. Proliferatif endometrium, endometrial hiperplazi gibi nonneoplastik durumlarda yüksek Bcl-2 ekspresyonu olurken, yüksek evreli agresiv tümör tipinde ve derin myometrial invazyon olan tümörlerde ekspresyonu azalır (40).

HER-2 / neu (c-erbB-2, neu, HER-2): Epidermal büyüme faktör reseptörüne benzeyen bir transmembran glikoproteini kodlayan protoonkogendir. Ekspresyonunun artması kötü prognostik faktördür. HER-2 / neu amplifikasyonunun endometrium kanserinin histolojik grade'i ile korele olduğu belirtilmektedir (52, 40).

Anjiogenezis: Bir çok tümör tipinde olduğu gibi endometrium karsinomlarında da tümörün büyümesi ve yayılımında anjiogenez önemli bir parametredir. Yeni damar oluşumunda Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (“Vascular Endothelial Growth Factor”) ve tümörle assosiyel makrofajların (TAMs) düzenleyici faktörler olduğu gösterilmiştir (40, 53).

p53 aşırı ekspresyonu: Kromozom 17p13.1’de lokalize p53 geni tümörlerin bir çoğunda mutasyon sergiler. Nükleusa lokalize DNA bağlayıcı bir protoonkogendir. Çok sayıda genin transkripsiyonunu kontrol etmek suretiyle fonksiyon görür. p53 ekspresyonunda artış yüksek FIGO evresi, agresif tümör tipi, artmış histolojik grade ve derin myometrial invazyonla ilişkili bulunmuştur (40).

Mikrosatellit instabilite (MSI): Mikrosatellitler genom boyunca dağılmış, ardışık tekrarlayan nükleotidlerdir. MSI alellerde kayıplar, anöploidi ile karakterize olan kromozomal kararsızlıklardır. Catusus ve arkadaşlarının, 1998’de yaptığı çalışmada MSI endometrium karsinomlarında %30 oranında saptanmış ve iyi prognozla ilişkili bulunmuştur (54, 40, 55).

Beta-Catenin: WNT sinyal yolağında yer alır. CTNNB1 tarafından kodlanır. Mutasyonunda sitoplazma ve nükleusta birikir. Biriken β katenin transkripsiyonu artırarak DNA bağımlı proteinlerle kompleks oluşturarak aktive olur. Fukuchi ve arkadaşlarının 1998’de yaptığı çalışmada β katenin geninde mutasyon, düşük gradeli endometrial karsinomların %15-40’ında saptanmıştır. Nükleer β katenin ekspresyonu tümörün skuamöz differansiyasyon alanlarında ve endometrial hiperplazi gibi nonneoplastik durumlarda görülmekte olup, mutasyonun erken bir basamakta olduğunu düşündürmektedir (40).

2.5 PTEN

PTEN/ MMAC-1/TEP1 (Phosphatase and tensin homologue) kromozom 10q23.3’te lokalize, 403 aminoasitlik, yaklaşık 47kDa ağırlığında bir polipeptittir. Hücre siklusunun durması, hücre motilitesinin inhibisyonu ve apoptozise yol açan, lipid fosfataz ve protein tirozin fosfataz aktiviteli bir tümör supresör genidir. Fosfoinositid 3-kinaz (P13K)-AKT yolağını inhibe ederek negatif düzenleyici olarak rol alır (5, 56-59).

PTEN'in temel fonksiyonu fosfoinositidlerin 3. pozisyonundan fosfataz aktivitesi ile fosfatı uzaklaştırmak koşulu ile (yani defosforile ederek) fosfoinositid 2'ye çevirir. PTEN geninde iki alelde mutasyonla işlev kaybı meydana gelir ve PIP3 artışı olur. PIP3 (Phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate) üretimi sonucunda hücre proliferasyonuna katılan diğer proteinlerin fosforilasyonunda rol alan protein kinaz Akt aktive olur ve aktivasyon kontrolsüz hücre proliferasyonu ile sonuçlanır (60-63).

PTEN ilk olarak 1996'da tanımlanan otozomal dominant geçişli Cowden sendromunda moleküler haritanın (10q22-q23 kromozomu) açıklığa kavuşturulması ile ortaya çıkmıştır. Cowden sendromlu hastalarda PTEN germ line mutasyonu %80 oranında görülür. PTEN genindeki heterozigotenin kaybı, somatik mutasyonlar glioblastom, melanom ve prostat kanseri gibi çeşitli tümörlerde tanımlanmıştır (64, 65).

Mutter ve arkadaşları proliferatif fazda endometriumda PTEN ekspresyonunu epitelyal ve stromal hücrelerde yüksek oranlarda bulmuşlardır. Ovulasyondan 3-5 gün sonra sekretuar fazda, glandüler epitelde PTEN ekspresyonun azaldığını göstermişler. Bu da mitotik fazda, yüksek östrojen düzeylerinde PTEN ekspresyonunu olduğunu kanıtlar. Ancak Mutter'in çalışmasında premenopozal kadınlarda, persistant proliferatif fazda %56 oranında, normal endometriumda PTEN pozitifliği görülmemiştir. Bu kişilerde östrojen ve progesteron reseptörleri de normal düzeylerde bulunmuştur (66).

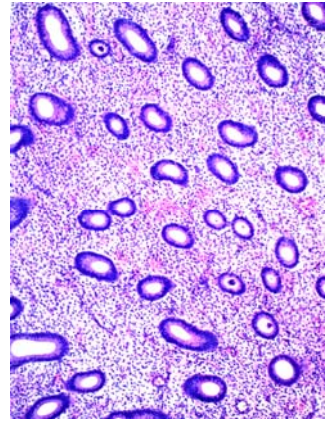
Konopka ve arkadaşlarının endometriyal kanser ve hiperplazideki PTEN gen mutasyonun görülme sıklığını araştırdıkları çalışmada, kanserli hastaların

%45.8'inde PTEN gen mutasyonu saptamışlardır. Hiperplazili hastalarda %33 oranında mutasyon saptanmıştır. Endometriyum kanserinde PTEN gen mutasyonunun etkisi olmakla birlikte evre ile bağlantılı bulunmamıştır. PTEN gen mutasyon sıklığı ile hastalığın morfolojik farklılığı bağlantılı bulunmuştur (67).

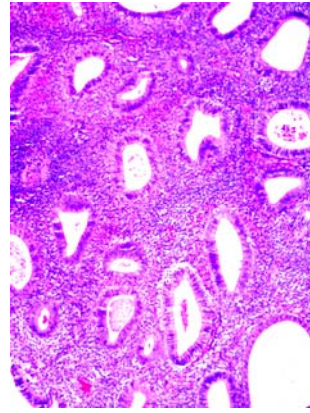
Orbo ve arkadaşları 68 endometrial hiperplazili hastada 10-20 yıl içerisinde endometrium kanser gelişimini araştırmışlardır. Hastaların %13.2'sinde PTEN gen mutasyonu saptamışlardır. Endometrium kanseri gelişen olgularda mutasyon oranı %28, endometrium kanseri gelişmeyen olgularda ise mutasyon oranını %8 olarak bildirmişlerdir (68).

Endometrial adenokarsinomun endometrioid subtipinde en çok görülen genetik mutasyon PTEN genindedir. Endometrial adenokarsinomlarda PTEN geninde somatik mutasyon veya delesyon %40-76 oranında görülmektedir.

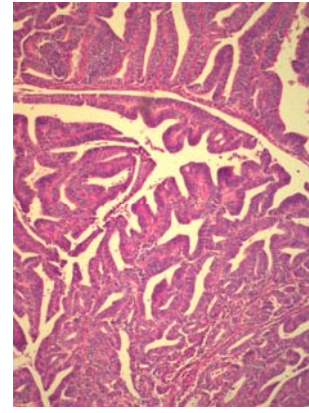
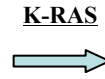
Endometrial tümör oluşumunda PTEN mutasyonu yüksek östrojen düzeylerinin olduğu erken dönemlerde meydana gelmektedir (Şekil 3) Bazı çalışmalarda prekanserlerde %18-55 oranında mutasyon saptanmıştır. Ancak erken evrede PTEN mutasyonu meydana geldiğinden, prognostik belirleyici olup olmadığı konusunda tartışmalar mevcuttur (56, 66, 69-76).



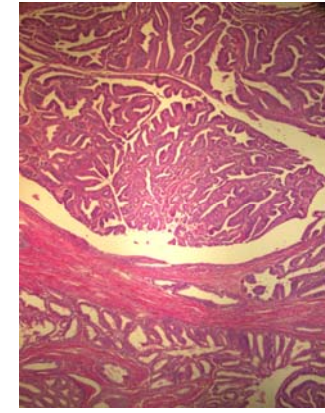
**Normal
endometrium**



**Endometrial
hiperplazi**



**Endometrioid
endometrial
adenokarsinom**



**İnvaziv
adenokarsinom**

Şekil 3: Karsinogenezin erken döneminde meydana gelen PTEN mutasyonu

2.6 PAX2

PAX genleri 384 baz çifti dizgesine sahip olup 9 üyeden (PAX 1- PAX-9) meydana gelir. PAX genleri aminoterminal ucunda 128 aminoasitlik alan bulunduran, 'paired box' DNA sekansı motifi ile isimlendirilmiştir. İki DNA bağlanma bölgesi, bir paired domaini ve bir homeodomain içeren bölgeler bulundurur. Dokuz aile homeodomain ve oktapeptid domainlerine göre 4 farklı grupta incelenir. PAX2, PAX5 ve PAX8 grup 2'de toplanmış olup benzer primer sekans özellikleri gösterirler (77, 78).

PAX genleri transkripsiyon faktörleri olarak çalışır ve DNA'ya bağlanan proteinleri kodlar. Aynı zamanda proto-onkogen gibi davranabilir ve aşırı ekspresyonu tümör gelişiminde rol oynayabilir (6).

Transkripsiyon faktörleri fetal gelişimde ve organogenezde önemlidir. PAX3 ve PAX7 iskelet kası, santral sinir sistemi; PAX4, pankreas; PAX6, santral sinir sistemi, pankreas, burun ve göz; PAX8, santral sinir sistemi, böbrek, tiroid; PAX5, santral sinir sistemi, B lenfositler; PAX1, iskelet, timus ve paratiroid; PAX9, iskelet, timus ve diş gelişimde gösterilmişlerdir. PAX2 ise santral sinir sistemi, göz, böbrek, mezonefrik (Wolffian) kanal ve bununla ilişkili Müllerian kanalın gelişiminden sorumludur (79, 78).

Organogenez aşamasında transkripsiyon faktörlerinin immunohistokimyasal çalışmada nükleer pozitiflik gösterirken, matür dokularda sıklıkla kaybolduğu gözlenmiştir. PAX2 nefrogenez sırasında böbrek blastemal hücrelerde ekprese olurken, olgun böbrekte seyrek parankimal hücrelerde

ekspresyon gözlenmiş. Ancak neoplastik transformasyonda organ spesifik olarak tekrar eksprese olmaya başlarlar. PAX2 ekspresyonu; renal hücreli karsinom, nefrojenik adenom ve overin seröz hücreli karsinomlarında izlenmiştir (80, 81).

PAX2, PAX3, PAX6 ve PAX8’de olan mutasyonlar gelişimsel defektlere yol açarlar. PAX2 mutasyonunda böbrekler, gözler, kulaklar ve beyindeki gelişimsel defektler ile karakterize “renal-koloboma” sendromu meydana gelmektedir (6, 82-84).

2.7 PINCH (“Particularly interesting cys-his rich protein”/ Sistein ve histidinden zengin ilginç protein)

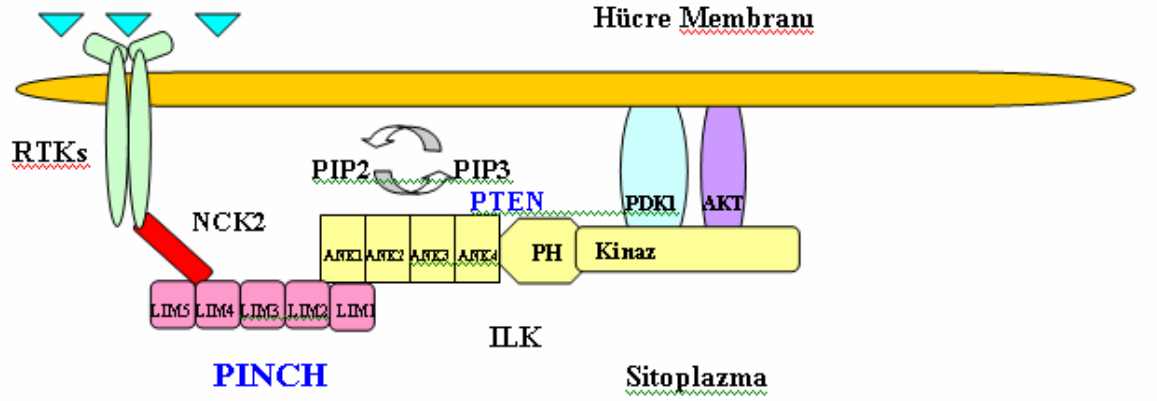
PINCH proteini 2q12.2 kromozomunda lokalizedir. PINCH ailesi PINCH-1 (LIMS-1) ve PINCH 2 olmak üzere iki üyeden oluşur. PINCH proteini 5 LIM sistidinden zengin alan ve kısa C terminal kuyruktan oluşur. Yani PINCH, LIM ailesinin (Lin11, Isl-1 & Mec-3) bir üyesidir. LIM ilk olarak *Caenorhabditis Elegans*’ta tanımlanmıştır. LIM ailesi integrin ve büyüme faktörü yolağında sinyal iletimini uyarlayan proteinlerdir. PINCH hücre adezyonunda rol alan integrin-linked kinase (ILK) ile LIM domaini ile bağlanıp adaptör görevi görür. PINCH-1 in bir adaptör protein olan Nck-2 ye dördüncü LIM domaini ile bağlandığı in vitro olarak gösterilmiştir. Hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda ILK, Parvinler ve PINCH’in AKT fosforilasyonunda, hücre şekillenmesinde, fibronektin ve matriks toplanmasında, hareketlilikte, sağkalım ve çoğalmada belirli görevler aldığı gösterilmiştir (8, 85, 86).

ILK 59 kDa ağırlığında bir proteindir. İntrasellüler bir proteindir. Sitoplazmik domainleri integrin beta1 ve beta3 subünitleridir. ILK proteini, fosfoinozitol fosfolipid bağlayan domain, N-terminal ankyrin devamlı domain ve C-terminal serine / threonin protein kinaz domain olmak üzere 3 farklı fonksiyonel yapıdan oluşur. ILK homologları insanda, *drosophila* faresinde ve *C elegans*'ta bulunmuştur. İnsanda 11. kromozomun distal ucunda gösterilmiştir. Protein kinaz B (PKB/Akt), glikojen synthase kinaz-3 ve miyozin hafif zinciri gibi intrasellüler substratların fosforilasyonundan sorumludur. Genetik ve biyofizik bulgular, ILK'in esas rolünün integrinler ve hücre iskeletindeki aktin filamanları arasında bağlantı kurmak olduğunu göstermiştir. ILK ekstrasellüler matrikste adezyon moleküller içinde kilit role sahiptir. PINCH, bir başka adaptör proteini olan Nck2 ile fosfotitilinozitol 3 kinaz ve growth faktör reseptörü ile ILK proteinine bağlanır. ILK ile growt faktörler arasında köprü kuran diğer adaptörler, CH-ILK BP, affixin, paxillin olarak geçmektedir. ILK proteininin hücre yüzeyinde yer alan integrin ve growth faktör reseptörleriyle kurduğu ilişki hücre iskeleti reorganiasyonunda önemli olabilir. ILK overekspresyonunda onkojenik trasformasyon, invazyona progresyon ve metastatik fenotipler ortaya çıkar. Birçok kanserde ILK ekspresyonu artmış olarak izlenir. Hücre kültürlerinde ILK ve parvinler PINCH ile birlikte Akt fosforilasyonunda, hücre şekillenmesinde, fibronektin matriks toplanmasında, hareketlilikte, sağkalımda ve çoğalmada belirli görevler alır. ILK aktivasyonun kontrolü kinaz aktivitesine bağlıdır. PTEN, fosfotidilinozitol 3,4,5-trifosfatın D3 pozisyonundaki fosfatı ortadan kaldıran bir lipid fosfatazdır ve direk olarak fosfotidilinozitol 3-kinazın (PI3K) etkisini

antagonize eder. PTEN'in ILK aktivitesini kontrol ettiğini göstermiştir. PTEN transfeksiyonu, dominant ILK negatif mutasyonu ya da hücrelerin küçük molekül ILK aktivite inhibitörleriyle tedavisi bu hücrelerde ILK aktivitesinin baskılanmasına neden olur (87, 88). Bu da ILK/PINCH/Parvin kompleksiyle PTEN'in PIP3 kinaz yoluyla bağlantısını açıklar (Şekil 4).

Ekstrasellüler alan

Growth Faktör



Şekil 4: ILK/PINCH/Parvin kompleksiyle PTEN'in PIP3 kinaz yoluyla bağlantısı

Meme, prostat, akciğer, deri, kolorektal, ağız ve özefagus skuamöz hücreli kanserleri gibi çeşitli tümörlerde yapılan çalışmalarda immünohistokimyasal olarak PINCH ekspresyonu ilk olarak tümör stromasında fibroblastoid hücrelerin sitoplazmasında gösterilmiştir. İlerleyen zamanlarda PINCH'in tümörle ilişkili stromada, fibroblastlarda, myoblastlarda ve endotel hücrelerinde eksprese olduğu gözlenmiştir . Wang-Rodriquez, 2002 yılında, 33 meme, 22 prostat, 8 deri, 6 akciğer ve 5 kolorektal kanserde PINCH proteinin ekspresyonunu gösteren ilk çalışmayı yapmıştır. Sonuçlara göre deri dokusu hariç diğer tümörlerde PINCH ekspresyonunun normal dokulara göre daha fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Sonraki çalışmalarda PINCH proteinin normal dokularda da eksprese olduğu, sitoplazmada ve hücreler arası bağlantı bölgelerindeki matrikste eksprese olduğu gösterilmiştir. Zhenlong Zhu ve arkadaşlarının çalışmalarında PINCH proteinin tümörle ilişkili stromada eksprese olduğu ve tümör gelişiminde, differansiyasyonunda, tümör invazyon ve metastazını öngörmede değerli bir marker olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır (85-92).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olguların seçilmesi:

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2005-2011 yılları arasında, endometrium karsinomu nedeniyle cerrahi evreleme ve histerektomi uygulanmış veya tanısal amaçlı fraksiyone küretaj yapılmış toplam 180 olgu dahil edildi. İncelenen olgular endometrioid tip endometrial adenokarsinom, atipili endometrial hiperplazi, atipisiz endometrial hiperplazi ve proliferatif endometrium tanısı alanlar olmak üzere dört gruba ayrıldı. Olgulara ait klinik bilgiler hastane otomasyon sistemi ve hasta dosyalarından elde edildi.

Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 29 Eylül 2010 tarihinde 178 nolu karar ile yerel etik kurulu onayı alındı. Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2011-66 proje kod numarası ile desteklenmiştir.

3.2 Dokuların Histopatolojik Değerlendirilmesi:

Histopatolojik değerlendirme, %10'luk formaldehit içerisinde fikse edilmiş, rutin doku takibi uygulanarak parafine gömülmüş ve Hematoksilen-Eosin (H-E) ile boyanmış arşiv preparatlarında yapıldı. Kesitler ışık mikroskopunda (Olympus Bx50), X 400 (40x objektif lens, 10x oküler lens, 0,151 mm²) büyütmede incelendi ve FIGO 2009 (1) gradelemesi kriterlerine göre yeniden değerlendirildi.

FIGO 2009 evrelemesi tümörün uterusu sınırlılığı, uterin serviks ve pelvik organlara uzanımı, pelvis dışına ve uzak alanlara yayılımına göre dört evreye ayrılmıştır. Tümör korpus uteride sınırlıysa ve myometrial invazyon yok ya da %50'den az ise evre Ia, Tümör korpus uteri içine sınırlı ve %50 ya da daha fazla myometriyal invazyon var ise evre Ib olarak alındı. Servikal stromal invazyon var ancak tümör uterus dışına çıkmamışsa evre II, seroza ve /veya adneks invazyonu varsa evre IIIa, vajinal ve / veya parametriyal tutulum varsa evre IIIb, pelvik/paraaortik lenf nodu metastazı varsa evre IIIc şeklinde değerlendirildi. Mesane ve/veya barsak mukoza invazyonu varsa evre IVa, uzak metastaz; intraabdominal metastaz ve inguinal lenf nodu metastazı dahilse evre IVb olarak alındı.

Tümör olguları için histerektomi materyalleri histolojik grade, tümör boyutu, myometrial invazyon derinliği, anjiolenfatik invazyon, servikal tutulum, korpus serviks sınırda tümör pozitifliği, parametrial tutulum, over ve tubada tümör invazyonu açısından olgular tekrar değerlendirildi.

Histopatolojik grade FIGO 2009 sınıflamasına göre yapılmıştır. Buna göre endometrioid karsinomlarda solid alanlar %5'ten az ise iyi diferansiye (grade 1), %5-50 arasında ise orta derecede diferansiye (grade 2), %50'den fazla ise kötü diferansiye (grade 3) olarak değerlendirildi. Nükleer grade; nükleus büyüklüğü, şekli, kromatin dağılımı ve nükleol büyüklüğüne göre; grade 1, grade 2 ve grade 3 olarak değerlendirildi. Yapısal gradelemeye göre grade I ve grade II olan tümörlerde belirgin nükleer atipi varlığında grade bir basamak artırıldı. Tümör

heterojen bir yapı gösterdiğinde ise, baskın olan morfolojiye göre gradeleme yapıldı.

Myometrial invazyon açısından olgular 3 gruba ayrıldı. Buna göre myometrial invazyonun izlenmediği olgular birinci grup, yüzeysel ½ myometriyum tutulumu olan olgular ikinci grup ve derin myometrial invazyon olan olgular ise üçüncü grup olarak değerlendirildi.

Serviks tutulumu hem glandüler hemde stromal komponentte tümörün olup olmasına göre ayrı ayrı değerlendirildi.

Her olguda histolojik grade'i en iyi yansıtan, nekrozsuz ve sellüler özellikte bir parafin blok seçildi. Seçilen bloklarda PTEN, PAX2 ve PINCH antikorlarına immunhistokimyasal prosedür uygulandı.

3.3 İmmunhistokimyasal boyanma:

PTEN, PAX2 ve PINCH antikorlarının ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biyotin üçlü indirekt immunperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapıldı.

PTEN/ MMAC1 Ab4/17a(Mouse Monoclonal Antibody Klon: 17A, Thermo Scientific/Neomarkers, Lot numarası: 1010H, USA), PINCH/LIMS1 (Rabbit polyclonal, Klon: GTX114984, Genetex, Lot numarası: 40240, USA), PAX2 /ep3251 (Rabbit monoclonal, Klon: ab79389, Abcam, Lot numarası: GR56395-1, USA) antikorları kullanıldı.

Biyotinlenmiş bağlayıcı (sekonder) antikor olarak, ticari olarak kullanıma hazır kitler şeklinde, streptavidin-biyotin kompleksi ve kromojen olarak kullanılan 3-amino-9 Ethylcarbazole (AEC) kullanıldı.

PTEN antikoru pozitif kontrolü olarak proliferatif fazda endometrium, PAX2 ve PINCH antikoru pozitif kontrolü olarak normal böbrek dokusu kullanıldı. Negatif kontrol olarak primer antikolar yerine PBS damlatılarak aynı işlem yapıldı.

Olgulara ait parafin bloklardan hazırlanan kesitler PTEN, PINCH ve PAX2 için aşağıdaki prosedüre göre boyanmıştır.

Strept Avidin-Biotin Boyama Yöntemi:

1- Parafine gömülü dokulardan 4-5 µ kalınlığında kesitler polilizinli lam üzerine alınıp 56 santigratlık etüvde 12 saat bekletilerek deparafinize edildi.

2- Kesitler 30 dakika ksilende bekletilip berraklaştırıldı.

3- Her birinde beş dakika bekletilmek üzere; sırasıyla %100,% 95 ve % 90'lık alkollerden geçirilerek dokuların hidrasyonu sağlandı.

4- Alkollerden arındırmak için pH 7,2-7,4 PBS'le (0,01 M Phosphate Buffer Saline) üç kez çalkalandı.

5- Lamlar mikrodalgaya dayanıklı özel şalelerde pH 9.0 Tris-EDTA buffer solüsyonu içerisine sıralanarak mikrodalga fırında, yüksek derecede inkübe edildi. Daha sonra oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldı.

6- Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için, kesitlere %3'lük hidrojen peroksit çözeltisi damlatılıp 10 dakika bekletildi.

7- Kesitlerin etrafı dikkatlice kurulandı ve kesitin üzerini kaplayacak şekilde primer antikor damlatılarak bekletildi.

8- PBS'de 3-5 dakika yıkandı.

- 9- Kesit çevresi silindikten sonra Sekonder (bağlayıcı) antikor (Multi-species ultra streptavidin detection system-HRP; Signet, Massachusetts, USA) damlatılarak 20 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 10- PBS'de 3-5 dakika yıkandı.
- 11- Kesit çevresi silindikten sonra Streptavidin-biyotin damlatılarak 20 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 12- PBS'de 3-5 dakika yıkandı. Kesit çevresi silindi.
- 13- AEC (3-amino 9-ethycarbazole) kromojen damlatıldı. 5-20 dakika sonra mikroskop altında boyanma olup olmadığı kontrol edilerek dokular distile suya alındı.
- 14- Mayer Hematoksilen'de 1-3 dakika zemin boyaması yapıldı ve musluk suyunda 3-5 dakika yıkandı.
- 15- Dehidratasyon için kesitler sırasıyla %90, %95 ve %100'lük alkollerde 5'er dakika tutuldu. Ksilolde şeffaflaştırıldı.
- 16- Doku kesitleri Entellan (DAKO Cytomation Faramount Aqueous Mounting Medium) ile kapatıldı.

Kullanılan primer antikorların klonları, dilüsyonları ve inkübasyon süreleri Tablo 4'te gösterilmiştir

Primer antikor	Klon	Dilüsyon	İnkübasyon süresi
PTEN(Neomarkers, USA)	17A	1/15	2 saat
PAX2(Labvision, USA)	ab79389	1/700	+4°C'de 1 gece
PİNCH /LIMS1(Genetex,USA)	GTX114984	1/500	+4°C'de 1 gece

Tablo 4: Primer antikorların klonları, inkübasyon süreleri ve dilüsyon oranları

3.4 İmmunhistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi:

Hazırlanan kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi. PTEN için sitoplazmik boyanma, PINCH için sitoplazmik ve membranöz boyanma ve PAX2 için nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi. PTEN ve PAX2 ekspresyonları endometrial gland yapılarında; PINCH ekspresyonu glandüler komponent yanı sıra stromada ki fibroblast/myofibroblast hücrelerinin membran ve sitoplazmalarında değerlendirildi.

PTEN, PAX2 ve PINCH'in değerlendirilmesinde boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti dikkate alındı. Buna göre boyanma yaygınlığı : derece 0, hiç boyanma yok; derece 1, hücrelerin %1-11'inde boyanma; derece 2, hücrelerin %12-33'ünde boyanma; derece 3, hücrelerin %34-66'sında boyanma; derece 4, hücrelerin %67-100'ünde boyanma olarak skorlandı. Ayrıca boyanma şiddeti yok (sıfır), zayıf (bir pozitif), orta (iki pozitif), kuvvetli boyanma (dört pozitif) olarak 0'dan 3'e kadar skorlandı. İstatistiksel karşılaştırmalarda boyanma şiddeti ve boyanma yaygınlığı ayrı ayrı kullanıldı. Boyanma şiddeti sıfır ve bir olan olgular tek bir grup olarak değerlendirildi.

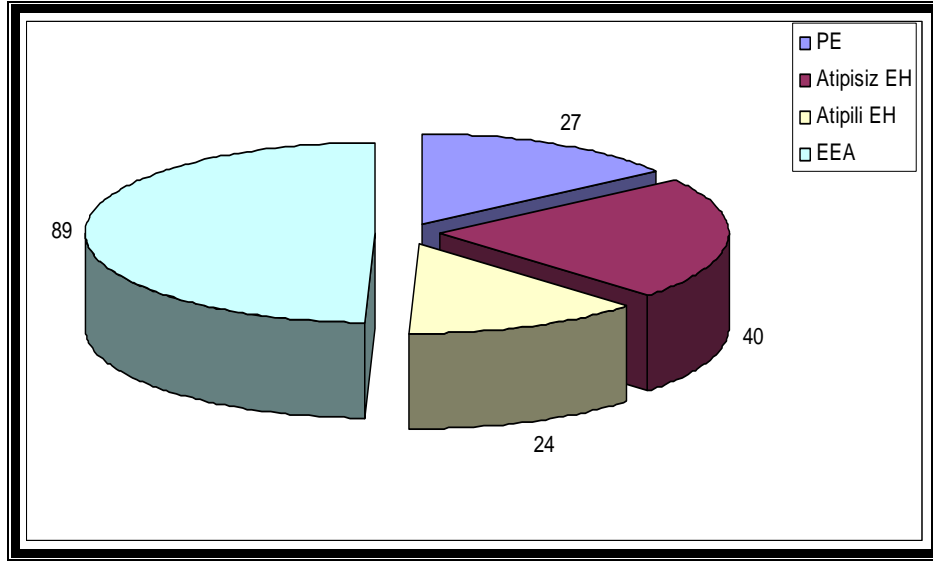
3.5 İstatistiksel Değerlendirme:

Verilerin analizi "SPSS for Windows v.10.0" paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli ölçümlü değişkenler için ortalama \pm standart sapma şeklinde, nominal değişkenlerse vaka sayısı ve (%) olarak gösterildi. Nominal değişkenler "Pearson'un ki-kare" veya "Fisher'in Kesin ki-kare" testi ile incelendi. $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Hastaların demografik ve tümör özellikleri :

Çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 180 vaka değerlendirildi. Olgulardan 89'u (% 49.4) endometrioid tip endometrial adenokarsinom, 24'ü (%13.3) atipili endometrial hiperplazi, 40'ı (% 22,2) atipisiz endometrial hiperplazi ve 27'si (%15) proliferatif endometrium tanısı aldı (Şekil 5). Olguların yaş dağılımı tablo 5'de özetlenmiştir.



Şekil 5: Çalışmaya alınan olguların tanılarına göre dağılımı

	n	yaş (± SD)	range
PE	27	42,3 ± 8,6	28-54
Atipisiz EH	40	50,6 ± 6,7	37-67
Atipili EH	24	53,6 ± 8,7	38-74
EEA	89	61,1 ± 9,7	38-84

Tablo 5: Grupların tanılarına göre yaş dağılımı

Endometrial karsinom olgularının tamamında cerrahi evreleme (total abdominal histerektomi ve bilateral salpingooferektomi ± lenf nodu diseksiyonu) yapıldığı saptandı. Atipili endometrial hiperplazi tanısı alan olguların 12'sinde total abdominal histerektomi, 12'sin de ise fraksiyone küretaj materyalinde tanı konuldu. Proliferatif endometrium ve atipisiz endometrial hiperplazi olgularının tümünde ise fraksiyone küretaj materyallerinden tanı konuldu. Karsinom olgularının hiçbiri neoadjuvan kemoterapi ya da preopreatif radyoterapi almamıştı.. Endometrial karsinom olgularında en büyük tümör çapı 8 cm, en küçük tümör çapı 0,3 cm, tümör çapı ortalaması 3.1 cm idi. Yetmiş iki olgu (%80,9) lenf nodu diseksiyonu yapılmış ve metastatik lenf nodu izlenmemiştir. Altı olguda (%6,7) lenf nodu diseksiyonu yapılmış ve metastatik lenf nodları gözlenmiştir. On bir olguda (%12,4) lenf nodu diseksiyon mevcut değildi.

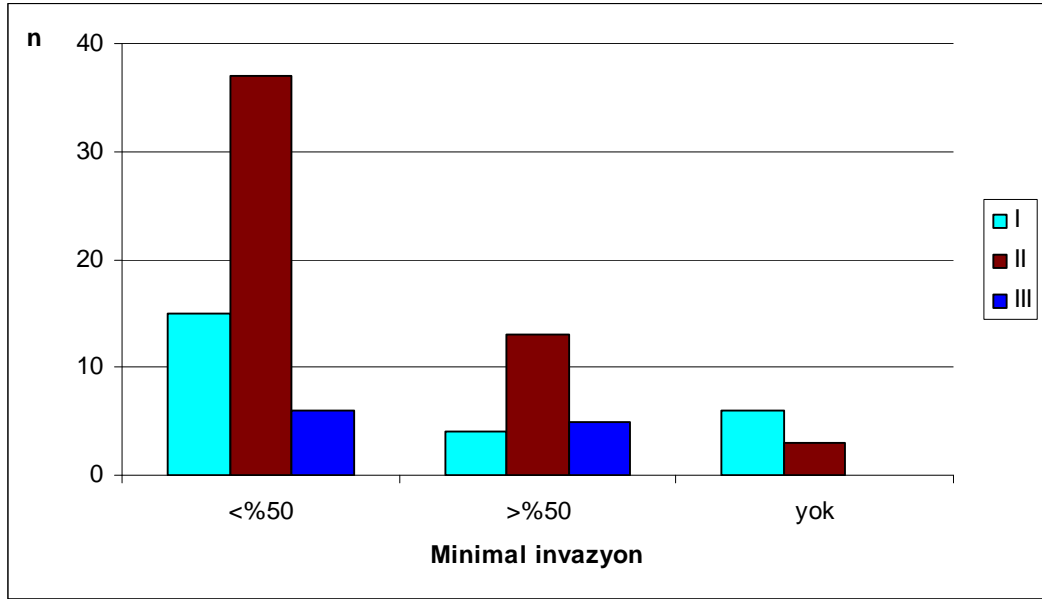
Olguların klinikopatolojik özellikleri Tablo 6'da özetlenmiştir. Olgu sayılarının az olması nedeni ile evreler alt evrelere ayrılmamıştır.

EEA olgularının klinik ve histopatolojik özellikleri		
Özellik		Olgu sayısı (%)
Evre	1	83 (93,3)
	2	3 (3,4)
	3	3 (3,4)
Histolojik grade	I	25 (28,1)
	II	53 (59,6)
	III	11 (12,4)
Myometrial invazyon	<50	58 (65,2)
	>50	22 (24,7)
	Yok	9 (10,1)
Anjiyolenfatik	Var	77 (86,5)
	Yok	12 (13,5)
Lenf nodu metastazı	Diseksiyon yok	11 (12,4)
	Yok	72 (80,9)
	Var	6 (6,7)
Korpus serviks tutulumu	Yok	76 (85,4)
	Var	13 (14,6)

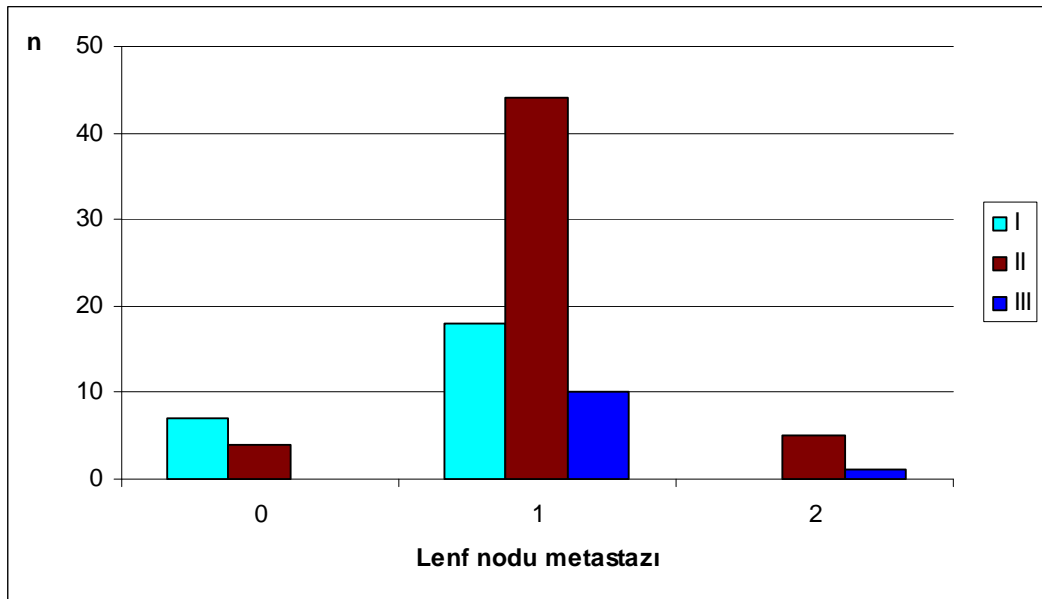
Tablo 6: Tümör olgularının klinikopatolojik özelliklerin dağılımı

Histolojik grade myometriyal invazyon ile karşılaştırıldığında myometriyumun yarısını ya da daha fazlasını infiltre eden olgulardan 4'ü grade I, 13'ü grade II, 5'i grade III idi. Myometriyumun yarısından azını infiltre eden olguların ise; 15'i grade I, 37'si grade II, 6'sı grade III tümörlerdi (Şekil 6). Olguların klinik ve patolojik özelliklerinin histolojik grade'e göre dağılımının karşılaştırılması Tablo 7'de verilmiştir. Histolojik grade yükseldikçe myometriyal invazyon oranında izlenen artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p<0.039$). Histolojik grade arttıkça, lenf nodu metastaz oranının arttığını ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.039$). Diğer prognostik

faktörler olan, korpus serviks sınır pozitifliği, anjiolenfatik invazyon ve evre ile histolojik grade arasında ilişki saptanmamıştır ($p>0.005$).



Şekil 6: Histolojik grade ile myometrial invazyonun karşılaştırılması



Şekil 7: : Histolojik grade'e göre lenf nodu metastazi oranlarının karşılaştırılması

Özellik		Histolojik grade			p değeri
		1	2	3	
Myometrial invazyon	<50	15	37	6	0.039
	>50	4	13	5	
	yok	6	3		
Anjiolenfatik	var	2	7	3	0.295
	yok	23	46	8	
Lenf nodu metastazı	yok	18	44	10	0.039
	var		5	1	
KS	yok	23	42	11	0.113
	var	2	11		
Evre	1	24	49	10	0.664
	2	1	2		
	3		2	1	

Tablo 7: Olguların klinik ve patolojik özelliklerinin histolojik grade'e göre dağılımı ve karşılaştırılması

4.2 İmmunhistokimyasal Bulgular

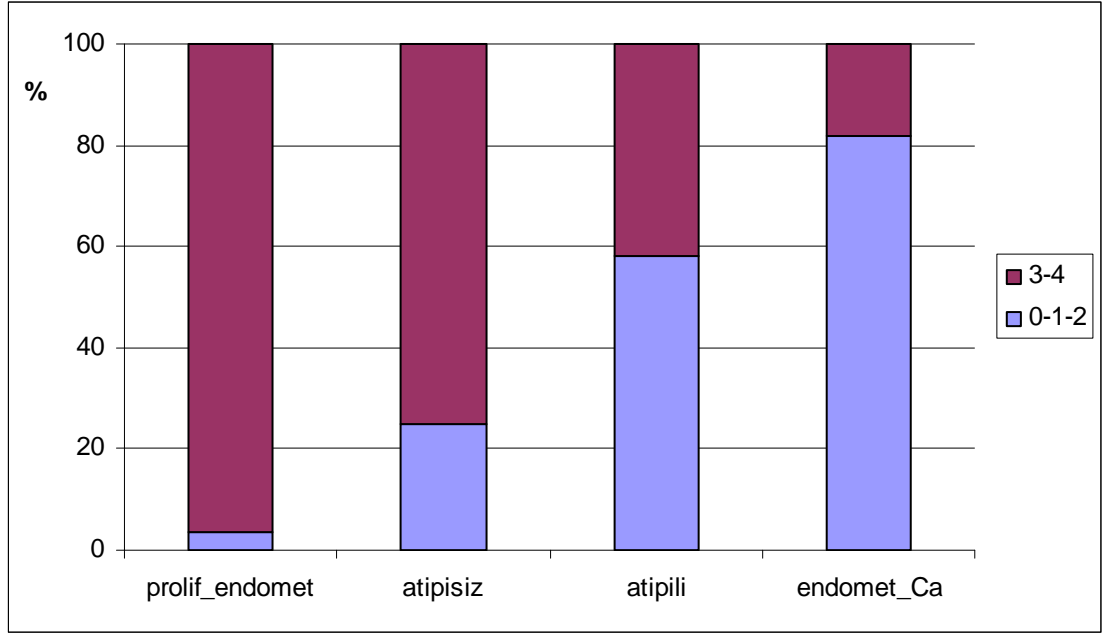
4.2.1 PTEN Ekspresyon Paterni

PTEN ekspresyonu glandüler yapılarda değerlendirilmiş olup sitoplazmik boyanmalar pozitif olarak kabul edilmiştir. Hem boyanma yaygınlığı hemde boyanma şiddetine göre değerlendirme yapılmıştır.

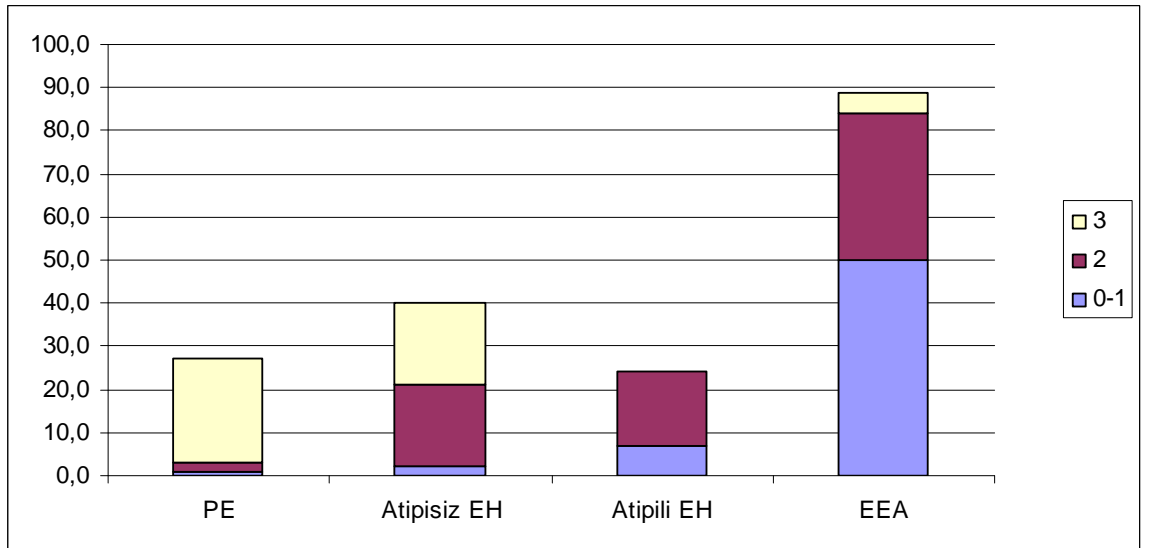
PTEN boyanma yaygınlığı 15 proliferatif endometrium olgusundan birinde (% 1) bir pozitif, üçünde (% 11) üç pozitif, 23'ünde (% 85) dört pozitif izlenmiştir. Kırk atipisiz endometrial hiperplazi olgusundan birinde (%2,5) bir pozitif, dokuzunda (%22.5) iki pozitif, 26'ında (%65) üç pozitif boyanma, dört vakada (%10) dört pozitif boyanma mevcuttur. Yirmi dört atipili endometrial hiperplazi olgusundan ikisinde (%8.3) sıfır pozitif, on ikisinde (%50) iki pozitif, onunda (%41) üç pozitif izlenmiştir. Seksen dokuz endometrioid tip endometrial adenokarsinom olgusunun 21'ünde (%23) sıfır pozitif, 24'ünde (%26) iki pozitif, 28'sinde (%31) üç pozitif, 16'sında (%17) dört pozitif boyanma mevcuttur. Proliferatif endometrium ve atipisiz endometrial hiperplazi olgularının tümünde değişen şiddetlerde olmak üzere pozitif boyanma izlenmiştir. Buna karşın şiddetli boyanan atipili endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom olgusu saptanmamıştır (Şekil 8, Tablo 8).

PTEN boyanma şiddeti; 15 proliferatif endometrium olgusundan birinde (% 3,7) sıfır-bir pozitif, ikisinde (% 7.4) iki pozitif, 24'ünde (% 88) üç pozitif izlenmiştir. Kırk atipisiz endometrial hiperplazi olgusundan ikisinde (%5) sıfır-bir pozitif, 19'unda (%47) iki pozitif, 19'unda (%47) üç pozitif boyanma mevcuttur. Yirmi dört atipili endometrial hiperplazi olgusundan yedisinde (%29) sıfır-bir

pozitif, 17'sine (%70) iki pozitif izlenmiştir. Seksen dokuz endometrioid tip endometrial adenokarsinom olgusunun 50'inde (%50) sıfır-bir pozitif, 34'ünde (%38) iki pozitif, beşinde (%5,6) üç pozitif boyanma mevcuttur (Şekil 9, Tablo 9).



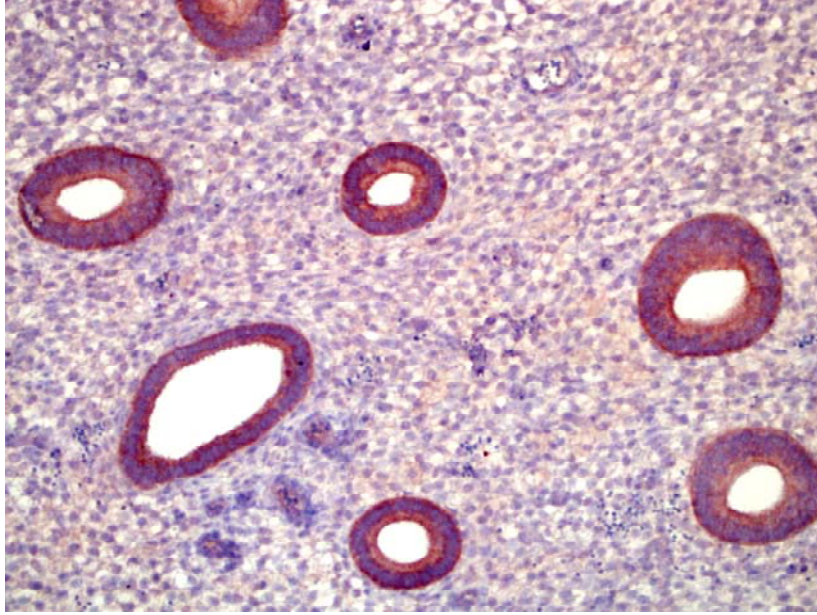
Şekil 8: PTEN boyanma yaygınlığının gruplarda dağılımı



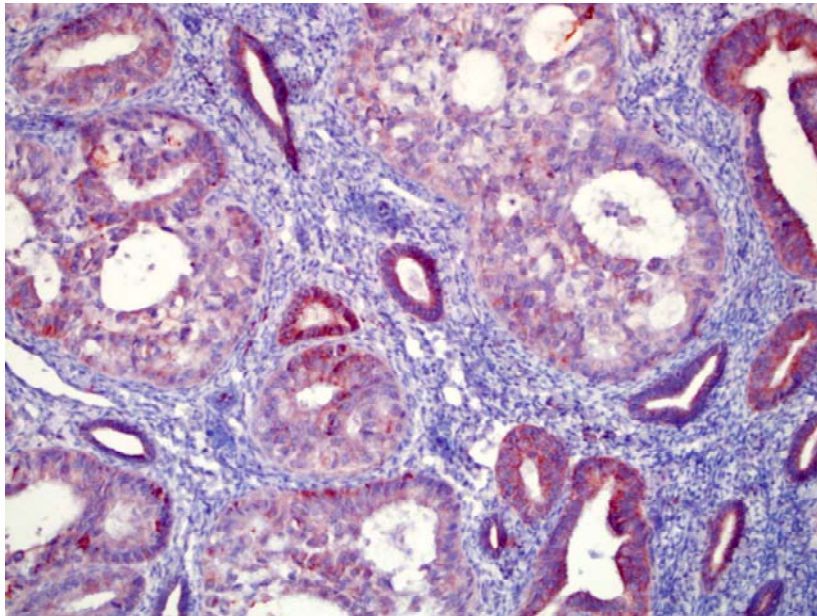
Şekil 9: PTEN boyanma şiddetinin olgularda dağılımı

Endometrioid tip endometrial adenokarsinom olgularında PTEN ekspresyonu ile bilinen histopatolojik prognostik parametreler karşılaştırıldığında; histolojik grade, anjiolenfatik invazyon, lenf nodu metastazı, evre, myometrial invazyon ve korpus serviks sınırı tutulumu arasında ilişki saptanmamıştır ($p>0,005$) (Tablo 10).

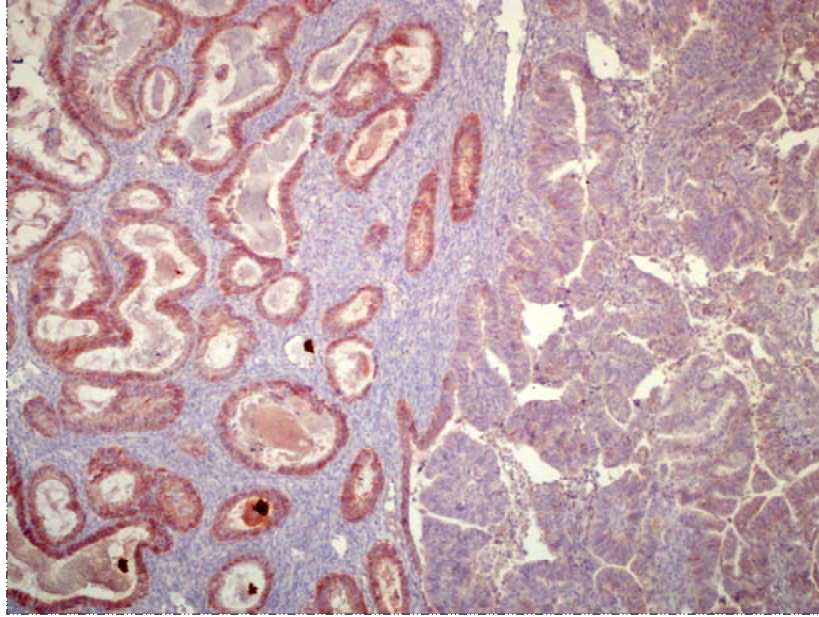
PTEN ekspresyonu gruplar arasında karşılaştırıldığında boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti proliferatif endometriumda en yüksek, hiperplazilerde orta, karsinomlarda ise en düşük oranda bulunmuştur ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.001$). Normalden malignite yönünde ilerleyişte PTEN boyanma yaygınlığı ve şiddetinde, istatistiksel olarak anlamlı, belirgin bir düşüş saptanmıştır. Gruplar kendileri arasında boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında atipili endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamakla birlikte ($p=0.14$), atipisiz endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında ($p<0.001$), proliferatif endometrium ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında boyanma şiddetine göre fark olup istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.001$). (Şekil 10-13).



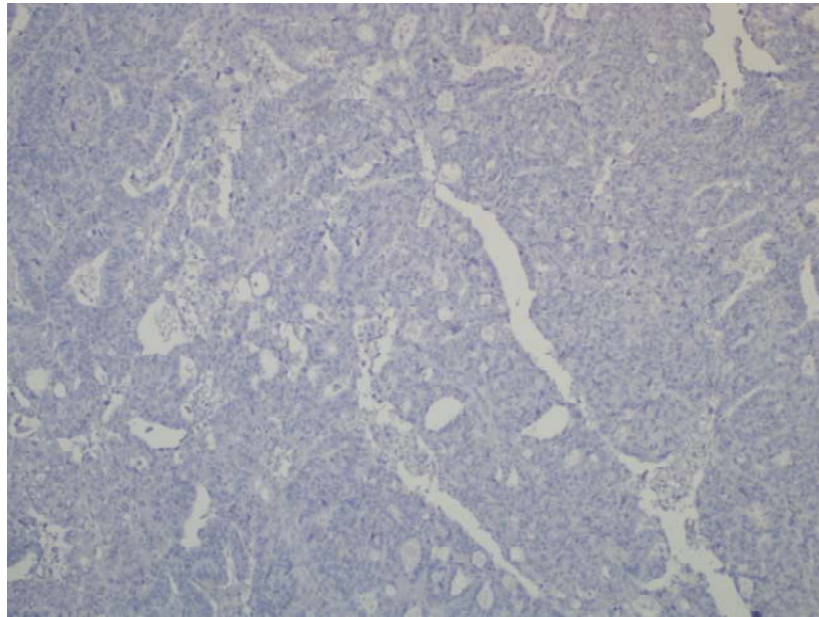
Şekil 10: Proliferatif endometriyumda +3 pozitif boyanma şiddetinde PTEN ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)



Şekil 11: FIGO grade II tümörde +1 pozitif boyanma şiddetinde PTEN ekspresyonu ve arada kalan normal endometriyumda +3 pozitif boyanma şiddetinde PTEN ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)



Şekil 12: FIGO grade III tümörde +1 pozitif boyanma şiddetinde PTEN ekspresyonu ve beraberinde izlenen atipili kompleks hiperplazi alanında +2 pozitif boyanma şiddetinde PTEN ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)

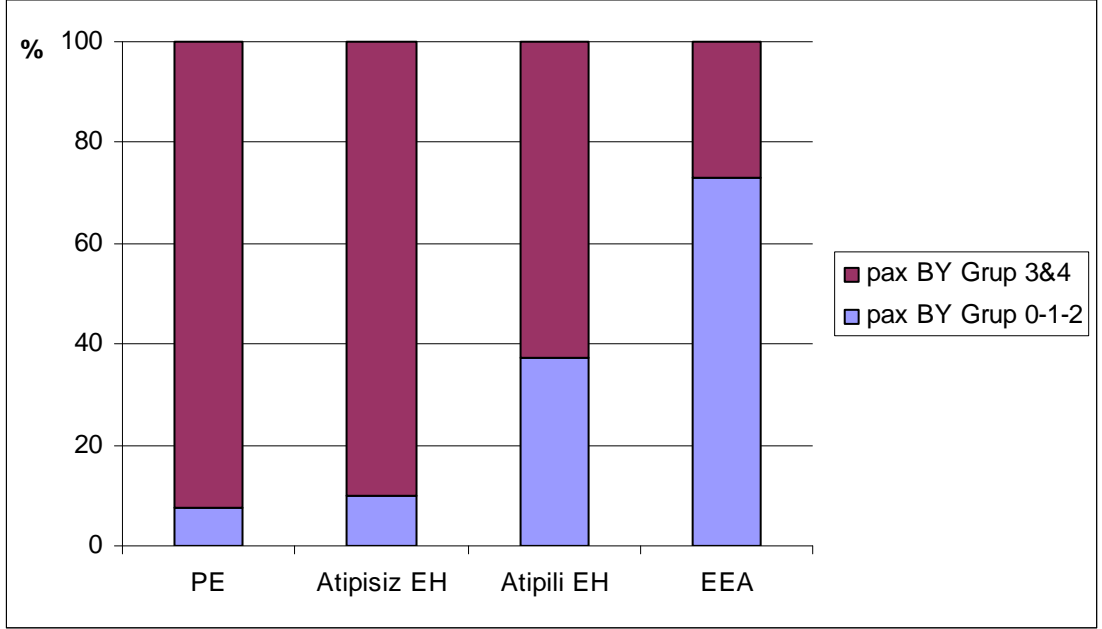


Şekil 13: FIGO grade III tümörde PTEN negatifliği (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)

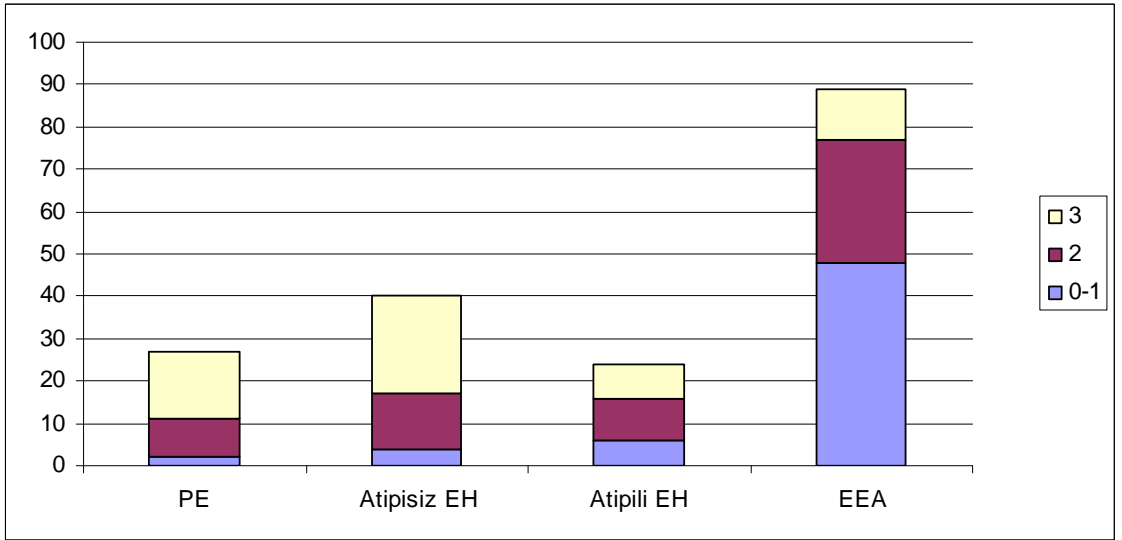
4.2.2 PAX2 Ekspresyon Paterni

PAX2 boyanma yaygınlığı 15 proliferatif endometrium olgusundan ikisinde (% 1,1) iki pozitif, onunda (% 17) üç pozitif, 15'inde (% 8.3) dört pozitif izlenmiştir. Kırk atipisiz endometrial hiperplazi olgusundan dördünde (%2,2) iki pozitif, 17'sinde (%9.4) üç pozitif, 19'unda (%10,6) dört pozitif boyanma mevcuttur. Yirmi dört atipili endometrial hiperplazi olgusundan birinde (%0,6) sıfır pozitif, sekizinde (%4,4) iki pozitif, sekizinde (%4,4) üç pozitif, yedisinde (%3,9) dört pozitif izlenmiştir. Seksen dokuz endometrioid tip endometrial adenokarsinom olgusunun 14'ünde (%7,8) bir pozitif, 51'inde (%28,3) iki pozitif, 22'sinde (%12,2) üç pozitif, ikisinde (%1,1) dört pozitif boyanma mevcuttur. Sıfır ve bir pozitif boyanan proliferatif endometrium, atipisiz endometrial hiperplazi vakası mevcut değildir (Şekil 14, Tablo 8).

PAX2 boyanma şiddeti; 15 proliferatif endometrium olgusundan ikisinde(% 1,1) sıfır-bir pozitif, dokuzunda (% 5) iki pozitif, 16'ında (% 8.9) üç pozitif izlenmiştir. Kırk atipisiz endometrial hiperplazi olgusundan dördünde (%2,2) sıfır-bir pozitif, 13'sinde (%7,2) iki pozitif, 23'unda (%12,8) üç pozitif boyanma mevcuttur. Yirmi dört atipili endometrial hiperplazi olgusundan altısında (%3,3) sıfır-bir pozitif, onunda (%5,6) iki pozitif, sekizinde (%4,4) üç pozitif izlenmiştir. Seksen dokuz endometrioid tip endometrial adenokarsinom olgusunun 48'inde (%60) sıfır-bir pozitif, 29'inde (%16,1) iki pozitif, 12'sinde (%6,7) üç pozitif boyanma mevcuttur (Şekil 15, Tablo 9)



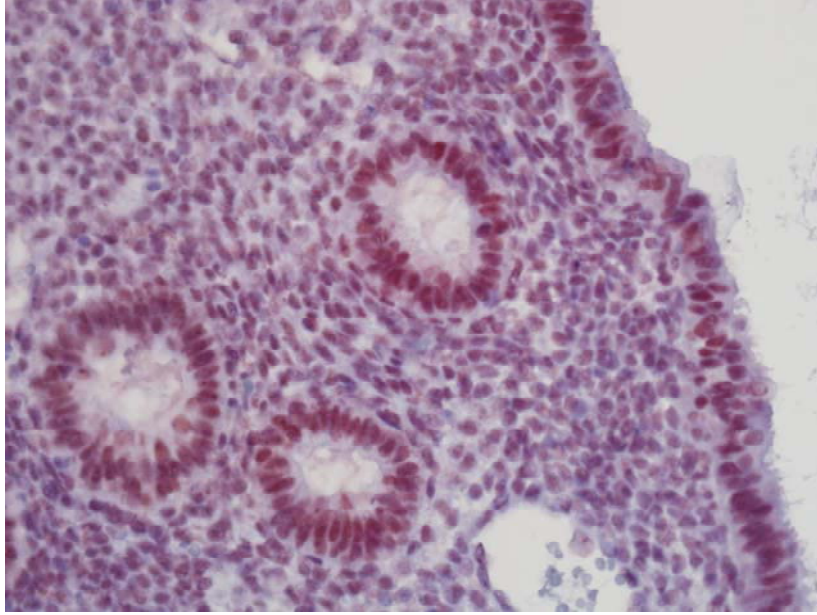
Şekil 14: PAX2 boyanma yaygınlığının gruplarda dağılımı



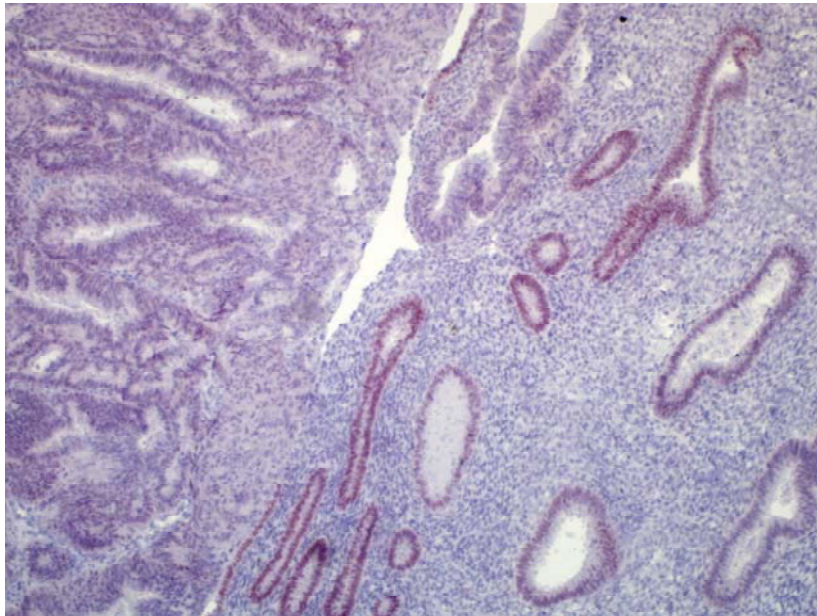
Şekil 15: PAX2 boyanma şiddetinin gruplarda dağılımı

PAX2 ekspresyonu gruplar arasında karşılaştırıldığında boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti proliferatif endometriyumda en yüksek, hiperplazilerde orta, karsinomlarda ise en düşük oranda bulunmuştur ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.001$). PTEN boyası ile benzer şekilde, normalden malignite yönünde ilerleyişte PAX2 boyanma yaygınlığı ve şiddetinde, istatistiksel olarak anlamlı, belirgin bir düşüş saptanmıştır. Gruplar kendileri arasında boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında atipili endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamakla birlikte ($p=0.19$), atipisiz endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında ($p<0.001$), proliferatif endometriyum ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında boyanma şiddetine göre fark olup istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.001$). (Şekil 16-20).

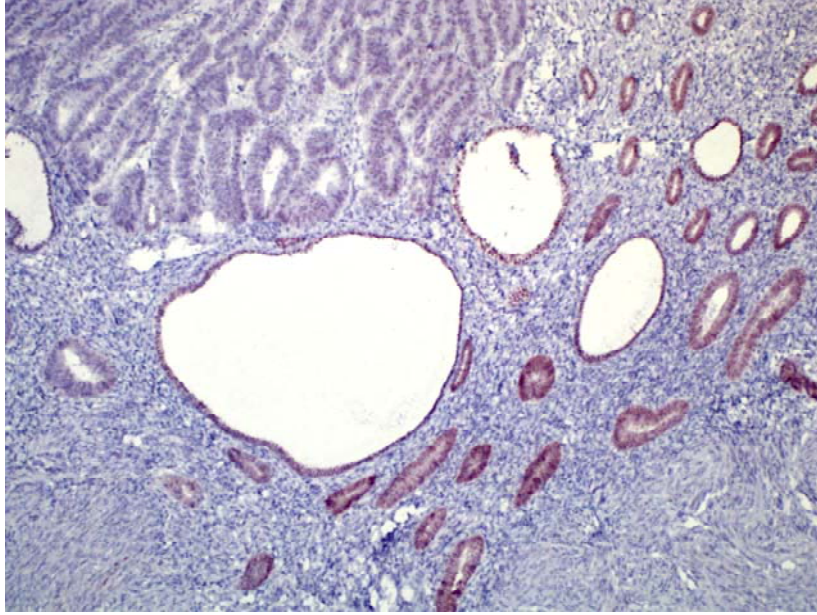
PAX2 ekspresyonunun prognostik parametrelerle ilişkisine bakıldığında; histopatolojik grade, lenfovasküler invazyon , lenf nodu metastazı , evre , Myometrial invazyon ve korpus serviks sınırı invazyonu ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.005$) (Tablo 10).



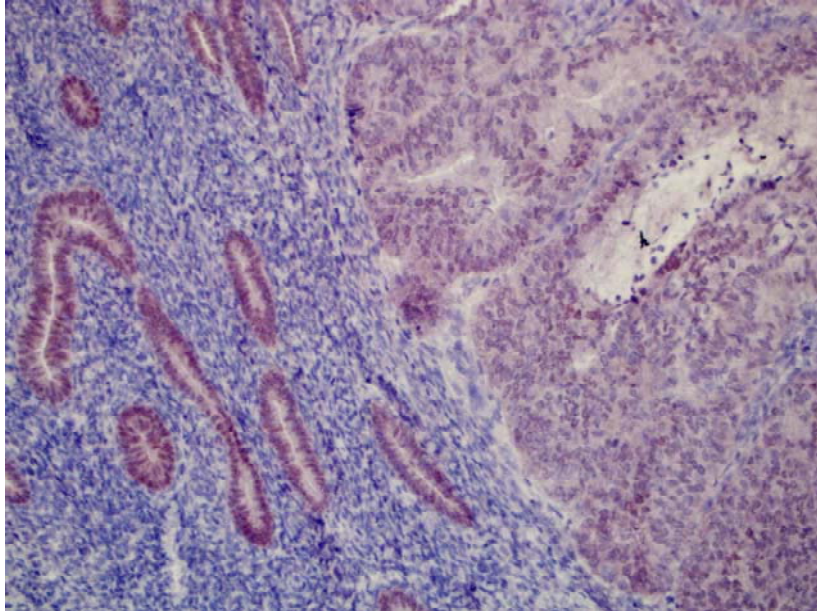
Şekil 16: Proliferatif endometriümda +3 boyanma şiddetinde PAX2 ekspresyonu. (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 400)



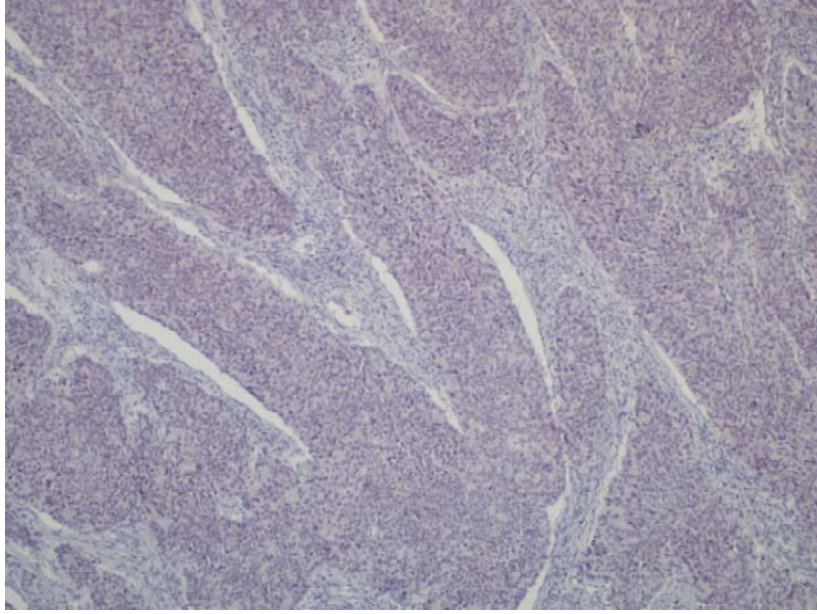
Şekil 17: FIGO grade I tümörde +1 pozitif boyanma şiddetinde PAX2 ekspresyonu ve beraberinde izlenen atipisiz basit hiperplazi alanında +3 pozitif boyanma şiddetinde PAX2 ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)



Şekil 18: FIGO grade I tümörde +0 pozitif boyanma şiddetinde PAX2 ekspresyonu ve arada kalan normal endometriumda +3 pozitif boyanma şiddetinde PAX2 ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)



Şekil 19: FIGO grade II tümörde +1 pozitif boyanma şiddetinde PAX2 ekspresyonu ve arada kalan normal endometriumda +3 pozitif boyanma şiddetinde PAX2 ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)



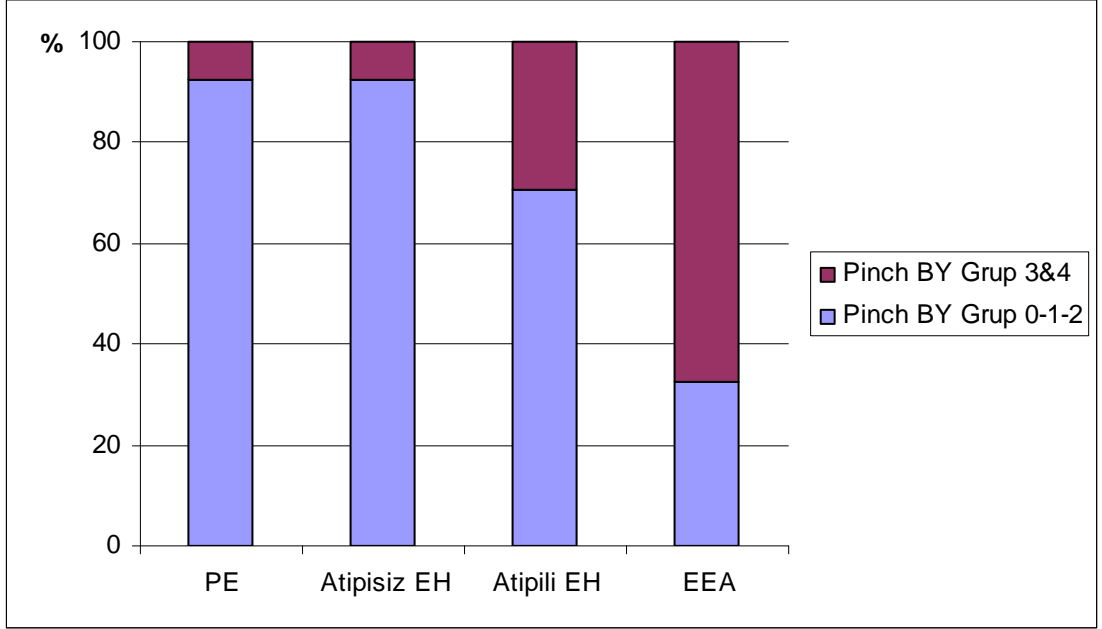
Şekil 20: FIGO grade III tümörde PAX2 negatifliği (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)

4.2.3 PINCH Ekspresyon Paterni

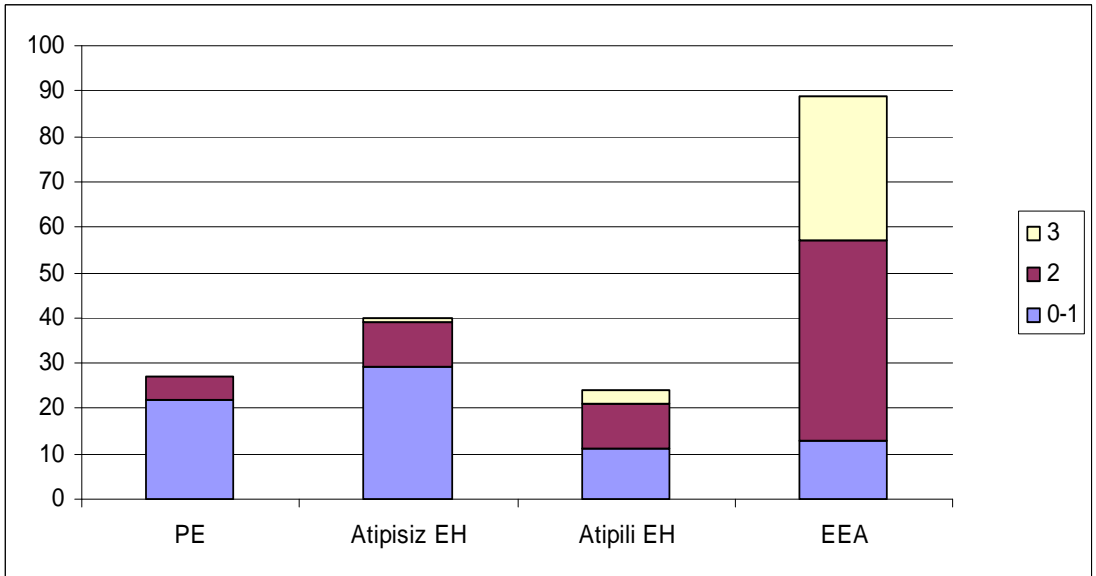
PINCH ekspresyonu tüm olgularda glandüler epitelyal hücrelerde ve stromada ki fibroblast/myofibroblast hücrelerinin membran ve sitoplazmalarında boyanmaya göre ayrı ayrı değerlendirildi. Glandüler epitelyal hücrelerde boyanma oranları proliferatif endometriumda %55, atipisiz endometrial hiperplazide % 49, atipik endometrial hiperplazide % 60, endometrioid tip endometrial adenokarsinomda % 58 oranında pozitif olup, gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$). Stromadaki myofibroblast ve fibroblastlarda ki boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti Tablo 8 ve Tablo 9'da belirtilmiştir.

PINCH boyanma yaygınlığı 15 proliferatif endometrium olgusundan birinde (% 3,7) bir pozitif, altısında (% 22) iki pozitif, ikisinde (% 7,4) üç pozitif izlenmiştir. Kırk atipisiz endometrial hiperplazi olgusundan 13'ünde (%32) bir pozitif, 24'ünde (%60) iki pozitif, ikisinde (%5) üç pozitif boyanma, bir vakada (%2,5) dört pozitif boyanma mevcuttur. Üç atipili endometrial hiperplazi olgusundan ikisinde (%12,5) bir pozitif, 14'ünde (%58) iki pozitif, dördünde (%16) üç pozitif, üçünde (%12,5) dört pozitif izlenmiştir. Seksen dokuz endometrioid tip endometrial adenokarsinom olgusunun birinde (%1,1) sıfır pozitif, 23'ünde (%31) bir pozitif, 84'ünde (%41) üç pozitif, 27'sinde (%25) dört pozitif boyanma mevcuttur. Sıfır boyanan atipisiz endometrial hiperplazi ve atipili endometrial hiperplazi vakası mevcut değildir. Dört pozitif boyanan proliferatif endometrium vakası izlenmemiştir (Şekil 21).

PINCH boyanma kuvveti; 15 proliferatif endometrium olgusundan 22'sinde (% 81.5) sıfır-bir pozitif, beşinde (% 18.5) iki pozitif izlenmiştir. Kırk atipisiz endometrial hiperplazi olgusundan 29'unda (%72.5) sıfır-bir pozitif, 10'unda (%25) iki pozitif, birinde (%2.5) üç pozitif boyanma mevcuttur. Yirmi dört atipili endometrial hiperplazi olgusundan on birinde (%45.8) sıfır-bir pozitif, 10'unda (%41.7) iki pozitif, üçünde (%12,5) üç pozitif izlenmiştir. Seksen dokuz endometrioid tip endometrial adenokarsinom olgusunun 13'ünde (%14,6) sıfır-bir pozitif, 44'ünde (%49,4) iki pozitif, 32'sinde (%36) üç pozitif boyanma mevcuttur (Şekil 22).



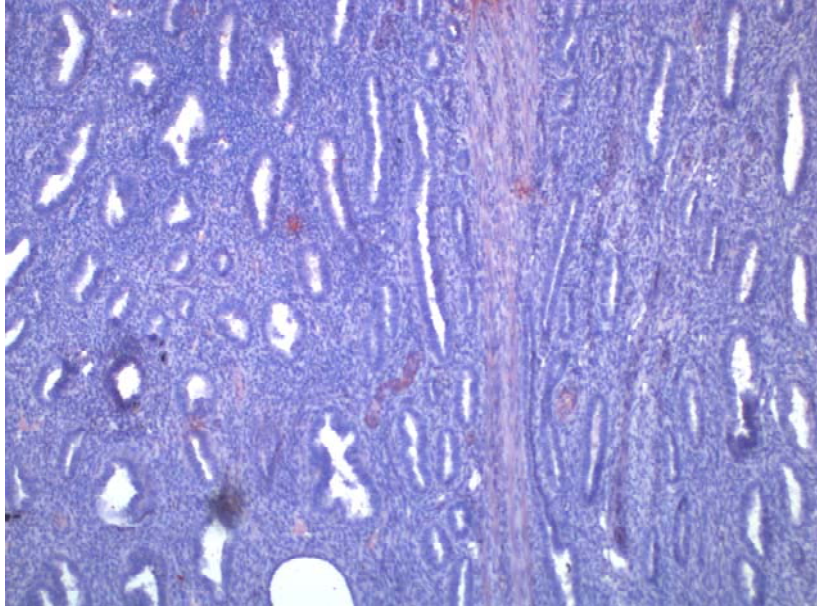
Şekil 21: PINCH boyanma yaygınlığının gruplarda dağılımı



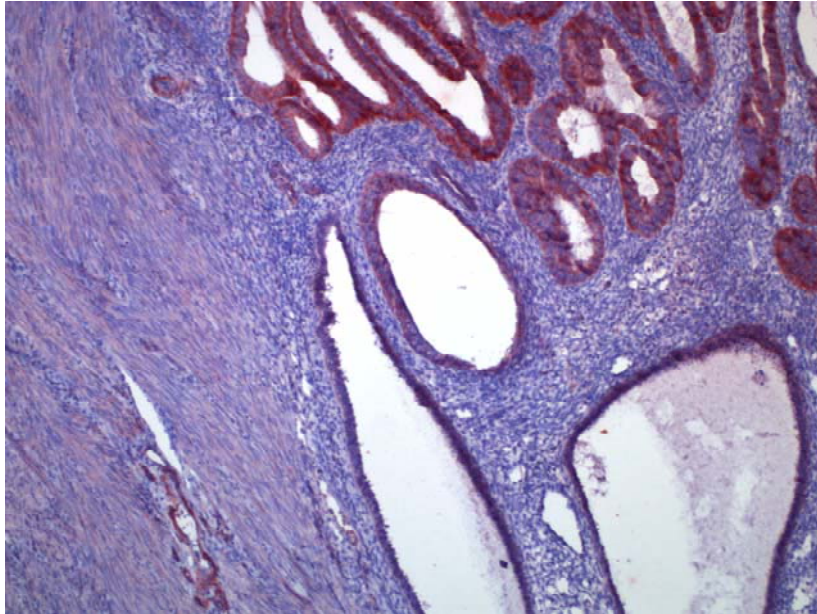
Şekil 22: PINCH boyanma şiddetinin gruplarda dağılımı

PINCH ekspresyonunun klinikopatolojik prognostik parametrelerle ilişkisine bakıldığında; histolojik derece, lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı , evre ($p>0.005$), myometrial invazyon ve korpus serviks sınırı invazyonu arasında ilişki saptanmamıştır ($p>0.005$) (Şekil 10).

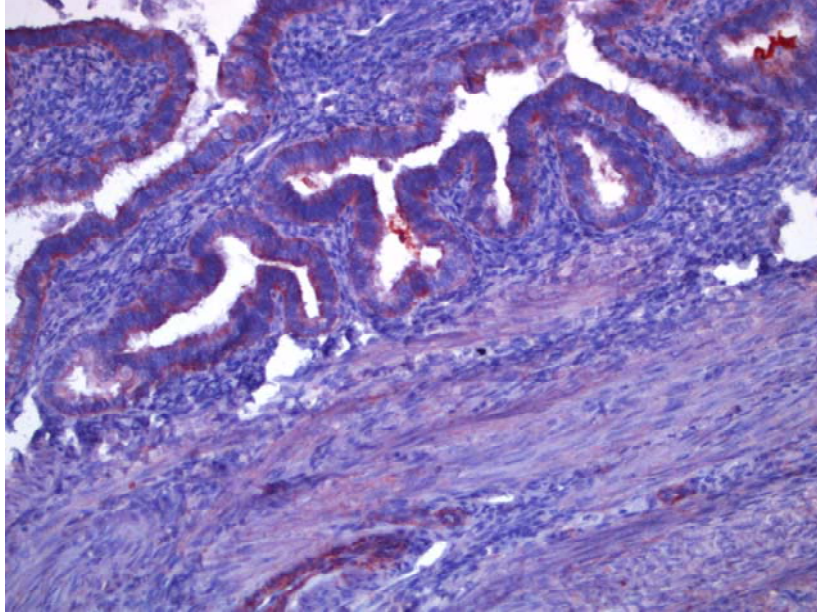
PINCH ile elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında boyanma yaygınlığı ve boyanma kuvveti en düşük proliferatif endometriumda, hiperplazilerde orta, karsinomlarda ise boyanma yaygınlığı ve boyanma kuvveti en yüksek oranda bulunmuştur ($p<0.001$). Normalden malignite yönünde ilerleyişte belirgin bir yükselme saptanmış olup bulgular PAX2 ve PTEN ile ters korelasyon göstermektedir. Gruplar kendileri arasında boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında atipili endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamakla birlikte ($p=0.07$), atipisiz endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında ($p<0.001$), proliferatif endometrium ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında boyanma şiddetine göre fark olup istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.001$). (Şekil 23-28).



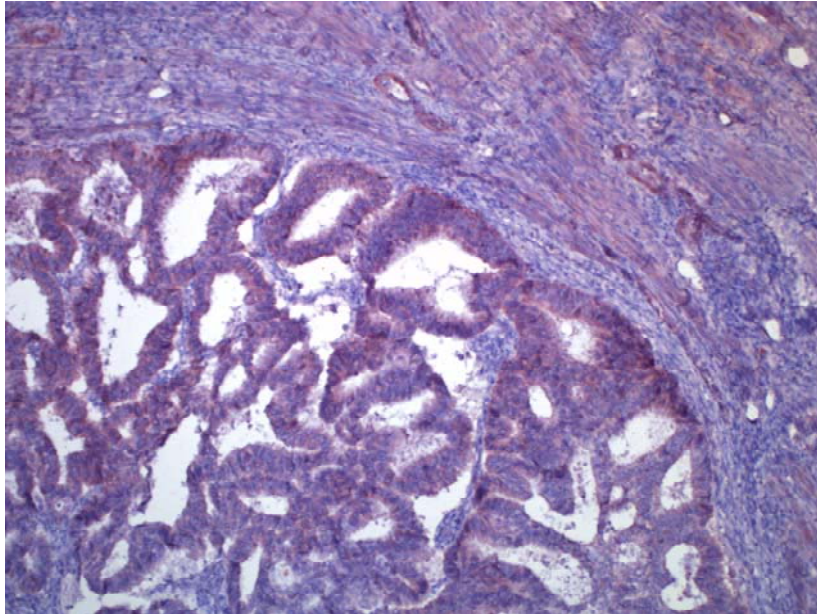
Şekil 23: Proliferatif endometriumda myoepitelyal hücre ve fibroblastlarda +1 PINCH ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)



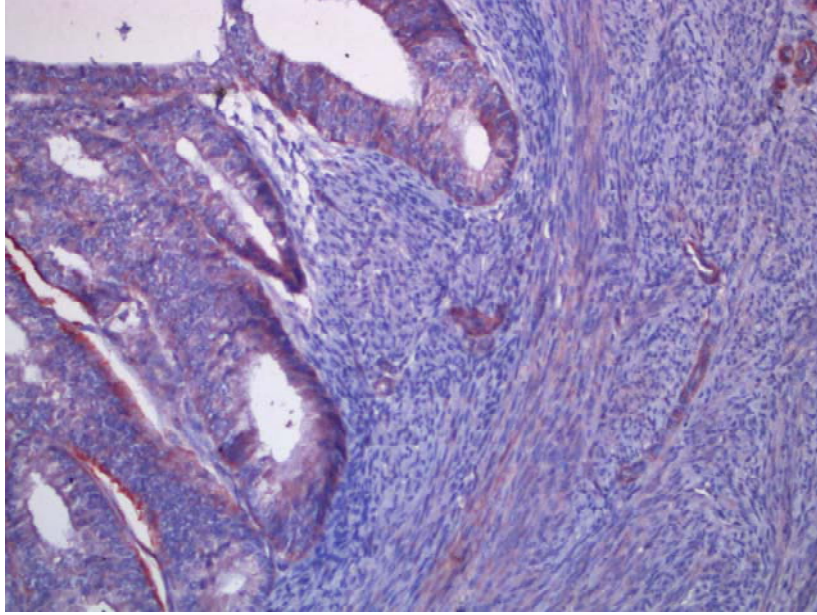
Şekil 24: Basit atipisiz hiperplazide, myoepitelyal hücre ve fibroblastlarda +1 PINCH ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 100)



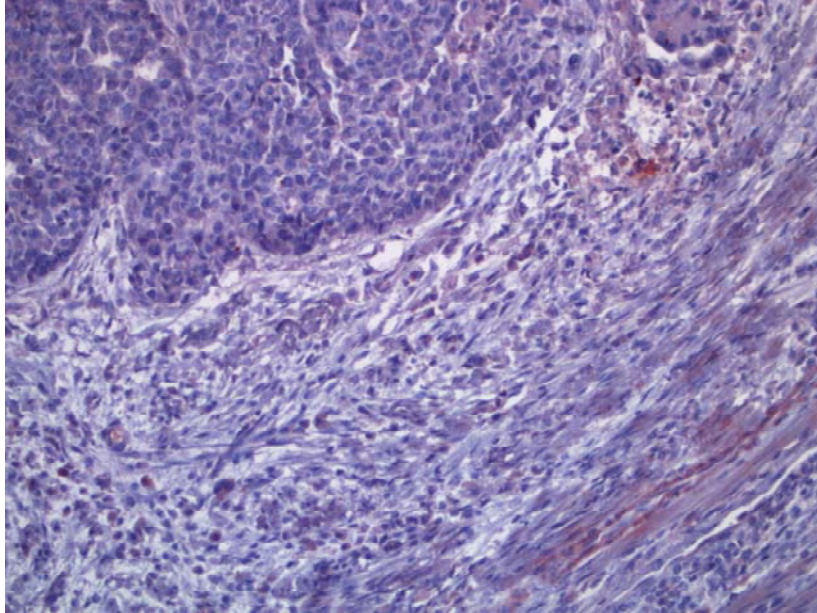
Şekil 25: Kompleks atipili hiperplazide +2 boyanma şiddetinde PINCH ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)



Şekil 26: FIGO grade I tümörde myoepitelyal hücre ve fibroblastlarda +3 pozitif boyanma şiddetinde PINCH ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)



Şekil 27: FIGO grade II tümörde myoepitelyal hücre ve fibroblastlarda +2 PINCH ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)



Şekil 28: FIGO grade III tümörde myoepitelyal hücre ve fibroblastlarda +2 PINCH ekspresyonu (Streptavidin-biyotin peroksidaz x 200)

Boyanma yaygınlığının gruplara göre dağılımı.														
		PE			Atipisiz EH			Atipili EH			EEA			
		n	%	p değeri ¹	n	%	p değeri ¹	n	%	p değeri ¹	n	%	p değeri ¹	
PTEN	0			<0.001			<0.001	2	8,3	p=.002	21	23,6	<0.001	
	1	1	3,7		1	2,5			24		27			
	2				9	22,5			28		31,5			
	3	3	11,1		26	65			16		17,9			
	4	23	85,2		4	10								
PAX2	0			<0.001			<0.001	1	4,2	<0.001			<0.001	
	1								14		15,7			
	2	2	7,4		4	10			51		57,3			
	3	10	37,0		17	42,5			22		24,7			
	4	15	55,6		19	47,5			7		29,2			
PINCH	0	1	3,7	<0.001			<0.001			p=.002			<0.001	
	1	6	22,2		13	44,8			3		12,5	1		1,1
	2	18	66,7		24	82,8			14		58,3	28		31,5
	3	2	7,4		2	6,9			4		16,7	37		41,6
	4				1	3,4			3		12,5	23		25,8
		¹ : EEA ile yapılan istatistiksel karşılaştırma												

Tablo 8: PTEN, PAX2 ve PINCH antikorlarının boyanma yaygınlığının gruplara göre dağılımı

Boyanma şiddetlerinin gruplara göre dağılımı.													
		PE			Atipisiz EH			Atipili EH			EEA		
		n	%	p değeri ¹	n	%	p değeri ¹	n	%	p değeri ¹	n	%	p değeri ¹
PTEN	0-1	1	3,7	<0.001	2	5	<0.001	7	29,2	p=0.014	50	56,2	<0.001
	2	2	7,4		19	47,5		17	70,8		34	38,2	
	3	24	88,9		19	47,5					5	5,6	
PAX2	0-1	2	7,4	<0.001	4	10	<0.001	6	25	p=0.019	48	53,9	<0.001
	2	9	33,3		13	32,5		10	41,7		29	32,6	
	3	16	59,3		23	57,5		8	12,5		12	13,5	
PINCH	0-1	22	81,5	<0.001	29	72,5	<0.001	11	45,8	p=0.002	13	14,6	<0.001
	2	5	18,5		10	25,0		10	41,7		44	49,4	
	3				1	2,5		3	12,5		32	36,0	

¹: EEA ile yapılan istatistiksel karşılaştırma

Tablo 9: PTEN, PAX2 ve PINCH antikorlarının boyanma şiddetlerinin gruplara göre dağılımı

Özellik		PTEN			p değeri	PAX2			p değeri	PINCH			p değeri
		0-1	2	3		0-1	2	3		0-1	2	3	
Evre	1	44	34	5	0,285	43	29	11	0,317	10	43	30	0,036
	2	3				3				2	1		
	3	3				2		1		1		2	
Histolojik grade	I	14	10	1	0,928	13	10	2	0,565	7	11	7	0,159
	II	29	21	3		30	16	7		5	29	19	
	III	7	3	1		5	3	3		1	4	6	
Myometrial invazyon	<%50	28	26	4	0,173	33	20	5	0,056	7	33	18	0,343
	>%50	17	5			10	5	7		4	7	11	
	Yok	5	3	1		5	4			2	4	3	
Anjiyolenfatik	Var	9	3		0,319	5	2	5	0,008	1	5	6	0,521
	Yok	41	31	5		43	27	7		12	39	26	
Lenf nodu metastazı	D.yok	4	5	2	0,304	5	5	1	0,526	5	5	1	0,008
	Yok	42	27	3		40	23	9		7	38	27	
	Var	4	2			3	1	2		1	1	4	
KS	Yok	40	31	5	0,231	39	26	11	0,482	11	36	29	0,56
	Var	10	3			9	3	1		2	8	3	

Tablo 10: PTEN, PAX2 ve PINCH antikorlarının boyanma şiddetlerinin demografik ve prognostik özelliklerle dağılımı

5. TARTIŞMA

Endometrial karsinomlar kadın genital sisteminin en sık görülen invaziv malign tümördür. Beklenen yaşam süresinin uzaması, östrojen kullanımı, çevresel faktörlerdeki değişiklikler, erken tanıma yöntemlerinin geliştirilmesi gibi faktörlere bağlı olarak endometrium karsinomunun insidansının artmış olduğu düşünülmektedir.

Endometrium kanseri en sık 60-70'lı yaşlarda , postmenopozal dönemde görülmekte olup olguların %75'inin 50 yaş üzerinde bildirilmektedir (93). Seksen dokuz endometrioid tip endometrial adenokarsinomdan oluşan bu çalışmada da ortalama yaş $61,11 \pm 9,72$ olarak literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Endometrial adenokarsinomda prognozla ilgili literatürde yapılan çok sayıda araştırma mevcuttur. Bir çok geniş seriyi içeren çalışmalara bakıldığında en önemli prognostik parametrelerin tümörün evresi, myometriyal invazyonun derinliği, tümörün histolojik alt tipi ve grade'i olduğu görülmektedir (94). FIGO evreleme sistemi ilk olarak 1971 yılında klinik ağırlıklı olarak tanımlanmış; 1988 yılında patolojik parametrelerin eklenmesi ile klinikopatolojik evreleme şeklini almıştır. 20 yıl boyunca geçerliliğini koruyan FIGO 1988 evreleme sistemi, 2009 yılında bazı değişiklikler yapılarak yenilenmiştir. Bu çalışmada 83 olgu (%93,3'si) evre I, üç olgu (%3,4) evre II, üç olgu (%3,4) ise evre III idi . Olguların çok büyük çoğunluğunun Evre I olması nedeni ile yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilememiştir ($p=0.664$).

Derin myometrial invazyon gösteren tümörlerin yüksek gradeli olduğu ve nüks oranlarının daha fazla olduğu bildirilmiştir (40). Bu çalışmada myometriyumun yarısını ya da daha fazlasını infiltre eden olguların histopatolojik grade'ine bakıldığında dördü grade I, 13'ü grade iki, beşi grade III idi. Myometriyumun yarısından azını infiltre eden olgulardan 15'i grade I, 37'i grade II, altısı grade III olarak değerlendirilmiştir. Tümörün histolojik grade'i arttıkça myometriyal invazyon oranı artmakta olup myometrial invazyon ile histopatolojik grade arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.039$).

Lenf nodu metastazı ile derin myometrial invazyon, tümör derecesinde artış, damar invazyonu, pozitif peritoneal sitoloji ve servikal tutulum arasında ilişkiyi gösteren literatürde bir çok çalışma mevcuttur. Paraaortik lenf nodlarında metastaz olup olmaması ekstrauterin risk faktörleri arasında en önemli olanıdır (95).

Pelvik lenf nodları ile ilgili Disaia ve arkadaşlarının, yaptıkları çalışmada pelvik lenf nodu negatif olanlarda nüks %10,5 iken pozitif olanlarda %56 olarak bulunmuştur (96). Bizim çalışmamızda yetmiş iki olgu (%80,9) lenf nodu diseksiyonu yapılmış ve metastatik lenf nodu izlenmemiştir. Altı olguda (%6,7) lenf nodu diseksiyonu yapılmış ve metastatik lenf nodları gözlenmiştir. On bir olguda (%12,4) lenf nodu diseksiyon mevcut değildi. Lenf nodu metastazı olan ve olmayan olguların histopatolojik gradeleri karşılaştırıldığında; histopatolojik grade arttıkça, lenf nodu metastaz oranının arttığını saptanmış olup aradaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.039$).

Endometrial karsinomların en çok görülen subtipi endometrioid tip endometrial adenokarsinomdur. Bu subtipe sıklıkla odaksal bir prekanseröz lezyon öncülük eder. Prekanseröz lezyonlar (endometrial hiperplaziler) 1994 yılında DSÖ tarafından, yapısal kompleksite ve sitolojik atipi varlığına göre sınıflandırılmıştır ve bu sınıflama günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan son araştırmalar endometrial karsinom gelişiminin çok basamaklı bir olay olduğunu desteklemektedir. Kurman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 170 endometrial hiperplazi olgusu , 1-26,7 yıl arasında (ortalama 13.4 yıl) değişen sürelerde takip edilmiş ve basit atipili hiperplazi olgularının % 1, kompleks atipili hiperplazi olgularının % 3, basit atipili hiperplazi olgularının % 8 ve kompleks atipili hiperplazi olgularının ise % 29 oranında kansere progresyon gösterdikleri görülmüştür (23).

Endometrial malignitelerin ilerleme mekanizmalarını anlamak için normal proliferatif endometrium ve neoplastik endometrium geniş bir şekilde çalışılmıştır. Endometrioid tip endometrial adenokarsinomların etyolojisinde endometrial hiperplazi ile ekzojen veya endojen artmış östrojenik stimülasyon en önemli nedenler arasındadır. Normal endometriumun yükselmiş östrojenik stimülasyona cevabı değişken olup hiperplazilerin çoğu östrojenik sitümulasyona verilen proliferatif bir cevap olarak ortaya çıkmaktadır. Karşılanmamış östrojen önceden mutasyona uğramış hücrede klonal ekspansiyona neden olduğu ve östrojen stimülasyonu altında mutant hücrelerin selektif proliferatif avantaj elde ettikleri düşünülmektedir.

Endometrial hiperplazilerin kansere dönüşüm mekanizmalarının moleküler temeli, endometrial karsinomlarda karsinogenezisde rol alan faktörler ve bunların prognostik etkileri en çok araştırılan konular arasındadır. Endometrial hiperplaziler ve iyi differansiye endometrial adenokarsinom olgularının ayırımında ve tümöre progresyon gösteren hiperplazi olgularının belirlenmesinde morfolojik kriterler dışında kullanılacak belirleyicilerin saptanması ayırıcı tanıda olduğu kadar tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde de önem taşımaktadır. Literatürde endometrial dokuların tümöre progresyonunu ve gelişimini anlamak için son yıllarda kullanılan belirteçler MMP-2 (Matriks metalloproteinaz-2), “Wnt-induced secreted protein-1” (WISP-1), “astrocyte elevated gene-1” (AEG-1), Ezh2, Runx3 ve Caspase-3 proteinleri, Syndecan-1, CD24, PTTG1 (“Human pituitary tumor-transforming gene-1), HOXA10, ALCAM/CD166, COX2, RCAS1, Rb2/p130, bcl2, p53, p21 ve östrojen reseptörleri örnek verilebilir (97-104).

Proliferatif endometrium, endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinomlardan oluşan 180 olguluk bu seride birbiri ile devamlılık gösteren ve zaman zaman iç içe geçen progresyon sürecini araştırmak amacı ile PTEN, PAX2 ve PINCH belirteçlerini kullanılmıştır.

PTEN/ MMAC-1/TEP1 (Phosphatase and tensin homologue) kromozom 10q23.3'te lokalize, lipid fosfataz ve protein tirozin fosfataz aktiviteli bir tümör supresör genidir. Hücrenin büyümesi, çoğalması, yaşamı ve migrasyonu gibi çok sayıda hücresel fonksiyonları denetlemektedir. PTEN mutasyonlarının genetik anomalilerin başında frameshift ve missense mutasyonlar ile homozigot gen kayıpları gelmektedir. Hücre içi PTEN düzeyinin artması ve buna

bağlı Akt inaktivasyonu hücre siklusunda G1 arresti ve apoptozise neden olur.

PTEN fonksiyonu olmayan hücrelerde ise hücre proliferasyonu artmaktadır (56).

PTEN gen mutasyonu ve mikrosatellit instabilite endometrioid tip endometrial adenokarsinomlarda en sık ve morfolojik değişikliklerin olmadığı en erken dönemde ortaya çıkan genetik anormallikler olup diğer endometrial adenokarsinom subtiplerinden ayırmak için önemli bir göstergedir (105).

Mutter ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada endometrial prekanserlerde %18-55, endometrioid tip endometrial adenokarsinomlarda %26-80 oranında PTEN geninde mutasyon gösterilmiştir (106).

Risinger; 115'i endometrioid tip, 21'i nonendometrioid (şeffaf/seröz) karsinom olan 136 endometrial karsinomdan oluşan seride olguların %44'ünde (%32) PTEN gen mutasyonu saptanmıştır. PTEN mutasyonu saptanan olguların %37 si endometrioid tipte (43 vaka), %5 'i ise (1 vaka) nonendometrioid tiptedir.

Endometrial hiperplazilerde PCR yöntemi ile PTEN gen mutasyonunun araştırıldığı bir çalışmada; atipili hiperplazilerin %19'unda, atipisiz hiperplazilerin ise %21'inde PTEN mutasyonu olduğu gösterilmiştir. (107).

Moleküler temel tam olarak açıklanamadığı için, PTEN ile prognostik faktörler arasındaki ilişki net değildir. Yasunobu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PTEN mutasyonu ile yaş, evre, myometrial invazyon ve histolojik grade arasında ilişkisi gösterilememiş, ancak adjuvan radyoterapi ve kemoterapi alan hastalarda; kemoterapi alan grupta PTEN pozitif olan olguların sağkalım oranlarının PTEN negatif veya mikst paternde boyanan gruba göre önemli ölçüde yüksek olduğu görülmüştür (108).

Bu çalışmada PTEN boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti proliferatif endometriumda en yüksek, endometrial hiperplazilerde orta, karsinomlarda ise en düşük oranda bulunmuştur ve bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p < 0.001$). Bu sonuç PTEN'in endometriumun normal lezyonlarında eksprese olduğu ve progresif hastalık sürecinde ekspresyonun azaldığı görüşünü desteklemektedir. Gruplar kendileri arasında boyanma kuvvetine göre karşılaştırıldığında atipili endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamakla birlikte ($p = 0.14$), atipisiz endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında ($p < 0.001$), proliferatif endometrium ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında ($p < 0.001$) istatistiksel olarak anlam fark olduğu saptanmıştır. Atipili endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında anlamlı fark olmaması karsinogenez basamakları arasındaki geçişin keskin sınırlarla olmadığını desteklemektedir. Verilerle atipili endometrial hiperplazide PTEN kaybının atipisiz endometrial hiperplaziye göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. PTEN prognostik parametrelerle ilişkisine bakıldığında; grade ($p > 0,005$), lenfovasküler invazyon ($p > 0,005$), lenf nodu metastazı ($p > 0,005$), Evre ($p > 0,005$), Myometrial invazyon ($p > 0,005$) ve korpus serviks sınırı invazyonu ($p > 0,005$) arasında ilişki saptanmamıştır.

Zhou ve arkadaşlarına göre; PTEN, Akt aktivasyonunu inhibe ederek telomeraz aktivitesini düzenler. Böylece PTEN kaybı endometriyal hücreleri yüksek düzeyde telomeraz ekspresyonuna devam etmesini sağlar ve endometriumdaki neoplastik transformasyonu kolaylaştırır. AKT ekspresyonu ile

PTEN ekspresyonu negatif korelasyondadır (109, 110). Bu araştırmalar tezimizdeki PTEN ve AKT yolağında adaptör olan PINCH proteininin ekspresyon farklılığını açıklar.

PAX genleri transkripsiyon faktörleri olarak çalışır ve DNA'ya bağlanan proteinleri kodlar. Aynı zamanda proto-onkogen gibi davranabilir ve aşırı ekspresyonu tümör gelişiminde rol oynayabilir.

Qihui ve arkadaşlarının 2010'da yaptığı çalışmada, 937 normal ve reaktif dokular ,759 primer tümör ve 332 metastatik tümörden oluşan çok geniş bir seride PAX2 ekspresyonu değerlendirilmiştir. Çalışmada PAX2 transkripsiyon faktörünün organogenez aşamasında eksprese olup matürasyon sırasında kaybolduğu görüşünün, müllerian kökenli tümörler için geçerli olmadığı gösterilmiştir. Bulgular PAX2'nin sadece embriyogenez aşamasında rol almadığı aynı zamanda matür dokuda homeostazı sağladığını düşündürmektedir. Bu çalışmada endometrial polip, overian epitelyal inklüzyon kisti, endometriozis ve adenomyoziste de glandüler epitelde PAX2'nin kuvvetli pozitif olduğu ancak stromal hücrelerde negatif olduğu gösterilmiştir (6).

Nicolas ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı çalışmada endometrial kanser ve prekanserlerde PAX2 ve PTEN ekspresyonları incelenmiş; 62 endometrial karsinom, 52 prekanser ve 191 proliferatif endometrium olgusunda normal endometriumlarda %36, prekanserlerde %71, karsinomlarda %77 oranında PAX2 ekspresyon kaybı saptanmışlardır. PAX2'nin PTEN gibi tümör supresor gen olarak çalıştığı, ancak mekanizmasının tam olarak aydınlatılmadığını görülmektedir (79).

Huijian ve arkadaşlarının 53 endometrioid tip endometrial adenokarsinom ve 19 normal endometrium oluşan serilerinde metilasyon spesifik PCR yöntemiyle yapılan çalışmada ; 53 karsinom olgusundan 40'ında PAX2 geninde hipometilasyon saptanmıştır. Bu bulgu PAX2 geninin karsinogenezde endometrial hücrelerde büyüme ve proliferasyonu hipometilasyonla sağladığı görüşünü desteklemektedir. (82).

PAX2 proteinin müllerian kanalın gelişiminden sorumlu olduğuna dair çok sayıda literatür bilgisi mevcuttur. Ancak müllerian kanalın matür normal dokularında veya kanser dokularında PAX2 ekspresyonunu gösteren az sayıda çalışma mevcuttur. Endometrium karsinogenezinde PAX2 ekspresyonu rolünü araştıran sınırlı sayıda kaynak mevcuttur. Bu çalışmada normal endometrium, endometrial hiperplaziler ve endometrial karsinomda PAX 2 ekspresyonu karşılaştırılmış; aynı zamanda literatürde olmayan PAX2 geninin endometrial kanserlerde klinik ve histopatolojik prognostik faktörlerle ilişkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

PAX2 ile elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti proliferatif endometriumda en yüksek, hiperplazilerde orta, karsinomlarda ise boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti en düşük oranda bulunmuştur ve farklar istatistiksel olarak anlamlıdır($p<0.001$). PTEN ekspresyonu ile benzer şekilde normalden malignite yönünde ilerleyişte PAX2 boyanma yaygınlığı ve kuvvetinde belirgin bir düşüş saptanmıştır. Gruplar kendileri arasında boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında atipili endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında istatistiksel

olarak anlamlı fark saptanmamakla birlikte ($p=0.19$), atipisiz endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında ($p<0.001$), proliferatif endometrium ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında ($p<0.001$) istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur. Bu veri ışığında atipili endometrial hiperplazide PAX2 kaybının atipisiz endometrial hiperplaziye göre daha yüksek olduğu belirtilebilir. Bulgular PAX2 mutasyonunun endometrioid adenokarsinomlarda karsinogenezisin erken basamaklarında rol aldığını düşündürmektedir.

PAX2 ekspresyonunun klinikopatolojik prognostik parametrelerle ilişkisine bakıldığında; grade ($p>0,005$), lenfovasküler invazyon ($p>0,005$), lenf nodu metastazı ($p>0,005$), Evre ($p>0,005$), Myometrial invazyon ($p>0,005$) ve korpus serviks sınırı invazyonu ($p>0,005$) arasında ilişki saptanmamıştır.

PINCH hücre adezyonunda rol alan integrin-linked kinase (ILK) ile LIM domaini ile bağlanıp adaptör yani köprü görevi görür. PINCH ekspresyonu ilk olarak tümör stromasında fibroblastoid hücrelerin sitoplazmasında gösterilmiş. İlerleyen zamanlarda PINCH'in tümörle ilişkili stromada, fibroblastlarda, myoblastlarda ve endotel hücrelerinde eksprese olduğu gözlenmiştir (92)

Endometrial dokularda PINCH ekspresyonu ilk kez Hogn-Zhen Zhang ve arkadaşları tarafından yapılmıştır ve literatürde başka çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada PINCH ekspresyonu, 23 normal endometrium, 18 atipik endometrial hiperplazi, 48 endometrioid endometrial adenokarsinom olgusunda değerlendirilmiştir. PINCH ekspresyonu her üç grupta glandüler epitelyal komponente benzer oranlarda boyanma göstermiş ve gruplar arasında istatistiksel

olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Buna karşılık stromadaki fibroblast ve myofibroblast sitoplazma ve membranlarında değişkenlik göstermiş. Kanserli olguların stromasında ki PINCH pozitifliği, normal endometriumdaki PINCH pozitifliği ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuş. Atipik endometrial hiperplazilerde %39 (p=0.017), normal endometrium vakalarında %17 (p<0.001) oranında ekspresyon gözlenmiş. Dokuz kanser olgusunda invaziv cerrahi sınırdaki PINCH pozitifliği daha kuvvetli bulunmuş. Menapoz durumu, gravide, histolojik grade, myometrial invazyon, serviks, östrojen ve progesteron reseptörü ile PINCH ekspresyonu arasında ilişki bulunamamıştır. İntegrin ve büyüme faktörü sinyal iletim yolağında adaptör proteini olarak rol alan PINCH proteininin, endometrial kanser ve diğer sık görülen malign tümörlerin tedavisinin şekillenmesi açısından diğer moleküler belirleyici ajanlar gibi üzerinde çalışılması gereken bir protein olduğu düşünülmektedir. (92).

Bu çalışmada da PINCH ekspresyonu sonuçları Hong-Zhen Zhang ve arkadaşlarının çalışmasına benzerdir. PINCH ile elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında proliferatif endometriumda boyanma yaygınlığı ve boyanma kuvveti en düşük, hiperplazilerde orta, karsinomlarda ise boyanma yaygınlığı ve boyanma kuvveti en yüksek oranda bulunmuştur (p<0.001). Bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır. Normalden malignite yönünde ilerlemeyle belirgin bir yükselme saptanmış olup bulgular PAX2 ve PTEN ile ters korelasyondadır. Gruplar kendileri arasında boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında atipili endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamakla birlikte (p=0.07), atipisiz

endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında ($p<0.001$), proliferatif endometrium ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında boyanma şiddetine göre fark olup istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.001$). Gruplar arasındaki farklılık yaratan faktör proliferatif endometrium ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasındaki boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddetinden kaynaklanmaktadır. PINCH prognostik parametrelerle ilişkisine bakıldığında; grade ($p>0.005$), lenfovasküler invazyon ($p>0.005$), lenf nodu metastazı ($p>0.005$), Evre ($p>0.005$), Myometrial invazyon ($p>0.005$) ve korpus serviks sınırı invazyonu ($p>0.005$) arasında ilişki saptanmamıştır.

PINCH ekspresyonu özefagus skuamöz hücreli karsinomları, kolorektal karsinomlar ve glial tümörler gibi bir çok tümörde değişik serilerde çalışılmıştır. Bu çalışmalarda dikkat çeken en önemli sonuç tümörle ilişkili stromada PINCH ekspresyonunun normal dokulara göre artış göstermesidir.

Fertilinin korunması gereken genç hastalarda özellikle küretaj materyallerinde kompleks atipili endometrial hiperplazi ile endometrioid tip endometrial adenokarsinom ayrımı en fazla sıkıntı yaratan konulardan biridir. Bu çalışmada PTEN, PAX2 ve PINCH ekspresyonları normal endometrium dokularında, endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinomlarda değerlendirmiştir. Literatür ile uyumlu olarak; PTEN ve PAX2'nin normal endometrium dokularında yüksek oranda eksprese olduğu progresif olarak endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinomlarda ise ekspresyonun azaldığı izlenmiştir. Ancak her belirleyici

atipili endometrial hiperplazi ve endometrioid karsinom olgularında benzer oranlarda ekspresyon göstermektedir. Bulgular bu iki antite arasında ayırıcı tanı gücünü yaratan biyopsilerde PTEN ve PAX2 antikorunun yarar sağlayamayacağını göstermektedir.

PINCH ekspresyonu ise PTEN ve PAX2 ile ters orantılıdır. PINCH ve PTEN ekspresyon farklılığı ILK/PINCH/Parvin kompleksiyle PTEN'in PIP3 kinaz yolağı ile açıklanmaktadır. ILK/PINCH/Parvin kompleksinde yer alan AKT ekspresyonu ile PTEN ekspresyonu negatif korelasyondadır. Bu çalışmada tümör stromasında artmış PINCH ekspresyonu saptanmıştır. Normal endometrial stromadaki PINCH ekspresyonu ile tümör stromasındaki PINCH ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar mevcuttur ($p < 0.001$). Ancak PTEN ve PAX2 ekspresyonunda olduğu gibi atipili endometrial hiperplazi ile endometrial karsinomlar arasında fark izlenmedi.

PTEN, PAX2 ve PINCH ekspresyonun klinikopatolojik prognostik parametrelerle ilişkisine bakıldığında; histopatolojik grade, lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı, evre, myometrial invazyon ve korpus serviks sınırı invazyonu arasında ilişki saptanmamıştır ($p > 0.005$).

Sonuç olarak PTEN, PAX2 ve PINCH antikorları endometrial karsinogenezinde ve gelişiminde rol oynadıkları düşünülmektedir. Ancak bu bulgular ışığında, uzun süreli takibi bulunan geniş seri olgularda, farklı prognostik faktörlerin ele alındığı çalışmaların yapılması uygun olur.

6. SONUÇ

1. Çalışmaya 27 proliferatif endometrium, 24 kompleks atipili hiperplazi, 10 kompleks atipisiz hiperplazi, 30 basit atipisiz hiperplazi ve 89 endometrioid tip endometrial adenokarsinom olgusu alınmıştır.

2. Olguların klinik ve patolojik özelliklerinin histolojik grade'e göre dağılımı

-Histolojik grade yükseldikçe myometrial invazyon oranının istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı. ($p<0.039$).

-Histolojik grade arttıkça, lenf nodu metastaz oranının istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği bulunmuştur ($p<0.039$).

-Diğer prognostik faktörler olan, korpus serviks sınır pozitifliği, anjiolenfatik invazyon ve evre ile histolojik grade arasında ilişki saptanmamıştır.

3. PTEN ve PAX2 ekspresyonlarına bakıldığında, boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti proliferatif endometriumda en yüksek, hiperplazilerde orta, karsinomlarda ise en düşük oranda bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.001$). Normalden malignite yönünde ilerleyişte PTEN ve PAX2 boyanma yaygınlığı ve kuvvetinde, istatistiksel olarak anlamlı, belirgin azalma görülmektedir.

4. PTEN ve PAX2 ekspresyonunda; gruplar kendileri arasında boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında atipisiz endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında ($p<0.001$), proliferatif endometrium ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında ($p<0.001$) olup istatistiksel olarak anlamlıdır. PTEN ve PAX2 ekspresyonları atipili endometrial hiperplazi ve

endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemektedir. ($p=0.014$ ve $p=0.019$, sırasıyla).

5. PINCH ekspresyonuna bakıldığında boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti proliferatif endometriumda en düşük, hiperplazilerde orta, karsinomlarda ise en yüksek oranda bulunmuştur ($p<0.001$). Normalden malignite yönünde ilerleyişte PINCH ekspresyonunda belirgin bir artış saptanmış olup bulgular PAX2 ve PTEN ile ters korelasyon göstermektedir. Gruplar kendileri arasında boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında atipili endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamakla birlikte ($p=0.07$), atipisiz endometrial hiperplazi ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında ($p<0.001$), proliferatif endometrium ve endometrioid tip endometrial adenokarsinom arasında boyanma şiddetine göre fark olup istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.001$).

6. Endometrioid adenokarsinom olgularında PTEN, PAX2 ve PINCH ekspresyonu ile bilinen histopatolojik prognostik parametreler karşılaştırıldığında; histopatolojik grade, anjiolenfatik invazyon, lenf nodu metastazı, evre, myometrial invazyon ve korpus serviks sınırı tutulumu arasında ilişki saptanmamıştır ($p>0,005$)

7. PTEN, PAX2 ve PINCH ekspresyonunda atipili endometrial hiperplazi ile endometrioid adenokarsinomlar arasında ekspresyon farkı izlenmedi.

7. ÖZET

Endometrium kanserleri kadın genital sisteminin en sık görülen kanserleridir ve % 80'den fazlasını endometrioid tip adenokarsinomlar oluşturur. Bu tümörlerin endometrial hiperplazi zemininden geliştiği kabul edilmektedir. Prekanseroz odakların sıklıkla invaziv kansere eşlik ediyor olması ya da tek başına saptandıklarında dahi oldukça hızlı progresyon göstermesi araştırmacıları erken tanı açısından normal endometriümden karsinoma geçiş sekansında oluşan moleküler değişiklikleri bulmaya itmiştir. Bu nedenle immunhistokimyasal belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2005-2011 yılları arasında tanı almış 27 proliferatif endometrium, 24 kompleks atipili hiperplazi, 10 kompleks atipisiz hiperplazi, 30 basit atipisiz hiperplazi, 89 endometrioid tip endometrial adenokarsinom olguları alınmıştır. Bu olgulara immunohistokimyasal yöntem ile PTEN, PAX2 ve PINCH antikorları uygulanmıştır.

İmmunhistokimya boyama sonucunda normalden malignite yönünde ilerleyişte PTEN ve PAX2 boyanma yaygınlığı ve şiddetinde, istatistiksel olarak anlamlı, belirgin bir azalma saptanmıştır. PINCH ekspresyonunda ise normalden malignite yönünde ilerleyişte belirgin bir artış saptanmış olup bulgular PAX2 ve PTEN ile ters korelasyon göstermektedir. Endometrioid adenokarsinom olgularında PTEN, PAX2 ve PINCH ekspresyonu ile bilinen histopatolojik prognostik parametreler ile karşılaştırıldığında; histopatolojik grade, anjiolenfatik

invazyon, lenf nodu metastazı, evre, myometrial invazyon ve korpus serviks sınırı tutulumu arasında ilişki saptanmamıştır.

Sonuç olarak PTEN, PAX2 ve PINCH'in endometrial karsinogenezinde rol oynadıkları düşünülmektedir. Ancak bu belirleyicilerin prognostik önemini belirlemek için uzun süreli takibi bulunan geniş serilerde, çalışmaların yapılmasının uygun olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Endometrial Hiperplazi, Endometrioid tip endometrial adenokarsinom, PTEN, PAX2, PINCH

8. SUMMARY

More than 80% of endometrium malignancies which make up the most frequent malignancy of female genital system, consist of endometrioid type adenocarcinomas. It is assumed that these tumors develop on a basis of endometrial hyperplasia. The aim for early diagnosis lead researchers to define the molecular changes which occur during transition from normal endometrium to carcinoma since precancerous foci frequently accompany invasive cancer or show rapid progression even when they are determined in a sole manner. Therefore immunohistochemical markers are needed.

In this study 27 proliferative endometrium, 24 complex atypical hyperplasia, 10 complex hyperplasia without atypia, 30 simple hyperplasia without atypia, and 89 endometrioid type endometrial adenocarcinoma cases were enrolled, who were diagnosed between 2005-2011 at the Department of Pathology, Gazi University Faculty of Medicine. PTEN, PAX2 and PINCH antibodies were applied immunohistochemically to these cases.

Results of immunohistochemical staining revealed that during progression from normal to malignancy, staining distribution and intensity of both PTEN and PAX2 were found to decrease significantly. Expression of PINCH on the other hand was found to be increased distinctly during progression from normal to malignancy which correlated reversely with PAX2 and PTEN expressions. When PTEN, PAX2 and PINCH expressions in endometrioid adenocarcinoma cases were compared with common histopathologic prognostic parameters, a relation between histopathologic grade, angiolymphatic invasion, lymph node metastasis,

stage, myometrial invasion and involvement of corpus cervix margin was not detected.

In conclusion, it is assumed that PTEN, PAX2 and PINCH could be involved in endometrial carcinogenesis. However to define the prognostic importance of these markers, studies in larger scale with long-term follow-up could be performed.

Key Words: Endometrial Hyperplasia, Endometrioid Type Endometrial Adenocarcinoma, PTEN, PAX2, PINCH

9. KAYNAKLAR

1. Ronnett BM, Ellenson LH, Kurman RJ. Endometrial Karsinom In: , Kurman RJ Blaustein's Pathology of the female genital tract. 6th. ed. USA: Springer, 305-453, 2011.
2. Azueta A, Gatus S, Matias-Guiu X. Endometrioid carcinoma of the endometrium: pathologic and molecular features. *Semin Diagn Pathol.* 2010 Nov;27(4):226-40.
3. Samarathai N, Hall K, Yeh IT. Molecular profiling of endometrial malignancies. *Obstet Gynecol Int.* 2010;2010:162363. Epub 2010 Mar 28.
4. Clement PB, Young RH. Endometrioid carcinoma of the uterine corpus: a review of its pathology with emphasis on recent advances and problematic aspects. *Adv Anat Pathol.* 2002 May;9(3):145-84.
5. Ioffe YJ, Chiappinelli KB, Mutch DG, Zigelboim I, Goodfellow PJ. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) pseudogene expression in endometrial cancer: a conserved regulatory mechanism important in tumorigenesis? *Gynecol Oncol.* 2011 Oct 15.
6. Zhai QJ, Ozcan A, Hamilton C, Shen SS, Coffey D, Krishnan B, Truong LD. PAX-2 expression in non-neoplastic, primary neoplastic, and metastatic neoplastic tissue: A comprehensive immunohistochemical study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2010 Jul;18(4):323-32.
7. Gao J, Arberman G, Rearden A, Sun XF. Stromal staining for PINCH is an independent prognostic indicator in colorectal cancer. *Neoplasia.* 2004 Nov-Dec;6(6):796-801.
8. Wu C. PINCH, N(i)ck and the ILK: network wiring at cell-matrix adhesions. *Trends Cell Biol.* 2005 Sep;15(9):460-6. Review.
9. Crum CP. The female genital tract. In: Kumar, Abbas, Fausto. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease.* 7th ed, China: Elsevier Saunders 2005; 1059-1117.
10. Michael R. Hendrickson, Kristen A. Atkins, and Richard L. Kempson. Female Genital System. In: Stacey E. Mills. *Histology For Pathologists.* 3th ed, USA: Lippincott Williams&Wilkins, 1011-1063, 2007
11. Michael H. Ross, Gordon I Kaye, Wojciech Pawlina. Female Reproductive System. *Histology: A Text and Atlas.* 4th ed, USA: Lippincott Williams&Wilkins, 743-751, 2002

12. Michael T.Mazur, Robert J.Kurman. Normal endometrium and infertility evaluation. Diagnosis of endometrial biopsies and curettings. 2th ed, USA: Springer, 7-31, 2004
13. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. Am J Obstet Gynecol. 1975 May;122(2):262-3
14. Mills AM, Longacre TA. Endometrial hyperplasia. Semin Diagn Pathol. 2010 Nov;27(4):199-214.
15. Philip B.Clement, Robert H. Young. Endometrial Hiperplasia and carcinoma. Atlas Of Gynecologic Surgical Pathology. 2th ed, USA:Elsevier, 161-195, 2008
16. Jarboe EA, Mutter GL. Endometrial intraepithelial neoplasia. Semin Diagn Pathol. 2010 Nov;27(4):215-25.
17. Hendricson MR, Kempson LR. Uterus and fallopian tubes. Stenberg SS, In histology for pathologists. Ist. New York: Raven pres; 1992.p797–835.
18. Mutter GL, Zaino RJ, Baak JP, Bentley RC, Robboy SJ. Benign endometrial hyperplasia sequence and endometrial intraepithelial neoplasia. Int J Gynecol Pathol. 2007 Apr;26(2):103-14. Review.
19. Sivridis E, Giatromanolaki A. The endometrial hyperplasias revisited. Virchows Arch. 2008 Sep;453(3):223-31.
20. Horn LC, Schnurrbusch U, Bilek K, Hentschel B, Einkenkel J. Risk of progression in complex and atypical endometrial hyperplasia: clinicopathologic analysis in cases with and without progestogen treatment. Int J Gynecol Cancer. 2004 Mar-Apr;14(2):348-53.
21. Zheng W, Chambers SK. Histopathology of endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma. An update by Dr LC Horn et al in Annals of Diagnostic Pathology 2007;11:297-311.
22. Kurman RJ, Norris HJ. Evaluation of criteria for distinguishing atypical endometrial hyperplasia from well-differentiated carcinoma. Cancer. 1982 Jun 15;49(12):2547-59.
23. Kurman R, Kaminski PF, Norris HJ. The behavior of endometrial hyperplasia: a longterm study of “untreated” hyperplasia in 1970 patients. Cancer 1985;56:403–12.
24. Tavassoli FA,Deville P, eds. World Health Organization Classification of Tumors: Pathology and Genetics. Tumors of the Breast and Female Genital Organs. Lyon,France: IARC Pres, 2003:217-27.

25. Samarthai N, Hall K, Yeh IT. Molecular profiling of endometrial malignancies. *Obstet Gynecol Int.* 2010;2010:162363. Epub 2010 Mar 28.
26. Zaino RJ, Kurman RJ. Squamous differentiation in carcinoma of the endometrium: a critical appraisal of adenoacanthoma and adenosquamous carcinoma. *Semin Diagn Pathol.* 1988 May;5(2):154-71.
27. Zaino RJ, Kurman RJ, Brunetto VL, Morrow CP, Bentley RC, Cappellari JO, Bitterman P. Villoglandular adenocarcinoma of the endometrium: a clinicopathologic study of 61 cases: a gynecologic oncology group study. *Am J Surg Pathol.* 1998 Nov;22(11):1379-85.
28. Silva EG, Young RH. Endometrioid neoplasms with clear cells: a report of 21 cases in which the alteration is not of typical secretory type. *Am J Surg Pathol.* 2007 Aug;31(8):1203-8. Erratum in: *Am J Surg Pathol.* 2007 Oct;31(10):1628.
29. Low SE, Nicol A. Ciliated cell variant of endometrioid adenocarcinoma: a rare tumour. *J Clin Pathol.* 2004 Dec;57(12):1341-2.
30. Hendrickson MR, Kempson RL. Ciliated carcinoma--a variant of endometrial adenocarcinoma: a report of 10 cases. *Int J Gynecol Pathol.* 1983;2(1):1-12.
31. Fujiwara M, Longacre TA. Low-grade mucinous adenocarcinoma of the uterine corpus: a rare and deceptively bland form of endometrial carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2011 Apr;35(4):537-44.
32. Fader AN, Boruta D, Olawaiye AB, Gehrig PA. Uterine papillary serous carcinoma: epidemiology, pathogenesis and management. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2010 Feb;22(1):21-9.
33. Boruta DM 2nd, Gehrig PA, Fader AN, Olawaiye AB. Management of women with uterine papillary serous cancer: a Society of Gynecologic Oncology (SGO) review. *Gynecol Oncol.* 2009 Oct;115(1):142-53. Epub 2009 Jul 9. Review.
34. Gadducci A, Cosio S, Spirito N, Cionini L. Clear cell carcinoma of the endometrium: a biological and clinical enigma. *Anticancer Res.* 2010 Apr;30(4):1327-34.
35. Mariño-Enríquez A, González-Rocha T, Burgos E, Stolnicu S, Mendiola M, Nogales FF, Hardisson D. Transitional cell carcinoma of the endometrium and endometrial carcinoma with transitional cell differentiation: a clinicopathologic study of 5 cases and review of the literature. *Hum Pathol.* 2008 Nov;39(11):1606-13. Epub 2008 Jul 11

36. Ahluwalia M, Light AM, Surampudi K, Finn CB. Transitional cell carcinoma of the endometrium: a case report and review of the literature. *Int J Gynecol Pathol.* 2006 Oct;25(4):378-82.
37. Bige O, Saatli B, Secil M, Koyuncuoglu M, Saygili U. Small cell neuroendocrine carcinoma of the endometrium and laparoscopic staging: a clinicopathologic study of a case and a brief review of the literature. *Int J Gynecol Cancer.* 2008 Jul-Aug;18(4):838-43. Epub 2007 Sep 14. Review.
38. Murray SK, Clement PB, Young RH. Endometrioid carcinomas of the uterine corpus with sex cord-like formations, hyalinization, and other unusual morphologic features: a report of 31 cases of a neoplasm that may be confused with carcinosarcoma and other uterine neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2005 Feb;29(2):157-66.
39. Uharcek P. Prognostic factors in endometrial carcinoma. *J Obstet Gynaecol Res.* 2008 Oct;34(5):776-83
40. Prat J. Prognostic parameters of endometrial carcinoma. *Hum Pathol.* 2004 Jun;35(6):649-62. Review.
41. Grigsby PW, Perez CA, Kuten A, Simpson JR, Garcia DM, Camel HM, et al. Clinical stage I endometrial cancer: results of adjuvant irradiation and patterns of failure. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991;21(2):379-85.
42. Creutzberg CL, van Putten WL, Wárlám-Rodenhuis CC, van den Bergh AC, de Winter KA, Koper PC, et al. Outcome of high-risk stage IC, grade 3, compared with stage I endometrial carcinoma patients: the Postoperative Radiation Therapy in Endometrial Carcinoma Trial. *J Clin Oncol* 2004;22(7):1234-41.
43. Sivridis E, Giatromanolaki A. Prognostic aspects on endometrial hyperplasia and neoplasia. *Virchows Arch.* 2001 Aug;439(2):118-26. Review
44. Kaku T, Tsuruchi N, Tsukamoto N, Hirakawa T, Kamura T, Nakano H. Reassessment of myometrial invasion in endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol.* 1994 Dec;84(6):979-82
45. Mlyncek M, Uharcek P. Peritoneal cytology in endometrial cancer. *Neoplasma.* 2005;52(2):103-8. Review.
46. Takeshima N, Nishida H, Tabata T, Hirai Y, Hasumi K. Positive peritoneal cytology in endometrial cancer: enhancement of other prognostic indicators. *Gynecol Oncol* 2001;82(3):470-473.

47. Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, Creasman WT, Heller P, Homesley HD, Graham JE. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol.* 1991 Jan;40(1):55-65.
48. Song T, Lee JW, Kim HJ, Kim MK, Choi CH, Kim TJ, Bae DS, Kim BG. Prognostic significance of DNA ploidy in stage I endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2011 Jul;122(1):79-82. Epub 2011 Apr 13.
49. Salvesen HB, Akslen LA. Molecular pathogenesis and prognostic factors in endometrial carcinoma. *APMIS.* 2002 Oct;110(10):673-89. Review.
50. Kim JJ, Chapman-Davis E. Role of progesterone in endometrial cancer. *Semin Reprod Med.* 2010 Jan;28(1):81-90. Epub 2010 Jan 26. Review.
51. Engelsens IB, Akslen LA, Salvesen HB. Biologic markers in endometrial cancer treatment. *APMIS.* 2009 Oct;117(10):693-707. Review.
52. Czerwenka K, Lu Y, Heuss F. Amplification and expression of the c-erbB-2 oncogene in normal, hyperplastic, and malignant endometria. *Int J Gynecol Pathol.* 1995 Apr;14(2):98-106
53. Sivridis E. Angiogenesis and endometrial cancer. *Anticancer Res.* 2001 Nov-Dec;21(6B):4383-8. Review.
54. Maxwell GL, Risinger JI, Alvarez AA, Barrett JC, Berchuck A. Favorable survival associated with microsatellite instability in endometrioid endometrial cancers. *Obstet Gynecol.* 2001 Mar;97(3):417-22
55. Tinelli A, Mezzolla V, Leo G, Pisanò M, Storelli F, Alemanno G, Malvasi A, Tommasi S, Ronzino G, Lorusso V. Microsatellite instability (MSI) as genomic markers in endometrial cancer: toward scientific evidences. *Mini Rev Med Chem.* 2010 Dec;10(14):1356-65. Review.
56. PTEN function in normal and neoplastic growth. *Cancer Lett.* 2006 Sep 28;241(2):184-96. Epub 2006 Jan 18. Review.
57. Merritt MA, Cramer DW. Molecular pathogenesis of endometrial and ovarian cancer. *Cancer Biomark.* 2011;9(1-6):287-305.
58. Cheung LW, Hennessy BT, Li J, Yu S, Myers AP, Djordjevic B, Lu Y, Stemke-Hale K, Zhang F, Ju Z, Cantley LC, Scherer SE, Liang H, Lu KH, Broaddus RR, Mills GB. High Frequency of PIK3R1 and PIK3R2 Mutations in Endometrial Cancer Elucidates a Novel Mechanism for Regulation of PTEN Protein Stability. *Cancer Discov.* 2011 Jul;1(2):170-185.

59. Yao YY, Xu WZ, Wang Y, Shen DH, Wang JL, Wei LH. [Relationships between the molecular biomarkers and the clinicopathologic features and prognosis in endometrial carcinoma]. *Beijing Da Xue Xue Bao*. 2011 Oct 18;43(5):743-8. Chinese.
60. Bąkiewicz A, Michalak J, Sporny S. Immunoexpression and clinical significance of the PTEN and MLH1 proteins in endometrial carcinomas. *Pol J Pathol*. 2010 Sep;61(4):185-91.
61. Pavlakis K, Messini I, Vrekoussis T, Panoskaltsis T, Chrissanthakis D, Yiannou P, Stathopoulos EN. PTEN-loss and nuclear atypia of EIN in endometrial biopsies can predict the existence of a concurrent endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2010 Dec;119(3):516-9. Epub 2010 Sep 15.
62. Zhou WX, Liang ZY, Gao J, Liu TH. [Morphological diagnosis of endometrial intraepithelial neoplasia and expression of PTEN]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2009 Jun;38(6):393-6. Chinese.
63. Gao Q, Ye F, Xia X, Xing H, Lu Y, Zhou J, Ma D. Correlation between PTEN expression and PI3K/Akt signal pathway in endometrial carcinoma. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2009 Feb;29(1):59-63. Epub 2009 Feb 18
64. Tantbirojn P, Triratanachat S, Trivijitsilp P, Niruthisard S. Detection of PTEN immunoreactivity in endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. *J Med Assoc Thai*. 2008 Aug;91(8):1161-5.
65. Lacey JV Jr, Mutter GL, Ronnett BM, Ioffe OB, Duggan MA, Rush BB, Glass AG, Richesson DA, Chatterjee N, Langholz B, Sherman ME. PTEN expression in endometrial biopsies as a marker of progression to endometrial carcinoma. *Cancer Res*. 2008 Jul 15;68(14):6014-20.
66. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, Kum JB, Eng C. Changes in endometrial PTEN expression throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000 Jun;85(6):2334-8.
67. Konopka B, Pazsko Z, Janskowka AJ, Goluda M. Assessment of the Quality and Frequency of Mutations Occurrence in PTEN Gene in Endometrial Carcinomas and Hyperplasia. *Cancer Letters*. 2002; 178: 43- 51.
68. Orbo A, Kaino T, Arnes M, Kopp M, Eklo K. Genetic derangements in the tumor suppressor gene PTEN in endometrial precancers as prognostic markers for cancer development. *Gynecol Oncol*. 2004; 95: 82- 88.
69. Athanassiadou P, Athanassiades P, Grapsa D, Gonidi M, Athanassiadou AM, Stamati PN, Patsouris E. The prognostic value of PTEN, p53, and beta-catenin in

endometrial carcinoma: a prospective immunocytochemical study. *Int J Gynecol Cancer*. 2007 May-Jun;17(3):697-704.

70. Sarmadi S, Izadi-Mood N, Sotoudeh K, Tavangar SM. Altered PTEN expression; a diagnostic marker for differentiating normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. *Diagn Pathol*. 2009 Nov 25;4:41.

71. Hayes MP, Wang H, Espinal-Witter R, Douglas W, Solomon GJ, Baker SJ, Ellenson LH. PIK3CA and PTEN mutations in uterine endometrioid carcinoma and complex atypical hyperplasia. *Clin Cancer Res*. 2006 Oct 15;12(20 Pt 1):5932-5.

72. Levine RL, Cargile CB, Blazes MS, van Rees B, Kurman RJ, Ellenson LH. PTEN mutations and microsatellite instability in complex atypical hyperplasia, a precursor lesion to uterine endometrioid carcinoma. *Cancer Res*. 1998 Aug 1;58(15):3254-8.

73. Maxwell GL, Risinger JI, Gumbs C, Shaw H, Bentley RC, Barrett JC, Berchuck A, Futreal PA. Mutation of the PTEN tumor suppressor gene in endometrial hyperplasias. *Cancer Res*. 1998 Jun 15;58(12):2500-3.

74. Lacey JV Jr, Mutter GL, Ronnett BM, Ioffe OB, Duggan MA, Rush BB, Glass AG, Richesson DA, Chatterjee N, Langholz B, Sherman ME. PTEN expression in endometrial biopsies as a marker of progression to endometrial carcinoma. *Cancer Res*. 2008 Jul 15;68(14):6014-20.

75. Baak JP, Van Diermen B, Steinbakk A, Janssen E, Skaland I, Mutter GL, Fiane B, Løvsløtt K. Lack of PTEN expression in endometrial intraepithelial neoplasia is correlated with cancer progression. *Hum Pathol*. 2005 May;36(5):555-61.

76. Tashiro H, Blazes MS, Wu R, Cho KR, Bose S, Wang SI, Li J, Parsons R, Ellenson LH. Mutations in PTEN are frequent in endometrial carcinoma but rare in other common gynecological malignancies. *Cancer Res*. 1997 Sep 15;57(18):3935-40.

77. Rajakumar V, Chamberlin HM. The Pax2/5/8 gene egl-38 coordinates organogenesis of the *C. elegans* egg-laying system. *Dev Biol*. 2007 Jan 1;301(1):240-53. Epub 2006 Sep 6.

78. Buckingham M, Relaix F. The role of Pax genes in the development of tissues and organs: Pax3 and Pax7 regulate muscle progenitor cell functions. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2007;23:645-73. Review.

79. Monte NM, Webster KA, Neuberger D, Dressler GR, Mutter GL. Joint loss of PAX2 and PTEN expression in endometrial precancers and cancer. *Cancer Res.* 2010 Aug 1;70(15):6225-32. Epub 2010 Jul 14.
80. Chivukula M, Dabbs DJ, O'Connor S, Bhargava R. PAX 2: a novel Müllerian marker for serous papillary carcinomas to differentiate from micropapillary breast carcinoma. *Int J Gynecol Pathol.* 2009 Nov;28(6):570-8.
81. Eccles MR, He S, Legge M, Kumar R, Fox J, Zhou C, French M, Tsai RW. PAX genes in development and disease: the role of PAX2 in urogenital tract development. *Int J Dev Biol.* 2002;46(4):535-44. Review.
82. Wu H, Chen Y, Liang J, Shi B, Wu G, Zhang Y, Wang D, Li R, Yi X, Zhang H, Sun L, Shang Y. Hypomethylation-linked activation of PAX2 mediates tamoxifen-stimulated endometrial carcinogenesis. *Nature.* 2005 Dec 15;438(7070):981-7.
83. Phelps DE, Dressler GR. Identification of novel Pax-2 binding sites by chromatin precipitation. *J Biol Chem.* 1996 Apr 5;271(14):7978-85.
84. Torres M, Gómez-Pardo E, Dressler GR, Gruss P. Pax-2 controls multiple steps of urogenital development. *Development.* 1995 Dec;121(12):4057-65.
85. Legate KR, Montañez E, Kudlacek O, Fässler R. ILK, PINCH and parvin: the tIPP of integrin signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006 Jan;7(1):20-31. Review.
86. Chen K, Tu Y, Zhang Y, Blair HC, Zhang L, Wu C. PINCH-1 regulates the ERK-Bim pathway and contributes to apoptosis resistance in cancer cells. *J Biol Chem.* 2008 Feb 1;283(5):2508-17. Epub 2007 Dec 6.
87. Maehama, T., Dixon, J. E., The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, *J. Biol. Chem.*, 273, 13375-8, 1998.
88. Leslie, N. R., Downes, C. P., PTEN: The down side of PI 3- kinase signalling., *Cell Signal*, 14, 285-95, 2002.
89. Xu Z, Fukuda T, Li Y, Zha X, Qin J, Wu C. Molecular dissection of PINCH-1 reveals a mechanism of coupling and uncoupling of cell shape modulation and survival. *J Biol Chem.* 2005 Jul 29;280(30):27631-7. Epub 2005 Jun 7.
90. Martinsen BJ, Neumann AN, Frasier AJ, Baker CV, Krull CE, Lohr JL. PINCH-1 expression during early avian embryogenesis: implications for neural crest and heart development. *Dev Dyn.* 2006 Jan;235(1):152-62.

91. Li Y, Dai C, Wu C, Liu Y. PINCH-1 promotes tubular epithelial-to-mesenchymal transition by interacting with integrin-linked kinase. *J Am Soc Nephrol*. 2007 Sep;18(9):2534-43. Epub 2007 Jul 26.
92. Zhang HZ, Li XH, Zhang X, Zhang ZY, Meng YL, Xu SW, Zheng Y, Zhu ZL, Cui DS, Huang LX, Yan BY, Sun XF. PINCH protein expression in normal endometrium, atypical endometrial hyperplasia and endometrioid endometrial carcinoma. *Chemotherapy*. 2010;56(4):291-7. Epub 2010 Aug 11.
93. Lurain JR, Rice BL, Rademaker AW, Poggensee LE, Schink JC, Miller DS. Prognostic factors associated with recurrence in clinical stage 1 adenocarcinoma of the endometrium. *Obstet Gynecol* 1991; 78: 63-9.
94. Dobrzycka B, Terlikowski SJ. Biomarkers as prognostic factors in endometrial cancer. *Folia Histochem Cytobiol*. 2010 Sep 30;48(3):319-22. Review.
95. Boente MP, Yordan EL, McIntosh DG, Grendys EC, Orandi YA, Davies S, Beck D, Graham JE, Miller A, Marshall R. Prognostic factors and long-term survival in endometrial adenocarcinoma with cervical involvement. *Gynecol Oncol* 1993;51(3):316-322.
96. DiSaia PJ: Risk factors in recurrent patterns in stage I endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1985;151:1009.
97. Chakravarty D, Srinivasan R, Ghosh S, Gopalan S, Rajwanshi A, Majumdar S. Estrogen receptor beta1 and the beta2/betaX isoforms in nonneoplastic endometrium and in endometrioid carcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2007 Jul-Aug;17(4):905-13. Epub 2007 Feb 16.
98. Henderson GS, Brown KA, Perkins SL, Abbott TM, Clayton F. bcl-2 is down-regulated in atypical endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 1996 Apr;9(4):430-8.
99. Palazzo JP, Mercer WE, Kovatich AJ, McHugh M. Immunohistochemical localization of p21(WAF1/CIP1) in normal, hyperplastic, and neoplastic uterine tissues. *Hum Pathol*. 1997 Jan;28(1):60-6.
100. Susini T, Massi D, Paglierani M, Masciullo V, Scambia G, Giordano A, Amunni G, Massi G, Taddei GL. Expression of the retinoblastoma-related gene Rb2/p130 is downregulated in atypical endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. *Hum Pathol*. 2001 Apr;32(4):360-7.
101. Sonoda K, Kaku T, Hirakawa T, Kobayashi H, Amada S, Sakai K, Nakashima M, Watanabe T, Nakano H. The clinical significance of tumor-

associated antigen RCAS1 expression in the normal, hyperplastic, and malignant uterine endometrium. *Gynecol Oncol.* 2000 Dec;79(3):424-9.

102. Nasir A, Boulware D, Kaiser HE, Lancaster JM, Coppola D, Smith PV, Hakam A, Siegel SE, Bodey B. Cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in human endometrial carcinoma and precursor lesions and its possible use in cancer chemoprevention and therapy. *In Vivo.* 2007 Jan-Feb;21(1):35-43.

103. Kim KH, Choi JS, Kim JM, Choi YL, Shin YK, Lee HC, Seong IO, Kim BK, Chae SW, Kim SH. Enhanced CD24 expression in endometrial carcinoma and its expression pattern in normal and hyperplastic endometrium. *Histol Histopathol.* 2009 Mar;24(3):309-16.

104. Kim H, Choi DS, Chang SJ, Han JH, Min CK, Chang KH, Ryu HS. The expression of syndecan-1 is related to the risk of endometrial hyperplasia progressing to endometrial carcinoma. *J Gynecol Oncol.* 2010 Mar;21(1):50-5. Epub 2010 Mar 31.

105. Latta E, Chapman WB. PTEN mutations and evolving concepts in endometrial neoplasia. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2002 Feb;14(1):59-65. Review.

106. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, Kum JB, Baak JP, Lees JA, Weng LP, Eng C. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Jun 7;92(11):924-30.

107. Maxwell GL, Risinger JI, Gumbs C, et al. Mutation of the PTEN Tumor Suppressor Gene in Endometriyal Hyperplasias. *Cancer Research.* 1998;58:2500-03.

108. Kanamori Y, Kigawa J, Itamochi H, Sultana H, Suzuki M, Ohwada M, Kamura T, Sugiyama T, Kikuchi Y, Kita T, Fujiwara K, Terakawa N. PTEN expression is associated with prognosis for patients with advanced endometrial carcinoma undergoing postoperative chemotherapy. *Int J Cancer.* 2002 Aug 20;100(6):686-9.

109. Zhou CA, Bae-Jump VL, Whang B, et al. The PTEN tumor suppressor inhibits telomerase activity in endometrial cancer cells by decreasing hTERT mRNA levels. *Gynecologic Oncology.* 2006;101:305-10.

110. Terakawa N, Kanamori Y, Yoshida S. Loss of PTEN expression followed by Akt phosphorylation is a poor prognostic factor for patients with endometrial cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2003 Jun;10(2):203-8.

111. Monte NM, Webster KA, Neuberger D, Dressler GR, Mutter GL. Joint loss of PAX2 and PTEN expression in endometrial precancers and cancer. *Cancer Res.* 2010 Aug 1;70(15):6225-32. Epub 2010 Jul 14.