

**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**ENDOMETRİOZİS, ENDOMETRİAL İNTRAEPİTELYAL  
NEOPLAZİ VE DÜŞÜK DERECELİ ENDOMETRİAL  
ADENOKARSİNOMLARDA PTEN EKSPRESYONU**

**Dr. Pınar İMRE PEKKARAKAŞ**

**Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR**  
**2013**



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**ENDOMETRİOZİS, ENDOMETRİAL İNTRAEPİTELYAL  
NEOPLAZİ VE DÜŞÜK DERECELİ ENDOMETRİAL  
ADENOKARSİNOMLARDA PTEN EKSPRESYONU**

**Dr. Pınar İMRE PEKKARAKAŞ**

**Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŐMANI  
Prof. Dr. Sare KABUKÇUOĞLU**

**ESKİŞEHİR  
2013**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI  
T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA:

Dr. Pınar İMRE PEKKARAKAŞ'a ait "Endometriozis, Endometrial İnterepitelyal Neoplazi ve Düşük dereceli endometrial adenokarsinomlarda PTEN ekspresyonu" adlı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Sare KABUKÇUOĞLU Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı
Üye	Prof. Dr. Özgül PAŞAOĞLU Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı
Üye	Prof. Dr. Serap IŞIKSOY Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun .....  
Tarih ve ..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Bekir YAŞAR  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimi süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarım Prof. Dr. Özgül PAŞOĞLU, Prof. Dr. Sare KABUKÇUĞLU, Prof. Dr. Serap IŞIKSOY, Prof. Dr. Emine KASAPOĞLU DÜNDAR, Prof. Dr. Mustafa Fuat AÇIKALIN, Yrd. Doç. Dr. Evrim ÇİFTÇİ, Öğretim Görevlisi Dr. Funda CANAZ, Yrd. Doç. Dr. Deniz ARIK'a ve ayrıca istatistiksel değerlendirmeyi yapan Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ertuğrul ÇOLAK'a teşekkür ederim.

## ÖZET

**Pekkarakaş İmre, P. Endometriozis, Endometrial İntraepitelyal Neoplazi ve Düşük dereceli endometrial adenokarsinomlarda PTEN ekspresyonu. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2013.** Kromozom 10'da delesyona uğrayan fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN) 10q23'te lokalize bir tümör baskılayıcı gendir. Bu çalışmadaki amacımız endometriozis, endometrial intraepitelyal neoplazi ve düşük dereceli endometrial adenokarsinomlarda PTEN ekspresyonunu incelemektir. Dokuz endometrial intraepitelyal neoplazi olgusu, 30 adenomyozis olgusu, dokuz borderline endometrioid adenokarsinom olguları çalışmaya dahil edildi. Dokuz iyi diferansiye endometrioid adenokarsinom 1.kontrol grubunu, sekiz orta ve az diferansiye endometrioid adenokarsinom 2.kontrol grubunu oluşturmaktadır. Çalışmada 10 proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi ve 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi kontrol grubu olarak kabul edildi. Parafin kesitlere PTEN (Biocare, clone 6H2.1) immunohistokimyasal boyası uygulandı. Epitelyal ve stromal skorlar değerlendirildi. Çalışmada kompleks hiperplazilerde, atipik endometriozis ve adenomyozislerde stromada PTEN inaktivasyonu gözlenmiştir. Onbir basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplazi ve 9 endometrial intraepitelyal neoplazi biyopsileri arasında PTEN epitel, stroma boyanma skoru ve stroma boyanma yüzde oranları açısından önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Yirmi dokuz endometrium biyopsisi ve yirmi altı endometrioid adenokarsinom biyopsileri arasında PTEN epitel, stroma boyanma skoru ve stroma boyanma yüzde oranları açısından önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Dokuz borderline, sekiz orta ve az diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsileri arasında epitel, stroma, stromanın PTEN ile boyanma yüzdeleri açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Sonuç olarak çalışmamız endometrial karsinogenezin erken fazında PTEN' in inaktive olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Endometriozis, Endometrioid adenokarsinom, Endometrial intraepitelyal neoplazi, PTEN immünohistokimyasal boyası.

## ABSTRACT

**Pekkarakas Imre, P. Expression of PTEN in Endometriosis, Endometrial Intraepithelial Neoplasia and Low grade endometrial adenocarcinoma. Eskisehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Department of Pathology, Thesis, Eskisehir, 2013.** Phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 (PTEN) is a tumor suppressor gene which is located at 10q23. Our objectives were to examine the expression of PTEN in endometriosis, endometrial intraepithelial neoplasia and low grade endometrial carcinoma. Our study group were composed of 9 endometrial intraepithelial neoplasia, 30 endometriosis and adenomyosis, 9 borderline endometrioid adenocarcinoma. 9 well differentiated endometrioid adenocarcinoma and 8 moderate and poorly differentiated endometrioid adenocarcinoma were used as a first and a second control group. In this study 29 endometrial biopsy samples representative of 10 proliferative endometrium, 11 simple hyperplasia, 8 complex hyperplasia were stained as a control group. Paraffin embedded tissue blocks were treated with PTEN immunohistochemistry stain (Biocare clone 6H2.1). PTEN epithelial and stromal staining scores were determined. The study showed that PTEN inactivation were observed in stroma of biopsies with complex hyperplasia and atypical endometriosis and adenomyosis. There were significant difference among 11 simple hyperplasia, 8 complex hyperplasia and 9 endometrial intraepithelial neoplasia biopsies according to scores of epithelial and stromal staining and percentage of stromal staining ( $p < 0.05$ ). There were significant difference among 29 endometrium biopsies and 26 endometrioid adenocarcinoma biopsies according to scores of epithelial and stromal staining and percentage of stromal staining ( $p < 0.05$ ). There were significant difference among 9 borderline endometrioid adenocarcinoma and 8 moderate and poorly differentiated endometrioid adenocarcinoma biopsies according to scores of epithelial, stromal and percentage of stromal staining ( $p < 0.05$ ). As a result of this study PTEN inactivation occurs in premalignant phase of the endometrial carcinogenesis.

**Key Words:** Endometriosis, Endometrioid adenocarcinoma, Endometrial intraepithelial neoplasia, PTEN immunohistochemistry.

**İÇİNDEKİLER**

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Endometrium	3
2.2. Endometrial Hiperplaziler	4
2.3. Endometrial Hiperplazi- Karsinom İlişkisi	9
2.4. Endometrial Karsinom	10
2.5. Adenomyozis ve Endometriozis	22
2.6. Endometrial İntraepitelyal Neoplazi	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1. Biyopsi Seçimi	36
3.2. Boyama Yöntemi	40
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	42
4. BULGULAR	43
4.1. Endometrium Biyopsilerinde PTEN Ekspresyonu	43
4.2. Adenomyozis ve Endometriozislerde PTEN Ekspresyonu	50
4.3. Endometrial İntraepitelyal Neoplazilerde PTEN Ekspresyonu	60



	Sayfa
4.4. Endometrioid Adenokarsinomlarda PTEN Ekspresyonu	66
5. TARTIŞMA	85
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	100
KAYNAKLAR	111

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Akt/PKB	Protein kinaz B
CEA	Karsinoembriyonik antijen
DS	D skoru
DXC	Dilatasyon ve küretaj
EIN	Endometrial intraepitelyal neoplazi
EIC	Endometrial intraepitelyal karsinom
FIGO	International Federation of Gynecology and Obstetrics
GLUT-1	Glukoz taşıyıcısı-1
GBM	Glioblastoma multiforme
hMLH1	Missmatch repair genes human mutL homolog 1
IGF-IR	İnsülin benzeri büyüme faktörü reseptörü-1
LOH	Heterozigosite Yitimi
MSI	Mikrosatellit instabilitesi
m-TORC1	Rapamisininin memelilerdeki hedefi-1
m-TORC-2	Rapamisininin memelilerdeki hedefi-2
PIP3	Fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfat
PIP2	Fosfatidilinositol-4,5-bifosfat
PI3K	Fosfatidilinositol 3 kinaz
PTEN	Kromozom 10'da delesyona uğrayan Fosfataz ve Tensin Homoloğu
Rheb	RAS homoloğundan zengin küçük ATP-az
TAH	Total abdominal histerektomi
TSC-2	Tüberöz skleroz kompleks protein -2
VPS	Stroma hacim yüzdesi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
WT-1	Wilm's tümör gen-1

## ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Tip1 ve Tip2 endometrium karsinomlarının patogenetik mekanizmaları	18
2.2. Endometriozisten kanser gelişiminin klonalite ve genetikle ilişkisi	25
2.3. EIN ve kanser gelişim sürecindeki genetik ve genetik dışı değişkenler	28
2.4. PTEN'in yapısı	31
2.5. PTEN'in lipid fosfataz aktivitesi	32
2.6. Kanserdeki PTEN/PIP3 yolağının basitleştirilmiş şematik gösterimi	33
3.1. Problematik endometrial proliferasyonların değerlendirilmesi için algoritma	38
4.1. Proliferasyon fazında endometriumda PTEN ekspresyonu	44
4.2. Basit atipili hiperplazide PTEN ekspresyonu	45
4.3. Basit hiperplazide PTEN ekspresyonu	46
4.4. Atipili kompleks hiperplazide PTEN ekspresyonu	47
4.5. Kompleks hiperplazide PTEN ekspresyonu	48
4.6. Adenomyoziste PTEN ekspresyonu	52
4.7. Yaygın atipik adenomyoziste PTEN ekspresyonu	53
4.8. Endometriozis, tuba serozasında PTEN ekspresyonu	54
4.9. Terminal ileumdaki endometriozis odağında PTEN ekspresyonu	55
4.10. Atipik ovaryan endometriozis biyopsisinde 0,5 cm'lik endometrial karsinom odağında PTEN ekspresyonu	56
4.11. EIN'da PTEN ekspresyonu	61
4.12. EIN'da PTEN ekspresyonu	62
4.13. EIN'da PTEN ekspresyonu	63
4.14. Borderline endometrium adenokarsinomunda PTEN ekspresyonu	70
4.15. Borderline endometrium adenokarsinomunda PTEN ekspresyonu	71
4.16. Borderline endometrium adenokarsinomunda PTEN ekspresyonu	72
4.17. İyi diferansiye endometrium adenokarsinomunda PTEN ekspresyonu	73

	Sayfa
4.18. İyi diferansiye endometrium adenokarsinomunda PTEN ekspresyonu	74
4.19. İyi diferansiye endometrium adenokarsinomunda PTEN ekspresyonu	75
4.20. İyi diferansiye endometrium adenokarsinomunda PTEN ekspresyonu	76
4.21. Orta diferansiye endometrium adenokarsinomunda PTEN ekspresyonu	77

## TABLULAR

	Sayfa
2.1. Myometrial invazyon riskine dayalı kompleks endometrial proliferasyonların klasifikasyonu	8
2.2. Endometrial karsinomun başlıca özellikleri	11
2.3. Endometrial kanserlerin International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) evrelemesi, 2009	14
2.4. Endometrial karsinomda tanımlanan prognostik faktörler	20
2.5. EIN terminoloji, teşhis ve tedavi şeması	28
2.6. Subjektif EIN tanı kriterleri	30
4.1. Endometrial biyopsilerdeki PTEN'in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri	49
4.2. Adenomyozis ve endometriozis odaklarındaki PTEN'in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri	57
4.3. Endometrial İntraepitelyal Neoplazi biyopsilerinin özellikleri	64
4.4. Endometrial İntraepitelyal Neoplazi biyopsilerinde PTEN'in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri	65
4.5. Endometrioid adenokarsinomların Evre ve Grade'leri	67
4.6. Endometrioid adenokarsinom biyopsilerinin Grade'lerine göre dağılımı	68
4.7. Endometrioid adenokarsinom biyopsilerinin Evre'lerine göre dağılımı	68
4.8. Endometrium adenokarsinom biyopsilerinde PTEN'in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri	78

## 1.GİRİŞ

Endometrial karsinom en sık rastlanan jinekolojik malignensidir. Işık mikroskopik görünümü, klinik davranışı ve epidemiyolojisine göre endometrial kanserler tip 1 ve tip 2 olmak üzere ikiye ayrılırlar (1-3). Östrojenle ilişkili olan tip 1 tümörler, endometrial kanserlerin %80-85'ini oluşturur, çoğu endometrioid tiptedir. Sıklıkla endometrial hiperplazi zemininde gelişirler. Östrojenle ilişkisiz tip 2 tümörler ise histolojik olarak seröz ve berrak hücreli tipte olup, atrofik endometriumda gelişen, yüksek grade'li, agresif, sıklıkla metastaz yapan gruptur (2, 4). Yapılan moleküler genetik araştırmalarda seröz kanserlerin (tip 2 tümörler) çoğunda p53 mutasyonu izlenirken, endometrioid tip 1 endometrial kanserlerde en sık rastlanan moleküler genetik değişiklikler arasında mikrosatellit instabilitesi, PTEN, K-ras ve  $\beta$ -katenin genlerinin mutasyonu olduğuna dair kaynaklar mevcuttur (5-7).

Tip1 kanserlerde PTEN mutasyonunun erken dönemde oluştuğunu ve hiperplazilerden kanser gelişiminde rolü olduğunu gösteren ve endometrial intraepitelyal neoplazinin (EIN) prekanseröz lezyon olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (8-10). Kurman ise, endometrial kanser gelişiminde hiperplazilerden kanser gelişim oranlarını sırasıyla; basit hiperplazilerde <%1, kompleks hiperplazilerde %3, basit atipili hiperplazilerde %8, kompleks atipili hiperplazilerde %29 olarak belirtmiştir (11). PTEN ekspresyon kaybının endometriumun premalign lezyonlarında görülmesi, endometrial kanser gelişiminde potansiyel bir başlatıcı olduğunu düşündürmektedir (12).

Endometriozis odaklarında malign transformasyon atipik ovaryan endometriozis zemininde gelişebilmektedir. Atipik ovaryan endometriozis %4 oranında rastlanan nadir bir durumdur. Endometriozis patogenezinin araştırılmasında yapılmış moleküler genetik çalışmalar PTEN geninin endometriozisten malign transformasyon gelişiminde rolü olduğunu belirtmektedir (13-16). Bu konuda geniş vaka serilerinde çalışmaya ihtiyaç vardır.

PTEN, 10q23'te lokalize bir tümör baskılayıcı gendir. Hücre siklüs arrestinde, apoptozun programlanmasında önemli role sahip olduğu gibi, hücre adezyon, migrasyon ve diferansiasyonunda da rol oynar (17). PTEN, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) sinyalinin doğal bir inhibitörüdür. Azalmış PTEN

ekspresyonu Protein kinaz B (Akt/PKB)'nin aktivasyonunu ve endometriyumda süregelen yaşam sinyallerini düzenler (18). Bugüne kadar Cowden hamartom sendromu, glial tümörler, prostat karsinomu, meme karsinomu, ovaryan tümörler, malign melanom, baş-boyun tümörlerinde PTEN'in rolünün olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır (19-25). Endometrium karsinomlarında en sık görülen genetik defekt PTEN inaktivasyonudur (1, 12). PTEN inaktivasyonu çeşitli mekanizmalarla meydana gelebilir. Mutasyon, delesyonlar sonucunda kromozom 10q23'te heterozigosite yitimi oluşur ve bu bulgu endometrium kanserlerinin %37-83'ünde saptanmıştır (12).

PTEN, Akt/PKB ilişkili fosforilasyonu ve p27 ile olan transkripsiyonel aktiviteleri antagonize eder. Aktive olan Akt/PKB p27'i fosforile eder, p27'nin nükleusa girmesi engellenir ve sitoplazmada miktarı artar (26). İnvitro hücre kültürlerinde PTEN tarafından aracılık edilen p27 up regülesyonu, kontakt inhibisyonla ilişkili hücre siklus duraklamasında en önemli basamaklardan biridir. Kazunori ve ark.'nın (27) çalışmasında yoğun olarak PTEN transfeksiyonu içeren PTEN negatif endometrial karsinom hücrelerinin, Akt/PKB ekspresyonunda azalma, p27'de artma,  $\beta$ -kateninde azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Laudanski ve ark.'nın (28) çalışmasında PTEN ekspresyonunun yaş ile ilişkili olduğu ve düşük dereceli endometrial kanserlerde grade 2 ve grade 3 kanserler arasında istatistiksel önemli fark gösterdiğini moleküler biyolojik çalışmalarında göstermiştir. Aynı çalışmada grade 2 ve grade 3 endometrium kanserlerinde p53 mutasyonu olurken, grade 1 endometrium kanserlerinde PTEN mutasyonu olduğu tanımlanmıştır.

Bu çalışmanın amacı invitro olarak hücre kültürlerinde rolü gösterilen PTEN genini, retrospektif ve prospektif olarak seçip tanı verdiğimiz endometriumlarda, hiperplazilerde, endometriozislerde, EIN ve endometrial karsinomlarda immünohistokimyasal yöntemle araştırmak ve PTEN'in patogenezdaki rolünü ve myometrial invazyon riskiyle ilişkisini belirlemektir.

## 2-GENEL BİLGİLER

### 2.1.Endometrium

Endometrial mukoza; glandlar ve stromadan oluşur. Derin yerleşimli (alt 1/3) bazal tabaka ve yüzeysel yerleşimli (üst 2/3) fonksiyonel tabaka olmak üzere ikiye ayrılır. Bazal tabaka; menstrüasyon sonrası endometriumun rejenerasyonundan sorumlu rezerv tabakasıdır, psödostratifiye epitelle döşeli proliferatif glandlar ve işi stromadan oluşur.

Fonksiyonel tabaka; kompakt tabaka (yüzey kısmı) ve spongioz tabaka (bazale yakın kısım) olmak üzere iki tabakaya ayrılır.

Stroma, başlıca menstrüel siklus boyunca hormonal etkiyle görünümü değişen endometrial stromal hücreler ve spiral arteriollerden oluşur. Diğer komponentler; T lenfosit ve makrofajlardan oluşan stromal granüositler ve lipit içeren değişken stromal köpüksü hücrelerdir.

Normal endometrial siklus endometrial glandlar ve stromanın değişiklikleri ile ilişkilidir. Genel olarak değişiklikler fonksiyonel endometrium boyunca uniformdur. Yüzey epiteli hormonal etkiye glandüler epitelden daha az yanıt verir. Çalışmalar 8. ve 10. günlerde fonksiyonel tabakanın üst 1/3'ünde hücre proliferasyonunun en yüksek seviyede olduğunu göstermiştir. Subnükleer vakuolizasyon ovulasyonun kanıtıdır.

Menstrüel fazın erken işaretlerinden biri nükleer kırıntı varlığıdır (29, 30).

#### **Endometriumun Günlendirilmesinde Mikroskopik Bulgular:**

**A) Proliferatif Faz:** Glandüler hücreler, stromal hücreler ve vasküler endotelyal hücrelerin çoğalmasıyla uterin mukoza hacimce artar. Proliferasyon 8-10. günlerde, fonksiyonel tabakanın üst bölümünde maksimum olur. Basit tübüler glandlar proliferasyonun ileri dönemlerinde kıvrıntılı hal alır, epitel yalancı çok katlı görünümündedir.

#### **-Erken Proliferatif Faz (4-7. Gün):**

İnce rejenera yüzey epiteli; kısa, dar, düz glandlar; kompakt stroma, düşük mitotik aktivite ve iri nükleuslar görülür.



**-Orta Proliferatif Faz (8-10. Gün):**

Kolumnar yüzey epiteli, uzun, kıvrımlı glandlar, değişik miktarda stromal ödem, stromada çıplak nükleuslarda çok sayıda mitoz bulunur.

**-Geç Proliferatif Faz (11-14. Gün):**

Ondülan yüzey, psödostrafikasyon ve aktif büyüme gösteren kıvrımlı glandlar, orta derecede yoğun aktif büyüyen stroma görülür.

**B)Sekretuar Faz (15-27.Gün):**

Ovulasyondan 36-48 saat sonra, korpus luteumdan salınan progesteron etkisiyle endometrial glandlarda glikojenden zengin sekresyon yapımı olur

**C)Menstrüel Faz(28. Günden sonra)**

Siklusun 5. gününde reepitelizasyon ile yeni yüzey epiteli oluşur (31, 32).

**2.2.Endometrial Hiperplazi**

Endometrial hiperplazi, proliferasyon fazına göre gland/stroma oranının arttığı, glandların farklı şekil ve büyüklükte olduğu proliferasyonudur. Reprodüktif dönemdeki kadınlarda hiperplazi, nadirdir. Tipik olarak polikistik over hastalığı (Stein-Leventhal Sendromu) olan anovulatuvar olgularda gelişir.

Endometrial hiperplaziler, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) önerdiği şekilde, sitolojik ve yapısal değişikliklere göre, hiperplazilerin uzun dönem takipleri incelenerek sınıflandırılmıştır (3, 32).

**Endometrial Hiperplazilerin Sınıflandırılması (WHO)**

Basit Hiperplazi

Kompleks Hiperplazi

Basit Atipili Hiperplazi

Kompleks Atipili Hiperplazi

**1. Atipsisiz Hiperplaziler:**

**a) Basit Atipsisiz Hiperplazi:**

Hücreden zengin stroma içinde kistik, genişlemiş yer yer dallanma gösteren gland yapıları izlenir. Glandları döşeyen hücreler amfofilik sitoplazmalı, yalancı çok katlı ve kolumnardır. Sitolojik atipi yoktur. Epitelyal hücreler oval, bazale yerleşmiş düzgün kontürlü, uniform nükleuslardan oluşur. Epitelyal hücrelerde sıralanma artışı

görülebilir, iki-dört hücre tabakası arasında değişir. Mitoz değişkendir ve sıklıkla 10 büyük büyütme alanında beşten azdır.

Proliferatif endometriumdan farklı olarak stromal hücreler daha yoğundur. Stromal hücreler iğsi özelliklerini korurlar ve mitotik aktivite değişkendir (11, 32).

### **b) Kompleks Atipisiz Hiperplazi:**

Kompleks hiperplazi arada sıkışmış iğsi hücrelerden oluşan çok az stroma ile dallanan ve tübüler yapıdaki kalabalık glandlar oluşur. Glandlardaki proliferasyon artışı kalabalıklaşmaya ve aradaki stromayı basıya uğratarak sırt-sırta vermiş gland yapılarına neden olur. Belirgin sıralanma artışı gösteren kompleks hiperplazilerde mitotik figürler belirsiz olabilir. Arşitektürel anomalinin derecesi arttıkça glandlar irregüler sınırlı kompleks, dallanmış ve lümene papiller girintiler yapmış haldedir.

**2. Atipili Hiperplaziler:** Endometrial hiperplazilerin değerlendirilmesinde en önemli kriter; atipinin bulunmasıdır.

Nükleer atipisi olan hücreler sıralanması artmış, polarite kaybı gösteren ve nükleus/sitoplazma oranı artmış olan hücrelerdir. Nükleusu genişlemiş, düzensiz boyut ve şekilli, yoğun kromatin kümelenmesi içerir, kalınlaşmış irregüler nükleer membrana sahiptir ve belirgin nükleolusu mevcuttur. Nükleus, proliferatif endometrium ve atipisiz hiperplazilerle karşılaştırıldığında yuvarlak olmaya meyillidir. Sonuçta nükleus berrak ve veziküler görünüme sahiptir ve kromatin nükleer membran çevresine kümelenir. Nükleer atipi değişkendir, tüm glandlar atipik hücre içermezler, tek bir gland yapısında bazıları atipikken diğerleri normal olabilir. Atipik hücreler nadirse göz ardı edilebilir. Ayrıntılı aramada hücrel atipi belirginse atipili hiperplazi tanısı verilmelidir.

Yapısal özellikler atipisiz basit ve kompleks hiperplazilerle benzerdir.

### **a) Basit Atipili Hiperplazi:**

Basit hiperplazide sitolojik atipinin bulunmasıdır. Glandlar belirgin stroma ile ayrılırlar ve sırt-sırta vermiş glandlar bulunmaz. Oldukça nadirdir.

### **b) Kompleks Atipili Hiperplazi:**

Glandların sayısı artmıştır. Sırt sırta dizilim gösterirler. Düzensiz dallanmalar

içerir ve hücrel atipi vardır. Glandlar kalabalıklaştığı için stroma azalmıştır. Epitelyal sıralanma artışı ve mitotik aktivite değişkendir. Papiller girintiler de görülebilir (11, 32).

### **Ayırıcı Tanı**

Endometrial hiperplazi; irregüler şekil ve boyutlu glandların proliferasyonu ve proliferatif endometriumla karşılaştırıldığında gland/stroma oranında artışla ilişkilidir. Biyopside kistik endometrial glandların varlığı, hiperplazi tanısı için tek başına kriter değildir. Volüm artışı olmayan durumlarda basit tipte hiperplazi ile birlikte olabilmesine rağmen; bazı kistik endometrial glandlar hiperplazik olmayıp atrofik olabilir ve Ki-67 indeksi ile bu gösterilebilir (33). Bu durum kistik endometrial atrofi olarak bilinir.

Endometrial hiperplazi sıklıkla perimenopozal dönemde görülür. Bununla birlikte genç hastalarda; hatta adölesanlarda da görülebilir. Bazıları Stein- Leventhal Sendromu ya da östrojen üreten ovaryan tümörlerde östrojenik uyarı sonucu gelişebilir.

Atipili hiperplazi ile iyi diferansiye adenokarsinom vakaları arasındaki ayırım güç olmakla birlikte ayırıcı tanı, pattern analiziyle yapılabilir. Mikroskopik olarak; belirgin pleomorfizm, polarite kaybı, düzensiz dizilmiş glandlarda kompleks dallanma, yaygın papiller yapılar, solid ya da kribriform görünümlü birbiriyle birleşen glandüler pattern, glandüler luminada polimorfonükleer lökosit ve nükleer debris görülmesi ve desmoplaziye neden olan irregüler stromal invazyon; karsinom lehinedir (34-36).

Hiperplazi ile karışabilen bir başka lezyon adenomatöz poliptir. Polipoid şekilli doku parçasında kalın duvarlı damarlar ve yoğun, fibrotik stroma bulunması ile polip tanısı verilir (37).

Sekretuar değişiklik, sekretuar endometriumda hücrel atipi ve yapısal anomalilerin bulunmasıdır. Normal siklusun 16. ve 17. gününde görülenlere benzer atipik glandlar mevcuttur. Bu değişiklik Arias-Stella reaksiyonu ve hormonla tedavi edilmiş konvansiyonel endometrial hiperplaziden ayrılmalıdır (38).

Bu sınıflamadaki sorun, endometrium gibi hormonal düzensizlik, benign rejenerasyon ve metaplazi gösteren bir dokuda, nükleer sitolojik değişikliklerin sık görülmesi nedeniyle sitolojik atipi kriterlerinin uygulama zorluklarıdır (39, 40).

Endometrial hiperplazilerin endometrioid adenokarsinoma progresyon riski sitolojik atipi ve yapısal kalabalıklıkla yakından ilişkilidir (2). Lacey ve ark.'nın (41) çalışmasında, atipisiz hiperplazilerin %2'den azı karsinoma ilerlerken, atipili hiperplazilerin %23'ünün karsinoma progresse olduğu belirtilmiştir.

Atipili hiperplazi-iyi diferansiye karsinom ayırımında gerekli ipucu myometrial invazyon riskinin tahminidir (42, 43). İyi diferansiye adenokarsinom tanısı için histerektomi spesmenlerindeki myoinvazyonu gösteren histolojik özellikler baz alınır. Ayırında 2 önemli tanısal kriter mevcuttur;

1-Kompleks glandüler arşitektürel pattern (glandüler devamlılık, gland içindeki kompleksite ve papiller arşitektür),

2-Atipili hiperplazilerdeki gibi sitolojik atipi (küçük büyütmede belirgin makronükleolus ve belirgin nükleer pleomorfizm).

Myometrial invazyon riskinin belirlenmesinin karsinomların tanısında altın standart olduğu ve tedaviyi yönlendirme açısından önemli olduğu belirtilmiştir (Tablo 2.1) (44).

Tablo 2.1. Myometrial invazyon riskine dayalı kompleks endometrial proliferasyonların klasifikasyonu.

Tanı	Histoloji	Myometrial invazyon riski(%)
Kompleks atipili hiperplazi	Düşük riskli sitoloji Ve Düşük riskli arşitektür	<0.05
Borderline endometrial proliferasyon (iyi diferansiye adenokarsinomun ekarte edilemediği atipili kompleks hiperplazi)	Yüksek risk arşitektür ( $\geq$ %30) Veya Labirent benzeri veya kompleks non-villöz papiller yapı bulunmaması Veya Yüksek riskli sitoloji	5.5
İyi diferansiye endometrial adenokarsinom	Yüksek riskli sitoloji Ve/veya düşük riskli arşitektür	20

Hiperplazi ve karsinomlarla metaplazi ve hücrel değişikliklerin ayrımı önemlidir. Östrojenik stimulusa proliferatif cevap veren hiperplazilerin aksine, metaplazi sitoplazmik diferansiasyon gösterir. Metaplastik değişiklikler; eozinofilik, silyalı hücre(tubal), skuamöz, sekretuar/berrak ve müsinoz diferansiasyondur (2, 11).

Hiperplazide glandüler sınırlar düzensiz, kompleks epitelde proliferasyonu gösteren sıralanma artışı mevcuttur. Tersine, metaplastik değişikliklerde glandüler sınırlar düzgün, tubüler yapıya sahip olup hafif kistik dilatasyon ve hafif glandüler düzensizlik görülebilir.

Örneğin karsinomu düşündüren yoğun skuamöz metaplazi alanları varsa, çevresinde desmoplastik bir cevap veya birbiriyle birleşen glandüler yapılar yoksa karsinom tanısı verilmemelidir. Hiperplaziyle ilişkili skuamöz ve eozinofilik değişiklik lümeni doldurup köprü oluşturabilir ancak gerçek kribriform pattern oluşturmazlar. Müsinöz değişiklik kompleks papiller yapılar yapabilir ancak papillanın stroması normal endometrial stromadır. Epitelde sitolojik atipi bulunmaz.

Hiperplazi ve metaplastik değişiklik birlikte görüldüğünde hiperplazi olarak sınıflanır ancak sitoplazmik değişikliğin tariflenmesi prognozu etkilemediği için gerekli değildir (11).

### **2.3.Hiperplazi ve Karsinom Arasındaki İlişki**

Endometrioid tipte endometrial karsinomların çoğunun öncesinde hiperplazi evresi vardır. Rölatif olarak hiperplazili çok az hastada daha sonra kanser gelişir. Şiddetli hiperplazilerde karsinom gelişimi daha olasıdır. Bu özellikle sitolojik değişiklikler olduğunda daha fazladır (11).

Kistik değişiklikler eşlik eden basit hiperplazi vakalarında karsinoma dönüşüm riski çok düşüktür. Yirmi dört yıl takip edilen 544 premenopozal kadında karsinom gelişim riski %0.4'ten azdır. Aksine atipili kompleks hiperplazi bulunan kadınlarda karsinom gelişim riski %15-30 civarındadır (45).

Tavasoli ve Kraus (46); küretajda atipili hiperplazi (karsinoma in situ dahil) tanısı aldıktan 1-6 ay sonra çıkarılan 48 histerektomi örneğinde, iyi diferansiye adenokarsinom oranını %25 bulmuştur. Sadece bir vakada myometrial invazyon görülmüş olup 0,2 mm'dir. Diğer vakaların çoğunda persistan hiperplazi bulunmuştur. Yazarlar karsinom tehlikesi nedeniyle atipili endometrial hiperplazinin medikal (progesteron) veya cerrahi (histerektomi) olarak tedavi edilmesi gereğini belirtmişlerdir.

Endometrial hiperplaziler ve iyi diferansiye adenokarsinom ayırımında çok sayıda çalışma yapılmıştır (39, 47). Bir çalışmada proliferatif endometriumdan iyi diferansiye adenokarsinom arasında değişen 100 endometrial biyopsi ve küretaj spesmenlerinde atipisiz hiperplazi ve iyi diferansiye adenokarsinomlarda gözlemciler arasında önemli derecede anlaşma sağlanırken atipili hiperplazilerde orta derecede görüş birliği sağlanmıştır (39). Nükleer irileşme, veziküler değişiklik, nükleer pleomorfizm, kromatinde irregülerite, polarite kaybı, nükleusta yuvarlaklaşma, nükleolus varlığı gibi birçok özellik atipili hiperplazi ile ilişkilidir (48). Atipili hiperplazilerin atipisiz hiperplazilerden ayırımında en önemli özellik, nükleolus varlığıdır.

Karsinomun atipili hiperplaziden ayırımında stromal desmoplazi ve glandüler devamlılık önemli özelliklerdir (48).

Bazı araştırmacılar yapısal ve nükleer morfometrik özelliklerin kombinasyonunun hiperplazilerin endometrial kansere dönüşme riskinde daha yararlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (44, 49).

Günümüzde birçok araştırmacı klonalitenin moleküler genetik analizine göre endometrial proliferasyonları 2 büyük gruba ayırmışlardır (8, 50, 51).

Anormal hormonal çevre-anovulatuvar siklusla birlikte olan karşılanmamış östrojenik uyarı veya eksojen östrojenik uyarıya karşı cevap olarak oluşan proliferasyonlar poliklonaldır ve hiperplazi olarak adlandırılır. Monoklonal lezyonların ise karsinoma ilerleme yüzdeleri yüksektir ve EIN olarak adlandırılırlar.

Lacey ve ark.'nın (52) bir vaka kontrol çalışmasında EIN veya atipik endometrial hiperplazilerin karsinoma ilerleme riskleri benzer olarak bulunmuştur.

Kurman ve ark. (11) progestin tedavisinin atipili hiperplaziler ve iyi diferansiye endometrial adenokarsinomlarını sıklıkla suprese edebilmesi EIN klasifikasyonuna adaptasyonu için iyi bir neden olmadığını belirtmişlerdir.

WHO klasifikasyonundaki sitolojik atipinin EIN tanısı için gerekli olduğunu WHO klasifikasyonunun basitleştirilmiş versiyonunda 4 kategoriden ikiye düşürülmesi ise (hiperplazi ve atipili hiperplazi) EIN sistemi için avantaj sağlamamıştır. Gelecekte moleküler genetik çalışmalar bu lezyonların sınıflandırılmasında önemli rol oynayacaktır (11).

Kurman ve ark. (42) bir çalışmasında atipisiz hiperplazinin karsinoma progresyonunun 10 yıl, atipili hiperplazinin karsinom progresyonunun 4 yıl olduğunu belirlemişlerdir.

## **2.4.Endometrial Karsinom**

### **Epidemiyoloji ve İnsidans:**

Endometrial karsinom kadınlarda en sık görülen 4. kanserdir. Kadın genital tümörleri arasında insidanda ilk, mortalitede 2. sırada yer alır. Sıklıkla postmenopozal kadınlarda görülür (4). Çoğu endometrial kanser sporadik iken %5 hastada ailesel öykü vardır ve 55 yaşından önce tanı alır. En sık klinik bulgu, postmenopozal kanamadır, daha erken yaşta gelişenlerde ise menometroraji görülür (53).

Östrojen ilişkili Tip 1 tümörler, endometrial karsinomların %80-85'ini oluşturur, çoğu endometrioid tiptedir (3). Sıklıkla endometrial hiperplazi zemininde

gelişir. Malignite potansiyelleri daha düşüktür. PTEN,  $\beta$ -katenin, K-RAS mutasyonları ve mikrosatellit instabilitesi en sık oluşan genetik değişikliklerdir (5).

Östrojen ile ilişkisiz Tip 2 tümörler ise, daha yüksek gradeli, agresif, sıklıkla metastaz yapan, kötü prognozlu ve histolojik tip olarak özellikle seröz ve berrak hücreli karsinom şeklinde olan gruptur (2, 54). Sıklıkla p53 tümör baskılayıcı gen mutasyonu ve çeşitli kromozomlarda heterozigosite kaybı gösterir (5). Endometrial karsinomların başlıca özellikleri Tablo 2.2’de gösterilmiştir (2, 4, 12).

Tablo 2.2. Endometrial Karsinomun başlıca özellikleri.

Özellikler	Tip1	Tip2
<b>Menopoz durumu</b>	Premenopozal ve perimenopozal	Postmenopozal
<b>Östrojen ilişkisi</b>	var	yok
<b>Östrojen veya progesteron reseptörü</b>	var	yok
<b>Komşu endometrium</b>	Hiperplastik	Atrofik/ kistik polip
<b>Prekürsör lezyon</b>	Atipik Hiperplazi, EIN	EIC
<b>Obezite</b>	var	yok
<b>Parite</b>	Nullipar	Multipar
<b>Grade</b>	Düşük	Yüksek
<b>Myometrial invazyon</b>	Değişken, sıklıkla minimal	Değişken, sıklıkla derin
<b>Histolojik subtip</b>	Endometrioid	Seröz karsinom, Berrak hücreli karsinom
<b>Yayılım</b>	Lenf nodu	Periton
<b>Klinik davranış</b>	Yavaş	Agresif
<b>Genetik değişiklikler</b>	PTEN mutasyonu Mikrosatellit instabilitesi B-Katenin mutasyonu K-RAS mutasyonu	P53 mutasyonu



### **Risk Faktörleri:**

Endometrium kanserinde risk faktörleri; östrojen replasman tedavisi (55, 56), obezite (55-59), diyabet (57), erken menarş, geç menapoz (57, 60), nulliparite (61) ve sigaradır (57, 62). Beslenme biçimi de son yıllarda risk faktörleri arasında sayılmaktadır (57, 59).

İki yıl ya da daha uzun süre östrojen kullananlarda endometrium kanser riski, kullanmayanlara göre, 2-3 kat yüksektir. Süre ve doz arttıkça kanser riski de artmaktadır (4, 55). Östrojen tedavisine progesteron eklendiğinde endometrial kansere karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (61). Kombine oral kontraseptif kullanımı, endometrium kanseri riskini azaltır (4, 55).

Obezite, östrojen replasman tedavisi gibi iyi tanımlanmış risk faktörlerindedir. Periferik yağ dokusunda androjenin östrojene dönüşmesiyle periferik östrojenin artması ve seks-hormon bağlayıcı globüllerin obezlerde daha düşük konsantrasyonda bulunmasıyla açıklanır (4).

Diabetik hastalarda endometrium kanseri sıklığının arttığı gösterilmiştir. Diabetiklerde serum östrojen değerleri yüksek bulunmuştur (4, 59). Melnik BC'nin (59) yaptığı bir çalışmada et ve proteinden zengin beslenmenin lösin düzeylerinde artışa bununda rapamisinin memelilerdeki hedefi-1(m-TORC1) düzeyinde artışa neden olur. Bu artış  $\beta$  hücre proliferasyonu, artmış insülin sekresyonuna ve insülin rezistansına neden olarak Tip 2 diyabet gelişimine neden olduğunu belirtmişlerdir.

Elli iki yaşından sonra menapoza giren kadınlarda kanser riskinin; 45 yaşından önce menapoza giren kadınlara göre 1.5-2.5 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Tüm epidemiyolojik çalışmalarda, doğum yapmamış kadınlarda karşılanmamış östrojene bağlı kronik anovulasyon sonucu endometrium kanseri riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir (4).

Gelişmiş ülkelerde yapılan ekolojik araştırmalar sonucunda, et, yumurta, süt, yağ gibi yüksek kalori ve protein içerikli beslenme biçiminin endometrium kanseri riskini arttırdığı gösterilmiştir (4, 59).

### **Makroskopi:**

Endometrial karsinom, genellikle uterin korpus yerleşimlidir. Sıklıkla posterior duvarda, tek dominant bir kitle şeklinde izlenir. Tipik karsinom, yüzeyi sıklıkla ülserle, ekzofitik büyüme patterninde, bazen de myometriuma doğru uzandığı

izlenebilen beyaz renkli tümör şeklindedir. Fokal veya diffüz olabilir. Polipoid kitle şeklinde de görülebilir. Myometrial invazyon varlığında uterus büyümüş olarak görülebilir (4).

### **Mikroskopi:**

Endometrial karsinomun grade'ini, tümörün mikroskopik görüntüsü belirler. Gradeleme, yapısal ve nükleer özelliklere göre yapılır (4, 63).

### **Nükleer Derecelendirme:**

**Grade 1:** Nükleus oval, hafif büyük, ince dağınık kromatine sahiptir.

**Grade 2:** Grade 1 ve Grade 3 arası nükleer özelliklere sahiptir.

**Grade 3:** Nükleus belirgin büyük, pleomorfik, düzensiz kaba kromatine sahip ve belirgin eozinofilik nükleol içerir.

**Yapısal Derecelendirme:** Tümörün iyi diferansiye gland yapıları dışında içerdiği solid alan oranına göre yapılır.

**Grade 1:** Tümörde %5'i aşmayan solid alan varlığı.

**Grade 2:** Tümörde %6-50 oranında solid alan varlığı.

**Grade 3:** Tümörde %50'den fazla solid alan varlığı.

Solid alan değerlendirilirken, skuamöz komponent hariç tutulmalıdır. Belirgin nükleer atipi (belirgin nükleol içeren, iri pleomorfik nükleus) varlığında histolojik grade bir derece artırılmalıdır (63).

Tip 1 (endometrioid ve müsinöz) endometrial adenokarsinomlarda, International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) Evreleme Sistemine göre gradelemede hem nükleer hem yapısal kriterler kullanılır.

### **Cerrahi Evreleme**

Cerrahi evreleme tanı sırasında hastalığın yayılımını belirler. Prognozu belirlemede ve tedavi planının oluşturulmasında kullanılır.

Endometrial kanserlerin 2009 International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) evrelemesi Tablo 2.3'te izlenecektir (4).

Tablo 2.3. Endometrial kanserlerin FIGO evrelemesi, 2009

IA	G123	Tümör myometriyumun ½'sinden azını tutmuş
IB	G123	Tümör myometriyumun ½'sinden fazlasını tutmuş
II	G123	Tümör servikal stromayı tutmuş
IIIA	G123	Tümör seroza ve/veya adneksleri tutmuş
IIIB	G123	Vajinal ve /veya parametrial tutulum
IIIC1	G123	Pelvik lenf nodlarına metastaz
IIIC2	G123	Paraaortik lenf nodlarına metastaz
IVA	G123	Mesane ve/veya barsak mukozasına invazyon
IVB	G123	İntraabdominal ve/veya inguinal lenf nodlarını da içeren uzak metastaz

### Tip1 Endometrioid Adenokarsinom

Endometrial karsinomların %80'i endometrioid tiptedir (35). Çoğu endometrioid karsinom, malign kolumnar epitelyal hücrelerle döşeli, histolojik olarak iyi diferansiye glandlarla karakterizedir. Tüm alt grupları, farklı diferansiyasyon gösterebilir, ancak bunlar %10'u geçmez.

Tümörü değerlendirirken 3 önemli parametreye dikkat edilmelidir:

1. Glandüler pattern
2. Nükleer atipi derecesi
3. Non-endometrioid hücrel diferansiyasyon (2).

Endometrioid adenokarsinomda malign glandlar, normal proliferatif faz endometriumu andırır ancak;

- > normale göre daha büyük ve irregülerdir
- > kribriiform büyüme patternine sahiptir
- > glandlar arası stroma minimaldir ya da yoktur
- > villoglandüler yapılar
- > atipili hiperplaziye aşan malign nükleer özellikler (nükleer polarizasyon kaybı, nükleusların yuvarlaklaşp, nükleollerin belirginleşmesi)
- > gland lümenlerinde nükleer debris ve polimorfonükleer lökositlerin varlığı
- > glandlar arası stromada desmoplazi varlığı adenokarsinom lehinedir (36, 64).

Karsinomun myometrial invazyonunun sıklığı ve yaygınlığı, doğrudan tümörün mikroskopik derecesi ile ilişkilidir. Myometrial invazyon varlığı tanıyı koydurur. Ancak küretaj spesmenlerinde saptamak zordur (44). Küretaj spesmenlerinde iyi diferansiye adenokarsinom tanısı için endometrial stromal invazyon varlığı gereklidir (44).

Endometrial stromal invazyon için 3 temel kriter vardır;

1-Konflüen glandüler pattern, arada stroma bulunmaz ve kribriform pattern oluştururlar

2-Yoğun papiller pattern

3-Desmoplastik stromal cevap (44, 65-68).

İyi diferansiye adenokarsinom tanısı için histerektomi spesmenlerindeki myoinvazyonu gösteren histolojik özellikler; kompleks glandüler arşitektürel pattern (glandüler devamlılık, gland içindeki kompleksite ve papiller arşitektür) ve atipili hiperplazilerdekine benzer sitolojik atipi (küçük büyütmede belirgin makronükleolus ve belirgin nükleer pleomorfizm) varlığıdır (44). Mckenney ve ark.'nın (44) bu kriterleri kullanarak yaptıkları çalışmalarında iyi diferansiye endometrioid adenokarsinomlarda myometrial invazyon riskini %20 olarak değerlendirmişlerdir.

Glandüler diferansiasyonun azalıp, tümörün daha çok solid hücre tabakalarından oluşması, yüksek grade olarak sınıflandırılır. Yüksek gradeli tümörlerde derin myometrial invazyon ve lenf nodu metastazı daha fazla görülmekte olup, yaşam süreleri daha kısadır (3). Myometrial invazyon varlığı değerlendirilirken, myometriuma gerçek tümör uzanımından, endomyometrial bileşkenin genişlemiş olmasından ve adenomyozis odağındaki malign değişikliklerden ayrımı önemlidir (4).

Gerçek myometrial invazyon desmoplazi ve gland çevresindeki myometriumda gevşeme ile karakterize olup, kronik inflamasyon da eşlik eder ve gland sınırları düzensizdir. Adenomyozis odaklarını tutan karsinomlarda ise gland şekilleri düzgün olup desmoplazi ve kronik inflamasyon gözlenmez ayrıca normal endometrial stromal hücrelerce eksprese edilen CD10'un myometriumda adenokarsinom çevresindeki hücrelerce eksprese edilmesi onun adenomyozis odağı olduğunu destekler (4).

Yaklaşık %10 olguda serviks uzanım mevcuttur, genellikle endometrial karsinomun direkt invazyonuyla oluşur. İnvazyon makroskopik olarak belirgin olabilir ya da mikroskopik incelemede farkedilir (4).

### **Endometrial Karsinom Tipleri -Modifiye WHO sınıflaması**

- Endometrioid Adenokarsinoma
  - Skuamöz Diferansiyasyon Gösteren
  - Villoglandüler
  - Sekretuar
  - Silyalı
- Müsinöz Adenokarsinom
- Seröz Adenokarsinom
- Berrak Hücreli Adenokarsinom
- Skuamöz Hücreli Karsinom
- Mikst Tipte Adenokarsinom
- Transizyonel Hücreli Karsinom
- Nöroendokrin Karsinom (Küçük Hücreli-Büyük Hücreli)
- Andiferansiye Karsinom

### **İmmunhistokimyasal Özellikler**

Endometrial adenokarsinomlar keratin (özellikle keratin 7, 8, 18 ve 19), vimentin, CA-125, EMA, Ber-EP4, B72.3 pozitifdir.

Yaklaşık olarak tüm endometrioid adenokarsinomlar CK 7 pozitifken, CK 20 negatiftir (69). Genellikle müsinöz diferansiyasyon gösteren varyantları CDX2 ve CEA ekspresyonu gösterirler (70).

Schlosshauer ve ark.'nın (71) çalışmasında B-katenin ve E-cadherin gibi hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunun histolojik tip ile ilişkili olduğu ve her ikisinin de endometrioid karsinomda bulunma eğilimi gösterirken, seröz karsinomda bulunmadığını belirtmişlerdir.

Çoğu olguda östrojen ve progesteron reseptörü; tümörün evresi, FIGO grade'i ve nükleer grade'i ile korele olarak pozitif bulunur. FIGO Grade 1 ve 2 endometrioid adenokarsinomlar östrojen ve progesteron ekspresyonu gösterirken, seröz, berrak

hücreli ya da andiferansiye olmayan FIGO Grade 3'ün yaklaşık yarısında östrojen ve progesteron pozitifdir (4).

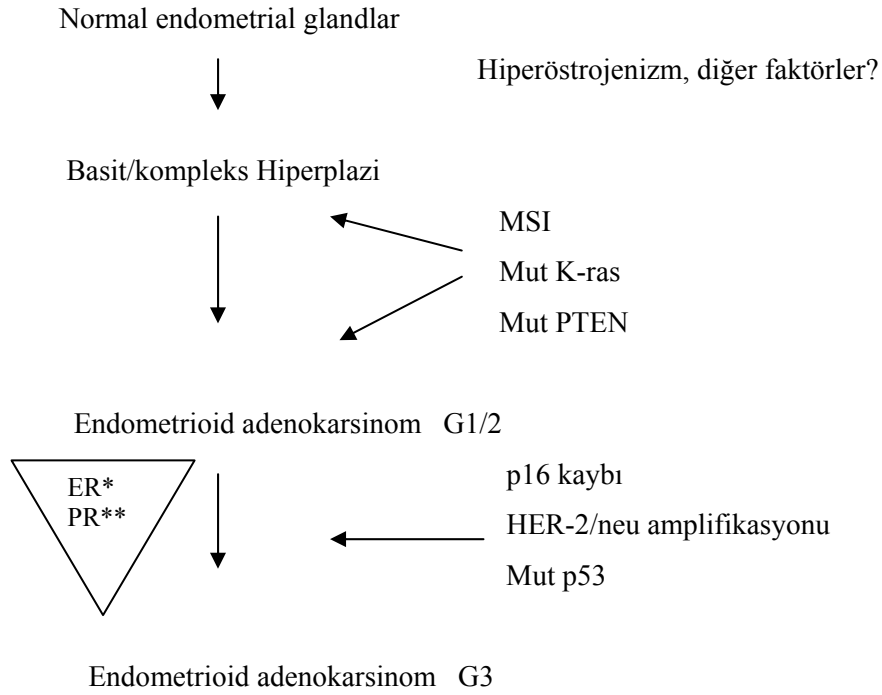
Endometrial seröz karsinomların yaklaşık %75'inde p53 pozitifdir (72), ayrıca güçlü ve diffüz p16 pozitifliği de seröz karsinomun karakteristik özelliğidir. Ovaryan, tubal, primer peritoneal seröz karsinomlarda diffüz pozitif olan Wilm's tümör gen-1 (WT-1), endometrial seröz karsinomlarda negatifdir (4, 73, 74).

Glikoz transporter-1 (GLUT-1) çoğu atipili hiperplazi ve adenokarsinomlarda eksprese edilir, fakat bazı yayınlara göre normal endometriumda veya atipisiz basit ve kompleks hiperplazilerde bulunmaz (75).

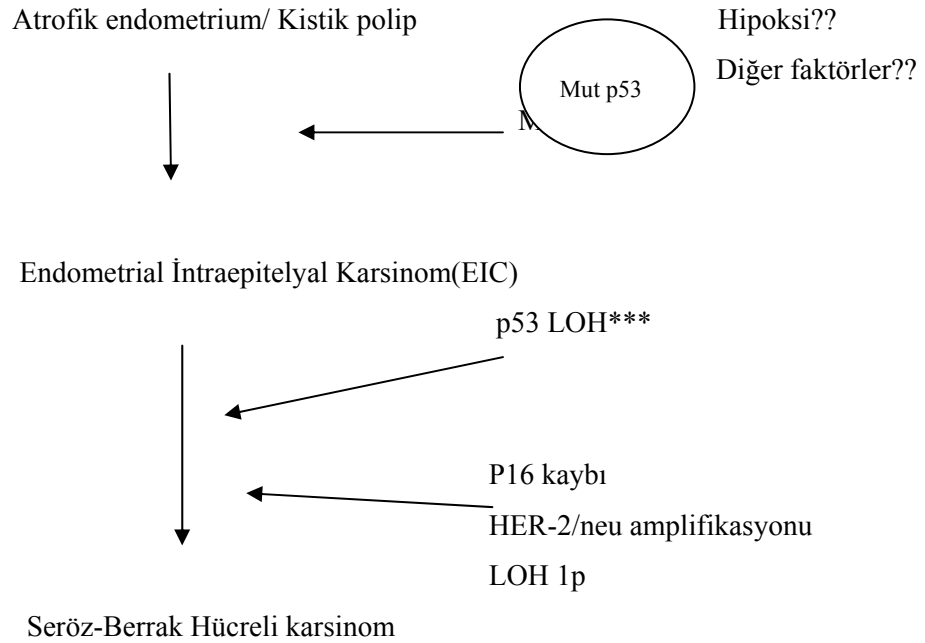
### **Moleküler Genetik Özellikler**

Endometrioid karsinomlarda saptanan 4 majör genetik anomali; mikrosatellit instabilitesi, PTEN,  $\beta$ -katenin ve K-ras genlerindeki mutasyonlar iken, nonendometrioid karsinomlarda sıklıkla p53 mutasyonu ve çeşitli kromozomlarda heterozigosite kayıpları mevcuttur (76-79). p53 aşırı ekspresyonu ile hormon reseptör durumu arasında ters ilişki vardır. Bu farklılıklar endometrial neoplazilerin iki majör tipinin farklı patogenetik mekanizmalara sahip olduğunun göstergesi olarak yorumlanır (Şekil 2.1) (2) (80).

### Tip 1 Endometrial Kanser



### Tip 2 Endometrial Kanser



\*ER: östrojen, \*\*PR: progesteron, \*\*\*LOH: Loss of heterozygosite

Şekil 2.1. Tip1 ve Tip 2 endometrium kansinomlarının patogenetik mekanizmaları

(2).

Endometrial adenokarsinom klinikopatolojik ve moleküler genetik özelliklerine göre 2 gruba ayrılır; tip1 (endometrioid), tip2 (non-endometrioid). Bu alt gruplar sırasıyla PTEN ve P53 tümör supresör genlerinin mutasyonu ile karakterizedir. Bu genlerdeki delesyon ve/veya mutasyonlar tümörün erken evrelerinde gelişir (1, 3).

Endometrioid adenokarsinomlarda mikrosatellit instabilitesi, K-ras ve  $\beta$ -katenin mutasyonları, diğer sık görülen genetik değişikliklerdir. Mikrosatellit instabilitesi, tümöral hücrelerde, hastanın normal dokusuna kıyasla, mikrosatellit adı verilen, tekrarlayan kısa DNA sekanslarının uzunluğundaki değişikliklerdir. Sporadik endometrial karsinomlarda yaklaşık %20 oranında görülür. K-ras, hücre büyüme ve diferansiyasyon regülasyonunda rol oynayan bir proteini kodlar. Endometrial karsinomlarda K-ras proto-onkogen mutasyonu %10-30 oranında tanımlanmıştır (72, 81).  $\beta$ -katenin gen mutasyonu ise %15-20 oranındadır ve sıklıkla skuamöz diferansiyasyon alanlarındadır (7). PTEN gen mutasyonları gibi karsinogenezin erken dönemlerinde oluşur.

### **Yayılım ve Metastaz**

Endometrium karsinomunun lokal yayılımında myometriyum ve serviks yer alır ve önemli prognostik faktörlerdir.

Endometrioid tip endometrium karsinomunun en sık uterus dışı yayılımı; pelvik, paraaortik lenf nodları ile overlerdir.

Nodal metastaz, evreye bakmaksızın invaziv yüksek dereceli tümörlerde, geniş çaplı ve/veya derine invaziv tümörlerde, servikal ve vasküler invazyon gösteren tümörlerde daha yüksek olasılıkla bulunur.

Endometrial karsinomun uzak metastazları en çok; akciğer, karaciğer, kemik, merkezi sinir sistemi ve deriye (skalp) olur (4, 82).

### **Prognostik Faktörler**

Jinekolojik Onkoloji Grubu'nun çalışmaları zemininde, endometrial karsinom için risk faktörleri, uterusu ait ve uterus dışı şeklinde gruplanmıştır (Tablo 2.4).



Tablo 2.4. Endometrial karsinomda tanımlanan prognostik faktörler.

<b>Uterusa Ait Faktörler</b>	<b>Uterus Dışı Faktörler</b>
1.Histolojik tip	1.Adneks invazyonu
2.Grade ve Evre	2.Peritoneal invazyon
3.Myometrial invazyon derinliği	3.Pozitif peritoneal sitoloji
4.Servikal invazyon	4.Pelvik ve paraaortik lenf nodu metastazı
5.Vasküler invazyon	
6.Atipik endometrial hiperplazi varlığı	
7.Hormon reseptör durumu	
8.DNA ploidi ve S faz fraksiyonu	

Uterus dışına yayılımı, serviks ya da vasküler invazyonu olmayan hastalarda rekürrens oranı düşüktür. Bu üç faktörden birinin varlığında rekürrens sıklığı %20, ikisinin varlığında %43, üçünün de varlığında ise %63'tür (83).

### **1.Histolojik Tip:**

Tümörün histolojik tipi yaşam süresini etkiler. Endometrioid kanserlerde 5 yıllık yaşam oranı % 66-75 olarak bulunmuştur. Seröz tip ve berrak hücreli tip agresif seyirli iken, grade 1 endometrioid adenokarsinom ve sekretuar karsinom iyi prognozlidir (84).

### **2.Grade ve Evre:**

FIGO evrelemesi önemli bir prognostik faktördür. Hastaların çoğu (% 75-80) evre I'de bulunur ve bu hastaların 5 yıllık yaşam oranları sırasıyla grade 1 tümörlerde %92,1, grade 2 tümörlerde %87,5, grade 3 tümörlerde %74,5'tir (85).

Beş yıllık yaşam oranı Evre II hastalarında % 50-60 olup, evre III'de bu oran % 15-25'e düşerken, evre IV'de daha da düşüktür. İleri yaşlarda evre I'de bulunan kadın oranı azalmaktadır (86).

Grade, invazyon derinliği ile ve aynı evredeki hastaların sağ kalım oranları ile koreledir (87) .

### **3.Myometrial İnvazyon Derinliği:**

Myometrial invazyon, tümörün grade'inden bağımsız olarak önemli bir prognostik faktördür. Özellikle evre 1 ve 2 hastalarının davranışını belirlemede önemlidir (88, 89). Myometrial invazyon görülmeyen vakalarda rekürrens oranları da oldukça düşüktür (83, 90).

Ayrıca myometrial invazyon derinliği ile lenf nodu metastaz sıklığı birbiri ile ilişkilidir. Grade 1 tümörlerde myometriyumun üçte bir iç kısmını tutan tümörlerde lenf nodu metastazı görülmezken, üçte bir dış kısmının tutulumunda lenf nodu metastazı %25 oranında görülür. Aynı durum yüksek gradeli tümörler için de geçerlidir.

Myometrial invazyonu değerlendirirken, tümörün en derin olduğu yerin altındaki vasküler invazyon ölçüme dahil edilmemelidir.

Tümörün myometriyumu diffüz invaze ettiği durumda, neoplastik glandlar genellikle, kronik iltihap hücrelerini içeren gevşek fibröz stroma ile çevrilidir.

Ayrıca myometrial invazyonun, karsinomun adenomyozis odaklarına ilerlemesinden ayrımı önemlidir. Çünkü gerçek tümöral invazyon derinliğinden daha derinde bulunan adenomyoziste karsinomun varlığı prognozu kötüleştirmez (91-93).

### **4.Servikal İnvazyon:**

Servikal tutulumda; yüksek grade, invazyon derinliğinde ve tümör volümünde artış yüksek rekürrens oranıyla ilişkilidir. Uterusa sınırlı ama servikal stromaya uzanım gösteren tümörler evre II, endoservikal gland veya yüzey epitelinde tutulum varsa evre I olarak sınıflandırılır (4).

### **5.Vasküler İnvazyon ve Lenf Nodu Metastazı:**

Uterusun endometrioid adenokarsinomlarında sık görülmeyen bir bulgu olsa da, derin myometrial invazyon, agresif hücre tipleri ve azalmış histolojik diferansiasyon ile sıklığı artış gösterir (94, 95).

Evre I adenokarsinomda önemli bir prognostik faktördür. Perivasküler lenfositik infiltrasyon sıklıkla vasküler invazyon ile ilişkilidir (96).

Inoue ve ark. (86) vasküler invazyonlu hastalarda beş yıllık yaşam oranını %73.4 olarak bulurken, vasküler invazyonu olmayan kadınlarda bu oranı %91.5 olarak bulmuşlardır.

Endometrioid endometrial adenokarsinomlu vakaların yaklaşık %10'unda pelvik lenf nodu metastazı görülür (97). Bunların da üçte birine paraaortik lenf nodu tutulumu eşlik eder. Ekstrauterin faktörler arasında en önemli prognostik faktör paraaortik lenf nodu tutulumudur ve metastatik lenf nodu sayısı arttıkça yaşam süresi kısalır (83, 98).

Tümör anjiogenezinin bir göstergesi olan mikrodamar yoğunluğu artmış hastalarda 5 yıllık yaşam oranı ( % 78,1), düşük mikrodamar yoğunluğuna sahip olgularla (%95.4) karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşüktür ( $p<0.0096$ ) (86).

### **6. Atipili Endometrial Hiperplazi Varlığı:**

Atipili hiperplazi ve bazı metaplazilerin (özellikle silyalı ve eozinofilik değişiklik) varlığı, düşük gradeli ve invazyon göstermeyen tümörlerle koreledir. Yüksek gradeli tümörler ise atrofik endometriumlarda sık görülür (99-101).

### **7. Hormon Reseptör Durumu:**

Çok sayıda çalışmada hormon reseptör varlığı histolojik diferansiasyon, FIGO evresi ve sağkalım süreleri ile korele olarak değerlendirilmiştir (102-104). Östrojen reseptörü ve progesteron reseptörü bulunması daha iyi prognozla ilişkilidir.

Grimshaw ve ark.'nın (105) yaptığı bir çalışmada pozitif peritoneal sitolojinin yüksek grade, derin myometrial invazyon veya uterus dışı yayılım gibi rekürrens riskini arttıran durumlarla ilişkili olarak değerlendirilmiştir. Pozitif peritoneal sitoloji evreyi değiştirmez ancak raporda belirtilmelidir (4).

### **2.5. Adenomyozis ve Endometriozis**

Endometrial gland ve stromanın myometriyumda bulunması adenomyozis, endometrial dokunun uterus dışında gözlenmesi endometriozis olarak isimlendirilir. Bu iki hastalık ilişkili patolojiler olsalar da, genellikle bazal endometrium niteliği taşıyan adenomyozis odaklarının divertiküler bir gelişim olması nedeniyle bu iki lezyonun patogenezinin farklı olduğu belirtilmektedir.

Adenomyozisin patogenezinde endometriyumun bazal tabakasının myometriyuma invajinasyonu en çok kabul gören teoridir. Bazen mukoza ile ilişkili olabilir.

Endometriozis ise endometriumun fonksiyonel tabakasından kaynaklanır ve normal endometrium gibi proliferatif, sekretuar ve menstrüel değişikliklere uğrar.

Adenomyozis, üreme çağının geç dönemlerinde ya da perimenopozal dönemde %15-20 oranında görülür. Hastalar genellikle multipardır, %5-10 oranında nulliparlarda da izlenir. Klinik olarak pelvik ağrı ve dismenoreye sebep olur. Makroskopik olarak myometrial hipertrofi sonucu uterus büyümüş ve yuvarlak görünümündedir. Myometrium içinde bir kısmı kanamalı küçük kistik alanlar şeklinde görülebilir (106).

Mikroskopik olarak tanı için endometrial gland ve stromanın myometrium içinde endometrial-myometrial bileşkeden en az bir büyük büyütme alanı kadar uzakta olması gereklidir. Progesteronun bu ektopik odaklara etkisi azdır. Eksternal endometriozisten farklı olarak, adenomyozis odaklarında belirgin kanama eğilimi ve inflamatuvar cevap yoktur. Hücrel atipi nadirdir (107).

Endometriozis %1-7 oranında görülür. Endometriozis odakları en sık sırasıyla over, tuba uterina, uterin ligamentler, rektovajinal septum, pelvik periton ve laparotomi skar alanlarında bulunur. Ayrıca vajen, umblikus cildi, vulva, apendiks vermiformis, barsaklar, herni kesesi ve çok nadiren akciğer, plevra, lenf nodu ve böbrekte de saptanabilir. Bu lezyonlar sıklıkla ağrı ve kısırlığa neden olur. Makroskopik incelemede milimetrik siyah-kahverengi odaklar halinde olabildikleri gibi 7-8 cm'e ulaşan içi kahverengi eski kanama içeren büyük kistik yapılar (çikolata kisti) şeklinde de görülebilirler. Mikroskopik olarak üç bulgudan ikisinin varlığı endometriozis tanısı için gereklidir;

1-endometrial gland,

2-endometrial stroma ve

3-hemosiderin yüklü makrofajlar (108).

Stromal komponent metaplastik değişikliklere uğrayabilir (109).

Endometriozis patogenezinde çok sayıda patogenetik teori vardır.

**1-Regürjitasyon teorisi:** Endometrial dokuların, menstrüasyonda tuba uterina yoluyla retrograd olarak pelvik kaviteye ulaşması ve ektopik olarak yerleşmesidir. Özellikle müllerian anomalisi olanlarda puberteyi takiben ortaya çıkabilir.

**2-Metaplastik teori:** Overin yüzey epiteli de dahil olmak üzere tüm pelvik mezotel, çöломik epitelden gelişir. Embriyolojik gelişim sırasında çöломik epitel, müllerian

epitele kaynaklık eder ve müllerian epitelden de serviksin müsinöz epiteli, endometrial epitel ve tubanın seröz epiteli gelişir. Bu bilgilerle, pelvik mezotelin müllerian metaplazi sonucu endometrial dokulara dönüştüğü öne sürülmektedir.

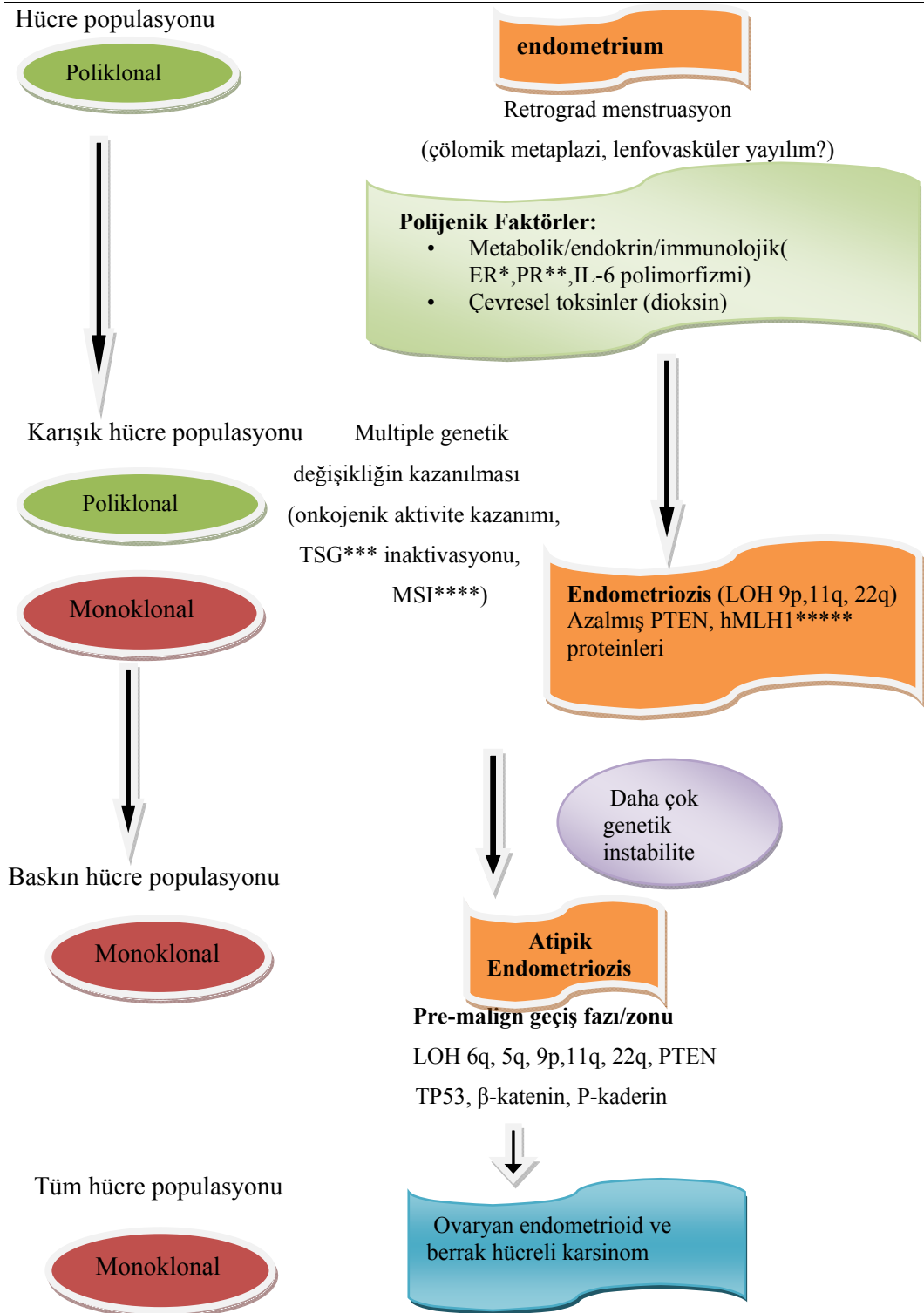
**3-Lenfatik veya hematojen yayılım teorisi:** Endometrial odakların lenfatik veya vasküler yolla diğer organlara ulaşması ve yerleşmesidir. Özellikle akciğer ya da lenf nodu gibi ekstrapelvik organlardaki gelişimi açıklayabilen tek varsayım budur.

**4-İndüksiyon:** Bu transformasyona endojen bir ajanın yol açtığı teoridir.

**5-Çevresel toksinler:** Kronik dioksin maruziyetinin de endometriozise yol açtığı hayvan deneylerinde gösterilmiş ve endometriozisli olgularda dioksin düzeylerinde artış saptanmıştır.

**6-Genetik:** Endometrioziste herediter bir yatkınlık vardır. Prevalans %7'dir. Geçiş polijenik multifaktoriyeldir (Şekil 2.2) (110).

---

**Klonalite****Genetik**

\*ER: östrojen, \*\*PR: progesteron, \*\*\*TSG: tümör süpressör gen, \*\*\*\*MSI: mikrosatellit instabilite,

\*\*\*\*\*hMLH-1: Mismatch repair genes human mutL homolog 1

Şekil 2.2. Endometriozisten kanser gelişiminin klonalite ve genetikle ilişkisi.

Malign transformasyon potansiyeline sahip olan endometriozisin neoplastik bir durum olduğu hipotezi destekleyen çok sayıda güçlü klinikopatolojik, moleküler ve genetik kanıtlar mevcuttur. Sporadik kanserler gibi endometriozisin de genetik polimorfizm, somatik olarak kazanılmış genetik değişiklikler ve çevresel faktörlerin kompleks etkileşiminden geliştiği düşünülebilir (111, 112).

Ayrıca endometriozisli kadınlarda hücrel ve humoral immunitede de değişimler bulunmuştur (113).

Bu teoriler arasında en yaygın görülen ve en önemli mekanizma; metaplastik teoridir (114).

PTEN, PI3K sinyal yolağının doğal bir inhibitörüdür. PTEN ekspresyonunun azalması endometriumda Akt/PKB'nin ve sonrasında gelen yaşam sinyallerinin aktivasyonuna neden olur (115). Büyüme faktörü benzeri kemoatraktan ajanlar, endometrial hücrelerin PI3K/Akt yolağı boyunca migrasyonunu stimüle ederek endometriozis gelişimini kolaylaştırır (116).

Endometrioziste adenomyozise benzer şekilde metaplastik, hiperplastik ve atipik değişiklikler gözlenebilir (117, 118). Atipik endometriozis sitolojik veya arşitektürel atipiye sahip endometrial glandlarla karakterizedir, ovaryan endometriozislerde %12-35 oranında gözlenir. Endometriozis ilişkili ovaryan kanserlerin yaklaşık %60-80'i atipik ovaryan endometriozis varlığında oluşur. Bu vakaların %25'i atipik olmayan formdan atipili ve malign varyantlara altta yatan premalign geçiş spektrumu ile direk geçiş gösterir. Ayrıca endometriozis odakları malign transformasyon gösterebilir (119) ve en sık kaynaklık ettiği endometrioid (%75) ve berrak hücreli (%5) adenokarsinomlardır (120-122), daha nadir olarak endometrial stromal sarkom ve malign mikst müllerian tümörler de rapor edilmiştir (123).

Ayrıca endometriozisi olan olgularda, endometrial ve ovaryan kanserlerin özellikle endometrioid tiplerinin senkron olarak görülme risklerinin artmış olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (124).

Tedavileri hormonal veya cerrahi olabilir (125).

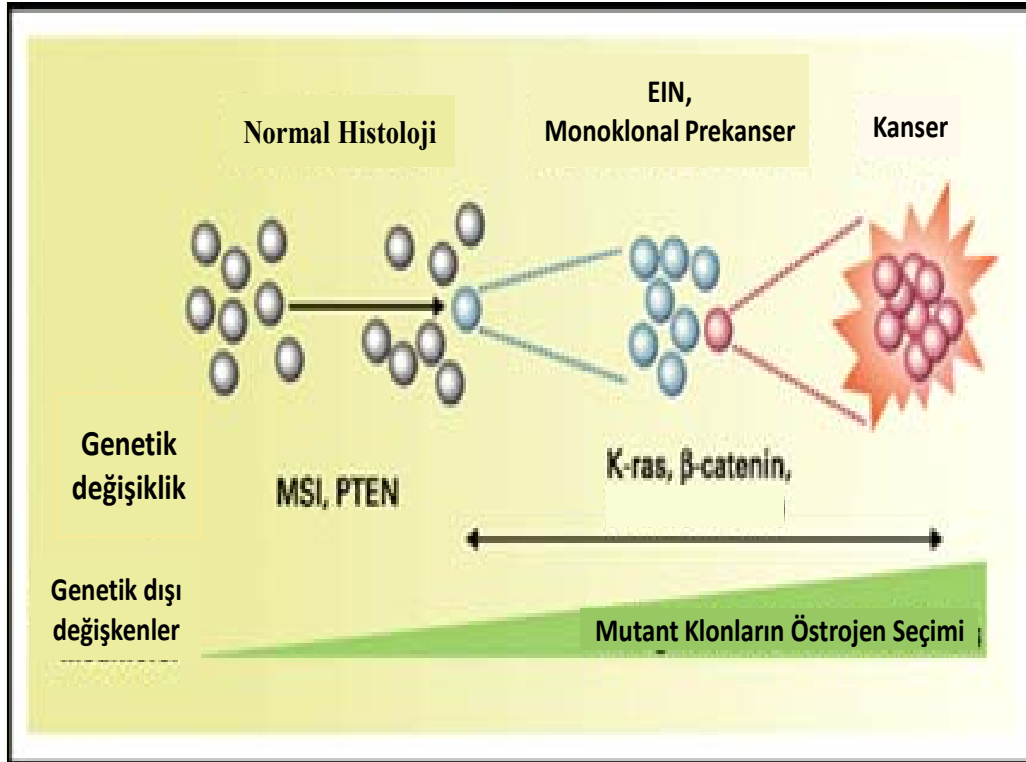
## 2.6. Endometrial İntraepitelyal Neoplazi (EIN)

Son yıllarda moleküler genetik analizin de katkısı ile endometrial adenokarsinomların gelişim yolları daha iyi anlaşılmasına başlandı. Bilindiği gibi endometrium adenokarsinomları iki ayrı yolda gelişim göstermektedir. Östrojen etkisi ile gelişen ve endometrioid tip adenokarsinoma giden birinci yolda meydana gelen moleküler değişiklikler büyük oranda aydınlatılmıştır. Bu yeni bilgilerin ışığında Mutter ve ark. (8) endometrial hiperplazileri yeniden sınıflandırmışlardır. Buna göre poliklonal proliferasyonlar neoplastik olmayan hücrel çöğalmalar olarak değerlendirilip “endometrial hiperplazi” olarak adlandırılırken, monoklonal proliferasyonların karsinoma ilerleme risklerinin (öncül lezyonlar) yüksek olması nedeniyle “EIN” olarak adlandırılması önerilmiştir (50). Bu önerilen sadece bir isimlendirme kolaylığı değildir; sınıflandırma histogeneze uygundur ve ayrıca kişiler arası uyumu da arttıracığı öne sürülmektedir. Endometrial kanserlerin histogenezini temel alan bu sınıflandırma büyük bir heyecan yaratmakla birlikte henüz günlük pratikte yaygınlık kazanmamıştır ve klinik olarak da sadece küçük vaka serilerinde sınırlanmıştır.

WHO klasifikasyonuna alternatif olarak son dönemde, endometrial kollaboratif grup tarafından, klinik sonuçlar, moleküler değişiklikler ve objektif bilgisayarlı histomorfometrinin histopatolojik korelasyonu ile EIN’in diagnostik kriterleri geliştirilmiştir (8). EIN, histopatolojik olarak endometrial adenokarsinomun öncüsü olan endometrial glandların monoklonal preinvaziv proliferasyonu olarak tanımlanır. EIN tanısının moleküler temelinde, lezyonların monoklonal olma özelliği ve kansere dönüşümde rol oynayan mutasyonlar yatar (50).

Endometrium kanseri gelişimine neden olan genetik değişiklikler ve genetik dışı faktörler Şekil 2.3’te görülmektedir.





Şekil 2.3. Endometrium kanseri gelişimine neden olan genetik değişiklikler ve genetik dışı faktörler.[Hecht ve ark'nın çalışmasından alınmıştır(1).]

Bu yeni EIN sınıflamasında 3 hastalık grubu fonksiyonel, tanısal ve terapötik özelliklerine göre sınıflandırılmıştır (Tablo 2.5) (9).

Tablo 2.5. EIN Terminoloji, Teşhis ve Tedavi Şeması.

EIN Terminoloji	Topografi	Fonksiyonel Kategori	Tedavi
Benign Hiperplazi	Yaygın	Östrojen Etkisi	Hormon Tedavisi
EIN (Endometrial Intraepitelyal Neoplazi)	Fokal ve yaygınlaşan	Prekanser	Hormon veya Cerrahi
Karsinom	Fokal ve yaygınlaşan	Kanser	Cerrahi, evreye göre

EIN tanısı histolojik özelliklerin bilgisayar yardımlı morfolometrik analizi veya subjektif olarak patologlar tarafından yapılabilir. EIN tanısının bilgisayar yardımlı analizi için prognostik temeli, glandüler hacmi, arşitektürü ve sitolojik anormallikleri gösteren D-skoru (DS) kullanılır (43, 49, 126). D skoru hesaplamasında kullanılan bu üç özellik hastalığın gelişimini bağımsız olarak tayin edebilir. Bilgisayarlı morfolometrik analize göre D skorunun hesaplaması şu şekilde yapılır:

D skoru=  $0.6229 + 0.0439 \times (\text{stroma hacim yüzdesi})$

$-3.9934 \times \text{Ln}(\text{en kısa nükleer aksın standart deviasyonu})$

$-0.1592 \times (\text{glandların dış yüzey dansitesi})$  (127).

Klinik çalışmalar göstermiştir ki, EIN tanısı alan hastaların %41'i bir yıl içinde endometrium kanseri tanısı alacak, bu süre içinde kanser tanısı almayanların ise ilerideki kanser riski 45 kat artacaktır (128). EIN tanısı alan hastalarda ileride kanser gelişme oranı, 1994 Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre atipili endometrial hiperplazi tanısı alanlara göre daha yüksektir. EIN tanısı alan hastaların ortalama yaşı 52'dir, bu yaş aynı toplumda endometrial adenokarsinom görülen hastaların ortalama yaşından 8 yaş daha küçüktür (128).

EIN lezyonları mutasyona uğramış endometrial hücrelerden monoklonal olarak gelişir, sitoloji ve arşitektürde meydana gelen değişiklikler onun arka plandaki poliklonal zeminden ayrımını sağlar (50, 51). PTEN geni, papiller seröz karsinomların aksine endometrioid tip karsinomlarda en sık inaktive olan genidir (129). PTEN aktivitesini immünohistokimyasal olarak gösteren monoklonal bir antikor olan '6h2.1' endometrioid tip karsinomlarda %83 oranında, EIN lezyonlarında %63 oranında negatif olarak bulunmuştur (9).

1994 Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre D-skoru  $<1$  veya stroma hacmi yüzdesi (VPS)  $< \%55$  olan hiperplazi vakaları EIN olarak tanımlanmaktadır. Bu lezyonlar gerçek neoplastik monoklonal lezyonlardır ve tedavi edilmezlerse kansere dönüşüm riskleri D-skoru  $>1$  olanlara göre 89 kat fazladır (130). Buna karşın D-skoru  $>1$  veya stroma hacmi yüzdesi (VPS)  $> \%55$  olan hiperplazi vakaları poliklonaldır, neoplastik özellik taşımazlar ve progresyon göstermezler. Östrojenik ortamın neden olduğu bu lezyonlar uygun şekilde tedavi edilirlerse zararsız olarak kabul edilmelidirler (9).

Objektif tanı için kullanılan D-skorum yanı sıra morfometri kullanmadan günlük pratik için önemli olan subjektif değerlendirmede kullanılan parametreler Tablo 2.6'da verilmiştir.

Tablo 2.6. Subjektif Histolojik EIN Kriterleri: Tüm kriterler karşılanmalıdır (9, 128).

EIN kriterleri	Yorum
Arşitektür	Glandüler alanların stromal alanlardan fazla olması
Sitoloji	Arşitektürel olarak kalabalık olan odağın zeminden sitolojik olarak farklı olması
Çap>1mm	Tek odakta lezyonun maksimum uzun ekseninin 1mm'den büyük olması
Benign taklitçilerin dışlanması	Basal endometrium, sekretuar aktivite, polipler, onarım, vb
Kanserin dışlanması	Kribriform yapı yada solid alanlar içeren labirent benzeri glandların varlığı karsinomu düşündürür.

Ancak burada önemli olan grup yapmış olan glandların hepsi bu kriterleri karşılamalıdır. Arşitektürel özellikler değerlendirilirken mikroskopta küçük büyütme, sitolojik özellikler değerlendirilirken ise büyük büyütme kullanılması önerilir.

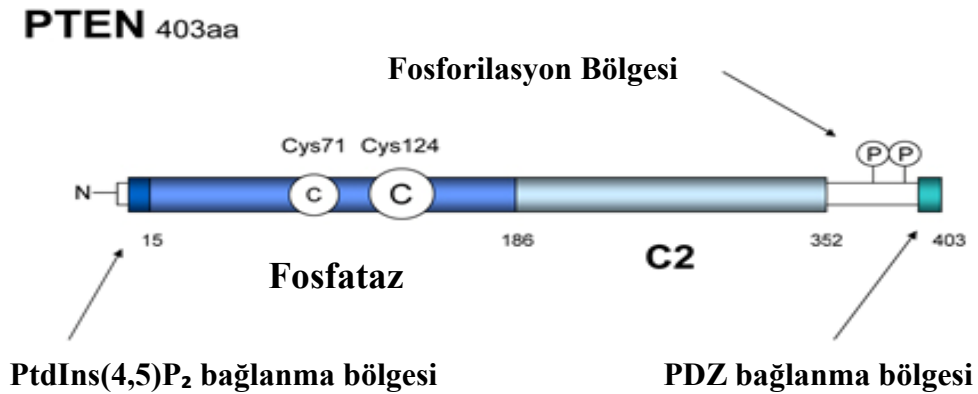
EIN'in subjektif değerlendirmedeki sitolojik kriterleri ise; nükleus boyut ve şeklinde değişiklikler, kümelenmiş veya granüler kromatin ağı, nükleolusta değişiklik, nükleus-sitoplazma oranında değişiklik ve sitoplazmik diferansiasyondur. Subjektif değerlendirme hiçbir zaman D-skorum güvenilirliğini yakalayamasa da D-skorum en iyi prediktif değişkeni VPS ile zeminden arşitektürel ve sitolojik olarak farklı olan lezyonların fokal dağılımlı olması patoloğa değerlendirme sırasında daha fazla fayda sağlar (9).

EIN lezyonları için endometrial hiperplazilerde olduğu gibi östrojenler aktive edici, progesteron ajanları ise koruyucu özelliktedir. EIN lezyonları yüksek seviyelerde nükleer östrojen ve progesteron reseptörleri içerirler ve önceden mutasyona uğramış hücreler için karşılanmamış östrojenin klonal büyümeyi desteklediği düşünülmektedir. Endometrial glandlarda fizyolojik PTEN protein

ekspresyonu en yoğun olarak, tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonlarının en çok gerekli olduğu mitozun yaygın olduğu östrojenden zengin ortamda olur. Bu nedenden dolayı PTEN mutant hücreler östrojen uyarısıyla selektif bir proliferasyon özelliği kazanırken, genetik olarak sağlam glandlarda progesteron PTEN ekspresyonunu engelleyecektir. Sonuç olarak EIN'lerin çoğu benign endometrial hiperplazi zemininden gelişir ve tanıyı da bu sırada alırlar (128).

### PTEN

PTEN'in yapısı Şekil 2.4'de verilmiştir.



Şekil 2.4. PTEN' in yapısı (131).

Endometrial karsinomlarda son otuz yılda çok sayıda kansere neden olan gen bulunmuştur. Son zamanlardaki çalışmalarda endometrioid karsinomlarda en sık değişen gen PTEN tümör baskılayıcı gendir, vakaların %30-83'ü mutasyonludur (132, 133). PTEN'in germline mutasyonları, Cowden sendromu ve Bannayan-Zonana sendromu gibi herediter kanser predispozan sendromlarının gelişimine neden olur (134).

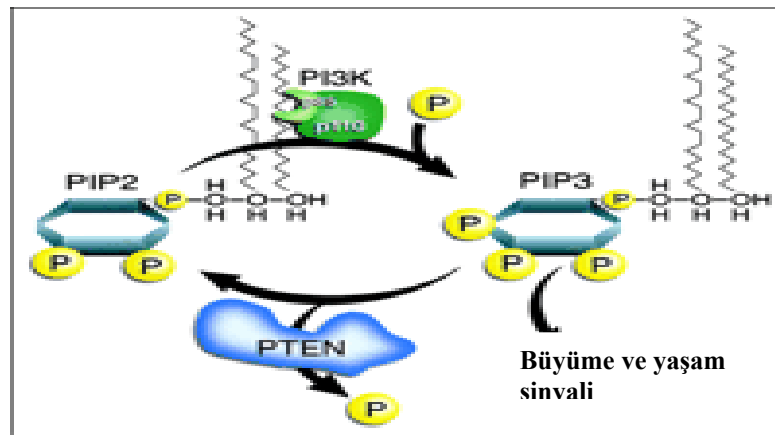
PTEN'in; promoter hipermetilasyon, mutasyon, delesyon, psödogen oluşumu, protein modifikasyonları, protein-protein etkileşimleri gibi çok sayıda mekanizma ile ekspresyonu düzenlenir (135).

PTEN inaktivasyonu sıklıkla beyin, prostat ve uterin kanserlerde heterozigosite yitimi ile mutasyon sonucu oluşur. Ayrıca PTEN somatik kanserlerde

promoter hipermetilasyonu, psödogen içeren veya içermeyen microRNA engeli, fosforilasyon gibi diğer mekanizmalarla da inaktive olabilir (135). Somatik kanserlerdeki inaktivasyon sıklığının yüksek olması nedeniyle p53'ten sonra ikinci en sık mutasyona uğrayan gen olarak belirlenmiştir.

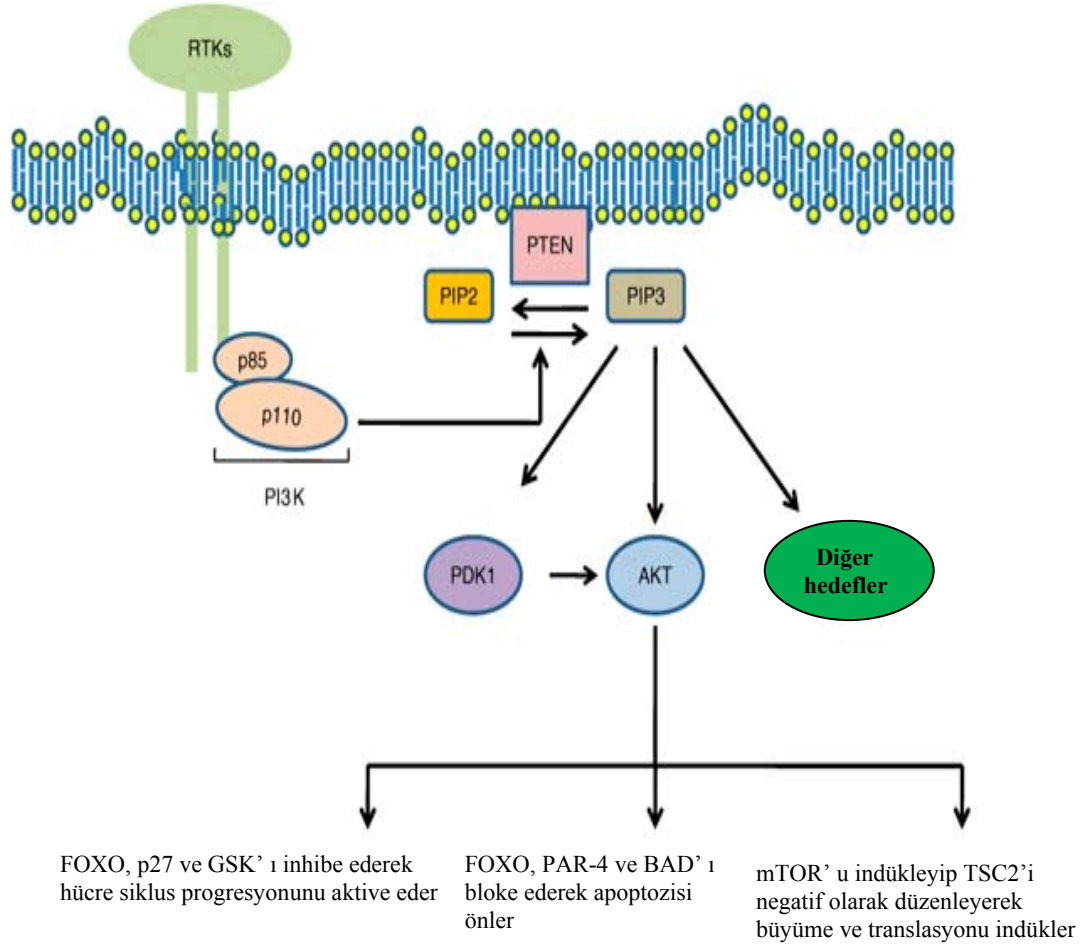
Eskiden MMAC1 ve TEP1 olarak da bilinen PTEN, 10q23.3'te lokalize olan bir lipid fosfatazdır (Şekil 2.5). Primer hedefi fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfat (PIP3) adı verilen membran lipid molekülüdür ve bundan fosfat grubunu ayırır. PIP3 hücre büyümesi ve apoptozu regüle eden sinyal iletim yolu üzerinde görev alır (136).

PTEN'in neden olduğu PIP3'ün defosforilasyonu, fosfatidilinositol-4,5-difosfatın (PIP2) PIP3'e dönüşümüne neden olan fosfatidilinositol 3 kinaz (PI3K) protein kompleksinin aktivitesini önler. Sonuçta PTEN'i inaktive eden mutasyonlar PIP3 seviyesinde artışa neden olur, bu da Akt/PKB'nin fosforilasyonunu içeren birçok olayı aktive eder. Akt/PKB; serin/treonin spesifik protein kinaz aktivitesine sahip olup hücre proliferasyonu, hücre büyümesi ve apoptozu içeren çok sayıda yolakta santral regülatör role sahiptir (Şekil 2.6) (134, 137).



Şekil 2.5. PTEN'in lipid fosfataz aktivitesi.

[Sansal ve ark.'nın makalesinden alınmıştır (134).]



Şekil 2.6. Kanserdeki PTEN/PI3K yolağının basitleştirilmiş şematik gösterimi.

[Keniry ve ark.'nın makalesinden alınmıştır (138).]

Akt/PKB PIP3'e bağlanınca, Akt/PKB Thr308 üzerinden PDK1 aracılığıyla ve Ser473 üzerinden rapamisinin memelilerdeki hedefi kompleks-2 (mTORC2) ile fosforile olur (139). Fosforile olup aktive olan Akt/PKB, hücre siklus progresyonu, glikoliz, anjiogenez ve protein sentezi inhibitörlerini inaktive eder. Ayrıca Akt/PKB, beyinde RAS homologundan zengin küçük ATPaz (Rheb) ve tüberöz skleroz kompleks protein-2 (TSC-2)'i fosforile ederek inhibe eder (140). Rheb, mTORC1'i aktive eder. Akt/PKB aktivasyonunun net sonucu hücrelerdeki protein sentezinin upregülasyonundan sorumlu mTORC1'in aktivasyonudur. mTORC1 protein sentezi ve hücre büyümesinde görev alır. mTORC1'in aktivasyonu PI3K-Akt sinyal yolağını inhibe eder. Böylece bu yolak kendini sınırlayarak düzenler (141, 142).

Akt/PKB ayrıca hücre proliferasyonunda görev alan glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3)'ü inhibe eder. Akt/PKB ayrıca apoptoz ve hücre siklus arrestinde görev alan FOXO'u fosforile ederek inhibe eder (143).

Sonuçta PTEN fonksiyon kaybı, Akt/PKB'nin, mTORC1'in fosforilasyonu ve aktivasyonuna neden olarak kontrolsüz hücre büyümesine neden olur.

PTEN'in ayrıca, hücre iskelet proteinlerinden ikisi (aktin bağlayan protein ve auxilin) ile yüksek oranda homoloji gösterdiğinden hücre adezyon ve migrasyonunda da etkili olduğu belirtilmiştir (144, 145).

Ek olarak PTEN'in integrin sinyal yolağında önemli göreve sahip olan Fokal adezyon kinazı (FAK) defosforile edilip tirozin fosforilasyon düzeyini azaltarak hücre büyümesinde, invazyonunda ve migrasyonunda inhibitör role sahip olduğu da gösterilmiştir (146).

PTEN aktivasyonu kontakt inhibisyona ve G0-G1 hücre siklus arrestine neden olur. PTEN'in aracılık ettiği kontakt inhibisyonla ilişkili hücre siklus arrestinde en önemli basamak p27'nin upregülasyonudur. Bunu da aktive olan Akt/PKB, p27'i fosforile ederek nükleusa girişini engeller ve sitoplazmik düzeyini arttırarak sağlar (27).

PTEN mutasyonu, Cowden ve Bannayan-Zonana sendromu gibi kalıtsal bozukluklarda ve glioblastoma, melanoma, prostat, akciğer, endometrium, baş-boyun bölgesindeki karsinomlar gibi çeşitli sporadik karsinomlarda da saptanmıştır (25, 133, 136, 147-153).

PTEN geninde homozigot ve heterozigot delesyon bulunan farelerle yapılan deneyde, PTEN tümör baskılayıcı geninin gelişim sırasında da önemli rolü olduğu izlenmiştir. PTEN geninde homozigot delesyonu olan farelerin, erken embriyogenez sırasında öldükleri, heterozigot delesyonu olan farelerin ise normal olarak gelişebildiklerini ancak endometrial karsinomu da içeren birçok kanser için artmış riskleri olduğu bulunmuştur (154).

PTEN inaktivasyonu hiperplazilerde yaklaşık %20 oranında görülür (155, 156). Böylece PTEN inaktivasyonunun, endometrioid karsinom patogenezinin erken basamaklarında etkili olduğu düşünülmektedir. Mutasyonlu hücrelerin genetik analizi ile tanımlanabilen bu preklinalik faz, menstrüel sikluslar boyunca devamlılık gösterebilir. Bu süreçte mutant hücrelerin gelişimi, sistemik hormonal faktörlerle

pozitif ya da negatif olarak etkilenir (1). Ayrıca bir çalışmada, endometrioid karsinomların büyük bir kısmında PTEN ekspresyon kaybı olduğu bulunmuş ve bu tümör tipinin gelişiminde santral role sahip olduğuna dikkat çekilmiştir (12).

Tip1 karsinomlarda östrojen, tümör baskılayıcı fonksiyonunun düzenlenmesini ve transkripsiyonel değişiklikleri içeren yolakta hücre proliferasyonunu uyarır, apoptozu inhibe eder. Normal menstrüel siklus boyunca hormonal dalgalanmalar nedeniyle normal endometrial glandlarda PTEN ekspresyonu östrojenlerle belirgin olarak yükselirken, progesteronla azalır (1, 115). Bu ekspresyon paterni PTEN'in östrojenin baskın olduğu proliferasyon fazında mitozun ve apoptozun düzenleyicisi olduğunu gösterir. Karşılanmamış östrojen varlığı PTEN mutant hücreler için pozitif seçici bir faktördür, dolaşımında progesteronun varlığında PTEN mutant hücrelerin proliferatif avantajı kaybolur ve sonuçta PTEN mutant klonlar geriler (157). Progesteronun kanser koruyucu etkisi apoptozisin indüklenmesiyle, Bcl-2 ve BAX'ın ekspresyonlarının artışıyla olur (158). Östrojenler ayrıca mutajen olan serbest radikal düzeylerini de arttırlar. Böbrek, prostat, meme ve overde artmış ekspresyonu saptanan paired-bax gen olarak bilinen PAX-2'nin ekspresyonu neoplastik endometrial epitelde östrojenle artış gösterirken, normal endometriumda artış gözlenmez (159). Bu durum neoplastik dokularda değişken östrojenik cevap mekanizmasının olduğunu göstermektedir.



### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1.Biyopsi Seçimi

Bu çalışmada ( Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Etik kurul 18.05.2011 gün ve 18/01 no'lu kararı ile) Osmangazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'ndaki 56 endometrial küretaj ve bir kısmı tümör nedenli uygulanmış 38 total abdominal histerektomi olguları arasında retrospektif ve prospektif olarak seçilen olgulara PTEN immunohistokimyasal belirleyicisi uygulandı.

PTEN immunohistokimyasal boyanma sonuçları Araştırma görevlisi Pınar İmre Pekkarakaş ve Prof. Dr. Sare Kabukçuoğlu'ndan oluşan 2 patolog ile değerlendirilmiştir.

Çalışmamızın bulgu ve sonuçlarını aşağıda izlenen 4 ana başlık halinde toplamayı planladık.

1.grup: Endometrium küretaj biyopsilerine ait olup 10 adet proliferatif, 11 adet basit hiperplazi, 8 adet kompleks hiperplazi biyopsileridir. Bu grup daha önce Prof Dr. Sare Kabukçuoğlu' nun Over, endometriozis ve serviks kanserlerinde aktin gruplayan protein Fascin ekspresyonlu proje çalışmasındaki biyopsilerden seçilmiştir.

2. grup: Prospektif olarak adenomyozis ve endometriozisli 30 biyopsiye ait olup heterojen olarak; farklı yaş gruplarındaki biyopsiler, farklı lokalizasyondaki biyopsiler ve atipik örnekler dahil edilerek prospektif serilerdeki formların rastlanma sıklığı göz önüne alınmadan oluşturulmuştur.

3. grup: EİN'a ait retrospektif ve prospektif olarak seçilen 9 biyopsi çalışmaya dahil edilmiştir. Bölümümüzde bilgisayarlı morfometrik D-skoru analizi yapılamadığından subjektif EİN kriterleri kullanılmıştır. Glandüler alanların stromal alanlardan fazla olup sırsırtta vermiş olması, tek odakta lezyonun maksimum uzun ekseninin 1mm'den büyük olması, basal endometrium, sekretuar aktivite, polipler, onarım, vb gibi benign durumlar ile kribriform ve solid yapı içermemesi ile kanserin dışlanması durumlarının varlığı gibi subjektif tanı kriterleri kullanılarak EİN tanısı verilmiştir.

4. grup: Vakaları seçmek için Mckenney ve ark.'nın (44) ve Longacre ve ark.'nın (68) çalışması birlikte sentez edilerek değerlendirilmiştir. Myometrial invazyon riski açısından Mckenney ve ark.'nın (44) belirlediği üç grup (kompleks atipili hiperplazi, borderline endometrium adenokarsinomu, iyi diferansiye endometrium

adenokarsinomu) bizim çalışmamızda da araştırıldı. Prospektif olarak seçilen 9 vaka ikinci grupta borderline (malignite potansiyeli belirsiz) endometrioid adenokarsinom olarak değerlendirildi. Çalışma grubunu oluşturdu. Üçüncü gruba ait 9 vaka iyi diferansiye endometrioid adenokarsinom olarak belirlendi ve 1. kontrol grubunu oluşturdu. Aynı süre içerisinde gelen 8 endometrioid adenokarsinom biyopsisi orta ve az diferansiye olarak çalışmanın 2. kontrol grubunu oluşturdu. Bu çalışmadaki vakaların seçimi için Longacre ve ark.'nın (68) Şekil 3.1'deki kriterleri ve Mckenney ve ark.'nın (44) kriterleri kullanılmıştır. Bu kriterler aşağıda belirtilmiştir.

Bu çalışmada 29 endometrium biyopsisi diğer bir kontrol grubunu oluşturmuştur.

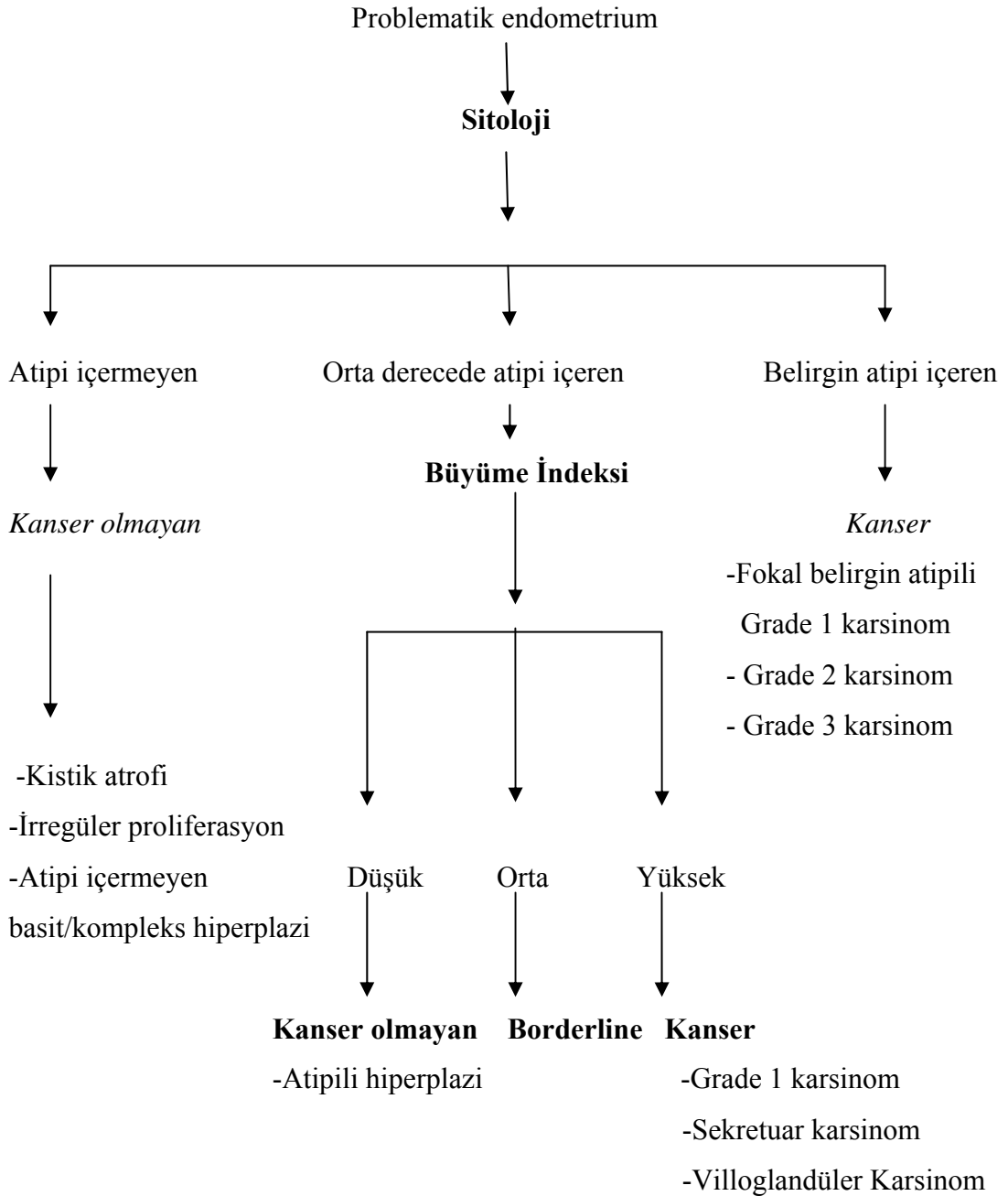
Mckenney ve ark.'nın (44) uyguladığı pattern analizine göre;

- $\geq$ %30 yüksek risk arşitektüre sahip veya
- labirent benzeri veya kompleks non-villöz papiller yapı içermeyen glandların bulunmaması veya
- yüksek riskli sitoloji içeren glandlardan oluşan 1. gruptaki 9 biyopsi borderline endometrioid adenokarsinom,
- Yüksek riskli sitoloji ve/veya
- Düşük riskli arşitektüre sahip glandlardan oluşan 2. gruptaki 9 biyopsi iyi diferansiye endometrioid adenokarsinom olarak çalışma grubuna dahil edildi.

Longacre ve ark.'ı (68) problematik endometriumları sitolojilerine göre atipi içermeyen, orta derecede atipi içeren ve belirgin atipi içermesine göre üç gruba ayırmıştır. Orta derecede atipi içerenleri de büyüme indekslerine göre düşük, orta ve yüksek grup olarak değerlendirmiş olup düşük büyüme indeksine sahip olanların atipik hiperplazi olarak değerlendirildiği orta derecede büyüme indeksine sahip olanların borderline olarak kabul edildiği ve yüksek derecede büyüme indeksine sahip olanların ise kanser olarak değerlendirildiği ve Grade 1 karsinomun bu gruba dahil edildiği belirtilmiştir. Belirgin atipi içeren gruptan kanser geliştiği ve belirgin atipi içeren Grade 1 karsinom ile grade 2 ve grade 3 karsinomların bu grupta yer aldığı belirtilmiştir. Çalışmalarında endometrial küretaj spesmenlerinde düzensiz, atipik glandların çevresi granülasyon dokusu benzeri fibröz stromayla çevrili olması, yoğun nekrozun bulunması, skuamöz epitelin yoğun alanlar halinde görülmesi

histerektomi spesmenlerinde myoinvazyon varlığıyla yüksek oranda ilişkili bulunmuştur.

Problematik endometrial proliferasyonların değerlendirilmesi için kullanılacak algoritma Şekil 3.1’de izlenecektir (68).



Şekil 3.1. Problematik endometrial proliferasyonların değerlendirilmesi için algoritma.

Endometriozis, Endometrial İntraepitelyal Neoplazi ve İyi Diferansiye Endometrioid Adenokarsinom biyopsilerinden ve kontrol gruplarından kesitler seçilerek bunların parafin bloklarından elde edilen 4µ kalınlığındaki kesitler 10q23'te lokalize bir tümör baskılayıcı gen olan PTEN (Biocare, clone 6H2.1) likit-mouse monoklonal antikorunu kullanarak, streptavidin-biotin peroksidaz immünohistokimyasal boyama yöntemi ile boyandı. Antijen 1/400-1/200 dilüsyonda kullanım için hazırlanmış olup yüksek ısıda antijeni açığa çıkarma tekniği kullanılması primer antijenin 25° C de 60 dakika inkübasyonu ve standart ABC tekniği kullanılması önerilmiştir. Çalışmamızda PTEN ekspresyonu antikor 1/200 dilüsyonda sulandırılarak yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak kitte önerilen prostat karsinomu kullanılmıştır. Ancak boyanma paterni çok heterojen olduğundan yeni bir skorlama sistemi geliştirmek için gliozis, ganglionöroma, glioblastoma multiforme, schwannom ve nörofibrom biyopsileri de boyanarak aşağıdaki skorlama sistemi geliştirilmiştir.

#### **İncelenen Parametreler**

PTEN ekspresyonu glandüler epitel ve çevre stroma için ayrı ayrı değerlendirilmiş olup, biyopsilerde PTEN ekspresyonu grupların gland epiteli ve stromada boyanma yoğunluğu oranları, stromada boyanma yüzdeleri değerlendirilmiştir. Belirlenen gruplar kendi aralarında bu parametrelerle değerlendirilmiş olup bu gruplarda yaş ile PTEN ekspresyon ilişkisi de araştırılmıştır.

#### **1-Endometrium (Proliferatif Endometrium, Basit hiperplazi, Kompleks Hiperplazi), Adenomyozis ve Endometriozis ile Endometrial İntraepitelyal Neoplazi Biyopsilerinde PTEN Ekspresyonunun Değerlendirilmesinde Kullanılan Skorlama Sistemi**

##### **A) Epitelin Değerlendirilmesi:**

Skor:6	Y3	Hücrelerin %100'ünde <b>yaygın</b> koyu boyanma
Skor:5	Y2	Hücrelerin %100'ünde <b>yaygın</b> orta şiddette boyanma
Skor:4	Y1	Hücrelerin %100'ünde <b>yaygın</b> zayıf boyanma
Skor:3	F3	Hücrelerin %31-50'inde <b>fokal</b> güçlü boyanma
Skor:2	F2	Hücrelerin %10-30'unda <b>fokal</b> güçlü boyanma
Skor:1	F1	Hücrelerin %2-9'unda <b>fokal</b> güçlü boyanma

0 Boyanma yok

B) Stromanın Değerlendirilmesi:

Stroma Skoru: 4 (St4) Hücrelerin %91-100'ünde diffüz güçlü pozitif boyanma  
 Stroma Skoru: 3 (St3) Hücrelerin %51-90'ında diffüz zayıf pozitif boyanma  
 Stroma Skoru: 2 (St2) Hücrelerin %10-50'sinde diffüz zayıf pozitif boyanma  
 Stroma Skoru: 1 (St1) Hücrelerin %2-9'unda diffüz zayıf pozitif boyanma  
 0 Boyanma yok

## 2- Tüm Endometrioid Adenokarsinom Biyopsilerinde PTEN Ekspresyonunun Değerlendirilmesinde Kullanılan Skorlama Sistemi

A) Epitelin Değerlendirilmesi:

Skor:6 Y3 Hücrelerin %100'ünde **yaygın** koyu boyanma  
 Skor:5 Y2 Hücrelerin %100'ünde **yaygın** orta şiddette boyanma  
 Skor:4 Y1 Hücrelerin %100'ünde **yaygın** zayıf boyanma  
 Skor:3 F3 Hücrelerin %31-50'inde **fokal** güçlü boyanma  
 Skor:2 F2 Hücrelerin %10-30'unda **fokal** güçlü boyanma  
 Skor:1 F1 Hücrelerin %2-9'unda **fokal** güçlü boyanma  
 0 Boyanma yok

B) Stromanın Değerlendirilmesi:

Stroma Skoru: 4 (St4) Hücrelerin %91-100'ünde diffüz güçlü pozitif boyanma  
 Stroma Skoru: 3 (St3) Hücrelerin %51-90'ında diffüz zayıf pozitif boyanma  
 Stroma Skoru: 2 (St2) Hücrelerin %10-50'sinde, 5-10 hücre sıralı diffüz zayıf pozitif boyanma  
 Stroma Skoru: 1 (St1) Hücrelerin %2-9'unda, tek hücre sıralı diffüz zayıf pozitif boyanma  
 0 Boyanma yok

### 3.2. Boyama Yöntemi

1-Poly-L-Lysin'li lamlara parafin bloklardan 4 $\mu$ 'luk kesitler alındı.

2-Deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemi için kesitler etüvde 60° C de 1 saat bekletildikten sonra sırasıyla 5'er dakika süre ile 3 kez taze ksilolden, 3'er dakika süre ile 2'şer kez absölu ve %96'lık alkoller ile distile sudan geçirildi.

3-Antijen retriyavel ile antijenite açığa çıkarma işlemi uygulandı. Dödüklü tencere içinde basınç uygulanarak yapılan bu işlemde 4 lt dödüklü tencere içine 2 lt 1/10 AxR solüsyonu konuldu. Su seviyesi metal 30 lam taşıma sepeti üzerini iki parmak geçecek kadar ayarlandı. Dödüklünün içine EDTA Buffer (PH:8):100 ml, Citrat Buffer (PH:6):100 ml, ve Distile su (PH:7):1800 ml konuldu. Dödüklünün kapağı kapalı tutulup, dödüğü açık bırakıldı. 10 dakika kaynaması beklendikten sonra lam taşıma sepetindeki lamlar dödüklünün içine konuldu. Tencerenin kapağı ve kapağındaki dödük kapatıldı. Ocağın ayarı en yüksek kademedede 10 dakika beklendi ve akan çeşme altına alınıp 30 sn bekletilerek soğutuldu. Buhar tamamen çıkınca dödüklünün kapağındaki dödük açıldı. Lamlar boş bir kap içindeki distile suya alındı.

Boyama için sırasıyla aşağıdaki solüsyonlar kullanıldı, kapalı kutu içinde nemli ortam olması ve solüsyonların lam yüzeyindeki dokuyu örtmesine özen gösterildi.

4-Hidrojen Peroksit (%3) ile endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.

5-Distile su ile 10 saniye 2 kez yıkandı.

6-Fosfat buffer salin (PH:7,4) ile 5 dakika 2 kez yıkandı.

7-Kesitler protein bloke edici ajan ile 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.

8-Kesitlere primer antikor, PTEN (1:200 dilüsyonda) damlatılıp 60 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.

9-Fosfat buffer salin (PH:7.4) ile 5 dakika 2 kez yıkandı.

10-Sekonder antikor (Biotinylated second antibody) ile oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.

11- Fosfat buffer saline (PH:7.4) ile 5'er dakika süre ile 2 kez yıkandı.

12-Kesitlere streptavidin damlatıldı ve 10 dakika inkübe edildi.

13-Fosfat buffer salin (PH:7.4) ile 5 dakika süre ile 2 kez yıkandı.

14-AEC (Thermo) veya DAB kromojen solüsyonları kullanımdan yarım saat önce taze olarak hazırlandı. Karıştırma kabı içerisine sırasıyla AEC substrattan 1 ml,

AEC kromojenden 50µl ilave edilip karıştırıldı ve kullanıldı. Kesitler üzerine hazırlanan kromojen solüsyonu damlatılıp oda sıcaklığında 5 dakika beklendi.

15- Distile su ile 3 dakika süreyle 2 kez yıkandı.

16-Doku kesitleri Hematoksilen solüsyonunda 1 dakika bekletilerek zıt boyama yapıldı.

17-Kesitler 3 dakika süreyle 2 kez distile suda yıkandı.

18-%96 alkol,%96 alkol, absolü alkol, ksilol, ksilol= solüsyonlarında sırasıyla 10'ar kez çalkalandı.

19- Preparatlar havada kurutulduktan sonra üzerine aqueous mounting medium damlatılıp lamel ile kapatıldı (Thermo) .

### **3.3. İstatistiksel Değerlendirme**

Verilerin istatistik analizi SPSS 13.0 programında non-parametrik testler olan Kruskal-Wallis varyans analiz, Mann Whitney-U testi kullanılarak yapıldı. Ayrıca ikili grupların karşılaştırmasında bağımsız T-testi ve çoklu karşılaştırma testi olan Dunns testi, yaş değerlendirmesi için ANOVA testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında Pearson Chi-kare testi, değişkenlerin birbirleri ile ilişkilerini belirlemede Pearson korelasyon testi kullanıldı.

$P \leq 0.05$  değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

## 4.BULGULAR

### 4.1. Endometrium Biyopsilerinde PTEN Ekspresyonu

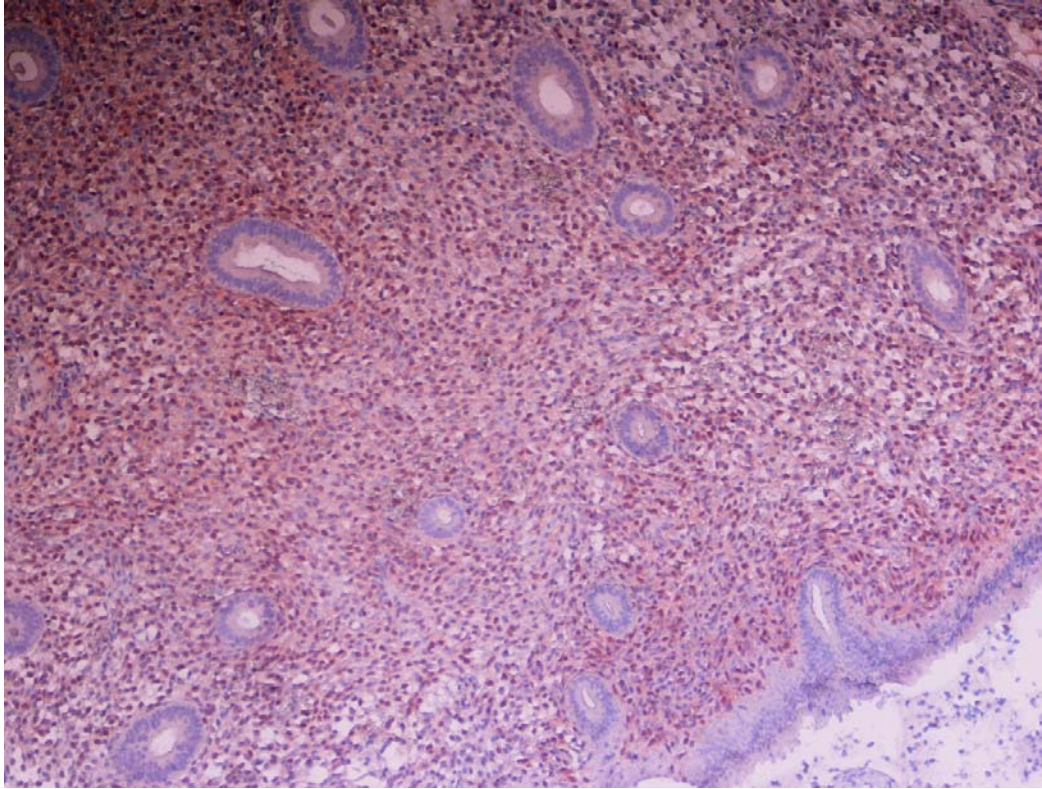
#### **Proliferatif endometriumlarda PTEN ile boyanma paterni**

Proliferatif endometriuma ait iki biyopside epitelde 1 şiddetinde %2 oranında sitoplazmik boyanma izlenmiş olup 8 endometrium biyopsisinde PTEN ile epitelde boyanma izlenmemiştir.

Proliferatif endometriuma ait 8 endometrium biyopsisinden birinde stromada PTEN 1 şiddetinde, %9 oranında sitoplazmik boyanma göstermiştir. Beş biyopsi 2 şiddetinde nükleer boyanma göstermiş olup stroma boyanma yüzde oranları %20, ikisi % 30, %40 ve %50'dir. %30 stromal boyanma yüzdesine sahip biyopsilerden birinde ise hem nükleer hem sitoplazmik boyanma görülmüştür. Dört endometrium biyopsisinde ise stroma 3 şiddetinde nükleer boyanma göstermiş olup stroma boyanma yüzde oranları birinde %70, üç biyopside ise %80'dir.

Proliferasyon fazında endometrium biyopsisinde PTEN ekspresyonu Şekil 4.1'de görülmektedir.





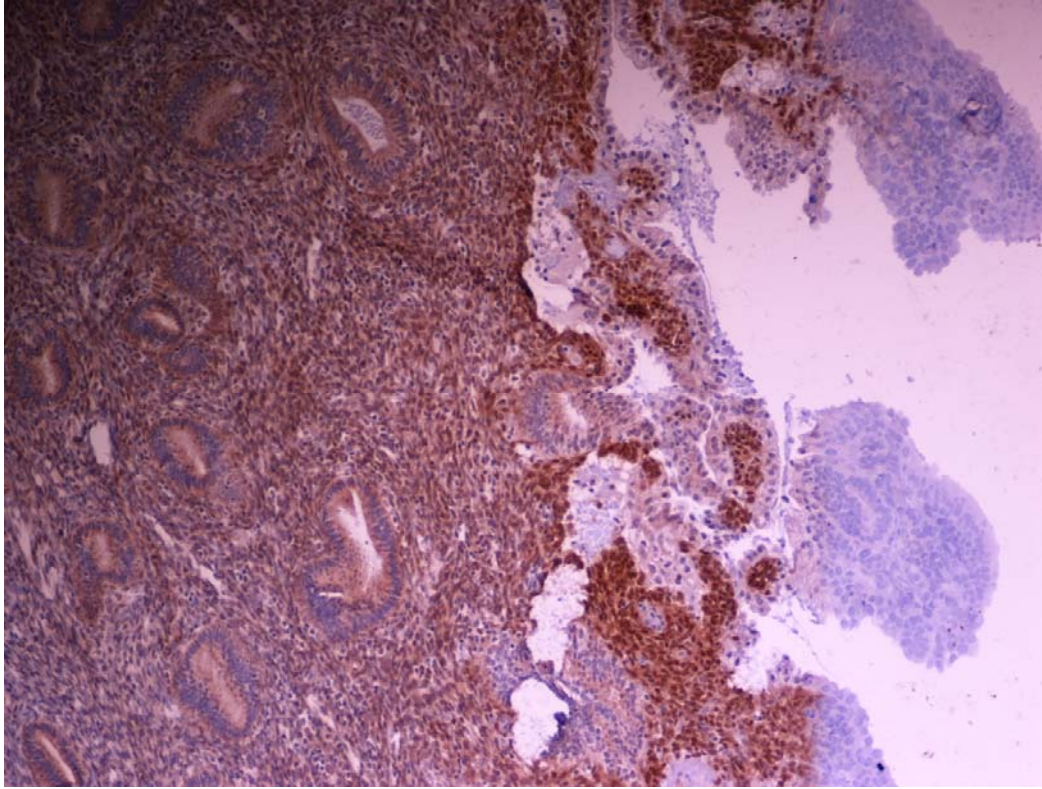
Şekil 4.1. Proliferasyon fazında endometrium. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile stroma %30 oranında 2 şiddetinde boyanmıştır, St2 olarak değerlendirilmiştir. Epitelde boyanma olmamıştır (Biyopsi no:8423-98, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

#### **Basit hiperplazilerde PTEN ile boyanma paterni**

Basit hiperplaziye ait 11 endometrium biyopsisinden birinde epitelde 3 şiddetinde %40 oranında sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Bu biyopsi atipili basit hiperplazi tanılıdır. Altı biyopside epitelde 1 şiddetinde %2 oranında sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Dördünde ise epitelde PTEN ekspresyonu gözlenmemiştir.

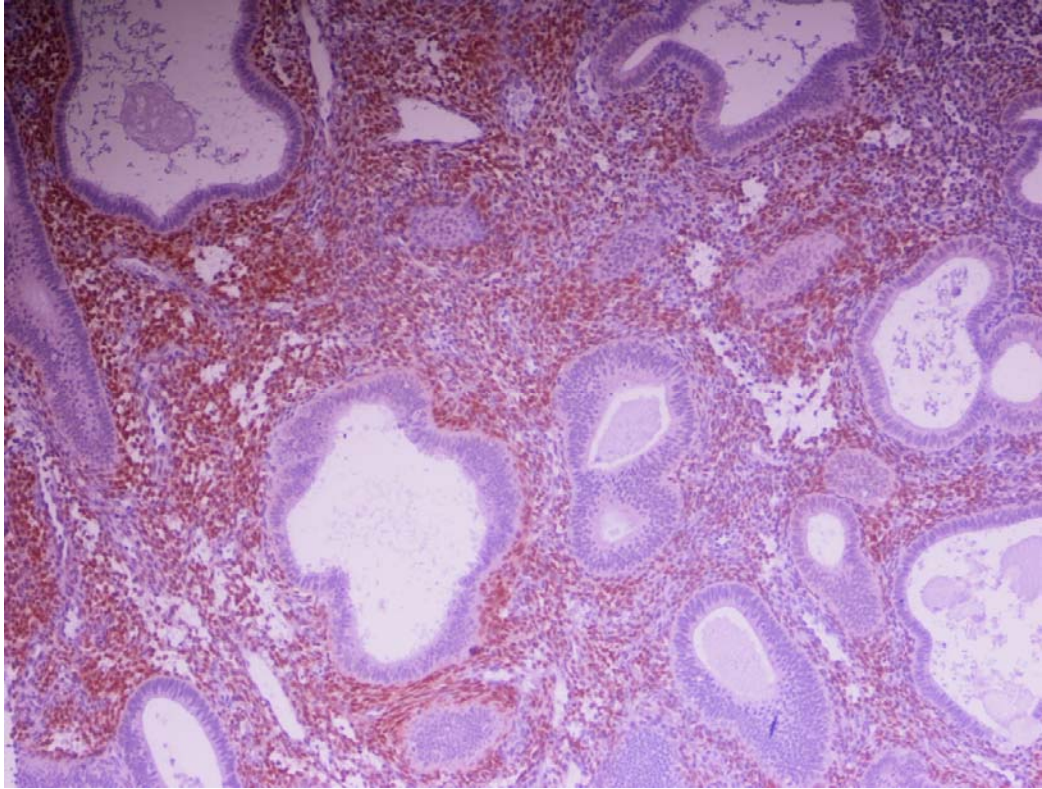
Basit hiperplazili 11 endometrium biyopsisinden dördünde stromada PTEN ekspresyonu 2 şiddetinde nükleer boyanma göstermekte olup, stromal boyanma yüzdeleri %30, ikisi %40 ve %50'dir. Yedisinde 3 şiddetinde nükleer boyanma gözlenmiştir, boyanma yüzdeleri; %51, %60, ikisi %70, %75 ve ikisi %80'dir.

Basit atipili hiperplazi tanılı endometrium biyopsisinde PTEN ekspresyonu Şekil 4. 2'de görülmektedir.



Şekil 4.2. Basit Atipili Hiperplazi. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası glandüler epitel hücrelerinde 3 şiddetinde, %30-50 oranında fokal güçlü olarak boyanmıştır, 3F3 olarak değerlendirilmiştir. Stroma ise %51 oranında 3 şiddetinde boyanmıştır, St3 olarak değerlendirilmiştir (Biyopsi no:14445-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

Basit hiperplazi tanılı endometrium biyopsisinde PTEN ekspresyonu Şekil 4.3'te görülmektedir.



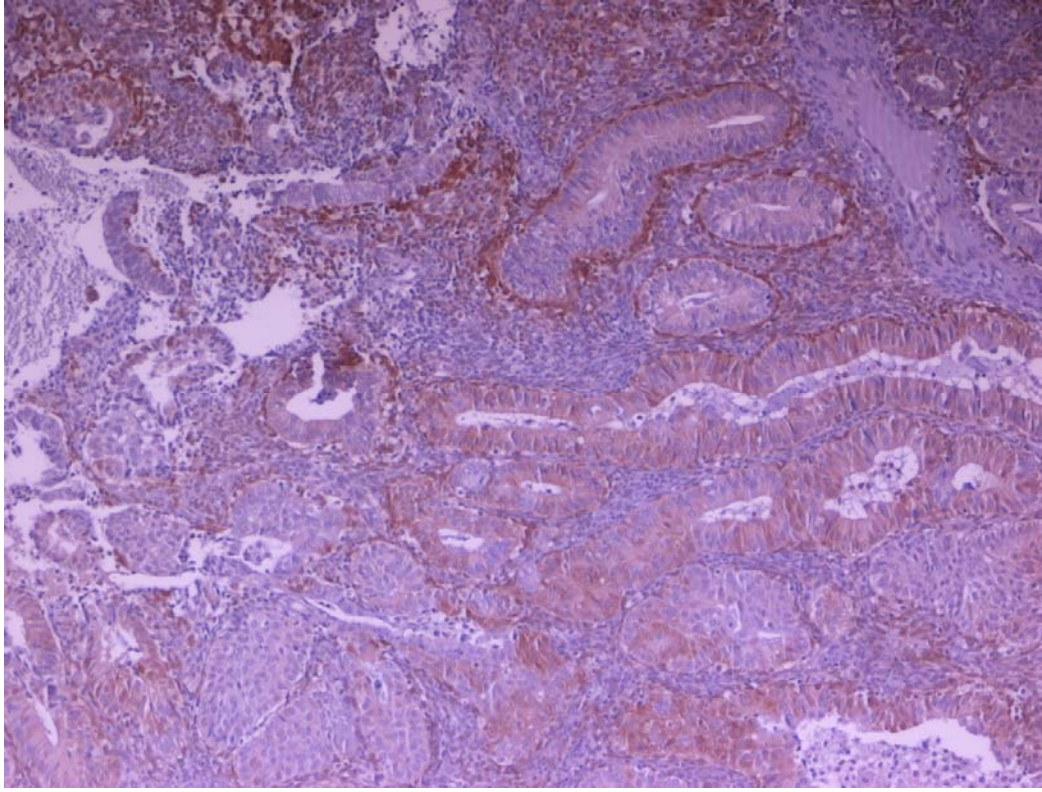
Şekil 4.3. Basit hiperplazi. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile stroma %75 oranında 3 şiddetinde boyanmıştır, St3 olarak değerlendirilmiştir. Epitelde boyanma olmamıştır. (Biyopsi no:4665-08, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

#### **Kompleks hiperplazilerde PTEN ile boyanma paterni**

Kompleks hiperplaziye ait 8 endometrium biyopsisinden birinde epitelde 1 şiddetinde %9 oranında sitoplazmik boyanma izlenmiş olup bu biyopsi atipili kompleks hiperplazi tanılıdır. Bir biyopside epitelde 1 şiddetinde %2 oranında sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Altısında ise epitelde PTEN ekspresyonu gözlenmemiştir.

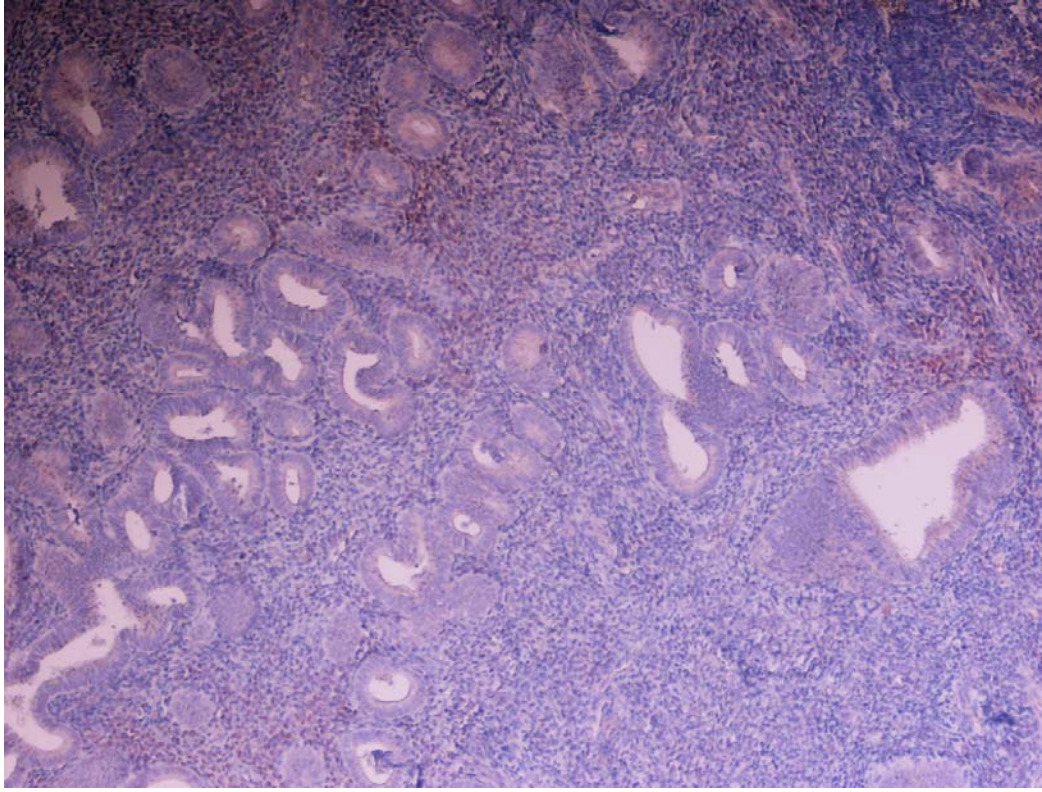
Kompleks hiperplaziye ait 8 endometrium biyopsisinden altısında stromada 2 şiddetinde nükleer boyanma izlenmiş olup stromal boyanma yüzdeleri %10, %25, üçü %30, %40 ve %50'dir. Bir biyopside ise stromada PTEN ekspresyonu negatiftir.

Kompleks atipili hiperplazi tanılı endometrium biyopsisinde PTEN ekspresyonu Şekil 4.4'de görülmektedir.



Şekil 4.4. Atipili kompleks hiperplazi. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası glandüler epitel hücrelerinde 1 şiddetinde %9 oranında fokal güçlü olarak boyanmıştır, 1F1 olarak değerlendirilmiştir. Stromada ise %30 oranında 2 şiddetinde boyanmıştır, St2 olarak değerlendirilmiştir (Biyopsi no:17912-09, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

Kompleks hiperplazi tanılı endometrium biyopsisinde PTEN ekspresyonu Şekil 4.5'te görülmektedir.



Şekil 4.5. Kompleks hiperplazi. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile stroma %30 oranında 2 şiddetinde boyanmıştır, St2 olarak değerlendirilmiştir. Epitelde boyanma olmamıştır (Biyopsi no:4562-98, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

Endometrium biyopsilerinde PTEN'in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Endometrial biyopsilerdeki PTEN'in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri.

Vaka Sayısı (n)	Yaş	Tanı	PTEN Epitel Skoru	PTEN Stroma Skoru	PTEN Stroma Boyanma Yüzdesi
1	24	Proliferatif Endometrium	0	3	80
2	35	Proliferatif Endometrium	0	2	40
3	58	Proliferatif Endometrium	0	2	30
4	50	Proliferatif Endometrium	0	2	30
5	44	Proliferatif Endometrium	0	1	9
6	35	Proliferatif Endometrium	0	2	50
7	48	Proliferatif Endometrium	0	3	80
8	28	Proliferatif Endometrium	0	3	80
9	48	Proliferatif Endometrium	1	2	20
10	39	Proliferatif Endometrium	1	3	70
11	32	Basit Hiperplazi	0	2	40
12	49	Basit Hiperplazi	0	3	75
13	42	Basit Hiperplazi	0	3	70
14	34	Basit Hiperplazi	0	3	70
15	24	Basit Hiperplazi	1	2	50
16	50	Basit Hiperplazi	1	3	80
17	47	Basit Hiperplazi	1	2	30
18	35	Basit Hiperplazi	1	3	80
19	45	Basit Hiperplazi	1	3	60
20	54	Basit Hiperplazi	1	2	40
21	41	Basit Atipili Hiperplazi	3	3	51
22	33	Kompleks Hiperplazi	0	2	25
23	51	Kompleks Hiperplazi	0	0	0
24	51	Kompleks Hiperplazi	0	2	30
25	61	Kompleks Hiperplazi	0	2	30
26	73	Kompleks Hiperplazi	0	2	50
27	45	Kompleks Hiperplazi	0	2	10
28	38	Kompleks Hiperplazi	1	2	40
29	31	Kompleks Atipili Hiperplazi	1	2	30

**İstatistiksel Çalışma:** SPSS 13 kullanılarak yapılmıştır.

Çalışmaya alınan endometrium grubundaki biyopsilerin alt gruplarında, basit ve kompleks endometrial hiperplazili biyopsilerde yaş ortalaması sırasıyla 41,1 ve 47,8 olup proliferatif endometriumda yaş ortalaması 40,9'dur.

Uygulanan ANOVA testi ile bu üç grup arasında yaş bakımından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (.356,  $p > 0.05$ ).

Proliferatif endometrium (n=10), basit hiperplazi (n=11) ve kompleks hiperplaziden (n=8) oluşan yirmi dokuz endometrium biyopsisinde PTEN ile endometrial stromanın boyanma skoru endometrial biyopsilerdeki tanılar ile Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel önemli düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (.020,  $p < 0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisinde PTEN ile endometrial stromanın boyanma yüzde oranı endometrial biyopsilerdeki tanılar ile Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel önemli düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (.015,  $p < 0.05$ ).

Stromanın boyanma skoru ile ilişkili testte bulunan anlamlılığın basit ve kompleks hiperplazi tanıli biyopsiler arasında olduğu ortaya çıkmıştır (.015,  $p < 0.05$ ). Stromanın boyanma yüzde oranı ile ilişkili testte bulunan anlamlılığın da basit ve kompleks hiperplazi tanıli biyopsiler arasında olduğu ortaya çıkmıştır (.012,  $p < 0.05$ ). Stromadaki PTEN boyanma farkının hangi gruplar arasında olduğunu araştırmak için yapılan testte kompleks hiperplazi ile proliferatif endometrium biyopsileri ve proliferatif endometriomla basit hiperplaziye ait endometrium biyopsileri aralarında karşılaştırıldıklarında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (sırasıyla; .322,  $p > 0.05$ , .655,  $p > 0.05$ ).

Proliferatif endometrium (n=10), basit hiperplazi (n=11) ve kompleks hiperplazili (n=8) 29 hastadan oluşan endometrium biyopsilerinde PTEN'in epitelyal boyanma skoru açısından farklılık Kruskal-Wallis testi ile araştırıldığında endometriyumun yüzey örtü ve gland döşeyici epitelinin PTEN ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (.073,  $p > 0.05$ ).

#### **4.2. Adenomyozis ve Endometriozislerde PTEN Ekspresyonu**

##### **Adenomyozislerde PTEN ile boyanma paterni**

Onbeş adenomyozis biyopsisinden ikisinde PTEN ile epitelde 5 şiddetinde %100'ünde yaygın orta şiddette sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Dört biyopside 4 şiddetinde %100'ünde yaygın zayıf şiddette sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Üç biyopside 3 şiddetinde %50'sinde fokal güçlü sitoplazmik boyanma izlenmiştir. İki

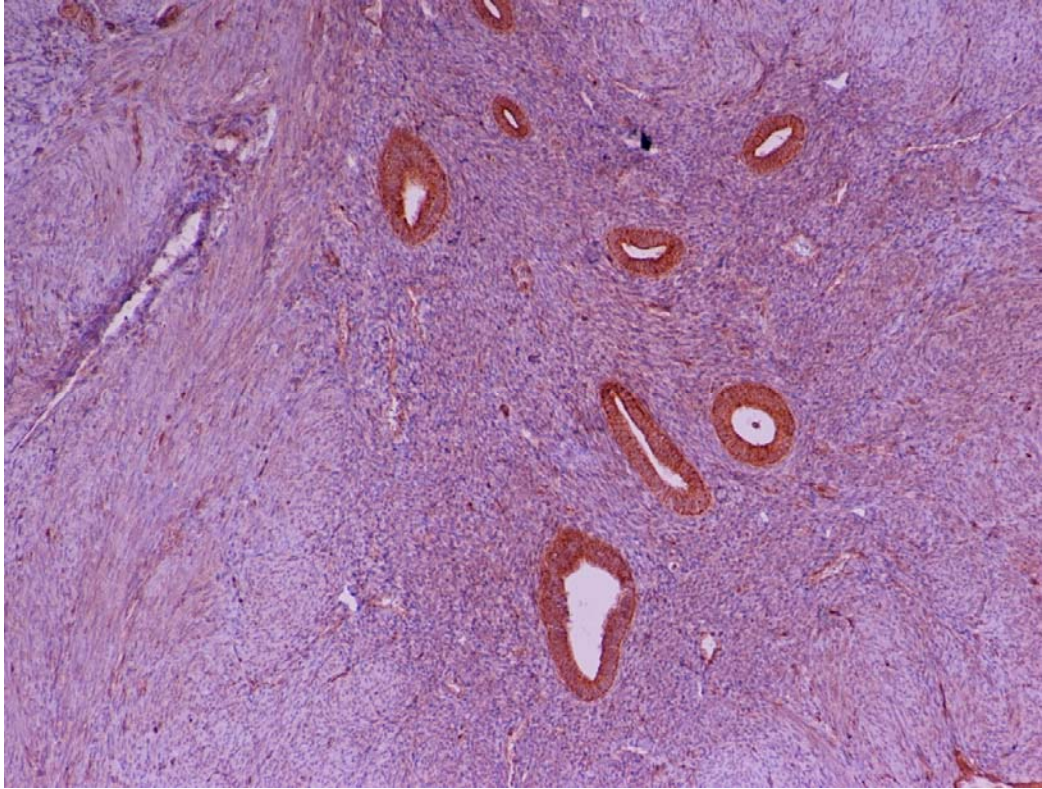
biyopside 1 şiddetinde %2 oranında fokal güçlü sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Dört biyopside ise epitelde boyanma görülmemiş olup birinin tanısı yaygın atipik adenomyozistir.

Onbeş adenomyozis biyopsisinden birinde stromada PTEN 3 şiddetinde %90 oranında nükleer boyanma göstermektedir. İkisinde stromada 2 şiddetinde nükleer boyanma izlenmiş olup stroma boyanma yüzdeleri birinde %50 ve birinde ise %40'tır. Altısında 1 şiddetinde nükleer boyanma izlenmiş olup stroma boyanma yüzdeleri %2 oranındadır. Altısında ise stromada boyanma izlenmemiş olup birinin tanısı yaygın atipik adenomyozistir.

Onbeş adenomyozis biyopsisinden dördünde hem epitel hem stromada boyanma izlenmezken, ikisinde epitelde boyanma gözlenmiş olup stromada boyanma izlenmemiştir.

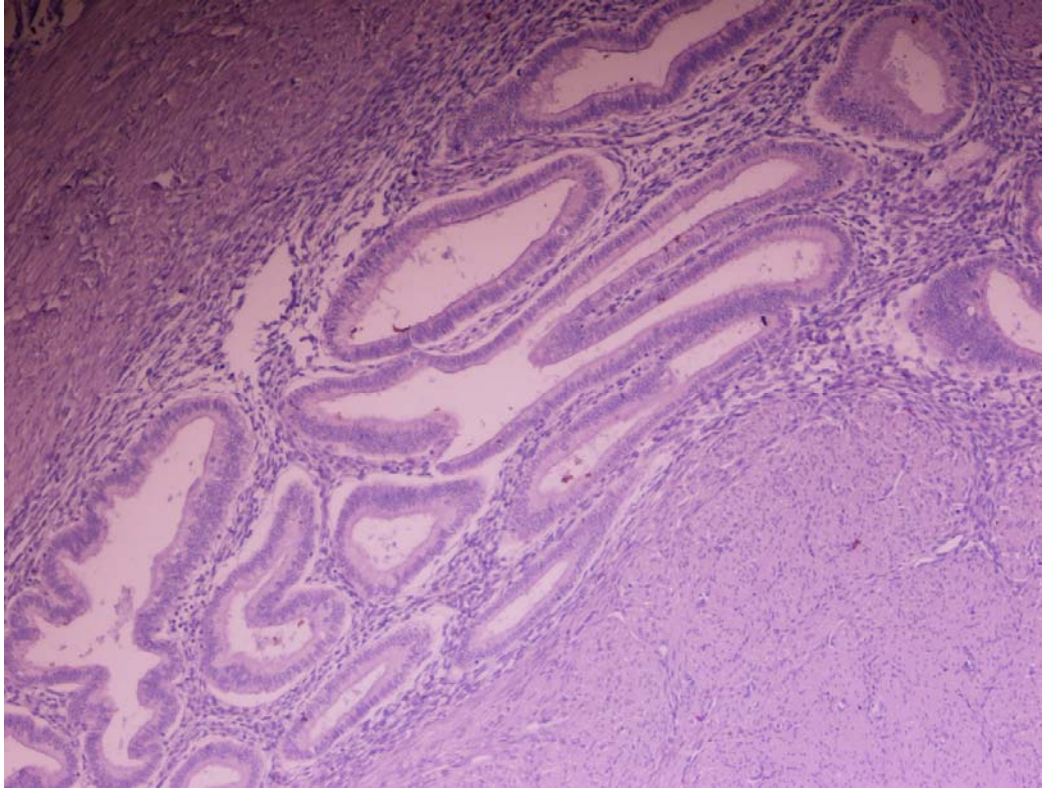
Adenomyozis biyopsilerinde PTEN ekspresyonu Şekil 4.6'da verilmiştir.





Şekil 4.6. Adenomyozis. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası glandüler epitel hücrelerinde 5 şiddetinde hücrelerin %100'ünde yaygın orta şiddette pozitif boyanmıştır, 5Y2 olarak skorlanmıştır. Stromada ise %2 oranında 1 şiddetinde boyanmıştır, St1 olarak skorlanmıştır (Biyopsi no:10733-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

Atipik adenomyozis biyopsisinde PTEN ekspresyonu Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Yaygın atipik adenomyozis. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile epitel ve stromada boyanma olmamıştır (Biyopsi no:248-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

#### **Endometriozislerde PTEN ile boyanma paterni**

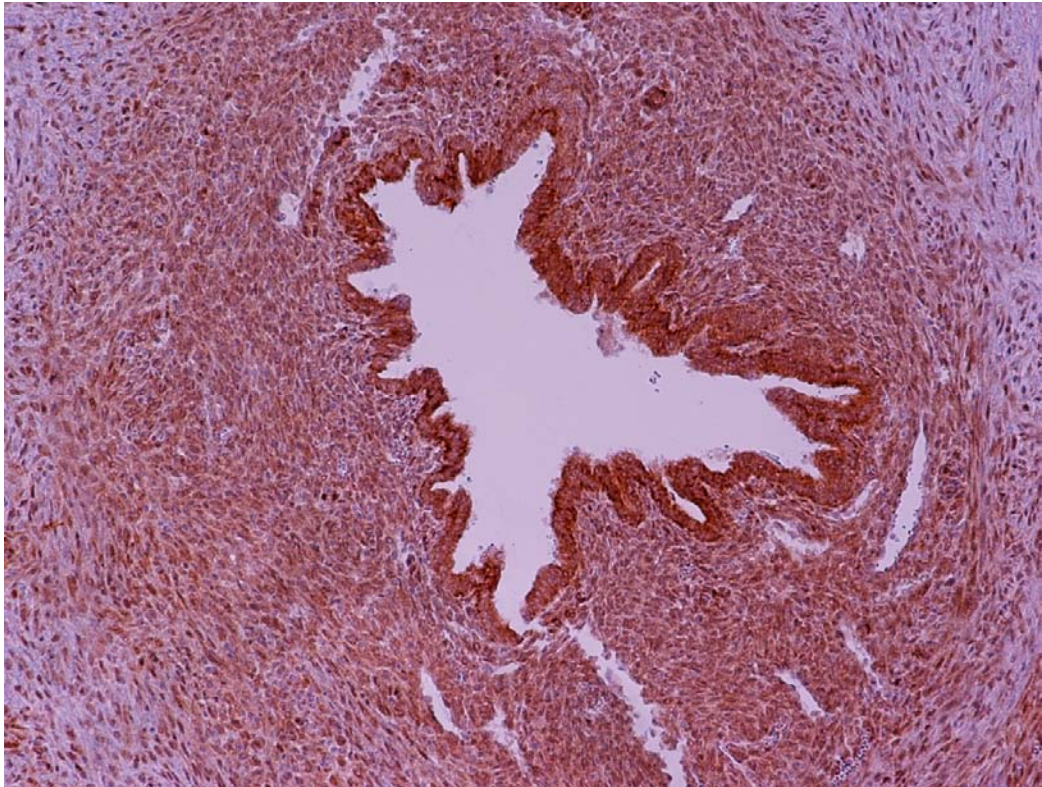
Onbeş endometriozis biyopsisinden ikisinde epitelde PTEN 5 şiddetinde %100'ünde yaygın orta şiddette sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Birinde 2 şiddetinde %25'inde fokal güçlü sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Birinde 1 şiddetinde %2'sinde fokal güçlü sitoplazmik boyanma izlenmiştir. 11 biyopside ise epitelde PTEN ile boyanma izlenmemiş olup birinin tanısı endometrial karsinomun eşlik ettiği atipik ovaryan endometriozistir.

Onbeş endometriozis biyopsisinden ikisinde stromada PTEN ile 4 şiddetinde hem nükleer hem sitoplazmik boyanma izlenmiş olup stroma boyanma yüzdeleri birinde %95, birinde %91'dir. Üç biyopside stromada 3 şiddetinde nükleer boyanma izlenmiş olup stroma boyanma yüzdeleri üçünde de %70'tir. Dört biyopside 2 şiddetinde nükleer boyanma izlenmiş olup stroma boyanma yüzdeleri üçünde %20,

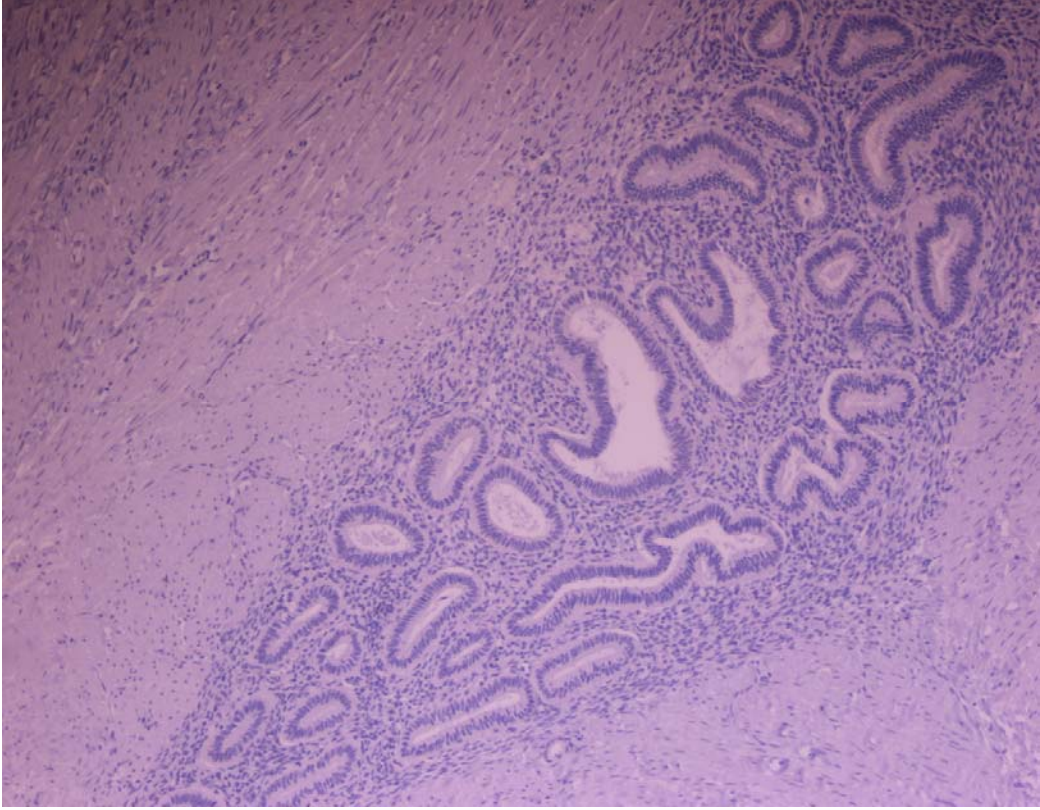
birinde %10'dur. Altısında stromada PTEN ile boyanma izlenmemiş olup birinin tanısı endometrial karsinomun eşlik ettiği atipik ovaryan endometriozistir.

Onbeş endometriozis biyopsisinden altısında hem epitel hem stromada boyanma izlenmemiştir. Dört biyopside ise epitelde boyanma izlenmemiş olup stromal boyanma gözlenmiştir.

Farklı lokalizasyonlardaki endometriozis odaklarında PTEN ekspresyonu Şekil 4.8 ve 4.9'da verilmiştir.

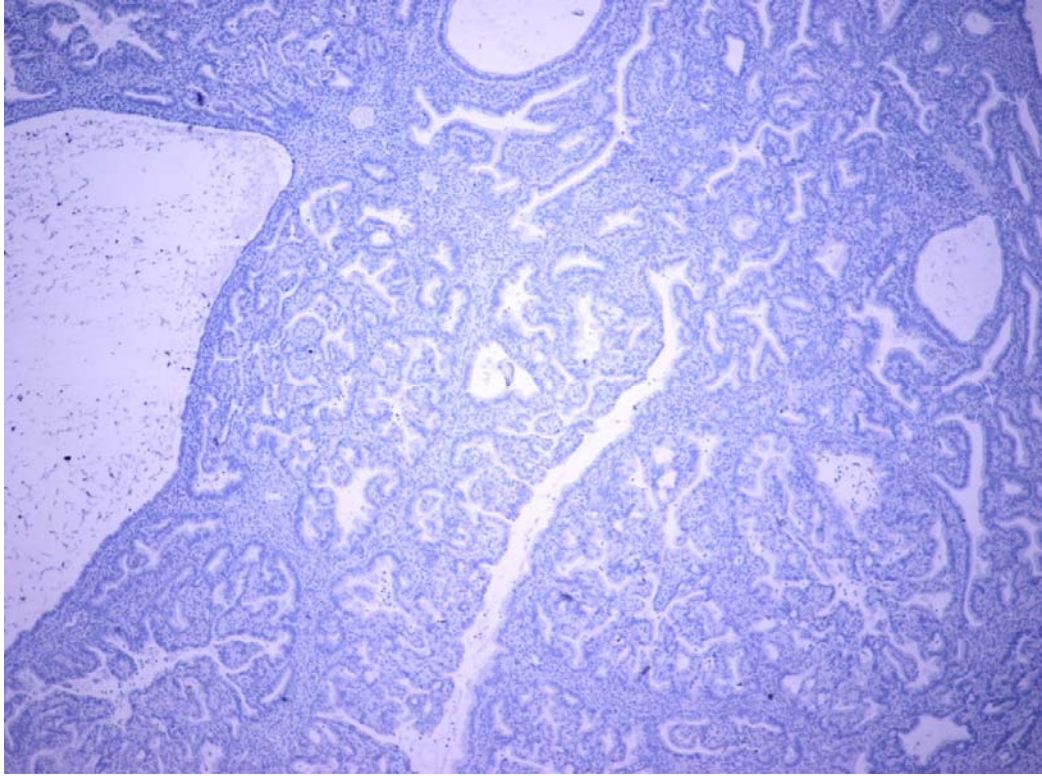


Şekil 4.8. Endometriozis, tuba serozası. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile epitel 5 şiddetinde hücrelerin %100'ünde yaygın orta şiddette pozitif boyanmıştır, 5Y2 olarak skorlanmıştır. Stroma ise %91 oranında 4 şiddetinde boyanmıştır, St4 olarak skorlanmıştır (Biyopsi no:17008-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).



Şekil 4.9. Terminal ileumdaki endometriozis odağında PTEN immunohistokimyasal boyası ile epitel ve stromada boyanma olmamıştır (Biyopsi no:7255-10, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

Atipik ovaryan endometriozisli biyopsideki 0,5 cm'lik endometrial karsinom odağında PTEN ekspresyonu Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. Atipik ovaryan endometriozis biyopsisinde 0,5 cm'lik endometrial karsinom odağında PTEN immunohistokimyasal boyası ile epitel ve stromada boyanma izlenmemiştir (Biyopsi no:15773-10, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

Adenomyozis ve Endometriozis odaklarındaki PTEN'in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri Tablo 4.2'de izlenmektedir.

Tablo 4.2. Adenomyozis ve Endometriozis odaklarındaki PTEN'in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri.

Vaka Sayısı (n)	Yaş	Tanı	PTEN Epitel Skoru	PTEN Stroma Skoru	PTEN Stroma Boyanma Yüzdesi
1	53	Adenomyozis	0	0	0
2	50	Atipik Adenomyozis	0	0	0
3	55	Adenomyozis	4	1	2
4	46	Adenomyozis	4	1	2
5	54	Adenomyozis	5	1	2
6	52	Adenomyozis	4	0	0
7	45	Adenomyozis	5	2	50
8	74	Adenomyozis	3	2	40
9	50	Adenomyozis	0	0	0
10	56	Adenomyozis	3	0	0
11	52	Adenomyozis	3	1	2
12	47	Adenomyozis	4	1	2
13	42	Adenomyozis	1	3	90
14	74	Adenomyozis	0	0	0
15	53	Adenomyozis	1	1	2
16	31	Endometriozis	0	0	0
17	47	Endometriozis	0	3	70
18	34	Endometriozis	0	0	0
19	39	Atipik Endometriozis	0	0	0
20	25	Endometriozis	0	3	70
21	32	Endometriozis	0	2	20
22	47	Endometriozis	0	3	70
23	40	Endometriozis	5	4	95
24	35	Endometriozis	0	2	20
25	74	Endometriozis	2	2	20
26	29	Endometriozis	0	0	0
27	46	Endometriozis	1	2	10
28	30	Endometriozis	0	0	0
29	51	Endometriozis	0	0	0
30	27	Endometriozis	5	4	91

**İstatistiksel Çalışma:** SPSS 13 kullanılarak yapılmıştır.

Yaşları 25-74 arasında değişen 15 adenomyozis biyopsisinde ortalama yaş 53,5 olup yaşları 25-74 arasında değişen 15 endometriozis biyopsisinde ortalama yaş 39,1'dir. Yapılan T-testi ile iki grup arasında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır (.001,  $p < 0.05$ ).

Adenomyozisli 15, endometriozisli 15 biyopsi materyallerinde PTEN'in epitelyal boyanma skoru açısından farklılık Mann-Whitney U testi ile araştırıldığında bu odaklardaki epitelde PTEN boyanma skoru açısından önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.033,  $p<0.05$ ).

Adenomyozisli 15, endometriozisli 15 biyopsi materyallerinde PTEN'in stromal boyanma skoru ve yüzde oranları Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında bu açıdan gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (sırasıyla; .202,  $p>0.05$  , .305,  $p>0.05$ ).

On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisinde yaş ortalaması 42,9 olup 30 biyopsiden oluşan 15 adenomyozis, 15 endometriozis biyopsilerinde yaş ortalaması 46,3'tür. Bu iki grubun yaş ile ilişkileri T-test ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.289,  $p>0.05$ ).

On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 30 olgudan oluşan 15 adenomyozis, 15 endometriozis biyopsileri arasında stromanın PTEN boyanma skoru açısından Mann-Whitney U testi ile bu iki grup karşılaştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.001,  $p<0.05$ ). Stromanın PTEN boyanma yüzdeleri açısından Mann-Whitney U testi ile bu iki grup karşılaştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.000,  $p<0.05$ ).

On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 30 olgudan oluşan 15 adenomyozis, 15 endometriozis biyopsileri arasında PTEN'in epitelyal boyanma skoru açısından farklılık Mann-Whitney U testi ile araştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.054,  $p>0.05$ ).

On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisinde yaş ortalaması 42,9 olup 15 biyopsiden oluşan adenomyozislerde yaş ortalaması 53,5'tir. Bu iki grubun yaş ile ilişkileri T-test ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.003,  $p<0.05$ ).

On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 biyopsiden oluşan adenomyozis arasında

PTEN'in epitelyal boyanma skoru açısından farklılık Mann-Whitney U testi ile araştırıldığında istatistiksel ileri derecede önemli düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (.001,  $p<0.05$ ).

On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 adenomyozisli biyopsiler stromanın PTEN boyanma skoru açısından Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.000,  $p<0.05$ ).

On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 adenomyozisli biyopsiler stromanın PTEN boyanma yüzde oranları açısından Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.000,  $p<0.05$ ).

On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisinde yaş ortalaması 42,9 olup 15 endometriozis biyopsisinde yaş ortalaması 39,1'dir. Bu iki grubun yaş ile ilişkileri T-test ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.314,  $p>0.05$ ).

On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 endometriozisli biyopsiler stromanın PTEN boyanma yüzde oranı açısından Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel önemli düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (.049,  $p<0.05$ ).

On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 endometriozis biyopsisi arasında PTEN'in epitelyal boyanma skoru açısından farklılık Mann-Whitney U testi ile araştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.778,  $p>0.05$ ).

On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 endometriozisli biyopsilerde stromanın PTEN boyanma skoru açısından Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.222,  $p>0.05$ ).



### 4.3.Endometrial İntraepitelyal Neoplazilerde PTEN Ekspresyonu

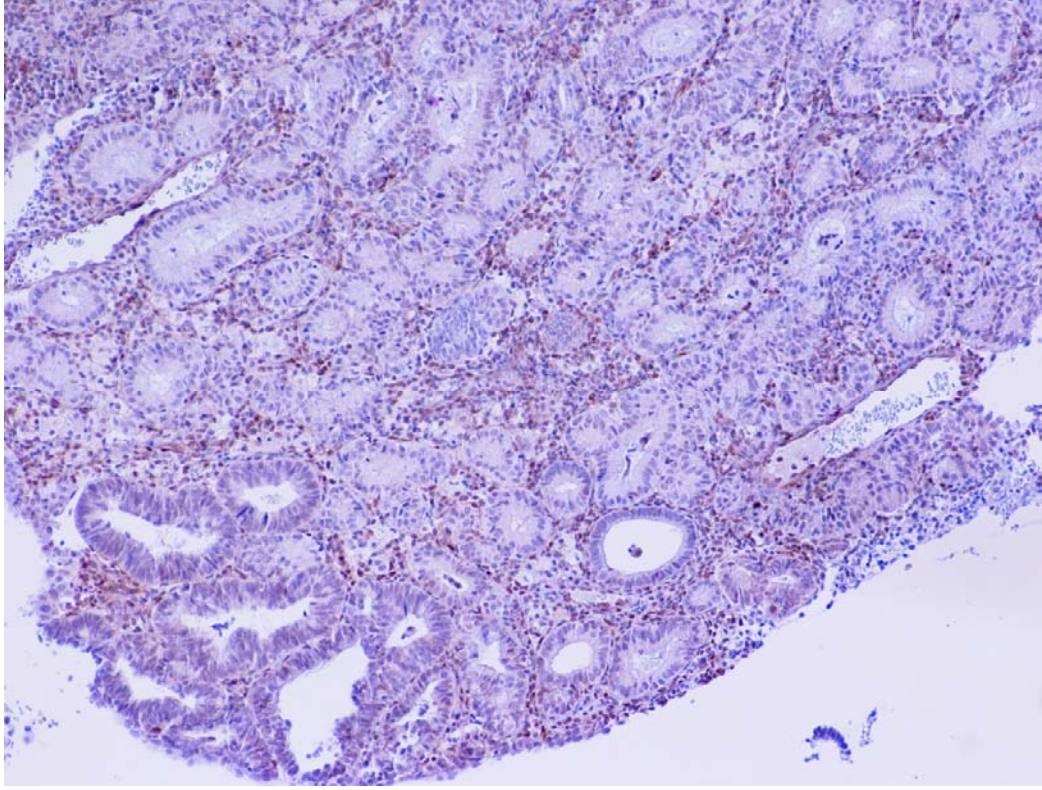
#### Endometrial İntraepitelyal Neoplazide PTEN ile boyanma paterni

Dokuz endometrial intraepitelyal neoplazi biyopsisinden birisinde PTEN ile epitelde 4 şiddetinde %100'ünde yaygın zayıf nükleer+sitoplazmik boyanma izlenmiştir. İki biyopside 3 şiddetinde ikisinde de %50 oranında fokal sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Bir biyopside 2 şiddetinde %30'unda fokal sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Dört biyopside 1 şiddetinde üçü %2, biri %9 oranında fokal sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Bir biyopside ise epitelde boyanma izlenmemiştir.

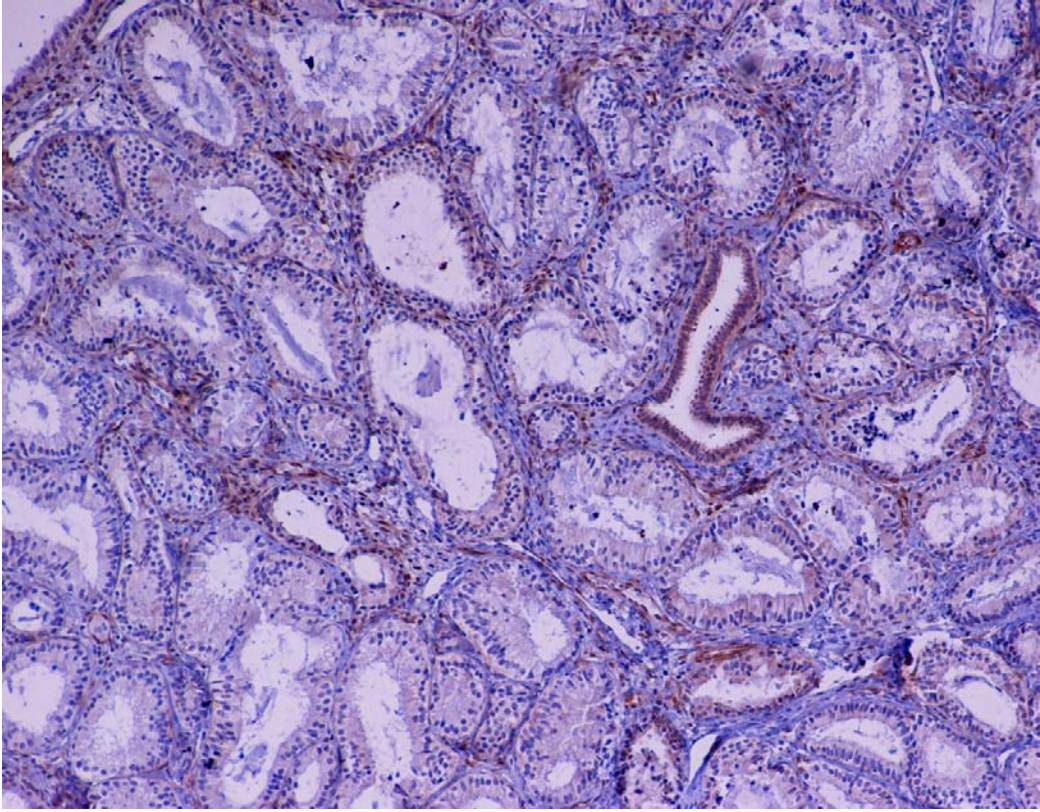
Dokuz endometrial intraepitelyal neoplazi biyopsisinden birisinde stromada PTEN 4 şiddetinde %91 oranında nükleer boyanma göstermektedir. Üçünde stromada 2 şiddetinde nükleer boyanma izlenmiş olup stroma boyanma yüzdeleri sırasıyla; %30, %20 ve %10'dur. Dördünde stromada 1 şiddetinde nükleer boyanma izlenmiş olup stroma boyanma yüzdeleri üçünde %5, birinde %2'dir. Birisinde ise stromada boyanma görülmemiştir.

Bir biyopside epitelde bir biyopside ise stromada boyanma gözlenmemiştir.

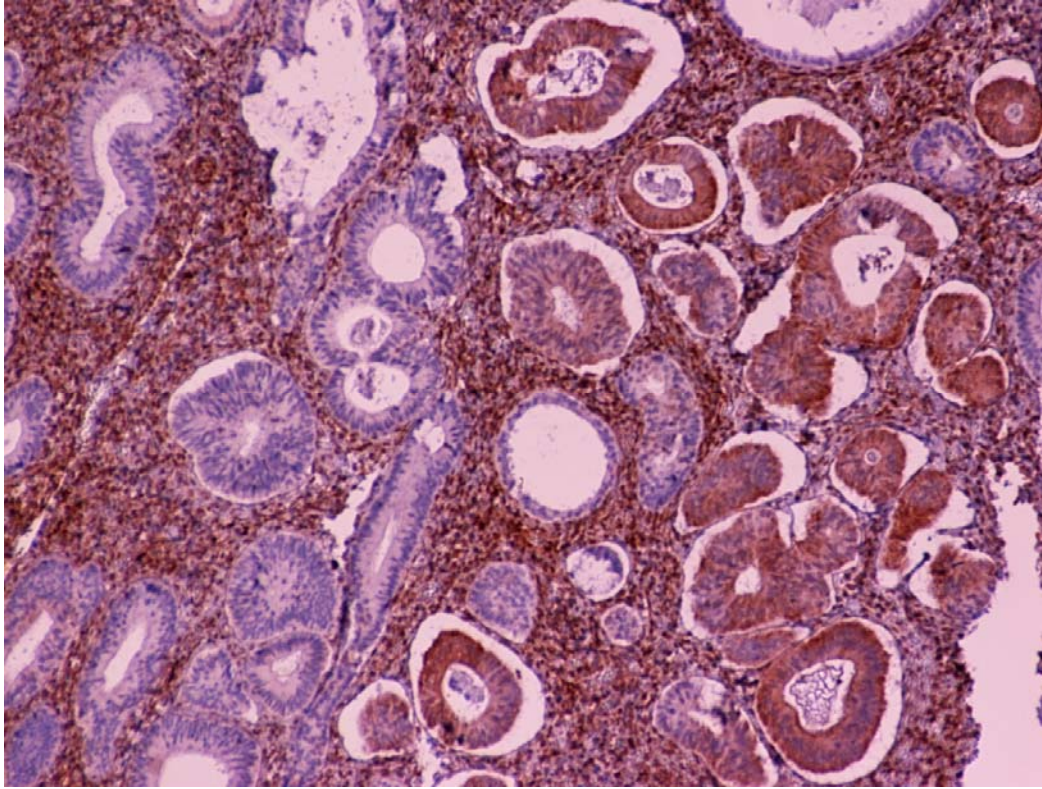
EIN biyopsilerinde PTEN ekspresyonu Şekil 4.11-13'te verilmiştir.



Şekil 4.11. Endometrial intraepitelyal neoplazi. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile epitel 1 şiddetinde glandüler hücrelerin %2'sinde fokal pozitif boyanmıştır, 1F1 olarak skorlanmıştır. Stroma ise %30 oranında 2 şiddetinde boyanmıştır, St2 olarak skorlanmıştır (Biyopsi no:12141-10, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).



Şekil 4.12. Endometrial intraepitelyal neoplazi. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile epitel 1 şiddetinde glandüler hücrelerin %2'sinde fokal pozitif boyanmıştır, 1F1 olarak skorlanmıştır. Stroma ise %5 oranında 1 şiddetinde boyanmıştır, St1 olarak skorlanmıştır (Biyopsi no:11329-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).



Şekil 4.13. Endometrial intraepitelyal neoplazi. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile epitel 2 şiddetinde glandüler hücrelerin %30'unda fokal pozitif boyanmıştır, 2F2 olarak skorlanmıştır. Stroma ise %10 oranında 2 şiddetinde boyanmıştır, St2 olarak skorlanmıştır (Biyopsi no:13800-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

EIN biyopsilerinin özellikleri Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Endometrial İntraepitelyal Neoplazi biyopsilerinin özellikleri.

Vaka Sayısı (n)	Yaş	Komşu Endometrium	Tanı (EIN boyutu)	Tedavi Şekli	İkinci Biyopsi Sonucu
1	65	Atipili Kompleks Hiperplazi	1mm	1 ay sonra TAH	TAH materyalinde EIN odağı izlenmedi
2	37	Atipili Kompleks Hiperplazi	1mm	Tıbbi tedavi	Atipili kompleks hiperplazi ve EIN devam ediyor
3	70	Polip	7mm	Tıbbi tedavi verilemedi.	Non Hodgkin B hücreli lenfoplamositoid lenfomanın serozal yayılımı
4	47	Atipili Kompleks Hiperplazi	1mm	2 ay sonra TAH	TAH materyalinde EIN odağı mevcut
5	53	Atipili Kompleks Hiperplazi	1mm	2 ay sonra TAH	TAH materyalinde Skuamöz Diferansiyasyon Gösteren Endometrioid Adenokarsinom Grade 2, Evre 2, <i>Blastomiçes Dermatitis</i> enfeksiyonu
6	51	Basit Atipili Hiperplazi	1mm	10 gün sonra TAH	TAH materyalinde EIN odağı izlenmedi
7	54	Atipili Kompleks Hiperplazi	1mm	15 gün sonra TAH	TAH materyalinde polipoid adenomyomda gelişmiş endometrioid adenokarsinom, Grade2, Evre1A
8	50	Kompleks Hiperplazi	1,5mm	7 gün sonra TAH	TAH materyalinde EIN odağı izlenmedi
9	56	Kompleks Hiperplazi	2,4mm	TAH	TAH materyalinde EIN odağı mevcut

Dokuz endometrial intraepitelyal neoplazi biyopsilerinin yaşları 37-70 arasında değişmekteydi. EIN tanısının boyutları 1-7 mm arasında değişmekteydi.

EIN biyopsilerine beş biyopside atipili kompleks hiperplazi, ikisinde kompleks hiperplazi, bir biyopside basit atipili hiperplazi, bir biyopside ise polipoid gelişim eşlik etmekteydi.

İki hastaya tıbbi tedavi uygulanmış olup yedi hastaya değişik gün aralıkları ile operasyon uygulandı. Operasyon sonrası üç olguda EIN odağı görülmedi. Üç

olguda operasyon sonrası EIN odağı devam etmekteydi. Bir olguda peritonda Non Hodgkin B hücreli lenfoplazmositoid lenfoma saptandığı için EIN odağına yönelik tıbbi tedavi yapılmadı.

Bir olguda iki ay sonrasında yapılan operasyonda skuamöz diferansiasyon gösteren endometrioid adenokarsinom Grade 2 ve *Blastomiçes Dermatitis* enfeksiyonu saptandı.

Bir olguda ise operasyon spesmeninde polipoid adenomyomda gelişmiş endometrioid adenokarsinom, Grade 2 saptandı.

Endometrial İntraepitelyal Neoplazi biyopsilerinde PTEN'in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri Tablo 4.4'de izlenmektedir.

Tablo 4.4. Endometrial İntraepitelyal Neoplazi biyopsilerinde PTEN'in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri.

Vaka Sayısı (n)	Yaş	Tanı	PTEN Epitel Skoru	PTEN Stroma Skoru	PTEN Stroma Boyanma Yüzdesi
1	65	EIN	1	2	30
2	37	EIN	0	1	5
3	70	EIN	1	1	5
4	47	EIN	1	1	5
5	53	EIN	4	2	20
6	51	EIN	1	1	2
7	54	EIN	3	4	91
8	50	EIN	3	0	0
9	56	EIN	2	2	10

**İstatistiksel Çalışma:** SPSS 13 kullanılarak yapılmıştır.

Dokuz endometrial intraepitelyal neoplazi biyopsisinde yaş değerleri 37-70 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 53,6'dır.

Onbir basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri PTEN epitel boyanma skoru açısından Kruskal-Wallis testi ile araştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.011,  $p < 0.05$ ).

Onbir basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri PTEN stroma boyanma skoru açısından Kruskal-Wallis testi ile araştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.005,  $p < 0.05$ ).

Onbir basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri PTEN stroma boyanma yüzde oranları açısından Kruskal-Wallis testi ile araştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.001,  $p < 0.05$ ).

#### **Çoklu karşılaştırma testi**

Epitelin boyanma skoru açısından gözlenen farklılık çoklu karşılaştırma testi ile araştırıldığında 8 kompleks hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.008,  $p < 0.05$ ).

Onbir basit hiperplazi ile 9 EIN biyopsileri PTEN'in epitelyal boyanma skoru açısından Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.255,  $p > 0.05$ ).

Stromanın boyanma skoru açısından gözlenen farklılık çoklu karşılaştırma testi ile araştırıldığında 11 basit hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.007,  $p < 0.05$ ).

Stromal PTEN ekspresyonu açısından Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırılan 8 kompleks hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p > 0.05$ ).

Stromanın boyanma yüzde oranları açısından gözlenen farklılık çoklu karşılaştırma testi ile araştırıldığında 11 basit hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.002,  $p < 0.05$ ).

Onbir basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplazi biyopsilerinde PTEN'in stromal boyanma yüzdeleri açısından farklılık çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.037,  $p < 0.05$ ).

Dokuz EIN ve 8 kompleks hiperplazi biyopsilerinde PTEN'in stroma boyanma yüzdeleri açısından farklılık çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p > 0.05$ ).

#### **4.4.Endometrioid Adenokarsinomlarda PTEN Ekspresyonu**

Materyal ve metod bölümünde belirtildiği gibi seçilen 26 endometrioid adenokarsinom vakası; çalışma grubu, 1. kontrol grubu ve 2. kontrol grubu olarak gruplanıp çalışmaya dahil edildi. Bu hastalar opere edildikten sonra total abdominal histerektomi materyalleri FIGO gradeleme sistemi kullanılarak gradelendirildi.

Yirmi altı biyopsiden oluşan endometrioid adenokarsinomların dokuzu Evre 1A olup, onüçü Evre 1B, biri Evre 2, üçü Evre 3A'dır.

Yirmi altı biyopsiden oluşan endometrioid adenokarsinomların altısı grade 1 olup, 19'u grade 2, biri grade 3'tür.

Yirmi altı biyopsiden oluşan endometrioid adenokarsinomların 10'u skuamöz diferansiyasyon göstermekte olup, bir tanesi müsinöz diferansiyasyon göstermekteydi.

Endometrioid adenokarsinomların Evre ve Grade'leri Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5. Endometrioid Adenokarsinomların Evre ve Grade'leri.

Değişken	Endometrioid Adenokarsinom
<i>Evre</i>	
IA	9
IB	13
II	1
IIIA	3
<i>Grade</i>	
1	6
2	19
3	1
<i>Histolojik Subtip</i>	
Endometrioid	15
-Skuamöz diferansiyasyon	10
-Müsinöz diferansiyasyon	1
Total	26

Dokuz borderline endometrioid adenokarsinom biyopsisinin altısı grade 1, üçü grade 2 idi. Dokuz iyi diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsisinin dokuzu da grade 2 idi. Sekiz orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisinin yedisi grade 2, biri grade 3 idi.

Endometrioid adenokarsinom biyopsilerinin grade'lere göre dağılımı Tablo 4.6'da verilmiştir.



Tablo 4.6. Endometrioid adenokarsinom biyopsilerinin Grade'lerine göre dağılımı.

	GRUP			Total
	Borderline Endometrium Adenokarsinomu	İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	Orta ve Az Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	
Grade 1	6	0	0	6
Grade 2	3*	9*	7	19
Grade 3	0	0	1	1
Total	9	9	8	26

\*Tip 2 histerektomi spesmenlerinde FIGO Grade'i 2 olarak verilmiştir.

Dokuz borderline endometrioid adenokarsinom biyopsisinin sekizi Evre 1A, biri Evre 3A idi. Dokuz iyi diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsisinin biri Evre 1A, yedisi Evre 1B, biri Evre 2 idi. Sekiz orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsinin altısı Evre 1B, ikisi Evre 3A idi.

Endometrioid adenokarsinom biyopsilerinin evre'lerine göre dağılımı Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Endometrioid adenokarsinom biyopsilerinin Evre'lerine göre dağılımı.

	GRUP			Total
	Borderline Endometrium Adenokarsinomu	İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	Orta ve Az Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	
Evre 1A	8	1	0	9
Evre 1B	0	7	6	13
Evre 2	0	1	0	1
Evre 3A	1	0	2	3
Total	9	9	8	26

Dokuz borderline endometrium adenokarsinom, dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom, sekiz orta ve az diferansiye endometrium

adenokarsinom biyopsileri grade'leri açısından Pearson Chi-Square testi ile karşılaştırıldığında aralarında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.001,  $p < 0.05$ ).

Dokuz borderline endometrium adenokarsinom, dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom, sekiz orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsileri evre'leri açısından Pearson Chi-Square testi ile karşılaştırıldığında aralarında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.000,  $p < 0.05$ ).

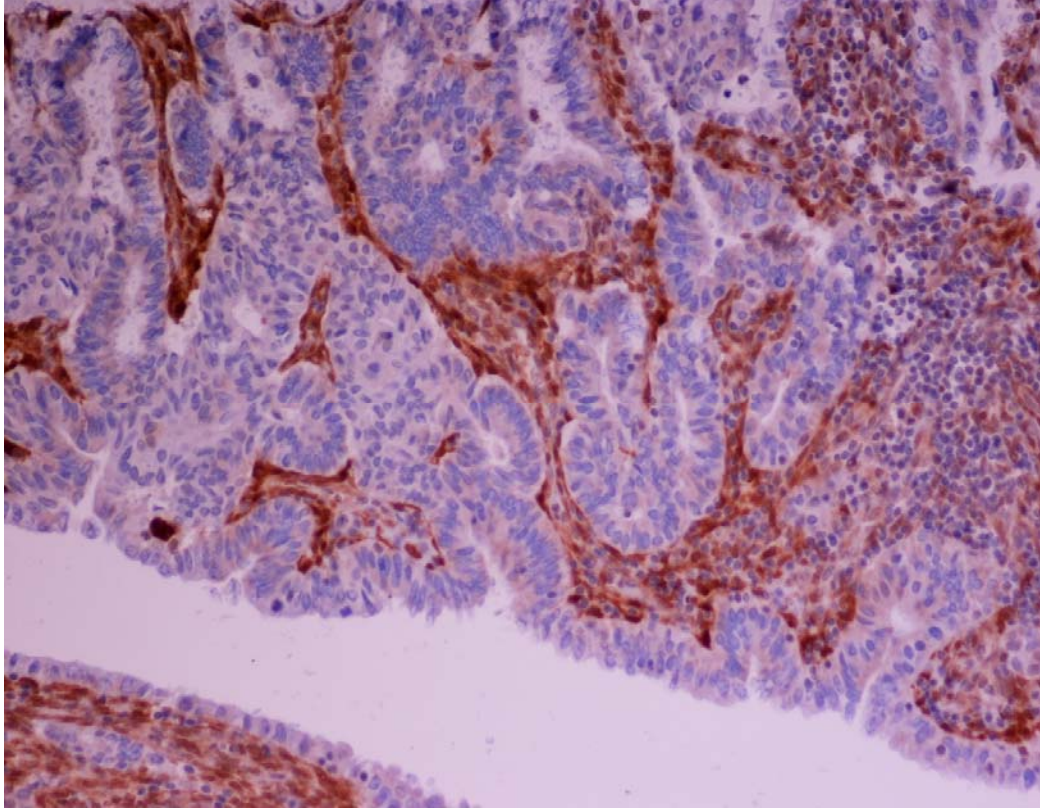
### **Borderline endometrioid adenokarsinom biyopsilerinde PTEN ile boyanma paterni**

Yaşları 43-72 arasında değişmekte olan dokuz borderline endometrioid adenokarsinom biyopsisinden birisinde PTEN ile epitelde 5 şiddetinde %100'ünde orta şiddette sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Bir biyopside 4 şiddetinde %100'ünde zayıf sitoplazmik boyanma izlenmiştir. İki biyopside 3 şiddetinde birisinde %50, diğerinde %35 oranında fokal sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Bir biyopside 2 şiddetinde %20'sinde fokal sitoplazmik boyanma izlenmiştir. İki biyopside 1 şiddetinde %5 oranlarında fokal sitoplazmik boyanma izlenmiştir. İki biyopside ise epitelde boyanma izlenmemiştir.

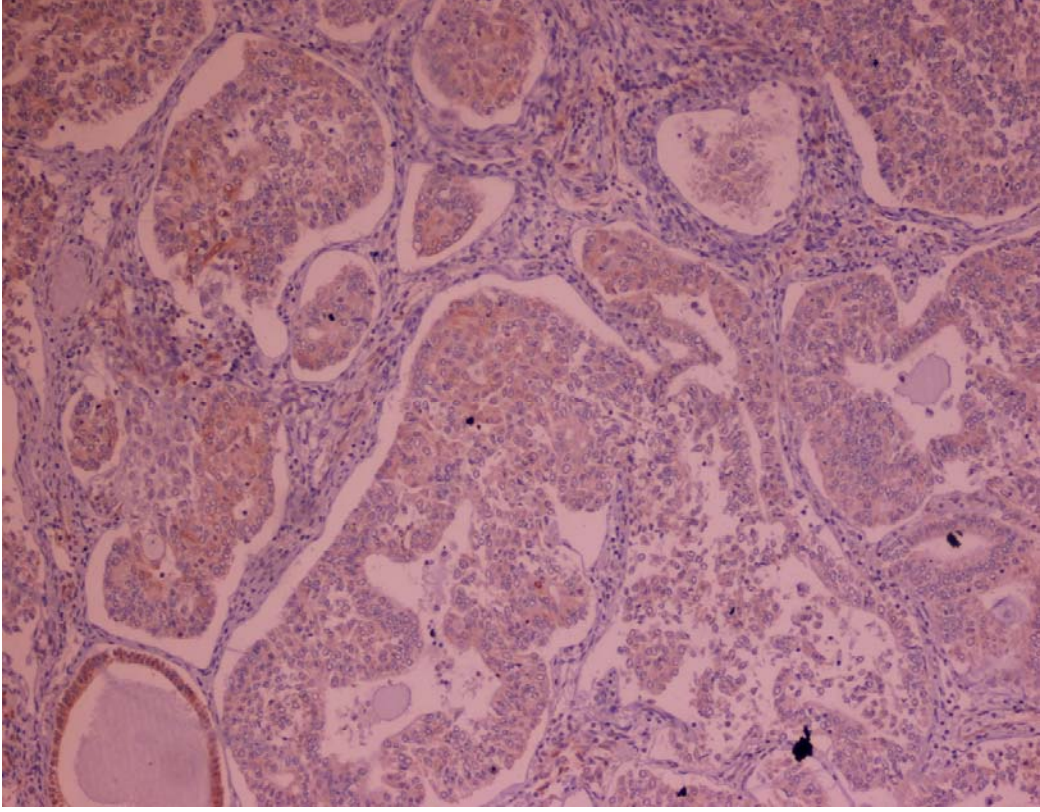
Dokuz borderline endometrioid adenokarsinom biyopsisinden birisinde stromada PTEN 4 şiddetinde %95 oranında nükleer boyanma göstermektedir. Birisinde stromada 3 şiddetinde %51'inde nükleer boyanma göstermiştir. Beşinde stromada 1 şiddetinde nükleer boyanma izlenmiş olup stroma boyanma yüzdeleri ikisinde %2, birisinde %5, birisinde %9, birisinde ise tek hücre sıralıdır. İkisinde ise stromada boyanma görülmemiştir. İltihap hücreleri de stromal hücreler gibi PTEN ile boyanma gösterebilmektedir.

Özetle iki biyopside epitelde, iki biyopside ise stromada boyanma gözlenmemiştir. Bir biyopside hem epitelde hem de stromada boyanma gözlenmemiştir. Bir biyopside epitelde 3 şiddetinde boyanma gözlenirken stromada boyanma görülmemiştir. Bir biyopside ise epitelde boyanma gözlenmezken stromada bir şiddetinde boyanma görülmüştür.

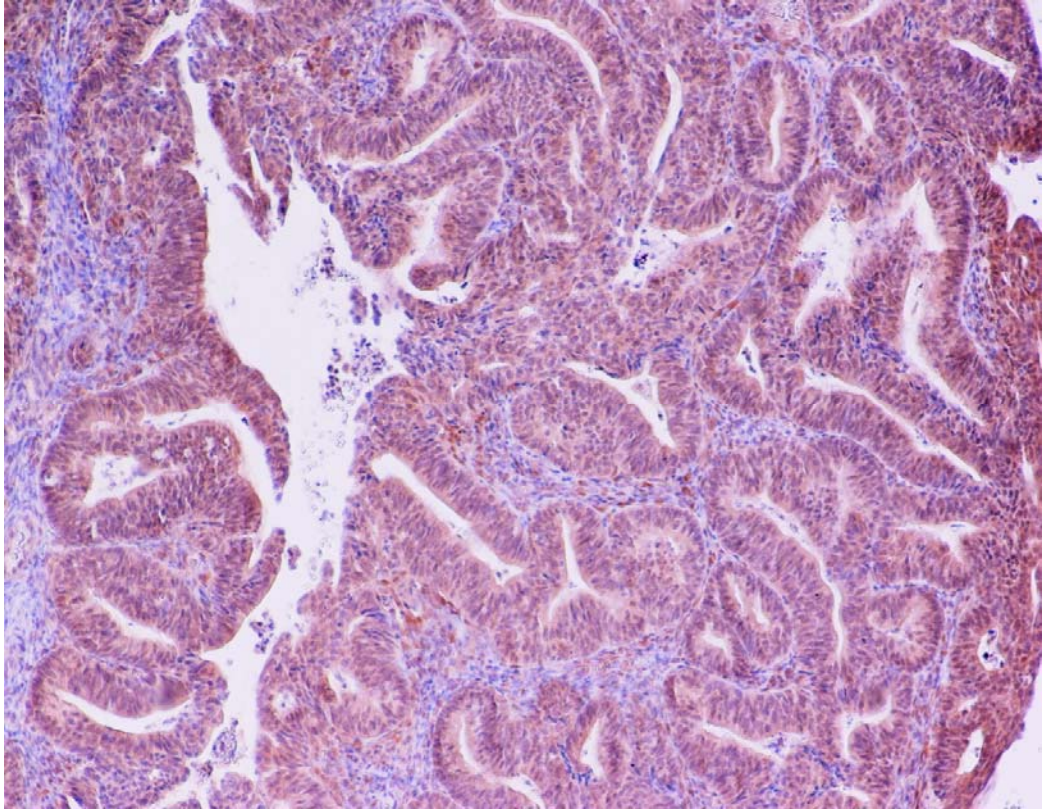
Borderline endometrioid adenokarsinom biyopsilerinde PTEN ekspresyonları Şekil 4.14-16'da verilmiştir.



Şekil 4.14. Borderline endometrium adenokarsinomu. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile epitel 1 şiddetinde tümöral hücrelerin %5'inde fokal güçlü pozitif boyanmıştır, 1F1 olarak skorlanmıştır. Stroma ise %95 oranında 4 şiddetinde boyanmıştır, St4 olarak skorlanmıştır (Biyopsi no:4215-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).



Şekil 4.15. Borderline endometrium adenokarsinomu. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile epitel 3 şiddetinde tümöral hücrelerin %35'inde fokal güçlü pozitif boyanmıştır, 3F3 olarak skorlanmıştır. Stroma ise %2 oranında 1 şiddetinde boyanmıştır, St1 olarak skorlanmıştır (Biyopsi no:14800-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).



Şekil 4.16. Borderline endometrium adenokarsinomu. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile epitel 5 şiddetinde tümöral hücrelerin %100'ünde orta şiddette pozitif boyanmıştır, 5Y2 olarak skorlanmıştır. Stroma ise %5 oranında 1 şiddetinde boyanmıştır, St1 olarak skorlanmıştır (Biyopsi no:13822-10, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

### **İyi diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsilerinde PTEN ile boyanma paterni**

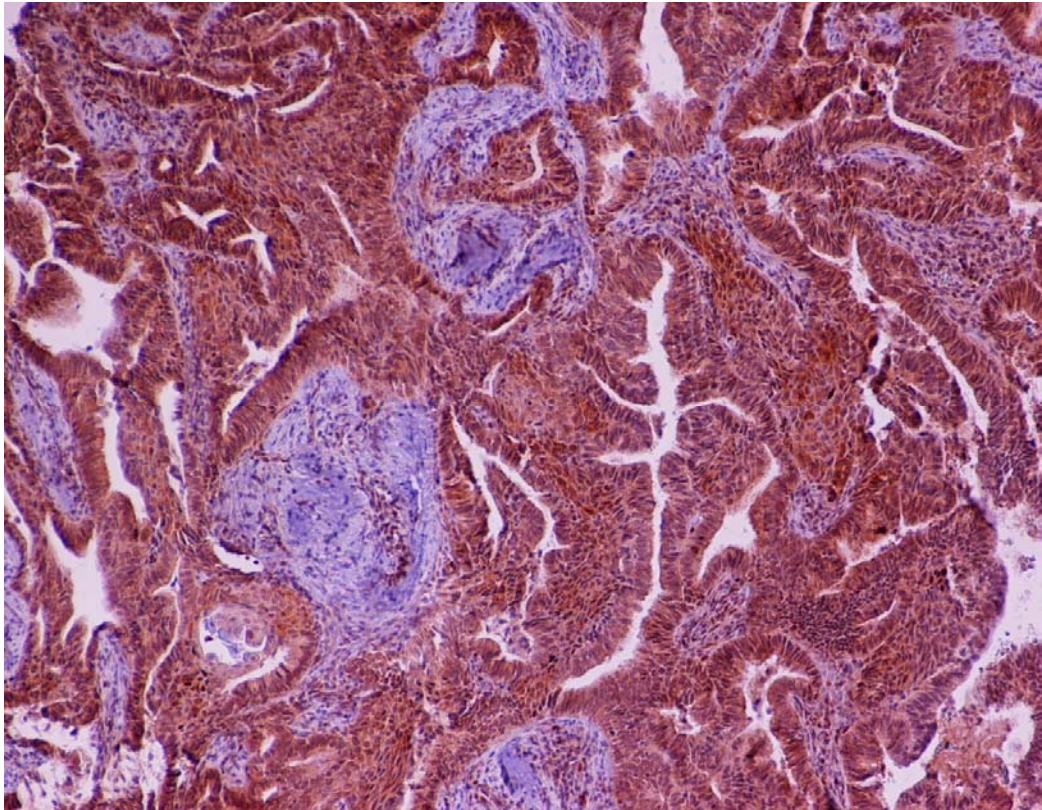
Yaşları 44-74 arasında değişmekte olan dokuz iyi diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsisinden ikisinde PTEN ile epitelde 5 şiddetinde %100'ünde orta şiddette sitoplazmik boyanma izlenmiştir. İki biyopside 4 şiddetinde %100'ünde zayıf sitoplazmik boyanma izlenmiştir. İki biyopside 1 şiddetinde %9 oranlarında fokal sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Üç biyopside ise epitelde boyanma izlenmemiştir.

Dokuz iyi diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsisinden ikisinde stromada PTEN 2 şiddetinde birisinde %30 oranında, diğerinde 5-10 hücre sıralı olarak nükleer boyanma göstermektedir. Yedisinde stromada 1 şiddetinde nükleer

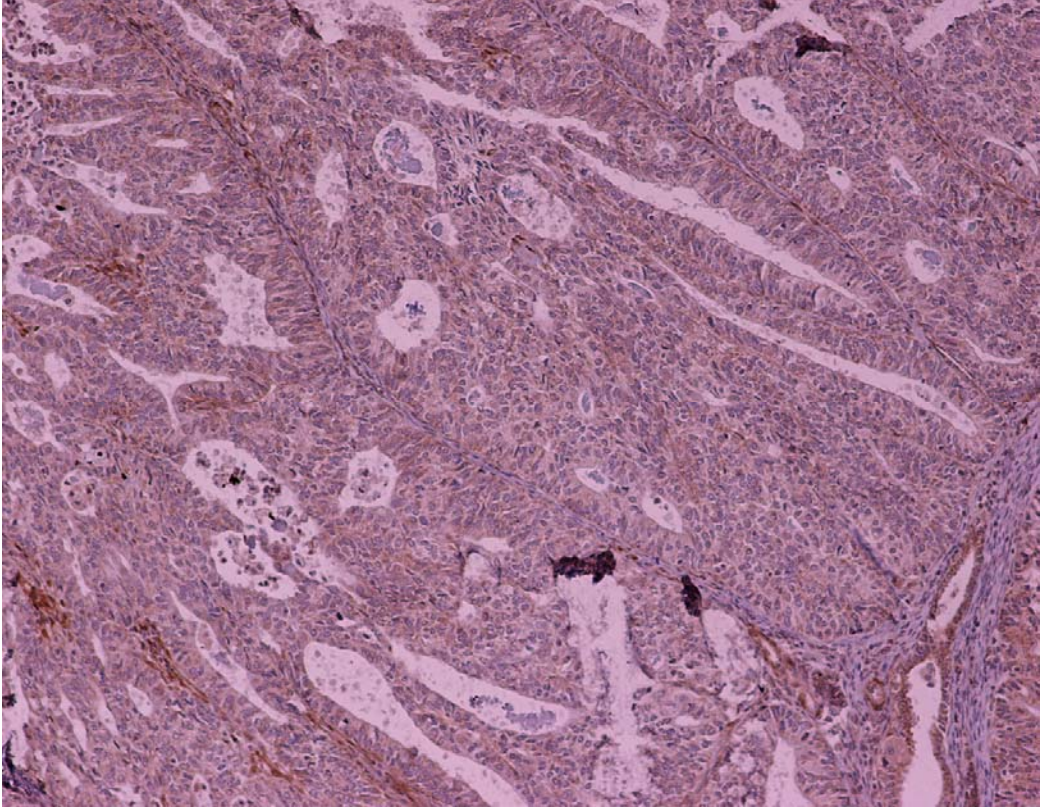
boyanma izlenmiş olup stroma boyanma yüzdeleri ikisinde %9, birisinde %3, üçünde %2, birisinde ise tek hücre sıralıdır.

Özetle üç biyopside epitelde boyanma izlenmezken stromada boyanma izlenmiştir. Bu üç biyopsiden ikisinde stroma 1 şiddetinde birinde ise 2 şiddetinde boyanma göstermiştir.

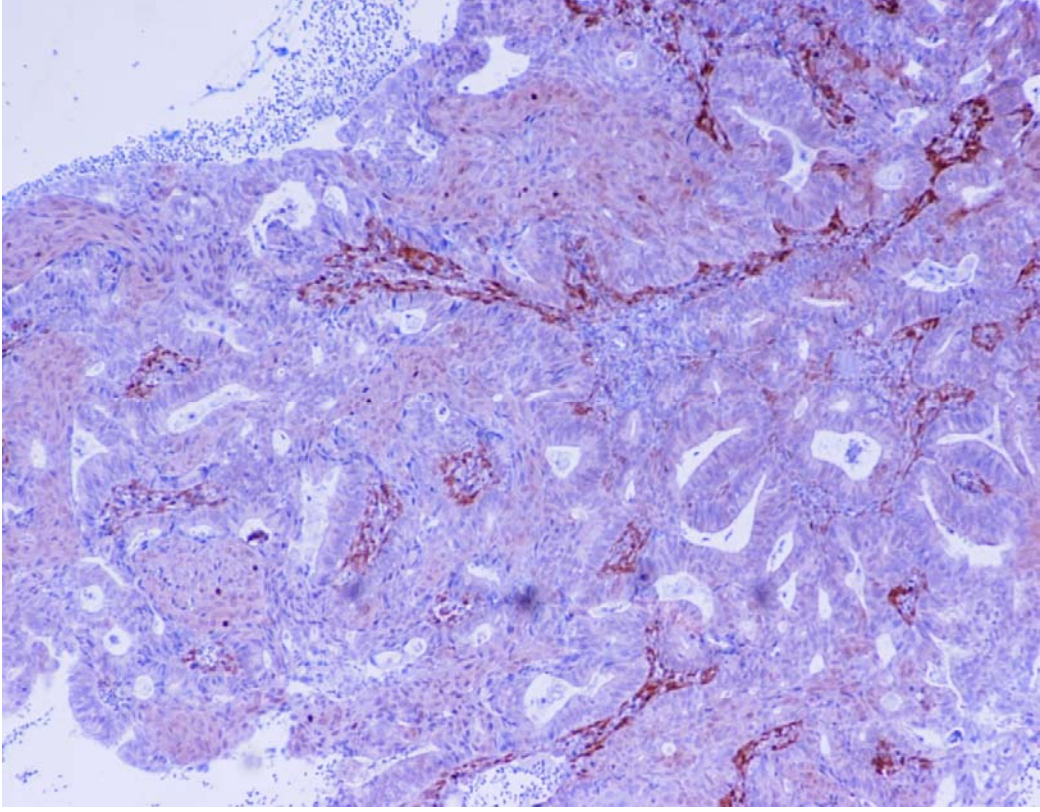
İyi diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsilerinde PTEN ekspresyonları Şekil 4.17-20’de verilmiştir.



Şekil 4.17. İyi diferansiye endometrium adenokarsinomu. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası epitelde 5 şiddetinde tümöral hücrelerin %100’ünde orta şiddette boyanma izlenmiştir, 5Y2 olarak skorlanmıştır. Stroma ise 2 şiddetinde, 5-10 hücre sıralı olarak) boyanmıştır, St2 olarak skorlanmıştır (Biyopsi no:6488-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

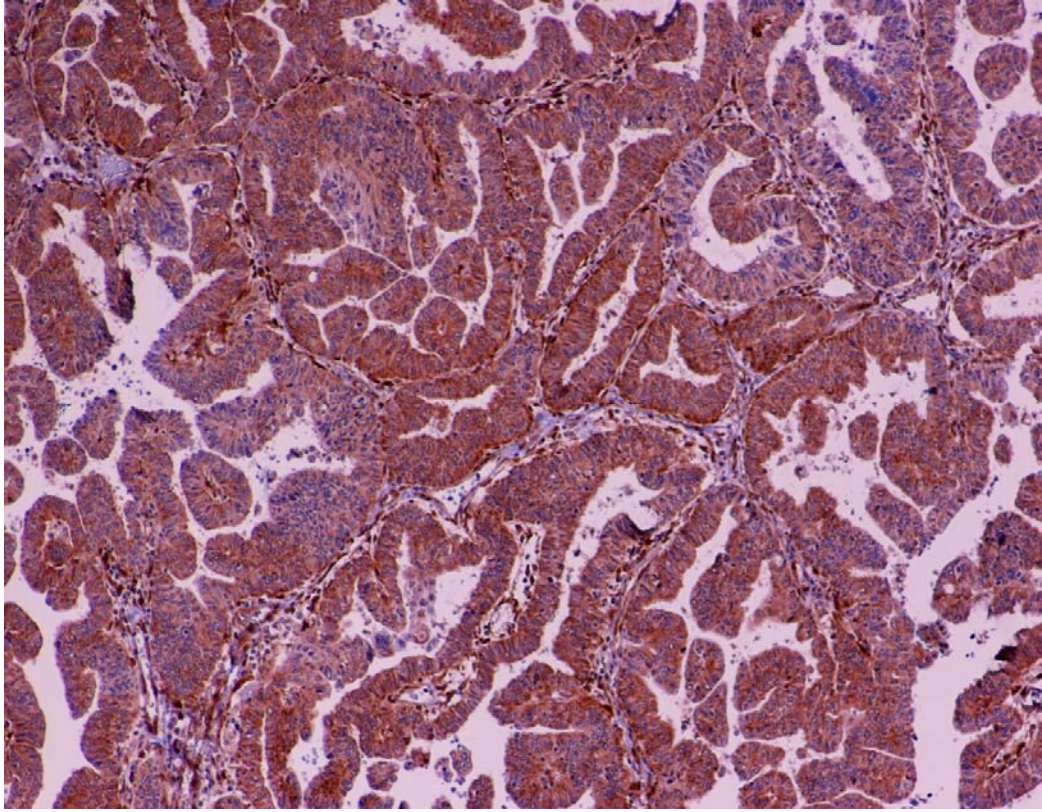


Şekil 4.18. İyi diferansiye endometrium adenokarsinomu. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile stroma 1 şiddetinde, tek hücre sıralı olarak boyanmıştır, St1 olarak skorlanmıştır. Epitelde boyanma olmamıştır (Biyopsi no:2761-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).



Şekil 4.19. İyi diferansiye endometrium adenokarsinomu. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası epitelde 1 şiddetinde tümöral hücrelerin %2-9'unda fokal güçlü boyanma izlenmiştir, 1S1 olarak skorlanmıştır. Stroma ise 1 şiddetinde, tek hücre sıralı olarak boyanmıştır, St1 olarak değerlendirilmiştir (Biyopsi no:15592-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).





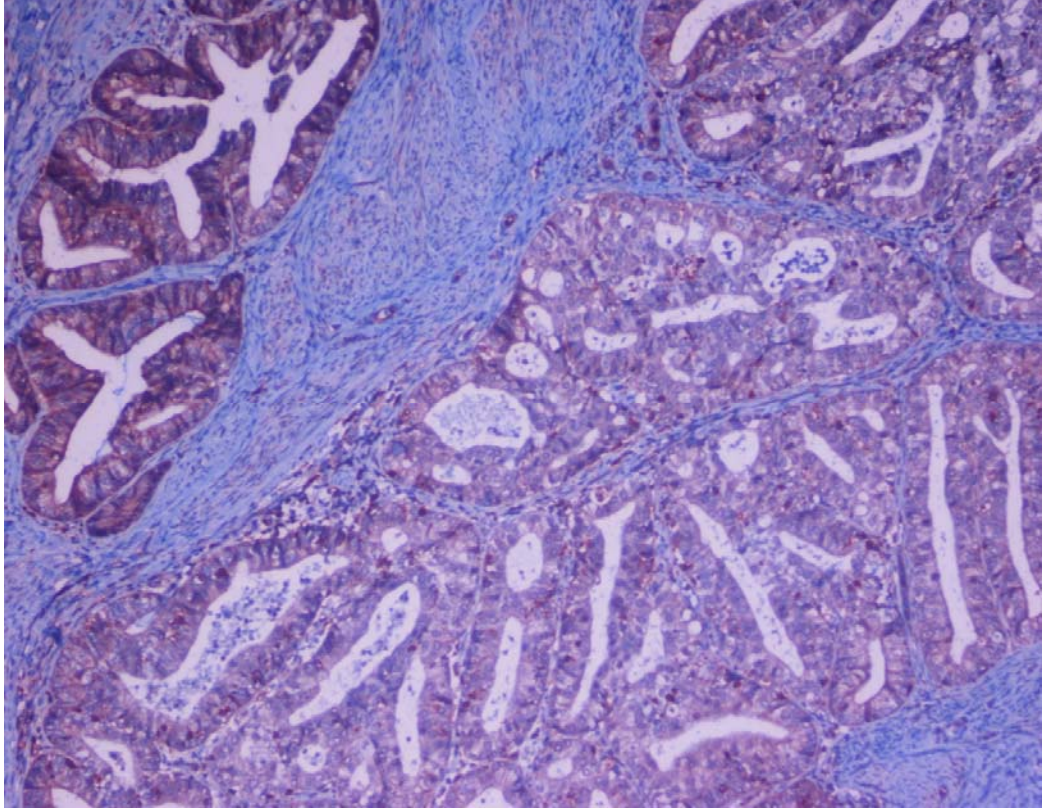
Şekil 4.20. İyi diferansiye endometrium adenokarsinomu. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası ile epitelde 5 şiddetinde tümöral hücrelerin %100'ünde orta şiddette boyanma izlenmiştir, 5Y2 olarak skorlanmıştır. Stroma ise 1 şiddetinde, tek hücre sıralı olarak boyanmıştır, St1 olarak skorlanmıştır (Biyopsi no:14709-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

#### **Orta ve az diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsilerinde PTEN ile boyanma paterni**

Yaşları 44-74 arasında değişen sekiz orta ve az diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsisinden ikisinde PTEN ile epitelde 4 şiddetinde %100'ünde zayıf sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Üç biyopside 2 şiddetinde her birinde %30 oranında fokal boyanma izlenmiştir. Üç biyopside 1 şiddetinde %2 oranında fokal sitoplazmik boyanma izlenmiştir.

Sekiz orta ve az diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsisinden birisinde stromada PTEN 2 şiddetinde birisinde %10 oranında nükleer boyanma göstermektedir. Yedisinde stromada 1 şiddetinde nükleer boyanma izlenmiş olup stroma boyanma yüzdeleri her birinde %2'dir.

Orta ve az diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsilerinde PTEN ekspresyonları Şekil 4.21’de verilmiştir.



Şekil 4.21. Orta derecede diferansiye endometrium adenokarsinomu. Biyopside PTEN immunohistokimyasal boyası epitelde 4 şiddetinde tümöral hücrelerin %100’ünde zayıf şiddette boyanma izlenmiştir, 4Y1 olarak skorlanmıştır. Stroma ise 1 şiddetinde, tek hücre sıralı olarak boyanmıştır, St1 olarak skorlanmıştır (Biyopsi no:2558-11, PTEN immunohistokimyasal boyası X 200).

Endometrium adenokarsinom biyopsilerinde PTEN’in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8. Endometrium adenokarsinom biyopsilerinde PTEN'in epitelyal ve stroma boyanma özellikleri.

Vaka Sayısı (n)	Yaş	Tanı	PTEN Epitel Skoru	PTEN Stroma Skoru	PTEN Stroma Boyanma Yüzdesi
1	52	Borderline Endometrium Adenokarsinomu	1	4	95
2	52	Borderline Endometrium Adenokarsinomu	3	1	2
3	43	Borderline Endometrium Adenokarsinomu	4	1	9
4	55	Borderline Endometrium Adenokarsinomu	2	3	51
5	52	Borderline Endometrium Adenokarsinomu	5	1	5
6	59	Borderline Endometrium Adenokarsinomu	3	0	0
7	64	Borderline Endometrium Adenokarsinomu	0	0	0
8	65	Borderline Endometrium Adenokarsinomu	0	1	2
9	72	Borderline Endometrium Adenokarsinomu	1	1	2
10	59	İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	0	2	30
11	56	İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	0	1	9
12	68	İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	1	1	9
13	56	İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	5	1	9

Tablo 4.8. Endometrium adenokarsinom biyopsilerinde PTEN'in epitelyal ve stromal boyanma özellikleri (devamı)

14	44	İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	1	1	2
15	74	İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	4	1	2
16	56	İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	5	2	5-10 sıra
17	75	İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	0	1	Tek hücre sıra
18	74	İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	4	1	2
19	51	Orta ve Az Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	4	1	2
20	65	Orta ve Az Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	1	1	2
21	44	Orta ve Az Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	1	1	2
22	58	Orta ve Az Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	4	1	2
23	74	Orta ve Az Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	2	1	2
24	67	Orta ve Az Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	1	1	2
25	71	Orta ve Az Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	2	2	10
26	65	Orta ve Az Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu	2	1	2

**İstatistiksel Çalışma:** SPSS 13 kullanılarak yapılmıştır.

Yaşları 43-72 arasında değişen yaş ortalaması 57,1 olan borderline endometrium adenokarsinom biyopsileri ile yaşları 24-73 arasında değişen yaş ortalaması 42,9 olan 29 endometrium biyopsisi ile yaşları 25-74 arasında değişen yaş ortalaması 39,1 olan 15 endometriozis biyopsisi arasında istatistiksel anlamlılık saptamak amacıyla yapılan Tukey testi ile aralarında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla; .014,  $p<0.05$ , .003,  $p<0.05$ ).

Yaşları 44-75 arasında değişen yaş ortalaması 62,4 olan dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinomu biyopsileri ile yaşları 24-73 arasında değişen yaş ortalaması 42,9 olan 29 endometrium biyopsisi ile yaşları 25-74 arasında değişen yaş ortalaması 39,1 olan 15 endometriozis biyopsisi arasında istatistiksel anlamlılık saptamak amacıyla yapılan Tukey testi ile aralarında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla; .000,  $p<0.05$ , .000,  $p<0.05$ ).

Yaşları 44-74 arasında değişen yaş ortalaması 61,8 olan orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom ile yaşları 24-73 arasında değişen yaş ortalaması 42,9 olan 29 endometrium biyopsisi ile yaşları 25-74 arasında değişen yaş ortalaması 39,1 olan 15 endometriozis biyopsisi arasında istatistiksel anlamlılık saptamak amacıyla yapılan Tukey testi ile aralarında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla; .001,  $p<0.05$ , .000,  $p<0.05$ ).

### **Çoklu Karşılaştırma Testi**

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.007,  $p<0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.040,  $p<0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 EIN biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.053,  $p<0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu

karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.108,  $p>0.05$ ).

Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.005,  $p<0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 borderline adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.020,  $p<0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.010,  $p<0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 EIN biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.173,  $p>0.05$ ).

Dokuz borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma

skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 borderline adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.000,  $p<0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.012,  $p<0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.008,  $p<0.05$ ).

Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 EIN biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.096,  $p>0.05$ ).

Dokuz borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı

açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

### **EIN Biyopsileri ile Endometrioid Adenokarsinomların PTEN Ekspresyonlarının İstatistiksel Olarak Çoklu Karşılaştırma Testi ile Karşılaştırılması**

Dokuz EIN biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 EIN biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz EIN biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz EIN biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 EIN biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz EIN biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz EIN biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).



Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 EIN biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

Dokuz EIN biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

## 5.TARTIŞMA

Endometrial karsinom gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda en sık görülen jinekolojik malignensidir. Yüksek östrojen düzeyiyle ilişkili Tip1 endometrioid adenokarsinomlarda en sık mutasyona uğrayan gen olan PTEN'le ilgili ilk tanımlandığı 1967 yılından bugüne kadar Cowden hamartom sendromu(19, 160, 161), malign glial tümörler(20, 162), prostat karsinomu(21), meme karsinomu(22, 136), ovaryan tümörler(23), malign melanom(25), baş-boyun tümörleri(25), böbrek tümörleri(25), gastrik karsinomlar(25) ve akciğer karsinomlarında(25, 163) PTEN ekspresyonunun prognostik önemi ve hastalıkların patogenezindeki önemini destekleyen çalışmalar yapılmıştır.

Smith ve ark.(164) 63 anaplastik astrositom ve 111 Glioblastoma Multiforme'den (GBM) oluşan 174 vakalık serilerinde, PTEN mutasyonunu anaplastik astrositomlarda %18, GBM'de %34 olarak saptamışlardır. Glial tümörlerde PTEN mutasyon sıklığı grade arttıkça artış göstermekte olup kötü prognozla ilişkili olarak değerlendirilmiştir.

Bir başka çalışmada PTEN'in biallelik inaktivasyonu GBM'lerin %30-40'ında daha az oranda anaplastik astrositomlarda ve nadir olarak düşük grade'li gliomlarda ve glionöronal tümörlerde görülmüştür(165).

Bose ve ark.'nın (22) memenin 34 invaziv karsinom, 18 adet memenin karsinoma insitu vakasından oluşan çalışmalarında azalmış PTEN ekspresyonunun meme kanseri progresyonuyla ilişkili olduğunu saptamışlardır.

Tashiro ve ark.'nın (133) 32 endometrial karsinom(26'sı endometrioid, 6'sı seröz) 12 seröz ovaryan karsinom ve 10 servikal skuamöz hücreli karsinomdan oluşan serilerinde PTEN mutasyonunu değerlendirmişlerdir. PTEN mutasyonu endometrioid endometrial karsinomlarda %50 oranında gözlenmiş olup seröz endometrial, seröz ovaryan karsinomlar ve servikal skuamöz hücreli karsinomlarda saptanmamıştır. Sonuçta PTEN'de mutasyonun endometrioid tip endometrial karsinomların patogenezinde önemli rol oynadığı öne sürülmüştür.

Obata ve ark.'nın (24) 34 endometrioid, 29 seröz, 10 müsinöz, ve 8 berrak hücreli tümörden oluşan 81 ovaryan tümör serisinde PTEN mutasyonu araştırılmış olup, endometrioid over tümörlerinde %21 oranında saptanırken diğerlerinde nadir görüldüğü belirtilmiştir.

PTEN immünreaktivitesi oldukça heterojen olup çalışmalarda nükleer ve sitoplazmik boyanmalar olgu serisine göre farklı lokalizasyonlarda farklı olabilmektedir. Bu durum PTEN'in apoptozda, otofajide, büyümenin duraklamasında ve ilaçlarla inaktive olmasından kaynaklanmaktadır (129). Mutter ve ark.'nın (115) menstrüel siklus boyunca endometrial PTEN ekspresyon paternindeki değişikliklerle ilgili çalışmasında, Mutter ve ark.'nın (129) histolojik olarak normal endometriumda latent prekürsörlerin moleküler tanımlanması ile ilgili başka bir çalışmasında, Lacey ve ark.'nın (10) endometrial biyopsilerde PTEN ekspresyonunun endometrial karsinoma progresyonda bir marker olarak kullanılabilceği ile ilgili çalışmasında, Kapucuoglu ve ark.'nın(17) normal, hiperplastik ve malign endometriumlarda PTEN'in immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi ile ilgili çalışmasında PTEN'in nükleer ve sitoplazmik ekspresyonu pozitif olarak değerlendirilmiştir. Kimura ve ark.'nın (172) uterin korpusun G1 endometrioid adenokarsinomlarda PTEN ekspresyonu ile ilgili çalışmasında, Tantbirojn ve ark.'nın (166) endometrial hiperplazi ve adenokarsinomlarda PTEN immunreaktivitesinin saptanmasıyla ilgili çalışmasında, Erkanlı ve ark.'nın (167) normal, hiperplastik ve karsinomatöz endometriumlarda survivin, PTEN, ve p27 ekspresyonlarını değerlendirdiği çalışmasında tümöral hücrelerin nükleer boyanması pozitif olarak değerlendirilmiştir. Salvesen ve ark.'nın (168) çalışmasında ise tümöral hücrelerde baskın olarak gözlenen sitoplazmik ekspresyon pozitif olarak değerlendirilmiştir. Bizim çalışma metodumuzda ise epitel ve stroma ayrı ayrı olarak değerlendirilmiş olup epitel 7 skor üzerinden, stroma ise 5 skor üzerinden derecelendirilmiştir ve Mutter ve ark. (115, 129) ile Lacey ve ark.'nın (10) çalışmasındaki gibi glandüler ve stromal hücrelerin nükleer ve sitoplazmik immunreaktiviteleri değerlendirilmiştir.

Endometriozis ve adenomyozislerde PTEN ekspresyonu ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur.

Castiblanco ve ark.'nın (169) 37 ovaryan endometrioid ve berrak hücreli karsinomu, 15 soliter ovaryan endometriozis ve 15 atipi içeren ovaryan endometriozisten oluşan serilerinde Ki-67 ile proliferasyon indekslerini ve PTEN ekspresyonlarını değerlendirilmiştir. Ki-67 indeksi atipili ovaryan endometriozislerde %5,5, atipisiz ovaryan endometriozislerde %2,3 bulunmuştur. PTEN, atipisiz ovaryan endometriozislerde 5/15, atipi içeren endometriozislerde 9/15, overin

endometrioid ve berrak hücreli karsinomunda 30/37 oranlarında negatif olarak saptanmıştır. Heterozigosite yitimi (LOH) ve PTEN protein kaybı arasında bu üç grup arasında %60 oranında korelasyon saptanmıştır. Sonuçta bu üç gruptaki PTEN negatifliğinin PTEN'in inaktivasyonu nedeniyle oluştuğu ve bu inaktivasyon mekanizmalarının değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir.

Vestergaard ve ark. (170) 23 endometriozis biyopsisinde endometrium ve ovaryan kanserlerde sıklıkla mutasyona uğrayan 9 geni (PTEN, TP53, BRAF, CTNNB1, CDK4, FGFR3, PIK3CA, HRAS, KRAS, ve NRAS) analiz edilmiştir ve sadece tek bir lezyonda K-RAS mutasyonu saptanmıştır. Çalışmalarında sonuçta endometrial ve ovaryan kanserlerde sıklıkla mutasyona uğrayan genlerdeki mutasyonların endometriozislerde nadir olduğunu belirtmişlerdir.

Sato ve ark.(171) 20 ovaryan endometrioid karsinom, 24 berrak hücreli karsinom, 34 overin soliter endometriotik kistinde PTEN geninin ovaryan endometrioid karsinom ve ilişkili subtipi olan berrak hücreli karsinom patogenezindeki rolünü değerlendirmişlerdir. LOH ovaryan endometrioid karsinomlarda %42,1, berrak hücrelilerde %27,3, soliter endometrial kistlerde %56,5 oranında saptamışlardır. Endometriozis ve endometrioid karsinomun senkron olarak bulunduğu beş vakanın üçünde LOH hem karsinom hem endometriozis odağında, bir vakada sadece karsinom odağında görülmüştür. Bir vakada ise her iki lezyonda da LOH saptanmamıştır. Endometriozis ve berrak hücreli karsinomun senkron olarak bulunduğu 7 vakanın üçünde LOH hem karsinom hem endometriozis odağında, bir vakada sadece karsinom odağında izlenmiştir. Üç vakada ise her iki lezyonda da LOH saptanmamıştır. Endometriozisin tek başına görüldüğü vakalarda LOH saptamamışlardır. PTEN'in somatik mutasyonlarını ise ovaryan endometrioid karsinomlarda %20, berrak hücreli karsinomlarda %8,3 ve soliter endometrial kistlerde %20,6 oranında saptamışlardır. Sonuçta PTEN baskılayıcı geninin inaktivasyonunun, overin endometrioid ve berrak hücreli karsinomlarının gelişiminde erken bir olay olduğunu gösterilmiştir.

Çalışmamızda onbeş adenomyozis biyopsisinden dördünde(%26) hem epitel hem stromada boyanma izlenmezken, onbeş endometriozis biyopsisinden altısında (%46) hem epitel hem stromada boyanma gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda bir vakada overde atipik endometriozis odağından gelişen 0,5 cm boyutundaki

endometrioid karsinom dokusunda PTEN negatif bulunması bu çalışmayı destekler niteliktedir.

Martini ve ark.(172) 46 endometriozis vakasında PTEN ve mismatch repair genes human mut-L homolog 1(hMLH1) ekspresyonlarını değerlendirmişlerdir. hMLH1' de anormal metilasyon saptanan 46 vakanın dördünde(%8,6) hMLH1 ekspresyonunu da negatif olarak saptamışlardır. Azalmış PTEN protein ekspresyonunu 46 vakanın 7'sinde(%15,21) saptamışlardır. Bu çalışmada PTEN ve hMLH1'in azalmış ekspresyonlarının endometriozisin malign gelişiminde rol oynadığı düşünülmüş olup, neoplastik transformasyonda kullanılacak belirteçler oldukları sonucuna varmışlardır.

Maxwell ve ark.(155) uterusun endometrial karsinomları için prekürsör olduğu düşünülen endometrial hiperplazilerin yaklaşık %20'sinde PTEN geninde somatik mutasyon saptamışlardır. Bu bulgular endometrial hiperplaziden endometrial karsinom için genetik sekansı gösterir. Overin soliter endometrioid kistlerinde görülen PTEN gen mutasyon sıklığı nedeniyle benzer genetik ilişkinin overin soliter endometrioid kistlerinden overin endometrioid karsinomlarına geçişte olduğunu gözlemişlerdir.

Çalışmamızda 29 endometrium biyopsisi ile 30 adenomyozis, endometriozis biyopsileri arasında stromanın PTEN boyanma skoru ve boyanma yüzde oranları açısından önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla .001,  $p<0.05$ , .000,  $p<0.05$ ). Yirmi dokuz endometrium biyopsisi ile 15 biyopsiden oluşan adenomyozis arasında PTEN'in epitelyal, stromal boyanma skoru ve stromanın boyanma yüzde oranları açısından istatistiksel ileri derecede önemli düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla .001,  $p<0.05$ , .000,  $p<0.05$ , .000,  $p<0.05$ ). Epiteldeki bu farklılık adenomyozis biyopsilerinde endometrium grubundaki (proliferatif endometrium, basit hiperplazi ve kompleks hiperplazi) biyopsilere göre boyanma şiddetlerinin daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Yirmi dokuz endometrium biyopsisi ile 15 endometriozisli biyopsileri arasında stromanın PTEN boyanma yüzde oranı açısından istatistiksel önemli düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (.049,  $p<0.05$ ).

Mutter ve ark.(129) 56 proliferatif, 41 persistant proliferatif ve 35 EIN'dan oluşan 132 vakalık bir seride PTEN ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. Normal

proliferatif endometriyumda %43 (24/56) oranında tahmin edilmeyen şekilde PTEN negatif glandlar saptanmıştır. Bunun nedeninin mutasyon veya delesyon olduğu ileri sürülmüştür. Bu durum PTEN inaktivasyonunun endometrial karsinogenezin erken bir göstergesi olabileceğini ve histolojik değişiklikler görülmeden progresyonu başlatabileceğini göstermiştir. Çalışmamızda 10 proliferatif endometriyum, 11 basit hiperplazi ve 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometriyum biyopsisinde PTEN protein ekspresyonu değerlendirilmiş olup, stroma ve stromanın boyanma yüzdelerinde istatistiksel önemli düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p<0.05$ ). İstatistiksel anlamlılık basit ve kompleks hiperplazi arasında görülmüştür ( $p<0.05$ ). Endometriyum yüzey örtü ve gland döşeyici epitelinde ise PTEN ekspresyonu açısından istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Epitelde anlamlılık bulunmaması Mutter ve ark.'nın(115, 129, 173) çalışmalarıyla benzer özellikte olup PTEN inaktivasyonunun endometrial karsinogenezin erken bir göstergesi olabileceğini destekler niteliktedir. Çalışmamızda siklik endometriyumda ve endometrial hiperplazilerde stromada nükleer ve sitoplazmik boyanma görülmüştür. Boyanma derecesi hiperplastik endometriumlarda yapısal atipi ile ilişkili olduğundan endometriyum biyopsilerinde PTEN ekspresyonunun diğer çalışma gruplarımızda kontrol grubu olarak kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır. Benzer olarak Cowden Hamartom Sendromunda PTEN ekspresyonunu çalışan Kurek ve ark.(19) ile, Mutter ve ark.(115), Erkanlı ve ark.(167), Kimura ve ark.(174), Taranger-Charpin ve ark.(175) da kontrol grubu olarak endometriyum biyopsilerini kullanmışlardır.

Lacey ve ark.(10) endometrial biyopsi spesmenlerinde endometrial hiperplazi olup karsinoma progresyon gösteren 138 vaka ile karsinoma progresyon göstermeyen 241 kontrol vakasından oluşan çalışmalarında kansere progresyonun bir göstergesi olarak PTEN ekspresyonunu değerlendirmiştir. PTEN negatif glandlar vakaların %40'ında, kontrol grubunda %44 oranında saptanmıştır. Karsinoma progresyonda PTEN negatifliğinin, sensitivitesinin %45-54 ve spesifitesinin %44-58 olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızdaki yirmi altı (dokuz borderline, dokuz iyi ve sekiz orta ve az diferansiye) endometriyum adenokarsinomları ile yirmi dokuz endometriyum biyopsisi arasında PTEN ekspresyonu açısından epitelde, stromanın boyanma skorunda ve stromanın boyanma yüzde oranları arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Endometriyum adenokarsinomlarında epitelde boyanma

yoğunluğu endometrium biyopsilerine göre fazla olarak değerlendirilmiş olup PTEN'in inaktivasyonunun epitelde protein kinaz aktivitesini arttırdığını ve dolayısıyla epitelin proliferatif aktivitesinin arttığını göstermiştir. Stroma boyanma skoru ve boyanma yüzdesi oranları açısından ise endometrium karsinomlarında yapısal atipi bulunduğundan endometrium biyopsileri ile aralarında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Çalışmamız Lacey ve ark.'nın çalışmasına benzer nitelikte olup PTEN'in ekspresyon paterninin kansere progresyonun bir göstergesi olduğunu desteklemektedir.

Erkanlı ve ark.(167) 29 endometrial karsinom, 38 endometrial hiperplazi ve 10 proliferatif endometriumda PTEN ekspresyonunu değerlendirmiştir. Sonuçta hiperplazi ve karsinom vakalarında proliferatif endometriumlara göre PTEN ekspresyonunun azaldığını belirtmişlerdir. Ortalama yaşam sürelerinin istatistiksel olarak PTEN pozitif vakalarda belirgin olarak yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda endometrial karsinomlarda PTEN ekspresyonunun epitelde artış gösterdiği, stromada ise azaldığı gözlenmiştir. Erkanlı ve ark.'ı (167) çalışmasında epitel hücrelerindeki nükleer boyanmayı pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Hücreler  $> \%50$  boyanma göstermekteyse +2 pozitif,  $< \%50$  boyanma göstermekteyse +1 pozitif, boyanma olmaması ise negatif olarak skorlanmıştır. Bizim çalışma metodumuzda ise epitel ve stroma ayrı ayrı olarak değerlendirilmiş olup epitel 7 skor üzerinden, stroma ise 5 skor üzerinden derecelendirilmiştir.

Kimura ve ark.(174) 117 endometrioid adenokarsinom, 20 endometrial hiperplazi ve 19 normal endometrium içeren çalışmalarında PTEN'in nükleer boyanmasını pozitif olarak değerlendirmiş olup PTEN boyanma skorunun endometrioid adenokarsinomlarda G1'den G3'e gittikçe arttığını belirtmişlerdir. İyi diferansiye ve yüksek düzeyde östrojen ve progesteron reseptörü içeren daha az agresif endometrial karsinomlarda PTEN ekspresyonunun azaldığını saptamışlardır. Sonuç olarak iyi diferansiye endometrioid adenokarsinomlarda tümör gelişiminin erken fazında PTEN ekspresyonunun bozulduğunu saptamışlardır. Kimura ve ark.'nın yaptığı bu çalışma bizim sonuçlarımıza da uymaktadır. Bizim çalışmamız tip1 endometrium karsinomlarında yapılmış olup borderline endometrium adenokarsinomu ile iyi diferansiye ve orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinomuna ait biyopsilerin grade'leri ve evre'leri açısından önemli düzeyde

istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla .001,  $p<0.05$ , .000,  $p<0.05$ ). Çalışmamızda PTEN ekspresyonu 26 karsinom vakasının 20'sinde pozitiftir.( G1-3/6, G2-16/19, G3-1/1). PTEN ekspresyonu ve FIGO grade arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Grade arttıkça PTEN ekspresyonu epitelde artış göstermekte olup boyanma yoğunluğu açısından en fazla ekspresyon Grade 1 tümörlerde saptanmıştır.

Elnashar ve ark.(176) altı normal proliferatif endometrium, 8 basit hiperplazi, 12 atipisiz kompleks hiperplazi, altı atipili kompleks hiperplazi, 21 endometrioid adenokarsinomu PTEN ekspresyonu açısından incelemişlerdir. PTEN ekspresyonları sırasıyla; (1/6), (3/8), (7/12), (3/6) ve (6/21) olarak değerlendirilmiştir. 21 endometrioid adenokarsinomun altısında PTEN ekspresyonu zayıf boyanma göstermiş olup tümörün grade'i arttıkça ekspresyon ve boyanma yoğunluğunun giderek azaldığını belirtmişlerdir (G1(4/12), G2(1/3), G3(1/6)). Sonuçta PTEN'in ekspresyonundaki değişkenliğin hiperplaziden karsinoma geçişteki endometrial tümörigeneziste en erken değişikliklerden birisi olduğu sonucuna varmışlardır. Elnashar ve ark.(176) çalışmalarında PTEN'in ekspresyonu yoğunluk ve yüzde olarak skorlamışlardır. Boyanma yoğunluğunu: 0 = negatif, +1 pozitif=zayıf boyanma,+2 pozitif=koyu boyanma olarak değerlendirmişler, boyanma yüzdelerini ise  $< \%10$ =negatif,  $\%10-50$ =+1 pozitif, $>\%50$ =+2 pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Bizim çalışmamızdaki borderline endometrium adenokarsinomu ile iyi diferansiye ve orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinomuna ait biyopsilerin grade'leri ve evre'leri açısından Pearson Chi-Square testi ile önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla .001,  $p<0.05$ , .000,  $p<0.05$ ). Çalışmamızda borderline ve orta ve az diferansiye endometrioid adenokarsinomları ile endometrium biyopsileri arasında PTEN'in epitelde ve stromada boyanma yoğunluğu ve stromanın boyanma yüzde oranları açısından istatistiksel önemli düzeyde anlamlı farklılık saptanmıştır( $p<0.005$ ). İyi diferansiye endometrioid adenokarsinomları ile endometrium biyopsileri arasında PTEN'in stromada boyanma yoğunluğu ve stromanın boyanma yüzde oranları açısından istatistiksel önemli düzeyde anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0.005$ ). Ayrıca bu bulgular Salvesen'in populasyon dayalı çalışmasındaki sonuçlarla da uyumludur. Salvesen ve ark.(177) çalışmasında endometrial karsinomlarda %54 oranında PTEN mutasyonu saptamışlardır ve bu



mutasyonun genç yaş, düşük FIGO evresi, endometrioid subtip, düşük grade, mikrosatellit instabilitesi ve iyi prognozla belirgin korelasyonlarını göstermişlerdir.

Inba ve ark. 'nın (178) 92 endometrial karsinomdan oluşan serilerinde PTEN ve p53 ekspresyonlarını değerlendirmişlerdir. PTEN negatifliği %40 oranında saptanmış olup, PTEN kaybının belirgin olarak Grade 1 ve 2 tümörlerde ilerlemiş evre ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. %20 oranında p53 pozitifliği saptanmış olup, grade 3 tümörlerde daha fazladır. Grade 1 ve 2 tümörlerde azalmış PTEN ekspresyonu içeren 29 vakanın hepsinde p53 negatifken, grade 3 tümörlerde azalmış PTEN ekspresyonu gösteren 8 vakanın altısında p53 pozitifdir. PTEN ve p53'ün her ikisinin de pozitifliğinin klinik evre ve rekürrensle ilişkili olduğu, resiprokal ekspresyonlarının karsinogenezin erken döneminde görüldüğünü ve her ikisinde negatifliğinin karsinogenezin geç döneminde görülen değişiklikler olduğu sonucuna varmışlardır.

Athanassiadou ve ark.(5) 80 endometrial karsinom vakasında PTEN, p53,  $\beta$ -katenin protein ekspresyonlarını değerlendirmişlerdir. P53 pozitifliğinin artmış evre, lenf nodu metastazı ve endometrioid dışındaki endometrial karsinom tipleriyle ilişkili olduğunu gözlemişlerdir.  $\beta$ -katenin pozitifliği ise düşük evre, düşük grade ve lenf nodu negatifliği ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. PTEN pozitifliği ise düşük evre ve lenf nodu negatifliği ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. Yaşam süresi açısından  $\beta$ -kateninin bağımsız prognostik etkisinin olduğu, PTEN'in de evre1 subgrup hastalarda bağımsız prognostik öneminin olduğunu saptamışlardır. Erken evre hastalarda PTEN kaybının kötü prognozla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızdaki 9 iyi diferansiye endometrioid adenokarsinom vakasının 7'si evre IB, biri Evre IA, biri Evre 2'dir. Bu çalışmadakine benzer olarak çalışmamızdaki PTEN'in epiteldeki pozitifliği düşük evre ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir.

Peiro ve ark.'nın (179) 89 endometrial karsinomda PTEN protein ve Insulin-like growth factor-I receptor (IGF-IR) ekspresyonları değerlendirmişlerdir. IGF-IR'in artmış ekspresyonu %67 oranında saptanırken, PTEN'in kaybı %15 oranında görülmüştür. PTEN'in kaybı MSI pozitif vakalarda(%40), negatif vakalara(%11) göre daha sık olarak saptanmıştır. Bu çalışma artmış IGF-IR ekspresyonunun ve PTEN kaybının endometrioid karsinomların patogenezinde rolü olduğunu desteklemektedir.

Salvesen ve ark.(168) 316 endometrial karsinom vakasında PTEN ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. PTEN proteini tümöral hücrelerde baskın olarak sitoplazmik ekspresyon göstermekteymiş, ve 279 vakanın 56'sı (%20) negatif olarak değerlendirilmiştir. 70 tümörde(%25) ise heterojen boyanma paterni gözlemişlerdir. PTEN ekspresyon kaybı ile metastatik hastalık arasında korelasyon saptamışlardır. Sonuçta bazı endometrium karsinomlarında PTEN'in rolü olduğunu ve genetik değişikliklerle ilişkili PTEN protein ekspresyonunu içeren daha fazla sayıda çalışma yapılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Sun ve ark.(180) 57 endometrial karsinom ve 73 endometrial hiperplazide endometrial karsinogenezdeki rolünü belirlemek için PTEN'in mutasyonunu değerlendirmişlerdir. 57 endometrial karsinomun 14'ünde(13/50 endometrioid adenokarsinom, 1/7 endometrioid dışı adenokarsinomlar), 73 hiperplazinin 7'sinde(1/24 atipisiz basit hiperplazi, 0/6 atipisiz kompleks hiperplazi, 6/33 atipili kompleks hiperplazi) mutasyon saptamışlardır. Mutasyon saptanan hastaların daha iyi prognoza sahip olduklarını belirtmişlerdir. Hiperplazilerde PTEN mutasyon varlığı, PTEN inaktivasyonunun endometrial karsinogenezi başlatan olay olarak ortaya çıkabileceği ve hiperplazilerde sitolojik atipinin gelişmesine neden olabileceğini desteklemektedir.

An ve ark.(181) 60 uterin endometrioid karsinom ve beş uterin seröz karsinomda PTEN ekspresyonlarını değerlendirmişlerdir. Altmış uterin endometrioid karsinomun 41'inde (%66) PTEN kaybı veya ekspresyonun azaldığı izlenirken, beş uterin seröz karsinomun dördünde yoğun PTEN ekspresyonu saptamışlardır. Ayrıca endometrioid adenokarsinoma eşlik eden 13 endometrial hiperplazinin dördünde (%30) PTEN'in total kaybı izlenmiş olup, tüm PTEN negatif endometrial hiperplazilere eşlik eden endometrioid adenokarsinomlarda PTEN negatifliği saptamışlardır. Ayrıca grade 1 ve 2 endometrioid karsinomların grade 3 karsinomlara göre PTEN ekspresyonundaki değişkenliğin daha fazla olduğunu belirtmişlerdir, ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Konopka ve ark.(54) 59 endometrial adenokarsinomdan oluşan serisinde PTEN genindeki mutasyon sıklığını değerlendirmişlerdir. Sonuçta iyi diferansiye adenokarsinomlardaki (G1) mutasyon sıklığının az diferansiye karsinomlardakinin (G2) ancak yarısı kadar olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca PTEN genindeki

defektlerin endometrial hücrelerin diferansiyasyon yeteneklerinde kayba neden olarak malignite potansiyellerinin artışına neden olabileceğini belirtmişlerdir.

Kapucuoglu ve ark.'nın (17) 23 siklik, 37 hiperplastik endometrium ve 35 endometrioid adenokarsinomdan oluşan serilerinde PTEN ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. PTEN ekspresyonunun siklik endometriumlarda ve atipisiz hiperplazilerde karsinoma göre daha fazla ekspresyon gösterdiğini belirtmişlerdir. Karsinomlarda, PTEN ekspresyonu ve grade arasında negatif korelasyon saptamışlardır. Sonuçta PTEN'in endometrial karsinogenezin erken fazında rol aldığını ve azalmış PTEN ekspresyonunun karsinomun diferansiyasyon kaybına neden olarak daha agresif fenotiplere katkıda bulunabileceğini belirtmişlerdir.

Monte ve ark.'nın (182) 191 proliferatif endometrium, 52 EIN, 62 endometrium karsinomdan oluşan çalışmalarında PTEN ve PAX-2'nin birlikte kaybını değerlendirmişlerdir. PAX-2 kaybını normal, EIN, karsinom vakalarında sırasıyla %36, %71, %77 olarak, PTEN kaybını ise sırasıyla %49, %44, %48 olarak değerlendirmişlerdir. PAX-2 ve PTEN'in birlikte kaybını ise sırasıyla %21, %31, %55 olarak değerlendirmişlerdir. Birlikte görülen kaybı normal proliferatif endometriumlarda farklı glandlarda, EIN ve karsinom vakalarında aynı glandlarda gözlemişlerdir. Sonuçta da PAX-2 ve PTEN'in bağımsız olarak inaktive olduklarını, ancak aynı glandlarda inaktive olduklarında neoplastik transformasyona ilerleteceklerini göstermişlerdir.

Çalışmamızda EIN ve endometrium biyopsileri arasında PTEN ekspresyonu açısından epitelde anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p < 0.005$ ).

EIN'in kansere progresyon açısından önemli rolü olduğu ve bu biyopsilerdeki PTEN ekspresyonu kaybıyla ilişkisi Mutter ve ark.(12) ile Baak ve ark.(127) tarafından gösterilmiştir.

Mutter ve ark.(12) endometrioid adenokarsinom, premalign ve benign endometriumu içeren 30 histerektomi spesmeninde PTEN mutasyon varlığını araştırmışlardır. PTEN tümör baskılayıcı geninin inaktivasyonunun endometrial karsinomda en sık rastlanan genetik defekt olduğunu ve PTEN negatifliğinin %83 oranında endometrioid tip endometrial kanserlerde, %63 oranında ise EIN lezyonlarıyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Sonuçta premalign fazdan başlayarak tümöre ilerlemede PTEN'in önemli rolü olduğunu göstermişlerdir.

En sık rastlanan PTEN defekti protein negatifliğine neden olan her iki alellin inaktivasyonu ya da fonksiyonunun total kaybıdır. Baak ve ark.(127) 103 endometrial hiperplaziden oluşan serilerinde endometrial kanser riskini belirlemede kullanılan morfometrik D skoru, PTEN ekspresyon paternleri ve endometrial karsinoma progresyonları arasındaki korelasyonu değerlendirmişlerdir.  $DS < 1$  olan lezyonlar yüksek riskli olup (EIN) lezyonları olarak,  $DS \geq 1$  olan lezyonlar ise düşük riskli (EIN-olmayan) lezyonlar olarak değerlendirilmiştir. PTEN ekspresyonu gösteren  $DS \geq 1$  veya  $DS < 1$  hiçbir vakada kansere progresyon gözlenmemiştir. PTEN inaktivasyonu olan  $DS < 1$  olan 14 vakanın 7'si yüksek progresyon riski göstermiş olup kanser gelişmiştir. Ve sonuçta D skoru ile PTEN arasındaki ilişkinin güçlü olduğu PTEN negatifliğinin EIN lezyonlarında, kansere progresyon riskini gösteren prognostik D skorunun güvenilirliğini arttıran en iyi biyomarker olduğu sonucuna varmışlardır.

Bizim çalışmamızdaki dokuz EIN olgusundan altı tanesinde  $DS < 1$ 'in altında, üçünde  $DS \geq 1$ 'de olup 8 vakaya histerektomi yapılmıştır. Dokuz EIN biyopsisinde PTEN epitelde bir biyopside yaygın, yedi biyopside fokal boyanma göstermiş olup bir biyopside ise epitelde boyanma göstermemiştir. Stromada PTEN, bir biyopside diffüz kuvvetli pozitif boyanma göstermiş olup, yedi biyopside çeşitli derecelerde diffüz zayıf boyanma göstermiştir. Bir biyopside ise stromada boyanma gözlenmemiştir. Onbir basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri arasında PTEN epitel, stroma boyanma skoru ve stroma boyanma yüzde oranları açısından yapılan Kruskal-Wallis testi ile önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). EIN ve kompleks hiperplazi arasında PTEN'in boyanma farklılığının epitelde olduğu ve bu farklılığın EIN biyopsilerinde kompleks hiperplazilere göre fazla boyanma yoğunluğundan kaynaklandığı istatistiksel olarak gösterilmiştir ( $p < 0.05$ ). Buna karşın EIN'da epitelde protein kinaz aktivitesinin arttığı dolayısıyla epitelin proliferatif aktivitesinin artmış olduğunu düşündürmüştür. Stromanın boyanma skoru ve stroma boyanma yüzde oranları açısından gözlenen farklılık basit hiperplazi ve EIN biyopsileri arasında olup basit hiperplazilerde boyanma yoğunluğunun EIN'a göre daha fazla olduğu görülmüştür. EIN alanlarında yapısal atipi nedeniyle stromada PTEN'in inaktive oluşu bu farklılığa yol açmış olabilir.

EIN olguları ile iyi diferansiye endometrium adenokarsinomlu olguları içeren çalışmalar EIN'in atipik kompleks hiperplazi gibi prekürsör bir lezyon olup olmadığını gösterebilir(11, 183).

Norimatsu ve ark.'nın (184) 38 EIN, 32 hiperplazi ve kontrol olarak 20 normal proliferatif endometriumdan oluşan çalışmalarında PTEN ve  $\beta$ -katenin ekspresyonlarının değerlendirmişlerdir. Sonuçta EIN vakalarında PTEN kaybı ve  $\beta$ -kateninin nükleer pozitifliği saptanmış olup normal proliferatif endometriumların çoğunda PTEN pozitifliği,  $\beta$ -katenin negatifliği saptanmıştır. PTEN negatifliği/ $\beta$ -katenin pozitifliği kombinasyonunun EIN tanısı için daha güvenilir belirteç olabileceği sonucuna varmışlardır.

Feng ve ark.'nın (185) yaptığı bir çalışmada 124 endometrial karsinom, 28 atipili hiperplazi, 35 normal endometrium biyopsilerinde pituitary tumor-transforming gene-1(PTTG-1) ve PTEN ekspresyonları, tümör gelişimi ve progresyonuyla korelasyonları değerlendirilmiştir. Normal endometriumdan atipili hiperplazi ve karsinoma progresyonda PTTG-1 protein ekspresyonun belirgin olarak arttığı, PTEN protein ekspresyonunun belirgin olarak azaldığını saptamışlardır. PTTG-1 proteininin TNM evresiyle korelasyon gösterdiği, PTEN'in ise histolojik grade'le olan ters ilişkisi dışında hiçbir parametreyle korelasyon göstermediğini belirtmişlerdir. Bu bulgulara PTEN'in azalmış ekspresyonu ile PTTG-1'in artmış ekspresyonunun endometrial karsinomun gelişimi ve patogenezinde önemli rol oynayabileceğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamız ise PTEN'in proliferatif endometriumdan EIN ve karsinoma progresyonda epitelde artış gösterirken, stromada azalmasının patogenezinde rolü olabileceğini desteklemektedir.

Dellas ve ark.(186) yaptığı bir çalışmada 257 endometrial karsinom vakasında kombine PTEN ve p27<sup>kip1</sup> ekspresyonlarının obezite ve prognozla ilişkisini değerlendirmişlerdir. Kombine PTEN ve p27<sup>kip1</sup> ekspresyon kaybı tümörlerin %32'sinde gözlenmiştir. Obez hastalardaki endometrial karsinomun progresyonunda PTEN/p27<sup>kip1</sup> proteinlerinin inaktivasyonunun önemli bir özellik olduğu ve obez hastalarda FIGO stage I ve II olan endometrioid endometrial karsinomlarda daha iyi prognozla ilişkili olduğunu göstermişlerdir(59).

Çalışmamızdaki sonuçlara benzer olarak Sarmadi ve ark.(187) normal proliferatif endometrium (n=29), hiperplastik endometrium (n=29); basit atipisiz

hiperplazi (n=21) ve atipili kompleks hiperplazi (n=8) ve endometrioid endometrial adenokarsinomdan (n=29) oluşan 87 vakalık bir çalışmada, PTEN ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. PTEN ekspresyonu proliferatif endometrium ve basit hiperplazilerde %100 oranında, atipili kompleks hiperplazilerin %75'inde ve endometrioid endometrial adenokarsinomların %48'inde saptanmıştır. PTEN ekspresyon yoğunluğunun proliferatif endometriumlarda, hiperplastik ve endometrioid endometrial adenokarsinoma göre daha belirgin olarak gözleendiğini vurgulamışlardır. PTEN ekspresyon kaybının premalign faz boyunca endometrial kanser ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Tantbirojn ve ark.(166) 10 normal endometrium, 55 endometrial hiperplazi, ve 15 endometrial adenokarsinomdan oluşan 70 vakalık çalışmalarında PTEN ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. Endometrial karsinomlarda %60, atipili endometrial hiperplazilerde %60, atipisiz endometrial hiperplazilerde %24 oranında PTEN ekspresyon kaybı saptamışlardır. Proliferatif endometrium, endometrial hiperplazi ve endometrial karsinom grubu arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmış (p=0.004) olup PTEN ekspresyon kaybının endometrial adenokarsinom ve atipili endometrial hiperplazi ile birlikte bulunduğu sonucuna varmışlardır.

Cırpan ve ark.'nın (188) 44 vakalık bir çalışmasında 24 endometrial intraepitelyal neoplazi ile 10 endometrial karsinom ve 10 proliferatif endometrium arasında PTEN ekspresyonları değerlendirilmiştir. Endometrial intraepitelyal neoplazilerde PTEN'in komplet kaybı %4.2, parsiyel kaybı %33.3 olarak saptanmış olup, %62.5'unda ekspresyon gözlenmiştir. Endometrial adenokarsinomların yedisinden birisinde parsiyel kayıp söz konusuysen, üçünde ekspresyon saptanmıştır. Böylece PTEN ekspresyonunun, endometrial intraepitelyal neoplazi, endometrial karsinom ve proliferatif endometrium arasında bir farklılık göstermediği saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ve şimdiye kadar ki tartışılan çalışmaların hepsinin sonuçları benzer olup Cırpan ve ark.'nın çalışmasından farklıdır ve EIN'in kansere progresyon aşamasını desteklemektedir. Cırpan ve ark.'nın kullandığı metod ve boyanma paterni değerlendirme sisteminin farklı olması Baak ve ark.'dan farklı olduğu dikkati çekmiştir.

Kimura ve ark.'nın (174), Erkanlı ve ark.'nın (167), Kapucuoglu ve ark.'nın (17) normal, hiperplastik ve endometrioid adenokarsinomları değerlendirdikleri

çalışmalarında PTEN immünreaktivitesi ile myometrial invazyon arasında korelasyon saptamamışlardır. PTEN ve myometrial invazyon riskinin belirlenmesiyle ilgili Longacre ve ark. (68) ile Mckenney ve ark.'nın (44) yaptıkları çalışmalarda ise 2. grup olarak belirledikleri borderline endometrial proliferasyonlarda myometrial invazyon riskini %5.5, 3. grup olarak belirledikleri iyi diferansiye endometrial adenokarsinomlarda %20 olarak değerlendirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da bu iki grup PTEN ile myometrial invazyon riski ilişkisi açısından değerlendirilmiş olup her iki grupta da myometrial invazyon saptanmıştır. Histerektomi spesmenlerinde borderline endometrioid adenokarsinomlardan 3 vaka, iyi diferansiye endometrioid adenokarsinomların tümü (n=9) FIGO'ya göre grade 2 olarak bulunmuştur. Endometrial küretaj spesmenlerine grade vermek zordur ve tedavide esas olarak histerektomi spesmenlerindeki grade alınmaktadır.

Monte ve ark.'nın (182) 62 endometrial kanser, 52 EIN, 191 proliferatif endometriumda PTEN ve PAX-2'nin birlikte kaybını değerlendirdikleri çalışmalarında PAX-2 ve PTEN protein kaybının normal proliferatif endometriumdaki latent prekanser içeren (en az bir glandda PTEN negatifliği) sahip kadınların (<50) yaşı ile daha ileri yaşta olup PAX-2 ve/veya PTEN negatif glandların herhangi kombinasyonunu içerenlerle aralarında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0.05$ ). PTEN latent prekanser içeren kadınlarda ortalama 43.1 olup, içermeyenlerde bu oran 40.5 yıldır. Konopka ve ark.'nın (54) endometrial karsinomlardaki MSI, PTEN,  $\beta$ -katenin gen mutasyonlarını değerlendirdikleri yaşları 29-80 arasında değişen ve yaş ortalaması 60.5 olan 56 endometrioid adenokarsinom serisinde PTEN ile yaş arasında ilişki saptamamışlardır. Erkanlı ve ark.'nın (167) normal, hiperplastik ve karsinomatöz endometriumda survivin, PTEN, ve p27 ekspresyonlarını değerlendirdikleri 29 endometrioid adenokarsinom, 38 endometrial hiperplazi ve 10 proliferatif endometriumdan oluşan serilerinde de yaş ortalaması 60 olan 29 endometrioid adenokarsinom biyopsisinde PTEN'in yaş ile ilişkisini saptamamışlardır. Bizim çalışmamızda yaşları 24-73 arasında değişen yaş ortalaması 42,9 olan 29 endometrium biyopsisi ile yaşları 43-72 arasında değişen yaş ortalaması 57,1 olan borderline endometrium adenokarsinom biyopsileri ve yaşları 44-75 arasında değişen yaş ortalaması 62,4 olan dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinomu biyopsileri ve yaşları 44-74 arasında değişen yaş ortalaması 61,8

olan orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinomlar arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0.05$ ).

Çalışmamızda PTEN, endometrium biyopsilerinde 16/29 vakada, adenomyozis ve endometriozis biyopsilerinde 15/30 vakada, EIN lezyonlarında 1/9 vakada epitelde negatif olarak saptanmış olup, endometrium adenokarsinomlarında ise epitelde değişen derecelerde 21/26 vakada pozitif olarak saptanmıştır. PTEN geninin endometrium adenokarsinomlarında en sık mutasyona uğrayan gen olduğu bilinmektedir. Bizim çalışmamız da bu sonucu desteklemektedir.

Kompleks hiperplazilerde, atipik endometriozis ve adenomyozislerde stromada PTEN inaktivasyonu gözlenmiştir. Onbir basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplazi ve 9 endometrial intraepitelyal neoplazi biyopsileri arasında PTEN epitel, stroma boyanma skoru ve stroma boyanma yüzde oranları açısından önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Yirmi dokuz endometrium biyopsisi ve yirmi altı endometrioid adenokarsinom biyopsileri arasında PTEN epitel, stroma boyanma skoru ve stroma boyanma yüzde oranları açısından önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Dokuz borderline, dokuz iyi diferansiye, sekiz orta ve az diferansiye endometrioid adenokarsinom biyopsileri arasında grade ve evre açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Sonuç olarak çalışmamız literatürdeki çalışmaların çoğunda olduğu gibi endometrial karsinogenezin erken fazında PTEN' in inaktive olduğunu göstermiştir. Çalışmamız ayrıca PTEN'in karsinoma progresyon gösterme eğilimi olan premalign lezyonların tanımlanmasında yol gösterici olarak kullanılabileceğini desteklemektedir. Bu konuda geniş serilerde yapılacak çalışmalar PTEN'in neoplastik gelişimdeki rolünü daha iyi aydınlatılmasını sağlayabileceği gibi bu konuda geliştirilmekte olan tedavi çalışmalarına yardımcı olabilecektir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Osmangazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalındaki endometrial küretaj ve bir kısmı tümör nedenli uygulanmış total abdominal histerektomi olguları arasından retrospektif ve prospektif olarak seçilen olgulara PTEN immunohistokimyasal belirleyicisi uygulandı. Elde edilen sonuçlar şöyledir:

### **Çalışma Grubundaki Biyopsilerin Yaşları Açısından Farklılığın**

#### **Araştırılması**

- 1- Çalışmaya alınan endometrium grubundaki biyopsilerin alt gruplarında, yaşlar arasında istatistiksel değerlendirmede, basit ve kompleks endometrial hiperplazili biyopsilerde yaş ortalaması sırasıyla 41,1 ve 47,8 olup proliferatif endometriumda yaş ortalaması 40,9'dur.
- 2- Uygulanan Anova testi ile bu üç grup arasında yaş bakımından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (.356,  $p > 0.05$ ).

### **Endometrium Biyopsilerinde PTEN Ekspresyonu**

- 3- Proliferatif endometrium (10), basit hiperplazi (11) ve kompleks hiperplazili (8) 29 hastadan oluşan endometrium biyopsilerinde PTEN'in epitelyal boyanma skoru açısından farklılık Kruskal-Wallis testi ile araştırıldığında endometriumun yüzey örtü ve gland döşeyici epitelinin PTEN ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (.073,  $p > 0.05$ ).
- 4- Yirmi dokuz endometrium biyopsisinde PTEN ile endometrial stromanın boyanma skoru endometrial biyopsilerdeki tanılar ile Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel önemli düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (.020,  $p < 0.05$ ).
- 5- Yirmi dokuz endometrium biyopsisinde PTEN ile endometrial stromanın boyanma yüzde oranı endometrial biyopsilerdeki tanılar ile Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel önemli düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (.015,  $p < 0.05$ ).
- 6- Stromanın boyanma skoru ile ilişkili testte bulunan anlamlılığın basit ve kompleks hiperplazi tanılı biyopsiler arasında olduğu ortaya çıkmıştır (.015,  $p < 0.05$ ).

- 7- Stromanın boyanma yüzde oranı ile ilişkili testte bulunan anlamlılığın da basit ve kompleks hiperplazi tanımlı biyopsiler arasında olduğu ortaya çıkmıştır (.012,  $p < 0.05$ ).
- 8- Stromadaki PTEN boyanma farkının hangi gruplar arasında olduğunu araştırmak için yapılan testte kompleks hiperplazi ile proliferatif endometrium biyopsileri ve proliferatif endometriumla basit hiperplaziye ait endometrium biyopsileri aralarında karşılaştırıldıklarında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (sırasıyla; .322,  $p > 0.05$  , .655,  $p > 0.05$ ).

#### **Adenomyozis ve Endometriozis Biyopsilerinde PTEN Ekspresyonu**

- 9- Yaşları 46-54 arasında değişen 15 adenomyozis biyopsisinde ortalama yaş 53,5 olup yaşları 25-74 arasında değişen 15 endometriozis biyopsisinde ortalama yaş 39,1'dir. Yapılan T-testi ile iki grup arasında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır (.001,  $p < 0.05$ ).
- 10- Adenomyozisli 15, endometriozisli 15 biyopsi materyallerinde PTEN'in epitelyal boyanma skoru açısından farklılık Mann-Whitney U testi ile araştırıldığında bu odaklardaki epitelde PTEN boyanma skoru açısından önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.033,  $p < 0.05$ ).
- 11- Adenomyozisli 15, endometriozisli 15 biyopsi materyallerinde PTEN'in stromal boyanma skoru ve yüzde oranları Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında bu açıdan gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (sırasıyla; .202,  $p > 0.05$  , .305,  $p > 0.05$ ).

#### **Endometrium Kontrol Grubu ile Adenomyozis ve Endometriozis Biyopsilerinde PTEN Ekspresyonunun Karşılaştırılması**

- 12- On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisinde yaş ortalaması 42,9 olup 30 biyopsiden oluşan 15 adenomyozis, 15 endometriozis biyopsilerinde yaş ortalaması 46,3'tür. Bu iki grubun yaş ile ilişkileri T-test ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.289,  $p > 0.05$ ).
- 13- On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 30 olgudan oluşan 15 adenomyozis, 15 endometriozis biyopsileri arasında PTEN'in epitelyal boyanma skoru

açısından farklılık Mann-Whitney U testi ile araştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.054,  $p>0.05$ ).

- 14- Stromanın PTEN boyanma skoru açısından Mann-Whitney U testi ile bu iki grup karşılaştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.001,  $p<0.05$ ).
- 15- Stromanın PTEN boyanma yüzdeleri açısından Mann-Whitney U testi ile bu iki grup karşılaştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.000,  $p<0.05$ ).
- 16- On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisinde yaş ortalaması 42,9 olup 15 biyopsiden oluşan adenomyozislerde yaş ortalaması 53,5'tir. Bu iki grubun yaş ile ilişkileri T-test ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.003,  $p<0.05$ ).
- 17- On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 biyopsiden oluşan adenomyozis arasında PTEN'in epitelyal boyanma skoru açısından farklılık Mann-Whitney U testi ile araştırıldığında istatistiksel ileri derecede önemli düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (.001,  $p<0.05$ ).
- 18- On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 adenomyozisli biyopsiler stromanın PTEN boyanma skoru açısından Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.000,  $p<0.05$ ).
- 19- On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 adenomyozisli biyopsiler stromanın PTEN boyanma yüzde oranları açısından Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.000,  $p<0.05$ ).
- 20- On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisinde yaş ortalaması 42,9 olup 15 endometriozis biyopsisinde yaş ortalaması 39,1'dir. Bu iki grubun yaş ile

ilişkileri T-test ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.314,  $p>0.05$ ).

- 21-** On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 endometriozis biyopsisi arasında PTEN'in epitelyal boyanma skoru açısından farklılık Mann-Whitney U testi ile araştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.778,  $p>0.05$ ).
- 22-** On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 endometriozisli biyopsilerde stromanın PTEN boyanma skoru açısından Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.222,  $p>0.05$ ).
- 23-** On proliferatif endometrium, 11 basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplaziden oluşan 29 endometrium biyopsisi ile 15 endometriozisli biyopsiler stromanın PTEN boyanma yüzde oranı açısından Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel önemli düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (.049,  $p<0.05$ ).

#### **Endometrium Hiperplazi Kontrol Grubu ile EIN Biyopsilerinde PTEN Ekspresyonunun Karşılaştırılması**

- 24-** Onbir basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri PTEN epitel boyanma skoru açısından Kruskal-Wallis testi ile araştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.011,  $p<0.05$ ).
- 25-** Onbir basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri PTEN stroma boyanma skoru açısından Kruskal-Wallis testi ile araştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.005,  $p<0.05$ ).
- 26-** Onbir basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri PTEN stroma boyanma yüzde oranları açısından Kruskal-Wallis testi ile araştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.001,  $p<0.05$ ).
- 27-** Epitelin boyanma skoru açısından gözlenen farklılık çoklu karşılaştırma testi ile araştırıldığında 8 kompleks hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.008,  $p<0.05$ ).

- 28-** Onbir basit hiperplazi ile 9 EIN biyopsileri PTEN'in epitelyal boyanma skoru açısından Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.255,  $p>0.05$ ).
- 29-** Stromanın boyanma skoru açısından gözlenen farklılık çoklu karşılaştırma testi ile araştırıldığında 11 basit hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.007,  $p<0.05$ ).
- 30-** Stromal PTEN ekspresyonu açısından Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırılan 8 kompleks hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).
- 31-** Stromanın boyanma yüzde oranları açısından gözlenen farklılık çoklu karşılaştırma testi ile araştırıldığında 11 basit hiperplazi ve 9 EIN biyopsileri arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.002,  $p<0.05$ ).
- 32-** Onbir basit hiperplazi, 8 kompleks hiperplazi biyopsilerinde PTEN'in stromal boyanma yüzdeleri açısından farklılık çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (.037,  $p<0.05$ ).
- 33-** Dokuz EIN ve 8 kompleks hiperplazi biyopsilerinde PTEN'in stroma boyanma yüzdeleri açısından farklılık çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

#### **Çalışmamızdaki 7 Grupta Yaş Ortalamalarının İstatistiksel Karşılaştırılması**

- 34-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisinde yaş ortalaması 42,9, 15 adenomyozis biyopsisinde yaş ortalaması 53,5, 15 endometriozis biyopsisinde yaş ortalaması 39,1, 9 EIN biyopsisinde yaş ortalaması 53,6, 9 borderline endometrium adenokarsinomlu biyopside yaş ortalaması 57,1, 9 iyi diferansiye endometrium adenokarsinomlu biyopside yaş ortalaması 62,4, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinomlu biyopside yaş ortalaması 61,8'dir.
- 35-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 15 adenomyozis, 15 endometriozis, 9 EIN biyopsisinde, 9 borderline endometrium adenokarsinomu, 9 iyi diferansiye endometrium adenokarsinomu, 8 orta ve az diferansiye

endometrium adenokarsinomundan oluşan 7 grup yaş açısından karşılaştırıldığında adenomyozis ve endometriozisli biyopsilerde yaş ortalamalarında Tukey testi ile önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık görülmüştür (sırasıyla; .005,  $p<0.05$ , .027,  $p<0.05$ ).

**36-** Bu 7 grup arasında Anova testi ile yaş açısından istatistiksel farklılık araştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.000,  $p<0.05$ ).

**37-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi ile diğer 6 grup arasında yaş açısından istatistiksel anlamlılık saptamak amacıyla yapılan Tukey testi ile endometrium ile 15 adenomyozis, endometrium ile 9 borderline endometrium adenokarsinom arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla; .039,  $p<0.05$ , .014,  $p<0.05$ ). Endometrium ile 9 iyi diferansiye endometrium adenokarsinom ve endometrium ile 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsileri arasında ise ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla; .001,  $p<0.05$ , .000,  $p<0.05$ ).

**38-** Onbeş adenomyozis ile diğer 6 grup arasında yaş açısından istatistiksel anlamlılık saptamak amacıyla yapılan Tukey testi ile adenomyozis ile 29 endometrium biyopsisi ve adenomyozis ile 15 endometriozisli biyopsiler arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla; .039,  $p<0.05$ , .007,  $p<0.05$ ).

**39-** Onbeş endometriozis ile diğer 6 grup arasında yaş açısından istatistiksel anlamlılık saptamak amacıyla yapılan Tukey testi ile endometrium dışındaki endometriozis ile 15 adenomyozis, endometriozis ile 9 EIN, endometriozis ile 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsileri arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla; .007,  $p<0.05$ , .029,  $p<0.05$ , .003,  $p<0.05$ ), endometriozis ile 9 iyi diferansiye endometrium adenokarsinom, endometriozis ile 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsileri arasında ise ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık görülmüştür (sırasıyla; .000,  $p<0.05$ , .000,  $p<0.05$ ).

- 40- Dokuz EIN biyopsisi ile diğer 6 grup arasında yaş açısından istatistiksel anlamlılık saptamak amacıyla yapılan Tukey testi ile EIN ile endometriozis arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.029,  $p<0.05$ ).
- 41- Dokuz borderline endometrium adenokarsinom ile diğer 6 grup arasında yaş açısından istatistiksel anlamlılık saptamak amacıyla yapılan Tukey testi ile borderline endometrium adenokarsinomu ile 29 endometrium biyopsisi ve borderline endometrium adenokarsinom ile 15 endometriozis biyopsileri arasında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla; .014,  $p<0.05$ , .003,  $p<0.05$ ).
- 42- Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinomu ile diğer 6 grup arasında yaş açısından istatistiksel anlamlılık saptamak amacıyla yapılan Tukey testi ile iyi diferansiye endometrium adenokarsinomu ile 29 endometrium biyopsisi, iyi diferansiye endometrium adenokarsinomu ile 15 endometriozis biyopsileri arasında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla; .000,  $p<0.05$ , .000,  $p<0.05$ ).
- 43- Sekiz orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom ile diğer 6 grup arasında yaş açısından istatistiksel anlamlılık saptamak amacıyla yapılan Tukey testi ile orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinomu ile 29 endometrium biyopsisi ve orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinomu ile 15 endometriozis biyopsisi arasında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (sırasıyla; .001,  $p<0.05$ , .000,  $p<0.05$ ).

**Endometrium Grubu Kontrol Biyopsileri ile EIN, Çok İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu, İyi Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu, Orta ve Az Diferansiye Endometrium Adenokarsinomu Biyopsilerinde PTEN Ekspresyonunun Karşılaştırılması**

- 44- Dokuz borderline endometrium adenokarsinom, dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom, sekiz orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsileri grade'leri açısından Pearson Chi-Square testi ile

karşılaştırıldığında aralarında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.001,  $p<0.05$ ).

- 45-** Dokuz borderline endometrium adenokarsinom, dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom, sekiz orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsileri evre'leri açısından Pearson Chi-Square testi ile karşılaştırıldığında aralarında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.000,  $p<0.05$ ).
- 46-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.007,  $p<0.05$ ).
- 47-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.040,  $p<0.05$ ).
- 48-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 EIN biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.053,  $p<0.05$ ).
- 49-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.108,  $p>0.05$ ).
- 50-** Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).
- 51-** Dokuz EIN biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).
- 52-** Dokuz borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile



boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

- 53-** Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).
- 54-** Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 EIN biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).
- 55-** Dokuz EIN biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi epitelin PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).
- 56-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.005,  $p<0.05$ ).
- 57-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.020,  $p<0.05$ ).
- 58-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.010,  $p<0.05$ ).
- 59-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 EIN biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.173,  $p>0.05$ ).
- 60-** Dokuz EIN biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma

testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).

- 61-** Dokuz borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).
- 62-** Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).
- 63-** Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 EIN biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).
- 64-** Dokuz EIN biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).
- 65-** Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma skoru açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p>0.05$ ).
- 66-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında ileri derecede önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.000,  $p<0.05$ ).
- 67-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.012,  $p<0.05$ ).
- 68-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından

çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (.008,  $p < 0.05$ ).

- 69-** Yirmi dokuz endometrium biyopsisi, 9 EIN biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (.096,  $p > 0.05$ ).
- 70-** Dokuz EIN biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p > 0.05$ ).
- 71-** Dokuz borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p > 0.05$ ).
- 72-** Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p > 0.05$ ).
- 73-** Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 9 EIN biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p > 0.05$ ).
- 74-** Dokuz EIN biyopsisi, 9 borderline endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p > 0.05$ ).
- 75-** Dokuz iyi diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi, 8 orta ve az diferansiye endometrium adenokarsinom biyopsisi stromanın PTEN ile boyanma yüzde oranı açısından çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (1.000,  $p > 0.05$ ).

## KAYNAKLAR

1. Hecht JL, Mutter GL. Molecular and pathologic aspects of endometrial carcinogenesis. *J Clin Oncol* 2006;24(29):4783-91.
2. Horn LC, Meinel A, Handzel R, Einkenkel J. Histopathology of endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma: an update. *Ann Diagn Pathol* 2007;11(4):297-311.
3. Silverberg SG, Kurman RJ, Nogales F, Mutter GL, Kubik-Huch RA, Tavassoli FA. Tumors of the uterine corpus. In: Tavassoli FD, P., editor. *WHO Classification Of Tumors: Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs*. Lyon, France: IARC Press; 2003. p. 217-249.
4. Kurman RJ. Endometrial Carcinoma. In: Kurman RJ, editor. *Blaustein's Pathology of The Female Genital Tract*. Sixth ed. New York: Springer 2004. p. 394-440.
5. Athanassiadou P, Athanassiades P, Grapsa D, Gonidi M, Athanassiadou AM, Stamati PN, et al. The prognostic value of PTEN, p53, and beta-catenin in endometrial carcinoma: a prospective immunocytochemical study. *Int J Gynecol Cancer* 2007;17(3):697-704.
6. Lax SF. Molecular genetic pathways in various types of endometrial carcinoma: from a phenotypical to a molecular-based classification. *Virchows Arch* 2004;444(3):213-23.
7. Fukuchi T, Sakamoto M, Tsuda H, Maruyama K, Nozawa S, Hirohashi S. Beta-catenin mutation in carcinoma of the uterine endometrium. *Cancer Res* 1998;58(16):3526-8.
8. Mutter GL. Endometrial intraepithelial neoplasia (EIN): will it bring order to chaos? The Endometrial Collaborative Group. *Gynecol Oncol* 2000;76(3):287-90.
9. Baak JP, Mutter GL. EIN and WHO94. *J Clin Pathol* 2005;58(1):1-6.
10. Lacey JV, Jr., Mutter GL, Ronnett BM, Ioffe OB, Duggan MA, Rush BB, et al. PTEN expression in endometrial biopsies as a marker of progression to endometrial carcinoma. *Cancer Res* 2008;68(14):6014-20.
11. Kurman R, Ellenson LH, Ronnett MB. Precursor Lesions of Endometrial Carcinoma. In: Kurman R, editor. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. Sixth ed. New York: Springer-Verlag; 2004. p. 360-389.

12. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, Kum JB, Baak JP, Lees JA, et al. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(11):924-30.
13. Treloar SA, Zhao ZZ, Le L, Zondervan KT, Martin NG, Kennedy S, et al. Variants in EMX2 and PTEN do not contribute to risk of endometriosis. *Mol Hum Reprod* 2007;13(8):587-94.
14. Zhang H, Zhao X, Liu S, Li J, Wen Z, Li M. 17betaE2 promotes cell proliferation in endometriosis by decreasing PTEN via NFkappaB-dependent pathway. *Mol Cell Endocrinol* 2010;317(1-2):31-43.
15. Bischoff FZ, Simpson JL. Heritability and molecular genetic studies of endometriosis. *Hum Reprod Update* 2000;6(1):37-44.
16. Vigano P, Somigliana E, Chiodo I, Abbiati A, Vercellini P. Molecular mechanisms and biological plausibility underlying the malignant transformation of endometriosis: a critical analysis. *Hum Reprod Update* 2006;12(1):77-89.
17. Kapucuoglu N, Aktepe F, Kaya H, Bircan S, Karahan N, Ciris M. Immunohistochemical expression of PTEN in normal, hyperplastic and malignant endometrium and its correlation with hormone receptors, bcl-2, bax, and apoptotic index. *Pathol Res Pract* 2007;203(3):153-62.
18. Kanamori Y, Kigawa J, Itamochi H, Shimada M, Takahashi M, Kamazawa S, et al. Correlation between loss of PTEN expression and Akt phosphorylation in endometrial carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001;7(4):892-5.
19. Kurek KC, Howard E, Tennant LB, Upton J, Alomari AI, Burrows PE, et al. PTEN hamartoma of soft tissue: a distinctive lesion in PTEN syndromes. *Am J Surg Pathol* 2012;36(5):671-87.
20. Kitange GJ, Templeton KL, Jenkins RB. Recent advances in the molecular genetics of primary gliomas. *Curr Opin Oncol* 2003;15(3):197-203.
21. Visakorpi T. The molecular genetics of prostate cancer. *Urology* 2003;62(5 Suppl 1):3-10.
22. Bose S, Crane A, Hibshoosh H, Mansukhani M, Sandweis L, Parsons R. Reduced expression of PTEN correlates with breast cancer progression. *Hum Pathol* 2002;33(4):405-9.

23. Geyer JT, Lopez-Garcia MA, Sanchez-Estevez C, Sarrío D, Moreno-Bueno G, Franceschetti I, et al. Pathogenetic pathways in ovarian endometrioid adenocarcinoma: a molecular study of 29 cases. *Am J Surg Pathol* 2009;33(8):1157-63.
24. Obata K, Morland SJ, Watson RH, Hitchcock A, Chenevix-Trench G, Thomas EJ, et al. Frequent PTEN/MMAC mutations in endometrioid but not serous or mucinous epithelial ovarian tumors. *Cancer Res* 1998;58(10):2095-7.
25. Teng DH, Hu R, Lin H, Davis T, Iliev D, Frye C, et al. MMAC1/PTEN mutations in primary tumor specimens and tumor cell lines. *Cancer Res* 1997;57(23):5221-5.
26. Liang J, Zubovitz J, Petrocelli T, Kotchetkov R, Connor MK, Han K, et al. PKB/Akt phosphorylates p27, impairs nuclear import of p27 and opposes p27-mediated G1 arrest. *Nat Med* 2002;8(10):1153-60.
27. Uegaki K, Kanamori Y, Kigawa J, Kawaguchi W, Kaneko R, Naniwa J, et al. PTEN is involved in the signal transduction pathway of contact inhibition in endometrial cells. *Cell Tissue Res* 2006;323(3):523-8.
28. Laudanski P, Szamatowicz J, Kowalczyk O, Kuzmicki M, Grabowicz M, Chyczewski L. Expression of selected tumor suppressor and oncogenes in endometrium of women with endometriosis. *Hum Reprod* 2009;24(8):1880-90.
29. Noyes RW. Uniformity of secretory endometrium; study of multiple sections from 100 uteri removed at operation. *Fertil Steril* 1956;7(2):103-9.
30. Noyes RW, Haman JO. Accuracy of endometrial dating; correlation of endometrial dating with basal body temperature and menses. *Fertil Steril* 1953;4(6):504-17.
31. Rosai J. Female Reproductive System. In: Rosai J, editor. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 10th ed. Edinburg: Mosby; 2010. p. 1569-1635.
32. Kurman RJ. Normal Cyclical Endometrium. In: Kurman RJ, editor. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. 6th ed. New York: Springer; 2004. p. 308-323.
33. Ambros RA. Simple hyperplasia of the endometrium: an evaluation of proliferative activity by Ki-67 immunostaining. *Int J Gynecol Pathol* 2000;19(3):206-11.
34. Silverberg SG. Hyperplasia and carcinoma of the endometrium. *Semin Diagn Pathol* 1988;5(2):135-53.

35. Silverberg SG. Problems in the differential diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Mod Pathol* 2000;13(3):309-27.
36. Buckley CH, Fox H. Endometrial hyperplasia and intra-endometrial adenocarcinoma. In: *Biopsy Pathology Of The Endometrium*. 2nd edition ed. New York: Oxford University Press; 2002. p. 130-145.
37. Winkler B, Alvarez S, Richart RM, Crum CP. Pitfalls in the diagnosis of endometrial neoplasia. *Obstet Gynecol* 1984;64(2):185-94.
38. Bell CD, Ostrezega E. The significance of secretory features and coincident hyperplastic changes in endometrial biopsy specimens. *Hum Pathol* 1987;18(8):830-8.
39. Kendall BS, Ronnett BM, Isacson C, Cho KR, Hedrick L, Diener-West M, et al. Reproducibility of the diagnosis of endometrial hyperplasia, atypical hyperplasia, and well-differentiated carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1998;22(8):1012-9.
40. Nogales-Ortiz F, Puerta J, Nogales FF, Jr. The normal menstrual cycle. Chronology and mechanism of endometrial desquamation. *Obstet Gynecol* 1978;51(3):259-64.
41. Lacey JV, Jr., Ioffe OB, Ronnett BM, Rush BB, Richesson DA, Chatterjee N, et al. Endometrial carcinoma risk among women diagnosed with endometrial hyperplasia: the 34-year experience in a large health plan. *Br J Cancer* 2008;98(1):45-53.
42. Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HJ. The behavior of endometrial hyperplasia. A long-term study of "untreated" hyperplasia in 170 patients. *Cancer* 1985;56(2):403-12.
43. Baak JP, Nauta JJ, Wisse-Brekelmans EC, Bezemer PD. Architectural and nuclear morphometrical features together are more important prognosticators in endometrial hyperplasias than nuclear morphometrical features alone. *J Pathol* 1988;154(4):335-41.
44. McKenney JK, Longacre TA. Low-grade endometrial adenocarcinoma: a diagnostic algorithm for distinguishing atypical endometrial hyperplasia and other benign (and malignant) mimics. *Adv Anat Pathol* 2009;16(1):1-22.
45. Dietel M. The histological diagnosis of endometrial hyperplasia. Is there a need to simplify? *Virchows Arch* 2001;439(5):604-8.
46. Tavassoli F, Kraus FT. Endometrial lesions in uteri resected for atypical endometrial hyperplasia. *Am J Clin Pathol* 1978;70(5):770-9.

47. Zaino RJ, Kauderer J, Trimble CL, Silverberg SG, Curtin JP, Lim PC, et al. Reproducibility of the diagnosis of atypical endometrial hyperplasia: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 2006;106(4):804-11.
48. Bergeron C, Nogales FF, Masseroli M, Abeler V, Duvillard P, Muller-Holzner E, et al. A multicentric European study testing the reproducibility of the WHO classification of endometrial hyperplasia with a proposal of a simplified working classification for biopsy and curettage specimens. *Am J Surg Pathol* 1999;23(9):1102-8.
49. Baak JP, Wisse-Brekelmans EC, Fleege JC, van der Putten HW, Bezemer PD. Assessment of the risk on endometrial cancer in hyperplasia, by means of morphological and morphometrical features. *Pathol Res Pract* 1992;188(7):856-9.
50. Mutter GL, Baak JP, Crum CP, Richart RM, Ferenczy A, Faquin WC. Endometrial precancer diagnosis by histopathology, clonal analysis, and computerized morphometry. *J Pathol* 2000;190(4):462-9.
51. Mutter GL, Chaponot ML, Fletcher JA. A polymerase chain reaction assay for non-random X chromosome inactivation identifies monoclonal endometrial cancers and precancers. *Am J Pathol* 1995;146(2):501-8.
52. Lacey JV, Jr., Mutter GL, Nucci MR, Ronnett BM, Ioffe OB, Rush BB, et al. Risk of subsequent endometrial carcinoma associated with endometrial intraepithelial neoplasia classification of endometrial biopsies. *Cancer* 2008;113(8):2073-81.
53. Liu FS. Molecular carcinogenesis of endometrial cancer. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2007;46(1):26-32.
54. Konopka B, Paszko Z, Janiec-Jankowska A, Goluda M. Assessment of the quality and frequency of mutations occurrence in PTEN gene in endometrial carcinomas and hyperplasias. *Cancer Lett* 2002;178(1):43-51.
55. Sherman ME, Sturgeon S, Brinton LA, Potischman N, Kurman RJ, Berman ML, et al. Risk factors and hormone levels in patients with serous and endometrioid uterine carcinomas. *Mod Pathol* 1997;10(10):963-8.
56. Sturgeon SR, Sherman ME, Kurman RJ, Berman ML, Mortel R, Twiggs LB, et al. Analysis of histopathological features of endometrioid uterine carcinomas and epidemiologic risk factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7(3):231-5.



57. Parazzini F, La Vecchia C, Bocciolone L, Franceschi S. The epidemiology of endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1991;41(1):1-16.
58. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003;348(17):1625-38.
59. Melnik BC. Leucine signaling in the pathogenesis of type 2 diabetes and obesity. *World J Diabetes* 2012;3(3):38-53.
60. Brinton LA, Berman ML, Mortel R, Twiggs LB, Barrett RJ, Wilbanks GD, et al. Reproductive, menstrual, and medical risk factors for endometrial cancer: results from a case-control study. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167(5):1317-25.
61. 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(6):912-5.
62. Parazzini F, La Vecchia C, Negri E, Moroni S, Chatenoud L. Smoking and risk of endometrial cancer: results from an Italian case-control study. *Gynecol Oncol* 1995;56(2):195-9.
63. Scully RE BT, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkinson EJ. Uterin Corpus. In: World Health Organization Classification of tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital organs. Lyon: IARC Press; 2003. p. p.284-349.
64. Crum CP LK. Adenocarcinoma, carcinosarcoma and other epithelial tumours of the endometrium. . In: Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology. Philadelphia: Elsevier-Saunders; 2006. p. 545-611.
65. Mazur MT. Endometrial hyperplasia/adenocarcinoma. a conventional approach. *Ann Diagn Pathol* 2005;9(3):174-81.
66. Kurman RJ, Norris HJ. Evaluation of criteria for distinguishing atypical endometrial hyperplasia from well-differentiated carcinoma. *Cancer* 1982;49(12):2547-59.
67. Norris HJ, Tavassoli FA, Kurman RJ. Endometrial hyperplasia and carcinoma. Diagnostic considerations. *Am J Surg Pathol* 1983;7(8):839-47.
68. Longacre TA, Chung MH, Jensen DN, Hendrickson MR. Proposed criteria for the diagnosis of well-differentiated endometrial carcinoma. A diagnostic test for myoinvasion. *Am J Surg Pathol* 1995;19(4):371-406.

69. Castrillon DH, Lee KR, Nucci MR. Distinction between endometrial and endocervical adenocarcinoma: an immunohistochemical study. *Int J Gynecol Pathol* 2002;21(1):4-10.
70. Park KJ, Bramlage MP, Ellenson LH, Pirog EC. Immunoprofile of adenocarcinomas of the endometrium, endocervix, and ovary with mucinous differentiation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2009;17(1):8-11.
71. Schlosshauer PW, Ellenson LH, Soslow RA. Beta-catenin and E-cadherin expression patterns in high-grade endometrial carcinoma are associated with histological subtype. *Mod Pathol* 2002;15(10):1032-7.
72. Lax SF, Kendall B, Tashiro H, Slebos RJ, Hedrick L. The frequency of p53, K-ras mutations, and microsatellite instability differs in uterine endometrioid and serous carcinoma: evidence of distinct molecular genetic pathways. *Cancer* 2000;88(4):814-24.
73. Egan JA, Ionescu MC, Eapen E, Jones JG, Marshall DS. Differential expression of WT1 and p53 in serous and endometrioid carcinomas of the endometrium. *Int J Gynecol Pathol* 2004;23(2):119-22.
74. Goldstein NS, Uzieblo A. WT1 immunoreactivity in uterine papillary serous carcinomas is different from ovarian serous carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2002;117(4):541-5.
75. Wang BY, Kalir T, Sabo E, Sherman DE, Cohen C, Burstein DE. Immunohistochemical staining of GLUT1 in benign, hyperplastic, and malignant endometrial epithelia. *Cancer* 2000;88(12):2774-81.
76. Tritz D, Pieretti M, Turner S, Powell D. Loss of heterozygosity in usual and special variant carcinomas of the endometrium. *Hum Pathol* 1997;28(5):607-12.
77. Machin P, Catusus L, Pons C, Munoz J, Matias-Guiu X, Prat J. CTNNB1 mutations and beta-catenin expression in endometrial carcinomas. *Hum Pathol* 2002;33(2):206-12.
78. Bussaglia E, del Rio E, Matias-Guiu X, Prat J. PTEN mutations in endometrial carcinomas: a molecular and clinicopathologic analysis of 38 cases. *Hum Pathol* 2000;31(3):312-7.
79. Ali IU. Gatekeeper for endometrium: the PTEN tumor suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(11):861-3.

80. Kaku T, Kamura T, Hirakawa T, Sakai K, Amada S, Kobayashi H, et al. Endometrial carcinoma associated with hyperplasia--immunohistochemical study of angiogenesis and p53 expression. *Gynecol Oncol* 1999;72(1):51-5.
81. Enomoto T, Fujita M, Inoue M, Rice JM, Nakajima R, Tanizawa O, et al. Alterations of the p53 tumor suppressor gene and its association with activation of the c-K-ras-2 protooncogene in premalignant and malignant lesions of the human uterine endometrium. *Cancer Res* 1993;53(8):1883-8.
82. Creasman WT, Morrow CP, Bundy BN, Homesley HD, Graham JE, Heller PB. Surgical pathologic spread patterns of endometrial cancer. A Gynecologic Oncology Group Study. *Cancer* 1987;60(8 Suppl):2035-41.
83. Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, Creasman WT, Heller P, Homesley HD, et al. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 1991;40(1):55-65.
84. Tobon H, Watkins GJ. Secretory adenocarcinoma of the endometrium. *Int J Gynecol Pathol* 1985;4(4):328-35.
85. Creasman WT, Odicino F, Maisonneuve P, Beller U, Benedet JL, Heintz AP, et al. Carcinoma of the corpus uteri. *Int J Gynaecol Obstet* 2003;83 Suppl 1:79-118.
86. Burton JL, Wells M. Recent advances in the histopathology and molecular pathology of carcinoma of the endometrium. *Histopathology* 1998;33(4):297-303.
87. Malkasian GD, Jr. Carcinoma of the endometrium: effect of stage and grade on survival. *Cancer* 1978;41(3):996-1001.
88. Ambros RA, Kurman RJ. Identification of patients with stage I uterine endometrioid adenocarcinoma at high risk of recurrence by DNA ploidy, myometrial invasion, and vascular invasion. *Gynecol Oncol* 1992;45(3):235-9.
89. Christopherson WM, Connelly PJ, Alberhasky RC. Carcinoma of the endometrium. V. An analysis of prognosticators in patients with favorable subtypes and Stage I disease. *Cancer* 1983;51(9):1705-9.
90. Lee KR, Vacek PM, Belinson JL. Traditional and nontraditional histopathologic predictors of recurrence in uterine endometrioid adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 1994;54(1):10-8.

91. Hall JB, Young RH, Nelson JH, Jr. The prognostic significance of adenomyosis in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1984;17(1):32-40.
92. Jacques SM, Lawrence WD. Endometrial adenocarcinoma with variable-level myometrial involvement limited to adenomyosis: a clinicopathologic study of 23 cases. *Gynecol Oncol* 1990;37(3):401-7.
93. Hernandez E, Woodruff JD. Endometrial adenocarcinoma arising in adenomyosis. *Am J Obstet Gynecol* 1980;138(7 Pt 1):827-32.
94. Hanson MB, van Nagell JR, Jr., Powell DE, Donaldson ES, Gallion H, Merhige M, et al. The prognostic significance of lymph-vascular space invasion in stage I endometrial cancer. *Cancer* 1985;55(8):1753-7.
95. Sivridis E, Buckley CH, Fox H. The prognostic significance of lymphatic vascular space invasion in endometrial adenocarcinoma. *Br J Obstet Gynaecol* 1987;94(10):991-4.
96. Al Kushi A, Lim P, Aquino-Parsons C, Gilks CB. Markers of proliferative activity are predictors of patient outcome for low-grade endometrioid adenocarcinoma but not papillary serous carcinoma of endometrium. *Mod Pathol* 2002;15(4):365-71.
97. Chi DS, Barakat RR, Palayekar MJ, Levine DA, Sonoda Y, Alektiar K, et al. The incidence of pelvic lymph node metastasis by FIGO staging for patients with adequately surgically staged endometrial adenocarcinoma of endometrioid histology. *Int J Gynecol Cancer* 2008;18(2):269-73.
98. Chan JK, Kapp DS. Role of complete lymphadenectomy in endometrioid uterine cancer. *Lancet Oncol* 2007;8(9):831-41.
99. Beckner ME, Mori T, Silverberg SG. Endometrial carcinoma: nontumor factors in prognosis. *Int J Gynecol Pathol* 1985;4(2):131-45.
100. Kaku T, Silverberg SG, Tsukamoto N, Tsuruchi N, Kamura T, Saito T, et al. Association of endometrial epithelial metaplasias with endometrial carcinoma and hyperplasia in Japanese and American women. *Int J Gynecol Pathol* 1993;12(4):297-300.
101. Christopherson WM, Alberhasky RC, Connelly PJ. Carcinoma of the endometrium: I. A clinicopathologic study of clear-cell carcinoma and secretory carcinoma. *Cancer* 1982;49(8):1511-23.

102. Chambers JT, Carcangiu ML, Voynick IM, Schwartz PE. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. Part II: Correlation between biochemical and immunohistochemical methods and survival. *Am J Clin Pathol* 1990;94(3):255-60.
103. Geisinger KR, Homesley HD, Morgan TM, Kute TE, Marshall RB. Endometrial adenocarcinoma. A multiparameter clinicopathologic analysis including the DNA profile and the sex steroid hormone receptors. *Cancer* 1986;58(7):1518-25.
104. McCarty KS, Jr., Barton TK, Fetter BF, Creasman WT, McCarty KS, Sr. Correlation of estrogen and progesterone receptors with histologic differentiation in endometrial adenocarcinoma. *Am J Pathol* 1979;96(1):171-83.
105. Grimshaw RN, Tupper WC, Fraser RC, Tompkins MG, Jeffrey JF. Prognostic value of peritoneal cytology in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1990;36(1):97-100.
106. Molitor JJ. Adenomyosis: a clinical and pathological appraisal. *Am J Obstet Gynecol* 1971;110(2):275-84.
107. Hendrickson MK, RL. Non-neoplastic conditions of the myometrium and uterus serosa. In: Fox HW, M., editor. New York:Churchill Livingstone 1995. p. 511-518.
108. Clement PB. Pathology of endometriosis. *Pathol Annu* 1990;25 Pt 1:245-95.
109. Fukunaga M. Smooth muscle metaplasia in ovarian endometriosis. *Histopathology* 2000;36(4):348-52.
110. Varma R, Rollason T, Gupta JK, Maher ER. Endometriosis and the neoplastic process. *Reproduction* 2004;127(3):293-304.
111. Hadfield RM, Manek S, Weeks DE, Mardon HJ, Barlow DH, Kennedy SH. Linkage and association studies of the relationship between endometriosis and genes encoding the detoxification enzymes GSTM1, GSTT1 and CYP1A1. *Mol Hum Reprod* 2001;7(11):1073-8.
112. Zondervan KT, Cardon LR, Kennedy SH. The genetic basis of endometriosis. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2001;13(3):309-14.
113. Mai KT, Yazdi HM, Perkins DG, Parks W. Development of endometriosis from embryonic duct remnants. *Hum Pathol* 1998;29(4):319-22.
114. Nakayama K, Masuzawa H, Li SF, Yoshikawa F, Toki T, Nikaido T, et al. Immunohistochemical analysis of the peritoneum adjacent to endometriotic lesions using antibodies for Ber-EP4 antigen, estrogen receptors, and progesterone receptors:

- implication of peritoneal metaplasia in the pathogenesis of endometriosis. *Int J Gynecol Pathol* 1994;13(4):348-58.
115. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, Kum JB, Eng C. Changes in endometrial PTEN expression throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(6):2334-8.
  116. Gentilini D, Busacca M, Di Francesco S, Vignali M, Viganò P, Di Blasio AM. PI3K/Akt and ERK1/2 signalling pathways are involved in endometrial cell migration induced by 17 $\beta$ -estradiol and growth factors. *Mol Hum Reprod* 2007;13(5):317-22.
  117. Fukunaga M, Ushigome S. Epithelial metaplastic changes in ovarian endometriosis. *Mod Pathol* 1998;11(8):784-8.
  118. Seidman JD. Prognostic importance of hyperplasia and atypia in endometriosis. *Int J Gynecol Pathol* 1996;15(1):1-9.
  119. Heaps JM, Nieberg RK, Berek JS. Malignant neoplasms arising in endometriosis. *Obstet Gynecol* 1990;75(6):1023-8.
  120. Mostoufizadeh M, Scully RE. Malignant tumors arising in endometriosis. *Clin Obstet Gynecol* 1980;23(3):951-63.
  121. Stern RC, Dash R, Bentley RC, Snyder MJ, Haney AF, Robboy SJ. Malignancy in endometriosis: frequency and comparison of ovarian and extraovarian types. *Int J Gynecol Pathol* 2001;20(2):133-9.
  122. Ahn GH, Scully RE. Clear cell carcinoma of the inguinal region arising from endometriosis. *Cancer* 1991;67(1):116-20.
  123. Chumas JC, Thanning L, Mann WJ. Malignant mixed müllerian tumor arising in extragenital endometriosis: report of a case and review of the literature. *Gynecol Oncol* 1986;23(2):227-33.
  124. Zaino R, Whitney C, Brady MF, DeGeest K, Burger RA, Buller RE. Simultaneously detected endometrial and ovarian carcinomas--a prospective clinicopathologic study of 74 cases: a gynecologic oncology group study. *Gynecol Oncol* 2001;83(2):355-62.
  125. Lu PY, Ory SJ. Endometriosis: current management. *Mayo Clin Proc* 1995;70(5):453-63.
  126. Baak JP, Mutter GL, Robboy S, van Diest PJ, Uytendaele AM, Orbo A, 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(11):2304-12.
127. Baak JP, Van Diermen B, Steinbakk A, Janssen E, Skaland I, Mutter GL, et al. Lack of PTEN expression in endometrial intraepithelial neoplasia is correlated with cancer progression. *Hum Pathol* 2005;36(5):555-61.
  128. Hecht JL, Ince TA, Baak JP, Baker HE, Ogden MW, Mutter GL. Prediction of endometrial carcinoma by subjective endometrial intraepithelial neoplasia diagnosis. *Mod Pathol* 2005;18(3):324-30.
  129. Mutter GL, Ince TA, Baak JP, Kust GA, Zhou XP, Eng C. Molecular identification of latent precancers in histologically normal endometrium. *Cancer Res* 2001;61(11):4311-4.
  130. Orbo A, Baak JP, Kleivan I, Lysne S, Prytz PS, Broecker MA, et al. Computerised morphometrical analysis in endometrial hyperplasia for the prediction of cancer development. A long-term retrospective study from northern Norway. *J Clin Pathol* 2000;53(9):697-703.
  131. Walker SM, Leslie NR, Perera NM, Batty IH, Downes CP. The tumour-suppressor function of PTEN requires an N-terminal lipid-binding motif. *Biochem J* 2004;379(Pt 2):301-7.
  132. Risinger JI, Hayes AK, Berchuck A, Barrett JC. PTEN/MMAC1 mutations in endometrial cancers. *Cancer Res* 1997;57(21):4736-8.
  133. Tashiro H, Blazes MS, Wu R, Cho KR, Bose S, Wang SI, et al. Mutations in PTEN are frequent in endometrial carcinoma but rare in other common gynecological malignancies. *Cancer Res* 1997;57(18):3935-40.
  134. Sansal I, Sellers WR. The biology and clinical relevance of the PTEN tumor suppressor pathway. *J Clin Oncol* 2004;22(14):2954-63.
  135. McCubrey JA, Steelman LS, Abrams SL, Lee JT, Chang F, Bertrand FE, et al. Roles of the RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT pathways in malignant transformation and drug resistance. *Adv Enzyme Regul* 2006;46:249-79.
  136. Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997;275(5308):1943-7.

137. Luo J, Manning BD, Cantley LC. Targeting the PI3K-Akt pathway in human cancer: rationale and promise. *Cancer Cell* 2003;4(4):257-62.
138. Keniry M, Parsons R. The role of PTEN signaling perturbations in cancer and in targeted therapy. *Oncogene* 2008;27(41):5477-85.
139. Sarbassov DD, Guertin DA, Ali SM, Sabatini DM. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science* 2005;307(5712):1098-101.
140. Potter CJ, Pedraza LG, Xu T. Akt regulates growth by directly phosphorylating Tsc2. *Nat Cell Biol* 2002;4(9):658-65.
141. Bai X, Ma D, Liu A, Shen X, Wang QJ, Liu Y, et al. Rheb activates mTOR by antagonizing its endogenous inhibitor, FKBP38. *Science* 2007;318(5852):977-80.
142. Brunet A, Bonni A, Zigmond MJ, Lin MZ, Juo P, Hu LS, et al. Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. *Cell* 1999;96(6):857-68.
143. Puig O, Tjian R. Transcriptional feedback control of insulin receptor by dFOXO/FOXO1. *Genes Dev* 2005;19(20):2435-46.
144. Tamura M, Gu J, Matsumoto K, Aota S, Parsons R, Yamada KM. Inhibition of cell migration, spreading, and focal adhesions by tumor suppressor PTEN. *Science* 1998;280(5369):1614-7.
145. Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WK, Lin H, Ligon AH, et al. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet* 1997;15(4):356-62.
146. Tamura M, Gu J, Takino T, Yamada KM. Tumor suppressor PTEN inhibition of cell invasion, migration, and growth: differential involvement of focal adhesion kinase and p130Cas. *Cancer Res* 1999;59(2):442-9.
147. Bonneau D, Longy M. Mutations of the human PTEN gene. *Hum Mutat* 2000;16(2):109-22.
148. Ali IU, Schriml LM, Dean M. Mutational spectra of PTEN/MMAC1 gene: a tumor suppressor with lipid phosphatase activity. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(22):1922-32.
149. Guldberg P, thor Straten P, Birck A, Ahrenkiel V, Kirkin AF, Zeuthen J. Disruption of the MMAC1/PTEN gene by deletion or mutation is a frequent event in malignant melanoma. *Cancer Res* 1997;57(17):3660-3.



150. Liu W, James CD, Frederick L, Alderete BE, Jenkins RB. PTEN/MMAC1 mutations and EGFR amplification in glioblastomas. *Cancer Res* 1997;57(23):5254-7.
151. Cairns P, Okami K, Halachmi S, Halachmi N, Esteller M, Herman JG, et al. Frequent inactivation of PTEN/MMAC1 in primary prostate cancer. *Cancer Res* 1997;57(22):4997-5000.
152. Kong D, Suzuki A, Zou TT, Sakurada A, Kemp LW, Wakatsuki S, et al. PTEN1 is frequently mutated in primary endometrial carcinomas. *Nat Genet* 1997;17(2):143-4.
153. Okami K, Wu L, Riggins G, Cairns P, Goggins M, Evron E, et al. Analysis of PTEN/MMAC1 alterations in aerodigestive tract tumors. *Cancer Res* 1998;58(3):509-11.
154. Di Cristofano A, Pesce B, Cordon-Cardo C, Pandolfi PP. Pten is essential for embryonic development and tumour suppression. *Nat Genet* 1998;19(4):348-55.
155. Maxwell GL, Risinger JI, Gumbs C, Shaw H, Bentley RC, Barrett JC, et al. Mutation of the PTEN tumor suppressor gene in endometrial hyperplasias. *Cancer Res* 1998;58(12):2500-3.
156. Levine RL, Cargile CB, Blazes MS, van Rees B, Kurman RJ, Ellenson LH. PTEN mutations and microsatellite instability in complex atypical hyperplasia, a precursor lesion to uterine endometrioid carcinoma. *Cancer Res* 1998;58(15):3254-8.
157. Zheng W, Baker HE, Mutter GL. Involution of PTEN-null endometrial glands with progestin therapy. *Gynecol Oncol* 2004;92(3):1008-13.
158. Vereide AB, Kaino T, Sager G, Orbo A. Bcl-2, BAX, and apoptosis in endometrial hyperplasia after high dose gestagen therapy: a comparison of responses in patients treated with intrauterine levonorgestrel and systemic medroxyprogesterone. *Gynecol Oncol* 2005;97(3):740-50.
159. Robson EJ, He SJ, Eccles MR. A PANorama of PAX genes in cancer and development. *Nat Rev Cancer* 2006;6(1):52-62.
160. Zhou XP, Waite KA, Pilarski R, Hampel H, Fernandez MJ, Bos C, et al. Germline PTEN promoter mutations and deletions in Cowden/Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome result in aberrant PTEN protein and dysregulation of the phosphoinositol-3-kinase/Akt pathway. *Am J Hum Genet* 2003;73(2):404-11.
161. Marsh DJ, Coulon V, Lunetta KL, Rocca-Serra P, Dahia PL, Zheng Z, et al. Mutation spectrum and genotype-phenotype analyses in Cowden disease and

- Bannayan-Zonana syndrome, two hamartoma syndromes with germline PTEN mutation. *Hum Mol Genet* 1998;7(3):507-15.
162. Chiariello E, Roz L, Albarosa R, Magnani I, Finocchiaro G. PTEN/MMAC1 mutations in primary glioblastomas and short-term cultures of malignant gliomas. *Oncogene* 1998;16(4):541-5.
  163. Kohno T, Takahashi M, Manda R, Yokota J. Inactivation of the PTEN/MMAC1/TEP1 gene in human lung cancers. *Genes Chromosomes Cancer* 1998;22(2):152-6.
  164. Smith JS, Tachibana I, Passe SM, Huntley BK, Borell TJ, Iturria N, et al. PTEN mutation, EGFR amplification, and outcome in patients with anaplastic astrocytoma and glioblastoma multiforme. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(16):1246-56.
  165. Wang SI, Puc J, Li J, Bruce JN, Cairns P, Sidransky D, et al. Somatic mutations of PTEN in glioblastoma multiforme. *Cancer Res* 1997;57(19):4183-6.
  166. Tantbirojn P, Triratanachat S, Trivijitsilp P, Niruthisard S. Detection of PTEN immunoreactivity in endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. *J Med Assoc Thai* 2008;91(8):1161-5.
  167. Erkanli S, Kayaselcuk F, Kuscu E, Bagis T, Bolat F, Haberal A, et al. Expression of survivin, PTEN and p27 in normal, hyperplastic, and carcinomatous endometrium. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16(3):1412-8.
  168. Salvesen HB, Stefansson I, Kalvenes MB, Das S, Akslen LA. Loss of PTEN expression is associated with metastatic disease in patients with endometrial carcinoma. *Cancer* 2002;94(8):2185-91.
  169. Castiblanco GA, Pires NY, Wistuba OI, Riquelme SE, Andrade ML, Corvalan RA. [Pathogenic role of PTEN tumor suppressor gene in ovarian cancer associated to endometriosis]. *Rev Med Chil* 2006;134(3):271-8.
  170. Vestergaard AL, Thorup K, Knudsen UB, Munk T, Rosbach H, Poulsen JB, et al. Oncogenic events associated with endometrial and ovarian cancers are rare in endometriosis. *Mol Hum Reprod* 2011;17(12):758-61.
  171. Sato N, Tsunoda H, Nishida M, Morishita Y, Takimoto Y, Kubo T, et al. Loss of heterozygosity on 10q23.3 and mutation of the tumor suppressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: possible sequence progression from benign

- endometrial cyst to endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary. *Cancer Res* 2000;60(24):7052-6.
172. Martini M, Ciccarone M, Garganese G, Maggiore C, Evangelista A, Rahimi S, et al. Possible involvement of hMLH1, p16(INK4a) and PTEN in the malignant transformation of endometriosis. *Int J Cancer* 2002;102(4):398-406.
173. Mutter GL. Histopathology of genetically defined endometrial precancers. *Int J Gynecol Pathol* 2000;19(4):301-9.
174. Kimura F, Watanabe J, Hata H, Fujisawa T, Kamata Y, Nishimura Y, et al. PTEN immunohistochemical expression is suppressed in G1 endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004;130(3):161-8.
175. Taranger-Charpin C, Carpentier S, Dales JP, Garcia S, Djemli A, Andrac L, et al. [Immunohistochemical expression of PTEN antigen: a new tool for diagnosis of early endometrial neoplasia]. *Bull Acad Natl Med* 2004;188(3):415-27; discussion 427-9.
176. Elnashar A SS, Muhammad EMS, Eldabie N, Sabry M. . Immunohistochemical expression of phosphatase and tensin homolog in endometrial hyperplasia and carcinoma. *Egypt J Pathol* 2011;31:2-5.
177. Salvesen HB, Stefansson I, Kretzschmar EI, Gruber P, MacDonald ND, Ryan A, et al. Significance of PTEN alterations in endometrial carcinoma: a population-based study of mutations, promoter methylation and PTEN protein expression. *Int J Oncol* 2004;25(6):1615-23.
178. Inaba F, Kawamata H, Teramoto T, Fukasawa I, Inaba N, Fujimori T. PTEN and p53 abnormalities are indicative and predictive factors for endometrial carcinoma. *Oncol Rep* 2005;13(1):17-24.
179. Peiro G, Lohse P, Mayr D, Diebold J. Insulin-like growth factor-I receptor and PTEN protein expression in endometrial carcinoma. Correlation with bax and bcl-2 expression, microsatellite instability status, and outcome. *Am J Clin Pathol* 2003;120(1):78-85.
180. Sun H, Enomoto T, Fujita M, Wada H, Yoshino K, Ozaki K, et al. Mutational analysis of the PTEN gene in endometrial carcinoma and hyperplasia. *Am J Clin Pathol* 2001;115(1):32-8.

181. An HJ, Lee YH, Cho NH, Shim JY, Kim JY, Lee C, et al. Alteration of PTEN expression in endometrial carcinoma is associated with down-regulation of cyclin-dependent kinase inhibitor, p27. *Histopathology* 2002;41(5):437-45.
182. Monte NM, Webster KA, Neuberg D, Dressler GR, Mutter GL. Joint loss of PAX2 and PTEN expression in endometrial precancers and cancer. *Cancer Res* 2010;70(15):6225-32.
183. Mutter G, Zaiano JR, Baak JP, Bentley RC, Robboy JS. Benign endometrial hyperplasia and EIN. In: Robboy S, Mutter GL, Prat J, Bentley RC, Anderson MC., editor. *Robboy's Pathology of the Female Reproductive Tract*. Second ed. Churchill Livingstone: Elsevier; 2009. p. 367-391.
184. Norimatsu Y, Moriya T, Kobayashi TK, Sakurai T, Shimizu K, Tsukayama C, et al. Immunohistochemical expression of PTEN and beta-catenin for endometrial intraepithelial neoplasia in Japanese women. *Ann Diagn Pathol* 2007;11(2):103-8.
185. Feng ZZ, Chen JW, Yang ZR, Lu GZ, Cai ZG. Expression of PTTG1 and PTEN in endometrial carcinoma: correlation with tumorigenesis and progression. *Med Oncol* 2012;29(1):304-10.
186. Dellas A, Jundt G, Sartorius G, Schneider M, Moch H. Combined PTEN and p27kip1 protein expression patterns are associated with obesity and prognosis in endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res* 2009;15(7):2456-62.
187. Sarmadi S, Izadi-Mood N, Sotoudeh K, Tavangar SM. Altered PTEN expression; a diagnostic marker for differentiating normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. *Diagn Pathol* 2009;4:41.
188. Cirpan T, Terek MC, Mgoyi L, Zekioglu O, Iscan O, Ozsaran A. Immunohistochemical evaluation of PTEN protein in patients with endometrial intraepithelial neoplasia compared to endometrial adenocarcinoma and proliferative phase endometrium. *Eur J Gynaecol Oncol* 2006;27(4):389-92.

