

T.C.  
Marmara Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Patoloji Anabilim Dalı

60594

# ENDOMETRİAL HİPERPLAZİ VE ADENOKARSİNOMLARDA E-CADHERİN EKSPRESYONU

(Uzmanlık Tezi)

**Dr.Funda EREN**

İstanbul – 1997

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>GİRİŞ</b> _____	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b> _____	<b>3</b>
<b>MATERYAL VE METOD</b> _____	<b>14</b>
<b>BULGULAR</b> _____	<b>18</b>
<b>TARTIŞMA</b> _____	<b>28</b>
<b>SONUÇLAR</b> _____	<b>34</b>
<b>ÖZET</b> _____	<b>35</b>
<b>KAYNAKLAR</b> _____	<b>36</b>

# GİRİŞ

Endometrial karsinom kadın genital sisteminin en sık görülen kanseridir ve tüm dünyada sıklığı giderek artmaktadır. Kadınlarda kanserden ölümlerde beşinci sırada yer almaktadır (18,30,45).

Endometrial karsinomlar içinde en sık görüleni endometrial (endometrioid)\* adenokarsinom (EAK)'dur. EAK'un etyolojisinde başlıca hormonal, genetik ve konstitisyonel faktörler yer almaktadır. Bu tümör sıklıkla atipili endometrial hiperplaziden başlayan invaziv tümör oluşumu ile devam edip metastaz ile sonuçlanan bir spektrum izlemektedir. Endometrial adenokarsinomun prognozunda en önemli olan faktörler grade, myometrial invazyon derinliği ve lenfovasküler invazyon varlığıdır (10,17,49).

Malignitenin en önemli göstergesi olan invazyon ve metastazın oluşumunda hücrelerarası adhezyonun azalmasının önemli rolü vardır. Bu nedenle son yıllarda adhezyonu sağlayan moleküllerin kanser gelişimi üzerindeki rollerini belirlemek amacı ile çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (1,25,53,56). Epitelyal dokulardaki en önemli adhezyon molekülü olan "E-Cadherin" (E-CD) de bunlardan biridir. Pek çok çalışmada kalsiyuma bağlı transmembran glikoprotein olan E-CD'in antiinvazyon ve antimetastaz molekülü olduğu yönünde bulgular saptanmıştır (24, 25).

\*Özel tip belirtilmedikçe endometrial adenokarsinom terimi endometrioid adenokarsinom yerine kullanılmaktadır (32,45).

**Çalışmamızda amacımız:**

1- Endometrial adenokarsinomda E-CD ekspresyonunu saptamak ve bu ekspresyon düzeyini EAK'un en önemli prognostik belirleyicileri olan tümörün grade, myometrial invazyon derinliği ve lenfovasküler (LV) invazyon varlığı ile karşılaştırmak.

2- Endometrial adenokarsinomun prekürsör lezyonu olan atipili hiperplazilerdeki E-CD immunreaktivitesini değerlendirerek E-CD'in kanser gelişimindeki rolünü araştırmak, ayrıca grade 1 adenokarsinom ile hiperplaziyi karşılaştırarak E-CD ekspresyonunun hiperplazi ile karsinomu ayırmada yararlı bir gösterge olup olmadığını ortaya koymaktır.



## **GENEL BİLGİLER**

Endometrium, histolojik olarak iğsi hücrelerden oluşan bir stroma içine yerleşmiş 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. Endometrial yüzey epiteli ve bezler proliferatif dönemde nukleus sitoplazma oranı artmış uzun nukleuslara sahip mitotik aktivitesi yüksek hücrelerden oluşur ve psödotratifiye görünümündedir. Bez yapıları proliferatif dönemin evresine bağlı olarak düz ya da hafif kıvrıntılıdır. Stroma ise sellülerdir ve mitoz içerir. Sekretuar dönemde ise bezler kıvrıntılıdır. Epitel psödostratifiye özelliğini kaybeder, hücre nukleusları yuvarlak ve vesiküler olarak izlenir. Sekretuar fazın dönemine bağlı olarak hücrelerde ya da bez lümenlerinde sekret izlenir. Stroma ise ödemlidir. Menstruel dönemde bez ve stromada parçalanma meydana gelir.

Bazal tabaka hormonlara çok az cevaplıdır. Prepubertal ve postmenopozal dönemde de endometrium hormonlara cevapsız ve atrofik görünümündedir (13,21,35,37).

### **Endometrial Hiperplazi**

Endometrial hiperplaziler (EH) uzun süreli yüksek doz östrojen stimülasyonu sonucu endometriumda meydana gelen anormal proliferasyonlardır. Hastaların çoğunda anovulatuvar sikluslar ya da postmenopozal progesteronsuz eksojen östrojen kullanımı öyküsü vardır. Hiperplazi en sık perimenopozal dönemde görülmekle birlikte

anovulatuvar siklusları olan veya östrojen sekrete eden over tümörlü genç yaştaki hastalarda da görülebilir.

Morfolojik olarak endometrial hiperplazi irregüler şekil ve boyuttaki bezlerin proliferasyonu ve bez stroma oranının proliferatif endometriuma kıyasla artmasıdır (29).

EH'ler glandüler yapılarına göre basit ve kompleks olarak iki gruba ayrılır. Her grup da nukleer atipinin varlığına göre atipili ve atipisiz olmak üzere kendi içinde ikiye ayrılmaktadır (29). Basit hiperplazide bezlerde dilatasyon ve hafif dallanmalar görülürken, kompleks hiperplazide daha kompleks dallanmalar yapan, irregüler sınırlı sırt sırta vermiş bezler ve dar bir stroma görülmektedir. Atipisiz hiperplazide hücreler normal proliferatif bezlerde olduğu gibi bazale yerleşmiş konturları düzgün oval nukleuslara sahiptir. Atipili hiperplazilerde hücrelerde nukleuslarda irileşme, belirgin nukleol, nukleer konturlarda düzensizlik, kromatinde kabalaşma ve veziküler görünüm, nukleer/sitoplazmik oranda artma, polarite kaybı ve stratifikasyon vardır (29,32).

Endometrial hiperplaziler endometrial adenokarsinom ile olan ilişkilerinden dolayı önem taşımaktadır. Endometrial hiperplazi tanısı almış 170 hastanın uzun süreli takibinin yapıldığı bir çalışmada atipik hiperplazi tanısı almış vakaların %23'ünde karsinom geliştiği saptanmıştır. Atipisiz hiperplazilerde ise karsinom gelişme oranı %2 olarak saptanmıştır (29,30,31).

## **Endometrial Adenokarsinom**

Endometrial karsinom kadın genital sisteminin en sık görülen invaziv neoplazmidir. WHO klasifikasyonuna göre endometrial karsinomlar:

## 1-Endometrioid adenokarsinom

a-villoglandüler

b-sekretuar

c-silialı

d-skuamöz diferansiyasyonlu

## 2-Seröz karsinom

## 3-Berrak hücreli karsinom

## 4-Müsinöz karsinom

## 5-Skuamöz karsinom

## 6-Mikst tip

## 7-İndiferansiye karsinom, olarak sınıflandırılmışlardır (30,34,45).

Endometrioid adenokarsinom tüm endometrial karsinomlar içinde en sık görülenidir. İki ile sekizinci dekatlar arasında görülebilmekle birlikte ortalama görülme yaşı 59'dur ve hastaların çoğu postmenopozal dönemdedir (10.30,45).

Etyolojide progesteronsuz aşırı östrojen stimülasyonu, obesite, diabetes mellitus, düşük parite ve genetik predispozisyon yer alır. Atipik endometrial hiperplazinin de endometrial adenokarsinomun prekürsör lezyonu olduğu uzun zamandır bilinmektedir.

Makroskopik olarak genellikle ekzofitik, fokal olarak hemorajik, parlak görünümlü neoplazmlardır.

Mikroskopik olarak iyi diferansiye bir adenokarsinom malignite kriterlerini taşıyan stratifiye epitelle döşeli kompleks glandüler yapılardan oluşur ve diferansiyasyonu azaldıkça solid yapılar artar (bkz.Grade).

## **Endometrial Adenokarsinomun Grade'lendirilmesi**

WHO klasifikasyonu ve FIGO evreleme sisteminin önerileri ile EAK yapısal ve nukleer özelliklerine göre ayrı ayrı grade'lendirilmektedir (30,45):

### *Yapısal Grade:*

- Grade 1 Tümörde %5 den daha az oranda solid komponent varlığı  
Grade 2 Tümörde %6-50 arasında solid komponent varlığı  
Grade 3 %50 den daha fazla solid komponent varlığı

### *Nukleer Grade: \**

- Grade 1 Homojen kromatinli oval nukleuslu hücreler  
Grade 2 Grade 1 ve 3 arasında özellikleri olan hücreler  
Grade 3 Belirgin eozinofilik nukleollü, irregüler kaba kromatinli iri hücreler.

\*Arkitektürel grade ile uyumsuzluk gösteren belirgin nukleer atipi varlığında grade bir basamak yukarı çıkarılır.

## **Endometrial Adenokarsinomun Evrelendirilmesi (FIGO,1988) (30,45)**

Evre IA	G123	Tümör endometriumda sınırlı
Evre IB	G123	Myometriumun yarısını geçmeyen invazyon
Evre IC	G123	Myometriumun yarısını geçen invazyon
EvreIIA	G123	Yalnızca endoservikal glandüler tutulum
EvreIIB	G123	Servikal stromal invazyon
EvreIIIA	G123	Tümörün seroza ve/veya overe yayılması veya pozitif peritoneal sitoloji
EvreIIIB	G123	Vajinal metastaz
EvreIIIC	G123	Pelvik ve/veya paraaortik lenf nodu metastazı



EvreIVA	G123	Mesane ve/veya barsak mukozasında tümör invazyonu
EvreIVB	G123	İntraabdominal ve/veya inguinal lenf nodları da dahil olmak üzere uzak metastaz

\*İnvazyon derinliği ile birlikte myometrial kalınlık da ölçülmelidir.

\*\*Bu evreleme cerrahi bir evrelemedir. Cerrahi tedavi olmayan hastalarda 1971 FIGO klinik evrelemesi kullanılmalıdır.

### **Yayılım ve Metastaz**

EAK lenfatik - vasküler invazyon, çevre dokulara direkt yayılım ve transperitoneal - transtubal ekilme ile yayılır. Lenfatik metastaz hematojen yayılımdan üç kat daha sık görülmekle birlikte mediastinal lenf nodu tutulumu olmadan akciğer metastazının görülmesi hematojen yayılımın da hastalığın erken dönemlerinde ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir (30). EAK en sık pelvik-paraaortik lenf nodlarına metastaz yapar. Klinik olarak evre I tümörlerin yaklaşık %5-25'inde nodal metastaz görülmektedir. Bu vakalar genellikle ya yüksek grade'li invaziv tümörler ya grade'den bağımsız olarak büyük boyutlu ve/veya derin invazyon gösteren tümörler ya da servikal ekstansiyonu veya vasküler invazyonu olan vakalardır (17, 30).

Uzak metastazlar ise sıklığa göre akciğer (%41), periton ve omentum (%39), over (%34), karaciğer (%29), vajina (%25), mesane (%23), vertebra (%20), adrenal (%14), dalak (%14), beyin (%5) ve nadiren vulva, meme, vertebra dışı kemik ve deriye olmaktadır (30).

## **Prognostik Faktörler**

*1-Grade:* Yaşam süresi, myometrial invazyon ve lenf nodu metastazı ile ilişkilidir. Grade 1 tümörlerde 5 yıllık yaşam süresi %88, derin myometrial invazyon olasılığı %12, lenf nodu metastaz olasılığı %5 iken grade 3 tümörlerde bu oranlar sırasıyla %60, %46, %26 dır (30,49).

*2-Myometrial invazyon:* İnvazyon derinliği grade'den bağımsız olarak önemli bir prognostik faktördür (10,49). Jinekolojik onkoloji grubunun yaptığı bir çalışmada myometrial invazyonu bulunmayan vakalarda 5 yıllık survi %94, üst 1/3deki invazyonda %91, orta 1/3 de %84 ve alt 1/3 de %59 olarak bulunmuştur. Lenf nodu metastaz sıklığı da grade'den bağımsız olarak invazyon derinliği ile birlikte artmaktadır. Sonuç olarak myometrial invazyon derinliği evre I ve II hastalarda davranışı belirleyen en önemli faktördür (17,30,32).

*3-Servikal yayılım:*Yapılan çalışmalarda kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (30,45).

*4-Vasküler, lenfatik invazyon:* Rekürrens ve kötü prognoz ile ilişkilidir. Evre I ve grade 1 olup kötü prognoza sahip olmuş olan tümörler üzerinde yapılan çalışmalarda vasküler invazyonun, myometrial invazyon, mitotik indeks ve progesteron reseptörü yokluğu ile birlikte agresif davranışı belirleyen önemli bir faktör olduğu belirlenmiştir (17,30).

*5-Östrojen ve progesteron reseptörleri:* Her iki reseptörün varlığı da iyi prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Östrojen stimülasyonuna bağlı olarak gelişen tümörler genellikle daha düşük evre ve grade'li, ayrıca iyi prognozludur (18).

*6-p53 overekspresyonu:* Tümör tipi, grade ve evre ile ilişkili bulunmuştur (45).

*7-HER-2/neu ekspresyonu:* Bu onkogenin yoğun ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğu belirtilmektedir (30,45).

*8-Epidermal growth factor reseptörü:* Ekspresyonunun düşük grade ve kısa yaşam süresi ile ilişkili olduğu yönünde çelişkili bilgiler vardır (18,30,45).

*9-DNA ploidi ve S-faz fraksiyonu:* Anaploidinin bağımsız prognostik faktör olduğu ileri sürülmektedir. S-faz fraksiyonunun da prognostik önemi olduğu düşünülmektedir (18,30,45).

*10-Peritoneal Sitoloji:* Pozitif peritoneal sitoloji abdominal ve uzak rekürrens için risk faktörüdür (32,45).

### **Ayırıcı Tanı**

Ayırıcı tanıda en önemli problem iyi diferansiye adenokarsinomu atipili hiperplaziden ayırmakta yaşanmaktadır (31). Bu ayırımı yaparken stromal invazyonu belirlemede faydalı olabilecek üç kriter kullanılmaktadır. Bunlar:

- 1-Stromada fibroblastik değişiklik (desmoplastik değişiklik).
- 2-Bezlerin arada stroma olmaksızın birleşip kribriform patern oluşturmaları.
- 3-Yaygın papiller yapılar (30,31,32).

Bu kriterler karsinomu hiperplaziden ayırmada yardımcı olmakla birlikte her zaman kesin bir ayırımı sağlayamamaktadır. Morfolojik kriterler yanında elektron mikroskopi, morfometrik teknikler, flow sitometri, immunhistokimya ve moleküler biyolojik teknikler iyi diferansiye adenokarsinomu atipik hiperplaziden ayırmak için kullanılmış, ancak hiçbirinin morfolojiye üstünlüğü saptanmamıştır (30). Hiperplazi dışında atipik polipoid adenomyoma, metaplaziler, Arias-Stella reaksiyonu ve menstruel endometrium ayırıcı tanı arasına girmektedir (29,30,32).

## **Tedavi**

EAK'un standart tedavisi histerektomi ve bilateral salpingo-ooferektomidir. Derin myometrial (alt 1/2) invazyonu, servikal invazyonu olan ya da grade 2-3 lezyonlarda pelvik-paraaortik lenf nodu örnekleme yapılmaktadır (30).

## **E-CADHERİN**

Cadherinler hem hücrelerarası adhezyon hem de hücreler ile ekstraselüler matriks arasındaki etkileşim, embriyogenez, doku tamiri, immün cevap ile invazyon ve metastazi içine alan pek çok biyolojik olayda rol almaktadır (19,24,61,62). Tümörlerde invazyon ve metastaz varlığı prognoz açısından çok önemlidir. İnvazyon, malignitenin bir göstergesi ve metastazın başlangıç aşamasıdır. Metastazın oluşabilmesi için tümör hücrelerinin ana kitleden kopması, ekstraselüler matriksi yararak damar içine girmesi, dolaşıma katılarak farklı bir dokuya ulaşması, bu noktada damar dışına çıkması ve dokuya yerleşerek yeni bir tümöral odak oluşturması gerekmektedir. Tüm bunların oluşmasında motilite faktörleri, adhezyon molekülleri, ekstraselüler matriksi parçalayan enzimler,

“homing” reseptörler ve anjiogenez gibi pek çok faktör rol almaktadır (20,25).

İnvazyon ve metastaz oluşumunda rol oynayan faktörlerden biri olan adhezyon molekülleri hücre-hücre ve hücre-matriks adhezyonunda rol oynamaktadırlar. Bu moleküller başlıca cadherinler, integrinler, bazı immunoglobulin molekülleri ve selektinlerdir. Bu tür moleküller hücre motilitesi ve doku bütünlüğünün sağlanmasında anahtar modülatörlerdir ve morfogenez ile embriyogenezde rol alırlar (9,24,61).

Cadherinler ilk olarak kalsiyum varlığında proteolizise karşı korunan hücre yüzey proteinleri olarak tanımlanmışlardır. Bu moleküllerin varlığında hücreler kalsiyuma bağımlı olarak homofilik adhezyon gösterdiklerinden bu moleküllere cadherin ismi verilmiştir (51,61,62).

Cadherinlerin E-(epitelyal), P-(plasental), N-(nöral), R-(retinal), T- (“truncated”), OB-(osteoblast), K-(böbrek), M(Kas), LI(Karaciğer,barsak) olarak çok sayıda alt tipleri vardır. (24).

Yapısal olarak cadherinlerin matür formu 723-748 amino asit içerir. Cadherin molekülünü ekstrasellüler amino ucu ve sitoplazmik karboksi ucu olarak ayıran tek bir transmembran bölgesi vardır (51, 62).

Cadherinler morfogenezde rol oynamaktadırlar (58,61). Hayvan embriyolarında yapılan çalışmalarda embriyogenez sırasında hücreler diferansiye oldukça eksprese ettikleri cadherin tipinin değiştiği gözlemlenmiştir. Ana hücreden ayrılan hücre gruplarının farklı tip cadherin eksprese etmeye başladıkları ya da farklı dizilerden gelen hücreler birleştiklerinde hepsinin aynı tip cadherini eksprese ettikleri gösterilmiştir (61).

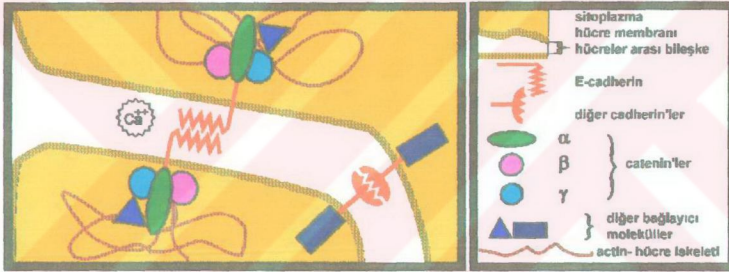
Günümüzde cadherinlerin en iyi bilinen alt tipi olan E-Cadherin proksimal tubulus ve sinsisyotrofoblastlar dışında tüm epitelyal dokularda saptanmıştır (12, 53). 120 k-DA ağırlığında olan ve kromozom 16q21de

(4) yer alan bu molekül L-CAM, uvomorulin, Cell-CAM 120-80 ve Arc-1 adları ile de bilinmektedir (2, 12, 53, 54, 62).

E-Cadherin önce prekürsör polipeptid olarak sentezlenmekte, daha sonra golgi apareyinde kompleks karbonhidrat gruplarının eklenmesiyle matür hale gelmektedir. Bu matür form hücre yüzeyine taşınmakta ve burada kalsiyuma bağlı hücrelerarası ilişkinin induksiyonu ile hücrelerarası kontakt bölgelerine oturup kompleks bileşkeler oluşturmaktadır (51,56).

E-Cadherinin intraselüler bölgesi “catenin” adı verilen ve  $\alpha, \beta, \gamma$ , subtipleri olan moleküllerle birleşir. Cateninler E-cadherini hücre iskeletine bağlayarak normal fonksiyonunu görmesini sağlamaktadır (24,51,52)

(Şekil 1).



**ŞEKİL 1:** E-Cadherin -catenin kompleksi. E-cadherin  $\alpha, \beta, \gamma$  cateninler ile hücre iskeletine bağlanır. Kompleksler birbirleriyle homofilik olarak bağlanırlar ve bu bağlanma ekstraselüler kalsiyum düzeyine bağlıdır.

E-cadherin ile yapılan çalışmalarda saptanan bulgular E-CD'ın hücrelerarası adhezyonda en önemli rollerden birini üstlendiğini göstermektedir. Bu bulgular şöyle özetlenebilir: 1-E-cadherin ekspresyonu olmayan hücreler birbirine tutunmamakta ve agregatlar oluşturmamaktadır (56,62) 2-E-cadherin esas olarak hücre membranında özellikle de hücre-hücre kontakt alanında bulunmaktadır (24,51,62) 3-E-cadherin ekspresyon eden hücrelerde E-cadherinin antikorla nötralize edilmesi ya da kodlayan

genin delesyonu sonucu hücreler birbirlerinden ayrılmaktadır (2,3) 4-E-cadherin negatif hücelere E-cadherin cDNA aktarıldığında bu hüceler birbirleriyle bağlanmaktadır (36,39).

Yine, yapılan çalışmalarda E CD'in antiinvazyon ve antimetastaz molekülü olduğuna dair kanıtlar elde edilmiştir: 1-hücre dizilerinin metastatik potansiyeli E-CD ekspresyonu ile ters orantılıdır (1). 2-Bazı tümörlerdeki yüksek E-CD ekspresyonu non-metastatik uzun süreli iyi prognozla ilişkilidir (6,59,60). 3-E-CD'in antikorla bloke edilmesi ya da geninde delesyon olması tümör hücelerinin motilitesini, invazyon ve metastaz potansiyelini artırmaktadır (8,14,27,65). 4-Yüksek metastatik potansiyeli olan hücelere E-CD geni aktarıldığında metastatik potansiyelin düşmesine neden olmaktadır (25).

## MATERYALve METOD

Çalışmamıza Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dokuz Eylül Tıp Fakültesi ve Gülhane Askeri Tıp Fakültesi'nde endometrial adenokarsinom tanısı ile opere edilmiş yaşları 50 ile 76 (ort. 63) arasında değişen 27 vaka (Tablo 1); Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında küretaj ya da histerektomi materyallerinde kompleks (n:5)/basit (n:2) atipili hiperplazi tanısı almış olan 7 vaka (ort.yaş 58) , kompleks (n:2)/basit (2) atipisiz hiperplazi tanısı almış 4 vaka, ve siklusun proliferatif (n:2) ya da sekretuar (n:2) dönemlerini yansıtan 4 vaka (ort. yaş 50) olmak üzere toplam 42 vaka alınmıştır .

Tümörlerin grade ve evrelemesi FIGO 1988'e göre yapılmıştır. Formalin fiksasyonlu parafine gömülü tüm vakaların Hematoksilen Eozin ile boyalı kesitlerinin yeniden gözden geçirilmesi sonucunda seçilen bloklara immunhistokimya yöntemi ile E-cadherin antikoruna uygulanmıştır.

### İmmunhistokimya

Formalin fiksasyonlu parafine gömülü dokulardan 5µm.luk kesitler Microm HM 310 mikrotomda Poly-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 suyla yıkanmıştır. 10µm 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 5er dakika yıkanmıştır. Çevresi kurulanan kesitlere 20 dakika süreyle oda ısısında normal keçi serumu (Biogenex ) ile protein blokajı uygulanmıştır. Kesit çevresindeki serum kurulanıp 1:100 Mouse Anti-E-Cadherin Human (Zymed 13-1700), oda ısısında 2 saat süreyle uygulanmıştır. Tris tampon solusyonunda 2x5 dakika yıkanan kesitlere oda ısısında biotinlenmiş anti mouse Ig (BioGenex) 20 dakika süreyle uygulanmıştır. Tris tampon solusyonunda 2x5 dakika yıkanan kesitlere peroksidaz konjuge streptavidin (BioGenex) 20 dakika süreyle uygulanmıştır. Kesitler tekrar Tris tampon solusyonu 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 yıkanmış, 30 saniye süreyle Mayer hematoksilenle nukleer boyama yapılmıştır. Lityum karbonatla nukleer morartma sağlanmışır. Dehydrate edilen kesitler Entellan ile kapatılmıştır.

Pozitif kontrol olarak total histerektomi uygulanmış olan bir hastanın histomorfolojik olarak normal olan serviks epiteli kullanılmıştır. Ayrıca seçilen vakalarda izlenen normal endometrium alanları da internal kontrol olarak değerlendirilmiştir.

## **Değerlendirme**

Normal epitel hücreleri ile aynı yoğunlukta, diffüz boyanma gösteren vakalar (++), vakaların bir kısmının normal bir kısmının normalden az boyanması ya da hiç boyanmaması şeklinde heterojen

boyanma gösteren vakalar (+), belli belirsiz boyanan ya da hiç boyanma göstermeyen vakalar (-) olarak değerlendirilmiştir.

(+) boyanan vakalar kendi içlerinde heterojen boyanmanın tümörün %50'sinden daha fazla ya da daha azını tutmasına göre <%50 ve >%50 olarak ikiye ayrılmıştır.

Her vakada intrasitoplazmik boyanma varlığı ayrıca değerlendirilmiştir.

## **İstatistik**

Değişkenlerin karşılaştırılmasında ki kare ve Fischer kesin olasılık testleri kullanılmıştır.

VAKA	GRADE A†	GRADE N††	M.I*	L.V.I**	LN M†††	EVRE
1	1	1	üst 1/2	+	-	Ib
2	1	2	üst 1/2	+	-	Ib
3	2	1	alt 1/2	+	-	Ic
4	2	1	alt 1/2	+	-	IIIa•
5	2	1	alt 1/2	-	-	Ic
6	1	1	üst 1/2	-	-	Ib
7	1	2	üst 1/2	-	-	Ib
8	1	1	üst 1/2	-	-	Ib
9	2	1	üst 1/2	-	-	IIa••
10	1	1	alt 1/2	+	-	Ic
11	1	2	alt 1/2	-	-	Ic
12	1	1	alt 1/2	-	-	Ic
13	1	1	İE	-	-	Ia
14	1	2	üst 1/2	-	-	Ib
15	1	1	İE	-	-	Ia
16	1	1	İE	-	-	Ia
17	1	2	İE	-	-	Ia
18	1	1	alt 1/2	-	-	Ic
19	3	2	alt 1/2	+	-	Ic
20	2	1	alt 1/2	+	-	Ic
21	3	2	üst 1/2	+	-	Ib
22	3	2	alt 1/2	+	-	Ib
23	2	1	üst 1/2	-	-	Ib
24	2	2	alt 1/2	-	-	Ic
25	2	3	üst 1/2	+	+	III
26	1	1	İE	-	-	Ia
27	3	3	alt 1/2	+	-	Ib

**TABLO 1:**Endometrial adenokarsinomlu vakaların dağılımı.

† :arkitektürel grade

††:nukleer grade

†††:lenf nodu metastazı

\*:myometrial invazyon

\*\*::lenfovasküler invazyon

••:servikal invazyon varlığı

•: bu vakada over metastazı vardır

İE:intraendometrial

## BULGULAR

Kontrol olarak seçtiğimiz ekto servikal epitel örneklerinde, uyguladığımız immunhistokimya yöntemi ile epitel hücre membranlarında diffüz boyanma saptanmıştır. Bu boyanma literatürde de belirtildiği gibi bazal ve parabazal tabakada daha belirgin olarak görülmüştür (Resim 1).

### Normal endometrium

Siklusun proliferatif ve sekretuar döneminde vakaların tümünde bez epitellerinde hücre membranlarında diffüz membranöz boyanma saptanmıştır. Siklusun proliferatif ve sekretuar dönemleri arasında fark saptanmamıştır (Resim 2 ve 3).

### Hiperplazik endometrium

Kompleks ya da basit hiperplazi izlenen ancak atipi göstermeyen vakaların tümünde (++) boyanma saptanmıştır. Kompleks ve basit hiperplazi arasında fark saptanmamıştır (Resim 4, tablo2).

Atipi gösteren 7 adet hiperplazi vakasının tümünde fokal heterojen boyanma ve yaygın sitoplazmik boyanma saptanmıştır (Resim 5, 6 tablo 2).

<u>TANI</u>	(++)	(+)	(-)
Normal endometrium	4	-	-
Atipisiz hiperplazi	4	-	-
Atipili hiperplazi	-	7	-

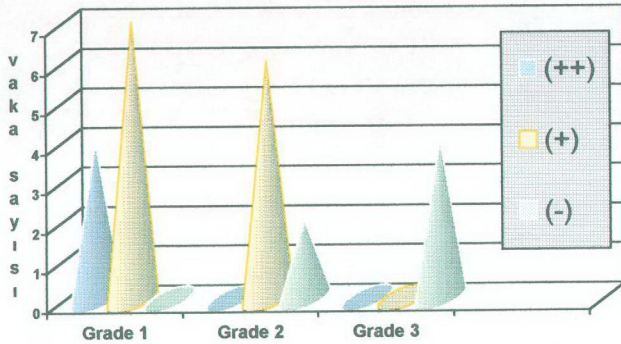
**Tablo 2:** Normal endometrium ve hiperplazilerde E-CD ekspresyonu

## Adenokarsinom

Grade 3 vakaların hiçbirinde E-CD ekspresyonu izlenmemiştir. Buna karşılık Grade 1 vakaların tümünde diffüz ya da heterojen E-CD ekspresyonu saptanmıştır . Grade 1 vakaların %27'si E-CD' i diffüz olarak eksprese ederken grade 2 vakalarda diffüz boyanma saptanmamıştır. Heterojen boyanma açısından grade 1 ve grade 2 arasında belirgin bir farklılık saptanmamıştır (%73, %75). Bazı vakalarda aynı tümör içinde grade 1 alanlarda diffüz boyanma grade 2 alanlarda ise heterojen boyanma olduğu görülmüştür . Grade 2 vakaların %25'i negatif olarak saptanmıştır. (Resim 7,8,9,10). Genel olarak bakıldığında istatistiksel olarak da diferansiyasyon ile E-CD ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmıştır ( $p<0.01$ ) (Tablo 3).

	(++)	+<%50	+>%50	(-)	Toplam
Grade 1	4	5	6	0	15
Grade 2	0	3	3	2	8
Grade 3	0	0	0	4	4
<b>TOPLAM</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>27</b>

**TABLO 3:** Grade' e göre vakalardaki E-CD ekspresyonunun dağılımı.



**Şekil 2:** Grade ve E-CD ekspresyonunun karşılaştırılması

Sitoplazmik boyanma (++) vakaların yarısında izlenmiştir. Aynı şekilde boyanma %50'den az heterojenite gösteren tümörlerin grade 1 olanlarının %60'ında grade 2 olanlarının da %66'sında saptanmıştır. %50'den fazla heterojen boyanma gösteren ve negatif olan hiçbir vakada sitoplazmik boyanma saptanmamıştır.

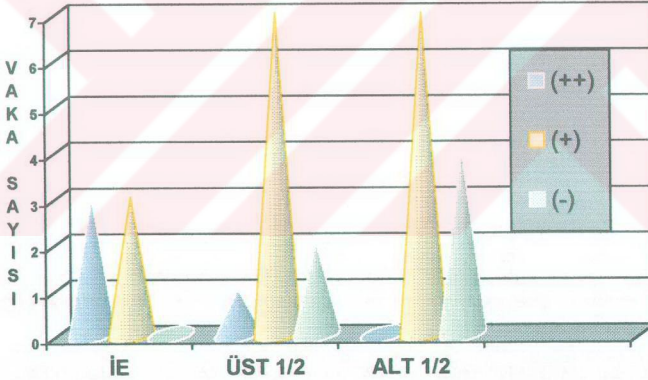
Myometrial invazyon göstermeyen intraendometrial (İE) vakaların %50'sinde (++) boyanma %50'sinde ise heterojen boyanma saptanmıştır, bu vakaların tümünde heterojen boyanan alanlar tümörün %50'sinden az bir alanı kapsamaktadır. Myometriumun üst ½ sine invazyon gösteren vakalarda diffüz olarak E-CD ekspresyonu vakaların sadece %10'unda saptanmış, alt ½ myometrium invazyonu gösteren vakalarda ise diffüz E-CD ekspresyonu hiç saptanmamıştır. Myometriumun yüzeyel ve derin tabakalarına invazyon gösteren vakalar arasında total olarak heterojen boyanma açısından farklılık saptanmamıştır (%70 ve %64). Ancak derin invazyon gösteren vakalarda heterojenite daha yaygın (%50'sinden daha çok alanda) olarak izlenmiştir. E-CD' i hiç ekprese etmeyen vaka oranı myometriumun alt ½ sine kadar invazyon gösteren vakalarda %36 iken üst

½ 'ye invazyon gösterenlerde bu oran %20'ye düşmektedir.

İntraendometrial vakalarda ise negatif vaka hiç yoktur. Myometrial invazyon ile E-CD ekspresyonu arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır ( $p<0.05$ ). (Tablo 4,şekil 3)

	(++)	+<%50	+>%50	(-)	Toplam
İE	3	3	-	-	6
üst ½	1	3	4	2	10
alt ½	-	2	5	4	11
<b>TOPLAM</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>27</b>

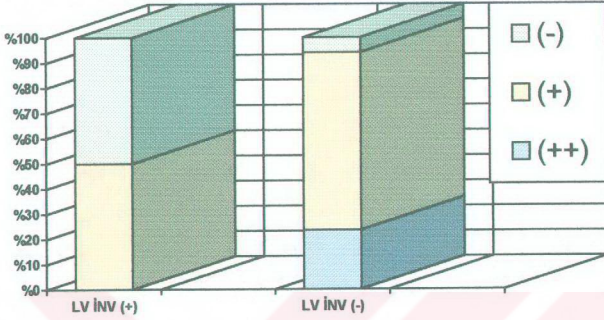
**TABLO 4 :**Myometrial invazyona göre vakalardaki E-CD ekspresyonunun dağılımı



**Şekil 3:** Myometrial invazyon ve E-CD ekspresyonunun karşılaştırılması

Lenfovasküler (LV) invazyonu olan 11vakanın %55'inde E-CD ekspresyonu yoktur. Heterojen boyanma oranı %45'dir. Diffüz boyanma ise hiç saptanmamıştır. Buna karşılık LV invazyonu olmayan vakalarda (++),(+), (-) ekspresyon oranları sırasıyla %28, %72 ve %0'dır. LV

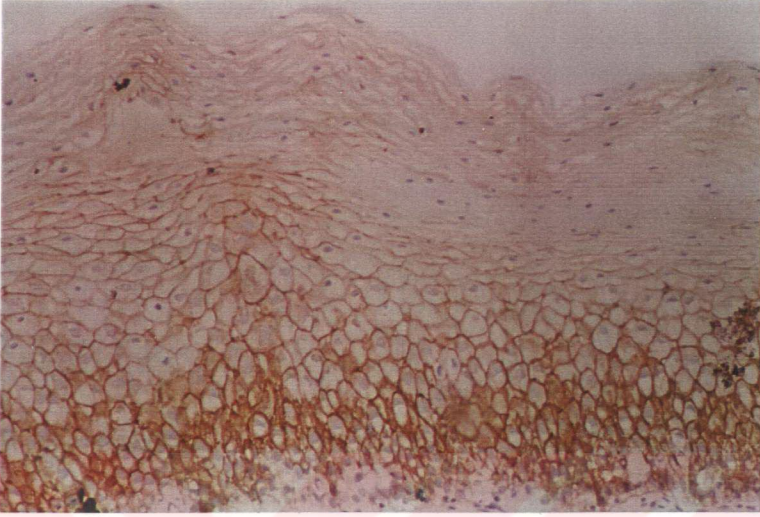
invazyon ile E-CD ekspresyonu arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır ( $p < 0.005$ ) (Şekil 4) .



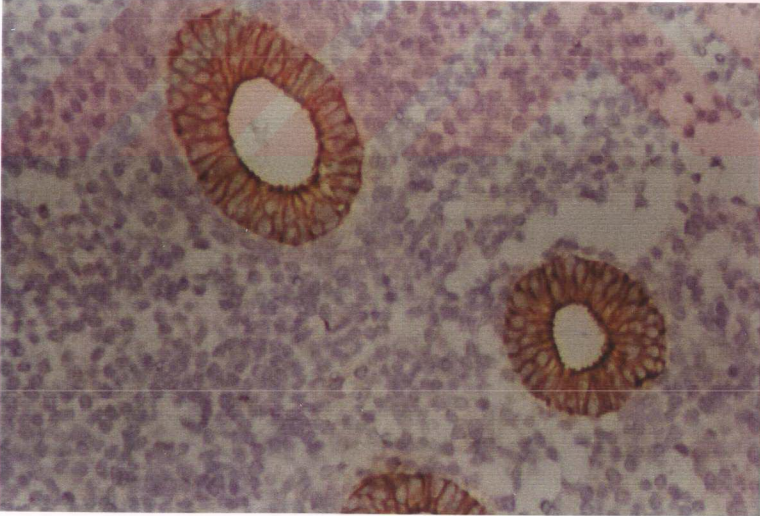
Şekil 4: Lenfovasküler invazyonla E-CD ekspresyonunun karşılaştırılması

E-CD ekspresyonu olmayan vakalardan birinde var olan over metastazında da E-CD ekspresyonu saptanmamıştır. Lenf nodu metastazı olan bir vakada da tümörün kendisinde heterojen boyanma saptanırken metastazında E-CD ekspresyonu saptanmamıştır.

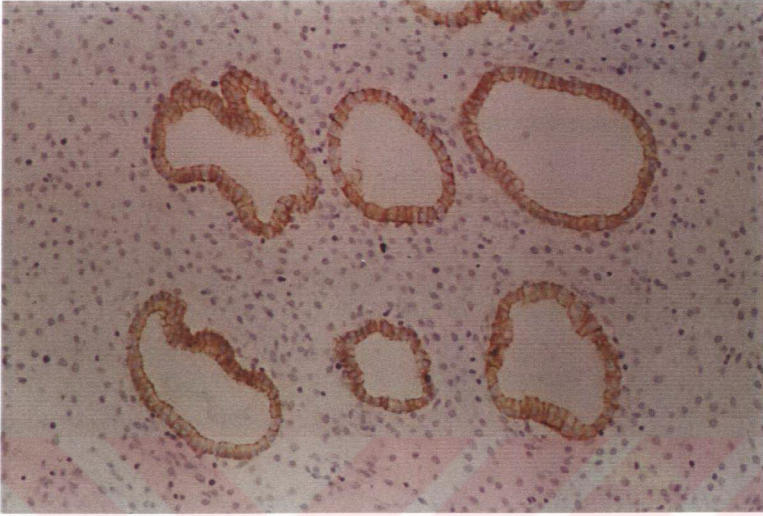




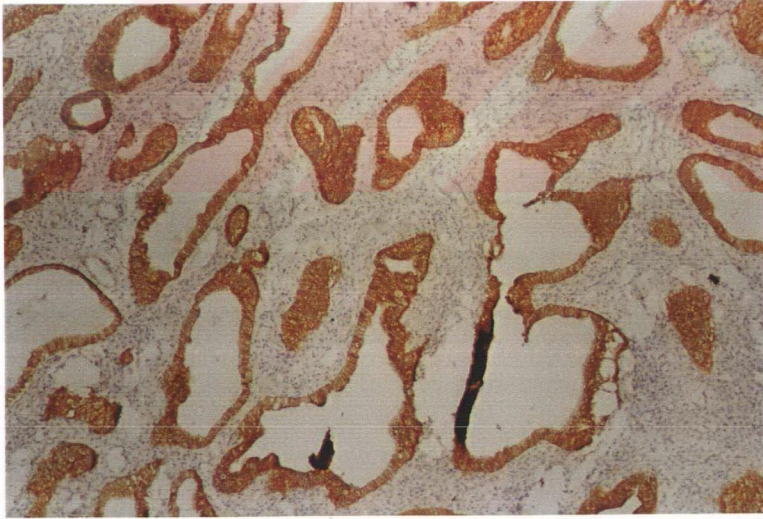
**Resim 1:** kontrol olarak seçilen normal skuamöz epitelde E-CD ekspresyonu, bazal ve parabazal tabakada belirgin olan ekspresyon superfisyel tabakada tamamen kaybolmaktadır. (x 40)



**Resim 2:** Proliferatif bezlerdeki diffüz E-CD ekspresyonu (x 100).



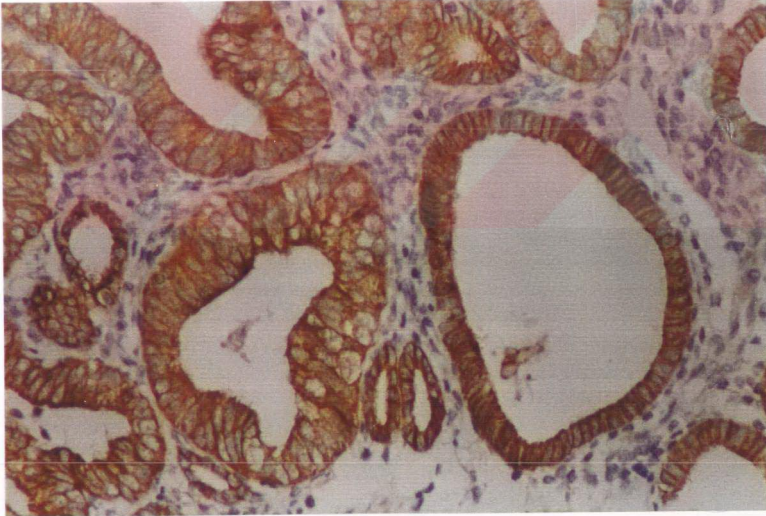
**Resim 3:** Sekretuar tip bezlerde E-CD ekspresyonu (x40).



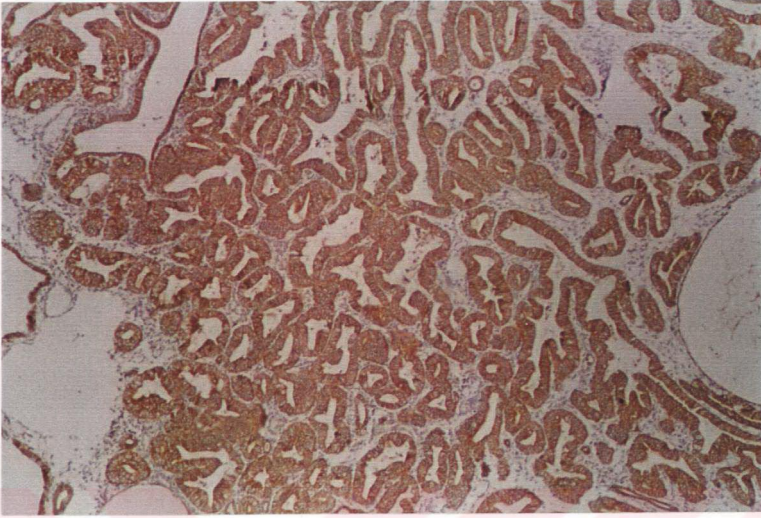
**Resim 4:** Basit atipisiz hiperplazide diffuz E-cadherin ekspresyonu (x40)



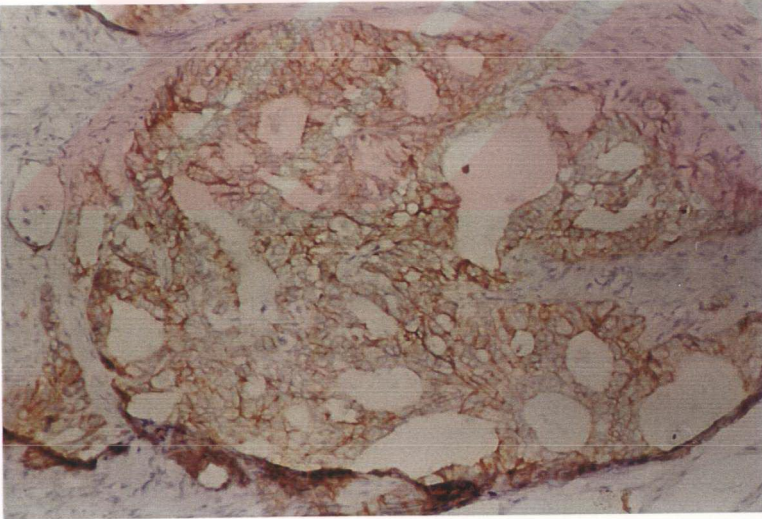
**Resim 5:** Kompleks atipili hiperplazide heterojen boyanma izlenen bir alan (x40)



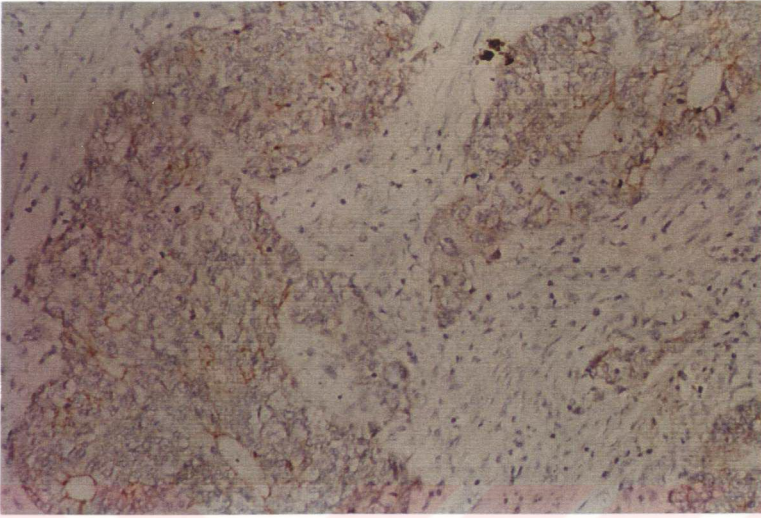
**Resim 6:** Kompleks atipili hiperplazide belirgin sitoplazmik boyanma içeren bir gland. Aynı glandın komşuluğunda, epitelinde atipi izlenmeyen glandlarda membranöz boyanma izlenmektedir (x100).



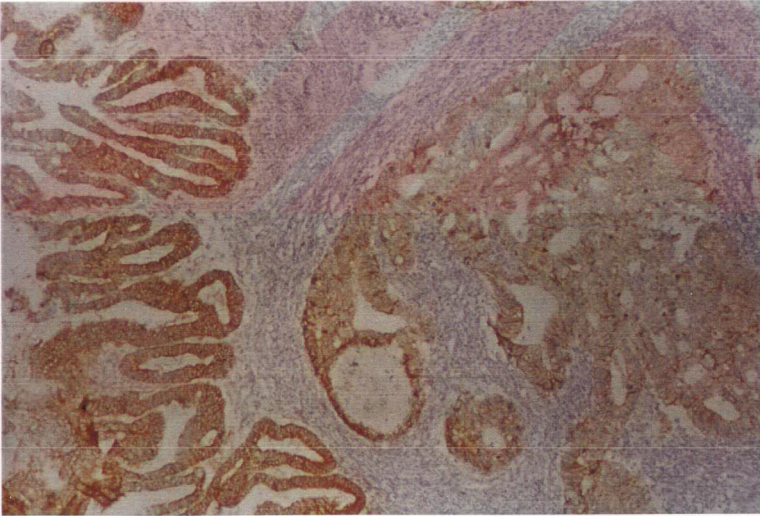
**Resim 7:** Grade 1 ve üst ½ myometrium invazyonu olan bir vakada diffüz E-CD ekspresyonu (x40)



**Resim 8:** Grade 2 tümörde heterojen E-CD ekspresyonu izlenen bir alan (x 100)



**Resim 9:** Grade 3 ve derin invazyon gösteren tümörde negatif olarak kabul edilen boyanma paterni (x 100)



**Resim 10:** Aynı tümörde grade 1 alandaki diffüz ve grade 2 alandaki heterojen E-CD ekspresyonu (x40)

## TARTIŞMA

Hücrelerarası adhezyon, insan dokularının yapısının korunmasında rol oynayan çok önemli bir mekanizmadır. Kanser hücrelerinin ise normal hücrelere göre daha zayıf adhezyona sahip olduğu 1940 lardan beri bilinmektedir. Adhezyondaki bu azalmanın kanser hücrelerinin invazyon kapasitesini arttırıcı bir etken olduğu düşünülmektedir (9,53).

Genel bilgilerde de belirtildiği gibi E-CD epitelyal dokularda bulunan en önemli adhezyon molekülüdür. Doku kültürü çalışmalarında Behrens ve ark. E-CD ekspresyonu antikor ile inhibe edilen Madin Darby köpek böbrek hücrelerinin diğer adhezyon moleküllerinin varlığına rağmen kollajen jeli invaze ettiğini saptamışlardır (2). Pignatelli ve ark. ise E-CD dışı adhezyon moleküllerinin inhibe edilmesine rağmen E-CD varlığında adhezyonun bozulmadığını in vitro çalışmalarında göstermişlerdir (43).

Çalışmamızda, endometrial adenokarsinomlarda ve hiperplazilerde E-CD ekspresyonu değerlendirilmiştir. Karsinom grade'i ile karşılaştırıldığında E-CD ekspresyonunun diferansiyasyonun azalmasıyla birlikte belirgin bir azalma gösterdiği saptanmıştır. Aynı tümör içinde dahi iyi diferansiye alanlarda diffüz E-CD ekspresyonu saptanırken diferansiyasyonun azaldığı alanlarda E-CD ekspresyonunda belirgin azalma gözlenmiştir. Literatürde başlıca meme (41,59), kolon (11), mide (55,57), mesane (46,60,66), prostat (47,63), tiroid(50), karaciğer (28), larenks (33) ve jinjiva (48) kanserlerinde yapılan çalışmalarda ve jinekolojik tümörleri içeren bir çalışmada (22) da E-CD ekspresyonu diferansiyasyon ile ilişkili bulunmuştur. Sakuragi ve ark.larının endometrial adenokarsinomlarda E-CD ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmada da benzer sonuca ulaşılmıştır (49). Doku kültürlerinde yapılan çalışmalarda

da E-CD ekspresyonu inhibe edilen hücrelerin epitelyal özelliklerini yitirerek fibroblast benzeri hücrelere dönüştükleri gösterilmiştir (2,14,43). Diferansiyasyon ile E-CD ekspresyonu arasında doğru orantılı bir ilişkinin saptanması doku arkitektürünün korunmasında E-CD in rolünü daha iyi ortaya koymaktadır.

Myometrial invazyon ile karşılaştırıldığında invazyon derinliği arttıkça E-CD ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır. E-CD ekspresyonu olmayan tümörlerin büyük bir kısmı derin (1/2 den çok) invazyon göstermektedirler, buna karşılık E-CD' i diffüz olarak eksprese eden vakalar içinde ise derin invazyon gösteren vaka yoktur. Literatürdeki çalışmalarda da E-CD ekspresyonundaki azalma genellikle invaziv ve lenf nodu metastazı yapmış tümörlerde daha belirgin olmaktadır (41,57,63). İn vitro çalışmalarda invaziv karakterdeki tümör hücrelerine E-CD c-DNA transfekte edildiğinde invazyonun baskılandığı görülmüştür (14). İn vivo hayvan modelleri de bu gözlemleri doğrulamaktadır. Bu bulgunun endometrial adenokarsinomların tedavisine yönelik yapılacak genetik çalışmalara yol gösterebileceğini düşünmekteyiz. Baş-boyun bölgesinin skuamöz hücreli karsinomu (33), prostat karsinomu (46), mesanenin transizyonel hücreli karsinomları (6,47), endometrial adenokarsinom (49), tiroid (50) ve karaciğer kanserlerinde (28) de E-CD ekspresyonu invazyon ile ilişkili bulunmuştur.

L-V invazyon varlığı ile E-CD ekspresyonunun azalması arasında da çalışmamızda korelasyon saptanmıştır. Bu bulgumuz Sakuragi ve ark.larının endometrial adenokarsinomlarda yaptıkları çalışma ile uyum göstermektedir (49).

Oldukça kompleks bir mekanizma olan invazyon ve metastaz oluşumunda bir çok faktör rol oynamaktadır. Bilindiği gibi bir kanser hücresinin invazyon ve metastaz yapabilmesi ana kitleden kopmasının

yanında motilitesine, bazal membranı aşmasına ve ekstrasellüler matriksi yarmasına da bağlıdır (2,25). Bu nedenle invazyon oluşumundan tek bir molekülü sorumlu tutmak doğru bir yaklaşım olmayacaktır. Meme kanserlerinde E-CD eksprese eden tümörlerin ekspansil büyüme paterni gösterdiği ve E-CD ekspresyonu azalmış olanların infiltratif patern oluşturduğunu bildiren çalışmalar vardır (41). Bunun yanında yine meme kanserlerinde E-CD in invazyondan daha çok dediferansiyasyon ile ilişkili olduğunu saptamış yayınlar da vardır (16). Mide kanserleri ile yapılan bir çalışmada E-CD ekspresyonu invazyona göre diferansiyasyonda daha etkili bulunmuştur (55). Kinsella ve ark. kolon kanserlerinde E-CD ekspresyonunu invazyon ve lenf nodu metastazı ile ilişkisiz bulmuşlardır (26). Bu çelişkili sonuçlar çalışmalarda kullanılan vaka sayılarındaki farklılığa, immunhistokimyasal yöntemdeki ya da değerlendirme yöntemlerindeki farklılığa bağlı olabilir. Ama yukarıda da belirtildiği gibi invazyon ve metastazda etkili diğer faktörler de göz önünde bulundurulmalıdır.

Literatürde E-CD ekspresyonunu tümörün prekürsör lezyonlarıyla karşılaştıran çalışma çok azdır. Kolon adenomları ve karsinomlarında yapılan bir çalışmada özellikle 1cm.den büyük ve ağır displazi gösteren villöz adenomlarda membranöz boyanmada azalma ve beraberinde sitoplazmik boyanma saptanmıştır (15). Karaciğer adenomlarında da E-CD ekspresyonunda azalma saptanmıştır (28). İngilizce literatür taramalarımızda endometrial hiperplazilerde E-CD ekspresyonunun değerlendirildiği çalışmaya rastlanmamıştır. Bulgularımız endometrial adenokarsinomların prekürsör lezyonu olduğu bilinen atipili hiperplazilerde E-CD ekspresyonunda azalmayı göstermektedir. Literatürdeki bulguların da ışığı altında, E-CD ekspresyonundaki bu azalma, E-CD'in malignite potansiyeli olan lezyonların progresyonunda rolü olabileceğini



düşündürmektedir. İyi diferansiye karsinom ile atipik hiperplazi arasında ise E-CD ekspresyonu açısından ayırt edici özellikte bir fark belirlenememiştir.

Görülen odur ki E-CD ekspresyonunda ki azalma hücrelerarası adhezyonu azaltarak invazyon mekanizmasının başlamasına katkıda bulunmaktadır. Nitekim E-CD ve otokrin motilite faktör ekspresyonunun karşılaştırıldığı bir çalışmada E-CD ekspresyonu azalan tümörlerde motilite faktör reseptöründe artış saptanmıştır (42). E-CD geni ile yapılan çalışmalarda ise E-CD ekspresyonu azalmış tümör hücrelerinde mutasyon saptanmıştır (24). Jinekolojik tümörlerde en sık olarak delesyon ve heterozigosite kaybı görülmüştür (44). Bu bulgular E-CD'in bir tümör supresör geni olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca epidermal büyüme faktörü reseptörü ile E-CD-catenin adhezyon mekanizması arasında ilişki bulunmuştur. Epidermal büyüme faktörü ve reseptörü E-CD adhezyon sisteminin tirozin kinaz üzerinden fosforilasyonuna neden olmaktadır (40,56). Aynı şekilde adenomatöz polipozis koli geni ile  $\beta$ -catenin arasında bağlanma oluştuğu saptanmıştır. Adenomatöz polipozis kolinin  $\beta$ -catenin'e bağlanmakta E-CD ile yarıştığına dair bulgular elde edilmiştir (56). E-CD' in onkogenler ve tümör supresör genleri ile olan bu ilişkisi kanser oluşumu ve progresyonundaki rolünü desteklemektedir. Bu bulgular endometrial adenokarsinomlarda da E-CD ekspresyonunun onkogen ve tümör supresör genleri ürünleri ile birlikte değerlendirileceği çalışmaların bu kanserin oluşum ve gelişim mekanizmasına ışık tutacağını düşündürmektedir.

Çalışmamızda, E-CD ekspresyonunun bazı vakalarda sitoplazmik olarak da saptandığından söz edilmiştir. Sitoplazmik boyanma daha çok (++) ya da %50 den daha az bir oranda heterojenite gösteren tümörlerde

ve atipili hiperplazilerde belirgindir. Literatürde Ross ve ark. ları mesanenin değişici epitel hücreli karsinomlarında yaptıkları çalışmada saptadıkları sitoplazmik boyanmayı formalin fiksasyonuna bağlarken (47), Shiozaki ve ark.ları bu tip boyanmanın E-CD fonksiyonundaki bozukluğa işaret edebileceğini öne sürmüşlerdir (57). Genel bilgilerde de belirtildiği gibi E-CD sitoplazma içinde cateninler aracılığı ile hücre iskeletine bağlanmakta ve bu şekilde fonksiyon görmektedir. Özellikle  $\alpha$ -catenin ile yapılan çalışmalarda  $\alpha$ -catenin ekspresyonu olmayan hücrelerin E-CD eksprese ettikleri ancak birbirleriyle birleşmediklerini gösterilmiştir (5,24). Bu sonuçlar da E-CD eksprese eden bazı indiferansiye tümör hücrelerinde  $\alpha$ -catenin düzeyinin azalması ya da kaybolduğunun saptanması ile korelasyon göstermektedir (38). Çalışmamızda sitoplazmik boyanmanın daha çok E-CD’i iyi eksprese eden vakalarda saptanması, bu tip boyanmanın E-CD ekspresyonunda azalma ya da kaybolma olmadan önce E-CD’in fonksiyonunda bozukluklar ortaya çıktığının göstergesi olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bunu tam olarak saptamak için  $\alpha$ -catenin’i de içine alan daha ileri çalışmalar yapmak gerekmektedir.

Literatürde E-CD ekspresyonunu saptayan çalışmaların çoğu taze dokulardadır. Formalin fiksasyonlu vakalarda yapılan çalışmaların az bir kısmında formalin fiksasyonunun E-CD ekspresyonunu saptamada zorluklar yarattığı ve güvenilir olmadığı belirtilmiştir (59). Ancak bir çok çalışma da bunun aksini savunmuştur (15,60). Çalışmamızda vakalardaki E-CD ekspresyonu, birlikte boyanan kontrol dokuları ile paralellik göstermiştir. Ayrıca membranöz ve sitoplazmik boyanmanın vakalarda belirli bir patern izlediği görülmüş hiçbir vakada zemin boyanması saptanmamıştır. E-CD ekspresyonunu formalin fiksasyonlu parafine gömülü dokuda çalışmak retrospektif çalışma ve morfolojiyi daha iyi

değerlendirme imkanı sağladığı için üstünlük taşımaktadır. Çalışmamız antijeni açığa çıkarma yöntemi uygulayarak yapılan immunhistokimyanın formalin fiksasyonlu dokularda E-CD ekspresyonunu belirlemede güvenilir bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Genel olarak bakıldığında atipik hiperplaziden itibaren başlayan E-CD ekspresyonundaki azalma diferansiyasyon azaldıkça ve myometrial invazyon arttıkça çok daha belirgin hale gelmektedir. Bu bulgular ileride özellikle invazyonun önlenmesinde E-CD ekspresyonunu düzenleyen mekanizmalara yönelik çalışmalar yapılabileceğini düşündürmektedir.



## SONUÇLAR

-Endometrial adenokarsinomlarda E-Cadherin ekspresyonu tümörün dediferansiye olmasında rol oynamaktadır.

-Endometrial adenokarsinomun prognozunda en önemli faktörlerden olan myometrial invazyon ve lenfovasküler invazyon oluşumunda E-CD ekspresyonu rol oynamaktadır.

-E-CD ekspresyonu atipik hiperplazi ve iyi diferansiye adenokarsinomu ayırmada yararlı olmamaktadır.

-Mikrodalga ile antijeni geri kazanma tekniği formalin fiksasyonlu dokularda E-CD ekspresyonunu belirlemede güvenilir sonuç vermektedir..

-Premalign lezyonlarda da E-CD ekspresyonunda değişiklikler ortaya çıkması bu molekülün invaziv tümör oluşumunda rol oynadığı ve E-CD'in antiinvazyon molekülü olduğu yönündeki bulguları desteklemektedir. Ancak daha fazla vaka sayısı ve aynı fonksiyonu gören diğer moleküller ve onkogenler ile karşılaştırmalı yapılacak çalışmalar ve survi değerlendirmeleri daha kesin bir sonuç elde edilmesi bakımından yararlı olacaktır.

## ÖZET

Endometrial adenokarsinomlar endometrial karsinomların en sık görülen tipidir. Tümörün grade'i, myometrial ve lenfovasküler invazyon varlığı endometrial adenokarsinomların prognozunda rol oynayan en önemli faktörlerdir. Son yıllarda kalsiyuma bağımlı hücrelerarası adhezyon molekülü olan E-Cadherin'in epitelyal tümörlerde invazyon ve metastaz oluşumunu önlediğine dair bulgular elde edilmiştir.

Çalışmamızda 27 adenokarsinom ve 14 endometrial hiperplazi vakasında E-CD ekspresyonu immunhistokimyasal yöntem ile değerlendirilmiştir. Adenokarsinomlarda E-CD ekspresyonu ile prognostik parametreler arasındaki ilişki saptanmaya çalışılmıştır. Ayrıca hiperplazilerdeki ekspresyon da karsinom ile karşılaştırılmıştır.

Bulgularımıza göre: 1-karsinomlarda diferansiyasyon azaldıkça E-CD ekspresyonu azalmaktadır ( $p<0.01$ ). 2-myometrial invazyon derinliği arttıkça E-CD ekspresyonu azalmaktadır ( $p<0.05$ ). 3-E-CD ekspresyonundaki azalma lenfovasküler invazyon varlığı ile korelasyon göstermektedir ( $p<0.005$ ). 4-Endometrial adenokarsinomların prekürsör lezyonu olan atipili hiperplazilerde de E-CD ekspresyonunda değişiklikler ortaya çıkmaktadır.

Sonuç olarak bulgularımız E-CD ekspresyonundaki azalmanın hücrelerarası adhezyonu bozarak tümörlerde diferansiyasyonun azalması ve invazyonun başlamasında rol oynadığı yolundaki görüşleri desteklemektedir.

## KAYNAKLAR

1. -Albelda S.M., Biology of disease :Role of integrins and other cell adhesion molecules in tumor progression and metastasis. Lab Invest 68:4-17, 1993.
2. -Behrens J., Birchmeier W., Goodman S.L., Imhof B.A.: Dissociation of Madin-Darby canine kidney epithelial cells by the monoclonal antibody anti-arc-1: Mechanical aspects and identification of the antigen as a component related to uvomorulin. J Cell Biol 101:1307-1314, 1985
3. -Behrens J., Mareel M.M., Roy F.M.V., Birchmeier W.: Dissecting tumor cell invasion: Epithelial cells acquire invasive properties after the loss of uvomorulin -mediated cell-cell adhesion. J Cell Biol 108:2435-2446, 1989.
4. -Berx G., Staes K., Van Hengel J., et al.: Cloning and characterization of the human invasion suppresser gene E-Cadherin (CDH1). Genomics 26:281289, 1995.
5. -Breen E, Steele G Jr, Mercurio AM: Role of E-Cadherin/ alpha-catenin complex in modulating cell-cell and cell-matrix adhesive properties of invasive colon carcinoma cells.: Ann Surg Oncol. 2(5): 378-385, \*
6. -Bringuier P.P., Umbas R., Schaafsma H.E., Karthaus H.F.M., Debruyne F.M.J., Schalken J.A.: Decreased E-Cadherin immunoreactivity correlates with poor survival in patients with bladder tumors. Cancer Res 53:3241-3245, 1993.

7. -Bussemakers M.J.G., Moorselaar R.J.A.v., Girolidi L.A., et al.  
Decreased expression of E-Cadherin in the progression of rat prostatic cancer. *Cancer Res* 52:2916-2922, 1992.
8. -Byers S.W., Sommers C.L., Hoxter B., Mercurio A.M., Tozeren A.:  
Role of E-Cadherin in the response of tumor cell aggregates to lymphatic, venous, and arterial flow: measurement of cell-cell adhesion strength. *J Cell Sci* 108:2053-2064, 1995.
9. -Cotran R.S., Kumar V, Robbins S.L. :Neoplasia In Cotran R.S., Kumar V, Robbins S.L (eds.) *Robbins Pathologic Basis of Disease*, 5th.edition Philadelphia W.B Saunders Company Ch:7 p:241-304.
- 10.-Creasman W.T, Morrow C.P., Bundy B.N.,Homesley H.D., Graham J.E., Heller P.B.: Surgical pathological spread patterns of endometrial cancer: A gynecologic oncology group study. *Cancer* 60:2035-2041, 1987
- 11.-Dorudi S., Sheffield J.P., Poulson R., Northover J.M.A., Hart I.R.:E-Cadherin expression in colorectal cancer: An immunohistochemical and in situ hybridization study. *Am J Pathol* 142 (4): 981-986, 1993.
- 12.-Eidelman s., Damsky C.H., Wheelock M.J., Damjanov I.: Expression of the cell-cell adhesion glycoprotein cell-CAM 120/80 in normal human tissues and tumors. *Am J Pathol* 135:101-110, 1989.
- 13.-Ferenczy A : Anatomy and Histology of the uterine corpus. In R.J (ed) *Blaustein's Pathology of the female genital tract* .4<sup>th</sup> edition 1994, New York ,springer-Verlag p:185-202
- 14.-Frixen U.H., Behrens J., Sachs M. et al.: E-Cadherin mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma *Cell Biol* 113:173185, 1991.

- 15.-Gagliardi G., Kandemir O., Liu D., et al: Changes in E-Cadherin immunoreactivity in the adenoma-carcinoma sequence of the large bowel. *Virchows Archiv* 426:149-154, 1995.
- 16.-Gamallo C, Palacios J, Suarez A, et al: Correlation of E-Cadherin expression with differentiation grade and histological type in breast carcinoma. *Am J Pathol* 142:987-993, 1993
- 17.-Garzetti G.G., Ciavattini A., Goteri G., Romanini C.: Nodal immune reactivity in FIGO stage I endometrial carcinoma: relationship with myometrial invasion. *Acta Obstet Gynecol Scand* 74:723-728, 1995.
- 18.-Gurpide E :Endometrial cancer: Biochemical and clinical correlates. *J Natl Cancer Instit.* 83(6) : 405-416, 1991.
- 19.-Hanby A.M., Chinery R., Poulson R., Playford R.J., Pignatelli M.: Downregulation of E-Cadherin in the reparative epithelium of the human gastrointestinal tract. *Am J Pathol* 148(3):723-729, 1996.
- 20.-Hart I.R., Goode N.T, Wilson R.E.: Molecular aspects of the metastatic cascade. *Biochim. Biophys. Acta.* 989:65-84, 1989.
- 21.-Hendrickson M.R. Kempson R.L :Uterus and fallopian tubes. In Sternberg S.S (ed) *Histology for pathologists* 1992, New York Raven Press p:797-834
- 22.-Inoue M, Ogawa H, et al: Expression of E-cadherin in normal, benign, and malignant tissues of female genital organs. *Am J Clin Pathol* 98:76-80, 1992
- 23.-Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO: The Female Reproductive System. In: Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO (eds.). *Basic Histology* 1992 7th edition. Connecticut Prentice-Hall International Inc.p:450-458.
- 24.-Jiang W.G.: E-Cadherin and its associated proteins catenins, cancer invasion and metastasis. *B J Surg* 83:437-446, 1996



- 25.-Jiang WG, Puntis M.C.A., Hallett M.B.:Molecular and cellular basis of cancer invasion and metastasis: implications for treatment. Br J Surg. 81:1576-1590, 1994
- 26.-Kinsella A.R., Green B., Lepts G.C., Hill C.L., Bowie G., Taylor B.A.:The role of the cell-cell adhesion molecule E-Cadherin in large bowel tumor cell adhesion and metastasis. \*
- 27.-Kinsella AR, Lepts GC, Hill CL, Jones M: Reduced E-Cadherin expression correlates with increased invasiveness in colorectal carcinoma cell lines. Clin Exp Metastasis 12:335-342, 1994.
- 28.-Kozyraki R, Scoazec JY, Flejou JF, et al.: Expression of catherins and alpha-catenin in primary epithelial tumors of the liver. Gastroenterology. 110(4):1137-1149, 1196
- 29.-Kurman R.J, Norris H.J : Endometrial hyperplasia and related cellular changes. In Kurman R.J (ed) Blaustein's Pathology of the female genital tract .4<sup>th</sup> edition 1994, New York ,springer-Verlag p:411-438
- 30.-Kurman R.J. Zaino R.J. Norris H.J.: Endometrial carcinoma Kurman R.J (ed) Blaustein's Pathology of the female genital tract .4<sup>th</sup> edition 1994, New York ,springer-Verlag p 439-461
- 31.-Longacre T.A., Chung M.H., Jensen D.N, Hendrickson M.R.: Proposed criteria for the diagnosis of well-differentiated endometrial carcinoma. A diagnostic test for myoinvasion. Am J Surg Pathol. 19(4): 371-406, 1995.
- 32.-Longacre T.A., Kempson R.L., Hendrickson M.R.: Endometrial hyperplasia, metaplasia and carcinoma. In : Fox H.(ed) Haines and Taylor Obstetrical and gynaecological pathology 4<sup>th</sup> edition churchill Livingstone New York vol 1 p:421-510.

- 33.-Mattijsen V, Peters HM, Schalkwijk L et al :E-Cadherin expression in head and neck squamous-cell carcinoma is associated with clinical outcome. *Int J Cancer* 55:580-585, 1993.
- 34.-Mazur T.M. Kurman R.J.(eds): Endometrial Carcinoma. In *Diagnosis of endometrial biopsies and curetings. A practical approach.* 1995 New York Springer-Verlag p:184-218.
- 35.-McLean JM :Embryology and anatomy of the female genital tract. In Fox H.(ed) Haines and Taylor *Obstetrical and gynaecological pathology* 4<sup>th</sup> edition churchill Livingstone New York vol. 1 p:1-40
- 36.-Miyaki M. Tanaka K, Kikuchi-Yanashita R : Increased cell - substratum adhesion, and decreased gelatinase secretion and cell growth, induced by E-Cadherin transfection of human colon carcinoma cells. *Oncogene* 11(12):2547-2552, 1995.( Abs)
- 37.-More I.A.R: The normal human endometrium. In Fox H.(ed) Haines and Taylor *Obstetrical and gynaecological pathology* 4<sup>th</sup> edition churchill Livingstone New York vol. 1 p:365-382
- 38.-Morton R.A., Ewing C. M., Nagafuchi A., Tsukita S., Isaacs W.B .Reduction of E-Cadherin levels and deletion of the  $\alpha$ -catenin gene in human prostate cancer cells. *Cancer Res* 53:3585-3590, 1993.
- 39.-Nagafuchi A., Ishihara S., Tsukita S.: The roles of Catenins in the cadherin - mediated cell adhesion: Functional analysis of E-Cadherin- $\alpha$ -catenin fusion molecules.*J Cell Biol* 127:235-245, 1994.
- 40.-Ochiai A, Akimoto S, Kanai Y et al: c-erbB-2 Gene product associates with catenins in human cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 205:73-78, 1994.

- 41.-Oka H., Shiozaki H., Kobayashi K., Inoue M., Tahara H., Kobayashi T., et Al.: Expression of E-Cadherin cell adhesion molecules in human breast cancer tissues and its relationship to metastasis. *Cancer Res* 53:1696-1701, 1993.
- 42.-Otto T., Birchmeier W., Schmidt U., et al: Inverse relation of E-Cadherin and autocrine motility factor receptor expression as a prognostic factor in patients with bladder carcinomas. *Cancer Res* 54:3120-3123, 1994.
- 43.-Pignatelli M., Liu D., Nasim M.M., Stamp G.W.H., Hirano S., Takeichi M.: Morphoregulatory activities of E-Cadherin and beta-1 integrins in colorectal tumor cells. *Br J Cancer* 66:629-634, 1992.
- 44.-Risinger J.I., Berchuck A., Matthew F.K., Boyd J.: Mutations of the E-Cadherin gene in human gynecological cancers. *Nature Genetics* 7:98-102, 1994.
- 45.-Rosai J.: Endometrial adenocarcinoma In: Rosai J (ed.) *Ackerman's Surgical Pathology* 1996 8th.edition vol 2 St.Louis Mosby-Year Book inc. ch.19 p:1408-1419.
- 46.-Ross JS, Figge H.L., Bui H.X., et al.: E-Cadherin expression in prostatic carcinoma biopsies:Correlation with tumor grade, DNA content, pathologic stage, and clinical outcome. *Mod Pathol* 7(8):835-840, 1994.
- 47.-Ross JS, Rosario AD, et al: E-Cadherin expression in papillary transitional carcinoma of the urinary bladder. *Hum Pathol* 26:940-944, 1995
- 48.-Sakaki T., Wato M., Kaji R., Mushimoto K., Shirasu R., Tanaka A.: Correlation of E and P Cadherin expression with differentiation grade and mode of invasion in gingival carcinoma. *Pathology International* 44:280-286, 1994.

- 49.-Sakuragi N, Nishiya M, et al: Decreased E-Cadherin expression in endometrial carcinoma is associated with tumor dedifferentiation and deep myometrial invasion. *Gyn Oncol* 53:183-189, 1994
- 50.-Serini g., Trusolino L., Saggiorato E., et al: Changes in integrin and E-Cadherin expression in neoplastic versus normal thyroid tissue. *J Natl Cancer Inst.*88(7):442-449, 1996.
- 51.-Shapiro L., Fannon A.M., Kwong P.D., Thompson A., Lehmann M.S., Grübel G., Legrand J-F., et al.: Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins. *Nature* 374:327-337, 1995.
- 52.-Shimoyama Y, Nagafuchi A, Fujita S, et al: Cadherin dysfunction in a human cancer line: Possible involvement of loss of alphacatenin expression in reduced cell-cell adhesiveness. *Cancer Res* 52:5770-5774, 1992
- 53.-Shimoyama Y., Hirohashi S., Hirano S., Noguchi M., Shimosato Y., Takeichi M., Abe O. *Cancer Res* 49:2128-2133, 1989.
- 54.-Shimoyama Y.,Hirohashi S.: Expression of E and P cadherin in gastric carcinomas. *Cancer Res* 51:2185-2192, 1991.
- 55.-Shino Y, Watanabe A, Yamada Y.: Clinicopathologic evaluation of immunohistochemical E-Cadherin expression in human gastric carcinomas. *Cancer* 76 (11):2193-2201, 1995.
- 56.-Shiozaki H, Oka H, Inoue M, Tamura S, Monden M: E-Cadherin mediated adhesion system in cancer cells.*Cancer* 77(8 suppl):1605-1613, 1996
- 57.-Shiozaki H., Tahara H., Oka H., et al.: Expression of immunoreactive E-Cadherin adhesion molecules in human cancers. *Am J Pathol* 139:17-23, 1991.

- 58.-Shirayoshi Y., Okada t.s., Takeichi M.: The calcium-dependent cell-cell adhesion system regulates inner cell mass formation and cell surface polarization in early mouse development. *Cell* 35:631-638, 1983.
- 59.-Sittonen S.M., Konnonen J. T., Heikkı J.H. et al. : Reduced E-Cadherin expression is associated with invasiveness and unfavorable prognosis in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 105:394-402, 1996.
- 60.-Syrigos K.N., Krausz T., Waxman J., Pandha H., et al.: E-Cadherin expression in bladder cancer using formalin - fixed paraffin-embedded tissues: Correlation with histopathological grade, tumor stage and survival. *Int J Cancer(Pred Oncol )* 64:367-370, 1995.
- 61.-Takeichi M.: Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 251:1451-1455, 1991.
- 62.-Takeichi M:Cadherins: A molecular family important in selective cell-cell adhesion. *Annu. Rev. Biochem.* 59:237-252, 1990
- 63.-Umbas R, Schalken JA, Aalders TW, et al: Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. *Cancer Res* 52:5104-109, 1992
- 64.-Vandewalle B., Revillion F., Doutrelant P., Granier A.M., Lefebvre J: Effect of calcium on E-Cadherin expression in breast tumor cells. *Int J Oncol* 4:181-185, 1994.
- 65.-Vleminckx K., Vakaet L., Mareel M., Fiers W., Roy F.V.:Genetic manipulation of E-Cadherin expression by epithelial tumor cells reveals an invasion suppressor role. *Cell* 66:107-119, 1991.