

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

MARMARA TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM

ANABİLİM DALI BAŞKANI

PROF.DR. NEJAT CEYHAN

# ENDOMETRİAL KARSİNOMADA

## P53 VE Bcl-2 EKSPRESYONU

UZMANLIK TEZİ

DR. SERKAN ERKANLI

88386

1999

İSTANBUL

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

*Uzmanlık eğitimimde, özverileri ile yetişmemde büyük pay sahibi olan Sayın Hocalarım;*

*Prof. Dr. Sakıp PEKİN, Prof. Dr. Nejat CEYHAN, Prof. Dr. Fatih DURMUŞOĞLU, Doç. Dr. Mithat ERENUS, Doç. Dr. N. Zehra KAVAK'a, ayrıca tez çalışmamda beni yönlendiren Prof. Dr. Sakıp PEKİN'e bana meslektaşları olma onurunu sağladıkları için teşekkür ederim.*

*Dr. Serkan ERKANLI*

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER .....	6
MATERYAL VE METOD .....	24
BULGULAR.....	28
TARTIŞMA.....	35
SONUÇLAR.....	47
ÖZET .....	49
KAYNAKLAR.....	51

## GİRİŞ

Endometrium kanseri, bugün kadın genital sisteminin en sık görülen malignitesidir. Kadınlarda görülen kanserler arasında dördüncü sırada yer alır. Endometrial adenokarsinoma reproduktif ve menopozal yıllarda görülür. Ortalama görülme yaşı 61'dir. %20 ilâ %25 oranında menopoz öncesi ortaya çıkar ve kadınların yaklaşık %5'i 40 yaşın altında endometrium kanserine yakalanırlar <sup>1</sup>.

Endometrial karsinomanın etiolojisinde, çoğunlukla endometriumun kronik olarak östrojenle stimülasyonu yer alır. Östrojen kaynağı endojen veya eksojen olabilir. Hastalığın gelişimindeki çoğu risk faktörü bu hormonal ortamın yaratılması ile ilişkilidir. Endometrial adenokarsinoma çoğunlukla basit hiperplaziden, atipik hiperplazi ve karsinomaya doğru giden bir spektrum sonucu gelişir. Östrojene bağlı adenokarsinoma, daha iyi diferansiye olma ve daha iyi prognoz gösterme eğilimindedir. Bir de östrojenden bağımsız endometrial karsinoma tipi tarif edilmiştir ki bilinen risk faktörlerinden bağımsız, hiperplazik olmayan endometriumdan kaynaklanan, daha kötü diferansiye ve agresif tümörlerdir <sup>2</sup>.

Yıllarca tümörigenezin moleküler temelini anlamak yolunda, onkogenler ve tümör supresör genler odak noktası olmuşlardır. Oldukça farklı yollardan etki gösterecekleri de hepsi temelde hücre proliferasyonunu regüle ederler. Şimdi artık apoptosisi'ni inhibe eden veya teşvik eden genlerin de kanser denkleminde önemli değişkenler olduğu görülmektedir <sup>3</sup>.

Bu durum ilk olarak apoptosisi regüle eden geniş bir gen ailesinin bulunması ile anlaşılmıştır. İlk anti-apoptotik gen Bcl-2'dir ve bir kısmı homodimerize edici, bir kısmı da heterodimerize edici proteinlerden oluşan geniş bir ailenin üyesidir. Bir kısım

proteinler Bcl-2 ve Bcl-X<sub>L</sub> gibi apoptosisi engellerken, diğer üyeler Bax, Bad ve Bcl-X<sub>S</sub> gibi, apoptosisi teşvik ederler<sup>4</sup>.

Kategorinin prototipik geni olan Bcl-2'nin keşfi foliküler tipteki B-hücre'li lenfomaların yaklaşık %85'inde karakteristik t(14;18)(q32;q21) translokasyonu gözlemlenince gerçekleşmiştir. 14q32 yani immunoglobulin ağır-zincir geninin bulunduğu bölge aynı zamanda Burkitt lenfomasında da rol oynar. 18q21'de bulunan Bcl-2'nin bu transkripsiyonel olarak aktif olan lokusa yerleşmesi ile Bcl-2 / IgH füzyon geni ortaya çıkar ve Bcl-2 proteini overeksprese olur. Şu an çok net olmayan mekanizmalarla Bcl-2'nin overekspresyonu lenfositleri apoptozdan korur ve uzun süre yaşamalarına izin verir; böylece B lenfositleri sabit bir şekilde birikirler ve sırasıyla lenfadenopati ve ilik infiltrasyonu gerçekleşir. Bcl-2 overekspresyonu gösteren lenfomalar daha çok, azalmış hücre ölümü ile ortaya çıktıklarından seyirleri de diğer lenfomalara göre daha yavaştır. Bcl-2 ile transgenik olan farelerin B-hücreli lenfoma geliştirdiğinin gözlemlenmesi de Bcl-2'nin lenfomagenezdeki rolünü destekler. Bcl-2'nin yalnızca fonksiyonu değil, lokasyonu da diğer kanser oriente genlerden farklıdır. Bcl-2, mitokondrianın dış membranında, endoplazmik retikulumda ve nükleer membranda bulunur<sup>5,6</sup>.

Bcl-2 gen ailesinin hangi kesin mekanizmalarla apoptoza götüren caspase aktivasyonunu regüle ettiği sıkı araştırma altındadır. Bcl-2'nin moleküler etki mekanizması Genel Bilgiler kısmında detaylı şekilde anlatılacaktır.

P53, 17. kromozomda (17p13) yer alan tümör süpresör genidir. İnsan tümörlerinin ~ %50'sinde bu gende mutasyon vardır. Tümör oluşabilmesi için p53 genindeki her iki alel'in de mutasyona uğraması, yani homozigotik bir kaybın olması gerekir. Akciğer, kolon ve meme gibi kanser ölümlerinin öncüsü bu kanser tiplerinin

hemen hepsinde p53'ün homozigotik kaybı mevcuttur. Çoğu zaman bu mutasyonlardan somatik hücreler etkilenir. Nadiren bazı kişiler mutant p53 alel'ini kalıtsal olarak edinirler. Bu durum Li-Fraumeni sendromu olarak adlandırılır ve bu kişilerin malin tümör geliştirme riski normale göre 25 kat artmıştır <sup>7</sup>.

P53 proteini nukleusta yer alır ve aktive edildiğinde bir seri genin transkripsiyonunu kontrol eder. Fizyolojik şartlar altında p53'ün kısa bir yarı ömrü vardır (20 dakika). Proteolizle kısa sürede yok edilir, dolayısıyla normal hücre siklusunda yer almaz. Ancak radyasyon, ultraviyole, mutojenik kimyasallar tarafından DNA tahrip edildiğinde p53 acil durum freni gibi devreye girer. Genetik materyele böyle saldırılar olduğunda uyuyan p53 tam anlaşılamayan mekanizmalar ile aktive olur. Biriken bu "wild type" p53 DNA'ya bağlanarak bir seri geni stimüle eder. Bu genler p53'ün iki majör etkisini gerçekleştirirler <sup>8</sup>:

1. Hücre Siklus Aresti      2. Apoptosis
- 1- a) Hücre siklusu, geç G1 fazında arest edilir ve bu durum CDK (cycline dependent kinase) inhibitor gen olan p21'in p53'e bağlı transkripsiyonu ile gerçekleşir. P21 etkisiyle hücrelerin S fazına geçmeleri engellenmiş olur. Böylece hücreler, G1 fazında sabitlenerek DNA tamiri için süre kazanmış olurlar.  
b) p53 ayrıca DNA tamirinde etkin olan bir başka genin GADD45 (Growth Arrest and DNA Damage) transkripsiyonunu artırır. Eğer DNA başarı ile tamir edilebilirse, p53, mdm-2 olarak bilinen bir geni aktive eder. Bu gen p53'ü bağlar ve downregüle eder, böylece hücre arestten kurtulur <sup>9</sup>.
- 2- Eğer arest halindeki hücrede DNA başarı ile tamir edilemezse, p53 bu kez son bir çare olarak apoptosisi tetikler. Bunu, Genel Bilgiler kısmında daha

detaylı bir şekilde anlatılacak olan Bcl-2 gen ailesinden bax'ı upregüle ederek ve IGF-BP3 olarak bilinen bir başka geni aktive ederek yapar. IGF-BP3, "Insulin like Growth Factor" (IGF) reseptörüne bağlanarak IGF tarafından hücreye gönderilen sinyalleri bloke ederek, apoptosisi teşvik ederken, bax, antiapoptotik Bcl-2 proteini inhibe ederek apoptosisi tetikler.

P53'ün normal fonksiyon gösterebilmesi için p21, GADD45 ve bax gibi genleri aktive edebilmesi şarttır; p53'ü inaktive eden çoğu mutasyon da zaten p53'ün DNA'ya bağlanan bölgesini etkiler, böylece p53'e bağlı bu genler harekete geçemezler<sup>8</sup>.

Sonuçta p53 "genomun gardiyanı" olarak nitelendirilebilir. P53'ün homozigotik kaybı, DNA tahribatı tamir edilemeden, mutasyonların bölünen hücrelerde fikse olmasına ve malin transformasyona sebep olur<sup>10</sup>.

Keşfinden sonraki 20 yıl içerisinde, p53 geni hem yapısal hem de fonksiyonel olarak türünün tek örneği şeklinde düşünülmekteydi. Ancak, 1997 yılının sonlarına doğru p73 geninin keşfi bu durumu dramatik bir şekilde değiştirmiştir. Kromozom 1 (1p36)'de yer alan bu gen p53'e benzer özellikler taşımaktadır ve nöroblastoma, kolon ve meme kanseri gibi bazı tümörlerde bu gene ait delesyonlar gösterilmiştir<sup>11</sup>.

Çalışmamızda amacımız:

1. Proliferatif endometriümden hiperplazi, atipik hiperplazi ve kansere doğru giden bir spektrumda Bcl-2 ekspresyonu ve p53 protein akümülyasyonunu değerlendirmek suretiyle bu genlerin endometriümden kanserine gelişiminde olası rollerini araştırmak,
2. Endometrial adenokarsinomada Bcl-2 ve p53 ekspresyonlarının bilinen prognostik faktörlerle (histolojik grade, myometrial invazyon, lenfovasküler invazyon gibi) ilişkisini saptamak,

3. Endometrial adenokarsinomada Bcl-2 ekspresyonu ile p53 ekspresyonu arasında bir korelasyon olup olmadığını araştırmak,
4. Endometrium kanseri subtipleri arasında Bcl-2 ve p53 ekspresyonları açısından fark olup olmadığını saptamaktır.





## **GENEL BİLGİLER**

Endometrium, histolojik olarak iğsi hücrelerden oluşan bir stroma içine yeleşmiş tubuler bezler ile kan ve lenfatik damarlar içermektedir. Endometrium fonksiyonel (superfisyel) ve bazal (derin) olmak üzere iki tabakaya ayrılır. Fonksiyonel endometrium üreme çağındaki kadınlarda, siklusa bağlı olarak proliferatif, sekretuar ve menstruel değişiklikler gösterir. Bazal tabaka, hormonlara çok az cevap verir. Prepubertal ve postmenopozal dönemde de endometrium hormonlara cevap vermez ve atrofik görünümde dir <sup>12,13</sup>.

### **ENDOMETRİAL HİPERPLAZİ**

Endometrial hiperplazi, endometrial bezlerin ve daha az oranda endometrial stromanın proliferatif lezyonlarıdır. Etyolojik faktör çoğu zaman endometrial dokunun unopposed östrojen stimülasyonuna maruz kalmasıdır. Bu durum polikistik over sendromunda (PKO) olduğu gibi, kronik anovulasyon sonucu, östrojen üreten over neoplazmaları, obesite, veya eksojen östrojen sonucu ortaya çıkabilir. Her yaş grubu etkilenebilir.

Endometrial hiperplazi, "International Society of Gynecologic Pathologists" sınıflandırmasına göre basit hiperplazi, kompleks hiperplazi ve atipik hiperplazi olarak ayrılmıştır. Bu sınıflandırma yapısal ve sitolojik özellikleri göz önünde bulundurur <sup>14</sup>.

170 hastanın yer aldığı bir çalışmada küretaj ile endometrial hiperplazi tanısı almış olan hastalara tedavi uygulanmaksızın 1 yıl sonra histerektomi yapılmış, basit ve kompleks hiperplazinin sırasıyla %1 ve %3 oranında, basit ve kompleks atipik hiperplazinin ise sırasıyla, %8 ve %29 oranında karsinomaya progresyon gösterdiği

saptanmıştır. Görülüyor ki sitolojik atipi, karsinomaya dönüşümde en büyük rolü oynamaktadır<sup>15</sup>.

### **UTERUS ADENOKARSİNOMASI**

Uterin korpusun kanseri bugün kadın pelvisinde en sık görülen malignensidir. Kadınlar arasında dördüncü en sık rastlanan kanserdir. Ortalama görülme yaşı 61'dir. %25 oranında premenopozal dönemde ortaya çıkar ve bunların da %5'i 40 yaş altı kadınlarda görülür<sup>1</sup>.

**Teshis:** Uterin kanaması olan postmenopozal kadınlar endometrial kanser açısından araştırılmalıdır. Bu grup kanamanın genital malignensiye bağlı olma şansı %20'dir. Ancak yaş arttıkça, uterin kanamanın endometrial kansere bağlı olma ihtimali de artar. Feldman, 70 yaş üzerindeki bir kadında, vajinal kanamanın kansere bağlı olma riskini %50 olarak tespit etmiştir. Anormal kanama paterni gösteren, perimenapozal kadınlarda da kanser araştırılmalıdır<sup>16</sup>.

Endometrial kanserin tanısında, Fr.D&C tarihte en kesin diagnostik işlem olmuştur. Bugün çoğunlukla ofis işlemi olarak, endometrial biyopsi rutin bir şekilde kullanılmaktadır. Bir çok çalışma, endometrial biyopsinin endometrium kanserini tespit etmekteki kesinliğini ~ %90 olarak belirlemiştir Semptomatik bir hastada endometrial biyopsi sonucunda, yeterince endometrial doku elde edilemediyse, sonucu invaziv kanser olarak gelmeyen, herhangi bir sitolojik veya histolojik anormallik durumunda, Fr. D&C uygulanmalıdır. Ayrıca normal biyopsi sonucu gösterip de semptomları sürekli devam eden hastalarda da Fr. D&C uygulanmalıdır.Histereskopi ile D&C'de atlanabilen

fokal lezyonlardan biyopsi alınabilir. Histereskopi ile endoservikal kanal da gözlenebilir<sup>17</sup>.

USG özellikle, postmenapozal kanaması (PMK) olan hastada diagnostik araç olarak kullanılabilir. Bu hastalarda, TVUSG(transvaginal USG) ile endometrial kalınlığın cutoff değeri 5mm alındığında, kalınlığın 5 mm'den az olduğu hallerde endometrial ca tespit edilmiştir ve bugün endometrial sampling'in gerekli olmadığını gösterecek bir cutoff değeri konusunda genel bir görüş birliği yoktur. Semptomatik PM hastalarda ilk diagnostik teknik olarak endometrial sampling mantıklıdır ve sonuç (-) ise hasta takip edilir. Semptomların devam etmesi durumunda ise D&C yapılır<sup>20</sup>.

Postmenopozal hastada USG ile endometrial kalınlığının belirlenmesindeki güvenilirlik, tamoksifen kullanan hastalar için geçerli değildir. Son veriler tamoksifen alan hastalarda USG'de rastlanan yüksek (40 mm'ye kadar) endometrial tabakanın, kalınlaşmış endometriumu değil, proksimal myometriumu temsil ettiği yönündedir<sup>18</sup>.

FIGO Ekim 1988'de klinik yerine, cerrahi ve patolojik evrelemeyi uygulamaya koymuştur<sup>19</sup>. Endometrium kanseri hastalarının ~ %75'i evre I olarak saptanırlar.

**TABLO 1: Endometrial Adenokarsinomanın Evrelendirilmesi (FIGO, 1988)**

Evre IA	G123	Tümör endometriumda sınırlı
Evre IB	G123	Myometriyumun yarısını geçmeyen invazyon
Evre IC	G123	Myometriyumun yarısını geçen invazyon
Evre IIA	G123	Yalnızca endoservikal glandüler tutulum
Evre IIB	G123	Servikal stromal invazyon
Evre IIIA	G123	Tümörün seroza ve/veya overe yayılması veya pozitif peritoneal sitoloji
Evre IIIB	G123	Vajinal metastaz
Evre IIIC	G123	Pelvik ve/veya paraaortik lenf nodu metastazı
Evre IVA	G123	Mesane ve/veya barsak mukozasında tümör invazyonu
Evre IVB	G123	Intraabdominal ve/veya inguinal lenf nodları da dahil olmak üzere uzak metastaz

**Endometrial Karsinomanın Grade'lendirilmesi:**

- Grade I            Tümörde %5'ten daha az oranda solid komponent varlığı  
Grade II           Tümörde %5 - %50 arasında solid komponent varlığı  
Grade III          Tümörde %50'den daha fazla solid komponent varlığı

### **Prognostik Faktörler**

Bokhman'a göre endometrial karsinomanın iki patojenik tipi vardır. Birinci tip obez, hiperlipidemisi olan hiperöstrojenik kadınlarda gözlenirken, ikinci tip bu durumlardan bağımsız olarak ortaya çıkar. İlk tip hastalar genelde iyi veya orta derecede diferansiye tümör, yüzeysel myometrial invazyon, progesterinlere yüksek duyarlılık ve iyi prognoz (5 yıllık sürvi %85) gösterirler. İkinci patojenik tipteki hastalar ise kötü diferansiye, derin myometrial invazyon, sık lenf nod metastazı, azalmış progesterin duyarlılığı ve kötü prognoz (5 yıllık sürvi %58) gösterme eğilimindedirler<sup>2</sup>.

### **Endometrial Karsinomaların WHO Klasifikasyonu**

1. Endometrioid adenokarsinoma
  - a) Villoglandüler
  - b) Sekretuar
  - c) Silialı
  - d) Skuamoz diferansiyasyonlu
2. Seröz karsinoma
3. Berrak hücreli karsinoma
4. Müsinöz karsinoma
5. Skuamoz karsinoma
6. Mikst tip
7. İndiferansiye karsinoma

**Patoloji:** Endometrial karsinoma fokal bir alanda başlayabileceği gibi, yaygın olarak farklı alanlarda da başlayabilir. Adenokarsinoma sıklıkla atipik endometrial hiperplaziyi takip eder.

Adenokarsinoma, endometriumdan kaynaklanan en sık histolojik subtipdir. Diferansiyasyon (grade) prognostik olarak önemlidir ve FIGO cerrahi evrelemede yer almıştır (Bkz. Tablo 1).

Hastaların %25'inde, adenokarsinomaya skuamoz komponent eşlik eder. Skuamoz komponentin benin olması adenoakantom, malin olması adenoskuamoz tiplerini belirler. Gittikçe daha fazla önem kazanan histolojik subtip, Uterine Papillary Serous Adenokarsinomadır (UPSC). %1 ilâ %10 oranında rastlanır. UPSC farklı ve çok agresif bir uterus karsinoma tipidir. İki endometrial kanser tipinden, hiperestrojenizmle alakalı olmayan ikinci tipte yer alır. Bu hastalar yaşlı, obez olmayan, ekstrauterin yayılımın sık olduğu yüksek grade ve kötü sürvi ile karakterizedir. Berrak Hücreli Karsinoma'da da kötü bir prognoz vardır ve FIGO evresi ile nükleer grade'in sürvi üzerine etkisi yoktur<sup>20</sup>.

**Histolojik Diferansiyasyon:** Endometrial kanserin histolojik diferansiyasyonu uzun zamandır prognozun en duyarlı göstergelerinden biri olarak kabul görmüştür. Tümör diferansiyasyonunu kaybettiğinde sürvi azalır. Evre arttıkça derin myometrial invazyon şansı da artar<sup>25</sup>.

**Hastalığın Evresi:** Evre arttıkça sürvi de azalır. Tümörün endometrial kavite içerisindeki lokasyonu da önemlidir. Alt uterin segmentteki tümörler serviksi fundal lezyonlara göre daha çabuk tutabilirler. Aynı şekilde alt segmentteki bir tümör için Pelvik LN metastaz şansı fundal tümöre göre daha yüksektir. GOG tarafından FIGO evre I hastalarda bu oran sırasıyla %16 ve %4 olarak rapor edilmiştir. Paraaortik LN metastazı da benzer bir patern gösterir (%16 ve %4)<sup>21</sup>.

**Myometrial İnvazyon:** Myometrial invazyon derecesi, tümör virulansının iyi bir göstergesidir. Rekürensler direkt olarak myometrial invazyon derinliğine bağlıdır ve invazyon derinleştikçe sürvi de azalır <sup>22</sup>.

**Peritoneal Sitoloji:** Evre I'de peritoneal sitoloji %11 oranında pozitifdir. Peritoneal sitoloji pozitif olduğunda, bu durum iyi prognostik faktörleri nötralize etme eğilimindedir. Endometrial ca için cerrahi uygulanan her hastadan, peritoneal sitoloji alınmalıdır <sup>23</sup>.

**Lenf Nod Metastazı:** Pelvik veya paraaortik lenf nod tutulumu, grade, myometrial invazyon ve evre arttıkça çoğalır ve bu hastalarda 5 yıllık sürvi oranı düşerken rekkürens oranı da artar. Evre I'de pozitif pelvik LN oranı %9,6'dır <sup>24</sup>.

**Adneksiyal Metastaz:** Klinik evre I hastalarının yaklaşık %5'inde adneksiyal metastaz vardır. İnvazyon derinliğinin, adneksiyal metastaz riski üzerine etkisi vardır ve adneksiyal metastazın, hem pelvik hem de paraaortik LN metastazı ile arasında kesin bir korelasyon vardır <sup>25</sup>.

**Moleküler Endeksler:** Birçok moleküler biyolojik karakteristiğın, prognozla ilişkisi incelenmiştir. Bunlar arasında HER-2 / neu, p53 overekspresyonu, DNA ploidi ve S-faz fraksiyonu yer almıştır. Multivariate analizde, p53 overekspresyonu en güçlü bağımsız prognoz faktörü olarak gösterilmiştir <sup>26</sup>. Ayrıca lenfovasküler alan invazyonu (LVSI), tümör boyutu ve hormonal reseptör durumu da önemli bağımsız prognostik faktörlerdir <sup>27</sup>.

**Tedavi:** Endometrial adenokarsinomada standard tedavi, TAH+BSO+Peritoneal sitolojidir. Derin myometrial invazyon gösteren ve grade III vakalarda, bilateral pelvik ve paraaortik lenf nod örnekleme yapılmaktadır <sup>28</sup>.

## **APOPTOSİS VE BCL-2**

Apoptosis, bir seri gen tarafından, koordine bir şekilde programlanan ve istenmeyen düşman hücreleri yok etmek üzere tasarlanmış bir hücre ölüm şeklidir. Genellikle şu durumlarda gözlenir: a) gelişme esnasında b) dokulardaki hücre sayısının idamesinde homeostatik bir mekanizma olarak c) immun reaksiyonlarda olduğu gibi defans mekanizması olarak d) hücreler hastalık veya zararlı etkenler tarafından tahrip edildiğinde e) yaşlanmada<sup>29,30</sup>.

Apoptosis, belirli stimuluslar tarafından tetiklenen bir enerjiye bağlı moleküler olaylar serisinin son noktasıdır. 4 ayrı, ancak içiçe geçmiş komponenti vardır.

1. sinyalizasyon yolları
2. kontrol ve integrasyon
3. yoketme fazı
4. Ölü hücrelerin temizlenmesi

**Sinyalizasyon Yolları:** Apoptotik stimuluslar, sinyalleri ya plasma membranından intraselüler regülatuar moleküllere ya da direkt olarak hücre içindeki hedeflere geçirir.

Transmembran sinyaller, apoptozu negatif veya pozitif yönde belirleyebilirler. Örneğin bazı hormonlar, büyüme faktörleri ve sitokinler ürettikleri sinyallerle, var olan ölüm programlarını baskılayarak, normal yaşam stimulusu olarak davranırlar. İntraselüler sinyaller de apoptoza yol açabilir. Glukokortikoidlerin nükleer reseptörlere bağlanması, ısı, radyasyon, xenobiotikler ve hipoksi gibi fiziksel ve kimyasal ajanlar ve viral enfeksiyonlar bu gruba örneklerdir<sup>31</sup>.

**Kontrol ve İntegrasyon:** Bu evre, ölüm sinyallerini, ölüm programına bağlayan spesifik proteinlerle karakterizedir. Bu proteinlerin hareketleri sonucunda hücre ya ölüme gider ya da potansiyel ölümcül sinyaller aborte edilir.

Bu fazda iki yol vardır. Birincisi, sinyallerin adaptör proteinler tarafından direkt olarak yok etme mekanizmasına iletilmesidir. Örneğin sitotoksik T-lenfositlerinin hedef

hücreyi öldürmesi gibi. İkincisi, Bcl-2 protein ailesinin üyeleridir. Bunlar mitokondrial fonksiyonu regüle ederek apoptoz regülasyonunda majör rolü oynarlar. Ölüm agonistleri mitokondriayı iki yolla etkilerler<sup>32,33</sup>:

1. İç mitokondrial membranda geçiş alanları oluştururlar, membran potansiyeli redükte olur ve mitokondria şişer.
2. Dış mitokondria permeabilitesini de arttırlar ve apoptotik tetikleyici sitokrom-c mitokondriadan sitozole salınır. Sitokrom-c, iç ve dış membranlar arasında yer alan integral ama çözünebilir bir respiratuar yol komponentidir. Önce sitokrom-c'nin ortaya çıkması, bunun erken bir olay olduğunu gösterir ve regulatuar fonksiyonuyla bağdaşır<sup>34,35</sup>.

Bu tip mitokondrial permeabilite olaylarını regüle eden bir çok protein arasında, en önemlisi Bcl-2 ailesinin üyeleridir. Bcl-2, kanser oluşumunda önemli bir yere sahiptir. Bcl-2'nin etki mekanizmasından daha sonra bahsedilecektir.

Apoptotik regülasyonda başka önemli proteinler de vardır. Bunlar arasında p53 proteini ve viral proteaz inhibe edici proteinlerin memeli homologları vardır.

**Yok Etme Fazı:** Apoptozun bu fazı, heterojen sinyaller ve regulatuar mekanizmaların toplandığı, bir proteolitik seri ve son yoldur. Tüm apoptoz formlarına uygulanabilecek genel temaları vardır. Yok etme fazını tetikleyen ve yönlendiren proteazlar, türler arasında değişmezler ve caspase ailesine aittirler. C.elegans'ın ced-3 geninin memeli homologlarıdır. Caspase terimi bu enzim ailesinin, iki katalitik özelliğinden gelir. "C" Cysteine proteaz mekanizmasını, "aspase" ise bu enzimlerin çok özel, yalnızca kendilerine has, aspartik asit rezidülerinden sonra parçalayabilme yeteneklerine bağlıdır. Caspase ailesinin, ondan fazla üyesi vardır ve temel olarak başlatıcı ve yokedici şeklinde iki fonksiyonel gruba ayrılabilirler. Hücre ölümünde önce hangi sıraya göre



aktive edildikleri, gruplarını belirler. Başlatıcı caspaseler arasında Apaf-1'i bağlayan caspase 9 ve Fas-Fas ligand bağlantılarında tetiklenen caspase 8 vardır<sup>35,36</sup>.

Çoğu proteaz gibi, caspaseler de zymogen olarak bulunurlar ve apoptozu başlatabilmek için parçalanarak aktive olmaları gerekir. Caspaselerin, başka caspase'leri ve otokatalitik olarak kendilerini hidrolize edebilecekleri, klivaj bölgeleri vardır. Başlatıcı caspase tetiklendikten sonra, enzimatik ölüm programı hızlı ve seri bir şekilde harekete geçer. Yokedici caspaseler, sitoskeletonun, sitoskeletal ve nükleer matriks proteinlerini parçalayarak bozarlar<sup>37</sup>. Caspase aktivasyonunun nukleustaki hedefleri; transkripsiyon, DNA replikasyonu ve DNA tamirinde görevli proteinlerdir. Özellikle caspase 3 aktivasyonu, sitoplazmik bir Dnase'i, (CAD) onun inhibe edici enzimini parçalayarak aktive eder ve DNA'nın karakteristik internukleosomal klivajı gerçekleşir<sup>38</sup>.

**Ölü Hücrelerin Temizlenmesi:** Apoptotik hücreler ve fragmanları, yüzeylerindeki belirleyici moleküllerden dolayı bitişik hücreler ve fagositler tarafından erken tanınır ve fagositoza uğrarlar. Bu proses o kadar etkilidir ki, ölü hücreler hiçbir iz bırakmadan kaybolurlar ve enflamasyon neredeyse yoktur<sup>31</sup>.

### **APOPTOSİS'İ REGÜLE EDEN GENLER**

Bcl-2 ailesinin transkripsiyonunu regüle eden faktörler apoptozu etkileyebilirler. Örneğin (önceden anlatıldığı gibi) tümör supresör gen p53'ün proapoptotik etkisinin, bax geninin up-regülasyonu ile olduğu düşünülmektedir. Bax geni transfer edilmiş farelerde, bax'ın up-regülasyonu apoptosisi destekleyerek tümör büyümesini suprese eder .

Apoptoz regülasyonunda Bcl-2 dışında en az iki kanser bağlantılı gen de için içindedir. p53 geni ve protoonkogen c-myc. Bu ikisi tarafından hücre ölümünü tetikleyen moleküler mekanizmalar, Bcl-2 yolları ile kesişir. P53 aktivasyonu, bax sentezini up-regüle eder böylece Bcl-2'ye karşı koyar. C-myc tarafından aktive edilmiş hücreler ise ortamdaki büyüme faktörleri azaldığı zaman, bu çelişkili sinyaller sonrasında, p53 up-regülasyonu ve tanımlanamayan diğer sinyaller tarafından ölüme programlanırlar. Bcl-2'nin overekspresyonu hücreleri c-myc ile başlatılan apoptozdan kurtarabilir. Yani c-myc ve bcl-2 tümörigenezde işbirliği içinde gibi görünürler: c-myc proliferasyonu tetikler, bcl-2 ise büyüme faktörleri sınırlayıcı da olsa hücre ölümünü engeller <sup>39</sup>.

**BCL-2** Bcl-2, 26 kD'luk bir proteindir. Hidrofobik karboksil terminali sayesinde intraselüler membranlarda lokalize olabilir ve diğer kısmı da sitozolde kalır. Bcl-2, hücre ölümünü baskılar ve değişmiş gen ekspresyonunun, proliferasyonu etkilemeden, hücre yaşamını arttırabileceğinin ilk delili olmuştur <sup>40</sup>.

Bcl-2'ye dizilim olarak homolog olan bir seri gen tarif edilmiş ve Bcl-2 gen ailesi olarak adlandırılmıştır (Tablo II) <sup>42,43</sup>. Ortak noktaları hücre ölümünü regüle etmeleridir. Ölümü baskılayan ve ölümü teşvik eden iki antagonistik gruba ayrılırlar. Genlerin protein ürünleri, BH1 ve BH2 (Bcl-2 homolog 1 ve 2) isimli iki bölgeyi paylaşırlar. Bu iki bölge heterodimerizasyonu regüle eder ve gen ailesi üyeleri dimerizasyon kompetisyonu ile hücre ölümünü regüle edebilirler. Gen ailesinin ekspresyonu, hücre tipleri ve diferensiyasyon evrelerine göre farklı regüle edilir, bu yüzden hücre üzerindeki biyolojik etkisi, gen ailesinin miktarına, selektif ekspresyonuna ve dimerizasyon durumuna bağlıdır <sup>45</sup>.

İlk çalışmalarda bcl-2 hemotopoetik ve mezenkimal hücre kaynaklı hücrelerle sınırlıydı, ancak şimdi bcl-2'nin apoptosisi regüle edici rolünün epitel diferansiyasyonunda, ve morfogenezde de önemli olduğu görülmektedir <sup>46</sup>.

**Tablo II: Bcl-2 Gen Ailesi**

İsim	Tür	Ürün	Ekspresyon
<b>Ölümü Baskılayan</b>			
<i>Bcl-2</i>	İnsan	p26, p21	Diferansiyasyon ve morfogenez evresi ile ilgili çeşitli hücrelerde
<i>Bcl-X<sub>L</sub></i>	İnsan	p25	Çoğunlukla uzun ömürlü postmitotik hücrelerde
<i>MCL1</i>	İnsan	p37	Myeloid hücre diferansiyasyonu ile ilişkili
<i>A1</i>	Fare	p20	Hematopoetik hücrelere spesifik
<i>Mbcl-X</i>	Fare	p23	Lenfositlerde
<i>Ced 9</i>	C.elegans	p32	Gelişme ile ilişkili
<i>BHRF1</i>	EBV	p17	Viral latent enfeksiyonla ilişkili
<i>LMW5-HL</i>	ASF virüsü	p18	Virüsle enfekte olmuş hücrelerde erken eksprese olur
<b>Ölümü Teşvik Eden</b>			
<i>Bax</i>	İnsan	p21	Çoğu dokudaki, bcl-2 ekspresyonu ile ters ilişkili çeşitli hücrelerde
<i>Bcl-X<sub>S</sub></i>	İnsan	p14	Yüksek dönüşüm oranı olan hücrelerde
<i>Bak</i>	İnsan	p25	Çeşitli hücrelerde
<i>Bad</i>	Memeli	p22	Çeşitli hücrelerde

### **BİYOLOJİK ETKİ VE MOLEKÜLER MEKANİZMALAR**

Bcl-2'nin tümörigenezi teşvik etme mekanizması, kendine özgü ve tektir. Gen ekspresyonu, bazı hücre tiplerine, apoptozu engelleyerek yaşam avantajı sağlar. Bu embriyogenez, morfogenez, immun sistemin gelişmesi, hücre matürasyonu ve diferansiyasyonu gibi normal biyolojik proseslerin önemli bir özelliğidir <sup>49</sup>.

Bcl-2'nin ölüm engelleyici etkisi, ilk olarak B lenfositlerinin çalışmasında gösterilmiştir. Vaux et al., yaşam ve büyüme için lenfokin interleukin'e (IL-3) bağlı olan bir B hücre serisi kullanarak, Bcl-2 overekspresyonunun, hücreleri IL-3 eksikliğine rağmen yaşattığını buldular .

Bir çalışmada, Epstein Barr virüsü (EBV) tarafından ölümsüzleştirilen B lenfoblastoid hücre serisinde, Bcl-2 overekspresyonunun büyümeyi kolaylaştırdığı görülmüş. Sıçan fibroblastlarında, c-myc ekspresyonu serum içeren kültür medyasında hücre proliferasyonunu tetikler, ancak serumun çekilmesi apoptosis ile sonlanır ve bcl-2, serum eksikliğine rağmen apoptosisi bloke eder <sup>46,50</sup>.

Ektopik bcl-2 ekspresyonunun, bazı ajanlara bağlı apoptozu bloke ettiği gösterilmiştir. Bunların içinde Ca iyonu, etanol, radyasyon, kortikostereoidler, cAMP uygulaması ve ısı-şok tedavileri sonrası apoptosis yer almıştır <sup>50,52</sup>.

Bcl-2'nin hücre proliferasyonu üzerine direkt etkisi yok gibi görünmektedir, çünkü overekspresyonu, kaçınılmaz hücre proliferasyon artışına ve hücre siklus paterninde değişikliğe yol açmaz. Dahası Bcl-2 transgenik farelerde, B lenfositleri uzamış yaşam ile beraber proliferasyonda artma göstermezler. Benzer sonuçlar epitel hücre çalışmalarında da elde edilmiştir <sup>55</sup>.

Hücreler, Bcl-2 etkisi ile hücre siklusunun her devresinde apoptozdan kurtulabilirler. Ancak Bcl-2'nin apoptosisi hangi mekanizmayla bloke ettiği net değildir.

Bcl-2 overekspresyonunun DNA fragmentasyonunu (apoptosisin işareti) engellemesi, sitozolik Ca<sup>++</sup> seviyesinin düşmesi ve mitokondrial Ca<sup>++</sup> seviyesinin artması ile alakalıdır. Bu durum, Bcl-2'nin intraselüler Ca<sup>++</sup> dağılımının reglasyonunda rol oynadığını düşündürmüştür <sup>57</sup>. Bu düşünce, Ca<sup>++</sup> tarafından indüklenen apoptozun, ektopik bcl-2 ekspresyonu ile bloke edilmesinin gösterilmesi ile desteklenmiştir. Bcl-2, epitel hücrelerinin nükleer membran ve mitotik nükleuslarında da lokalize edilmiştir. Bu da DNA'yı nükleaz aktivasyonu ile tahrip olmaktan koruyabileceğini düşündürmüştür <sup>59</sup>.

Bazı hücrelerde Bcl-2 apoptozu bir "docking protein" gibi davranarak da engeller. Sitozolde proteinleri bağlar ve onları mitokondrial membranda hapseder. Bu

tip Bcl-2 bağlayıcı proteinler arasında pro-apoptotik proteaz aktive edici faktör (Apaf-1) önemlidir ve nematod geni ced-4'ün memelilerdeki homologudur. Bu protein ayrıca bazı "initiator caspase"lerin (e.g. caspase 9) inaktif zimogen formları ile de bağlantılıdır. Ölüm sinyalleri tarafından sitokrom-c mitokondriadan salındığında, Apaf-1'e bağlanıp onu aktive ettiği ve böylece "initiator caspase"nin tetiklenerek hücreyi yok olmaya götüren proteolitik olayların başlamasına sebep olduğu speküle edilmektedir. Bu senaryoda Bcl-2, Apaf-1'i bağlayarak harseder, ve sitokrom-c mitokondriadan dışarı sızmış bile olsa, Apaf-1 aktive olamaz ve katalitik caspase tetikleyici fonksiyonu engellenmiş olur<sup>60</sup>.

Bcl-2 gen ailesinin hangi kesin mekanizmalarla, apoptoza götüren caspase aktivasyonunu regüle ettiği sıkı araştırma altındadır.

Bu konudaki en yeni düşünce şöyledir<sup>8,63</sup>:

- Çoğu apoptosis modelinde, sitokrom-c'nin mitokondriadan salınması kritik step olarak görülür. Sitokrom-c'nin bir fonksiyonu, caspase 9 aktivasyonunu asiste etmektedir.
- Mitokondrianın dış membranında bulunan Bcl-2 üyeleri, sitokrom-c'nin sitozola geçişini regüle ederler. Bu regülasyonun kesin olarak nasıl gerçekleştiği tamamen net değildir ancak Bcl-2'nin proapoptotik üyesi bax'ın mitokondria membranında sitokrom-c'nin çıkışı için bir geçiş oluşturduğu ve Bcl-2'nin de, bax'ın kanal oluşturucu etkisini engellediğine dair bazı deliller vardır.
- Bcl-2 ailesinin proapoptotik ve anti-apoptotik üyeleri programlı hücre ölümünün regülasyonunda bir reostat gibi davranırlar. Ölüm antagonistleri (Bcl-2, Bcl-X<sub>L</sub>) ve agonistlerinin ( Bax, Bcl-X<sub>S</sub>, Bad, Bid) oranı hücrenin

apoptoz sinyaline ne şekilde cevap vereceğini belirler. Bu reostat, karşılıklı kompetitif dimerizasyon ile işler. Bcl-2 homodimerleri hücre yaşamını desteklerken (muhtemelen kanal oluşturan bax'ı deplase ederek), bax homodimerleri apoptozu destekler.

### **ONKOJENİK POTANSİYEL, BCL-2 VE P53 İLİŞKİSİ**

Bcl-2'nin ilk olarak foliküler lenfomalarda <sup>5</sup> takdir edilen onkojenik potansiyeli, daha sonra çoğunlukla non-epitelial hücrelerde yapılan, in vitro ve in vivo çalışmalarla da desteklenmiştir. Bcl-2 geni hücrel ve viral onkojenlerle birlikte hareket edebilir ve hücre ölümsüzlüğü ve/veya transformasyonu ortaya çıkabilir <sup>66,67</sup>.

Bu kooperatif etki Bcl-2 ve c-myc arasında lenfoid sistemde gösterilmiştir. Vaux et al. <sup>50</sup>, Bcl-2'nin in vitro B-hücre prekürsörlerinin proliferasyonlarını teşvik eden c-myc ile koopere olduğunu ve bu hücrelerden bir kısmının “nude mice”ta tümörijenik olduğunu göstermiştir <sup>66</sup>. Bcl-2 transgenik farelerin poliklonal lenfoid hiperplazi ve daha çok küçük foliküler merkez hücrelerde oluşan foliküler hiperplazi geliştirdikleri ve farelere c-myc geni transfer edildiğinde bu durumun büyük hücreli lenfomaya dönüştüğü gösterilmiştir. Bunlar sonucunda Bcl-2 ekspresyonunun hücrelerin yaşam sürelerini uzattığı ve böylece kromozom anormallikleri veya viral enfeksiyonlar gibi başka değişikliklere uğrama riskini arttırdığı ve bunun sonucunda da malin transformasyon veya açık tümör progresyonunun ortaya çıkabileceği düşünülmüştür <sup>69,70</sup>.

Bcl-2 epitelial tümörigenezde de benzer bir rol oynayabilir. Bcl-2 transgenik farelerde, epitelial malignensi insidansında bir artış gösterilmemiştir <sup>69</sup>. In vitro çalışmalar ayrıca, gen transferi ile Bcl-2 overekspresyonunun epitel hücrelerini

ölümsüzleştiremediğini <sup>71</sup>, ve SV40 ile ölümsüzleştirilmiş epitel hücrelerini transformasyona uğratamadığını göstermiştir <sup>55</sup>. Ancak immünohistokimyasal çalışmalar Bcl-2 ekspresyonunun epitelial malignansilerde erken bir olay olabileceğini göstermiştir. Yüksek Bcl-2 seviyeleri hiperplazik ve displazik deri lezyonlarında ve hiperplazik endometriyumda gösterilmiştir. Gastrointestinal epitelde, Branner et.al , Bcl-2'nin tümöre bitişik, morfolojik olarak normal epitel hücrelerinde, displazik ve hiperplazik hücrelerde eksprese edildiğini rapor etmişlerdir. Bcl-2 ekspresyonu ve malignensi arasındaki fonksiyonel ilişki daha ileri araştırmalar gerektirmektedir <sup>73,74</sup>.

Son yıllarda Bcl-2 ve bax'ın p53 tarafından regüle edildiğine dair birçok çalışmalar vardır. Bax (Bcl-2 associated gene x, Tablo II), Bcl-2 gen ailesinin bir üyesidir ve ölümü teşvik eder. Bax'ın overekspresyonu apoptotik hücre ölümünü hızlandırır. Bunu [muhtemelen Bcl-2 homolog bölgelerinde(BH1 ve BH2)], Bcl-2 ile heterodimerler oluşturarak yapar ve Bcl-2'nin ölümü baskılayıcı etkisine karşı koyar <sup>75,76</sup>.

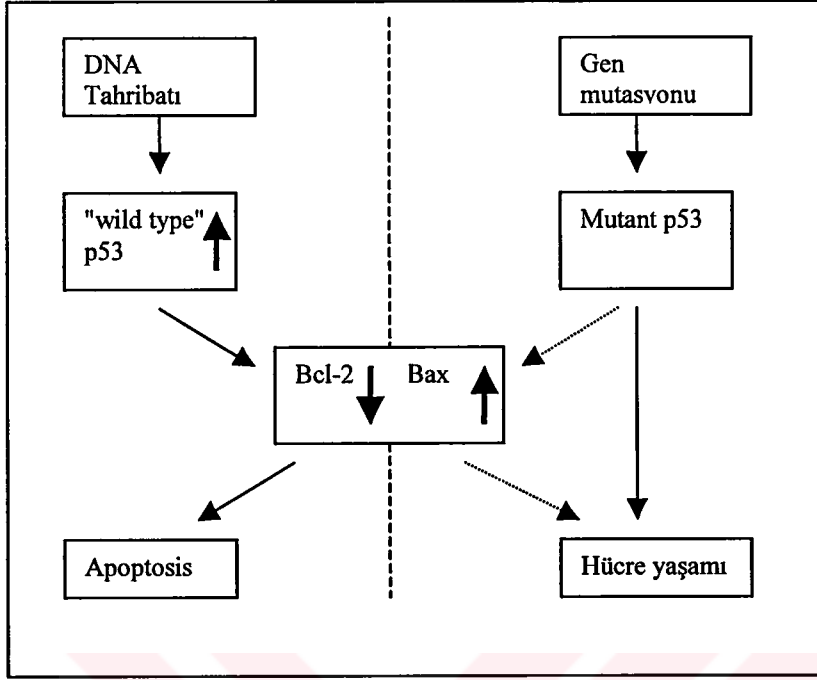
P53'ün iki ayrı fonksiyonu vardır; G1 arestini ve apoptosisi indüklemek. Bunu özellikle hücrelerde DNA tahribatı ortaya çıktığında yapar. P53'ün G1 arestini indüklediği yol tarif edilmiştir<sup>77</sup>, ancak p53'ün apoptosisi indüklediği yol anlaşılammıştır. Bcl-2'nin p53 tarafından tetiklenen apoptosiste varlığı ilk olarak p53 yoluyla başlayan apoptosisin, Bcl-2 ekspresyonu ile bloke edilebildiğinin gözlenmesi ile ortaya atılmıştır <sup>75</sup>. Miyashita et al. p53'ten yoksun farelerde, Bcl-2 ekspresyonunun arttığını ve beraberinde Bax ekspresyonunun da downregüle edildiğini (özellikle prostat epitelinde) rapor etmiştir. Bu sonuçlar "wild type" p53'e bağlı apoptosisin, en azından kısmen Bcl-2 ekspresyonu veya fonksiyonunu baskılaması yoluyla olduğu hipotezini doğrulamıştır. Bu hipoteze destek, lenfoid hücrelerde ektopik p53'ün, endojen Bcl-2

ekspresyonunu downregüle ettiğinin gösterildiği, in vitro çalışmalardan gelmiştir <sup>78</sup>. Daha da ötesi Miyashita et al., Bcl-2 geninin 5' upstream bölgesinde p53'e bağlı bir negatif cevap elemanını tanımlamışlardır. In vivo çalışmalar p53 seviyelerinin, meme kanserinde Bcl-2 ekspresyonu ile ters orantılı olduğunu göstermiştir <sup>80,82</sup>.

İmmünohistokimyasal olarak tespit edilen p53 genellikle mutasyona uğramış olduğundan, mutant p53'ün de epitel hücrelerde Bcl-2'yi baskılayıcı etkisini sürdürdüğü düşünülmüştür. Bu düşünce, memeli epitelial hücre serisine konulan mutant p53'ün, Bcl-2 ekspresyonunu engellediğinin gösterildiği bir gen transfer çalışması ile de desteklenmiştir. Ancak bu inhibe edici etki hücre tipine bağlı olabilir, çünkü bazı mesane kanserlerinde p53 ve Bcl-2'nin beraberce yüksek seviyelerde olduğu görülmüştür. Fig.1'de Bcl-2, bax ve p53'ün hücre ölüm/yaşam yolundaki fonksiyonel ilişkisi özetlenmiştir. "wild type" p53, Bcl-2'yi downregüle ederek ve Bax'ı upregüle ederek hücre ölümünü teşvik eder. P53'teki bir mutasyon, onun G1 arest etkisini kaybettirebilir, ancak mutant p53, Bcl-2 üzerindeki negatif regülatör etkisini sürdürebilir ve Bcl-2 yerine geçerek onun gibi davranabilir. Mutant p53'ün ekspresyonu veya hem mutant p53 hem de Bcl-2'nin ekspresyonu tümör hücrelerine yaşam avantajı verebilir. Bu model daha ileri çalışmalarla teyid edilmelidir <sup>76</sup>.



**Fig.1**



### **BCL-2 EKSPRESYONUNUN KLİNİK ÖNEMİ**

Epitelial tümörler, lenfoid malignitelere göre genelde ilaç ve radyasyon tedavisine daha resistandır. Prostat kanserinde Bcl-2 ekspresyonu hormon tedavisi sonrasında tümör progresyonu ile ilgilidir; bu durumda Bcl-2 androjen ablasyon tedavisine resistans sağlıyor olabilir <sup>83</sup>. Hormon refrakter tümörlerde iki epitel popülasyon vardır: Bcl-2 (-) ve Bcl-2 (+). Bcl-2 (-) hücreler, androjen çekilmesine duyarlı iken, Bcl-2 (+) hücreler yaşamaya devam eder, çoğalır ve metastaz yaparlar. İlaçların terapötik etkileri hücre tipine ve Bcl-2 ekspresyonu ile ilişkisine bağlıdır <sup>85</sup>.

Diğer insan malignitelerinde, Bcl-2'nin tedaviye resistans ve kötü prognoz ile ilişkisi gösterilmemiştir. Meme kanserinde Bcl-2 ekspresyonu, östrojen ve progesteron reseptörleri ile ilgili bulunmuştur. Ayrıca bu tip kanserlerde, düşük mitotik sayı, düşük seviyeli epidermal büyüme faktör reseptörü gibi iyi prognostik faktörler ile ilişkisi bulunmuştur <sup>82</sup>.

Bcl-2 ekspresyonunun epitelial ve diğerk malignitelerde prognoza olan etkisi kesin değıldir ve bu konuda, altta yatan mekanizmalara dair çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak; Bcl-2 ve gen ailesi hücre ölümü ve yaşamında önemli rol oynar. Bcl-2'nin epitelial diferansiyasyon, morfogenezdeki rolü, hormon regülasyonuna cevabı ve tümörigenezdeki rolüne dair bir model gösterilmiştir. Bcl-2 ekspresyonu tarafından "commitment" evresinde sağlanan koruma, epitelin diferansiye olmasına ve morfogenezin devamına fırsat verir. Hücreler bir kez terminal olarak diferansiye olduklarında, artık korunmaları şart değıldir, çünkü onlar artık ölmeye programlanmışlardır.

Hormona duyarlı dokularda, hormon stimülasyonu terminal olarak diferansiye olmuş hücrelerin yaşamlarını idame ettirir. Bunu da muhtemelen Bcl-2'yi upregüle ederek yapar. Hormonun geri çekilmesi Bcl-2 ekspresyonunu kapatır ve hücreleri apoptoza götürür <sup>73</sup>.

Epitel hücreleri tam terminal döneme girdiklerinde ya da girmek üzere iken Bcl-2'nin upregülasyonu (örneğin viral enfeksiyon tarafından) uzamış yaşam süresine sebep olabilir, bu da daha öte genetik değışimlere ve transformasyona sebep olabilir.

řu anda Bcl-2'nin işleyişinin, moleküler mekanizmasını ve Bcl-2'nin aile üyeleri ve p53 ile ilişkisini anlamaya çalışmak açısından, çok yoğun bir ilgi vardır. Bu sayede kanser tedavisinde, çok etkili terapötik yöntemler ortaya çıkarılabilir.

## **MATERYAL VE METOD**

Çalışmamızda Marmara Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD'de 1990-1999 yılları arasında endometrial adenokarsinoma tanısıyla opere edilmiş, yaşları 42 ile 77 (ort.61) arasında değişen 35 vaka (31 adet endometrioid adenokarsinoma, 4 adet seröz papiller karsinoma) (Tablo III); benin sebeplerden dolayı histerektomi ya da küretaj yapılmış ve proliferatif endometrium (n=9), sekretuar endometrium (n=5), atipisiz hiperplazi (n=5: basit hiperplazi n=3, kompleks hiperplazi n=2) ve atipili hiperplazi (n=5: basit atipili hiperplazi n=3, kompleks atipili hiperplazi n=2) tanısı almış toplam 59 adet vaka değerlendirilmiştir.

Tümörlerin grade ve evrelemesi, FIGO 1988 kriterlerine göre yapılmıştır. Vakalara ait spesimenler, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji AD arşivlerinden çıkarılmıştır. Formalin fiksasyonlu parafine gömülü tüm vakaların, Hemotoksilen Eozin ile boyalı kesitlerinin yeniden gözden geçirilmesi sonucunda, seçilen bloklara immunohistokimya yöntemi ile Bcl-2 ve p53 antikorları uygulanmıştır.

### **Bcl-2 İmmunohistokimya**

Formalin fiksasyonlu parafine gömülü dokulardan 5 m $\mu$ 'luk kesitler Microm HM 310 mikrotomda Ploy -L-Lysine ile kaplı lamlara alınmıştır. Tüm kesitler 37C'lik etüvde 1 gece deparafinize edilmiştir. 3x5 dakika ksilen ile devam eden deparafinizasyondan sonra 2x10 dakika süreyle %100 alkol ve suyla kesitler hidrate edilmiştir. Endojen peroksidaz aktivitesi, metanolde hazırlanan %3 hidrojen peroksit ile baskılandıktan sonra kesitler distile su ile yıkanmıştır. 10 $\mu$ m EDTA solüsyonu, mikrodalga fırında (Arçelik ARMD 550) en yüksek güçte 3 dakika süreyle ısıtılmış,

daha sonra sıcak EDTA solüsyonuna alınan kesitler düşük güçte 3x5 dakika süreyle ısıtılmıştır. Kesitler sıcak EDTA solüsyonunda 15 dakika süreyle oda ısısında soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra distile suyla yıkanan kesitler pH 7,6 tris tampon solüsyonuna alınıp iki değişim tris tampon solüsyonu ile 5'er dakika yıkanmıştır. Çevresi kurulan kesitlere 20 dakika süreyle oda ısısında normal keçi serumu (Biogenex) ile protein blokajı uygulanmıştır. Kesit çevresindeki serum kurulanıp 1:100 Bcl-2 Supersensitive Mouse Anti-Bcl-2 Oncoprotein (Biogenex AM287-5M), oda ısısında 30 dakika süreyle uygulanmıştır. Tris tampon solüsyonunda 2x5 dakika yıkanan kesitlere oda ısısında biotinlenmiş antimouse Ig (Biogenex HK 335-5M), 20 dakika süreyle uygulanmıştır. Tris tampon solüsyonunda 2x5 dakika yıkanan kesitlere peroksidaz konjuge streptavidin (Biogenex HK 330-5K), 20 dakika süreyle uygulanmıştır. Kesitler tekrar Tris tampon solüsyonu ile 2x5 dakika yıkanmıştır. Oda ısısında kesitlere DAB solüsyonu (Biogenex) 5 dakika süreyle uygulanmıştır. %0,01 konsantrasyonda kobalt klorüre alınan kesitler akan su altında 10 dakika yıkanmıştır, 30 saniye süreyle Mayer hematoksilenle nükleer boyama yapılmıştır. Lityum karbonatla nükleer morartma sağlanmıştır. Dehidrate edilen kesitler Ksilen ile kapatılmıştır.

Bcl-2 ekspresyonu için pozitif kontrol olarak endometrial bezleri infiltre eden lenfositler kullanılmıştır. Ayrıca her vakada normal myometrium dokusu da internal kontrol olarak değerlendirilmiştir.

### **P53 İmmunohistokimyası**

P53 immunohistokimyası için hazırlanan kesitlerde yukarıdaki protokol aynı şekilde uygulanmış olup, farklı olarak Supersensitive Mouse Anti-Bcl-2 Oncoprotein yerine Supersensitive Mouse Anti-p53 Supressor Gene Product (1801) (Biogenex AM 240-5M), oda ısısında 2 saat süreyle uygulanmıştır.

P53 ekspresyonu için pozitif kontrol olarak, immunoreaktivite gösterdiği bilinen bir kolon karsinoma vakası kullanılmıştır.

### **Değerlendirme**

Bcl-2 ekspresyonu değerlendirilirken yoğun ve difüz boyanan vakalar (++), vakaların bir kısmının yoğun, bir kısmının az boyanması veya hiç boyanmaması şeklinde heterojen boyanma gösteren vakalar (+), belli belirsiz boyanan veya hiç boyanma göstermeyen vakalar (-) olarak değerlendirilmiştir.

P53 ekspresyonu boyanan vakaların oranı <%5 olduğunda (-), %5 ile %33 arasında olduğunda (+), %33 ile %66 arasında olduğunda (++), ve >%66 olduğunda (+++) olarak değerlendirilmiştir.

### **İstatistik**

Vakaların istatistiksel analizinde  $\chi^2$  (Ki-kare testi), Fischer Kesin Olasılık testi,  $\chi^2$  Korelasyon ve Tek Yönlü Anova testleri kullanılmıştır.

	Vaka	Yaş	Grade	M.İ. <sup>a</sup>	Evre	L.V.İ. <sup>b</sup>	L.N.Met. <sup>c</sup>	P53	BCL-2
1	Endometrioid Adenoca	52	I	0	Ia	-	-	-	+
2	Endometrioid Adenoca	57	I	<1/2	Ib	-	-	-	-
3	Endometrioid Adenoca	47	III	>1/2	IIIa	+	-	-	+
4	Endometrioid Adenoca	56	I	<1/2	Ib	-	-	+	-
5	Endometrioid Adenoca	67	II	>1/2	Ic	-	-	+	-
6	Endometrioid Adenoca	51	III	<1/2	Ib	-	-	-	-
7	Endometrioid Adenoca	55	II	<1/2	Ib	-	-	-	+
8	Endometrioid Adenoca	52	II	<1/2	Ib	-	-	-	+
9	Endometrioid Adenoca	66	I	>1/2	Ic	-	-	-	++
10	Endometrioid Adenoca	64	I	<1/2	Ib	-	-	-	-
11	Endometrioid Adenoca	60	II	<1/2	Ib	-	-	-	-
12	Endometrioid Adenoca	65	I	<1/2	Ib	-	-	-	+
13	Endometrioid Adenoca	76	I	>1/2	Ic	-	-	-	-
14	Endometrioid Adenoca	68	I	<1/2	Ib	+	-	+++	+
15	Endometrioid Adenoca	68	I	<1/2	Ib	-	-	-	+
16	Endometrioid Adenoca	68	II	>1/2	Ic	-	-	-	+
17	Endometrioid Adenoca	60	II	>1/2	IIIc	+	+	-	++
18	Endometrioid Adenoca	56	II	>1/2	Ic	-	-	++	-
19	Endometrioid Adenoca	59	I	<1/2	Ib	-	-	-	+
20	Endometrioid Adenoca	65	I	>1/2	Ic	-	-	-	-
21	Endometrioid Adenoca	61	I	>1/2	Ic	-	-	-	-
22	Endometrioid Adenoca	55	I	<1/2	Ib	-	-	-	+
23	Endometrioid Adenoca	55	I	<1/2	Ib	-	-	-	+
24	Endometrioid Adenoca	51	II	<1/2	IIa	-	-	-	+
25	Endometrioid Adenoca	65	I	>1/2	Ic	-	-	-	+
26	Endometrioid Adenoca	60	I	0	Ia	-	-	-	++
27	Endometrioid Adenoca	76	I	>1/2	Ic	-	-	-	++
28	Endometrioid Adenoca	60	I	<1/2	Ib	-	-	-	+
29	Endometrioid Adenoca	53	I	0	Ia	-	-	-	-
30	Endometrioid Adenoca	58	II	<1/2	Ib	-	-	+	+
31	Endometrioid Adenoca	60	I	<1/2	Ib	-	-	-	+
32	Seröz Papiller ca	77		>1/2	Ic	-	-	+++	-
33	Seröz Papiller ca	60		<1/2	Ib	-	-	+++	-
34	Seröz Papiller ca	42		>1/2	IIIa	-	-	-	-
35	Seröz Papiller ca	65		>1/2	Ic	-	-	+++	+

**Tablo III: Endometrial Karsinomunun dağılımı ile p53 ve Bcl-2 ekspresyonu**

**Kısaltmalar:**

- a: myometrial invazyon
- b: lenfo-vasküler invazyon
- c: lenf nodu metastazı

## **BULGULAR**

31 adet (%88.5) endometrioid adenokarsinoma (EK) ve 4 adet (%11.5) endometrial seröz karsinoma (ESK) olmak üzere, toplam 35 adet endometrial kanser vakası değerlendirildi. 31 EK'nın 28'i evre I, 1'i evre II ve 2'si evre III; 4 ESK'nın 3'ü evre I, 1'i evre III idi. 31 EK'nın 20'si grade I, 9'u grade II ve 2'si grade III idi.

EK vakalarının yaş ortalaması  $60.2 \pm 7.9$  iken, ESK vakalarının yaş ortalaması  $61 \pm 14.5$  idi. Gruplar arasında ve grupların kendi içinde yaşa bakıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ,  $F=0.368$ ) (Tek yönlü Anova testi).

**Bcl-2 Ekspresyonu:** Bcl-2 ekspresyonu açısından bakıldığında, 35 kanser vakasının 14'ünde (%40) negatif ekspresyon ve 21'inde (%60) pozitif ekspresyon saptandı. Pozitifler kendi aralarında ayrıldığında 17'sinin (%80.9) + ve 4'ünün (% 19.1) ++ olduğu görüldü.(Bkz. Tablo IV) 5 adet atipili hiperplazide Bcl-2 ekspresyonu değerlendirildiğinde, 5 vakada da (%100) pozitif ekspresyon saptandı. Bunlardan 4'ü (%80) + iken, 1'i de (%20) ++ ekspresyon göstermekteydi. (Bkz. Resim 4)

5 adet atipisiz hiperplazinin hepsinde (%100) Bcl-2 ekspresyonu pozitif saptanırken, dağılım 1 hastada (%20) + iken, 4 hastada da (%80) ++ şeklindeydi. 9 adet proliferatif endometrium vakasının hepsinde (%100) pozitif Bcl-2 ekspresyonu saptanırken, dağılımın 2 hastada (%22) + iken kalan 7 hastada (%78) ++ olduğu görüldü.5 adet sekretuar endometrium vakasının hepsinde (%100) negatif Bcl-2 ekspresyonu saptandı. (Bkz. Resim 1, 2, 3)

Proliferatif endometriumdan kanser vakalarına kadar giden spektrum ile Bcl-2 ekspresyonu arasındaki ilişki, istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ( $\chi^2=26.2$ ,

$p < 0.0002$ ). Bu anlamlı ilişkinin gücü ve yönü, korelasyon katsayısı ile pozitif olarak saptandı. (Pearson's  $R = 0.60$ ,  $p < 0.0001$ ) (Bkz. Fig.2,3)

Bcl-2 ekspresyonunun, atipik hiperplazi grubu ve kanserli grup arasındaki dağılımına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

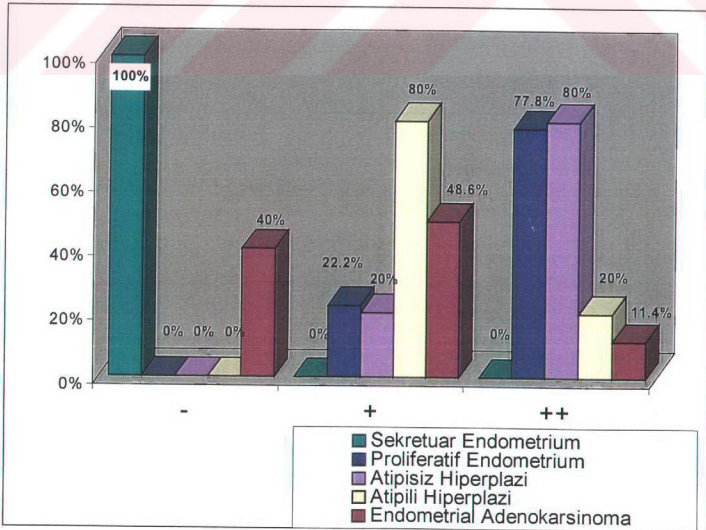
Bcl-2 ekspresyonunun, kanser vakalarında bilinen prognostik faktörlerle (grade, evre, myometrial invazyon, lenfovasküler invazyon) olan ilişkisinde, istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

**TABLO IV: Bcl-2 Ekspresyonu**

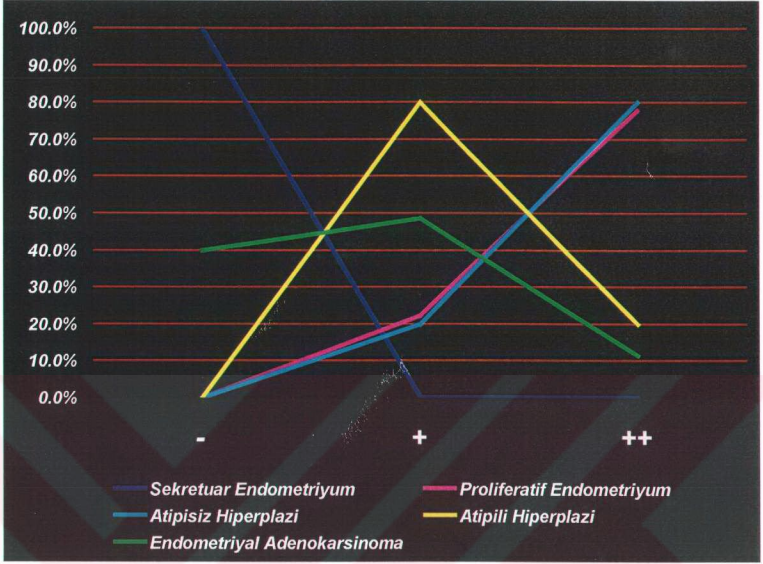
TANI	-	+	++
Sekretuar Endometriyum (n=5)	5	0	0
Proliferatif Endometriyum (n=9)	0	2	7
Atipisiz Hiperplazi (n=5)	0	1	4
Atipili Hiperplazi (n=5)	0	4	1
Endometrial Adenokarsinoma (n=35)	14	17	4

$p < 0.0002$

**Fig.2 Bcl-2 Ekspresyonunun Genel Dağılımı**







**Fig.3 Bcl-2 Ekspresyonunun Dağılımı** ( $p < 0.0001$ , Pearson's  $R = 0.60$ , pozitif korelasyon)

**P53 Ekspresyonu:** Toplam 35 kanser vakasından 27'sinde (%77.1) negatif, 8'inde (%22.9) pozitif ekspresyon saptandı. Pozitif ekspresyon gösteren vakalar kendi aralarında dağılım açısından değerlendirildiğinde, 3 vaka (%37.5) +, 1 vaka (%12.5) ++ ve 4 vaka (%50) +++ ekspresyon göstermekteydi. (Bkz. Tablo V, Fig.4,5)

İlginç olarak pozitif ekspresyonlar, kanser subtipleri arasında karşılaştırıldıklarında, endometrioid tipteki 31 vakanın 5'i (%16.1) pozitif ekspresyon gösterirken, seröz tipteki 4 vakanın 3'ünün (%75) pozitif ekspresyon gösterdiği saptandı. Seröz tipte, pozitivite gösteren 3 vakanın 3'ü de (%100) +++ ekspresyon gösterirken, endometrioid tipteki 5 pozitivite gösteren vakanın 3'ü (%60) +, 1'i (%20)

++,ve yalnızca 1'i (%20) +++ ekspresyon göstermekteydi. P53 ekspresyonu açısından bu iki subtip karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak da anlamlı bir fark saptandı ( $\chi^2=18.07$ ,  $p<0.0005$ ). (Bkz.Resim 5,7)

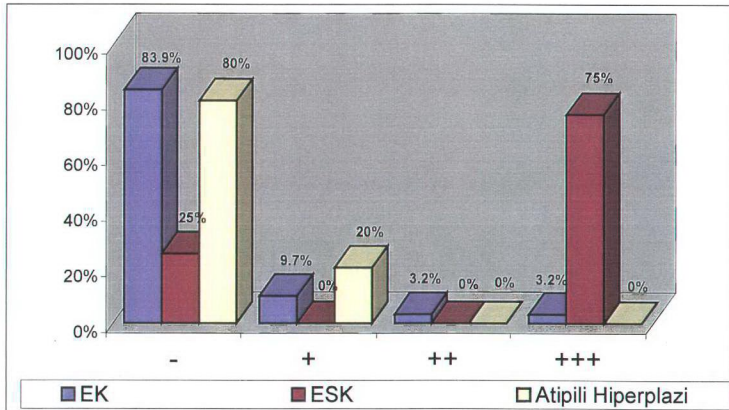
P53 ekspresyonuna 5 atipili hiperplazi vakasında bakıldığında, 1 (%20) vakada fokal ve zayıf (+) p53 ekspresyonu saptanırken, diğer vakalarda (%80) negatif ekspresyon saptandı.P53 ekspresyonu 5 atipisiz hiperplazi, 9 proliferatif ve 5 sekretuar endometrium vakasının hepsinde (%100) negatif olarak saptandı.

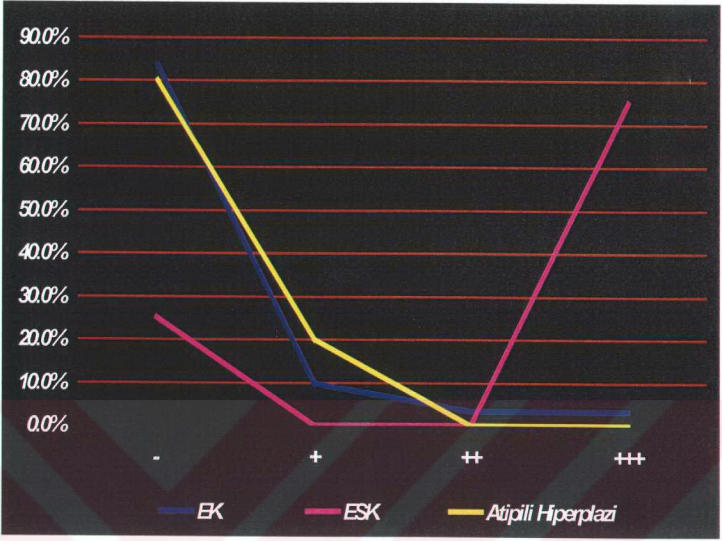
Klasik olarak bilinen prognostik faktörlerle, (grade, evre, myometrial invazyon, lenfovasküler invazyon) P53 ekspresyonu karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo V: Endometrial Kanselerde p53 Ekspresyonu**

		TANI				
		-	+	++	+++	
EK	(n=31)	26	3	1	1	EK: endometrioid adenokarsinoma ESK: endometrial seröz karsinoma $p<0.0005$
ESK	(n=4)	1	0	0	3	
Atipili Hiperplazi	(n=5)	4	1	0	0	

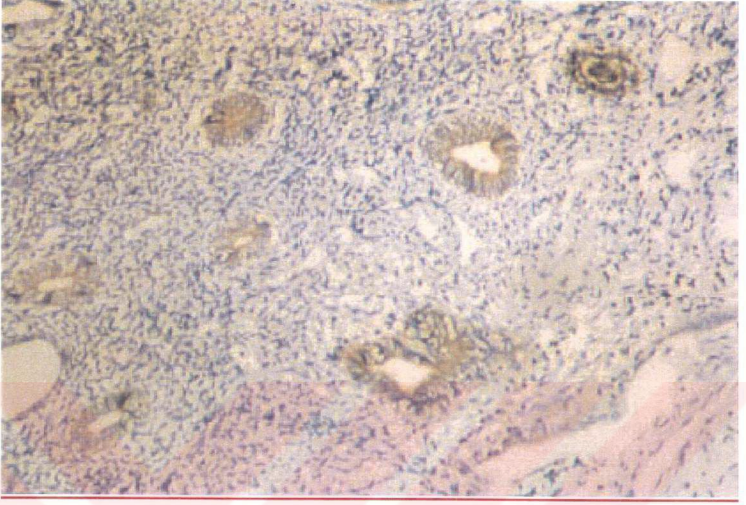
**Fig.4 p53 Ekspresyonunun Dağılımı**



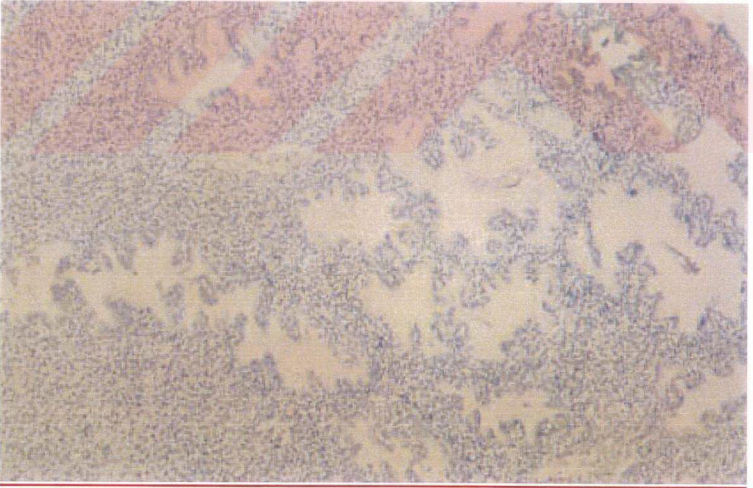


*Fig.5 p53 Ekspresyonunun Dağılımı ( $\chi^2=18.078, p<0.0005$ )*

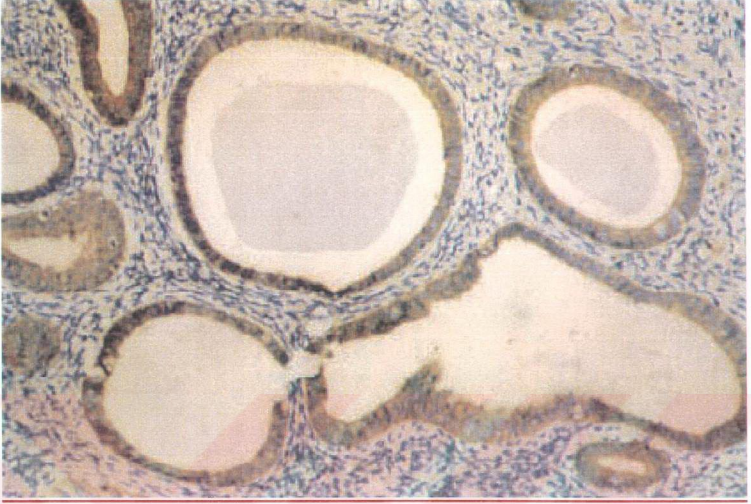
Genel olarak p53 ve Bcl-2 ekspresyonları karşılaştırıldığında, p53 ve Bcl-2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ( $p>0.05$ ).



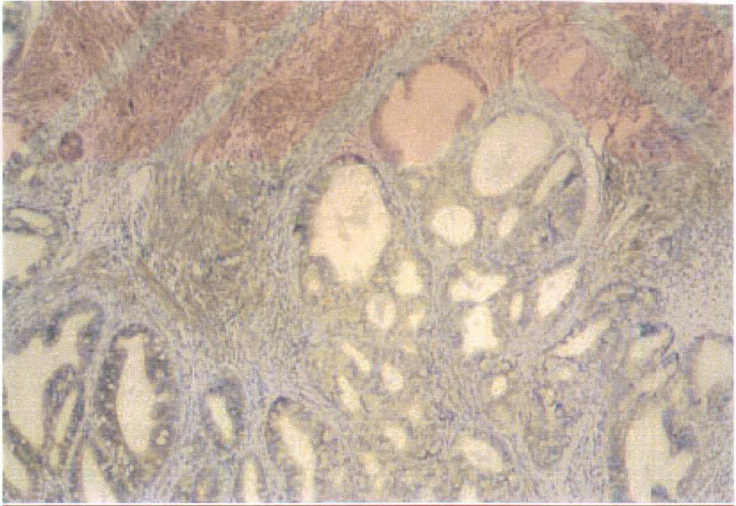
Resim 1. Diffüz bcl-2 ekspresyonu gösteren bir proliferatif endometrium vakası (x 40)



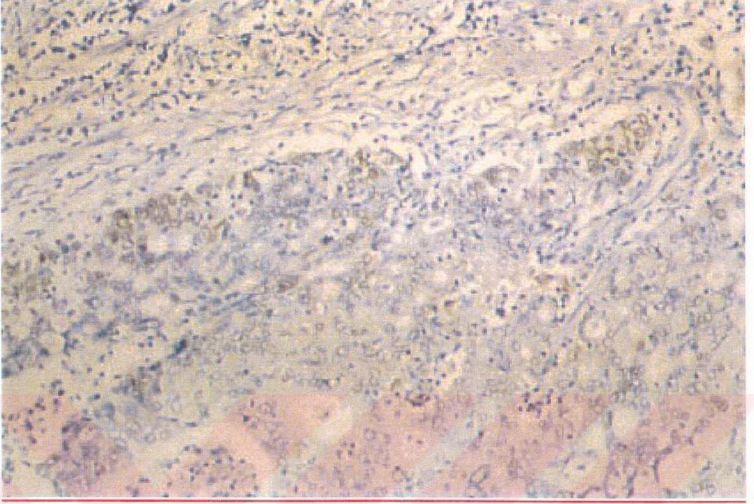
Resim 2. Bcl-2 ekspresyonu göstermeyen bir sekretuar endometrium vakası (x 40)



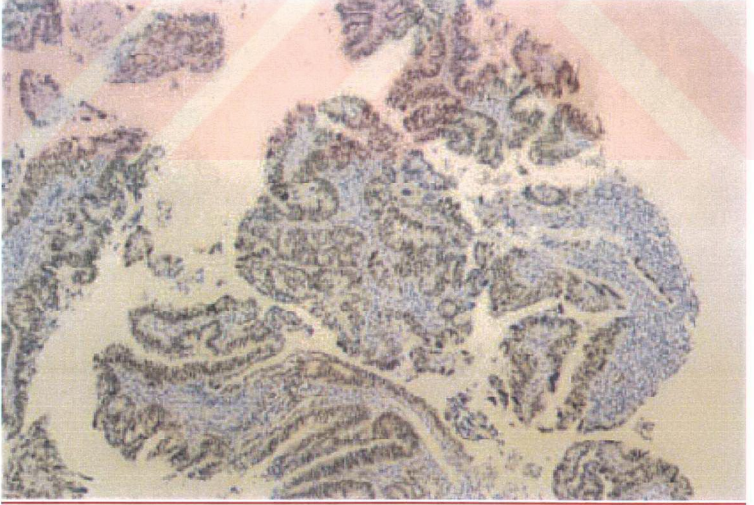
Resim 3. Diffüz bcl-2 ekspresyonu gösteren bir atipisiz hiperplazi vakası (x 100)



Resim 4. Heterojen bcl-2 ekspresyonu gösteren bir endometrioid ca vakası. İnternal kontrol olarak seçilen myometrium pozitif olarak boyanmış. (x 40)



Resim 5. Zayıf p53 ekspresyonu gösteren bir endometrioid ca vakası (x 100)



Resim 6. Diffüz p53 ekspresyonu gösteren bir endometrial seröz karsinoma vakası (x 40)

## TARTIŞMA

Endometrial adenokarsinoma kadın genital sisteminin en sık rastlanan malignitesidir ve kadınlarda ortaya çıkan bütün malignitelerin %11'ini oluşturur. Evre I endometrial kanser, tedavi edilebilir bir hastalıktır. 5 yıllık sürvi %66.8 ile %94 arasında değişebilir. Prognoz histolojik tip ve grade, myometrial invazyon derinliği, lenfovasküler alan invazyonu, evre ve patojenik tipe bağlıdır<sup>20</sup>.

Moleküler biyolojideki yakın dönem gelişmeleri, kanser patogeneğinde onkoproteinlerin önemli rolünü açığa çıkarmış ve hastalığın lokal ve metastatik yayılımındaki etkilerini vurgulamıştır. "wild type" p53 proteininin supresyonu, kanserin apoptozdan kurtulmasında majör bir rotadır ve endometrial kanserde de gösterilmiştir<sup>87</sup>.

Çoğu endometrial karsinoma, prekürsör lezyonlardan, bir seri tam anlaşılabilen genetik değişimler sonucu gelişir. Bcl-2 geni kromozom 18'de yer alır. Programlı hücre ölümünü engelleyen 25 kD'luk bir proteini kodlar ve bu yolla hücre yaşamını uzatır. Böylece yaşamı uzayan hücrenin çeşitli genetik değişimlere uğrama riski artar ve bunu neoplastik gelişim takip eder<sup>90</sup>.

Bcl-2 ilk olarak foliküler lenfomada saptanmıştır. Foliküler lenfomadaki karakteristik t(14:18) kromozom translokasyonu, kromozom 18'deki Bcl-2 genini, kromozom 14'teki immunoglobulin ağır zincirin tam üzerine yerleştirir<sup>91</sup>. Bu translokasyon Bcl-2 protein overekspresyonuna sebep olur ve etkilenen hücrelerin yaşamı uzar. Bu durumda, Bcl-2 diğer onkojenler arasında benzersizdir. Çünkü Bcl-2 gen ürünü neoplaziyi, hücre proliferasyonunu arttırmaktansa hücre yaşamını uzatarak teşvik eder<sup>93</sup>. Daha sonra Bcl-2 ekspresyonu başka çeşitli tümörlerde de tarif edilmiştir<sup>90</sup>.

İlk olarak Bcl-2'nin neoplastik olmayan dokularda saptanamayacağına inanılmıştı. Ancak sonraki çalışmalar, Bcl-2 ekspresyonunu çeşitli fetal ve yetişkin dokularda göstermiştir. Bcl-2 genelde apoptotik dönüşüm ile karakterize dokularda (B-hücreli lenfositler gibi) görülür, ancak terminal diferansiyasyona giden aktive olmuş ve undiferansiye hücrelerde de eksprese edilir.

Fetal dokuda Bcl-2, doku diferansiyasyonu için gerekli olan hücre ölümünü idare etmek yoluyla, morfogenezde rol alır<sup>94</sup>. Yetişkin dokularda Bcl-2, hematopoetik dokuda, epidermiste, bronş epitelinde, intestinal epitelde, prostat epitelinde, meme epitelinde, tiroid epitelinde ve nöronlarda gösterilmiştir<sup>96</sup>. Epitelial dokularda protein, tipik olarak bazal bölgelerde eksprese edilir. Bu da Bcl-2 ekspresyonunun bu rejeneratif popülasyonun idamesine yardımcı olduğunu gösterir.

Endometrial epitelde, Bcl-2 ekspresyonu, en azından kısmen hormonal kontrol altındadır. Bcl-2, endometrial epitel hücreleri tarafından, proliferatif faz süresince eksprese edilir ve proliferatif fazın sonunda zirveye ulaşır. Sekretuar aktivitenin başlamasıyla, ekspresyon hızlı bir şekilde kaybolmaya başlar<sup>73</sup>. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz proliferatif ve sekretuar endometriuma dair gözlemlerimiz de bu önceki raporları desteklemektedir.

Çalışmamızda yer alan toplam 9 vakanın 9'u da (%100) Bcl-2 ekspresyonu gösterirken bunlardan 7'sinde ekspresyon diffüz ve yoğun olarak izlenmiştir. 5 adet sekretuar endometrium vakasında ise Bcl-2 ekspresyonu hiç (%0) izlenmemiştir.

Bcl-2 ekspresyonunun, östrojen ve progesteron seviyeleri ile regüle edildiği düşünüldürse endometrial karsinoması olan çoğu hastada gözlenen yüksek veya unopposed östrojenin, Bcl-2 overekspresyonuna ve müteakip endometrial hiperplazi veya neoplazi gelişimine sebep olması mümkündür. Gompel et al. yaptıkları bir



çalışmada 5 endometrial hiperplazi vakasında artmış Bcl-2 ekspresyonu rapor etmişlerdir.

Biz de çalışmamızda bir seri endometrial hiperplazi (atipili ve atipisiz) ve endometrial karsinomada Bcl-2 ekspresyonuna baktık. 5 atipisiz hiperplazi vakasının hepsinde (%100) Bcl-2 ekspresyonu saptadık ve bunlardan 4'ünde güçlü ve diffüz ekspresyon mevcuttu, ancak 5 atipili hiperplazi vakasından 4'ünde daha zayıf ve fokal Bcl-2 ekspresyonu mevcuttu. 35 adet endometrial kanser vakası incelendiğinde, bunlardan 21 tanesinde (%60) Bcl-2 pozitifliği mevcuttu. Ancak pozitif boyanan 21 vakanın %80'inde boyanma fokal ve zayıf görünümdeydi. Endometrioid ve seröz tipler arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Benzer sonuçları Nieman et al. da bulmuştur. Ancak Nieman et al.<sup>51</sup>'in çalışmasında 4 atipisiz vakanın dördünde yoğun Bcl-2 ekspresyonu saptanırken, 4 atipili hiperplazi vakasının yalnızca 1'inde ve 29 kanser vakasının 10 tanesinde (%34.5) Bcl-2 pozitif saptanmıştır. O çalışmada da atipili ve kanserli endometriumdaki Bcl-2 ekspresyonu fokal ve daha zayıf bir boyama göstermiştir.

Hiperplazide, Bcl-2'nin apoptosisi engelleyici yeteneğinin olduğu gerçeğinden yola çıkarak, Bcl-2'nin apoptosisi bloke edebileceğini düşünebiliriz. Bu gözlemler, Bcl-2 ekspresyonunun endometrial hiperplazi gelişimine katkıda bulunabileceğini gösterebilir, ancak Bcl-2 ekspresyonu atipili hiperplazi ve karsinoma gelişiminde sürekli bir rol oynuyormuş gibi görünmemektedir

Yakın zamanda Henderson et al.<sup>97</sup> ve Chhieng et al.<sup>98</sup> atipik hiperplazi ve endometrial karsinomada Bcl-2 ekspresyonu göstermişlerdir, ancak Bcl-2 ekspresyonunun atipik hiperplazi ve endometrial karsinomalarda, proliferatif endometrium ve basit hiperplaziye göre, down regüle edildiğini not etmişlerdir. Bcl-

2'nin basit hiperplazi gelişiminde rol oynayabileceği ancak basit hiperplazininin atipik hiperplazi ve karsinomaya dönüşümünde Bcl-2'nin bir etkisi varmış gibi görünmediği sonucuna varmışlardır.

Bizim çalışmamızda da Bcl-2 ekspresyonunun proliferatif endometriümden, basit hiperplazi, atipik hiperplazi ve karsinomaya doğru giden spektrum içerisinde gittikçe yoğunluğunu ve yaygınlığını kaybettiğini, hatta karsinoma vakalarına gelindiğinde pozitifliğin %60 oranında olduğunu gördük. Bcl-2 ekspresyonundaki bu terdici dağılım istatistiki olarak da anlamlı çıkmıştır ( $p < 0.0002$ , Pearson's R:0.60).

Bcl-2 ekspresyonunun hiperplaziye göre endometrial karsinomada azalması, endometrial karsinomada Bcl-2'nin down regülasyonu fikriyle uyumludur. Bu fikir Bcl-2 ekspresyonunun, tek başına epitelial hücreleri in vitro koşullarda ölümsüzletiremeyeceği ancak hiperplaziyi indükleyebileceği gerçeğini doğrular gibi görünmektedir. Hiperplaziye uğrayan hücreler daha sonra hücresele onkojenlerle ve diğer epigenetik faktörlerle ilişkiye girdiğinde neoplazi geliştirebilirler <sup>41</sup>.

Proliferatif fazdaki değişmez kuvvetli Bcl-2 ekspresyonu, Bcl-2'nin hormonal kontrol altında olduğunu ve onun varlığının hücre yaşamı için önemli olabileceğini düşündürür. Chhieng et al., bir çalışmalarında endometrial karsinomada %47 oranında Bcl-2 ekspresyonu saptamışlardır ve endometrial karsinomada Bcl-2'nin hücre ölümünü engelleyici etkisinin, apoptosisi engelleyen başka bir takım faktörler tarafından bypass edilebileceğini öne sürmüşlerdir. Başka bir deyişle, eğer genellikle Bcl-2 tarafından bloke edilen bir apoptotik yolda bir defekt meydana gelirse, Bcl-2 ekspresyonundaki defektler mutlaka hücreyi ölüme götürmeyebilir <sup>98</sup>.

TGF- $\beta$  yolundaki defektler böyle bir duruma örnek olabilir. Bir çalışmada Bcl-2'nin ektoptik ekspresyonunun, myeloid lösemi hücre serisinde transforming growth

faktör - B (TGF- $\beta$ ) tarafından tetiklenen apoptosisi engellediği gösterilmiştir <sup>44</sup>. Nitekim endometrial karsinomada TGF- $\beta$  ekspresyonuna ait anormallikler tarif edilmiştir. Proliferatif endometrium, hiperplazi ve adenokarsinomada TGF- $\beta$  ekspresyonu inceleyen bir çalışmada, normal proliferatif endometriumdan, basit hiperplazi, kompleks hiperplazi ve kansere kadar TGF- $\beta$ 'nin 3 isoformunda da progresif bir immunoreaktivite artışı saptanmıştır <sup>47</sup>. TGF- $\beta$  epitelin büyümesini engelleyici bir faktör olarak gösterilmiş olduğundan, hiperplastik veya neoplastik bir epitelial proste overekspresyonunun gösterilmesi, negatif feedback mekanizmasının deprese olmasıyla giden, fonksiyon kaybını gösterebilir. Bu hipotez bazı endometrial karsinomalı hücre serilerinin, TGF- $\beta$ 'ya refrakter olduğunun gösterildiği bir çalışma ile desteklenir <sup>48</sup>.

Çalışmamızda 35 vakadan 21'inde (%60) Bcl-2 ekspresyonu izlenmiştir. Ancak Bcl-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik prognostik faktörler (yaş, evre, histolojik grade, histolojik tip, myometrial invazyon, lenfovasküler invazyon) arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ( $p>0.05$ ). Hastalarımızın çoğu FIGO sınıflandırmasına göre Evre I (%88.5) ve grade I (%57), grade II (%34.5), grade III(8.5) şeklinde dağılmaktaydı. Bizim bulgularımıza benzer şekilde Miturski et al., Chhieng et al.da Bcl-2 ekspresyonu ile histolojik grade ve cerrahi evre arasında bir ilişki saptamamışlardır. Ayrıca bir çalışmada hem evre, hem grade, hem de hormonal durumla (östrojen, progesteron) Bcl-2 ekspresyonu arasında bir ilişki bulunamamıştır <sup>97</sup>. Ancak Taşkın et al.'in çalışmasında endometrial karsinomada histolojik grade, cerrahi evre ve PR (progesteron reseptörü) akümüasyonu ile Bcl-2 ekspresyonu arasında ilişki saptanmıştır <sup>53</sup>. İlginç olarak, Saegusa et al.<sup>54</sup>, Bcl-2 'nin PR ile pozitif bir ilişkisinin olduğunu ancak endometrial karsinomalardaki solid komponentlerle değil tübüler komponentlerle bu durumun varlığını ileri sürmüştür. Ancak ER (östrojen reseptörü) ile

bir ilişki saptanamamıştır. Endometrial neoplazik hücrelerdeki Bcl-2 ekspresyonu ile ilgili olarak, bu uyumsuzluk kullanılan immunohistokimyasal tekniklere veya Bcl-2'nin Bokhman tarafından öne sürülen iki ayrı tipteki endometrial kanserdeki (hormona bağlı ve hormondan bağımsız) ekspresyonuna bağlı olabilir<sup>56</sup>.

Bcl-2 protein ekspresyonunun, in vitro ve in vivo çalışmalarda, p53 tarafından baskılandığına dair kanıtlar vardır. Sonuç olarak, Bcl-2 ekspresyonu ve p53'ün immunohistokimyasal boyanması, çeşitli insan neoplazmalarında çalışılmış ve meme kanserinde , kolorektal kanserde , tiroid kanserinde ve gastrik lenfomada ters bir korelasyon rapor edilmiştir<sup>58,61</sup>.

Endometrial kanserlerde ise, Bcl-2 ve p53 ekspresyonları arasındaki ilişkiyle ilgili datalar çelişkilidir ve bu konu tam olarak anlaşılamamıştır. Saeguse et al.<sup>62</sup>, neoplastik endometriumda Bcl-2 ve p53 ekspresyonu arasında ters korelasyon göstermiştir ancak, bu çalışma incelenecek olursa p53 ekspresyonunun iki ayrı teknikle-immunohistokimyasal (IHC) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile p53 genindeki heterozigozitenin kaybolması (LOH), incelendiği görülecektir. Saeguse et al., IHC tekniği ile Bcl-2 ve p53 arasında negatif korelasyon gösterirken, p53 geninde LOH'yi değerlendirdiğinde, p53 ile Bcl-2 arasında böyle bir negatif korelasyon gösterememiştir. Nitekim literatürde bir çalışmada, IHC olarak p53 ekspresyonu gösteren 18 endometrial kanserde genetik mutasyon analizi yapıldığında bunlardan hiçbirinde (%0) bilinen mutasyon noktalarında, aslında mutasyon olmadığı gösterilmiştir<sup>64</sup>. Bu konuda, immunohistokimyasal tekniklerle, genetik analiz tekniklerinin koordine edilerek kullanılması, şüphesiz bizi kesinliği daha yüksek sonuçlara ulaştırabilir.

Taşkın et al. da<sup>53</sup> Bcl-2 ve p53 ekspresyonu arasında, negatif korelasyon tespit etmiştir. Ancak bunu yalnızca Grade I hastalarda tespit etmiştir ve grade II ile grade III

endometrial karsinomalarda negatif korelasyon tespit etmemiştir. Literatürde başka hiç bir çalışmada endometrial neoplazilerde, p53 ile Bcl-2 ekspresyonu arasında bir korelasyon saptanmamıştır. Chhieng et al.<sup>98</sup> ve Zheng et al.<sup>65</sup> gibi, bizim de çalışmamızda Bcl-2 ekspresyonu ile p53'ün immunohistokimyasal ekspresyonu arasında bir korelasyon yoktu. Bizim çalışmamızın da gösterdiği gibi Bcl-2 ve p53 ekspresyonu arasındaki genel bir korelasyon eksikliği, endometrial karsinomalarda Bcl-2 ekspresyonunun regülasyonunda, p53'ten başka bir takım faktörlerin rol oynayabileceğini gösterebilir.

Endometrial kanserler klinik prezentasyon ve davranışlarına göre iki ayrı gruba ayrılabilirler. Endometrial karsinomaların çoğunu oluşturan endometrioid adenokarsinoma, tipik olarak endometrial hiperplazi ve unopposed östrojen stimülasyonu düşündüren klinik bulgularla bağlantılı olarak ortaya çıkar. Buna karşılık uterusun seröz karsinomaları, hiperestrojenizm ile ilgili tipik endometrial kanser risk faktörlerini taşımayabilen yaşlı kadınlarda, atrofik endometrium zemininde gelişir<sup>2,56</sup>.

P53 geni, hücre siklusu regülasyonu, DNA tamiri, spontan mutasyonların inhibe edilmesi, hücre diferansiyasyonu ve apoptosis gibi bir çok önemli hücre fonksiyonunda görev yapar. In vitro çalışmalardan ve insan tümörlerinin analizinden elde edilen bilgiler göstermiştir ki p53 fonksiyonunun, gen mutasyonu yoluyla, veya p53 proteininin çeşitli hücre içi veya viral proteinlerle ilişkisi sonucundaki kaybı, birçok malin tipte tümörün gelişiminde rol oynamaktadır. Önceden yapılmış çalışmalar, endometrial karsinomalarda p53 mutasyonlarının olduğunu göstermiştir, ancak p53'ün spesifik endometrial neoplasmlarının gelişimi ve oluşumundaki rolü hakkında fazla çalışma yoktur<sup>87,65</sup>.

Çalışmamızdaki 35 endometrium kanser vakasından endometrioid tipte olan 31 vakadan yalnızca 5'inde ( %16.1) p53 ekspresyonu gözlemlenirken, seröz papiller tipteki 4 vakadan 3'ünde (%75) p53 ekspresyonu saptadık. Bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (p<0.0005). Benzer sonuçlar Sherman et al. tarafından yapılan bir çalışmada da saptanmıştır <sup>79</sup>. Sherman'ın çalışmasında ayrıca endometrial intraepitelial karsinoma (EIC) olarak bilinen 18 lezyonun yer aldığı 21 seröz karsinomanın hepsinde de hem EIC, hem de invaziv seröz karsinomalar p53 pozitif boyanmışlardır. Tüm seröz karsinomaların %86'sı p53 pozitivitesi göstermiştir.

Uterusun seröz karsinomalarında, yüksek oranda diffüz p53 immunoreaktivitesinin bulunması, seröz tümörlerin gelişiminde anormal p53 proteini ekspresyonunun önemli bir olay olduğunu düşündürür. Çalışmamızda seröz karsinomalara karşılık, endometrial tümörlerdeki p53 reaktivitesi yalnızca %16 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar, uterusun seröz karsinomalarının, tipik endometrioid karsinomalardan biyolojik olarak farklı olduğu sonucuna ulaşan klinikopatolojik çalışmaları desteklemektedir <sup>72</sup>.

Çalışmamızda yer alan 9 benin proliferatif endometrium ve 5 atipisiz hiperplazik endometriumdan hiç birisinde p53 immunoreaktivitesi saptanmamış ve 5 atipik hiperplazi vakamızın yalnızca birinde, fokal bir alanda zayıf boyanmış p53 immunoreaktivitesi görülmüştür. Benzer şekilde, Kohler et al. benin proliferatif endometrial doku ve hiperplazik endometriumda, immunohistokimyasal olarak p53 tespit edememişlerdir. Ayrıca bu araştırmacılar, polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayalı metodları ile 117 endometrial hiperplazi analizinde tek bir p53 mutasyonu saptayamamışlardır.

Bunun yanısıra Sherman et al. çalışmalarında, küçük ve yüzeysel invazyon gösteren seröz karsinomalar ile, poliplere sınırlı seröz karsinomalarda bile, p53 protein akümüasyonu göstermişlerdir <sup>79</sup>. Bu bulgular, anormal p53 protein oluşumuna yol açan hücrel değişikliklerin, seröz karsinoma gelişiminde erken olaylar olduğunu düşündürür.

Bütün bunlar endometrial karsinogeneze, östrojenden bağımsız ve p53 mutasyonunun baş rolü oynadığı bir yolun olduğunu düşündürmektedir. Östrojenden bağımsız yolda, henüz açıklanamayan diğer hücrel olaylarla beraber p53 mutasyonu, atrofik endometrium yüze epitelinin EIC'ye transformasyonuna sebep olur. Endometrial yüze epitelindeki multipl bölgelerin yanısıra endoserviks, fallop tüpü epiteli, overin yüze epiteli ve peritoneal mezotelyumda oluşan genetik değişimler, gerçek metastaz olmaksızın multifokal hastalığa sebep olabilir <sup>81</sup>. Ek genetik değişimlerin süperimpoze olması, bu hücrelere invaziv ve metastatik özellikler yükleyebilir. Bu da erken yayılıma sebep olabilir. Normal p53 fonksiyonunun bozulmasına yol açan mutasyonel olaylar; endometrium lümenindeki çevresel karsinojenlere maruz kalmakla, yaşlanmaya bağlı genetik instabilite ile, ve başka çeşitli faktörlerle ilişkili olabilir. Özellikle endometrial karsinoma için bilinen iki risk faktörü - obezite ve eksojen östrojene maruz kalma- seröz karsinoma geliştirmek açısından artmış bir risk teşkil etmezler. Yani hiperestrojenizm, EIC ve seröz neoplazmların gelişmesine sebep oluyormuş gibi görünmemektedirler <sup>79</sup>.

Seröz karsinomaların aksine, p53 mutasyonları, endometrial hiperplazi ve hiperestrojenizmle en güçlü ilişkinin bulunduğu, endometrioid karsinomalarda genellikle gözlenmezler. Endometrioid karsinomu uzun süreli atipik hiperplazi ile bağlayan deliller sağlamdır <sup>15</sup>, ancak atipik hiperplaziyi endometrioid karsinomaya

çeviren hücresele olaylar tam olarak bilinmemektedir. Ras onkogenindeki, nokta mutasyonları, hem endometrioid karsinomada, hem de endometrial hiperplazide tanımlanmıştır<sup>84</sup>. Bu da, bu genetik değişikliğin östrojene bağlı endometrial tümörlerin gelişiminde, erken evrede rol oynayabileceğini düşündürür. Endometrioid karsinomalarındaki anormal p53 protein ekspresyonu nadiriyeti ve atipik endometrial hiperplazilerde pek rastlanmaması, p53 mutasyonlarının, atipik hiperplazinin karsinomaya dönüşümünde rol oynamadığını düşündürür. Muhtemelen atipik hiperplazinin karsinomaya dönüşmesi multipl mutasyonlar gerektirir. Bu yüzden bu lezyonlarda p53 fonksiyonunun korunması, neden endometrioid karsinomanın, p53 fonksiyonunun kaybedilmesinin erken bir olay olduğu, seröz karsinomaya göre daha yavaş gelişim gösterdiğini açıklayabilir. Endometrioid karsinomalarda oluşan p53 mutasyonları, büyük tümörlerin dediferansiye olmasına bağlı, geç dönem olayları gibi görünmektedir<sup>79</sup>.

P53'ün immunoreaktivite göstermesi, p53 mutasyonunun oluşmuş olduğunu düşündürür, ancak bu olaya dair kesin bir kanıt değildir. "wild type" p53 (mutasyona uğramamış, normal ve aktif fonksiyon gösteren p53 "wild type" olarak adlandırılır) proteini stabil değildir; yarı ömrü yalnızca 6-20 dakikadır. Sonuç olarak çoğu hücrede, immunohistokimyasal olarak tespit edilecek seviyelere kadar birikir. Mutant p53 formları ise, uzun bir yarı ömre sahiptir ve hücrelerde immunohistokimyasal olarak tespit edilecek derecelerde birikir. "wild type" p53 proteininin fazla miktarda üretimi de nadiren immunohistokimyasal olarak tespit edilebilir seviyelere çıkabilir<sup>86</sup>. Bunun yanı sıra, Jiko et al., endometrial adenokarsinomalarda immunohistokimyasal olarak boyanan p53 proteininin, artmış p53 mRNA seviyeleri ile korele olmadığını bulmuşlardır<sup>88</sup>. Bu bulgular endometrial tümörlerde p53 protein immunoreaktivitesinin,



normal p53 geninin artmış transkripsiyonundan ziyade, p53 gen mutasyonuna veya "wild type" p53 proteininin, intraselüler sekestrasyonuna bağlı olduğunu düşündürür.

Bizim çalışmamızdaki normal proliferatif endometrium ve endometrial hiperplazi sonuçları da, hızla bölünen hücrelerin genellikle immunohistokimyasal olarak saptanabilecek derecede yeterince "wild type"te p53 üretmediklerini düşündürmektedir. P53 genindeki nonsense mutasyonlar ve delesyonlar, hatta p53 geninin tamamının delesyonu, p53 fonksiyonunu kaybettirecektir. Bu durumda p53 proteini birikemeyecektir. Bu yüzden immunohistokimya tekniği, aslında p53 anormalliklerinin prevalansını olduğundan az gösterebilir.

Literatürde endometrial ca'da p53 ekspresyonu, Brenda Powell et al. tarafından yapılan çalışmada %5.6 bulunmuşken, Chhieng et al. tarafından yapılmış olan bir başka çalışmada %40 oranında ve Miturski et al.'in çalışmasında ise %68 olarak bulunmuştur <sup>89,92,98</sup>.

Çalışmamızdaki sonuçlar, diğer datalarla birleştirildiğinde endometrial karsinogenezde bir dualistik modelin olduğunu düşündürür. Bir yolda, endometrioid karsinoma vardır ve östrojen tarafından stimüle edilen, hiperplaziden yavaş bir şekilde gelişirler; p53 mutasyonu bu tümörlerde dediferansiyasyona bağlı geç bir olayı temsil eder. Bu yol, adenomatöz poliplerden kolon karsinomalarının geliştiği yolun bir benzeri olabilir. Bu modelde, tümörler multipl mutasyonlara uğrayıp artan derecelerde yapısal ve hücresel atipi gösteren prekürsör lezyonlardan yavaş bir şekilde gelişirler. P53 fonksiyonunun korunması, mutasyona uğramış hücrelerin, hızlı klonal büyümelerini engelleyebilir. İkinci yolda, karsinomalar östrojenden bağımsız olarak atrofik endometriumdan gelişirler. Anormal p53 protein ekspresyonu erken ortaya çıkar, ve endometrial yüzey epitelinin EIC'ye transformasyonu ile sonuçlanan önemli bir olaydır.

EIC, seröz tümörlerin prekürsörü olarak düşünülmektedir. P53 fonksiyonunun erken kaybı, bu tümörlerdeki aşırı genom instabilitesi ve hızlı karsinogeneze katkıda bulunabilir.

İki yoldan birinde, p53 anormalliklerinin merkezi tuttuğu, dualistik karsinogenez modelleri son yıllarda vulvar, intestinal tipte, gastrik ve flat mesane karsinomalarında ortaya atılmıştır. Mesanenin karsinoma in sularında ve süperfisiyal olarak invaziv gastrik karsinomalarda, p53 anormalliklerinin tanımlanması bu tümör sistemlerindeki karsinogenezin erken safhasında da p53 mutasyonunun rolünü düşündürür<sup>95,68</sup>.

Endometrial karsinogenezin mekanizmalarının açıklığa kavuşturulması açısından histopatoloji ve moleküler biyolojinin kombine edildiği çalışmalara ihtiyaç vardır. Endometrial karsinogenezde dualistik modelin teyid edilmesi, endometrial kanserin tespit edilmesi ve önlenmesi açısından, yakında önemli strateji değişiklikleri ve endometrial tümörlerin sınıflandırılmasında modifikasyon gerektirecektir<sup>79</sup>.

## SONUÇLAR

Proliferatif fazdaki, değışmez kuvvetli Bcl-2 ekspresyonu, Bcl-2'nin hormonal kontrol altında olduğunu ve onun varlığının hücre yaşamı için önemli olabileceğini düşündürür. Atipisiz hiperplazi vakalarının hepsinde, bcl-2 ekspresyonu saptanmıştır ve çoğunda ekspresyon yoğun ve diffüz olarak saptanmıştır.

Hiperplazide, Bcl-2'nin apoptosisi engelleyici yeteneğinin olduğu gerçeğinden yola çıkarak, Bcl-2'nin apoptosisi bloke edebileceğini düşünebiliriz. Bu gözlemler, Bcl-2 ekspresyonunun endometrial hiperplazi gelişimine katkıda bulunabileceğini gösterebilir, ancak Bcl-2 ekspresyonu atipili hiperplazi ve karsinoma gelişiminde sürekli bir rol oynamış gibi görünmemektedir

Seröz tümörlerin gelişiminde, anormal p53 proteini ekspresyonu önemli bir olaydır. Çalışmamızda, uterusun seröz karsinomalarında yüksek oranda diffüz p53 immunoreaktivitesinin bulunmasına karşılık, endometrioid tümörlerdeki p53 reaktivitesi, yalnızca %16 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar uterusun seröz karsinomalarının, tipik endometrioid karsinomalardan biyolojik olarak farklı olduğu sonucuna ulaşan klinikopatolojik çalışmaları desteklemektedir

Bcl-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik prognostik faktörler (yaş, evre, histolojik grade, histolojik tip, myometrial invazyon, lenfovasküler invazyon) arasında anlamlı bir ilişki varmış gibi görünmemektedir.

Bcl-2 protein ekspresyonunun, in vitro ve in vivo çalışmalarda p53 tarafından baskılandığına dair kanıtlar vardır. Bcl-2 ekspresyonu ve p53'ün immunohistokimyasal boyanması arasında, çeşitli insan neoplazmalarında ters bir korelasyon rapor edilmiştir. Endometrial kanserlerde Bcl-2 ve p53 ekspresyonları arasındaki ilişkiyle ilgili datalar

çelişkili olmakla birlikte, bizim çalışmamızda Bcl-2 ekspresyonu ile p53'ün immunohistokimyasal ekspresyonu arasında bir korelasyon saptanmamıştır. Literatürde ki çoğu çalışma da bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. Sonuç olarak Bcl-2 ve p53 ekspresyonu arasındaki genel bir korelasyon eksikliği, endometrial karsinomalarda Bcl-2 ekspresyonunun regülasyonunda p53'ten başka bir takım faktörlerin rol oynayabileceğini gösterebilir.

## ÖZET

Endometrium kanseri, bugün kadın genital sisteminin en sık görülen malignitesidir. Endometrioid adenokarsinomalar, endometrial karsinomaların en sık görülen tipidir. Yıllarca tümörigenezin moleküler temelini anlamak yolunda onkogenler ve tümör supresör genler, odak noktası olmuşlardır. Oldukça farklı yollardan etki gösterebilirler de hepsi temelde hücre proliferasyonunu regüle ederler. Şimdi artık, apoptosisi inhibe eden veya teşvik eden genlerin de, kanser denklemine önemli değişkenler olduğu görülmektedir.

Bu durum ilk olarak, apoptosisi regüle eden geniş Bcl-2 gen ailesinin bulunması ile anlaşılmıştır. Bir tümör supresör gen olan p53 de, apoptosisi regülasyonunda yer almaktadır.

Çalışmamızda 35 endometrial karsinoma, 5 atipili hiperplazi ve 5 atipisiz hiperplazi vakasında, Bcl-2 ve p53 ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir. Bu genlerin, endometrial hiperplazi ve endometrial karsinoma gelişimindeki olası rolleri araştırılmıştır. Ayrıca endometrial adenokarsinomada Bcl-2 ve p53 ekspresyonları, bilinen prognostik parametrelerle karşılaştırılmıştır. Bunun yanı sıra her iki genin, endometrial karsinoma subtipleri arasında ekspresyon açısından farklılık gösterip göstermediği, ve Bcl-2 ile p53 ekspresyonları arasında bir korelasyon olup olmadığı araştırılmıştır.

Bulgularımıza göre:

1. Bcl-2 ekspresyonu, hiperplazide %100 oranında güçlü pozitif iken, kanser vakalarına kadar uzanan spektrum içerisinde giderek azalma göstermektedir. (p<0.0002)

2. Uterusun seröz tümörlerinin gelişiminde, anormal p53 proteini ekspresyonu önemli bir olaydır. Endometrioid adenokarsinomalarda, p53 ekspresyonu düşük oranlarda (%16.1) kendini gösterirken, endometrial seröz karsinomalarda p53 ekspresyonu, yüksek oranda diffüz pozitif (%75) olarak kendini göstermektedir. ( $p < 0.0005$ )
3. Bcl-2 ve p53 ekspresyonu, endometrial kanserlerde prognostik parametrelerle karşılaştırıldığında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. ( $p > 0.05$ )
4. Endometrial kanserlerde, Bcl-2 ve p53 ekspresyonları karşılaştırıldığında Bcl-2 ve p53 arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. ( $p > 0.05$ )

Sonuç olarak çalışmamız, Bcl-2 ekspresyonunun endometrial hiperplazi gelişiminde rol oynamakla beraber, kanser gelişiminde sürekli bir rol oynamadığını düşündürmektedir. Anormal p53 proteini ekspresyonu, uterusun seröz tümörlerinin gelişiminde önemli bir olaydır, ancak endometrioid adenokarsinomaların gelişiminde önemli bir rol oynuyormuş gibi görünmemektedir. P53 ekspresyonunun, endometrioid tipteki uterus adenokarsinomalarında dediferansiyasyonu gösterebileceği düşünülmektedir.

Bcl-2 ve p53 arasında anlamlı bir ilişki olmaması, endometrial kanserlerde Bcl-2 ekspresyonunun regülasyonunda p53'ten başka bir takım faktörlerin rol oynayabileceğini gösterebilir.

## KAYNAKLAR

1. Szekeley DR, Weiss NS, Schweid A: Incidence of endometrial carcinoma in Kings County, Washington: a standardized histologic review , brief communication. J Natl Ca Inst 60:985, 1978
2. Bokhman JV: Two pathologic types of endometrial carcinoma. Gynecol Oncol 15:10-17, 1983
3. Wyllie AH: Apoptosis and carcinogenesis. Eur J Cell Biol 73:189, 1997
4. McDonnell TJ, et al: Importance of bcl-2 family in cell death regulation. Experientia 52:1008, 1996
5. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, et al: Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with t(14,18) chromosome translocation. Science 226:1097-1099, 1984
6. Tsujimoto Y, Gorham J, Cossman J, et al: the t(14;18) chromosome translocation involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ joining. Science 229:1390-1393, 1985
7. Evans SC, Lozono G: The Li-Fraumeni Syndrome: an inherited susceptibility to cancer. Mol Med Today 3:390, 1997.
8. Ramzi S. Cotran , Vinay Kumar, Tucker Collins (eds) Neoplasia, In Robbins Pathologic Basis of Disease 6 th edition, 99, p290-295
9. Haupt Y, et al: Mdm2 promotes the rapid degradation of p. Nature 387:296, 1997
10. Levine AJ: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. Cell 88:323, 1997
11. Jost CA, et al: p73 is a human p53-related protein that can induce apoptosis. Nature 389:191, 1997

12. Ferenczy A: Anatomy and histology of the uterine corpus. In R.5 (ed) Blaustein's Pathology of the female genital tract, 4th edition 1994, New York, Springer-Verlag p53:185-202
13. More I.A.R: the normal human endometrium. In Fox H. (ed) Haines and Taylor Obstetrical and Gynecological Pathology, 4th edition, Churchill Livingstone, New York, Vol 1 p53:365-382
14. Trudy R.Baker.Premalignant Conditions of the Endometrium. M.Steven Piver (ed) Handbook of Gynecologic Oncology, 2 nd Edition,96 Little, Brown Company. p 133
15. Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HJ. The behavior of endometrial hyperplasia. A long-term study of "untreated" hyperplasia in 170 patients. Cancer 56:403,1985.
16. Feldman S, Cook EF, Harlow BL, Berkowitz RS: Predicting endometrial cancer among older women who present with abnormal vaginal bleeding. Gynecol Oncol 56:376, 1995
17. Anderson B: Diagnosis of endometrial cancer. Clin Obstet Gynecol 13:739, 1986
18. Lahti E, Blanco G, Kauppila A, et al: Endometrial changes in postmenopausal breast cancer patients receiving tamoxifen. Obstet Gynecol 81:660, 1993
19. FIGO Corpus cancer staging. Int J Gynecol Obstet 28.190,1989.
20. Philip J. Di Saia, William T. Creasman.(eds), adenocarcinoma of the uterus, from Clinical Gynecologic Oncology, 5th Edition, Mosby-Year Book, Inc.1997 p 142-143
21. Cowles Ta et al: Comparison of clinical and surgical staging in patients with endometrial cancer. Obstet Gynecol 66:413, 1985
22. Tak WK, et al: Myometrial invasion and hystero-graphy in endometrial carcinoma. Obstet Gynecol 50:159, 1977



23. Creasman WT, Rutledge FN: The prognostic value of peritoneal cytology in gynecologic malignant disease. *Am J Obstet Gynecol* 110:773, 1971
24. Potish RA, et al: Paraortic lymph node radiotherapy in the cancer of uterine corpus. *Obstet Gynecol* 65:251, 1985
25. Philip J. Di Saia, William T. Creasman.(eds), adenocarcinoma of the uterus, from *Clinical Gynecologic Oncology*, 5 th Edition, Mosby-Year Book, Inc.1997 p 150-151
26. Pisani A, Barbuto DA, Chen D, et al: HER-2/neu, p53, and DNA analysis as prognosticators for survival in endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 85:729, 1995
27. Hanson NB, et al. Prognostic significance of lymph-vascular space invasion in stage I endometrial cancer. *Cancer* 55:1753, 1985
28. Trudy R.Baker.Premalignant Conditions of the Endometrium. M.Steven Piver (ed) *Handbook of Gynecologic Oncology*, 2 nd Edition,96 Little, Brown Company p 150-151
29. Wyllie AH: Apoptosis: an overview. *Br Med bull* 53:451, 1997
30. Jacobson MD, et al: Programmed cell death in animal development. *Cell* 88:347, 1997
31. Ramzi S. Cotran, Vinay Kumar, Tucker Collins (eds) *Cellular Pathology 1: Cell Injury and Cell Death*. In *Robbins Pathologic Basis of Disease* 6th edition, 1999, p 20-23
32. Yang E, Korsmeyer SJ: Molecular thanatopsis: a discourse on the Bcl-2 family and cell death. *Blood* 88:386, 1996
33. Reed JC: Double identity for proteins of the Bcl-2 family. *Nature* 387:773, 1997
34. Reed JC: Cytochrome c: can't live with it- can't live without it. *Cell* 91:559-1997
35. Hengartner MO: Death cycle and Swiss army knives. *Nature* 391:441, 1998

36. Hengartner MO, Horvitz HR: Programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Curr Opin Genet Dev* 4:581, 1994
37. Porter AG, et al: Death substrates come alive. *Bioessays* 19:501, 1997
38. Enari M, et al: A caspase-activated Dnase that degrades DNA during apoptosis and its inhibitor ICAD. *Nature* 391:43, 1998
39. Yin C. et al: Bax suppresses tumorigenesis and stimulates apoptosis in vivo. *Nature*: 385: 637, 1997
40. Korsmeyer SJ: Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood* 80: 879-886, 1992
41. Lu PJ, Lu QL, Rughetti A, et al: bcl-2 overexpression inhibits cell death and promotes the morphogenesis, but not tumorigenesis of human mammary epithelial cells. *J Cell Biol* 129: 1363-1378, 1995
42. Cleary ML, Smith SD, Sklar J: Cloning and structural analysis of cDNAs for Bcl-2 and a hybrid Bcl-2 /immunoglobulin transcript resulting from the t(14:18) translocation. *Cell* 47:19-28, 1986
43. Boise LM. Gonzales-Garcia M. Postema CE. Et al: A Bcl-2 related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 74:597-608, 1993
44. Selvakurmaran M, lin HK, Miyashita T, et al: Immediate early up-regulation of bax expression by p53 but not TGF beta 1: A paradigm for distinct apoptotic pathways. *Oncogene* 9:1791-1798, 1994
45. Yang E, Zha JP, Jockel J, et al: Bad, a heterodimeric partner for Bcl-XL and Bcl-2, displaces Bax and promotes cell-death. *Cell* 80:285-291, 1995.
46. Fanidi A, Harrington EA, Evan GI: Cooperative interaction between c-myc and bcl-2 proto-oncogens. *Nature* 359:554-556, 1992

47. Gold LI, Saxena B, Mittal KR, et al: Increased expression of transforming growth factor B isoforms and basic fibroblast growth factor in complex hyperplasia and adenocarcinoma of the endometrium: Evidence of paracrine and autocrine action. *Cancer Res* 54:2347, 1994
48. Boyd JA, Kaufman DG: Expression of transforming growth factor in human endometrial carcinoma cell lines: Inverse correlation with effects on growth rate and morphology. *Cancer Res* 50:3394, 1990
49. Alnemri ES, Litwack G: Activation of internucleosomal DNA cleavage in human CEM lymphocytes by glucocorticoid and novobiocin. Evidence for a non-Ca<sup>2+</sup> requiring mechanism(s). *J Biol Chem* 265:17323-17333, 1990
50. Vaux DL, Cory S, Adams JM: bcl-2 gene promotes haematopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature* 335:440-442, 1988
51. T.H. Niemann, T.L. Trgovac, V.R. McGaughy, L. Vaccarello, bcl-2 expression in endometrial hyperplasia and carcinoma, *Gynecol Oncol* 63 (1996) 318-322
52. Reed JC: Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 124:1-6, 1994
53. Taskin M, Lallas TA, Barber HRK, Shevchuk MM: bcl-2 and p53 in endometrial adenocarcinoma. *Mod Pathol* 10:728-734, 1997
54. Saegusa M, Kamata Y, Isono M, Okayasu J: Bcl-2 expression is correlated with a low apoptotic index and associated with progesterone receptor immunoreactivity in endometrial carcinomas. *J Pathol* 180:275-282, 1996
55. Lu PJ, Lu QL, Rughetti A, et al: bcl-2 overexpression inhibits cell death and promotes the morphogenesis, but not tumorigenesis of human mammary epithelial cells. *J Cell Biol* 129: 1363-1378, 1995

56. Deligdisch L, Holinka CF: Endometrial carcinoma: two diseases? *Cancer Detect Prevent* 10:237-246, 1987
57. Bafy G, Miyashita t, Williamson JR, et al: Apoptosis induced by withdrawal of interleukin-3 (IL-3) from an IL-3 dependent hematopoietic cell line is associated with repartitioning of intracellular calcium and is blocked by enforced Bcl-2 oncoprotein production. *J Biol Chem* 268:6511-6519, 1993
58. Miyashita T, Krajewski S, Krajewska M, et al: Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene* 9:1799-1805, 1994
59. Lu QL, Hanby AM, Hajibagheri MA, et al: Bcl-2 protein localizes to the chromosomes of mitotic nuclei and is correlated with the cell cycle in cultured epithelial cell lines. *J Cell Sci* 107:363-371, 1994
60. Li P, et al: Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 91:479, 1997
61. Silvestrini R, Veneroni S, Daidone MG, et al: The Bcl-2 protein: a prognostic indicator strongly related to p53 protein in lymph node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 86:499-504, 1994
62. Saegusa M, Okayasu J: Bcl-2 is closely correlated with favorable prognostic factors and inversely associated with p53 protein accumulation in endometrial carcinomas: immunohistochemical and polymerase chain reaction/loss of heterozygosity findings. *J Cancer Res Clin Oncol* 123:429-434, 1997
63. Kroemer G: The protooncogene bcl-2 and its role in regulating apoptosis. *Nat Med* 3:614, 1997

64. R L Stewart, J A Royds, J L Burton, M K Heatley, M Wells: Direct sequencing of the p53 gene shows absence of mutations in endometrioid endometrial adenocarcinomas expressing p53 protein. *Histopathology* 1998, 33, 440-445
65. Zheng W, Cao P53, Zheng M, et al: p53 overexpression and bcl-2 persistence in endometrial carcinoma: comparison of papillary serous and endometrioid subtypes. *Gynecol Oncol* 61:167-174, 1996
66. Strasser A, Harris AW, Bath ML, et al: Novel primitive lymphoid tumors induced in transgenic mice by cooperation between myc and bcl-2. *Nature* 348:331-333, 1990
67. Martin JM, Veis D, Korsmeyer SJ, et al: Latent membrane protein of Epstein-Barr virus induces cellular phenotypes independently of expression of Bcl-2. *J Virol* 67:5269-5278, 1993
68. Spruck CH, Ohneseit Pf, Gonzales-Zulueta M, et al: Two molecular pathways to transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer Res* 54:784-788, 1994
69. McDonnell TJ, Korsmeyer SJ: Progression from lymphoid hyperplasia to high-grade malignant lymphoma in mice transgenic for the t(14;18). *Nature* 349:254-256, 1991
70. Nunez G, London L, Hockenberry D, et al: Deregulated Bcl-2 gene expression selectively prolongs survival of growth factor-deprived hematopoietic cell lines. *J Immunol* 144:3602-3610, 1990
71. Nataraj A, Pathak S, Hopwood V, et al: bcl-2 oncogene blocks differentiation and extends viability but does not immortalize normal human keratinocytes. *Int J Oncology* 4:1211-1218, 1994
72. Abeler RM, Kjorstad KE: Serous papillary carcinoma of the endometrium: A histopathologic study of 22 cases. *Gynecol Oncol* 39:266-271, 1990

73. Gompel A, Sabourin JC, Martin A, et al: bcl-2 expression in normal endometrium during the menstrual cycle. *Am J Pathol* 144:1195-1202, 1994
74. Bronner MP, Culin C, Reed JC, et al: The bcl-2 proto-oncogene and the gastrointestinal epithelial tumor progression model. *Am J Pathol* 146:20-26, 1995
75. Wang Y, Szekely L, Okan I, et al: Wild-type p53 triggered apoptosis is inhibited by bcl2 in a V-myc-induced T-cell lymphoma line. *Oncogene* 8:3427-3431, 1993
76. Haldar S, Negrini M, Monne m, et al: Down-regulation of bcl-2 by p53 in breast cancer cells. *Cancer Res* 54: 2095--2097, 1994
77. Sherr CJ: G1 phase progression: Cycling on cue. *Cell* 79:551-555, 1994
78. Miyashita T, Krajewski S, Krajewska M, et al: Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene* 9:1799-1805, 1994
79. Mark E. Sherman, Martin E. Bur, Robert J. Kurman: p53 in endometrial cancer and its putative precursors:Evidence for diverse pathways of tumorigenesis. *Human Pathology* 26:11, p 1268-1274,1995
80. Miyashita T, Harigai M, Hanada M, et al: Identification of a p53-dependent negative response element in the bcl-2 gene. *Cancer Res* 54:3131-3135, 1994
81. Ambros RA, Sherman ME, Zahn CM, et al: Endometrial intraepithelial carcinoma: A distinctive lesion specifically associated with tumors displaying serous differentiation. *Hum Path* 26:1260-1267, 1995
82. Joensuu H, Pylkkänen L, Toaikka S: Bcl-2 protein expression and long-term survival in breast cancer. *Am J Pathol* 145:1191-1198, 1994
83. McDonnell TJ, Troncso P53, Brisbay SM, et al: Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 52:6940-6944, 1992

84. Ignar-Trowbridge P53, Risinger JI, Dent GA, et al: Mutations of the ki-ras oncogene in endometrial carcinoma. *Am j Obstet Gynecol* 167:227-232, 1992
85. Kyprianou N, English HF, Isaacs JT: Programmed cell death during regression of PC-82 human prostate cancer following androgen ablation. *Cancer Res* 50:3748-3753,1990
86. Hector Battifora (ed): p53 immunohistochemistry: A Word of caution. *Hum Path* 25: p 435-437, 1994
87. Holstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC: p53 mutations in human cancers. *Science* 253:49-53, 1991
88. Jiko K, Sasano H, Ito K: Immunohistochemical and in situ hybridization analysis of p53 in human endometrial carcinoma of the uterus. *Anticancer Res* 13:305-310, 1993
89. Brenda Powell, R Soong, F Grieu, S Knowles, I Hammond, B Iacopetta: p53 protein overexpression is a prognostic indicator of poor survival in stage I endometrial carcinoma *Int J Oncology* 14: 175-179,1999
90. Lu QL, Abel P, Foster CS, Lalani EN: Bcl-2: Role in epithelial differentiation and oncogenesis. *Hum Pathol* 27:102-110, 1996
91. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, et al: Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with t(14,18) chromosome translocation. *Science* 226:1097-1099, 1984
92. R Miturski, A Semczuk, J Tomaszewski, J Jakowicki: bcl-2 protein expression in endometrial carcinoma: the lack of corellation with p53. *Cancer Letters* 133: 63-69, 1998
93. Korsmeyer SJ: bcl-2 initiates a new category of oncogenes: Regulators of cell death. *Blood* 80:879-886, 1992

94. LeBrun DP, Warnke RA, Cleary ML: Expression of bcl-2 in fetal tissues suggests a role in morphogenesis. *Am j Pathol* 142:743-53, 1993
95. Lee YY, Wilczynski SP, Chumakov A, et al: Carcinoma of the vulva: HPV and p53 mutations. *Oncogene* 9:1655-1659, 1994
96. Lu QL, Poulsom R, Wong L, Hanby AM: bcl-2 expression in adult and embryonic non-haematopoietic tissues. *J Pathol* 169:431-437, 1993
97. Henderson GS, Brown KA, Perkins SL, et al: bcl-2 is down-regulated in atypical hyperplasia and adenocarcinoma. *Mod Pathol* 9:430-438, 1996
98. Chhieng DC, Ross JS, Ambros RA: bcl-2 expression and the development of endometrial carcinoma. *Mod Pathol* 9:402-406, 1996