

T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ

**TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

BAŞKAN: PROF. DR. İSMAİL METE İTİL

**ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİLERDE P16 VE COX-2
EKSPRESYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR.HANDE ECE KALKAN

DANIŞMAN

PROF. DR. A. AYDIN ÖZSARAN

İZMİR-2016

ÖNSÖZ

*Engin bilgi ve deneyimleriyle bizlere her türlü desteği veren ve eğitimimize sonsuz katkıları olan başta değerli anabilim dalı başkanımız **Prof. Dr. İsmail Mete İtil** olmak üzere, tüm değerli hocalarıma teşekkürü bir borç bilirim.*

*Uzmanlık eğitimim süresince ve tez yazımında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyip, her konuda destek olan değerli hocam **Prof. Dr. A. Aydın Özaran**'a teşekkür ederim.*

*Tez çalışmamdaki katkılarından dolayı Patoloji Anabilim dalı öğretim üyelerinden **Prof. Dr. Osman Zekioğlu** 'na ve **Uzm .Dr. Gürdeniz Serin**'e teşekkür ederim.*

*Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşıp, sonsuz sabır ve hoşgörülerini ile her konuda desteklerini esirgemeyen, bizlere yol gösteren, cerrahi nosyonu kazanmamızda üzerimizde büyük emekleri olan değerli hocalarım **Prof. Dr. Teksin Çırpan, Doç. Dr. A. Mete Ergenoğlu, Doç Dr. A. Özgür Yeniel, Yar. Doç. Dr. Ali Akdemir, Yar. Doç. Dr. Levent Akman** ve **Uzm. Dr. Nuri Yıldırım**'a ve birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, hemşire ve hastane personellerine teşekkürlerimi sunarım.*

Bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan sevgili ailem ve çalışma sürecinde tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve her zaman bana destek olan sevgili eşime teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Hande Ece Kalkan

İzmir, Kasım 2016

Endometriyal Hiperplazilerde P16 ve Cox-2 Ekspresyonlarının Araştırılması

ÖZET:

Amaç: Endometriyal hiperplazilerden, endometriyum kanseri gelişim sürecinde hücre siklusunda rol alan tümör supresör proteinlerden olan p16 ve prostoglandin sentezinin anahtar enzimlerinden olan cox-2 moleküllerinin ekspresyonlarının araştırılması.

Yöntem: Çalışmaya alınan hastalar, Ege Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine 2012- 2016 yılları arasında başvuran, çeşitli nedenlerle endometriyal örnekleme yapılan ve endometriyum kanseri nedeniyle opere edilen hastaların dosyaları retrospektif olarak taranarak rastgele seçilmiştir. Çalışma, toplam 3 çalışma grubu ve 1 kontrol grubu olacak şekilde tasarlandı. Retrospektif dosya incelemelerinden veri kayıtları yeterli ve eksiksiz olan, iletişim bilgileri bulunan hastaların dosyaları incelemeye alındı. Çalışmaya dahil edilen hastalara telefonla ulaşılarak çalışma hakkında bilgi verildi, patoloji preparatlarının kullanımı konusunda sözlü onamları alındı. Çalışmadaki gruplar; endometriyal biyopsi sonucunda proliferatif endometriyum saptanan herhangi bir jinekolojik malignitesi olmayan kadınlar (n:30), basit atipisiz endometriyal hiperplazi saptanan herhangi bir jinekolojik malignitesi olmayan kadınlar (n:30), kompleks atipili endometriyal hiperplazi saptanan herhangi bir jinekolojik malignitesi olmayan kadınlar (n:30) ve histerektomi sonrası patoloji sonucunda endometrioid tip adenokarsinom saptanan hastalar (n:30) olmak üzere toplam 4 grup olarak tasarlanmıştır. Tüm hastaların patoloji preparatları yeniden değerlendirilmiş, endometriyal doku örneklerinde p16 (INK4a) ve COX- 2 ekspresyonları incelenmiştir.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen tüm hastalar yaş, BMI, sigara kullanımı, parite, endometriyal kalınlık, patoloji spesmenlerindeki p16 ve cox-2 boyanma düzeyleri açısından incelenmiş ve endometriyum karsinomu saptanan gruptaki hastaların evre ve patolojik gradeleri belirlenmiştir. Cox-2 ekspresyonları endometriyum karsinomu saptanan hastalarda diğer gruplara göre yüksek olmakla birlikte bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı. Endometriyum karsinomunda; p16 ve cox-2

expresyonlarında evre ve grade ile korele bir artışın olmadığı saptandı. P16 expresyonlarının, proliferatif endometriyumdan, endometriyal hiperplaziye ve endometriyum karsinomuna doğru istatistiksel olarak artmış olduğu saptandı ($p<0.001$). Lenfovasküler invazyon saptanan endometriyum karsinomu olgularında saptanmayanlara oranla P16 expresyonlarının artmış olduğu saptandı ($p<0.001$). Parite, endometriyal kalınlık, vücut kitle indeksi , Ca 125 ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. P16 ekspresyonunun, endometriyum kanseri olanlarda diğer gruplara göre istatistiki anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı ($p<0,001$).

Sonuç: Cox-2 molekülünün; literatürde endometriyum kanserinde artmış expresyonları bildirilse de karsinogenezin hangi aşamalarında etkili olduğu konusunda fikir birliği bulunmamaktadır. P16 ekspresyonlarının endometriyum kanserlerinde anlamlı olarak yüksek olduğunun çalışmamızda gösterilmiş olması daha kapsamlı yapılacak çalışmalar için ışık tutmaktadır. Bu konuda daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Endometriyal hiperplazi, cox-2, p16

Investigation of P16 and Cox-2 Expressions in Endometrial Hyperplasia

ABSTRACT

Aim: Investigation of the expression of p16, a tumor suppressor protein involved in the cell cycle, and cox-2 molecules, key enzymes of prostaglandin synthesis, from endometrial hyperplasia in endometrial cancer development.

Method: The patients who were taken to the study were randomly selected from Ege University Obstetrics and Gynecology Clinic between 2012 and 2016 by retrospectively screening files of endometrial sampling and endometrial cancer. Working groups ; women without any gynecologic malignancy and who detected proliferative endometrium (n: 30), atypical endometrial hyperplasia (n:30), complex atypical endometrial hyperplasia (n:30) as a result of endometrial biopsy and endometrioid adenocarcinoma patients diagnosed in the pathology results after hysterectomy (n = 30) was designed to be a total of 4 groups. Pathology preparations of all patients were reassessed and p16 (INK4a) and COX-2 expressions were examined in endometrial tissue specimens.

Results: All patients included in the study were examined for age, BMI, smoking, parity, endometrial thickness, p16 and cox-2 staining levels in pathologic specimens and the stage and pathological grades of the patients in the group with endometrial carcinoma were determined. Cox-2 expressions were found to be higher in patients with endometrial carcinoma than in the other groups, but this increase was not statistically significant. Endometrial carcinoma; P16 and cox-2 expressions did not show any increase due to the grade and stage of the carcinoma. P16 expressions were found to be statistically increased from proliferative endometrium to endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma ($p < 0.001$). P16 expression was found to be increased in patients with endometrial carcinoma diagnosed with lymphovascular invasion ($p < 0.001$). There was no statistically significant difference between the groups in parity, endometrial thickness, body mass index, Ca 125 measurements. P16 expression was found to be significantly higher in patients with endometrial cancer than in the other groups ($p < 0.001$).

Conclusion: Although; increased expression of cox-2 molecule in endometrial cancer has been reported in the literature, there is no consensus on the; which stage of carcinogenesis it is effective. The fact that P16 expressions are shown to be significantly higher in endometrial cancers has shed light on more extensive studies. In this regard, larger scale studies are needed.

Keywords: p16, cox-2, endometrial hyperplasia



İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	vii
TABLolar ve ŞEKİLLER	viii
1-GİRİŞ ve AMAÇ	1
2-GENEL BİLGİLER	3
2.1.Uterus Anatomisi	3
2.2.Uterus Histolojisi	3
2.3.Entomeriyal Hiperplaziler	4
2.3.1.Endometriyal Hiperplazilerin Sınıflandırılması	5
2.4.Endometriyum Kanseri	8
2.4.1.Risk Faktörleri	9
2.4.2.Endometriyal Tümörlerin Histolojik Sınıflandırılması	10
2.4.3.FIGO 2009 Endometriyum Kanseri Cerrahi Evreleri	15
2.4.4.Endometriyal Karsinomda Prognostik Faktörler	15
2.4.5.Endometriyum Kanserinde Tedavi	17
2.4.6.Endometriyum Karsinomunda Yönetim	18
2.4.7.Endometriyum Karsinomunda Adjuvan Tedavi	19
2.5.COX-2, P16 ve Karsinogenez	20
2.5.1.COX-2	20

2.5.2.P16 (INK4a).....	21
3-GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	22
3.1.Çalışma Planı Ve Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	22
3.2.Laboratuvar Ölçümleri.....	23
3.3.İmmünreaktivitenin Değerlendirilmesi.....	24
3.4.İstatistiksel Değerlendirme.....	25
4-BULGULAR.....	25
5-TARTIŞMA.....	32
6-SONUÇ VE ÖNERİLER.....	35
7-KAYNAKLAR.....	37

KULLANILAN KISALTMALAR

DSÖ: Dünya sağlık örgütü

ISGP : International Society of Gynecological Pathologists

FIGO : International Federation of Gynecology and Obstetrics

EIN : Endometriyal intraepitelyal neoplazi

EH: Endometriyal hiperplazi

p53 : Tümor supresör geni

PTEN : Fosfotaz ve tensin homologu

VPS: Volume percentage stroma

OSD: Outer surface area

ER: Estrojen reseptörü

PR: Progesteron reseptörü

HPNPCC: Hereditary nonpolyposis colorectal cancer

NK: Natural killer

HER-2/neu: Cerb-B2-Human epidermal growth factor receptor 2

TABLolar VE ŞEKİLLER

Tablo 1: EIN tanı kriterleri

Tablo 2: Endometriyum tümörlerinde modifiye WHO ve ISGYP sınıflaması

Tablo 3: Endometriyum kanseri tedavisi

Tablo 4: Grupların karşılaştırılması

Tablo 5: Endometriyum kanseri olgularında P16 ve COX-2 ekspresyonları

Tablo 6: Endometriyum kanseri ve diğer grupların karşılaştırılması

Şekil 1: Prostoglandin sentezi

Şekil 2: Endometriyal hiperplazilerde COX-2 ekspresyonu

Şekil 3: COX-2 boyanma skorlarının gruplar arası karşılaştırılması

Şekil 4: P16 boyanma skorlarının gruplar arası karşılaştırılması



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Endometriyum kanseri kadınlarda akciğer, meme ve barsak kanserinden sonra dördüncü sırada yer almaktadır(1). Endometriyum kanseri tüm jinekolojik kanserlerin yaklaşık yarısını oluşturmaktadır(2). İnsidansı yansıtacak güvenilir istatistiksel veriler olmamakla birlikte, Türkiye Sağlık İstatistikleri 2006 verilerine göre endometriyum kanseri yüzbinde 1.29 insidansla ülkemizde serviks kanserinden sonra ikinci sıklıkta görülen kadın genital sistem karsinomudur. Yüksek insidansına karşılık ölüme neden olan kanserler arasında alt sıralarda yer almaktadır ve Türkiye Kanser İstatistikleri verilerine göre kanser ölümlerinin 7. en sık nedenidir(1). Demografik veriler; tüm kadınların %1-3'ünün hayatlarının bir döneminde endometriyum kanseri riski ile karşılaşacaklarını göstermektedir. Bu hastaların yaklaşık %20'si bilinen tedavi yöntemleri uygulandığı halde 5 yıl içinde hastalığa bağlı olarak kaybedilmektedir. Endometriyum kanserinin artan sıklığı ve hızla jinekolojik kanserler arasındaki ilk sıraya doğru gidişi; bu hastalığın risk faktörleri, erken tanı için tarama yöntemleri, prognoz üzerine etkili faktörleri ve survi üzerine en etkili tedavi yöntemlerinin bulunmasına yönelik ciddi araştırmalara sebep olmuştur.

Endometriyal hiperplaziler (EH), endometriyum kanserine göre çok daha sıktır. Anormal kanama yakınması ile başvuran tüm kadınların yaklaşık %1.5'inde endometriyal hiperplazi saptanmaktadır. EH'ler için farklı sınıflamalar tanımlanmıştır. Dünya sağlık örgütünün (DSÖ) yaptığı sınıflamada, hücresel atipiler ve glandların yapısal paterni kullanılarak endometriyal hiperplaziler 4 alt gruba ayrılmıştır(3). Ancak; bu sınıflama tüm dünyada yaygın kullanılsa da en önemli prognostik faktör olan hücresel atipinin değerlendirilmesinde yüksek intra ve interobserver varyasyonlar gösterir ve tekrarlanabilirliği son derece düşüktür(3). Diğer bir sınıflama olan endometriyal intraepitelyal neoplazi (EIN) sistemi hastaların tedavisin daha iyi yönlendirilebilmesi için geliştirilmiş bir sınıflamadır(3). Burada karşılanmamış östrojene bağlı benign reaktif hiperplazilerin (poliklonal lezyon) ayrımı yapılır. Daha sonra malign bir gelişim olan EIN gelir. EIN'de en önemli kriter D skorudur. D skoru bir klonalite ve prekanserojenite göstergesidir(3). Ancak

D skoru değerlendirmesi için bilgisayarlı morfometrik analiz teknolojisi gerekmektedir ve günümüzde yaygın olarak bu teknolojiye ulaşılamamaktadır(3).

DSÖ'ne göre EIN tanısı alan hastaların %63'ünde atipik hiperplazi, %27'sinde kompleks hiperplazi ve %10'unda basit hiperplazi saptanmıştır. Aynı şekilde atipik endometriyal hiperplazi tanısı alan hastaların %79'unda, kompleks endometriyal hiperplazi olanların %44'ünde ve basit endometriyal hiperplazi olan hastaların sadece %5'inde EIN saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda iki sistem arasında uyum olmadığı gösterilmiştir. Mevcut sınıflama sistemleri arasında uyum olmayışı ve hastalık progresyonunu öngörmeye yetersiz olmaları nedeniyle immün histokimyasal belirteçlerin kullanımı gündeme gelmiştir. Bu konuda en eski bilinen PTEN tümör supresör gen mutasyonudur(3). Bu mutasyon östrojen fazlalığında gelişir ve hiperplazik lezyonlara yol açar. Hiperplazik endometriyal hücrelerde de zamanla doz ve süreye bağlı olmak üzere neoplazik gelişmelere yol açmaktadır(9).

P16 ve COX-2 EH'nin kansere ilerlemesinde gösterilen en önemli belirteçlerdendir(3). COX-2 pozitifliği, neoplazilerde prostoglandin üretimini arttırdığından genellikle kötü prognoz göstergesidir. EH'den invaziv endometriyal adenokarsinoma dönüşümde COX-2 artmaktadır(3). EH ve kansere progresyonda COX-2 artarken; bazı çalışmalarda kanser gelişen olgularda ekspresyonunda azalma belirtilmiştir(1). Endometriyal karsinogenezde farklı fazlarda, farklı etkileri olduğu üzerinde durulmaktadır.

P16 da kanser progresyonunda önemli diğer bir belirteçtir. Çalışmalarda EH'nin kansere progresyonunda artmış ekspresyonu bulunmuştur(3).

EH'nin sınıflamasında, progresyonunda, tanı ve tedavisinde fikir birliğinin olmaması nedeniyle çalışmamızda, proliferatif endometriyum, kompleks-basit endometriyal hiperplazi ve endometrioid adenokarsinom saptanmış hastalarda retrospektif olarak COX-2 ve P16 ekspresyonlarını araştırdık. Elde edilen veriler ışığında hem öncü lezyonlar olarak kabul edilen endometriyal patolojilerin kansere ilerlemesinde hücre döngüsünün hangi basamaklarında değişiklik olduğu konusu

aydınlatılacak, hem de tedavi aşamasında etkilenen yolakların belirlenip önlenmesi konusunda yardımcı olacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. UTERUS ANATOMİSİ

Uterus, anatomik olarak pelvis boşluğunda, önde mesane, arkada rektum komşuluğunda yer alan ve çoğunluğu kas dokusu ağırlıklı bir organdır. Uterus yapısal ve fonksiyonel olarak iki kısma ayrılır; üstte musküler gövdeyi oluşturan korpus ve altta fibröz serviks. Fallop tüplerinin üst kısmında kalan uterus bölümü ise fundus olarak adlandırılır(4). Reprodüktif çağda, uterusun boyutu ve ağırlığı pariteye göre değişmektedir. Hiç doğum yapmamış bayanlarda 8cm. uzunluğunda, 5cm. genişliğinde ve 2,5cm. kalınlığında; 40–100gr. ağırlığındadır(5).

2.2. UTERUS HİSTOLOJİSİ VE EMBRİYOLOJİSİ

Uterus duvarı histolojik olarak 3 tabakadan oluşur. Dıştan uterus kavitesine doğru, perimetriyum, myometriyum ve endometriyum olarak sıralanır(6). Perimetriyum adventisya veya seroza niteliğinde olup mezotel ve altında ince bir bağ dokusundan oluşur, korpus uteriye ön ve arkadan, serviks uteriye ise sadece arkadan saran periton yaprağıdır. Myometriyum; 12-15mm. kalınlığında olup, düz kas ve arada bağ dokusu elemanlarından oluşur. Endometriyum ve myometriyum mezodermden köken alır. Endometriyum, intrauterin hayatta ovulasyon sonrası 8. ve 9. haftalarda müllerian kanalların füzyonu sonucu gelişir. Yirminci haftaya kadar endometriyum tek sıralı kolumnar epitelle döşeli fibroblastik stromadan oluşur. Yirminci haftadan sonra yüzey epiteli stroma içine doğru kıvrıntılar yaparak glandüler yapıları meydana getirir(7). Doğumda endometriyumun görünümü annenin hormonal durumundan etkilenir, proliferatif ya da sekretuar olabilir. Doğumdan yaklaşık bir ay sonra bu fonksiyonel aktivite durur ve endometriyum puberteye kadar atrofik olarak kalır. Bu dönemde endometriyal glandlar alçak kolumnar-küboidal epitel ile döşelidir ve proliferatif veya sekretuar özellik göstermez. Endometriyumun kalınlığı 0,5mm'den daha incedir. Endometriyumun 2/3 üst tabakası fonksiyonel tabaka, alt 1/3'lük kısım bazal tabakadır, siklik

değişiklikler minimaldir(7). Fonksiyonel tabakanın amacı blastokistin implantasyonu için uygun ortamın sağlanmasıdır. Bu nedenle burası proliferasyon, sekresyon, ve dejenerasyonun olduğu alandır. Bazal tabaka ise menstruasyon sonrası kaybolan fonksiyonel tabakanın yenilenmesinden sorumludur(7). Endometriyumun fonksiyonel tabakasındaki bu siklik değişiklikler, iki önemli sex hormonu olan östrojen ve progesteronun kompleks ilişkileri ile düzenlenmektedir(8). Östrojen epitelyal hücre proliferasyonunu uyararak fonksiyonel tabakanın kalınlaşmasını sağlarken, progesteron epitelyal hücre farklılaşmasını uyararak endometriyal siklusun sekretuar faza geçişinde rol oynamaktadır(9,10). Endometriyal proliferasyon ve apoptoz arası dengenin hormonal faktörler, moleküler mekanizmalar, çevresel faktörler, yaş gibi çeşitli faktörler tarafından bozulması sonucu endometriyal anomaliler oluşmaktadır(10).

2.3. ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİLER:

Endometriyal hiperplazi değişik büyüklük ve görünüşteki endometriyal glandların fizyolojik olmayan, invazyon göstermeyen proliferasyonu olarak tanımlanabilir. Proliferatif endometriyumla karşılaştırıldığında gland/stroma oranında artış vardır(11). Tanı; anormal proliferasyon, glandüler yapılarıdaki değişiklikler ve azalmış stromanın görülmesi ile konur. Bu değişik patern üzerinde sitolojik atipi olabilir ya da olmayabilir.

Endometriyal hiperplazi genellikle perimenopozal dönemde gelişir ve anovulasyon ile ilişkilidir. Endometriyal hiperplaziler ovulasyonun sona erdiği ve progesteron üretiminin durduğu postmenopozal dönemde ve düzensiz anovuluar kanamaların eşlik ettiği perimenopozal dönemde sıklıkla görülmektedir. En sık; anormal uterin kanama, menoraji, menometroraji, postmenopozal kanama, hormon replasman terapisi ya da tamoksifen kullanımı sırasında görülen düzensiz kanama şeklinde semptom vermektedir. Her yıl batı ülkelerinde yaklaşık 200.000 yeni EH vakası bildirilmektedir(12). Birçoğu endojen ve eksojen kaynaklı yükselmiş veya uzamış östrojenik stimülasyona verilen proliferatif bir cevap olarak ortaya çıkmaktadır. Obez kadınlarda, östrojenin yağ dokusunda aşırı üretimi bu hastalarda artmış endometriyal hiperplazi ve endometriyal kanser riskiyle ilişkilendirilmektedir(13). Östrojenin endometriyum üzerindeki proliferatif etkisine ek olarak, endometriyal glandların şekil ve yapısında farklılaşma, gland/stroma

oranında değişiklik, epitelyal hücre morfolojisinde değişiklik gibi etkileri de bulunmaktadır(14,15).

2.3.1 ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİLERİN SINIFLAMASI:

Endometriyal hiperplazi geniş bir spektrum oluşturan heterojen özellikte anormal proliferasyonlar grubudur. Bir kısmının endometriyal karsinomun öncül lezyonları olduğu bilinmektedir(16,17). Hiperplazi sınıflamalarının tarihi incelendiğinde Campbell ve Barter (1961), Beutler (1963), Gusberg ve Kaplan (1966), Vellios (1972)'un sunduğu değişik sınıflama ve tanımlamalar dikkati çekmektedir. Bunlardan Vellios'un sınıflaması uzun yıllar boyunca kullanılmıştır. Buna göre hiperplaziler kistik, adenomatöz ve atipik hiperplazi olarak sınıflandırılmıştır. Ancak bu sınıflama her zaman objektif olmamıştır. Hendrikson ve Kempson 1980'de hiperplazileri atipisiz ve atipili olmak üzere iki gruba ayırmış, atipili grubu da hafif, orta ve şiddetli olmak üzere sub gruplandırmıştır. Ancak bu sınıflama da tanı karışıklıklarını önleyememiştir(18). 1985'te Kurmann ve Norris tarafından oluşturulan ve DSÖ ve Uluslararası Jinekopatologlar Birliği 'International Society of Gynecological Pathologists' (ISGP) tarafından kabul gören sınıflama sistemi kullanılmaya başlanmıştır. Bu sınıflamaya göre hiperplaziler sitolojik ve nükleer atipi varlığı ve glandların düzenlenişlerine göre 4 gruba ayrılmıştır.

a-Basit Atipisiz Hiperplazi: Hücreden zengin stroma içinde kistik, genişlemiş yer yer dallanma gösteren bez yapıları içerir. Bezleri döşeyen hücreler yalancı çok katlı ve kolumnardır. Sitolojik atipi yoktur. Mitoz değişkendir. Proliferatif endometriyumdan farklı olarak stromal hücreler daha yoğundur.

b-Kompleks Atipisiz Hiperplazi: Bezlerde lümene ve stromaya uzanan düzensiz epitelyal dallanmalar vardır. Bezlerin proliferasyonu sonucu, stroma basıya uğramıştır.

c-Basit Atipili Hiperplazi: Basit hiperplazide atipik sitoloji görülmesidir. Oldukça nadirdir.

d-Kompleks Atipili Hiperplazi: Bezlerin sayısı artmıştır. Sırt sırta dizilim gösterirler. Düzensiz dallanmalar içerir ve hücrel atipi vardır. Bezler kalabalıklaştığı için stroma azalmıştır. Hücrel atipi; hafif, orta ve ağır derece olarak ayrılır.

2003 yılında DSÖ bu sınıflamayı revize etmiştir. Proliferatif endometriyum, basit hiperplazi, kompleks hiperplazi ve kompleks atipili hiperplazi olmak üzere 4 grupta hiperplazileri toplamıştır(19). DSÖ sınıflamasında en önemli kriter hücrel atipi olup; derecelendirme yapılmadan atipinin varlığı ya da yokluğu önemsenmektedir. Yapısal patern ise düzgün ve dallanma göstermeyen glandların varlığında basit, dallanma ve kıvrımlanmalar gösteren birbirine yakın glandların varlığında kompleks olarak isimlendirilir. DSÖ sınıflamasının karışık bir sınıflama olması, interobserver ve intraobserver üretilirliğinin düşük olması nedeniyle alternatif bir sınıflama arayışı doğmuştur. EIN sistemi geliştirilmiştir. Östrojen stimülasyonuna bağlı olmadan tipik olarak endometriyal atrofi zemininden gelişen nonendometrioid karsinomların prototipi seröz karsinomdur. Seröz karsinom sıklıkla prekürsör bir lezyon olan endometriyal intraepitelyal neoplazi ile ilişkilidir(20). Bu sistemi kullanarak genellikle atipik olmayan anovulatuvar ya da uzun süre östrojene maruz kalmış endometriyum, endometriyal hiperplazi olarak tanımlanmıştır. Aksine, endometriyal intraepitelyal neoplazi, üç morfometrik özelliğin birleşimi ile premalign olarak kabul edilen tüm endometriyumları tanımlamak için kullanılmaktadır. Bu özellikler glandüler hacmi, yapısal karmaşıklığı ve sitolojik anormallığı yansıtır. EIN sistemi kansere progresyonu göstermede DSÖ sistemine daha üstün olmakla birlikte dünya çapında henüz yaygın uygulanmamaktadır(21). EIN sisteminde EH'ler;

1. Benign hiperplaziler: karşılanmamış östrojene bağlı benign yapısal değişiklikler

2. EIN; önce lokal sonra difüz olan, monoklonal ve neoplazik bir gelişim

3. Karsinoma olmak üzere 3 gruba ayrılır.

EIN KRİTERLERİ:

Subjektif EIN Kriterleri: En önemli kriter volum percentage stroma; VPS'dir. Burada; incelenen kesitte glandüler alanların stromal alana oranına bakılır.

Stromal hacimin <%55 olduğu lezyonlar EIN olarak kabul edilir. VPS'nin düzgün hesaplanabilmesi, destekleyici morfolometri ve klonal analiz yapılabilmesi için ve ayrıca doğru ayırıcı tanıların yapılabilmesi için lezyon çapının en az bir 1 mm. olması gerekmektedir.

Objektif EIN Kriterleri: Burada da en önemli kriter D skorudur (morfolometri skoru). D-skoru patolojik olarak üç ana parametre ile hesaplanabilir. VPS <%55 olmalı, OSD (outer surface area, glandların dallanma ölçümü) ve SDSNA (standard deviation of shorter nuclear axis, bir tür nükleer varyasyon göstergesi). D skoru bir klonalite ve prekanserojenite göstergesidir. D skoru -4 ile +4 arasında değişir. D-skoru <1 olanlarda yüksek progresyon gözlenebilir ancak D skoru >1 olanlarda 22 yıllık takiplerde herhangi bir progresyon saptanmamıştır(22).

Tablo-1 EIN TANI KRİTERLERİ

Subjektif Kriterler

Kriter	Yorum
Yapı	Gland> Stroma Alanı (vps< %55)
Sitoloji	Geri kalan endometriyum ile sitolojik farklılık
Boyut	Maksimal lineeer çap > 1mm
Taklit Eden Lezyonlar Ekarte Edilir	Sekretuar, polip, onarım
Kanser Ekarte Edilir	Solid alanlar,belirgin kribriform büyüme

Kriter	Yorum
D skoru	D Skoru<1 ise EIN>1 ise benign hiperplazi
Boyut	Maksimal lineer çap> 1 mm
Taklit eden lezyonlar ekarte edilir	Sekretuar, polip, onarım
Kanser ekarte edilir	Solid alanlar, belirgin kribriform büyüme

2.4. ENDOMETRİYUM KANSERİ

Endometriyal karsinomlar tip 1 ve tip 2 olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Tip 1 endometriyal karsinomlar kronik anovulasyon ya da östrojen replasman tedavisi öyküsüne sahip 40-60 yaşları arasındaki ge hasta grubunda görülür. Genellikle iyi diferansiye, myometriyum invazyonu olmayan ve endometriyal hiperplazi ile ilişkili düşük gradeli karsinomlardır(20,23). Bu grubun prototipi endometrioid tip endometriyal karsinom olup müsinöz ve sekretuar karsinomlar da bu gruba dahildir(20). En sık klinik bulgu postmenopozal kanamadır(24).

Tersine tip 2 kanserler genellikle seröz ya da berrak hücreli histolojiye sahiptir, nc lezyonları yoktur ve daha agresif bir klinik süreç izlerler. Bu tümörler atrofik endometriyum zemininde gelişirler(20). Tip 2 tümörler daha çok postmenopozal dönemde grlrlere.

2.4.1 RİSK FAKTÖRLERİ

Endometriyum kanseri için en önemli risk faktörlerinden birisi endometriyal hiperplazilerdir. Postmenopozal, nullipar ve infertil kadınlar endometriyal hiperplazi gelişiminde risk altındaki popülasyonu oluştururlar(8). Diyabet, hipertansiyon, hormon replasman tedavisi ve obezite de risk faktörleri arasında sayılmaktadır. Östrojen kullananlarda endometriyum kanser riski, kullanmayanlara göre, 3-4 kat yüksektir. Süre ve doz arttıkça kanser riski de artmaktadır(25). Östrojen tedavisine progesteron eklemenin endometriyal hiperplaziye karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir(26). Kombine oral kontraseptif kullanımının, endometriyum kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir.

Obez kadınlarda; yağ dokusunda androjenlerin periferik aromatzasyonu ile oluşan östrojenin endometriyum üzerindeki etkileri endometriyum kanser riskini arttırmaktadır. Diyabetiklerde serum östrojen değerleri yüksek bulunmuştur(27).

Sigara kullanımı ile endometriyum kanseri arasındaki ilişki net değildir(27). Bazı çalışmalar sigara içenlerde postmenopozal endometriyum kanseri riskinin düşük olduğunu göstermektedir(27).

Gelişmiş ülkelerde yapılan ekolojik araştırmalar sonucunda, yağlı ve proteinden zengin, yüksek kalorili beslenme biçiminin endometriyum kanseri riskini arttırdığı gösterilmiştir(27).

Steroid hormon düzeylerinde anormalliğe yol açan birçok durum endometriyum kanseri ile ilişkili bulunmuştur. Kronik anovulasyon, erken menarş, geç menopoz, polikistik over sendromu gibi östrojen düzeylerini yükselten durumlarda risk artmaktadır(28). Herediter non- polipozis kolon kanseri (lynch sendromu), androjen sekrete eden tümörlerde de endometriyum kanser riskinin artmış olduğu gösterilmiştir(29).

Son yıllarda meme kanserli hastalarda adjuvan tedavi amacıyla kullanılan tamoksifen de postmenapozal kadınlardaki zayıf östrojenik etkisi nedeniyle endometriyum kanseri riskini 2-3 kat arttırmaktadır. Ayrıca hayatlarının bir döneminde en az bir yıl süreyle devamlı oral kontraseptif kullanan kadınlarda

kullanmayanlara göre endometriyum kanseri riskinin %50 azaldığı tespit edilmiştir. Bu koruyucu etki 15 yıl devam etmektedir.

2.4.2. ENDOMETRİYAL TÜMÖRLERİN HİSTOLOJİK SINIFLANDIRILMASI

Tablo 2 Endometriyum tümörlerinde modifiye WHO ve ISGYP sınıflaması

ENDOMETRİOİD ADENOKARSİNOM
Villoglandüler
Sekretuar
Silyalı
Skvamöz diferansiyasyon gösteren endometrioid adenokarsinom
SERÖZ KARSİNOM
BERRAK HÜCRELİ KARSİNOM
MÜSİNÖZ ADENOKARSİNOM
SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM
TRANSİZYONEL HÜCRELİ MAKRSİNOM
KÜÇÜK HÜCRELİ KARSİNOM
MİKST KARSİNOM
ANDİFERANSİYE KARSİNOM

ENDOMETRİOİD ADENOKARSİNOM:

Endometriyum kanserlerinin en yaygın tipi olup endometriyum kanser olgularının %75'inden fazlasını oluşturur(5). 2. dekattan 8. dekada kadar her yaşta, ortalama 59 yaşında görülür. Genelde anormal vajinal kanama ile semptom verir, nadiren asemptomatiktir. Endometriyal veya servikal smear ile kesin tanısı zordur, endometriyal biyopsi veya küretaj ile kesin tanısı konulabilir. Bu tümör karakteristik olarak normal endometriyumu anımsatan glandlar içerir(30). Makroskopik olarak ekzofitik, bazen polipoid gelişim gösterir. Myometriyal invazyon uterusun büyümesine neden olabilir. %10'dan fazla skuamöz, seröz, müsinöz veya berrak hücreli alan içermez. Eşlik eden hiperplastik endometriyum, düşük gradeli tümör ve myometriyal inazyonun olmaması ile ilişkilidir. Ancak, glandüler komponent azaldığında ve solid kümeler ve hücre tabakaları ile yer değiştirdiğinde tümör yüksek gradeli olarak değerlendirilir.

Endometrioid Adenokarsinomun Histopatolojik Varyantları:

Villoglandüler Karsinom: Endometrioid karsinomun papiller yapılanma gösteren alt tipidir. Oval nukleuslu kolumnar hücrelerle dōşeli ince fibrovasküler kora sahip papiller uzantılar içerir(31,32). Süperfişyel myometriyal invazyon yaparlar. Nükleer grade düşüklüğü seröz karsinomdan ayırt etmede yardımcıdır. Tedavisi ve prognozu endometrioid karsinomla aynıdır.

Sekretuar Karsinom: Endometriyum karsinomunun nadir görülen bir varyantıdır. Çoğu hasta postmenapozal dönemde veya endometriyum karsinomu için progesterin tedavisi almıştır. İyi diferansiye glandları dōşeyen tek sıralı hücrelerde supra ve subnükleer vakuolizasyon mevcuttur . Ayırıcı tanıda berrak hücreli karsinom düşünölmelidir. Berrak hücreli karsinom, sıklıkla papiller, kistik ve solid paternler gösterir. Nükleer atipi belirgin olup hobnail hücreleri karakteristiktir. Sekretuar karsinomun tedavisi endometrioid ile aynı olup prognozu oldukça iyidir(33).

Silyalı Karsinom: Düşük gradeli endometrioid karsinomun nadir görülen bir varyantıdır. En önemli özelliği silyalı proliferasyonun bile karsinom olabilmesidir. Ekzojen östrojen tedavisi ile ilişkilidir. İyi differansiye genelde kribriiform glandlar oluştururlar(34). Bu glandları döşeyen epitel irregüler nükleer membranlı, kaba kromatinli, belirgin nükleollü, eozinofilik sitoplazmalı, silyalıdır. Prognozu oldukça iyidir, hiçbir hastada rekürrens veya kansere bağlı ölüm bildirilmemiştir.

Skumöz Diferansiyasyon Gösteren Adenokarsinom: Çoğu endometrioid karsinomda skumöz diferansiyasyon mevcuttur ancak %10 ve daha fazla olduğu zaman skumöz diferansiyasyon gösteren endometrioid karsinom olarak adlandırılmaktadır. Daha önce skumöz komponentin diferansiyasyonuna göre isimlendirme adenoakantoma ve adenoskumöz karsinom olarak yapılmaktaydı. Son çalışmalarda bu ayrımın prognozu değiştirmedığı, prognozun histolojik ve nükleer grade ile paralel olduğu saptanmıştır(35). Endometrioid karsinom ile skumöz diferansiyasyon gösteren endometrioid karsinomun kliniği, prognozu ve tedavisi aynıdır (36).

SERÖZ KARSİNOM:

Geçen 30 yılda seröz karsinomların morfolojik özellikleri iyi tanımlanmıştır. Bazılarında papiller oluşumlar tariflenmiştir. Diğer papiller patern oluşturabilecek endometriyum karsinomlarından ayırt etmede en önemli özelliği belirgin sitolojik atipidir. Görülme sıklığı %1-10 arasındadır(37). Endometrioid tipe göre ortalama görülme yaşı (65-70) daha ileridir. Makroskopik olarak ekzofitik, papiller olup invazyon derinliğini değerlendirmek zordur. Seröz karsinoma benign görümlü bir polip veya endometriyal intraepitelyal karsinom eşlik edebilir. Seröz karsinoma genelde kalın, kısa ve fibröz papillalar olmakla beraber ince papillalar da görülebilir(38). Kübik veya hobnail hücreler yanı sıra eozinofilik ve berrak sitoplazmalı poligonal hücreler bulunabilir. Belirgin nükleer atipi (grade 3) bütün vakalarda mevcut olup bazısında da multinükleer, dev ve bizar nükleuslu hücreler izlenebilir. Mitoz, atipik mitoz ve psammom cisimleri de sıklıkla tespit edilir.

BERRAK HÜCRELİ KARSİNOM:

Geçmişte renal hücreli karsinoma benzetildiği için mezonefrik orijinli olduğu düşünülen bu tümör mülleriyen kökenlidir(39). Endometriyum karsinomlarının %1-6'sını oluşturan bu tümör tipinde solid, papiller, tübuler ve kistik paternlerde berrak eozinofilik sitoplazmalı veya hobnail şeklinde hücreler görülür. Bu hücreler intrasitoplazmik glikojen nedeniyle PAS (+) ve diastaz (-) olarak izlenir. Nükleer atipi ve mitoz belirgindir. Stromada seröz karsinomdan farklı olarak hyalinizasyon ve immunhistokimyasal olarak daha az oranda p53 (+)'liği görülmesi dikkati çeker(40).

MÜSİNÖZ ADENOKARSİNOM:

Nadir görülen bu tip, endoserviksın müsınöz karsinomuna benzerdir. Hücrelerin yarısından çoğunda PAS (+) ve diastaz rezistan intrasitoplazmik müsın olması gerekir. Sekretuar karsinomdan farklı olarak müsın granüler veya köpüksüdür.

SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM :

Bugüne kadar 70 vaka bildirilmiş olup oldukça nadir, servikte olduğu gibi çeşitli derecelerde diferansiyasyon gösteren skuamöz hücrelerden oluşur. Servikal stenoz ve pyometra ile bulgu verebilir.

TRANSİZYONEL HÜCRELİ KARSİNOM:

Tümöral hücrelerin %90 veya daha fazlasının ürotelyal transizyonel hücrelerden oluştuğu tümörlerdir. Papiller yapıda olup hepsi sitokeratin 20 (-), yarısı sitokeratin 7 (+) saptanmıştır(41,42).

KÜÇÜK HÜCRELİ KARSİNOM:

Akciğerin küçük hücreli karsinomuna benzeyen endometriyum tümörüdür. Bu tümörlerin çoğu sitokeratin ve nöroendokrin markerlar ile (+); yarısı vimentin (+) saptanmıştır.

MİKST KARSİNOM:

Bir endometriyal kanser iki veya daha fazla tipin kombinasyonundan oluşabilir. Mikst karsinom diyebilmek için bir komponentin en azından tümörün %10'unu oluşturması gerekmektedir. Mikst seröz ve endometrioid kanserlerde %25 kadar seröz komponent bulunuyorsa saf seröz karsinom gibi davranmaktadır(43).

ANDİFERANSİYE KARSİNOM:

Epitelyal yapıda ancak herhangi bir kategoriye sokulamayan tümörlerdir(44). Ancak bu tip tümörler aynı zamanda solid komponenti belirgin grade 3 tümörler olarak da değerlendirilebilir. Andiferansiye karsinom tanısı için hiçbir alanda glanduler diferansiyasyon olmamalı ve tamamen solid paterndeki hücrelerden oluşmalıdır. İmmunohistokimyasal olarak andiferansiye karsinomlarda keratin (+); grade 3 endometrioid adenokarsinomlarda ise solid alanlarda bile diffüz (+) izlenir. Hücrelerin morfolojisine göre ayırıcı tanıya girebilecek yüksek dereceli sarkomlar, malign mikst mülleriyen tümörler ve nöroendokrin karsinomlar açısından da geniş bir panel yapılabilir(45).

Nükleer Derecelendirme:

Grade 1: Nükleus oval, hafif büyük, ince dağınık kromatin.

Grade 2: Evre 1 ve evre 3 arası nükleer özelliklere sahiptir.

Grade 3: Nükleus belirgin büyük, pleomorfik, düzensiz kaba kromatin ve belirgin eozinofilik nükleol içerir.

Yapısal Derecelendirme:

Tümörün iyi diferansiye bez yapıları dışında içerdiği solid alan oranına göre yapılıdır.

Grade 1: Tümörün %5'ini aşmayan solid alan varlığı.

Grade 2: Tümörün %6-50'sini kapsayan solid alan varlığı.

Grade 3:Tümörün %50'sinden fazla solid alan varlığı.

2.4.3. FIGO 2009 ENDOMETRİYUM KANSERİ CERRAHİ

EVRELEMESİ:

Evre 1A: Tümör endometriyumda sınırlı veya myometriyal invazyon %50'yi geçmemiş

Evre 1B: Tümörün myometrial invazyonu %50 veya daha fazla.

Evre 2: Serviks stromal tutulumu

Evre 3A: Tümör seroza ve/veya adnexleri invaze eder

Evre 3B: Vajinal tutulum veya parametriyal tutulum

Evre 3C: Lenf nodu pozitifliği

3C1: Pelvik lenf nodu metastazı

3C2: Paraaortik lenf nodu metastazı

Evre 4A: Tümör mesane ve/veya barsak mukozasını invaze eder

Evre 4B: Intraabdominal ve/veya inguinal lenf nodlarını da içerebilen uzak metastaz

2.4.4. ENDOMETRİYAL KARSİNOMDA PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Endometriyum kanserinde cerrahi evre yaşam süresini belirleyen en önemli faktördür. Hastaların çoğu (%75-80) evre I'de bulunur ve bu hastaların %82-95'i 5 yıllık yaşam oranına sahiptir. Evre II hastalarında bu oran %50-60 olup, evre III'de bu oran %15-25'e düşerken, evre IV'de 5 yıllık yaşam oranı daha da düşüktür. Evre dışında sağkalım üzerinde etkili çeşitli prognostik faktörler saptanmıştır.

YAŞ: Genç hastalarda endometrium kanseri prognozu yaşlı hastalara göre daha iyidir; bunun nedeni yaşlı hastalarda grade 3 ve kötü histolojik tümörlerin daha sık görülmesidir.

TÜMÖRÜN HİSTOLOJİK TİPİ: Prognozu belirleyen en önemli faktörlerden birisidir. Özellikle papiller seröz ve berrak hücreli karsinomlarda prognoz kötüdür. Müsinöz adenokarsinomlarda nispeten daha iyidir.

TÜMÖRÜN DİFERANSİYASYON DERECESESİ: Prognozun en duyarlı göstergelerinden biri olarak kabul edilir. Evre 1'de grade 1'de 5 yıllık sağ kalım %96 iken, bu grade 2 ve 3'te %79 ve %70'e düşer. Diferansiyasyon derecesi diğer prognostik faktörlerle de korelasyon gösterir, diferansiyasyon azaldıkça myometriyal invazyon derecesi artar.

DERİN MYOMETRİYAL İNVAZYON: Myometriyum dış yarısının tutulumu lenfatik sisteme geçiş arttığı için nüks ihtimalini arttırmaktadır. Myometriyum invazyonunun sağkalımla ilişkisindeki en belirleyici nokta tümör sınırının serozaya uzaklığıdır. 5mm'den daha yakın tümörlerde nüks riski çok daha fazladır(46,47).

LENFATİK METASTAZ: Erken klinik evrede en önemli prognoz belirleyicisidir.

ESTROJEN VE PROGESTERON RESEPTÖRÜ: ER ve PR pozitif olgularda prognoz daha iyidir. Progesteron reseptörlerinin varlığı prognozun belirlenmesinde östrojen reseptörlerinden daha değerlidir(48).

TÜMÖR BOYUTU: Özellikle 2cm üzeri tümörlerde prognoz daha kötüdür.

ADNEKSİYAL TUTULUM: Kötü pronozla ilişkilidir.

BOŞLUK İNVAZYONU: Kötü prognozla ilişkilidir.

TEDAVİ METODU: Sadece radyoterapi ile tedavi edilenlerde prognoz , sadece histerektomi veya radyoterapi ve histerektomi ile tedavi edilenlere göre daha kötüdür.

DNA PLOİDİSİ VE DİĞER BİYOLOJİK MARKERLAR: HER-2 / neu (c-erbB-2, neu, HER-2) protoonkogeni, intrinsik tirozin kinaz aktivitesi olan, epidermal büyüme faktör reseptörüne benzeyen transmembran glikoproteinini kodlamaktadır. HER-2/neu'nun ekspresyonunun artması endometriyum kanserinde kötü prognostik faktördür(49,50).

Bcl-2 proto-onkogeni ise, programlanmış hücre ölümünü(apoptosis) inhibe etmektedir. Bcl-2 ekspresyonu, endometriyal adenokarsinomada(%1,7), atipik hiperplazi(%4,2) ve non-atipik hiperplaziye(%5,3) göre anlamlı olarak daha düşüktür(51).

İnsan kanserlerinde en sık oluşan genetik değişikliklerden biri, p53 tümör supresör geninin değişimidir. Endometrium kanserinde, Western blot tekniğiyle çalışılan nükleer p53 protein seviyeleri, normal endometriyum örneklerine göre anlamlı olarak yüksektir. Uterus tümörlerinde p53 ekspresyonu bağımsız bir prognostik faktör olup, kötü prognozu göstermektedir. Hasta evre 1 ve 2 olup, p53 eksprese ediyorsa yüksek riskli kabul edilmelidir.

PTEN supresör gen inaktivasyonu, endometriyum kanserindeki en sık genetik değişikliktir. Endometriyal hiperplazilerde de bulunması tip 1 kanser gelişiminde erken bir olay olduğunu gösterir.

DNA mismatch onarım defektleri, HPNPCC (Hereditary nonpolyposis colorectal cancer) olgularında izlenir. Bu olgularda multiple mikrosatellit tekrar sekanslarında mutasyonlar izlenir. Sporadik tip 1 endometriyum kanserlerinde de görülebilir ve daha çok iyi prognozu gösterir.

Endometriyal adenokarsinomların yaklaşık üçte ikisinde DNA içeriği diploiddir. Aneuploid hücre popülasyonu içeren hastalarda evre, tümör diferansiyasyon eksikliği, myometriyal invazyon derinliği ve buna bağlı olarak ölüm oranı daha fazladır(52).

2.4.5. ENDOMETRİYUM KANSERİNDE TEDAVİ:

A- CERRAHİ TEDAVİ: Primer cerrahi girişim total abdominal histerektomi ve bilateral salpingooferektomidir. Adneksler mikroskopik metastaz olabileceği ve eş zamanlı ya da sonradan gelişebilecek over kanseri riski nedeniyle çıkarılır. İnsizyon gereğinde lenfadenektomiye izin verecek şekilde olmalıdır. Göbek altı median insizyon genelde tercih edilmektedir. Alt batın transvers insizyon tercih edilecek ise Maylard ya da Cherney tercih edilen insizyonlar olmalıdır. Batın açıldıktan sonra subdiafragmatik alan, her iki parakolik alan ve pelvisten batın yıkama sıvısı alınmalıdır. Abdomino pelvik eksplorasyonu takiben total abdominal histerektomi

bilateral salpingooferektomi yapılmalı, pelvik lenf nodları açığa çıkarılmalı ve palpe edilmelidir. Büyümüş veya şüpheli lenf nodları çıkarılmalıdır. Uterus ameliyathanede açılmalı ve tümör büyüklüğü, servikal yayılım ve myometriyal invazyon açısından değerlendirilmelidir. Bu bilgiler lenf nodu diseksiyonu kararını etkiler. Parsiyel omentektomi de yapılabilir. 1992'den beri çok sayıda yayında laparoskopik yaklaşımla yapılan asiste vajinal histerektomiye ek olarak lenf diseksiyonu da yapılabildiği bildirilmiştir. Tedavide geçerli yöntem olduğu kabul edilmiştir. Laparoskopik ya da laparotomi ile çıkarılan lenf nodu sayıları arasında istatistiki fark yoktur. Radikal histerektomi klinik Evre I hastalarda endike değildir. Robotik cerrahi de özellikle obez hastalarda günümüzde endometriyum kanseri cerrahisinde kullanılmaktadır.

2.4.6. YÖNETİM

Evre 1: Primer tedavi total abdominal histerektomi ve bilateral salpingooferektomidir. Yüksek riskli olgularda (grade 3 lezyon, 2cm üzerinde grade 2 lezyon, seröz papiller karsinoma ya da berrak hücreli tipler, %50'den fazla myometriyal invazyonu olanlar, servikal yayılım saptananlar) cerrahi evreleme yapılması önerilmektedir. Rutin sistemik pelvik lenfadenektomi bu evrede önerilmemektedir. Adjuvan tedavi ise grade ve lenf nodu metastazlarının durumuna göre yapılabilir. Post operatif adjuvan radyoterapi evre 1c grade 3 olgularda, risk faktörleri varsa evre 1b grade 3, evre 1c grade 1 ve 2'de yapılabilir.

Evre 2: Tedavi radikal histerektomi, bilateral salpingooferektomi, pelvik lenfadenektomi ve cerrahi evreleme sonuçlarına göre adjuvan radyoterapi şeklinde planlanır. Cerrahi esnasında peritoneal sitoloji, büyümüş paraaortik lenf nodlarının rezeksiyonu ve omental biyopsi yapılmalıdır.

Evre 3-4: performans statusu iyi olan evre 3b'ye kadar olan olgularda maximum debulking cerrahisi önerilmektedir. Serozal ve adneksial tutulumu olan evre 3a ve 3b olgularda adjuvan kemoterapi önerilir, tedaviye radyoterapi eklenebilir. Evre 3c'de adjuvan kemoterapi ve radyoterapi birlikte verilmesi uygundur. Paraaortik tutulum varsa bu bölgeye de radyoterapi verilir. Evre 4'te tedavi bireyselleştirilmelidir. Sitoreduktif cerrahi bu grupta da yapılabilir. Cerrahi sonrası kemoterapi, external radyoterapi veya external radyoterapi ile birlikte vaginal brakiterapi uygulanabilir.

2.4.7. ADJUVAN TEDAVİ:

Tablo-3 Endometriyal Kanser Tedavi Protokolü

Evre 1	
1A, G1-G2	İzlem
1A, G3	İzlem ya da vaginal brakiterapi, kötü prognostik faktörler varsa pelvik radyoterapi ve/veya adjuvan kemoterapi
1B,G2-G2	İzlem ya da vaginal brakiterapi
1B,G3	Pelvik radyoterapi, kötü prognostik faktörler varsa radyoterapi ve kemoterapi
Evre 2	
<p>Pelvik radyoterapi ve vaginal brakiterapi</p> <p>Eğer tümör grade 1-2,myometriyal in <1/2, lenfovasküler invazyon negatif ise tek başına brakiterapi yapılabilir.</p> <p>Kötü prognostik faktörler varsa kemoterapi ±radyoterapi tercih edilebilir.</p>	
Evre 3-4	
<p>Eğer lenf nodu (+) ise genişletilmiş saha ışınlaması</p> <p>Eğer metastatik hastalık varsa kemoterapi+ radyoterapi(palyatif amaçlı)</p>	

Adjuvan Kemoterapi: Doxourubicin, epirubicin, cisplatin, carboplatin, fosfamid, paclitaxel gibi kemoterapötik ajanlar tercih edilebilir. En çok kullanılan cisplatin ve doxorubicin kombinasyonlarıdır.

2.5. COX-2, P16 VE KARSİNOGENEZ

2.5.1. Cox-2

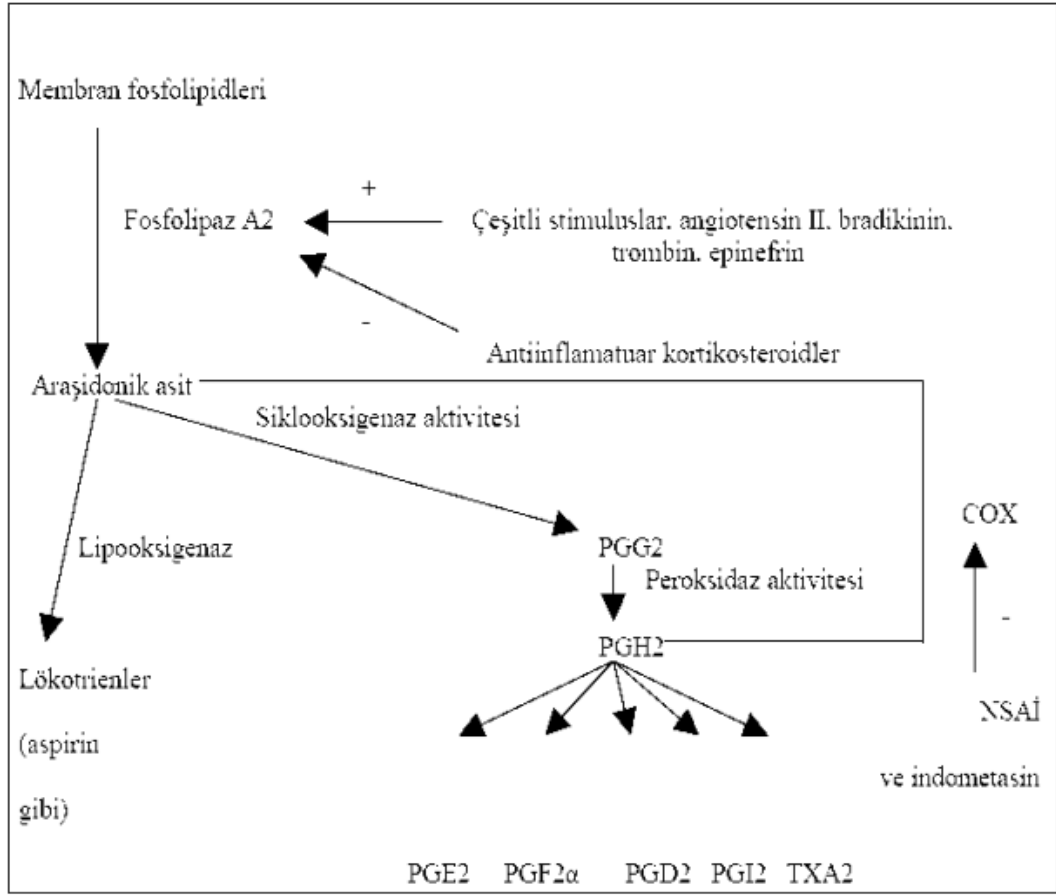
Prostaglandinler; bir hücre membran fosfolipidi olan araziidonik asidin hidrolizi ile oluşur. Hidrolizin ilk basamağında fosfolipaz A2, ikinci basamakta araziidonik asite COX enziminin siklooksijenaz aktivitesi ile dönüşür. Daha sonra moleküler O₂ eklenerek PGG₂ oluşur. Bunu da son olarak COX enziminin peroksidaz aktivitesi ile PGH₂'ye dönüşüm izler. PGE₂ karsinogenezde önemli promotör role sahiptir ve hücre proliferasyonu, NK(natural killer) hücre aktivitesinin inhibisyonu, neoangiogenезin indüklenmesi ve antiapoptotik bir protein olan BCL2' nin artmış aktivasyonundan sorumlu tutulmaktadır(53). Siklooksijenaz(COX) prostaglandin biyosentezinde anahtar enzimdir(54,55).

COX enziminin başlıca üç izoformu vardır:

1. COX-1 (yapısal form),
2. COX-2 (indüklenbilir form),
3. COX-3

COX-1, tüm memeli dokularında bulunan, yapısal bir enzimdir. COX-2 ise dokularda normal koşullarda ölçülemeyecek kadar az miktarda bulunan, proinflatuar ve mitojenik uyarılar ile hızla indüklenen bir enzimdir. Her iki izoformun enzimatik aktiviteleri benzerdir. Ancak biyolojik fonksiyonları farklıdır. COX-1 gastrik mukozanın sitoproteksiyonu, renal kan akımının düzenlenmesi, platelet agregasyonunun kontrolü gibi fizyolojik olaylarda görevlidir. COX-2 ise sitokinler, endotoksinler, interlökinler ve forbol esterleri gibi uyarılarla artarak, patolojik ve inflammatuar süreçlerde rol oynar.

Şekil-1: PROSTOGLANDİN SENTEZİ



COX-2'nin artmış ekspresyonu birçok neoplazi gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. COX-2 ekspresyonunun kanser hücre proliferasyonu ile anjiogenezis ve apoptozisin supresyonu ile bağlantılı olduğu görülmüştür(56). Gastrointestinal tümörler, akciğer, cilt, baş boyun kanserleriyle ilişkili bulunmuştur. Son yıllarda COX-2'nin jinekolojik malignitelerle de yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. Endometriyal adenokarsinomda artmış COX-2 ekspresyonlarının beklenen sağkalımda azalma ve artmış FIGO evreleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(57).

2.5.2 P16(INK4a)

P16(INK4a) en önemli tümör supresör genlerden biri olup hücre siklusunun düzenlenmesinde görevlidir. CDK (siklin bağımlı kinaz) inhibitörlerinden biri olan INK ailesinin üyesidir(58,59).

P16(INK4a); hücre siklusunda S(sentez) fazına geçişi inhibe eder. CDK4/6' ya bağlanarak Cyclin D-CDK4/6 kompleksi oluşumunu engeller ve hücrenin G1 fazından S fazına geçişi bloke edilir(60).

P16(INK4a) ekspresyonu; oksidatif stres, yaşlanma ve DNA hasarında artmaktadır(61,62). Ayrıca; P16(INK4a)'nın hücre invazyon, metastaz mekanizmaları ve anjiogenezde de rolü olduğu gösterilmiştir. Endometriyum kanseri, bazal hücreli karsinom ve kolorektal tümörlerde artmış ekspresyonu bildirilmiştir(63,64). Bazı çalışmalarda; bcl-x ve NF-KB üzerinde eritropoetik hücreleri etkileyerek hematopoez üzerinde de etkili olduğu gösterilmiştir(65). Tüm insan kanserlerinin yaklaşık %50'sinde bu tümör baskılayıcı proteinin inaktive olduğu görülmüştür(66). P16(INK4a)'nın inaktivasyonunun yanında artmış ekspresyonu da kanser gelişim süreci ile ilişkili bulunmuştur. Özellikle yüksek riskli HPV ile ilişkili neoplazilerde p16(INK4a) aşırı ekspresyonu saptanmış olup bu durumun Rb proteininin inaktivasyonuna sekunder olarak hücre siklusunun durdurmaya yönelik bir koruyucu mekanizma olduğu düşünülmektedir(67).

Sonuç olarak; p16(INK4a) gerek inaktivasyonu gerekse aşırı ekspresyonuyla kanser gelişim süresince etkili olan, kanserin tanı tedavi ve pronozunun belirlenmesinde immunhistokimyasal belirteç olarak kullanılabilen önemli hücre siklusu tümör baskılayıcı genlerinden biridir.

3. MATERYAL METOD (GEREÇ VE YÖNTEMLER)

3.1. Çalışma Planı Ve Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri:

Çalışmaya alınan hastalar, Ege Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine 2012- 2016 yılları arasında başvuran, çeşitli nedenlerle endometriyal örnekleme yapılan ve endometriyum kanseri nedeniyle opere edilen hastaların dosyaları retrospektif olarak taranarak rastgele seçilmiştir. Çalışma, toplam 3 çalışma grubu ve 1 kontrol grubu olacak şekilde tasarlandı. Retrospektif dosya incelemelerinden veri kayıtları yeterli ve eksiksiz olan, iletişim bilgileri bulunan hastaların dosyaları incelemeye alındı. Çalışmaya dahil edilen hastalara telefonla ulaşılarak çalışma hakkında bilgi verildi, patoloji preparatlarının kullanımı konusunda sözlü onamları alındı. Çalışmadaki gruplar şu şekilde tasarlanmıştır;

1-Kontrol grubu: Endometriyal biyopsi sonucunda proliferatif endometriyum saptanan herhangi bir jinekolojik malignitesi olmayan 30 yaş üzeri kadınlar (n:30)

2-Endometriyal biyopsi sonucunda basit atipisiz endometriyal hiperplazi saptanan herhangi bir jinekolojik malignitesi olmayan 30 yaş üzeri kadınlar (n:30)

3-Endometriyal biyopsi sonucunda kompleks atipili endometriyal hiperplazi saptanan herhangi bir jinekolojik malignitesi olmayan 30 yaş üzeri kadınlar (n:30)

4-Histerektomi sonrası patoloji sonucunda endometrioid tip adenokarsinom saptanan hastalar (n:30).

Tüm hastaların patoloji preparatları yeniden değerlendirilmiş, endometriyal doku örneklerinde p16(INK4a) ve COX 2(clone; CX-294) ekspresyonları incelenmiştir.

3.2 LABORATUVAR ÖLÇÜMLERİ:

Olgulara ait patoloji arşivinde bulunan formalinle tespitli parafine gömülü doku bloklarından immunhistokimyasal yöntemle p16(INK4a) (55k, 1/100 Dako Cytomation) ve COX2(clone; CX-294) (1/100 dako Cytomation) çalışılmak üzere 2 adet 5 micron kalınlığındaki seri kesitler, pozitif yüklü lam üzerine alındı. İmmunhistokimyasal boyama için biyotinsiz,HRP multipler bazlı hidrojen peroksit substrat ve 3,3'diaminobenzidin tetrahidroklorit kromojenli hazır kit(ultraView Universal DAB Detection Kit,catalog number 760-500, ventana medical systems,Tuscon ,AZ) ile tam otomatik immunhistokimya boyama cihazı(ventana BenchMark XT,Ventana medical Systems,Tuscon, AZ) kullanıldı. 60 dakika standart kaynatma işlemi uygulandı. Doku spesmenleri oda sıcaklığında en az 3 saat kurutuldu. Deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarma işlemleri BenchMark XT tam otomatik immunhistokimya boyama cihazında gerçekleştirildi. Primer antikolar 37°C'de 32 dakika inkübe edildi. Cihazda negatif kontrolü hematoksilen ve mavileştirici solüsyonla tamamlanan kesitlerin dehidratasyonu ksilen ile, şeffaflaştırılması ve lamel kapama işlemleri otomatik olarak(Dako CoverStainer ,CS 100-10073) yapıldı.

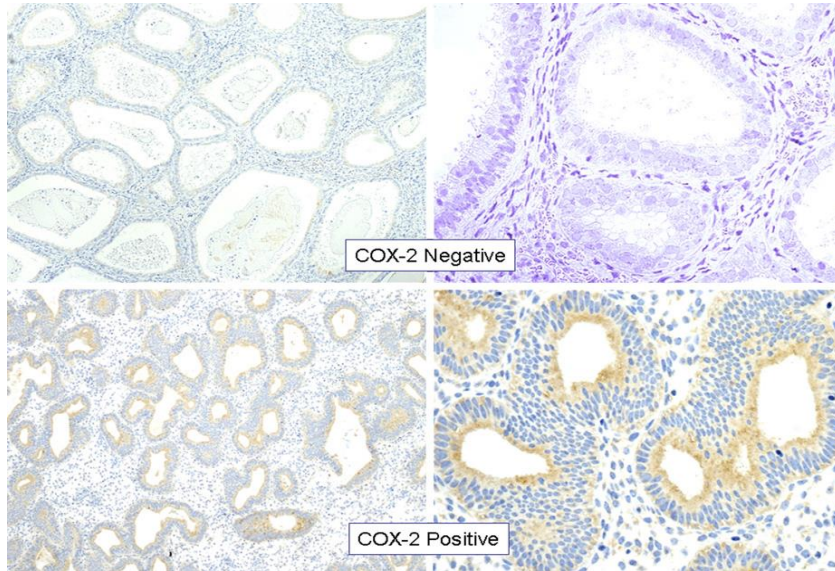
3.3 İMMUNREAKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ:

Patolojik kesitlerin immunhistokimyasal boyamalarının değerlendirilmesinde p16(INK4a) ve COX2(clone; CX-294) için aşağıda belirtilen şekilde yorumlama kriterleri kullanılmıştır.

P16(INK4a): Nükleer ve sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir. Boyanma olmayan olgular negatif kabul edilmiştir. Hücrelerin boyanma yüzdesine göre %5'den az ise 1(+), %5-50 ise 2(+), %50'den fazla ise 3(+) kabul edilmiştir(68).

COX2(clone; CX-294): Preparatlar tümör hücrelerinde boyanma şiddeti ve boyanma yaygınlığı göz önüne alınarak değerlendirildi. Boyanma şiddeti 0 (negatif), 1 (zayıf), 2 (orta derecede), 3 (kuvvetli) olarak kabul edildi. Tümör dokusunda boyanma yaygınlığı; boyanma yok ise 0, %1–25 arası 1, %25–50 arası 2, %50 ve üzeri boyanma 3 olarak değerlendirildi. Toplam skora boyanma yüzdesi ve boyanma şiddeti puanlarının toplanması ile hesaplandı.

Buna göre; boyanma izlenmediyse 0, toplam puan 2-3 ise 1, 4-5 ise 2, 6 ise 3 şeklinde skorlandı.



Şekil-2 Endometriyal hiperplazide cox-2 ekspresyonu

3.4 İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME:

Çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 16.0 hazır paket programı yardımı ile yapılmıştır. Grupların değişkenleri, normallik ve varyansların homojenliği ön şartlarının kontrolü yapıldıktan sonra değerlendirilmiştir. Gruplardaki verilerin normal dağılmadığı görüldüğünden tüm sürekli verilere ait özet veriler median(minimum-maksimum) olarak verildi ve aynı neden ile gruplar arası karşılaştırmalı verilerde non-parametrik testler kullanıldı. Gruplar arasında sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi, post hoc analiz için Mann Whitney U testi ile kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında çapraz tablo analiz yöntemleri kullanıldı. Gruplar arasında fark saptanıldığında tek veya çok değişkenli regresyon analizleri ile bu farklılık üzerinde etkili olabilecek klinik, demografik ve laboratuvar değişkenlerinin ortaya konulmasına çalışıldı. P değeri <0,05 anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen araştırma gruplarındaki toplam 120 hasta için tanımlayıcı istatistiksel veriler tablo 1’de gösterilmiştir.

Tüm hastalar için yaş, VKİ(vücut kitle indeksi), sigara kullanımı, CA 125, endometriyal kalınlık, parite, değerlendirilmiş, hastaların patoloji spesmenlerinde p16 ve cox-2 boyanma düzeyleri değerlendirilmiştir. Endometriyum karsinomu saptanan grupta myometriyal invazyon derinliği, tümör boyutu, lenfovasküler invazyon, serviks tutulumu evre ve tümör gradeleri değerlendirilmiştir.

Tablo-4 Grupların Karşılaştırılması

	Grup-1 Proliferatif endometriyum (n=30)	Grup-2 Basit atipisiz endometrial hiperplazi(n=30)	Grup-3 Kompleks atipili endometriyal hiperplazi(n=30)	Grup-4 Endometriyum karsinomu (n=30)
Yaş,Median (min-maks)	42(30-57)	45(31-57)	50(37-65)	60,5(39-74)
Parite,Median (min-maks)	2(0-3)	2(0-5)	2(0-5)	2(0-4)
Sigara, n (%)	10 (33,3)	12(40)	6(20)	2(6,7)
VKİ(kg/m ²) Median (min- maks)	28,5(20-39)	30(20-48)	32(22-42)	34(26-57)
Ca125,Median (min-maks)	8(1-19)	13(1-420)	15(5-30)	23,5(6-1005)
Endometriyal kalınlık (mm) Median (min- maks)	9(2-17)	12(3-23)	10(6-20)	13,5 (5-29)
Cox 2				
Negatif	1(3,3)	0(0)	1(3,3)	0(0)
1 (+)	1(3,3)	3(10)	0(0)	2(6,7)
2 (+)	13(43,3)	19(63,3)	10(33,3)	8(26,7)
3 (+)	15(50)	8(26,7)	19(63,3)	20(66,7)
P16				
Negatif	19(63,3)	6(20)	4(13,3)	2(6,7)
1 (+)	9(30)	9(30)	4(13,3)	5(16,7)
2 (+)	2(6,7)	14(46,7)	15(50)	14(46,7)
3 (+)	0(0)	1(3,3)	7(23,3)	9(30)

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşları 30 ile 74 arasında değişmektedir ve ortalama yaş tüm gruplar içinde 49 olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastalar içinde endometriyum karsinomu yaş aralığı 39-74 arasında olup ortalama yaş 59.8'dir ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında yaş açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır($p<0,001$).

Endometriyum karsinomu grubuna dahil edilen hastaların tümü endometrioid tip adenokarsinom olup, histolojik gradeleme için FIGO gradeleme sistemi kullanıldı. 6(%20) olgu grade 1, 2(%6.6) olgu grade 3 ve 22(%73.3) olgu grade 2 tümör olarak belirlendi. Bu hastaların 19(%63.3)'unda evre 1a, 8(%26.6)'inde evre 1b, 3(%10)'ünde evre 2 tümör saptandı. Evre 3 ve 4 tümör izlenmedi. Evre 1 ve 2 tümörlerde p16(+) boyanma yüzdeleri karşılaştırıldı. P16 ekspresyonları açısından evre 1 ve 2 arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Endometriyum karsinomu grubundaki hastaların 24(%80)'ünde lenfovasküler invazyon saptanmazken, 6(%20) hastada pozitif bulundu. Lenfovasküler invazyon ile Cox-2 ekspresyonları karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark olmadığı saptandı ancak lenfovasküler invazyon pozitif olgularda p16 ekspresyonu istatistiksel anlamlı olarak artmış saptandı($p<0.001$). P16 ile benzer şekilde Cox-2 ekspresyonunda da evreler arasında anlamlı fark olmadığı görüldü(tablo2).

Endometriyal kalınlık ve sigara kullanımı açısından yapılan çok değişkenli analizde tüm gruplar arasında farklılık saptanmamıştır. VKİ de aynı şekilde gruplar arasında farklı bulunmamıştır. Endometriyum karsinomu grubunda VKİ 26-57 kg/ m² arasında değişmekte olup, ortalama 35.77 kg/ m²'dir.

Tablo-5 Endometriyum Kanseri Olgularında P16 ve COX-2 Ekspresyonları

Endometriyum Karsinomu (n=30)	P16 pozitif	Cox2 (3+boyanma) Şiddetli	Cox2 (1+,2+ boyanma) Zayıf
Evre1a (n=19)	18 (%94,7)	13(%68,4)	6(%31,6)
Evre1b (n=8)	7(%87,5)	4(%50)	4(%50)
Evre2 (n=3)	3(%100)	3(%100)	0
Grade1(n=6)	6(%100)	5(%83,3)	1(%16,7)
Grade2(n=22)	20(%90,9)	13(%59,1)	9(%40,9)
Grade3(n=2)	2(%100)	2(%100)	0
Lenfovasküler invazyon negatif (n=24)	22(%91,2)	15(%62,5)	9(%37,5)
Lenfovasküler invazyon Pozitif (n=6)	6(%100)	5(%83,3)	1(%17,7)
Miyometriyal invazyon >%50 (n=11)	11(%100)	8(%72,7)	3(%27,3)
Miyometriyal invazyon ≤%50 (n=19)	17(%89,5)	12(%63,2)	7(%36,8)

Endometriyum karsinomu olanlar ve diğ er gruplar (endometriyum karsinomu olmayanlar) şeklinde yapılan değerlendirmeler tablo 3' de gösterilmiştir.

Tablo-6 Endometriyum karsinomu ve diğ er grupların karşılaştırılması

	Endometrium Ca (n=30)	Diğ er Gruplar (n=90)	P
Yaş Median (min-maks)	60,5(39-74)	45(30-65)	<0,001
Parite Median (min-maks)	2(0-4)	2(0-5)	0,029
Sigara n(%)	2(6,7)	28(31)	0,008
VKİ Median (min-maks)	34(26-57)	30(20-48)	0,001
Ca125 Median (min-maks)	23,5(6-1005)	11,5(1-420)	<0,001
Endometrial kalınlık(mm) Median (min-maks)	13,5 (5-29)	10(2-23)	0,063
Cox2 Median (min-maks)	3(1-3)	2(0-3)	0,096
P16 Median (min-maks)	2(0-3)	1(0-3)	<0,001

Araştırmaya dahil edilen grupları endometriyum karsinomu olanlar ve olmayanlar şeklinde karşılaştırdığımızda yaş açısından anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,001$). Parite açısından da anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,029$).

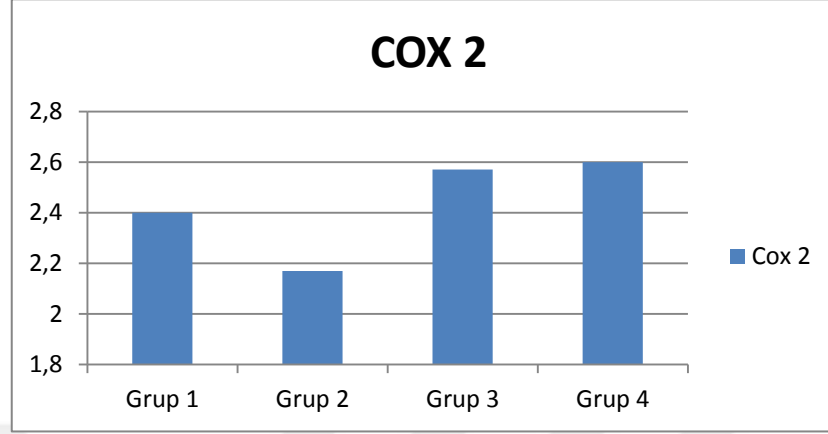
P16 ekspresyonu, endometriyum karsinomu olanlarda, olmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur($p<0,001$).

Çalışmamızda sigara kullanımı gruplar arasında farklılık göstermekte olup, endometriyum karsinomu olanlarda, diğer gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha az bulunmuştur($p=0,008$).

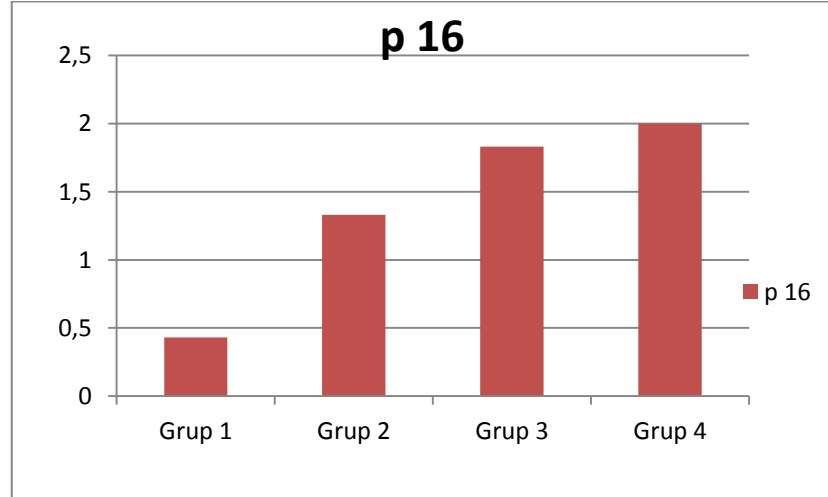
Ca 125 tümör antijeni over karsinomlu hastaların yönetiminde sıklıkla kullanılan bir belirteçdir. Endometriyum karsinomunda 35 IU/ml'nin üzerindeki Ca 125 düzeylerinin extrauterin yayılım ve kötü prognozla ilgili olduğunu savunan çalışmalar mevcuttur(68). Ca 125 değerleri, premenopozal kadınlarda menstrual siklus, enfeksiyonlar, endometriyozis gibi birçok benign nedenle de yükselebilmektedir. Özellikle postmenopozal kadınlarda cut off değerin 20 IU/ml olarak alınmasını savunan otoriteler de vardır.(68,69) Çalışmamızda; Ca 125 değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur($p<0,001$). Endometriyum karsinomu olan grupta ortalama Ca 125 düzeyi 90.5 IU/ml olup, diğer gruplarda 35 IU/ml'nin altında olduğu görülmüştür. Transvaginal usg ile ölçülen endometriyal kalınlık açısından ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Gruplandırma yapılırken grup 1 proliferatif endometriyum, grup 2 basit atipisiz hiperplazi, grup 3 kompleks atipili hiperplazi ve grup 4 endometriyum karsinomu olarak değerlendirilmiştir. Grup 1 den 4'e doğru gidildikçe, cox 2, p16 yüzey boyanma skorları açısından, (sırasıyla $p=0,044$; $p<0,001$) her ikisinin de pozitif korele olduğu ve boyanma skorlarının her ikisi için de grup 1'den 4'e doğru artış gösterdiği saptanmıştır. Ancak; gruplar arasındaki yüzey boyamalar için skorlar; p16 ekspresyonu için istatistiksel olarak anlamlı($p<0,001$) olup , cox 2 boyanma skorlarının gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür($p=0,096$).

Şekil-3 Cox-2 Boyanma Skorlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması



Şekil-4 P16 Boyanma Skorlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması



5.TARTIŞMA:

Endometriyum kanseri gelişmiş ülkelerde en sık saptanan kadın genital sistem kanseridir(70). Endometriyumun karşılanmamış östrojene uzun süre maruziyeti sonucu sitolojik atipiyle karakterize endometriyal hiperplaziler gelişmektedir(71). Tedavi edilmemiş endometriyal hiperplazilerin %5-10'unda endometriyal karsinom gelişmektedir(72). Endometriyal hiperplaziden malign fenotipe dönüşümde bir çok fizyolojik mekanizma tanımlanmıştır.

Siklooksijenaz-2 hücre zarındaki araşidonik asitin prostoglandin H₂ ve E₂'ye çevriminde rol oynar. PGE₂'nin hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve apoptoz gibi birçok fonksiyonu vardır. Cox-2 endometriyum karsinomunda normal endometriyuma göre artmış ekspresyona sahiptir(73,74,75). Erkanlı ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada; endometriyal hiperplazi ve endometriyum karsinomunda normal endometriyuma göre cox-2'nin overexpres olduğu saptanmış(p=0.02). Ancak; cox-2 ekspresyonunun endometriyum ca prognostik faktörleriyle(miyometriyal invazyon, grade, evre vb.) ilişkisi olmadığı, sağkalım süresini etkilemediği ve kanser gelişiminde prognostik bir faktör olmadığı sonucuna varmışlar(76).

Francisco J. Ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif bir çalışmada endometriyum karsinomu, endometriyal hiperplazi ve normal endometriyumda cox-2 ekspresyonlarını karşılaştırmışlar. 14 adenokarsinom, 19 endometriyal hiperplazi, 10 normal endometriyum saptanan hasta çalışmaya dahil edilmiş. Endometriyum ca grubunda 4(%29), hiperplazi grubunda 6(%32), normal endometriyumda 4(%20) hastada cox-2 pozitif saptamış. Ancak gruplar arası fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır(p=0.9)(77). Ayrıca endometriyum karsinomunda tümör evre ve grade'i ile cox-2 ekspresyonları arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.

Cao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada cox-2'nin nonneoplastik endometriyumda ekspres olmadığını; grade 1 endometriyum karsinomunda minimal, grade 2 ve 3'te ise kuvvetli boyanma olduğunu göstermişlerdir(78).

Nasr ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada prekanseröz lezyonlardan hiperplaziye doğru cox-2 ekspresyonunun arttığını savunmuşlardır. Bu düşünceden yola çıkarak cox-2 inhibitörlerinin endometriyum kanseri tedavisinde yer bulabileceği ve prekürsör lezyonların kansere ilerleme aşamasında kemoprotektif etkinliğinin olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Literatürde endometriyum karsinomunda cox-2 ekspresyonunun araştırıldığı 20 çalışmanın hepsinde cox-2'nin overekspresyonu saptanmış, bu çalışmaların 4'ünde cox-2'nin kanser gelişiminde prognostik bir faktör olabileceği sonucuna varılmıştır.(79-80). Karşıt olarak Lu ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada endometrioid tümörlerden oluşan geniş bir seride cox-2 down regülasyonu saptamışlar ve cox-2 ekspresyonunun tümör gelişiminde anlamlı bir prognostik faktör olmadığı sonucuna varmışlardır.

Bizim yaptığımız çalışmada da cox-2'nin kompleks atipili endometriyal hiperplazi ve endometriyum karsinomu grubunda ekspresyonunun artmış olduğu saptanmış, ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Literatürdeki pek çok çalışma; cox-2'nin endometriyum kanserinde artmış ekspresyonunu savunsa da cox-2'nin prognostik anlamı ve kanser gelişiminin hangi evresinde etkili olduğu konusunda tartışmalar mevcuttur(74-81). Bizim çalışmamızda cox-2 ekspresyonunun tümör evresi, grade'i, myometriyal invazyon derinliği gibi prognostik faktörlerle istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi olmadığı saptanmıştır.

CA-125 tümör antijeni over kanserli hastaların yönetiminde tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde etkin olarak kullanılmaktadır. Preoperatif dönemde endometriyum kanseri tanı, takip ve prognostik faktörlerin değerlendirilmesinde en çok çalışılmış tümör belirteci CA-125'tir. Endometriyum karsinomunda, 35 IU /ml'nin üzerindeki CA-125 düzeylerinin ekstrauterin yayılımın ve mortalitenin bir göstergesi olduğu ileri sürülmüştür(68). Bunun yanı sıra, endometriyum karsinomunda CA-125'in 20 IU/ml cut off değerinin, over karsinomunda kullanılan 35 IU/ml'lik değerden daha uygun olduğunu ileri süren çalışmalar da vardır(68,82). Postmenopozal kadınlarda, normal CA-125 düzeyi 15 IU/ml'nin altındadır. Bu değer, premenopozal kadınların değerlerinden daha düşüktür(82). CA-125 ve CA 15-3'ün değerlendirildiği 148 endometriyum kanserli hastayı içeren bir

çalışmada ,CA-125 ve CA-15-3'ün yüksekliğinin kötü prognoz göstergesi olduğu belirtilmiştir . Bizim çalışmamızda da ortalama CA-125 değerinin endometrial hiperplazi ve proliferatif endometriyum grubunda cut of değerin (35 IU/ml) altında olduğu gösterilmiş olup endometriyum ca grubunda ortalama CA125 değerleri 90.5 IU/ml olup cut of değerin üstünde saptanmıştır. Ancak bu değer çalışmaya dahil edilen hastalardan bazılarının aşırı yüksek CA 125 değerlerine sahip olması nedeniyle ortalama CA 125 değerleri cutt off değerin üzerinde bulunmuştur.

Bao ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, sigara içenlerde benzopyrenin insan endometriyal hücrelerinde östrojen metabolizmasında yeralan CYP1A1 enziminin aktive ettiği gösterilmiştir(69). Baron ve arkadaşlarının yapmış olduğu 476 kişilik vaka kontrol çalışmasında sigara içiminin endometriyum kanser riskinde azaltıcı etkisi gösterilmiştir ve 1990 yılında yapmış olduğu çalışmaya göre sigara içiminin östrojen metabolizmasını değiştirerek östrojenin inaktif formlarını artırıp erken yaşta menopoza girmeye neden olduğunu ortaya koymuştur(83-84). Byrjalsen ve arkadaşlarının 1993 yılında yaptıkları çalışmanın sonuçlarına göre, sigara içenlerde endometriyal estradiol ve izositrat dehidrojenaz ve serumdaki sekretuar endometrial protein daha düşük olma eğilimindedir(85). 2010 yılında Khorram ve arkadaşları sigaranın endometriyum üzerine etkisini incelemiş ve sigara içimi ve nikotinin insan endometrium hücrelerinde; endotelyal nitrik oksit sentazı stimule ederek endometriyal hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır(86). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak endometriyum ca grubundaki hastalarda %6.7, hiperplazi ve normal endometriyum saptanan hastalarda %31 oranında sigara kullanımı olduğu görüldü gruplar arası bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

P16 tümör gelişiminde antiproliferatif etkileri olduğu bilinen, tümör supresör proteinlerden biridir. P16 ekspresyonunun yaşlanma, oksidatif stres ve DNA hasarında arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur(61-62). Endometriyum kanserinde literatürde p16'nın artmış ekspresyonları bildirilmiştir(63). Kanser gelişim sürecinde kritik bir tümör supresör protein olduğu bilirse de tam anlaşılamayan sebeplerle bazı kanserlerde artmış ekspresyonu da bildirilmiştir. Bu artışın sebebinin Rb (retinoblastom) proteininin inaktivasyonuna sekonder artmış olan hücre proliferasyonunu durdurmaya yönelik koruyucu bir mekanizma olduğu

düşünülmektedir(67). Bizim çalışmamızda da bu durumu destekler nitelikte sonuçlar bulunmuştur. P16 ekspresyonu; normal endometriyumdan, hiperplaziye ve endometriyum karsinomuna gidildikçe artmaktadır. Kompleks endometriyal hiperplazi ve endometriyum karsinomu grubunda 3(+) pozitif boyanma oranlarının, diğer gruplarla karşılaştırıldığında artmış olduğu saptanmıştır. Proliferatif endometriyum grubunda 3(+) pozitif boyanma hiç görülmezken ,basit atipisiz endometriyal hiperplazi grubunda sadece 1 hastada 3(+) pozitif boyanma olduğu görülmüştür.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Endometriyum kanserinin jinekolojik kanserler içinde giderek ilk sıraya doğru yükselmesi ve erken tanının tedavide kritik öneme sahip olması nedeniyle karsinogenezde rol oynayan etkenler güncel bir araştırma konusudur.

Endometriyal hiperplazilerden bazılarının bugün için endometriyum kanseri gelişiminde prekürsör rol oynadıkları bilinmektedir. Ancak hiperplaziden kansere progresyonda rol oynayan faktörler bugün bir çok çalışmanın araştırma konusu olmuştur.

P16 ve Cox-2 karsinogenezde rolleri olduğu bilinen ve bir çok kanser türünde değişik ekspresyonları olduğu bilinen moleküllerdir. Biz de çalışmamızda bu önemli iki molekülün endometriyal hiperplazi ve endometriyum kanserindeki rollerini araştırdık.

P16'nın normal endometriyumdan, endometriyal hiperplazi ve endometriyum kanserine doğru progresyonda artmış ekspresyonları olduğunu saptadık. Her ne kadar diğer endometriyum kanseri prognostik faktörleriyle korele bir artış gösterilemese de özellikle endometriyum kanseri olgularında diğer gruplarla karşılaştırıldığında ekspresyonlarının anlamlı ölçüde yüksek olduğu saptandı. P16 ekspresyonlarının endometriyum kanserlerinde anlamlı olarak yüksek olduğunun çalışmamızda gösterilmiş olması daha kapsamlı yapılacak çalışmalar için ışık tutmaktadır. Bu konuda daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Cox-2 molekülünün literatürde endometriyum kanserinde artmış ekspresyonları bildirilse de karsinogenezin hangi aşamalarında etkili olduğu konusunda fikir birliği

bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda da endometriyum kanserinde diğer gruplara oranla cox-2 epresyonlarının artmış olduğunu saptanmış ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Cox-2 molekülünün prognostik önemi ,hangi mekanizmalarla karsinogenezde rol aldığı konusunun araştırılması için daha geniş ölçekli detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sayede cox-2 inhibitörlerinin kansere progresyonun önlenmesinde daha aktif ve yaygın kullanımı desteklenebilecektir.



KAYNAKLAR:

- 1- Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA: Cancer statistic; 2000 CA Cancer J Clin 2000; 50: 7-33.
- 2- Atasü T, Şahmay S: Jinekoloji (Kadın Hastalıkları): 2. Baskı Nobel Tıp Kitapevi 2001; s: 299-314.
- 3-Am j Obstet Gynecol. Steinbakk A(1), Gudlaugsson E, Aasprong OG, Skaland I, Malpica A, Feng W, Janssen EA, Baak JP. 204(4):357.e1-12.
- 4-Berek JS, Hacker NF. Berek & Hacker's Gynecologic Oncology. 2015; 6th Edition;782-790.
- 5- Ronnett BM, Zaino RJ, Ellenson LH, Kurman JR. Endometrial carcinoma. In: Kurman RJ editor. Blaustein's pathology of female genital tract, 5th ed. Berlin: Springer Verlag, 2002: 501.
- 6-Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Dişi Üreme Sistemi. Editör: Gürsoy E. Temel Histoloji, 7.baskı, Ankara: Barış Kitabevi, 1993: 517-548.
- 7-Quinn MA, Benedet JL, Odicino F, et al. Carcinoma of genital tract. Int J Gynaecol Obstet 2006;95:s43
- 8-Chandra V, Kim JJ, Benbrook DM, Dwivedi A, Rai R. Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia. J Gynecol Oncol. 2016 ;2:e8.
- 9-Medh RD, Thompson EB. Hormonal regulation of physiological cell turnover and apoptosis. Cell Tissue Res. 2000 ;301(1):101-24.
- 10-Kaaks R, Lukanova A, Kurzer MS. Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: a synthetic review. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2002 ;11:1531-43.
- 11-Lee KR, Scully RE. Complex endometrial hyperplasia and carcinoma in adolescents and young women 15 to 20 years of age. A report of 10 cases. Int J Gynecol Pathol. 1989;8:201-13.
- 12-Ozdegirmenci O, Kayikcioglu F, Bozkurt U, Akgul MA, Haberal A. Comparison of the efficacy of three progestins in the treatment of simple endometrial hyperplasia without atypia. Gynecol Obstet Invest. 2011;72:10-4.

13-Gunin AG, Mashin IN, Zakharov DA. Proliferation, mitosis orientation and morphogenetic changes in the uterus of mice following chronic treatment with both estrogen and glucocorticoid hormones. *J Endocrinol.* 2001;169:23-31.

14-Deligdisch L. Hormonal pathology of the endometrium. *Mod Pathol.* 2000;13:285-94.

15-Silverberg SG. Problems in the differential diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Mod Pathol.* 2000;13:309-27.

16-Lee KR, Scully RE. Kompleks endometriyal hiperplaziya i karzinom v podrostkovom i molodoi zhenshchiny 15 do 20 letnogo vozrasta: otchet o 10 sluchayakh. *Int J Gynecol Pathol* 1989;8:201-13.

17- Chamlian DL, Taylor HB. Endometrial hyperplasia in young women. *Obstet Gynecol* 1970;36:659-66.

18-Longacre TA, Kempson RL, Hendrickson MR. Endometriyal hiperplaziya, metaplaziya i karzinom. In: Fox H(ed). *Obstetrical and Gynaecological Pathology.* 4th ed. New York, Chorchill Livingstone, 1995. Vol 1.p.421-510.

19-Chandra V, Kim JJ, Benbrook DM, Dwivedi A, Rai R. Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia. *J Gynecol Oncol.* 2016 ;27:e8.

20-Hendrickson MR, Kempson LR. Uterus and fallopian tubes. Stenberg SS, In *histology for pathologists.* Ist. New York: Raven pres; 1992.p.797-835.

21-Sahin AA, Silva EG, Landon G, Ordonez NG, Gershenson DM. Endometrial tissue in myometrial vessels not associated with menstruation. *Int J Gynecol Pathol* 1989, 8:139-146.

22- Gültekin MU, Dursun PO, Yüce KU, Ayhan AL endometrial hiperplaziya yönetiminde güncel yaklaşım *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi* Mart 2007, Cilt 10, Sayı 1, Sayfa 1-8.

23- Rosai J. Female reproductive system In: Ackerman's surgical pathology. 9th. ed. St.Louis: Mosby year book; inc 2004.p.1569-639.

24- Hacker NF. Uterine Cancer. In: *Practical Gynecologic Oncology.* Lippincott, William and Wilkins: Philadelphia, 2000. p. 407-455.

25-Sherman ME, Sturgeon S, Brinton LA, Postischman N, Kurman RJ, Berman ML, Mortel R, Twiggs LB, Barrett RJ, Wilbanks GD. Risk factors and hormone levels in patients with serous and endometrioid uterine carcinomas. *Mod Pathol* 1997; 10: 963-968.

26-Hinkula M, Pukkala E, Kyyronen P, Kauppila A. Grand multiparity and incidence of endometrial cancer: a population-based study in Finland. *Int J Cancer* 2002; 98: 912-915.

27-Parazzini F, La Vecchia C, Chatenoud L, Di Cintio E. The epidemiology of endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1991; 41: 1-16.

28-Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HJ. The behavior of endometrial hyperplasia. A long-term study of "untreated" hyperplasia in 170 patients. *Cancer*. 1985 15;56:403-12.

29-Ferreira AM, Westers H, Albergaria A, Seruca R, Hofstra RM. Estrogens, MSI and Lynch syndrome-associated tumors. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1796:194-200.

30-Ferenczy A, Bertrand G, Gelfand MM. Proliferation kinetics of human endometrium simulating malignancy. *Am J Obstet Gynecol* 1979, 133:859-867.

31-Chen JL, Trost DC, Wilkinson EJ. Endometrial papillary adenocarcinomas: two clinicopathological types. *Int J Gynecol Pathol* 1985; 4: 279-288.

32-Hendrickson MR, Ross J, Eifel P, Martinez A, Kempson R. Uterine papillary serous carcinoma: a highly malignant form of endometrial adenocarcinoma. *Int J Surg Pathol* 1982; 6: 93-108.

33-Christopherson WM, Alberhasky RC, Connelly PJ. Carcinoma of the endometrium. II. Papillary adenocarcinoma: a clinical pathological study of 46 cases. *Am J Clin Pathol* 1982; 77: 534-540.

34-Hendricksen MR, Kempson RL. Ciliated carcinoma-a variant of endometrial adenocarcinoma: a report of ten cases. *Int J Gynecol Pathol* 1983; 2: 1-12.

35- Zaino RJ, Kurman R, Herbold D, Gliedman J, Bundy BN, Voet R, Advani H. The significance of squamous differentiation in endometrial carcinoma. Data from a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer*. 1991; 15;68:2293-302.

36-Alberhasky RC, Connelly PJ, Christopherson WM. Carcinoma of the endometrium. IV. Mixed adenosquamous carcinoma. A clinical-pathological study of 68 cases with long-term follow-up. *Am J Clin Pathol* 1982; 77: 655-664.

37-Rose PG. Endometrial carcinoma. *N Engl J Med* 1996; 335: 640-649.

38-Demopoulos RI, Gerega E, Vamvakas E, Carlson E, Mittal K. Papillary carcinoma of the endometrium; a morphometric predictors of survival. *Int J Gynecol Pathol* 1996; 15: 110-118.

39-Kurman RJ, Scully RE. Clear cell carcinoma of the endometrium: an analysis of 21 cases. *Cancer* 1976; 37: 872-882.

40-Lax SF, Pizer ES, Ronnett BM, Kurman RJ. Clear cell carcinoma of the endometrium is characterized by a distinctive profile of p53, Ki-67, estrogen, and progesterone expression. *Hum Pathol* 1998; 29: 551-558.

41-Labonte S, Tetu B, Boucher D, Larue H. Transitional cell carcinoma of the endometrium associated with a benign ovarian Brenner tumor: a case report. *Hum Pathol* 2001; 32: 230-232.

42-Lininger RA, Ashfaq R, Albones-Saavedra J, Tavassoli FA. Transitional cell carcinoma of the endometrium and endometrial carcinoma with transitional cell differentiation. *Cancer* 1997; 79: 1933-1943.

43-Sherman ME, Bitterman P, Rosenstein NB, Delgado G, Kurman RJ. Uterine serous carcinoma. A morphologically diverse neoplasm with unifying clinicopathologic features. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 600-610.

44-Silverberg SG, Kurman RJ, Nogales F. Epithelial tumors and related lesions. In: Tavassoli FA, Devilee P, editors. *Tumors of the Breast and Female Genital Organs: World Health Organization Classification of Tumours*. Lyon, France.

45-Atrabulsi B, Malpica A, Deavers MT, Bodurka DC, Broaddus R, Silva EG. Undifferentiated Carcinoma of the Endometrium. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 1316- 1325.

46-Sutton GP, Geisler HE, Stehman FB, Young PC, Kimes TM, Erlich CH. Features associated with survival and disease-free survival in early endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 1385-93.

47-Kaku T, Tsuruchi N, Tsukamoto N, Hirakawa T, Kamura T, Nakano H. Reassessment of myometrial invasion in endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1994; 84: 979-82.

48-Burton JL, Wells M. Recent advances in the histopathology and molecular pathology of carcinoma of the endometrium. *Histopathology* 1998 ;33:297-303.

49-Crisano FD, Karlan BY: The role of the HER-2/neu oncogene in gynecologic cancers. *J Soc Gynecol Investig* 1996 May-Jun; 3: 99-105.

50-Kaleli S, Öztürk M, Arvas M et al: Endometrioid tip endometrium adenokarsinomunda c-erbB-2 ekspresyonunun immunohistokimyasal değerlendirilmesi. *Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi* 1996; 10: 79-85.

51-Moral LB, Diaz JI, Cantor AB et al: Differential diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma by computerized image cytometry of cell proliferation, apoptosis and bcl-2 expression. *Ann Clin Lab Sci* 1999; 29: 308-15.

52-Stendahl U, Strang P, Wagenius G, Bergstrom R, Tribukait B. Prognostic significance of proliferation in endometrial adenocarcinomas: a multivariate analysis of clinical and flow cytometric variables. *Int J Gynaecol Pathol* 1991; 10: 271-84.

53-Tuynman JB, Hulscher JB, Steller EP, van Lanschot JJ and Richel DJ: Cyclooxygenase (COX)-2-inhibition in the prevention and treatment of colorectal carcinoma. *Ned Tijdsch Geneesk* 147: 2207-2212, 2003.

54-Yoshida A, Sarian LO, Andrade LA, Pignataro F, Pinto GA, Derchain SF. Cell proliferation activity unrelated to COX-2 expression in ovarian tumors. *Int J Gynecol Cancer*. 2007;17: 607-14.

55. Tomić S, Ilić Forko J, Babić D, Sundov D, Kuret S, Anđelinović S. c-erbB-2, p53, and nm23 proteins as prognostic factors in patients with epithelial ovarian carcinoma. *Croat Med J*. 2003 ;44: 429-34.

56-Anttila MA, Ji H, Juhola MT, Saarikoski SV, Syrjanen KJ: The prognostic significance of p53 expression quantitated by computerized image analysis in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Pathol* 1999;18:42-51.

57-Ferrandina G, Legge F, Ranelletti FO, Zannoni GF, Maggiano N, Evangelisti A, Mancuso S, Scambia G and Lauriola L: Cyclooxygenase-2 expression in endometrial carcinoma: correlation with clinicopathologic parameters and clinical outcome. *Cancer* 95: 801-807, 2002.

58-Averette HE, Nguyen HN, Donato DM, Penalver MA, Sevin BU, Estape R, Little WA. Radical hysterectomy for invasive cervical cancer. A 25-year prospective experience with the Miami technique. *Cancer*. 1993;71,1422-37.

59-Serrano M. The tumor suppressor protein p16INK4a. *Exp Cell Res*. 1997 ; 237:7-13.

60-Romagosa C, Simonetti S, López-Vicente L, Mazo A, Leonart ME, Castellvi J, Ramon y Cajal S. p16(Ink4a) overexpression in cancer: a tumor suppressor gene associated with senescence and high-grade tumors. *Oncogene*. 2011;30:2087-97.

61-Ressler S, Bartkova J, Niederegger H, Bartek J, Scharffetter-Kochanek K, Jansen-Dürr P, Wlaschek M. p16INK4A is a robust in vivo biomarker of cellular aging in human skin. *Aging Cell*. 2006 ;5:379-389.

62-Fordyce C, Fessenden T, Pickering C, Jung J, Singla V, Berman H, Tlsty T. DNA damage drives an activin a-dependent induction of cyclooxygenase-2 in premalignant cells and lesions. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2010 ;3:190-201.

63-Horrée N, van Diest PJ, Sie-Go DM, Heintz AP. The invasive front in endometrial carcinoma: higher proliferation and associated derailment of cell cycle regulators. *Hum Pathol*. 2007;38:1232-8.

64-Svensson S, Nilsson K, Ringberg A, Landberg G. Invade or proliferate? Two contrasting events in malignant behavior governed by p16(INK4a) and an intact Rb pathway illustrated by a model system of basal cell carcinoma. *Cancer Res*. 2003;63:1737-42.

65-Minami R, Muta K, Umemura T, Motomura S, Abe Y, Nishimura J, Nawata H. p16(INK4a) induces differentiation and apoptosis in erythroid lineage cells. *Exp Hematol*. 2003 ;31:355-62.

66-Branchini BR, Southworth TL, Murtiashaw MH, Magyar RA, Gonzalez SA, Ruggiero MC, Stroh JG. An alternative mechanism of bioluminescence color determination in firefly luciferase. *Biochemistry*. 2004 ;43:7255-62.

67-Reuschenbach M, Waterboer T, Wallin KL, Eienkel J, Dillner J, Hamsikova E, Eschenbach D, Zimmer H, Heilig B, Kopitz J, Pawlita M, Doeberitz Mv, Wentzensen N. Characterization of humoral immune responses against p16, p53, HPV16 E6 and HPV16 E7 in patients with HPV-associated cancers. *Int J Cancer*. 2008;123:2626-31.

68-Sood A, Buller R , Burger. R Value of preoperative Ca-125 level in the management of uterine cancer and prediction of cliniczl outcome .*Obstet Gynecol* 1997 ;90:44129.

69-Dotters D . Preoperative Ca-125 in endometrial cancer: is it useful ? *Am J Obstet Gynecol* 2000;182,1328-35.

70-Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2002;62:10-29.

71-Wright JD, Barrena Medel NI, et al. Contemporary management of endometrial cancer. *Lancet*. 2012;379:1352-1360.

72-Baak JP, Mutter GL, Robboy S, et al. The molecular genetics and morphometry-based endometrial intraepithelial neoplasia classification system predicts disease progression in endometrial hyperplasia more accurately than the 1994 World Health Organization classification system. *Cancer* 2005;103:2304-12.

73-Comerci JT, Sloan C, Edwards RP, Makhia SK, Krohn M, Hatem F. Cyclooxygenase-2 expression in normal endometrium, endometrial hyperplasia, and carcinoma. *Proceedings of the 32nd Annual Meeting of the Society of Gynecologic Oncology*, Nashville, Tennessee, 2000.

74-Tong BJ, Tan J, Tajeda L, et al. Heightened expression of cyclooxygenase-2 and peroxisome proliferator-activated receptor in human endometrial adenocarcinoma. *Neoplasia*. 2000;2:483-490.

75-Einstein MH, Cao QJ, Weiss H, et al. Expression of cyclooxygenase in endometrial cancer in vivo. *Proceedings of the 32nd Annual Meeting of the Society of Gynecologic Oncology*, Nashville, Tennessee, March 3-7, 2000, Abstract 109.

76-Erkanli S, Bolat F, Kayaselcuk F, Demirhan B, Kuscu E. COX-2 and survivin are overexpressed and positively correlated in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2007 ;104:320-5.

77-Orejuela FJ, Ramondetta LM, Smith J, Brown J, Lemos LB, Li Y, Hollier LM. Estrogen and progesterone receptors and cyclooxygenase-2 expression in endometrial cancer, endometrial hyperplasia, and normal endometrium. *Gynecol Oncol.* 2005 ;97:483-8.

78-Cao QJ, Einstein MH, Anderson PS, Runowicz CD, Balan R, Jones JG. Expression of COX-2, Ki-67, cyclin D1, and P21 in endometrial endometrioid carcinomas. *Int J Gynecol Pathol.* 2002 ;21:147-54.

79-Lambropoulou M, Papadopoulos N, Tripsianis G, et al. Co-expression of survivin, c-erbB2, and cyclooxygenase-2 (COX2): prognostic value and survival of endometrial cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010;136:427-35.

80-Lambropoulou M, Alexiadis G, Limberis V, Nikolettos N, Tripsianis G. Clinicopathologic and prognostic significance of cyclooxygenase-2 expression in endometrial carcinoma. *Histol Histopathol* 2005;20:753-9.

81-Harizi H, Juzan M, Pitard V, Moreau JF, Gualde N. Cyclooxygenase-2-induced prostaglandin e(2) enhances the production of endogenous IL-10, which down-regulates dendritic cell functions. *J Immunol.* 2002 ;168:2255-63.

82- Scambia G , Gadducci A , Panici PB et al. Combined use of CA 125 and CA 15-3 in patients with endometrial carcinoma . *gynecol Oncol* 1994; 54:292-7.

83- Bao H, Vepakomma M, Sarkar MA. Benzopyrene exposure induces CYP1A1 activity and expression in human endometrial cells. *The journal of steroid biochemistry and molecular biology* 2002; 81: 37-45.

84- Baron JA, Byers T, Greenberg ER, Cummings KM, Swanson M. Cigarette smoking in women with cancers of the breast and reproductive organs. *Journal of the national cancer institute.* 1986; 77: 677-80.

85- Baron JA, La Vecchia C, Lewi F. The anti estrogenic effect of cigarette smoking in women. *Am J obstet gynecol* 1990; 162: 502-14.

86- Byrjalsen I, Harbo J, Christiansen C. Role of cigarette smoking on the postmenopausal endometrium during sequential estrogen and progestogen therapy. *Obstet gynecol* 1993; 81: 1016-21.

