

T. C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

MALİGN MİKST MÜLLERİAN TÜMÖRLERDE  
E-KADERİN VE BETA-KATENİN EKSPRESYONUNUN  
ÖNEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Ülkü TOPALOĞLU

Patoloji Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2010

T. C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

MALİGN MİKST MÜLLERİAN TÜMÖRLERDE  
E-KADERİN VE BETA-KATENİN EKSPRESYONUNUN  
ÖNEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Ülkü TOPALOĞLU

Patoloji Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI  
Prof. Dr. Serap IŞIKSOY

ESKİŞEHİR

2010

## TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T. C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA;

Dr. Ülkü TOPALOĞLU'na ait "Malign Mikst Müllerian Tümörlerde E-kaderin ve Beta-katenin Ekspresyonunun Öneminin Değerlendirilmesi" adlı çalışma jürimiz tarafından Patoloji Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:13.10.2010

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Sare KABUKÇUOĞLU

Patoloji Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Serap IŞIKSOY

Patoloji Anabilim Dalı

Üye

Doç. Dr .M. Fuat AÇIKALIN

Patoloji Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun.....

Tarih ve..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. Zübeyir KILIÇ

Dekan

## TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren değerli öğretim üyelerine ve tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan Prof. Dr. Serap IŞIKSOY'a, ayrıca istatistiksel değerlendirmeyi yapan Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Cengiz BAL'a teşekkür ederim.

## ÖZET

**Topaloğlu, Ü. Malign Mikst Müllerian Tümörlerde E-kaderin ve Beta Katenin ekspresyonunun önemini değerlendirilmesi. Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2010.** Malign mikst müllerian tümörlerin (MMMT) (karsinosarkom) epitelyal ve mezenkimal komponentinin ortak bir kök hücreden köken aldığı ve monoklonal bir neoplazm olduğu, mezenkimal komponentin metaplastik bir transformasyon ile geliştiği görüşü günümüzde kabul görmekte olup bu tümörlerin metaplastik karsinom olarak tanımlanması önerilmektedir. Literatürde bir çalışmada uterin mezenkimal tümörlerin gelişiminde WNT/ $\beta$ -Katenin sinyalizasyonunun etkili olabileceği ve stromada disregüle olan  $\beta$ -kateninin endometriyal glandüler hiperplazi ve adenokarsinomu indükleyebileceği öne sürülmüştür.  $\beta$ -katenini ortak kullanarak E-kaderin aracılıklı adezyon ve WNT/ $\beta$ -katenin yolağı birbirine bağımlı hareket eder. E-kaderin hücreler arası adezyon oluşumunu sağlar ve epitelyal mezenkimal fenotip değişiminin en önemli bileşenidir. Son yıllarda karsinosarkomların gelişiminde epitelyal mezenkimal dönüşümün rolü olduğu düşünülmekte olup, bu çalışmada MMMT'lerin her iki tümör komponentinde E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu araştırılmıştır. Çalışmamızda kadın genital sisteminde gelişmiş toplam 32 MMMT değerlendirildi. Vak'aların % 69.7'sinde epitelyal komponentte E-kaderin ekspresyonu, %72.8'inde  $\beta$ -katenin ekspresyonu görülürken, mezenkimal komponentte E-kaderin ekspresyonu bir vak'ada,  $\beta$ -katenin ekspresyonu 11 vak'ada fokal olarak saptandı. Tümörün karsinomatöz komponentinde E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonunun, kontrol ile kıyaslandığında daha az olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Tümörün epitelyal komponentinde değişken ve düşük oranlarda E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonunun görülmesi hücreler arası adezyon mekanizmalarında regülasyon bozukluğu olduğunu, mezenkimal komponentte E-kaderin ekspresyonunun olmayışı ve bazı vak'alarda  $\beta$ -kateninin pozitifliği bu tümörlerin histopatogenezinde epitelyal mezenkimal dönüşümün rolü olabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: Malign mikst müllerian tümör, Epitelyal mezenkimal dönüşüm,

E-kaderin,  $\beta$ -katenin

## ABSTRACT

**Topaloğlu, Ü. Evaluation of the Significance of E-cadherin and  $\beta$ -catenin Expressions in Malignant Mixed Müllerian Tumors.** Both of epithelial and mesenchymal components of Malignant mixed müllerian tumours (MMMT) are regarded as deriving from a stem cell and monoclonal in origin. In recent years, it is accepted that mesenchymal component is transformed by metaplasia and it is proposed that these tumors should be described as metaplastic carcinomas. Dysregulated WNT/ $\beta$ -catenin signaling has effects on uterine tumorigenesis and can induce development of endometrial glandüler hiperplasia and adenocarcinomas. By sharing the  $\beta$ -catenin molecule, E-cadherin mediated adhesion and WNT/ $\beta$ -catenin pathway are dependent upon each other and given the central role of E-cadherin in epithelial mesenchymal transitions. Recently, it is suggested that epithelial mesenchymal transition has a significant role at development of carcinosarcomas and, we researched expression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in both two components of MMMT. We evaluated 32 MMMTs which are originated from female genital tract. E-cadherin and  $\beta$ -catenin expressions were observed in 69.7 % and 72.8% of MMMTs in the epithelial component respectively. In the mesenchymal component we determined E-cadherin expression in only one patient and  $\beta$ -catenin expression in 11 patients focally. We find out that E-cadherin and  $\beta$ -catenin expressions have decreased when we compared them with controls ( $p < 0.05$ ). Variable expressions of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in the epithelial component of tumor can suggest that there is a dysregulation in adhesion of cells and absence of E-cadherin expression and also the presence of  $\beta$ -catenin positivity in the mesenchymal component of these tumors can suggest that epithelial mesenchymal transition can have a significant role of histopathogenesis of MMMTs.

Key Words: Malignant mixed müllerian tumor, Epithelial mesenchymal transition,

E-cadherin,  $\beta$ -catenin

**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	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kadın Üreme Organları Embriyolojisi	3
2.2. Kadın Üreme Organları Histolojisi	5
2.3. Mikst Müllerian Tümörler	7
2.3.1. Adenofibrom	8
2.3.2. Adenosarkom	9
2.3.3. Aşırı Sarkomatöz Büyüme Gösteren Adenosarkom	9
2.3.4. Malign Mikst Müllerian Tümörler	10
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Boyama Yöntemi	32
3.2. İstatistiksel Değerlendirme	33
4. BULGULAR	35
4.1. Histopatolojik Bulgular	35
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	38
4.3. Yaşam Analizi	54
5. TARTIŞMA	67
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	76
KAYNAKLAR	81

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

CEA	Karsinoembriyonik antijen
ECM	Ekstrasellüler matriks
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EGFR	Epidermal büyüme faktör reseptörü
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
FİGO	Uluslararası jinekoloji ve obstetrik federasyonu
HAM	Hücre adezyon molekülleri
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
HSIL	High grade skuamöz intraepitelyal lezyon
LSİL	Low grade skuamöz intraepitelyal lezyon
MMMT	Malign Mikst Müllerian Tümör
SCC	Skuamöz hücreli kanser



## ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Epitelyal mezenkimal dönüşümde rol oynayan major yollar	22
4. 1. Primer tümör lokalizasyonuna göre dağılım	35
4. 2. Tümörlerin mezenkimal tipine göre dağılımı	36
4. 3. Tümörlerde epitelyal komponentin histolojik tipine göre dağılım	37
4. 4. Kontrol gruplarında endometriyumun E-kaderin ekspresyonu	39
4. 5. Kontrol gruplarında enometriyumun $\beta$ -katenin ekspresyonu	40
4. 6. E-kaderin ekspresyonunun vak'a sayılarına göre dağılımı	41
4. 7. $\beta$ -katenin ekspresyonunun vak'a sayılarına göre dağılımı	42
4. 8. E-kaderin ve $\beta$ -katenin ekspresyonlarının karşılaştırması	43
4.9. Metastazlarda E-kaderin ekspresyonu	44
4.10. Metastaz odaklarında $\beta$ katenin ekspresyonu	45
4.11. Metastaz odaklarında E-kaderin ve $\beta$ -katenin ekspresyonu	45
4.12. Tümör ve kontrol gruplarında E-kaderin ekspresyonu	47
4.13. Tümör ve kontrol gruplarında $\beta$ - kateninin ekspresyonu	48
4.14. Vak'aların haftaya göre yaşam eğrisi	54
4.15. Vaka'aların evreye göre yaşam eğrisi	55
4.16. Tümörlerin heterolog veya homolog olmasına göre yaşam eğrisi	56
4.17. Kontrol grubu 1'de 2+ düzeyinde E-kaderin ekspresyonu	57
4.18. Kontrol grubu 1'de 2+ düzeyinde $\beta$ - katenin ekspresyonu	57
4.19. Kontrol Grubu 2'de 2 Düzeyinde E-Kaderin Ekspresyonu	58
4.20. Kontrol Grubu 2'de 2+ Düzeyinde $\beta$ -Katenin Ekspresyonu	58
4.21. Tümörün epitelyal komponentinde 2+ düzeyinde E-kaderin ekspresyonu	59
4.22. Aynı olguda 2+ düzeyinde E-kaderin ekspresyonu	59
4.23. Aynı olguda bir başka alanda epitelyal komponentte E-kaderin ekspresyonu	60
4.24. Aynı olgunun metastaz odağındaki E-kaderin ekspresyonu	60
4.25. Şekil 4.21-24.'deki vak'ada E-kaderin ekspresyonu izlenen alanda $\beta$ –katenin ekspresyonu	61

	Sayfa
4.26. Şekil 4.21’de E-kaderin ekspresyonu izlenen alanda $\beta$ -katenin ekspresyonu	61
4.27. Şekil 4.24.’deki alanda $\beta$ -katenin ekspresyonu negatiftir	62
4.28. Aynı olguda başka alanda $\beta$ -katenin ekspresyonu 2+ düzeyinde pozitifdir	62
4.29. Epitelyal ve mezenkimal komponentte $\beta$ -katenin ekspresyonu	63
4.30. mezenkimal komponentte $\beta$ -katenin ekspresyonu	63
4.31. Aynı olguda epitelyal elemanlar ve mezenkimal tümöral alanlarda E-kaderin negatiftir.	64
4.32. Bu olguda tümörde E-kaderin negatiftir	64
4.33. Aynı olguda tümörün epitelyal komponentinde ve normal endometriyal glandlarda $\beta$ -katenin ekspresyonu	65
4.34. Daha büyük büyütmede tümörde epitelyal komponentte $\beta$ -katenin ekspresyonu	65
4.35. Aynı olguda mezenkimal komponentte $\beta$ -katenin ekspresyonu	66

## TABLOLAR

	Sayfa
2.1. Epitelyal mezenkimal dönüşümlenileyicileri	27
2. 2. Epitelyal mezenkimal dönüşümün rol oynadığı tümörler	28
4. 1. Tümörlerde epitelyal komponentte histopatolojik tipine göre dağılım	37
4. 2. Vak'aların Evrelerine göre dağılımı	38
4. 3. Kontrol gruplarında endometriyum E-kaderin boyanma oranları	39
4. 4. Kontrol gruplarında endometriyum $\beta$ -katenin boyanma oranları	39
4. 5. E-kaderin ekspresyonunun vak'a sayılarına göre dağılımı	41
4. 6. $\beta$ - katenin ekspresyonunun vak'a sayılarına göre dağılımı	42
4. 7. Metastatik odaklarda E-kaderin ekspresyonu	43
4. 8. Metastaz odaklarında $\beta$ -Katenin ekspresyonu	44
4. 9. Tümör ve kontrol gruplarında E-kaderin ekspresyonu	46
4. 10. Tümör ve kontrol gruplarında $\beta$ -kateninin ekspresyonu	47
4.11. Tümörlerin lokalizasyonuna göre E-kaderinle boyanma oranları	48
4. 12. Tümör lokalizasyonuna göre $\beta$ -katenin ekspresyonu	49
4. 13. Mezenkimal komponentin tipine göre E-kaderin ekspresyonu	50
4. 14. Mezenkimal komponentin tipine göre $\beta$ -kateninle boyanma Oranı	50
4. 15. Karsinomatöz komponentin histolojik tipine göre E-kaderin ekspresyonu	51
4.16. Karsinomatöz komponentin histolojik tipine göre $\beta$ -katenin ekspresyonu	52
4. 17. Evrelerine göre E-kaderin ekspresyonu	53
4. 18. Evre'ye göre $\beta$ -katenin ekspresyonu	53

## GİRİŞ

Malign mikst müllerian tümör (MMMT), diğer adıyla karsinosarkom, uterus neoplazilerinin %5'inden azını oluşturan malign epitelyal ve mezenkimal bileşenler içeren, bifazik bir tümördür. Bu tümörler, en sık uterus korpusunda görülmekte olup, over, serviks, tuba ve vajende de görülebilir. Köken aldığı yer neresi olursa olsun agresif klinik gidiş gösterir (1).

Karsinosarkomların histogenezi hakkında Abeln ve ark. (2)'ı Meyer'in 1930 yılında epitelyal ve stromal hücrelerin varlığını açıklayan 3 hipotez ortaya attığını belirtmiş olup, bunlar, kollizyon, kombinasyon, konversiyon hipotezleridir. Bugün ise karsinosarkomların konversiyon hipotezine göre monoklonal hücre orijinli olduğu, sarkomatöz komponentin metaplastik bir transformasyon ile geliştiği kabul edilmektedir (1,3,4). Son yıllarda yapılan immünohistokimyasal analizler, ultrastrüktürel ve moleküler çalışmalar bu hipotezi desteklemektedir. Çoğu uterin karsinosarkomların metaplastik karsinom olarak isimlendirilmesinin daha iyi bir tanımlama olacağı, bunun alternatifinin de sarkomatöz metaplazi içeren karsinom olabileceği düşünülmektedir (4).

İnsan kanserlerindeki olası fenotipik dönüşümleri incelemede cerrahi patoloji yararlı bir tıbbi disiplin olup, bu konuda cerrahi ya da biyopsi materyallerinde mikroskopik ve ultrastrüktürel düzeyde çalışmalar yapılmaktadır(5). İmmünohistokimyasal çalışmalarla ya da in situ hibridizasyon ile değerlendirilen epitelyal ve mezenkimal belirleyicilerin belirli tümörlerde değerlendirilmesi, tanı konulmasının yanı sıra tümörlerde muhtemelen var olabilen bir hücreden başka bir hücreye geriye dönüşümsüz farklılaşmayı (transdiferansiyasyon) ortaya koymuştur. Epitelyal mezenkimal dönüşüm, epitelyal değişimin (plastisite) bir şekli olup epitelyal hücrelerde uzun süreli morfolojik ve moleküler değişiklikler ile mezenkimal bir hücre tipine doğru transdiferansiyasyon sonucu gelişir. Epitelyal mezenkimal dönüşüm embriyolojik gelişimin çeşitli evrelerinde geliştiği gibi, kanser hücre kültürlerinde kolaylıkla oluşturulabilmiştir. Bu fenomen insan kanserlerinde nadiren görülür. Karsinosarkomlar bu konuda en iyi çalışılan tümörler olup bu tümörlerdeki hem epitelyal hem mezenkimal komponentte monoklonalite bulgularının olması epitelyal mezenkimal dönüşümün varlığını kuvvetle desteklemektedir (5). Epitelyal

mezenkimal dönüşümün en önemli özelliği hücreler arası bağlantıların harabiyeti, hücre motilitesinin artması ve böylece hücrelerin bağlı olduğu epitelyal dokulardan serbestleşmesidir. Sonuçta ortaya çıkan mezenkim benzeri fenotip hücre migrasyonuna olanak sağlar ve böylece hücre invazyonu ve metastatik progresyon gelişir. Epitelyal mezenkimal dönüşüm gelişiminin moleküler temeli tamamen anlaşılmış olmasa da bilinen birçok sinyal molekülü ve transdüksiyon yolağı rol oynamaktadır. Bu yolaklarda epitelyal mezenkimal dönüşüm sırasında ve tümör invazyonunda kritik bir rolü olan epitelyal molekül E-kaderinin *down-regülasyonu* olmaktadır (6). Epitelyal mezenkimal dönüşümün bilinen moleküler belirleyicileri arasında E-kaderin ve sitokeratinin azalması; N-kaderin, fibronektin ve vimentin artışı,  $\beta$ -kateninin nükleer ekspresyonu ve kaderin üretimini inhibe eden snail 1, snail 2 (slug), Twist, EF1/ZEB 1, SIP/ZEB2, ve E47 transkripsiyon faktörleri artışı yer alır (7). Biz bu çalışmada kadın genital sisteminde gelişen karsinosarkomlarda epitelyal mezenkimal dönüşümün bilinen moleküler belirleyicileri arasında olan E- kaderin ve  $\beta$ -kateninin ekspresyonlarının önemini incelemeyi amaçladık ve bu belirleyicilerin tümör progresyonundaki rolünü değerlendirdik.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.Kadın Üreme Organları Embriyolojisi

#### Gonadların Gelişimi

Gonadların (testisler ve ovaryumlar) gelişimini sağlayan, posterior karın duvarını döşeyen çölemik epitel (mezotelyum), çölemik epitel altındaki mezenkim dokusu ve ilkel cinsiyet hücreleri (primordiyal germ hücreleri)'dir (8).

Gonadlar gelişmenin 5. haftasında, mezonefrozun medialinde, sağ ve solda çölemik epitelin çoğalması ile oluşan, uzunluğuna iki adet gonad ya da genital kabartı (gonadal= genital ridgs) şeklinde dikkati çeker. Gelişmenin 4. haftasında ilkel cinsiyet hücreleri, allontois kesesine yakın, vitellus kesesi duvarı endoderm hücreleri arasında görülmeye başlar. Embriyonun kıvrılması sırasında vitellus kesesi dorsal kısmı embriyo içine alınırken, ilkel cinsiyet hücreleri, son bağırsağın dorsal mezenteri yolu ile 6. haftada ameboid hareketlerle gonad kabartılarına göç eder ( 8).

İlkel cinsiyet hücrelerinin göçlerinden az önce ya da göçleri sırasında gonad kabartısının çölemik epiteli tekrar çoğalır ve altındaki mezenkime yayılarak, düzensiz ilkel cinsiyet kordonlarını (primitif seks kord) oluşturur. Yedinci haftadan önce, her iki cinsin gonadları benzerdir ve farklılaşmamış gonadlar olarak tanımlanırlar. Y kromozomu kısa kolu üzerindeki testis belirleyen faktör farklılaşmamış gonadın ilkel cinsiyet kordonlarındaki hücrelerde sentezlendiğinde taslak gonadlar, testislere farklılaşır (8).

Ovaryumlar, 10. haftaya kadar histolojik olarak ayırt edilemezler. İlkel cinsiyet kordonları dişi embriyolarda, taslak gonadın medullasına kadar uzanır ve rudimenter rete ovarileri yapar. Normalde, rete ovariler ve ilkel cinsiyet kordonları dejenere olur, daha sonra kaybolur (8).

Erken föetal dönemde kortikal kordonlar denilen ikinci cinsiyet kordonları, gelişmekte olan gonadın yüzey çöлом epitelinden altındaki mezenkime doğru gelişmeye başlar. Çöлом epitelinin proliferasyonu ile kortikal kordonlar kalınlaşırken, ilkel cinsiyet hücreleri kordonlar içine karışır. Yaklaşık 16. haftada bu kordonlar primordial folikül denilen ayrı hücre gruplarına bölünürler. Her bir hücre grubu ortada ilkel cinsiyet hücresinden köken almış oogoniyum ve onun çevresinde kortikal kordon çölem epiteli çıkaklı, tek sıra folikül hücrelerinden meydana gelir.

Fötal dönemde milyonlarca oogonium aktif mitozla oluşurlar. Doğum öncesi, oogoniumların bir kısmı dejenere olurken, büyük bir kısmı büyüyerek primer oositleri yaparlar. Postnatal dönemde, oogoniumlar artık oluşmaz (8).

Gelişmekte olan ovaryumun histolojik tanısı, 10 ve 11. haftalarda kalın, tunika albugineanın olmaması ve mayoz safhasına girmekte olan cinsiyet hücrelerinin varlığı ile konur. Ovaryum folikülleri oluşurken, yüzey epiteli ile olan bağlantılarını kaybeder. Tunika albuginea denilen ince fibröz bir kapsül, yüzey epiteli ile ovaryum kapsülü ve ovaryum korteksi arasında gelişir. Mezonefroz gerilerken, ovaryum ondan ayrılır ve mezoovaryum denilen kendi mezenteri ile vücut duvarına asılır (8).

### **Genital yolların gelişmesi**

Gelişmenin 5. ve 6. haftalarında, hem dişi hem de erkek embriyonlar, iki çift genital ya da cinsiyet kanallarına sahiptirler. Bunlar bir çift mezonefroz (Wolfian) ve bir çift paramezonefroz (müllerian) kanallarıdır. Bu iki çift genital kanalın var olduğu döneme genital yolların farklılaşmamış safhası denir (8).

Mezonefroz kanalları, mezonefroz böbrek sistemi gelişirken, ürogenital kabartıların lateralinde, mezonefroz tübüllerinin, çift pronefroz kanallarına açılması ile oluşur. Mezonefroz kanalları böbrek sisteminin kranialinden başlayıp kaudaline kadar uzanır ve sonra urogenital sinusa açılır. Paramezonefroz kanalları, ürogenital kabartının anterolateral yüzündeki çölem epitelinin uzunluğuna invajinasyonu ile meydana gelir. Kranialde huni benzeri bir yapı ile çölem boşluğuna açıldıktan sonra mezonefroz kanallarının lateralinde onlara paralel seyreder (kranial dikey parçalar). Onları ventral olarak kesip (yatay parçalar), kaudomedial yönde, ortada, sağ ve soldan gelen kendi benzeri parçaları ile birleşir (kaudal dikey parçalar) ve Y şeklinde uterovajinal taslağı ya da uterus kanallarını oluşturur. Uterovajinal taslağın kaudal ucu, ürogenital sinüsün posterior duvarına değdiği yerde, paramezonefroz ya da müller tüberkülü meydana gelir (8).

Mezonefroz kanalları, fötal testisten salgılanan testosteron hormonu ve müllerian baskılayan faktör (MIF) stimülasyonu ile erkek genital yollarına farklılaşırlar. Paramezonefroz kanalları ise dişi genital yolları oluştururlar (8).

## **Dişi Genital Yolların Gelişmesi**

Ovaryuma sahip embriyonlarda mezonefroz kanalları testosteron yokluğu nedeniyle gerilerler. Paramezonefroz kanalları, müllerian baskılayan faktör yokluğunda gelişerek dişi genital yolların büyük kısmını yaparlar.

## **Uterus Tüpleri ve Uterusun Gelişmesi**

Ovaryumların desendensinden sonra paramezonefroz kanallarının birleşmeyen kranial-dikey ve yatay parçaları, uterus tüplerini (ovidukts) meydana getirirler. Distal sonlarındaki infundibulumla karın boşluğuna açılırlar. Birleşen kaudal dikey parçalar (uterovajinal taslak) isminden de anlaşıldığı gibi uterus ve vajinanın superior kısmını meydana getirirler. Müller tüberkülünün oluşmasından kısa süre sonra iki kaudal dikey parçanın ortada birleşmesi ile oluşan dikey septum dejenere olur ve tek bir uterus boşluğu ya da kanalı oluşur. Uterovajinal taslakdan uterusun fundus, korpus, istmus ve endometriyumun epitel ve bezleri gelişir. Endometriyum stroması ve myometriyum düz kasları komşu splanknik mezenşimden köken alırlar. Serviks epiteli uterovajinal taslağın alt kısmından oluşur. Uterusun farklı elemanlarının gelişmesi gebeliğin 3. trimestrinde onaylanır. Temel yapı 1. trimesterin son döneminde meydana gelir. Bezlerin ve kas tabakasının başlangıç oluşumu gebeliğin ortalarına yakın gözlenir. Servikste mukus salgılayan hücreler 3.trimesterde dikkati çekerler (8).

## **2.2. Kadın Üreme Organları Histoloji**

### **Ovaryumlar**

Ovaryumlar içte medulla, dışta korteks bölümünden oluşur. Medulla zengin kan ve lenf damarları, sinirleri, az miktarda elastik lifleri ve düz kas hücrelerini içeren gevşek bağ dokusu yapısındadır. Korteks medullayı dıştan sarar, ince kollagen liflerden ve iç biçimi fibroblast benzeri hücrelerden zengin sıkı bağ dokusu yapısındadır, ovaryum foliküllerini içerir. Folikül etrafında düz kas hücreleri bulunur. Medulla ile korteks arasında belirgin bir sınır yoktur. Hilusta korteks kesintiye uğrar ve mezovaryum medulla ile devam eder. Küçük düzensiz kanal kalıntıları, rete ovariler, bu alanda bulunabilir (8).



Ovaryum yüzeyi, tek katlı kübik ya da yassı germinal epitelle örtülüdür. Eskiden, germinal epitelin, ilkel cinsiyet hücrelerinin kaynağı olduğu düşünülüyordu. Bu gün artık ilkel cinsiyet hücrelerinin gonad dışından, vitellus kesesinden köken alıp gonadlara göç ettikleri bilinmektedir. Sıkı bağ dokusu yapısında ince tunika albuginea, germinal epitel altında yer alır (8).

### **Uterus Tüpleri**

Uterus tüpleri, uterusun üst uçlarından ovaryum yüzeyine uzanan 12-15 cm uzunlukta bir çift muskuler borudur. Üç tabaka içerir. Mukoza tabakası, uzunluğuna seyreden plika'lardan oluşmuştur. Bu plikalar, ampullada yüksek olup, sekonder ve tersiyer dallanmalar yapar. Ampullanın uzunluğuna plikaları, infundibulum ağzından ovaryum yüzeyine doğru fimbriya ovarikalar şeklinde sarkmıştır. Ampulladan uterusu gidildikçe, uzunluğuna mukoza plikaları alçalır. Epitel tek katlı prizmatiktir. Silyalı ve silyasız iki tip hücre içerirler. Lamina propriya, fibroblast benzeri hücreleri, az sayıda lenfosit ve monositler ve retiküler lif ağını içerir. Muskularis mukoza yoktur ve mukoza tabakası doğrudan tunika muskularis üzerine oturur. Seröz tabaka, peritonun viseral yaprağından oluşmuştur, gevşek bağ dokusu yapısındadır ve serbest yüzeyi mezotelle örtülüdür (8).

### **Uterus**

Uterus duvarı dış tabaka, seroza ya da perimetriyum, orta tabaka ya da myometriyum ve iç tabaka, mukoza ya da endometriyumdan oluşur. Perimetriyum, mezotel ve ince gevşek bağ dokusundan meydana gelir ve uterusun yalnızca üst kısmını örter. Uterus yüzeyi peritonla sarılı değildir, bağ dokusu ya da adventisya ile örtülüdür. Myometriyum, yaklaşık 10-15 mm kalınlıkta olup, uterus duvarının en kalın tabakasıdır. Orta kas tabakası, çok sayıda büyük kan damarları ve lenfatikleri içerir. Endometriyumun başlıca işlevi, geç blastokist dönemindeki zigotun gömülmesi için ortam hazırlamak ve plasentanın anneye ait kısmını oluşturmaktır. Ovaryum siklusu ile eş zamanda ve ovaryumdan salgılanan hormonlara bağlı olarak endometriyum yapısal ve işlevsel değişimler gösterir. Endometriyum işlev ve yapı yönünden iki kısım içerir. Endometriyumun üst 2/3 kısmını oluşturan ve menstruasyon sırasında dökülen kısım fonksiyonel endometriyum ile gelecek siklusda fonksiyonel endometriyumun yenilenmesini sağlayan ve tüm

endometriyumun 1/3'ünü oluşturan bazal endometriyumdan oluşur. Endometriyum salgı yapan ve silyalı tek katlı prizmatik epitelle döşelidir. Epitel, stroma ya da lamina propriayaya girintiler yaparak çok sayıda uterus bezlerini yapar. Tubuler yapıda olan bu bezler, stromanın tüm kalınlığı boyunca uzanır. Stroma kapiller damarlar, retikülin lifler ve mezenşim hücrelerine benzeyen uzantılı hücrelerden zengindir. Ayrıca, az sayıda lenfosit, polimorfnüveli lökosit ve makrofajlar da bulunur (8).

### **Serviks Uteri**

Uterus serviksi yaklaşık 3 cm uzunluğunda, iç biçimi serviks kanalını sarar. İnternal ostiumla uterus ve eksternal ostiumla vaginaya açılır. Kanal *plicae palmatae* denilen dallanmış çıkıntılar ya da katlantılar içeren, son derece düzensiz bir mukozayla döşelidir. Endoserviks yüksek prizmatik bir epitelle döşelidir. Bezler, endometriyumdakilere göre daha azdır ve son derece dallanmışlardır. Epitelleri yüzey epiteline benzer. Endoserviks mukozası endometriumdaki gibi siklik değişikliklere uğramaz. Eksternal ostiuma yakın kanalı döşeyen tek katlı prizmatik epitel birden bire vajinaya doğru çıkıntı yapan portio vajinalis yüzeyinde çok katlı yassı epitele dönüşür. Bu çok katlı yassı epitelin yüzey tabaka hücrelerinin çoğu glikojenle doludur. Serviks duvarı, %15'i düz kas olan sıkı bağ dokusundan oluşmuştur. Düz kas, portio vajinalisde tamamen ortadan kalkar (8).

### **2.3. Mikst Müllerian Tümörler**

Uterusun düz kas tümörleri, endometrial stromal tümörleri ve endometrial karsinomları müllerian orijinlidir (2). Mikst müllerian tümör tanımlaması, çoğunluğu kadın genital organlarında, başlıca uterusda gelişen müllerian orijinli olan mezenkimal ve epitelyal elamanlar içeren bifazik tümörler için kullanılmaktadır. Malign mikst müllerian tümörler nadir olarak over, tuba ve serviksde de görülmektedir. Uterusta diğer lokalizasyonlara göre daha fazla görülmektedir. Bunun nedeni muhtemelen uterustaki epitel ve mezenkimin ortak bir embriyolojik orijine sahip olmasıdır. Bu tümörlerin klasifikasyonu epitelyal ve mezenkimal elemanların benign veya malign olmasına göre yapılmaktadır (1,9). Her iki komponent benign ise adenofibrom, mezenkimal komponent malign ise adenosarkom, sadece epitelyal

komponent malign ise karsinofibrom, her iki komponent malign ise malign mikst müllerian tümör (karsinosarkom) adını almaktadır.

### 2.3.1. Adenofibrom

Geçmiş yıllarda benign epitelyal ve mezenkimal komponentlerden oluşan bir tümör olarak tanımlanan adenofibrom, günümüzde ayrı bir antite olarak kabul edilmemekte olup, adenosarkomun diferansiye bir formu olduğu düşünülmektedir. Literatürde adenofibrom olarak tanımlanmış vak'alar daha çok 19-80 yaşları arasında (ortalama 68 yaşında) olup bazı vakalarda tamoksifen kullanımı öyküsü bildirilmiştir. Makroskobik olarak uterus kavitesini dolduran, lobüle ve papiller özellikte polipoid kitleler şeklinde tanımlanan olgularda mikroskobik olarak epitel, sıklıkla endometrioid tipte olup endoservikal, silyalı ve skuamöz tipte de olabilir. Mezenkimal eleman sıklıkla fibroblastik, endometriyal stroma ve düz kastan oluşur. Nadir olarak iskelet kası ve yağ dokusu da rapor edilmiştir. Bu tip lezyonlar lipoadenofibrom ve adenofibromyom olarak tanımlanmıştır. Stroma sellüler veya fibröz olabilir. Mitoz genellikle yoktur ve 10 büyük büyütme sahasında bir mitozu geçmez. Bu sayının üstündeki mitoz varlığında, adenosarkom düşünülmelidir. Stromal elemanlarda nükleer pleomorfizm görülmez. Küretaj ve lokal eksizyon ile tedavi edilen, mitoz olmadığı halde rekürrens gösteren olgular vardır (1). Bu nedenle adenofibrom olarak tanımlanabilecek bir lezyonun varlığı şüpheli olup adenosarkomdan ayırt edilebilirliği tartışmalıdır. On büyük büyütme sahasında birden fazla mitoz, belirgin stromal sellülarite, nükleer atipi, periglandüler stromal yoğunlaşma adenosarkom tanısı koymak için gereklidir. Adenofibromu, benign bir endometrial polipten ayırmak önemlidir, çünkü benign bir polibe ileri bir tedavi gerekli değildir. Yüzey papiller özellikte ve stroma sellüler ise neoplastik bir durum düşünülmelidir. Küretaj veya biyopsiler ile adenosarkom tanısı ekarte edilemeyeceğinden adenofibromda histerektomi en uygun tedavidir ( 1,10).

### 2.3.2. Adenosarkom

Benign neoplastik glandüler elemanlardan ve genellikle düşük dereceli olan sarkomatöz elemanlardan oluşur. Adenosarkomlar bütün yaş gruplarında, fakat daha çok postmenopozal kadınlarda (ortalama yaş 58) görülür. Başvuru semptomları anormal vajinal kanama ve pelvik ağrıdır. Bazı hastalarda tamoksifen kullanımı ve radyoterapi öyküsü vardır (1,11,12).

Bazı tümörler multiple polipler şeklinde görülür. Uterus kavitesinde yumuşak, lobüle, süngerimsi polipoid bir kitle oluşturur. Bazen servikal ostan dışarı çıkabilir. Kesit yüzeyi bazen kistik olabilir, yarıklar içerebilir. Sıklıkla hemoraji ve nekroz vardır.

Tümör sıklıkla memenin filloides tümörüne benzer şekilde yaprak benzeri bir patern gösterir. Glandlar genellikle küboidal ve alçak silindirik epitelle döşeli olup, aralarında geniş bir stroma vardır. Adenosarkomun en önemli özelliği stromal komponentin glandlar etrafında konsantrik bir şekilde yoğunlaşmasıdır. Bu alanlarda stroma daha sellülerdir, mitoz ve atipi vardır. Sıklıkla mitoz 10 büyük büyütme sahasında birden fazladır. Birçok adenosarkom, normalde uterus içinde bulunan mezenkimal elemanlardan oluşan endometriyal stromal sarkom veya andiferansiye sarkom gibi malign mezenkimal komponent içerir (homolog tip). Bu tümörlerin dörtte birinde rabdomyosarkom, kondrosarkom, liposarkom gibi heterolog elemanlar bulunabilir. Karsinosarkom ile karşılaştırıldığında aşırı sarkomatöz büyüme gösterenler hariç, düşük malignite potansiyeline sahiptir (1). Tedavide abdominal histerektomi ve bilateral salpingooforektomi uygulanır.

### 2.3.3. Aşırı Sarkomatöz Büyüme Gösteren Adenosarkom

Adenosarkomlarda, tümörün %25'inden fazlası sarkom alanlarından oluşuyorsa bu tümörlere "aşırı sarkomatöz büyüme gösteren adenosarkomlar" tanımlaması kullanılmaktadır (1,10,11). Sarkomatöz komponent bu tümörlerde adenosarkomlara göre daha az diferansiye olup, daha fazla mitoz içerir (1). Bunu destekleyen Clement ve ark.(10) aşırı sarkomatöz çoğalması olan 10 müllerian adenosarkom vak'asının 7'sinde tümörde saf sarkom alanlarının adenosarkoma eşlik

eden sarkom alanlarından daha yüksek grade'li ve daha çok mitotik aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Seidman ve ark.(11) yaptıkları bir çalışmada 4 yıllık sürede Washington Hospital Center'da histerektomi yapılan 10 adenosarkom vak'asının 6 (%60) tanesinde sarkomatöz aşırı çoğalma gösteren uterin adenosarkom olduğunu yayınlamıştır.

### **2.3.4. Malign Mikst Müllerian Tümörler**

#### **Tanımlama**

Histolojik olarak her ikisi de malign özellikte olan epitelyal ve mezenkimal elemanlardan oluşan mikst bir tümördür. Mikst müllerian tümörler içinde en sık görülenlerdir (1,13-15). Bu tümörler için günümüze dek farklı tanımlamalar kullanılmış olup sadece homolog mezenkimal eleman içerenler "karsinosarkom", heterolog eleman içerenler "mikst mezodermal tümör" ya da "malign mikst müllerian tümör" olarak sınıflandırılmıştır (1).

Homolog ve heterolog tümörlerin benzer davranış gösterdiği ortaya konduğundan bütün varyantlar için günümüzde karsinosarkom veya malign mikst müllerian tümör (MMMT) tanımlaması kullanılmaktadır (1).

#### **Klinik Özellikler**

Bütün uterin korpus malignansileri içinde MMMT'ler %2-5 oranında görülmektedir. Daha çok postmenopozal kadınlarda görülür. Ortalama görülme yaşı 66'dır. Çocuklarda ve gençlerde de nadiren görülebilir. Hastaların başvuru şikayetleri genellikle vajinal kanama, abdominal ağrı, abdominal kitledir. Gastrointestinal ve üriner semptomlar varsa ekstrauterin yayılım akla gelmelidir (1, 9, 13-15).

Malign mikst müllerian tümörler endometriyal karsinomlarla aynı risk faktörlerine sahiptir, fakat bu faktörlerin etkisi karsinomlara göre daha azdır. Bir kaynakta anormal uterin kanama yapan benign lezyonlar ve serviks kanseri için uygulanan pelvik radyasyonun vak'aların %7-37'sinde etkili olduğu bildirilmiştir (1). Radyasyon tedavisi ve MMMT gelişimi arasındaki süre 10 ve 20 yıl arasında değişmektedir (1).

Meme kanseri nedeniyle uzun süre tamoksifen kullanan hastalarda da MMMT'ler bildirilmiştir (1,15). Tamoksifenin doğrudan karsinojenik etkisinin olduğuna yönelik kesin kanıtlar olmayıp, bu ilacı kullananlarda da bu tümörlere rastlanması kullanımının yaygınlığı ve tedavi olan hastaların daha uzun yaşamaları nedeniyle olabilir (1).

### **Makroskobik Özellikleri**

Malign mikst müllerian tümörler atrofik bir uterusu ortaya çıkabileceği gibi uterusu tanınmayacak hale getiren büyük kitleler şeklinde de görülebilir (15). Büyük kitle şeklindeki va'alarda tümörler uterusu büyütmüş ve duvarına invaze olarak duvarını kalınlaştırmıştır. Tipik olarak MMMT'ler geniş tabanlı polip şeklinde uterus kavitesini doldururlar (13-15). Kesit yüzeyinde geniş nekroz ve kanama alanları bulunabilir. Kemik ve kartilaj varlığına bağlı olarak yumuşak ve sert alanlar görülebilir. Adenosarkomlarda görülen pürüzlü yüzeyin tersine yüzeyi düzdür. Makroskobik olarak birçok olguda myometriyal invazyon vardır. Nadiren benign bir endometrial polibin içinde gelişebilir ve polip içinde kalabilir (1). Overde gelişen tümörlerin %10'u bilateraldir (15).

### **Mikroskobik Özellikler**

Malign mikst müllerian tümörlerde mezenkimal ve epitelyal komponentin her ikisi de maligndir. Epitelyal ve mezenkimal komponent arasında keskin bir sınır olduğu için tanımlaması zor değildir (1). Epitelyal alanlar genellikle az diferansiye seröz ya da endometrioid adenokarsinom özelliği gösterirken, müsinöz-, skuamöz- ve berrak hücreli epitelyal yapılar daha az görülür. Stromal eleman homolog ya da heterolog olabilir. Homolog MMMT' lerde mezenkimal eleman normalde uterusu bulunan hücrelerden oluşur. Endometrial stromal sarkom, fibrosarkom, leiomyosarkom ve andiferansiye sarkom en sık görülen komponentlerdir. Bazı tümörler bu tiplerin karışımından oluşur. Heterolog elemanlar rabdomyosarkom, kondrosarkom, osteosarkom ve liposarkomdur. Epitelyal ve mezenkimal alanların oranı değişkenlik göstermektedir. Bazen sarkomatöz alan daha baskındır, karsinom komponentini belirlemek için ek örneklemeler yapmak gerekir. Bazı vak'alarda da karsinom alanı ön plandadır (1,15).

Nadir olarak MMMT'ler nöral ve nöroendokrin diferansiasyon gösterebilir. Glial tümörlere ve küçük hücreli karsinoma benzer alanlar olabilir (15). Malign mikst müllerian tümörler bölgesel lenf nodlarına, omentuma, peritona, parametriuma, barsak serozasına ve diğer jinekolojik organlara metastaz yapabilir (1).

### **Histogenez**

Malign mikst müllerian tümörlerin karsinomatöz ve sarkomatöz bileşenlerin özelliklerine göre yapılan sınıflandırma ve bunun prognostik önemi yıllar içinde değişmiştir. 1960'lı yıllarda sarkomatöz komponentin önemli olduğu ve prognostik olarak homolog tümörlerin heterolog tümörlerden ayrılması gerektiği vurgulanmaktaydı (14). Bu dönemde, karsinosarkom terimi homolog olanlar için kullanılırken, mikst mezodermal tümör terimi heterolog tümörler için kullanılmıştı. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda homolog ve heterolog tümörlerin prognostik olarak farklı olduğunu destekleyici bulgular ortaya konamadı. Iwasa ve ark.'nın (16) çalışmasında karsinosarkomun davranışının, stromal komponentteki grade, mitotik indeks ya da heterolog elemanın tipi ile ilgili olmadığı, epitelyal komponentin özelliği ile yakından ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. Takip eden iki dekatta MMMT tanımlaması hem homolog hem de heterolog tümörler için kullanılmaya başlanmıştır (14).

Geçmiş yıllarda MMMT'lerin primer uterus sarkomlarının en sık görülen tipi olduğu düşünülürken (14), son yıllarda yapılan çalışmalar bu tümörlerin sarkomdan çok endometrial karsinomla ilgili olduğunu gösteren kanıtlar ortaya koymuştur (1,14, 16, 17).

Malign mikst müllerian tümörlerin yayılımının genelde yüksek dereceli endometriyal kanserlere benzemesi, lenfatik ve vasküler invazyon saptandığında bunların karsinom şeklinde olması, metastatik alanlarda daha baskın olarak karsinomatöz bileşenin görülmesi; davranışlarının stromal bileşendeki grade, mitotik indeks ya da heterolog elemanın tipi ile ilgili olmaması MMMT'lerde etkili komponentin karsinomatöz komponent olduğunu gösteren dolaylı kanıtlardır (14,16-18).

Bifazik paternden dolayı MMMT'ler birçok araştırmaya konu olmuştur. Abeln ve ark.(2)'ı Meyer'in 1930 yılında epitelyal ve stromal hücrelerin varlığını açıklayan 3 hipotez ortaya attığını belirtmiş olup bunlar:

1-Kollizyon hipotezi: İki birbirinden bağımsız neoplastik süreç içerir, bu yüzden kollizyon tipindeki tümörün iki ayrı klonal gelişebileceğini öne sürmüştür.

2-Kombinasyon hipotezi: Her bir tümöral komponentin iki yöne farklılaşabilen aynı kök hücreden geliştiğini öne sürer (19).

3-Konversiyon hipotezi: Bu hipoteze göre sarkomatöz komponent, tümör gelişimi sırasında karsinomdan gelişmektedir, yani tümör monoklonal orijinlidir. Son yıllarda yapılan immünohistokimyasal analizler ve ultrastruktürel çalışmalar bu hipotezi desteklemektedir (1-4, 16, 18, 19-24 ).

Kollizyon tipi tümörlerin nadiren de olsa geliştiğine dair kuşku yoktur. Bir çok çalışmada, çalışmaya alınan olguların bir kısmının kollizyon tip tümörler olduğu bildirilmiştir (14,25,26). Bu iki komponentin iç içe olmaması bu tümörlerin MMMT'lerden ayrılması gerektiğini düşündürmüştür (15).

Epitelyal ve mezenkimal komponentin her ikisinin de ortak kök hücreden geldiğini savunan kombinasyon teorisi en popüler teoridir. Monoklonal orijini destekleyen güçlü moleküler ve genetik analizler vardır. Makota ve ark. (21)'nin yaptığı bir hücre kültürü çalışmasında MMMT'lerden alınan sarkomatöz ve karsinomatöz subklonların her ikisinde de benzer karyotipik anormallikler ve c-myc amplifikasyonu tespit edilmiştir. Diğer bir kaynakta MMMT'lerde somatik moleküler genetik değişiklikler kıyaslanarak epitelyal ve mezenkimal tümör komponentlerinin klonal ilişkisi araştırılmış, her iki tümör komponentinde de benzer genetik değişiklikler saptanmış ve bulguların MMMT'lerin monoklonal orijinli olduğunu desteklediği belirtilmiştir (2).

Watanabe ve ark.(22) bir uterus karsinosarkom vak'asında yaptıkları immünohistokimyasal ve genetik çalışmada sarkomatöz komponentte epitelyal membran antijen ve keratini negatif saptarken, her iki komponentte vimentini pozitif bulunmuşlardır. Aynı zamanda, her iki komponentte K-ras ve p53 mutasyonu ile kromozom inaktivasyonu saptanmıştır. Bu bulgular monoklonaliteyi desteklerken, bunların yanısıra sarkomatöz komponentte D5S346 heterozigosite yokluğu tespit edilmiş ve bu açıdan tümörün fenotipik olarak iki farklı hücre popülasyonu



içermesinin klonal evrimin geç evresindeki değişiklikler sonucu geliştiği ve kombinasyon teorisini desteklediği belirtilmiştir.

Swisher ve ark. (19) 20 MMMT ve 6 adenosarkom vak'asında immünohistokimyasal yöntemle p53, HER-2, epitelyal büyüme faktör reseptörü (EGFR) ve Ki-67 ekspresyonunu değerlendirmiş olup 2 adenosarkom, 9 MMMT vakasında EGFR'de aşırı ekspresyon saptamıştır. Malign mikst müllerian tümörlerin 6'sında P53 kuvvetli pozitif olup, adenosarkom vak'alarında p53 pozitifliği bulunmamıştır. HER-2 bütün vak'alarda negatif olarak saptanmıştır. Ki-67 indeksi ise MMMT'lerde adenosarkomlara göre daha yüksek saptanmıştır. Malign mikst müllerian tümörlerde P53 ekspresyonu iki vak'ada her iki komponentte, bir vak'ada sadece karsinom alanlarında, üç vak'ada ise sarkom alanlarında tespit edilmiştir. Bu farklı dağılımın metaplastik teoriden çok kombinasyon teorisini destekleyen bir bulgu olduğu ileri sürülmüştür.

Seki ve ark (23), DNA ile yaptıkları PCR çalışmasında 12 uterus sarkomunun 4'ünde mdm-2 gen amplifikasyonu tespit etmiştir. Bu çalışmada sekiz karsinosarkom vak'asının 4'ünde p53 *overekspresyonu* saptanmıştır. Bir karsinosarkom vak'asında hem mdm-2 gen amplifikasyonu hem p53'ün aşırı ekspresyonu bulunmuştur, bunun sonucu olarak hücre büyümesi süpresyonunda rolü olan P53 değişikliklerinin olmadığı tümörlerde mdm-2 gen amplifikasyonunun önemli olabileceği öne sürülmüştür.

Liu ve ark. (24) uterus ve over sarkomlarında p53 ekspresyonunu araştırdıkları çalışmalarında 46 sarkom vak'asının 27'sinde (%59), 41 mikst mezodermal tümörün 26'sında (%63), dört leiomyosarkomun birinde (%25) p53 aşırı ekspresyonu saptanmış, endometrial stromal sarkom vakasında p53 ekspresyonu görülmemiştir. Böylece kadın genital yolları epitelyal kanserlerinde ve sarkomlarında farklı p53 mutasyon spektrumları olabildiği gösterilmiştir.

Kombinasyon ve konversiyon teorileri aslında birbirlerini dışlayan teoriler değildir. Konversiyon teorisine göre bir neoplastik hücre farklı bir neoplastik hücreye transmutasyon göstermektedir. Emoto ve ark. (21) adenosarkom kültür hücrelerinin her iki klonunu ve heterolog MMMT'ün sarkom hücrelerini kullanarak yaptıkları hücre kültür çalışmasında, karsinom hücrelerinin sarkom hücrelerine konversiyon gösterdiğini belirlemiştir. Bu çalışmada sarkom hücrelerinin myoblastik

diferansiyasyon gösterirken, epitelyal ve sarkomatöz hücreler arasında geçiş formdaki hücrelerin bifazik morfolojik ve immünolojik özellikler gösterdiği, yani epitelyal ve myojenik özelliklerin her ikisine birden sahip oldukları gösterilmiştir. Polipoid büyümenin olduğu alanlarda sarkomatöz diferansiyasyonun geliştiği vurgulanmıştır. Otuzbeş lenf nodu metastazının biri hariç hepsinin sadece karsinom alanından oluştuğu, çünkü polipoid büyüme için ortamları olmadığı ve bu nedenle sarkom alanı içermediği belirtilmiştir. Bu bulgularla malign mikst tümörlerin başka organlardaki gibi metaplastik karsinom olarak kabul edilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

McCluggage yaptığı birçok yayında (1, 3, 4) sarkomatöz komponentin tümör davranışında etkili olan karsinomatöz komponentten köken aldığını gösteren yeterince kanıt olduğu için bu tümörlerin monoklonal orijinli olduğunu ve mesane, meme gibi diğer organlarda görülen benzer tümörlerde olduğu gibi gerçek metaplastik tümörler olarak kabul edilmesi gerektiği belirtilmiştir.

### **Kanser Patolojisinde Epitelyal Mezenkimal Dönüşüm**

Epitelyal hücrelerden mezenkime dönüşüm metazoa embriyogenezinde önemli olup organların yapısal özelliğinin gelişiminde belirleyicidir. Son yıllarda epitelyal mezenkimal dönüşüme olan ilgi gelişimsel öneminden ve erişkin yaş patolojilerle olan ilişkisinden kaynaklanmaktadır. Uluslararası epitelyal mezenkimal dönüşüm derneği 2002'de oluşturulmuştur. Bu konuda ilk toplantı 2003 yılında yapılmıştır. Epitelyal mezenkimal dönüşüm konusundaki ilgi ve araştırmalar oldukça fazla olup Kanada'da 2005 yılında yapılan epitelyal mezenkimal dönüşüm toplantısına büyük katılım bunun göstergesidir. Epitelyal mezenkimal dönüşümün yanı sıra mezenkimal epitelyal dönüşüm, kanser, fibrozis ve bunların patoloji ile ilgili olan çalışmaları bir arada ele alınmıştır (7). Epitelyal mezenkimal dönüşümün neoplazi gelişimi üzerindeki rolü önemli görünmektedir.

Son zamanlarda epitelyal mezenkimal dönüşüm ile ilgili çok fazla yayın vardır. Cunha ve ark.(27) embriyolojik gelişim esnasında epitelyal mezenkimal dönüşümün geliştiğini vurgulamıştır. Aynı makalede kanser gelişiminde, epitelyal mezenkimal etkileşimin ve koordinasyon yokluğunun rolü olabileceği belirtilmiştir.

Epitelyal mezenkimal dönüşüm, bir çeşit epitelyal değişimdir. Burada, epitelyal hücreler uzun sürede gelişen morfolojik ve moleküler değişiklikler sonucu mezenkimal hücre tipine farklılaşan bir dönüşüm göstermektedir. Kanselerde gelişen fenotipik değişiklikleri mikroskopik ve yapısal düzeyde belirlemek için patolojik incelemenin katkısı kaçınılmazdır. Epitelyal ve mezenkimal belirleyicilerin kullanımını bize olası hücrenin farklı yöne diferansiyasyonunu (transdiferansiyasyon) belirlememizi sağlayabilir. Epitelyal ve mezenkimal komponentin monoklonal olduğu düşünülen karsinosarkomlar epitelyal mezenkimal dönüşüm gelişimini en çok telkin eden ve üzerinde en çok çalışılan tümörlerdir. Bir hücreden başka bir hücreye geriye dönüşümsüz farklılaşma anlamına gelen transdiferansiyasyon yerine patolojlar pratikte “sarkomatoid dediferansiyasyon” veya anaplazi terimini kullanmaktadır. Ancak, transdiferansiyasyon yerine genel olarak kullanılan metaplazi terimi olmuştur ( 5).

Normal epitel dizilimi, bazal membran üzerinde birbirine çok yakın yerleşmiş hücrelerin elektriki özelliğine bağlı olarak gelişen yapılar şeklindedir. Bunun tersine mezenkimal doku ise ekstrasellüler matriks (ECM) içinde *polarize olmayan*, hareket kabiliyeti yüksek birbirine gevşek şekilde tutunmuş hücrelerden oluşur. Epitel hücreleri vücudun kavitelerini ve yüzeyini döşeyerek koruyucu bir bariyer oluşturur, sekresyon ve absorpsiyonda görev alır. Mezenkimal hücreler ve etrafındaki ECM interstisyel mesafeyi doldurur ve fibroblast büyüme faktörü (FGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF) gibi büyüme faktörlerinin kaynağıdır. Epitel dokusunda E-kaderin aracılığı ile hücreler arası bir iletişim olup, bu iletişim çok hücreli yapı ve devamlılığı olan hücre tabakaları oluşumunda rol oynayan adezyon sistemi ile gelişirken mezenkimal hücrelerde hücre ile matriks etkileşimine aracılık eden integrin aracılığı ile işleyen tek tek mezenkimal hücrelerin hareketine izin veren bir adezyon sistemi mevcuttur. Beta-katenin,  $\alpha$ -katenin aracılığı ile hücre iskeletindeki aktin mikrofilamanlarına bağlanarak, hücreler arası adezyonu, hücre içi mekanizmaya dahil olarak sağlar. Bu etkileşimler hücre şeklini belirler ve E-kaderin yan yana yer alan hücreler arasında bir bağlantı oluşturur, polaritenin oluşturulmasında temel bir glikoproteindir, epitelin de yapısal bütünlüğünü sağlar. Bunların yanı sıra hücresel sinyal taşıma ağının bir komponentidir. Ekstrasellüler bir kısmı olup, yanındaki hücrenin E-kaderin molekülü ile etkileşim halindedir.

İntrasellüler *domaini*  $\alpha$ ,  $\beta$ , P120 kateninden oluşan bir kompleks ile ilişkilidir. Beta-katenin E-kaderinin sitoplazmik *domainine* sıkı sıkıya bağlıdır. E-kaderinin temel bir bileşen olduğu kompleks ile hücre iskeleti komponentleri arasındaki fiziksel ilişkiye bağlı olarak, E-kaderin aracılığı ile oluşan hücreler arasındaki bir değişiklik hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesini ya da bunun tersine hücre iskeletindeki bir değişiklik E-kaderinin adeziv özelliklerinde değişikliğe sebep olur. E-kaderinin kateninle ve aktin hücre iskeleti ile bağlanması hücreler arası kuvvetli bir adezyonun oluşumunda önemli bir role sahiptir. E-kaderin aracılığı ile oluşan kaderin, katenin ve hücre iskeleti arasındaki kompleks yapı epitelyal hücreleri sabit hareketsiz bir durumda tutar. Böylece hücreler arası adezyonun bozulması tümör invazyonunda çok önemlidir. E-kaderin aslında bir tümör supresör gibi davranarak tümör invazyonunu ve metastazı önler (6). Bir çok karsinom gelişiminde, prostat (28), mesane (28), mide (29), kolon(30,31), özefagus (32), akciğer, meme ve pankreas (33,34) gibi bir çok organda gelişiminde E-kaderinin fonksiyonu çeşitli mekanizmalarla kaybolur. Normal ve patolojik epitelyal mezenkimal dönüşümde E-kaderinin *down regüle* olması epitelyal yapının korunamamasına yol açar. Çoğu model sistemde büyüme faktörleri, oluşumunu sağlayarak hücrenin komşu hücreden ayrışmasına neden olur. E-kaderin epitelyal mezenkimal fenotip değişiminin en önemli bileşenidir. Adezyonun baskılanması epitelyal mezenkimal dönüşümün başlaması için yeterli olabilir. Diğer taraftan reaktivasyonu mezenkimal epitelyal dönüşüm ile sonuçlanır. Epitelyal mezenkimal dönüşüm ile ilişkili olan yolakların E-kaderin ekspresyonunda rolü mevcuttur.

Epitelyal mezenkimal dönüşüm çok dinamik ve çok basamaklı bir olaydır. Olaylar koordineli bir şekilde gelişir. Önce kohezyon kaybı oluşur, bazal membran ve ekstrasellüler matriks hasara uğrar. Daha sonra motiliteyi artıran hücre iskeletinin aktivasyonu ve yeniden düzenlenmesi gerçekleşir. Son olarak stromal kompartmana göç gelişir. Epitelyal mezenkimal dönüşüm gelişmesinde birçok faktör rol almaktadır. Bunlar:

- Büyüme faktörleri ve bunların reseptörleri (tirozin veya serin treonin kinaz reseptörleri)
- Hücre dışı matriks ile ilişkili moleküller (integrinler, kollajenler, matriks parçalayan protezlar)

-Signal taşıyıcı yollar ( Ras, src,  $\beta$ - katenin)

Ras, Src veya  $\beta$ -katenin yollarındaki aktivasyon ve Rho small GTPaz aktivite dengesindeki kayma, aktin bağlanmasını sağlayan protein fascin oluşumuna yol açabilir, bu da daha fazla hücre-hücre bağlantılarının ayrışmasına neden olur. Sonuç olarak tümör hücreleri komşu hücrelerden ayrılarak hareket kazanır, epitelyal kompartmanı terk eder ve migrasyon yaparak çevre stromaya invazyon gösterir. Vimentin epitelyal mezenkimal dönüşüm sırasında *upregüle* olur, onun ekspresyonu migratuar fenotiple ilişkili görünmektedir (6).

### **Kaderinler**

Kaderinler, embriyolojik dokuların oluşumu ve stabiliteleri için gerekli, hücreler arası yapışma olaylarının başlaması ve devamı için kritik öneme sahip olan hücre adezyon molekülleridir. Bu ailenin bireyleri, sıçan embriyosunun blastomerlerinde tek hücre aşamasında saptanmıştır ve hücrelerin implantasyonu ve sonraki morfojeneze yol açan olaylarda vazgeçilmez yapılardır. Kaderinlere karşı oluşmuş antikolar, embriyolojik dokulara eklendiğinde, hücre-hücre yapışmasının kopması sonucu doku yapısında şiddetli bozulmalara neden olur. Kaderinler, moleküler ağırlıkları 120,000-140,000 kDa arasında değişen, yapı ve fonksiyonları açısından  $Ca^{+2}$  bağımlı transmembran proteinlerdir. Kaderinler, plazma membranındaki dağılımlarına dayanarak, klasik ve desmozomal olarak sınıflandırılabilirler. Kaderin aracılı adezyon, ısıya bağımlıdır ve  $Ca^{+2}$  gerektirir. Kaderinler yapısal olarak birbirleri ile benzerlik gösterirler. Birçok tekrarlayan ilmikten (domain) oluşan ve  $Ca^{+2}$ 'a bağlanmada önem taşıyan geniş bir hücre dışı N-ucu ile, kaderinler arasında çok iyi korunan sitoplazmik bölümlerle bağlantılı tek bir transmembran kısımdan oluşur. Sitoplazmik kısım üç sitoplazmik protein ile ilişkilidir; bunlar alfa, beta, gama katenindir. Kaderinler üzerinde buldukları dokulara göre isimlendirilirler ve bugün bilinen beş kaderin grubu vardır (35).

***E-kaderinler:*** Epitel hücrelerinde eksprese olurlar.

***P-kaderinler:*** Plasentada eksprese olurlar, ancak belirli dönemlerde diğer dokularda da buldukları bildirilmiştir.

**V-kaderinler:** Endotel hücreleri üzerinde eksprese olurlar.

**N-kaderinler:** Nöral dokularda ve kas hücrelerinde eksprese olurlar.

**H-kaderinler:** Kalp kasında eksprese olurlar . Desmoglein, desmocollin gibi kaderin ailesi ile daha uzak ilişkili moleküller de vardır (35).

Kaderinlerin adeziv fonksiyonunda Kaderin/katenin haberleşmesinin önemli olduğu düşünülmektedir. Fibroblastlarda sitoplazmik kısmı bulunmayan E-kaderin ekspresyonunun fonksiyonel bir hücre-hücre adezyonu sağlayamadığı bildirilmiştir. Bunun muhtemel sebebi kateninlerle irtibat kurulamaması olabilir. Kaderinler, yanyana hücreler arasındaki moleküler bağlantıyı sağlarlar. Yapışma kavşaklarında fermuara benzer yapılar oluştururlar. Bu grupta bulunan desmosomlar hücre iskeletinin ara flamanları için kutuplaşma noktaları oluştururlar. Kaderinler, birbiri ile genelde homofilik karakterde ilişkiye girerler. Karşılıklı hücrelerde bulunan aynı kaderinler birbirine bağlanarak hücre-hücre adezyonunu sağlarlar. Kaderinlerin bu özelliği yukarıda bahsedilen histogenetik dağılımı sağlar. Kaderinler embriyoda morfogenezden, erişkin organizmada seçici hücre tanınmasından ve yaşam boyu normal doku mimarisinden sorumlu hücre yüzey glikoproteinleridir. Embriyoda özgün adezyon moleküllerinin ekspresyonu hücre göçü ve doku diferansiyasyonu için gereklidir.

### **E-Kaderin Ekspresyonunun Regülasyonu**

Karsinom progresyonu sırasında oluşan E-kaderin kaybı muhtemelen geriye dönüşümlü veya dönüşümsüz mekanizmalarla oluşmaktadır.

E-kaderin gen mutasyonları karsinomlarda nadirdir. Memenin lobüler karsinomu ve diffüz gastrik mide karsinomlarında E-kaderin geninde inaktive edici mutasyonlar olabilmektedir. Bu karsinomlar dışındaki tümörlerde sıklıkla E-kaderin promoter gen bölgesindeki hipermetilasyon sonucu E-kaderin ekspresyonu kaybolur. Hipermetilasyon kromatin yapısında değişikliğe yol açar ve DNA'yı yoğunlaştırır, böylece E-kaderin geni transkripsiyon faktörleri RNA polimeraz ile iletişime geçemez ve transkripsiyonu inhibe olur. Tümör progresyonu sırasında E-kaderin promotorunda mikroçevre tarafından düzenlenen metilasyon gelişir. Bu modele göre invazyonun erken döneminde E-kaderin geçici olarak *down regüle* olurken

metastatik odakta metilasyon azalır ve E-kaderin tekrar eksprese olur. E-kaderinin re-ekspresyonu ve hücre adezyonunun tekrar oluşumu, bu yabancı doku çevresinde neoplastik hücrelerin büyümesi ve sekonder kolonizasyonunda önemlidir. Epitelyal mezenkimal dönüşümde oluşan hücre iskeletindeki reorganizasyon ve değişiklikler, yüksek bir proliferatif durumla uyumlu değildir, bu nedenle mezenkim benzeri karakter invazyon gelişmesine neden olur. Çeşitli kanserlerde E-kaderin kaybı, N-kaderinin ekspresyonunun kazanılması ile birliktelik gösterir. N-kaderin tipik olarak mezenkimal hücrelerde eksprese olan, hücre motilitesi ve migrasyonunu artıran bir kaderin olup E-kaderin fonksiyonu üzerine etkisi vardır (6).

Bu konuya dikkat çeken yayınlardan biri Birchmeier ve ark. (36)'nın yaptığı çalışmadır. Bu makalede karsinom hücrelerinde E-kaderin ekspresyonunun kaybı veya *down regulasyonunun* malign tümör oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir. Genel olarak bu değişiklik transkripsiyonel seviyede gelişmektedir. Fakat bazı tümörlerde mezenkimal karakter görüldüğü halde E-kaderin ekspresyonu bulunabilir. Bu gibi durumlarda E-kaderinin sitoplazmik kolu olan katenin genlerinde mutasyon olabilir. Ayrıca  $\beta$ -kateninlerdeki tirozin fosforilasyonunun veya onkojenik tirozin kinaz oluşumunun epitelyal morfolojiyi bozarak mezenkimal bir oluşuma sebep olabileceği vurgulanmıştır.

### **E-Kaderin ve Transkripsiyon Faktörleri**

E-kaderinin ekspresyonunu negatif olarak etkileyen bir grup transkripsiyon faktörü vardır. Bunlar, snail, snail ailesinden Slug, basic helix-loop-helix faktörlerden E47 ve Twist, cinko faktörlerinden ZEB1 ve SIP1'dir. AP-1, jun-fos heterodimerinden veya jun-jun homodimerinden oluşan aktivatör proteindir ve eksternal sinyallere karşı gen paterni cevabında santral bir rolü vardır. AP-1'in induksiyonu büyüme faktörü ilişkili mitojen aktive eden fosforilaz kinaz (MAPK) aktivasyonuna ve Elk-1'in fosforilasyonuna bağlıdır (6).

### **E- Kaderinin Posttranskripsiyonel Modifikasyonu**

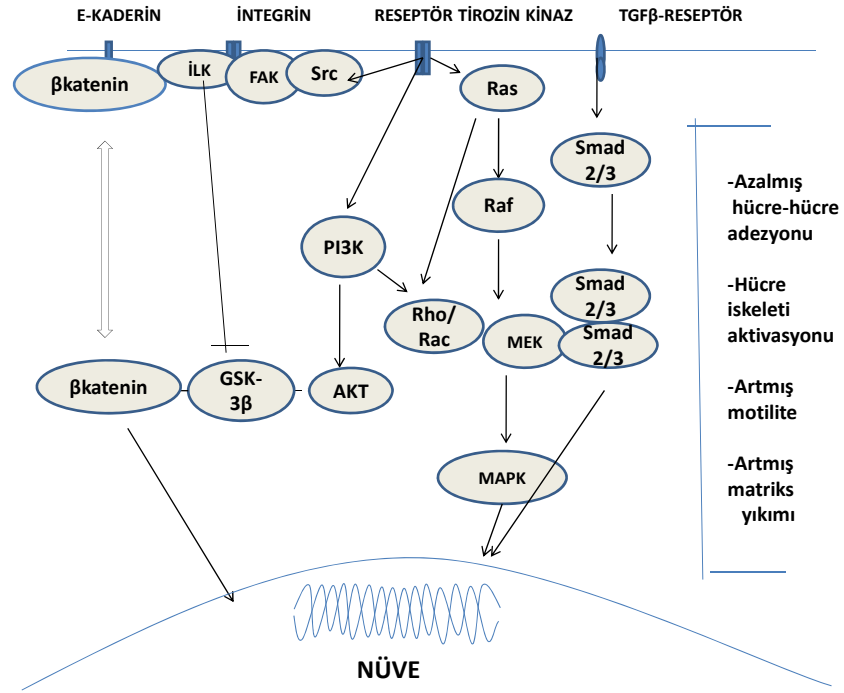
Karsinomlarda E-kaderin düzeyleri sabit olmayıp bunlar geçici değişimlere uğrayabilir. Uygun mikroçevre içinde değişebilir, örneğin kanser hücrelerinin damar içine girmesi ile E-kaderin *up-regulasyona* uğrar, damar dışında ise *down regüle*

olur. Epitelyal fenotipin stabilitesinin hücre içindeki protein fosforilasyon düzeyi ile ilişkili olduğu görünmektedir. Gerçekten de epitelyal mezenkimal dönüşüm, kaderin/katenin kompleksinin fosforilasyonu ile oluşmaktadır. Normal epitelde ise fosfatazlar aracılığı ile defosforilasyonla olur (6). Kalıcı bir hücreler arası adezyon, E-kaderinin sitoplazmik domaininin  $\beta$ -katenin ile ilişkisi ve aktin hücre iskeletini bağlayan fascinin regülasyonu ile sağlanmaktadır (37).

Beta-kateninin partnerlerine bağlanması ile  $\beta$ -katenindeki en az üç kritik tirozin rezidüsünün fosforilasyonu ve defosforilasyonu oluşmaktadır. Beta-kateninin fosforilasyonu E-kaderine bağlanmayı engeller. Hücre-hücre kompleksi bozulur, hücre ayrışması gelişir. Beta-katenindeki tirozin fosforilasyonunun artışı reseptör kinazların veya Src'nin büyüme faktörleri tarafından stimülasyonuna bağlıdır. E-kaderinin ekstrasellüler *domaininin* proteolitik endositozu, membrandaki E-kaderinin *down regülasyonuna* neden olarak, hücre ayrışmasına ve epitelyal mezenkimal dönüşüme neden olur. Genetik, epigenetik, transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel mekanizmaların tümü E-kaderin bağımlı hücre adezyonunun zayıflamasını sağlayarak epitelyal mezenkimal dönüşüme ve invazyon oluşumuna neden olmaktadır (6).

Epitelyal mezenkimal dönüşümde rol oynayan yollar şekil 2.1.'de görülmektedir.





Şekil 2.1. Epitelyal mezenkimal dönüşümde rol oynayan major yollar  
 [(Marcello ve ark.'ın makalesinden alınmıştır (28)]

### Tirozin Kinaz Reseptörleri

Epitelyal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve insülin-like büyüme faktörleri (IGF) hücre membran reseptörleri tirozin kinazları stimüle ederek fosforilasyonu başlatır. Reseptör kinazların aktivasyonu sitoplazmik transdüksiyon olayları olan Ras/MAPK, P13K/Akt, Rho/Rac ve Src yollarının aktivasyonunu başlatır. Çoğu durumda epitelyal mezenkimal dönüşümde tirozin kinaz reseptörleri yolları kullanılırken, IGF'ün stimülasyonu ile  $\beta$ -katenin sinyalizasyonu ve  $\beta$ -katenin translokasyonu gelişir (6).

Lee ve ark. (38) servikal kanserde EGF'nün etkisini araştırmıştır. Epitelyal mezenkimal dönüşümün mekanizmasını anlamak için iki servikal kanser hücre serisi ve normal servikal epitel serisi kullanmışlardır. Bu çalışmada şu sonuçlar elde edilmiştir: 1-Kronik EGF'ne maruz kalan hücreler uzamış ve invazyon göstermiştir. 2- Epidermal büyüme faktörü, epitelyal markerlar olan E-kaderin ve  $\beta$ -katenin

azalmasına sebep olmaktadır. 3- Epidermal büyüme faktörü, mezenkimal markerlar olan vimentin, düz kas aktini ve fibronektini arttırmaktadır.

### **Ras Yolağı**

Ras aşırı ekspresyonu ve mutasyonel aktivasyonu birçok tümör grubunda gerçekleşir ve kanserlerde en sık görülen onkogen aktivasyonuna örnektir. İnaktif Ras GDP, aktif GTP' ye çevrilerek serin-treonin kinaz Raf aktivasyonu yapar. Daha sonra MAPK aktivasyonu gelişerek transkripsiyon faktörlerinden jun, Fos ve Slug 'un fosforilasyonunu sağlarlar. Sonuç olarak Ras/MAP yolağı epitelyal mezenkimal dönüşüm ile sonuçlanmaktadır (6).

Bu konuyla ilgili olarak Thiery ve ark. (39) in vitro ortamda fare NBT-II mesane karsinom hücrelerine, tirozin kinaz yüzey reseptörlerini aktive eden FGF1, EGF, TGF- $\alpha$ , ve SF/HGF büyüme faktörlerini eklemişler ve bu hücrelerde c-Src ve ras yolaklarının oluştuğunu belirlemişlerdir. Bu iki yolak hücrelerde morfolojik değişiklikler yaratarak fibroblast benzeri hücrelerin çoğalmasına neden olmuştur. Sonuç olarak, büyüme faktörleri ve reseptörlerinin pozitif veya negatif regülasyonu ile epitelyal dönüşümü etkileyebildiği gösterilmiştir.

### **P13k/akt Yolağı**

P13K/Akt yolağı proapoptotik proteinleri fosforlayarak apoptozu inhibe eder ve hücrenin yaşamasını sağlar. P13K/Akt hiperaktivasyonu varlığı Ras aktivasyonu ile ya da tirozin kinaz reseptörlerinin doğrudan etkileşimi ile birçok karsinomda gösterilmiştir (6).

### **Rho/rac Sinyali**

GTPazlar Rho ve Rac, E-kaderin bağımlı adezyonun sağlanmasında görevlidir. Hücre şeklini ve motilitesini sağlayan aktinin yapısının kontrolünde esastır. Rho ve Rac aktivitesindeki denge epitelyal mezenkimal dönüşümde rol oynayan önemli öğedir. Reseptör kinazların ve P13K'nın aktivasyonu Rho aktivasyonu yapmaktadır (6).

### **Src**

Src, reseptör olmayan, sitoplazmik SH2 domaini içeren tirozin kinazdır. Src onkogeninin aktivasyonu yüzey reseptörlerinden tirozin kinaz reseptörlerini aktive ederek kaderin ve integrin ilişkili adezyonu engeller (6).

### **Transforme Edici Büyüme Faktörü (TGF- $\beta$ )**

Transforme edici büyüme faktörü (TGF- $\beta$ ) sinyalizasyonu, ligandların tip 2 reseptörlere bağlanması ile başlar ve tip 1 reseptörlerinin aktivasyonu ve fosforilasyonunu ile devam eder. Aktive olan TGF- $\beta$  tip 1 reseptörleri sitoplazmik smad 2, smad 3, smad 4 komplekslerinin fosforilasyonunu sağlar. Smad kompleksleri nükleusa giderek transkripsiyon faktörleri lenfosit geliştirici faktör /T hücre faktörlerini (LEF/TCF) aktive eder. LEF/TCF faktörleri güçlü bir epitelyal mezenkimal dönüşüm oluşturuçu faktördür. Transforme edici büyüme faktörü (TGF- $\beta$ ) smad'dan bağımsız olarak reseptör tirozin kinaz sinyal transdüksiyonu yaratarak Ras/MAPK PI3K, p38MAK, Rho ve Rac aktivasyonu oluşturur ve epitelyal mezenkimal dönüşüme neden olur (6).

Miettinen ve ark. (39) TGF- $\beta$ 'nın E-kaderin ekspresyonunu etkileyebileceğini ve epitelyal mezenkimal dönüşüme neden olabileceğini öne sürmüştür.

Kıtawaga ve ark. (41) ovaryan adenosarkom vak'asından elde ettikleri iki farklı hücre serisinde TGF- $\beta$ 'nin etkilerini araştırmıştır. Tümör içermeyen hücre grubunda TGF- $\beta$ 'ya karşı yanıt oluşmazken, tümör içeren grupta bir çok biyolojik özellik gelişmiştir. Işık ve elektron mikroskopik çalışmalar TGF- $\beta$  ile epitelyal mezenkimal değişikliğin gerçekleştiğini göstermiştir. Ayrıca bu çalışmada TGF- $\beta$  ile epitelyal marker karsinoembriyonik antijenin azaldığı, vimentinin ise arttığı tespit edilmiştir.

### **TCF/Wnt/ $\beta$ - Katenin Yolağı**

Bu yolak hücreler arası kontakt sonucu ortaya çıkan sinyalleri hücreye taşır böylece hücre adezyonu ile gen transkripsiyonu arasında bir bağ oluşturur. E-kaderin aracılı adezyon ile Wnt/ $\beta$ -katenin yolağı,  $\beta$ -katenin molekülünü ortak kullandıkları için birbirine bağımlıdır, böylece epitelyal mezenkimal dönüşümde başlıca rolü E-kaderin üstlenmektedir. Wnt/ $\beta$ -katenin yolağı aktive olduğunda Wnt glikoproteinlerinin plazma membranındaki reseptörlerine bağlanması ile glikojen

sentaz kinaz-3  $\beta$  inhibe olur ve sitoplazmada  $\beta$ -katenin akümüasyonu görülür. Beta-katenin 3 farklı sellüler kompartmanda (membranda, sitoplazmada ve nükleusta birikir). Wnt aracılıklı sinyal olmadığı zaman çoğu  $\beta$ -katenin, hücreler arası bileşkedeki kompleks içerisinde E-kaderin tarafından yıkılır. Wnt sinyal yolağı aktive olduğunda  $\beta$ -katenin daha fazla fosforilize edilemez, yıkılamaz ve sitozolde birikir, nükleusa transfer olarak transkripsiyon faktörleri LEF/TCF'ye bağlanır. Böylece hücreyi epitelyal mezenkimal dönüşüme götüren Ets, jun, Slug, matrilysin, fibronektin ve vimentin ile ilgili hedef genler aktive olur. Wnt'ye ilaveten, E-kaderinin *down regülasyonu* da sinyalizasyonu aktive edebilir ki bu da sitoplazmada  $\beta$ -kateninin birikimine yol açar ya da integrine bağlı kinazların birikimi oluşur. Sonuç olarak integrin-linked kinazlar (İLK), P13K/Akt ve Ras/ MAPK yolaklarının hepsinin aktivasyonu, wnt/ $\beta$ -katenin sinyalizasyonunu etkiler, bu da onların epitelyal mezenkimal dönüşüm üzerindeki etkisini artırabilir. Gerçekten hücre adezyonundaki zayıflamaya ek olarak, tümör hücrelerinde E-kaderinin kaybı,  $\beta$ -kateninin serbestleşmesini sağlayarak nükleer stimulus için elverişli ortam meydana getirir. İlaveten reseptör kinazların büyüme faktörleri ile stimülasyonu ve src gibi sitoplazmik tirozin kinazların aktivasyonu,  $\beta$ -kateninin tirozin fosforilasyonuna neden olur. Bu da, E-kaderin aracılıklı hücre adezyon kaybı ve  $\beta$ -katenin sinyalizasyon düzeylerinde artış ile sonuçlanır. Böylece  $\beta$ -katenin yolağını aktive eden alternatif mekanizmalar gerçekleşir (6).

### **Ekstrasellüler Matriks**

Hücre dışı matriks bileşenleri olan proteazlar, hücre dışı matriks reseptörleri ve integrinler, hücrelerin proliferasyonunda, yaşamında, farklılaşmasında, hücre göçünde ve tümör invazyonunda görev alır. Matriks proteazları bu süreçde birçok farklı yolla tümör invazyonunda etkili olur. Bazal membranı yıkarak tümör hücrelerinin göçüne neden olur. E-kaderinin ekstrasellüler parçasını proteolize ederek hücre-hücre adezyonunu engeller. Bu proteazlar, metalloproteinaz ailesi ve sistein proteinaz ailesidir (6).

## İntegrin

İntegrinler, hücre dışı matriks glikoprotein reseptörleridir. Ligandların bağlanması ile fokal adezyon kinazlar (FAK), Src, Shc ve integrin bağımlı kinazlar (İLK) gibi adaptör molekülleri aktive olarak, Ras/MAPK, PI3K ve Rho GTPaz ailesini aktive eder.

Epitelyal bir hücrenin mezenkimal bir hücreye dönmesi ile birlikte morfolojisinde, arşitektüründe, adezyonunda ve migrasyon kapasitesinde değişiklikler oluşmaktadır. Epitelyal mezenkimal dönüşümde N-kaderin, vimentin,  $\beta$ -katenin, snail 1, snail 2, twist, EF 1/ZEB 1, SIP1/ZEB2, E47 artarken, E-kaderin azalır. Epitelyal mezenkimal dönüşümde migrasyon kapasitesi ve invazyon artarken apoptoza direnç gelişir (6). Epitelyal mezenkimal dönüşümün belirleyicileri Tablo 2. 1'de görülmektedir (7).

Tablo 2. 1. Epitelyal mezenkimal dönüşümün belirleyicileri

Artan proteinler	Azalan proteinler	Aktivitesi artan proteinler	Nükleusta artan proteinler	Gelişen olaylar
N-kaderin	E-kaderin	İLK	$\beta$ -katenin	Migrasyon artışı
Vimentin	Desmoplakin	GSK-3beta	Smad-2/3	İnvazyon artışı
Fibronektin	Sitokeratin	Rho	NF-k beta	Hücre şeklinde uzama
Snail1 (snail)	Ocludin		Snail1 (snail)	
Snail 2 (slug)			Snail 2 (slug)	
Twist			Twist	
Goosecoid				
FOXC-2				
Sox10				
MMP-2				
MMP-3				
MMP-9				
İntegrin				

Şunu da belirtmek gerekir ki, tümörlerin büyük çoğunluğunda epitelyal mezenkimal dönüşüm gelişmemektedir. Tümör patolojisinde epitelyal mezenkimal dönüşüm gelişen tümörler tüm tümörler içinde % 1'den azdır (5). Gelişiminde epitelyal mezenkimal dönüşümün rol oynadığı tümörler Tablo 2.2'de verilmiştir (5).

Tablo 2. 2 Epitelyal mezenkimal dönüşümün rol oynadığı tümörler

<b>Tümör tipi</b>	<b>Lokalizasyon</b>	<b>Dokunun orijini</b>
Karsinosarkom/Sarkomatoid karsinom	Uterus, meme, akciğer, gastrointestinal sistem	Epitel (endo-mezo-ektoderm)
Malign mezotelyoma	Periton ve plevra serozal yüzeyi	Mezotel (mezoderm)
Seks kord stromal tümör	Over	Over yüzey epiteli
Ameloblastom	Oral kavite, maksilla	Ameloblastik epitel (endoderm)

Karsinosarkomlar, vücuttaki herhangi bir epitelden kaynaklanan malign mikst tümörlerdir. Epitelyal komponent genellikle adenokarsinomdur. Mezenkimal komponent andiferansiye işi hücreler ve pleomorfik hücre özelliğinde olabileceği gibi iskelet kası, kemik veya kartilaj dokuya diferansiye olmuş hücrelerden oluşabilir. Eğer mezenkimal hücre diferansiyasyonu spesifikse ve yaygınsa karsinosarkom terimi kullanılırken, hücre popülasyonu arasındaki geçiş belirginse, hibrid epitelyal mezenkimal hücre tipi varsa sarkomatoid karsinom terimi tercih edilir. Anatomik bölgesine göre memedeki mikst tümörler spindle veya metaplastik hücreli karsinom, özofagusda psödosarkom, kadın genital sisteminde ise malign mikst müllerian tümör olarak adlandırılmaktadır. Mikst tümörlerin histogenezi ile ilgili birçok düşünce vardır. Son zamanlarda MMT'lerin gelişiminde monoklonalite hipotez üzerinde durulmaktadır. Bu hipoteze göre epitelyal ve mezenkimal komponentler tek bir kök hücreden gelişmektedir (19). Çalışmalar her iki komponentte de benzer genotipik değişiklikler geliştiğini göstermiştir (2,21-24). Epitelyal mezenkimal dönüşümün oluştuğu tümörler arasında en sık görüleni malign mezotelyomadır. Asbest maruziyeti sonucu, plevra ve peritoneal kaviteyi döşeyen mezotelden gelişen bifazik mezotelyomada, epitelyal plasiteyi yansıtan her iki hücre

tipi de vardır. Seks kord stromal tümörler, ovarian yüzey epitelinin gelişen nadir ovaryan tümörlerdendir. Over yüzey epitelinin sitokeratin yanı sıra, vimentin ve N-kaderin ekspresyonu göstermesi bu hücrelerin dual bir diferansiyasyon kapasitesi olduğunu gösterir. Bu özellik seks kord stromal tümörlerin nereden orijin aldığını göstermektedir. Ameloblastomda da epitelyal mezenkimal dönüşümün geliştiğine dair kanıtlar vardır (5).

Embriyogenezis ve tümör dışında epitelyal mezenkimal dönüşüm aynı zamanda, bazı kronik inflamatuvar süreçler gibi tümöral olmayan patolojilerde de gelişir. Böbrekte, böbrek yetmezlikli peritoneal dializ hastalarında gelişen fibroziste, respiratuvar epitel hücrelerinde, retinal pigment hücrelerinde epitelyal mezenkimal dönüşüm geliştiğine dair yapılmış çalışmalar vardır (5).

### **Ayırıcı Tanı**

Malign mikst müllerian tümör olgularında biyopsi küçük ise ayırıcı tanı güç olabilir. Biyopsilerde bazen tek bir bileşen izlenebilir, bu durumda karsinosarkomu andiferansiye bir tümörden ayırt etmek zordur. Monofazik tümörlerin tersine (andiferansiye karsinomlar ve sarkomlar), birbirleri içine karışmazlar. Karsinosarkomu andiferansiye karsinomdan ayırdetmede, epitelyal alanların epitelyal markerlarla, mezenkimal alanların, konnektif doku markerları ile boyanması önemlidir. Fakat, karsinosarkom olan vak'alarda stromal elamanların keratin ile boyanması bu tümörleri az diferansiye karsinom kategorisine dahil etmemektedir. Gerçekte bunun bir önemi yoktur, çünkü prognozda kritik önemi olan eleman epitelyal komponenttir (16). Benzer şekilde heteroelog ve homolog MMMT'lerin farklı davrandığını gösteren kesin kanıtlar yoktur.

Sarkomlardan ayırıcı tanıda karsinosarkomların epitelyal elamanlarını ortaya oymak önemlidir (1). Adenosarkomdan ayırımını yaparken, adenosarkomlarda iyi diferansiye, benign özellikteki epitel ve mezenkimde glandlar etrafında oluşan çevreleşme önemlidir. Bazı düşük dereceli endometrioid karsinomlarda, MMMT'lerden ayırıcı tanı yapılmasını gerektiren spindle hücre odakları vardır. Fakat MMMT'lerde mezenkimal komponent yüksek grade'e sahiptir ve belirgin anaplazi içerir (1).



## **Malign Mikst Müllerian Tümörlerde Evreleme**

2009 yılında Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Fedarasyonu (FİGO) MMMT'lerin endometriyum kanserleri gibi evrelendirilmesi gerektiğini belirtmiştir (42). Buna göre:

Evre I: Tümör uterusu sınırlıdır

IA: İnvazyon myometriyumun ½'sini aşmamıştır.

IB: İnvazyon myometriyumun ½'sini aşmıştır.

Evre II: Tümör servikal stromaya invazedir.

Evre III: Tümör lokal veya bölgesel olarak yayılmıştır

IIIA: Tümör uterus serozasına ve/veya adnekselere yayılmıştır

IIIB: Vajinal ve/veya parametrial tutulum

IIIC: Paraaortik ve/veya pelvik lenf nodlarına yayılım

IIIC1: Pozitif pelvik nodlar

IIIC2: Pozitif pelvik-aortik lenf nodları, pozitif pelvik lenf nodları ile birlikte veya değil

Evre IV: Tümör mesane, barsak mukozasına invaze ve/veya uzak metastaz

IVA: Tümör mesane ve /veya barsak mukozasına invaze

IVB: Uzak metastaz

## **Tedavi**

Evre 1 ve 2'de tedavi total abdominal histerektomi ve bilateral salpingo-ooforektomidir. Omentektomi abdominal yayılım eğilimine göre uygulanır. Adjuvan kemoterapinin ve radyoterapinin etkisi bilinmemektedir, fakat son zamanlarda eskiye göre daha iyimser raporlar bildirilmiştir (1).

## **Prognoz**

Prognoz kötü olup, 5 yıllık sağkalım % 11-35'dir. Derin myometrial invazyonu, ekstrauterin ve ekstragenital yayılımı olan tümörlerin kürabilitesi nadirdir. Metastatik tümörlerde genellikle ölüm bir yıl içinde olmaktadır. Eskiden heterolog tümörlerin, homolog tümörlere göre daha kötü prognoza sahip olduğu, özellikle de rabdomyosarkomların daha kötü prognoza sahip olduğu düşünülüyordu. Bunun yanında kondrosarkomların daha iyi prognozlu olduğu düşünülüyordu (1). Son zamanlardaki yayınlar bu düşüncüyü ortadan kaldırmıştır . Heterolog elemanların varlığı, tümör derecesindeki farklılığın ve stromadaki mitozun prognozu etkilemediği gösterilmiştir. Bunun tersine seröz, clear ve undiferansiye tipte epitelyal komponenti olan tümörlerde prognoz kötüdür. Evre en önemli prognostik faktördür (16 ). Sınırlı yayılımı olan, vasküler invazyonu olmayan erken evre tümörlerde prognoz iyidir. (2,10).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya ( ESOGÜ Etik kurul 03 Nisan 2009 32 no'lu sayı kararı ile) Osmangazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalında Eylül 1992 ve Nisan 2010 tarihleri arasında MMMT tanısı almış 33 olgu dahil edildi. Olgulara ait arşivdeki H&E kesitler tekrar incelenerek, histolojik özellikleri yeniden gözden geçirildi. Tümörü oluşturan epitelyal komponentin tipi, sarkomatöz komponentin özelliği (heterolog veya homolog), metastaz varlığı ve metastaz odağındaki komponentler değerlendirildi ve evreleri belirlendi.

Her tümörün karsinom ve sarkom komponentinin her ikisini birden taşıyan kesitler seçilerek bunların parafin bloklarından elde edilen 3-4 $\mu$  kalınlığındaki kesitler E-kaderin (NeoMarker, clone EP700Y) ve  $\beta$ - katenin ( Neo Marker, clone E247) monoklonal antikorları kullanılarak labelled streptavidin-biotin peroksidaz immünohistokimyasal boyama yöntemi ile boyandı. Hasta grubundaki 12 vak'ada değerlendirilebilecek atrofik endometriyum alanı olduğundan bu vak'aların endometriyumları kontrol grubu 1 (KG 1) ve ayrıca benign bir nedenle opere edilmiş 8 vak'anın endometriyumu kontrol grubu 2 (KG 2) olarak ele alındı ve 13 hastanın metastazlarına da immünohistokimyasal boyama uygulandı. Tümörün evrelemesi dosya bilgilerinden elde edildi.

#### 3.1. Boyama Yöntemi

1-Poly-L-Lysinli lamlara parafin bloklardan 3-4 $\mu$ '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'ser kez absolü ve %96'luk alkoller ile distile sudan geçirildi.

3- EDTA buffer (PH: 8) 1/10 dilue solusyonu içinde yüksek basınçlı bir ortamda maskelenmiş antijenleri açığa çıkartma işlemi uygulandı

4-Hidrojen peroksit (%3) ile oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.

5-Distile su ile 10 saniye 2 kez yıkandı.

6-Fosfat buffer saline (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, E-kaderin (1:50 dilüsyonda) ve  $\beta$ -katenin (1:75 dilüsyonda) damlatılıp 60 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 9-Fosfat buffer saline ( PH: 7.4 ) ile 5 dakika 2 kez yıkandı.
- 10- Sekonder antikor (LINK) ile oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi..
- 11-Fosfat buffer saline (PH: 7. 4) ile 5'er dakika 2 kez yıkama yapıldı.
- 12-Kesitlere streptavidin damlatıldı ve 10 dakika inkübe edildi.
- 13-Fosfat buffer saline (pH: 7. 4) ile 5 dakika 2 kez yıkandı.
- 14- Tarife göre hazırlanan AEC (Lab Vision Corporation, USA) kromojen solüsyonu damlatılıp oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra 3 dakika süreyle 2 kez distile su ile yıkandı.
- 15- Hematoksilen solüsyonunda 30 saniye bekletilerek zıt boyama yapıldı.
- 16-Kesitler 3 dakika süreyle 2 kez distile suda yıkandı.
- 17-Preparatlar havada kurutulduktan sonra lamel ile kapatıldı (Lab Vision Ultramount USA)

E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ile spesifik boyanma sitoplazmik membran boyanması şeklindeydi. Boyanan hücrelerin oranı %5 ve altında ise negatif ; %6-25 ise 1+; %25 üzeri ise 2+ olarak kategorize edildi. Boyanma şekli membranöz, sitoplazmik ve nükleer olmak üzere değerlendirildi.

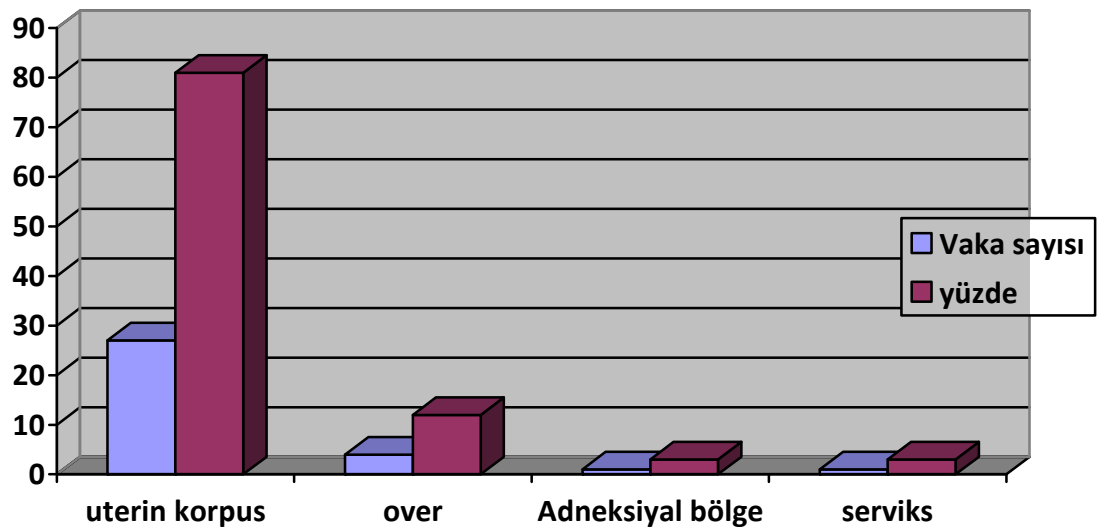
### **3.2. İstatistiksel Değerlendirme**

Kontrol grupları ile tümör vak'alarında E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu arasındaki farklılık, tümörlerin histolojik tipleri, homolog ya da heterolog olması, primer lokalizasyonu, evresi ve metastaz varlığının E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu ile ilişkisi istatistiksel olarak SPSS 15.0 paket programı kullanılarak değişkenlerden oluşan veri setlerine Ki Kare analizleri yapılarak değerlendirilmiştir. Tümörün evresinin, mezenkimal komponentin tipinin, tümörlerdeki E-kaderin ve  $\beta$ -

katenin ekspresyonlarının yaşam süresi ile ilişkileri Kaplan Meier testi ile değerlendirildi ( $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edilmiştir).

#### 4. BULGULAR

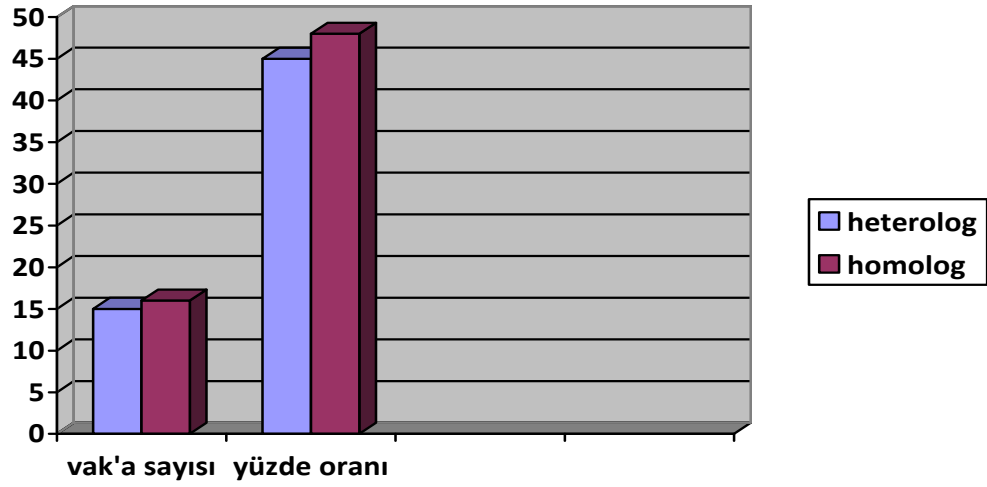
Çalışmaya alınan hastaların yaşları 48 ile 75 arasında değişmekte idi ve yaş ortalaması 67.3'tü. Hastaların 4'üne sadece D&C, 29 hastaya total histerektomi ve bilateral salpingooforektomi uygulandı. Primer tümör 27 (%81) hastada uterin korpus, 4 (%12) hastada over, 1 (%3) hastada adneksiyal bölge ve 1 (%3) hastada serviks kaynaklı idi. Adneksiyal bölge olarak ele alınan vak'ada over ya da tuba orijini açık değildir. Vak'aların lokalizasyonlarına göre dağılımı şekil 4.1'de görülmektedir.



Şekil 4. 1. Primer tümör lokalizasyonuna göre dağılım.

##### 4.1. Histopatolojik Bulgular

Vak'alardan 15'inde (%45) mezenkimal komponent heterolog, 16'sında (%48) homolog karakterdeydi, iki vak'ada, sadece D&C materyalleri incelendiği için bu konuda değerlendirmeye alınmadı. Tümörlerin mezenkimal bileşenin özelliğine göre dağılımı şekil 4. 2'de verilmiştir.

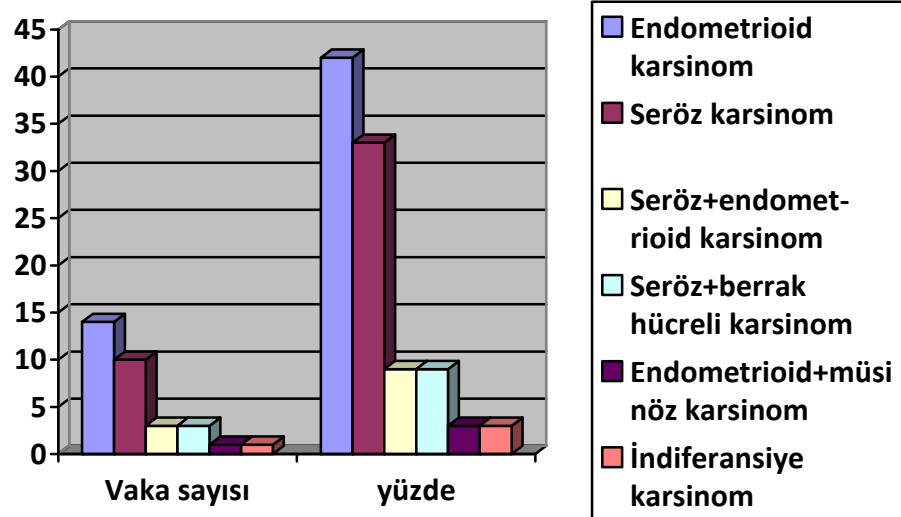


Şekil 4.2. Tümörlerin mezenkimal özelliğine göre dağılımı.

Karsinom komponentinde 14 (%42) vak’ada tümörün histolojik özelliği endometrioid karsinom, 11 (%33) vak’ada seröz karsinom, üç (%9) vak’ada seröz+endometrioid, üç (%9) vak’ada seröz+berrak hücreli, bir (%3) vak’ada endometriod+müsinöz, bir (%3) vak’ada indiferansiye karsinom özelliğinde idi. Tümörlerin epitelyal komponentinin histolojik tiplerine göre dağılımı Tablo 4.1 ve Şekil 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Tümörlerde epitelyal komponentin histotolojik tipine göre dağılım

	Vak'a sayısı	yüzde
<b>Endometrioid karsinom</b>	14	%42.2
<b>Seröz karsinom</b>	11	%33.3
<b>Seröz+endometriod karsinom</b>	3	%9.0
<b>Seröz+berrakhücreli karsinom</b>	3	%9.0
<b>Endometriod+müsinöz karsinom</b>	1	%3.0
<b>İndiferansiye karsinom</b>	1	%3.0



Şekil 4.3. Tümörlerde epitelyal komponentin histotolojik tipine göre dağılım

Vak'aların 6'sı (%18) evre I, 2'si (%6) evre II, 8'i (%24) evre III, 16'sı (%48) evre IV'dü. Vak'alardan biri biyopsi yapıldığı gün exitus olduğundan evresi değerlendirilememiştir. Evre I ve II erken evre, Evre III ve IV geç evre olarak kabul



edildi. Malign mikst müllerian tümörlü vak'aların evrelerine göre dağılımı Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Vak'aların evrelerine göre dağılımı.

	<b>Vak'a sayısı</b>	<b>Yüzde</b>
<b>Evre I</b>	6	%18
<b>Evre II</b>	2	%6
<b>Evre III</b>	8	%24
<b>Evre IV</b>	16	%48

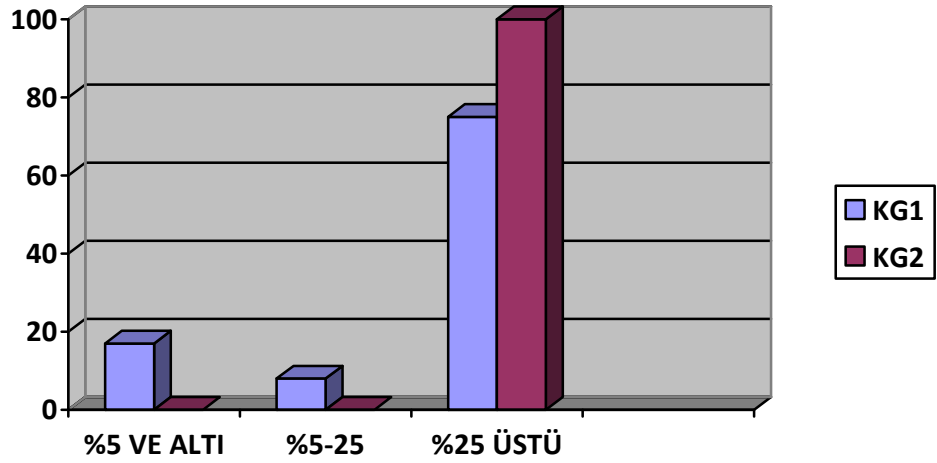
## 4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

### Kontrol Grubu E-kaderin ve $\beta$ katenin Ekspresyonları

Çalışma grubundaki 12 vak'anın atrofik endometriyumları kontrol grubu 1 ayrıca farklı nedenlerle opere olmuş benign patolojiye sahip 8 hastanın endometriyumları kontrol grubu 2 olarak ele alındı. Kontrol grubu 2'de E-kaderinle ve  $\beta$ -kateninle bütün olgularda 2+ düzeyinde pozitif boyanma görüldü. Kontrol grubu 1'de E-kaderinle 9 olguda 2+ düzeyinde, 1 olguda 1+ düzeyinde ekspresyon izlenirken, 2 olguda negatift,  $\beta$ -kateninle 11 olguda 2+ düzeyinde ekspresyon görülürken 1 olgu negatifti. Kontrol gruplarında E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonuna ait örnekler şekil 4.17-20'de görülmektedir. Kontrol gruplarında endometriyumun E-kaderinle boyanma oranları Tablo 4.3'de ve şekil 4.4'de,  $\beta$ -kateninle boyanma oranları Tablo 4.4 ve Şekil 4.5' de verilmiştir.

Tablo 4. 3. Kontrol gruplarında endometriyumun E-kaderin ile boyanma oranları

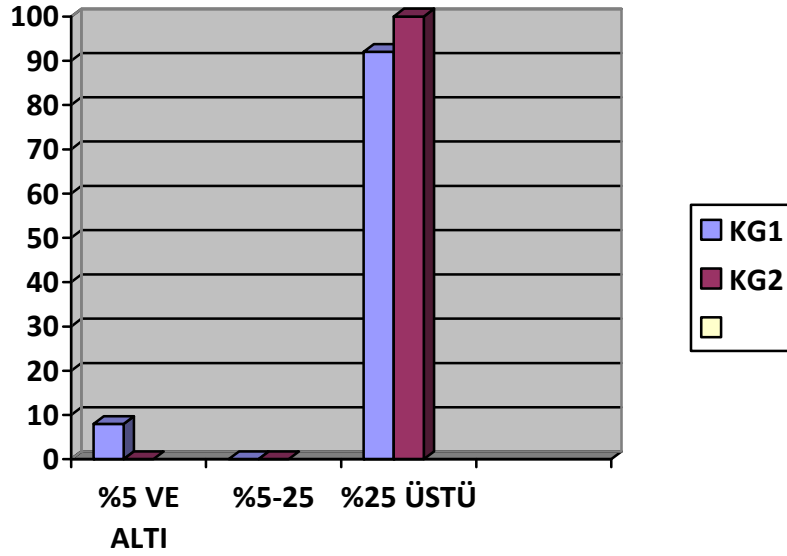
	<b>%5 ve altı (negatif)</b>	<b>%6-25 (1+)</b>	<b>%25 üstü (2+)</b>	<b>toplam</b>
<b>Kontrol grubu 1</b>	2 (%17)	1 (%8)	9 (%75)	12
<b>Kontrol grubu 2</b>	0 (%0)	0 (%0)	8 (%100)	8



Şekil 4. 4. Kontrol gruplarında endometriyumun E-kaderin ekspresyonu

Tablo 4. 4. Kontrol gruplarında endometriyumun  $\beta$ -katenin ile boyanma oranları

	<b>%5 ve altı</b>	<b>%5-25</b>	<b>%25 üstü</b>	<b>toplam</b>
<b>Kontrol grubu 1</b>	1 (%8)	0 (%0)	11 (%92)	12
<b>Kontrol grubu 2</b>	0 (%0)	0 (%0)	8 (%100)	8



Şekil 4.5. Kontrol gruplarında endometriyumun  $\beta$ -katenin ekspresyonu.

E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu açısından kontrol grubu 1 ve 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi.

### **Malign Mikst Müllerian Tümörlerde E-Kaderin ve $\beta$ -Katenin Ekspresyonları**

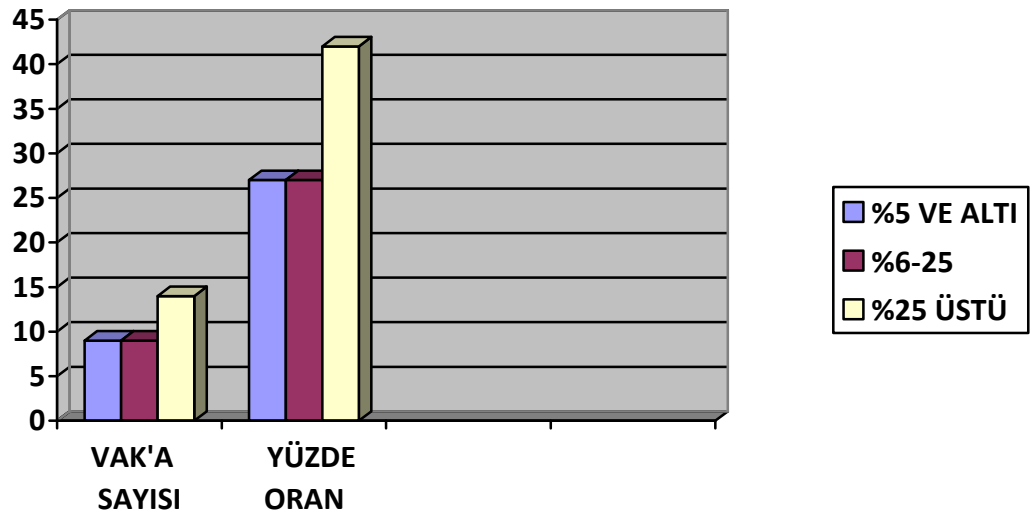
Biyopsilerin sarkomatöz ve karsinomatöz alanlarının her ikisini birden içeren kesitlere ve 13 vak'anın metastatik dokularına E- kaderin ve  $\beta$ -katenin belirleyicileri uygulandı. Her iki tümör komponentinde E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu yüzde oran olarak belirlendi. Her iki belirleyici ile pozitiflik vak'aların çoğunluğunda tümörün sadece epitelyal bileşeninde görüldü. Bir vak'ada E-kaderin, 11 vak'ada  $\beta$ -katenin ile mezenkimal komponentte de fokal pozitiflik görüldü.

Tümör dokusunda E-kaderin ve  $\beta$ -katenin pozitifliği epitelyal elemanlardan daha çok lateral ve luminal yüzeylerde membranöz boyanma şeklindeydi. E-kaderin ekspresyonu hücrelerin membranlarında devamlılığı olmayan kesintili ya da dağınık çizgilenmeler şeklindeyken,  $\beta$ -katenin daha belirgin olarak lineer tarzda ve daha çok lateral yüzeylerde pozitif. Tümörün yüzeyini örten atipik epitelde ve bu epitelin tümör içine uzandığı ve glandüler yapı oluşturduğu alanlarda daha yaygın ve kuvvetli boyanma görüldü.

Vak'aların 9'unda (%27,3) E-kaderin negatif olup, 9 (%27,3) vak'ada 1+, 14 (%42,4) vak'ada 2+ düzeyinde boyanma görüldü. Küretaj materyalinde tanı alan bir vak'ada tümör miktarındaki yetersizlik nedeniyle değerlendirmeye alınmadı. Malign mikst müllerian tümörlü vak'alarda E-kaderin boyanma oranları Tablo 4.5'de ve şekil 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.5. E-kaderin ekspresyonunun vak'a sayılarına göre dağılımı

	Vaka sayısı	% oran
<b>%5 ve altı</b>	9	27,3
<b>%6-25</b>	9	27,3
<b>%25 üstü</b>	14	42,4
<b>Değerlendirilemeyen</b>	1	3
<b>Toplam</b>	33	100



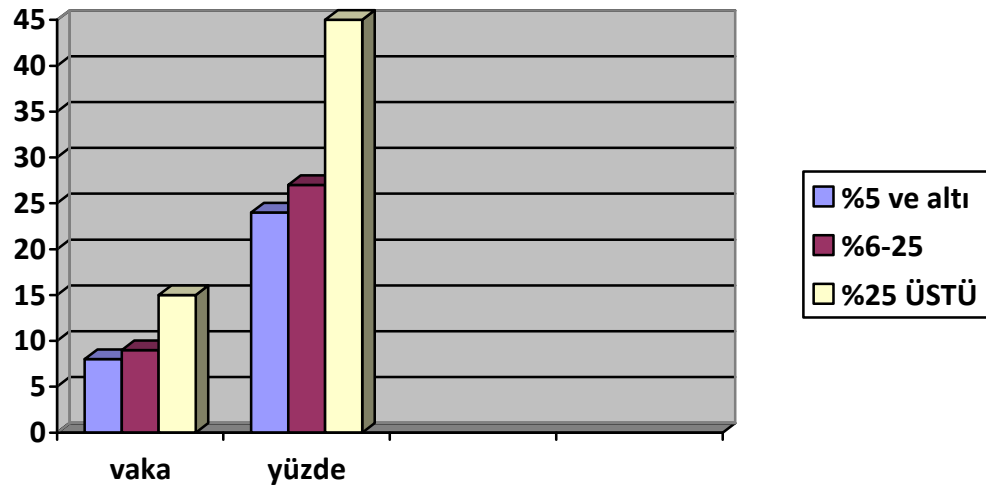
Şekil 4. 6. E-kaderin Ekspresyonunun Vak'a Sayılarına Göre Dağılımı

Sekiz (% 24,2) vak'ada  $\beta$ -katenin negatif olup, 9 (%27,3) vak'ada 1+; 15 (%45,5) vak'ada 2+ düzeyinde ekspresyon görüldü. Bir vak'a tümör miktarının

yetersizliği nedeniyle değerlendirmeye alınmadı. Malign mikst müllerian tümörlü olgulara ait tümör içeren kesitlerde  $\beta$ -katenin boyanma oranları Tablo 4.6 ve Şekil4.7’de verilmiştir.

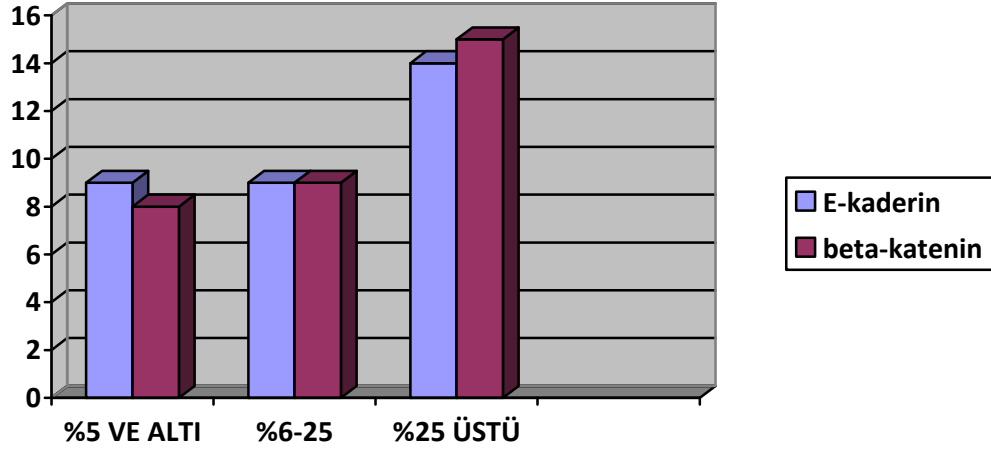
Tablo 4. 6.  $\beta$ - katenin Ekspresyonunun Vak’a Sayılarına Göre Dağılımları

	Vak’a sayısı	% Oran
<b>%5 ve altı</b>	8	24,2
<b>%6-25</b>	9	27,3
<b>%25 üstü</b>	15	45,5
<b>Değerlendirilemeyen</b>	1	3
<b>Toplam</b>	33	100



Şekil 4. 7  $\beta$ -Katenin Ekspresyonunun vak’a sayılarına göre dağılımları

Malign mikst müllerian vak’alarının E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonlarının istatistiksel karşılaştırmasında anlamlı bir fark olmadığı saptandı ( $p>0.05$ ). (Şekil 4. 8).



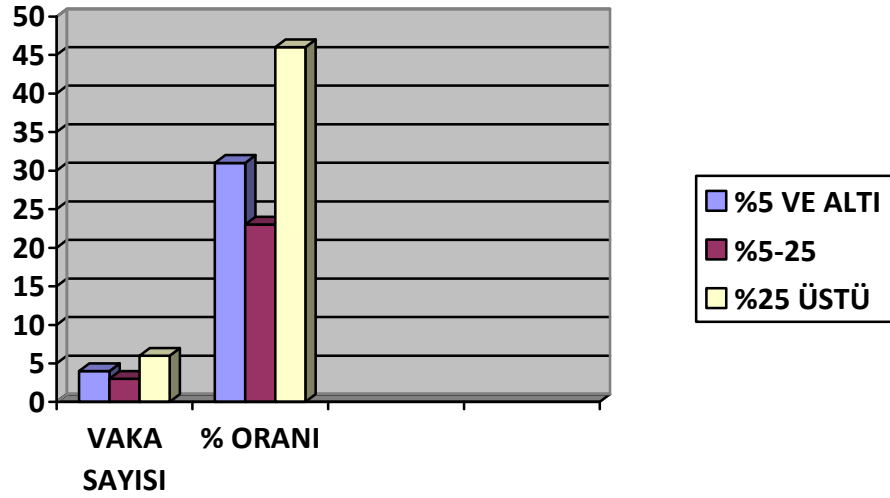
Şekil 4. 8. E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonlarının karşılaştırması.

#### Metastatik Odaklarda E-Kaderin ve $\beta$ -Katenin Ekspresyonları

Malign mikst müllerian tümörlü 13 vak'anın metastazlarında 4 vak'ada E-kaderin negatif olup (%31), 3 (%23) vak'ada 1+, 6 (%46) vak'ada 2+ düzeyinde pozitiflik izlenmiştir. Metastaz bulunan 13 vak'ada metastatik odaklarda E-kaderin ekspresyonu Tablo 4.7 ve şekil 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4. 7. Metastatik odaklarda E-kaderin ekspresyonu

	Vak'a sayısı	% oranı
<b>%5 ve altı</b>	4	31
<b>%6-25</b>	3	23
<b>%25 üstü</b>	6	46
<b>Toplam</b>	13	100

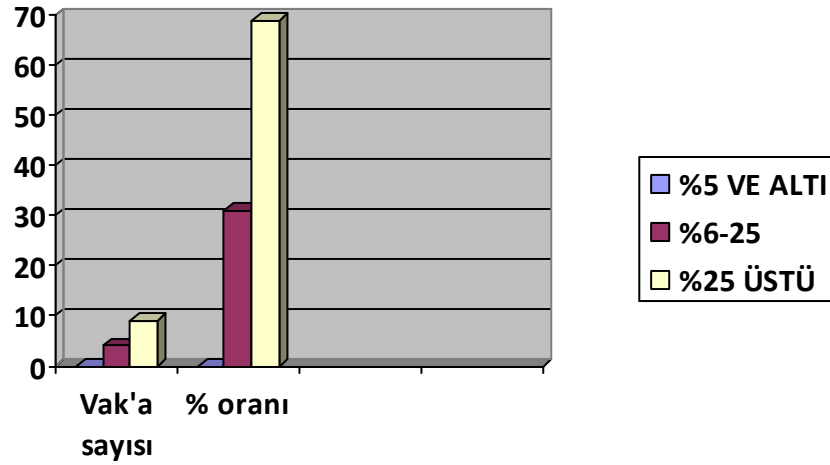


Şekil 4.9. Metastazlarda E-kaderin ekspresyonu

Metastatik odaklarda  $\beta$ -katenin ekspresyonunun değerlendirildiği dört (%31) vak'ada 1+, 9 (%69) vak'ada 2+ düzeyinde  $\beta$ -katenin ekspresyonu görüldü. Negatiflik tespit edilmedi. Metastaz odaklarında  $\beta$ -katenin ekspresyonu Tablo 4.8 ve şekil 4.10'da verilmiştir.

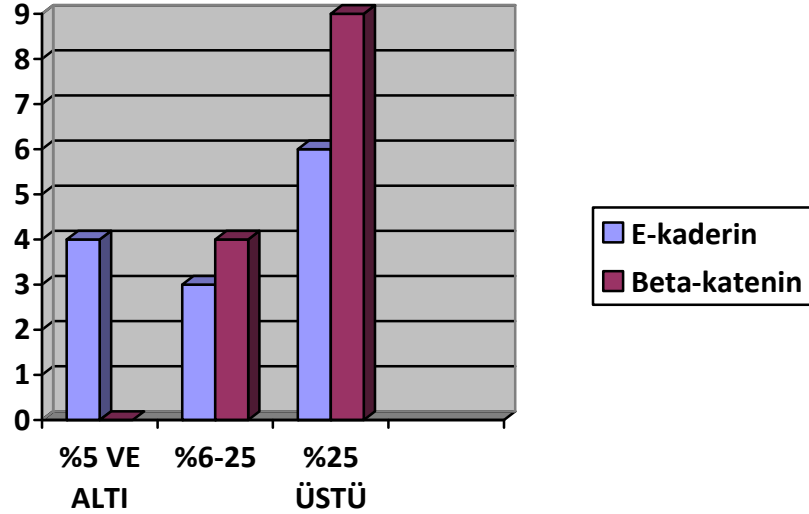
Tablo 4.8. Metastaz odaklarında  $\beta$ -Katenin ekspresyonu

	Vaka sayısı	% oranı
<b>%5 ve altı</b>	0	0
<b>%6-25</b>	4	31
<b>%25 üstü</b>	9	69
<b>Toplam</b>	13	100



Şekil 4.10. Metastaz odaklarında  $\beta$ -katenin ekspresyonu

Metastaz odaklarında E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu açısından istatistiksel anlamlı bir fark görülmedi ( $p>0.05$ ). Şekil 4.11'de bunların karşılaştırılması verilmiştir.



Şekil 4.11 Metastaz Odaklarında E-Kaderin ve  $\beta$ -Katenin Ekspresyonu

Vak'alarda primer ve metastatik tümör odaklarında E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonları şekil 4.17-35'de görülmektedir.



### **Malign Mikst Müllerian Tümör Bulunan Endometriyum Örneklerinden Oluşan Grubun E-kaderin ve $\beta$ -katenin Ekspresyonlarının Kontrol Grupları ile Karşılaştırılması**

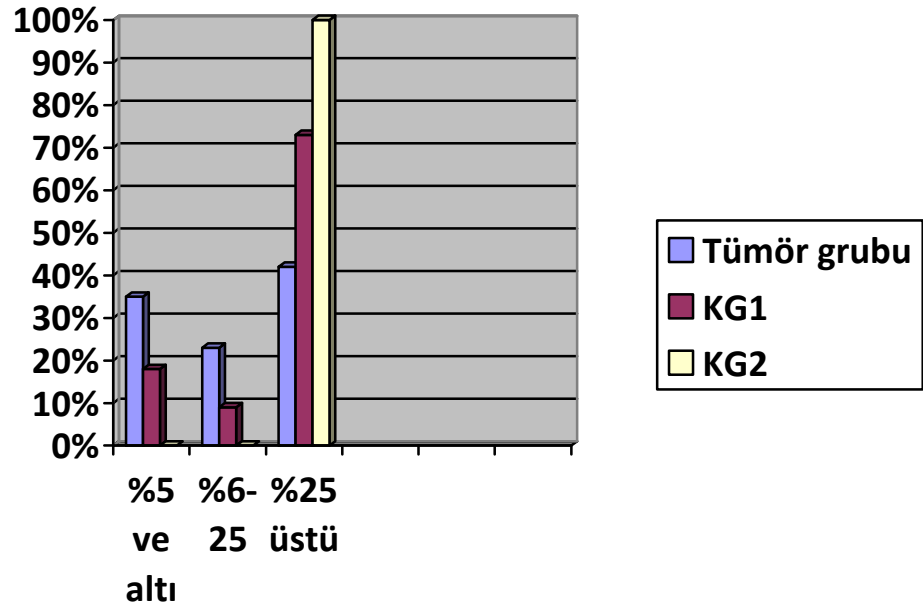
Uterin korpusta gelişen tümör vak'alarında (26 vak'a) E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonları, kontrol grubu 1 ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). Bu iki grubun karşılaştırması 11 vak'a üzerinden yapılmıştır.

Uterin korpusta gelişen tümör vak'alarında (26 vak'a) E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonları, kontrol grubu 2 endometriyumları ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptandı ( $p<0.05$ ). Vak'alarda kontrol grubuna göre her iki belirleyici ile daha az oranda ekspresyon görüldü.

Tümörlü örneklerle kontrol gruplarının E-kaderin boyanması açısından karşılaştırılması Tablo 4.9 ve şekil 4.12'de görülmektedir.

Tablo 4.9. Tümör ve Kontrol Gruplarında E-kaderin Ekspresyonu.

	<b>%5 ve altı</b>	<b>%6-25</b>	<b>%25 üstü</b>	<b>Toplam</b>
<b>Tümör grubu</b>	9 ( % 34.6)	6 ( % 23.0)	11 ( % 42.3)	26
<b>KG1</b>	2 ( % 18.1)	1 ( % 9.1)	8 ( % 72.7)	11
<b>KG2</b>	0 ( %0)	0 ( %0)	8 ( %100)	8

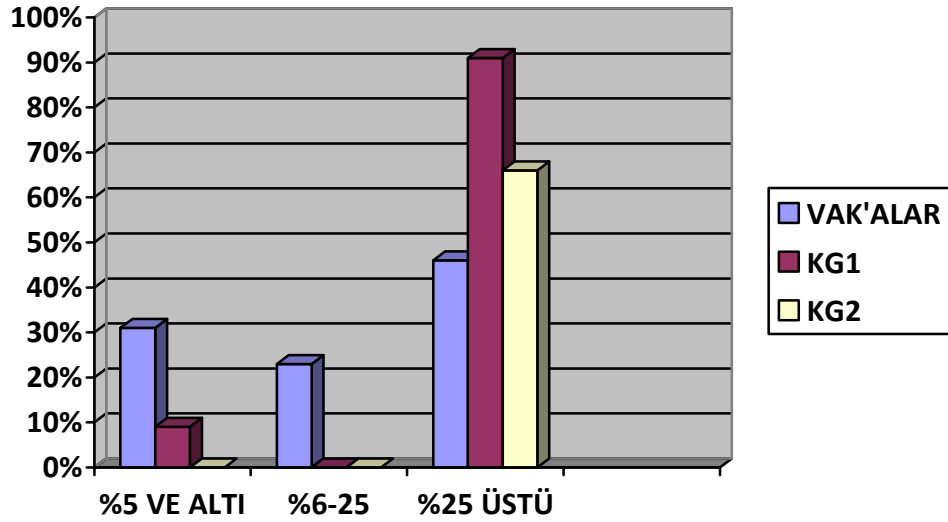


Şekil 4.12. Tümör ve Kontrol Gruplarında E-kaderin Ekspresyonu

Tümörlü örneklerle kontrol gruplarının  $\beta$ -katenin ekspresyonu açısından karşılaştırılması Tablo 4.10 ve şekil 14.13'te görülmektedir.

Tablo 4.10. Tümör ve Kontrol Gruplarında  $\beta$ -Kateninin Ekspresyonu.

	%5 ve altı	%6-25	%25 üstü	toplam
<b>Vak'a grubu</b>	8 (%31)	6 (%23)	12 (%46)	26 <sup>1</sup>
<b>KG1</b>	1 (%9)	0 (%0)	10 (%91)	11 <sup>2</sup>
<b>KG2</b>	0 (%0)	0 (%0)	8 (%100)	8



Şekil 4.13. Tümör ve kontrol gruplarında β- katenin ekspresyonu

#### Tümörün Geliştiği Lokalizasyona göre E-kaderin ve Beta-katenin Ekspresyonu

Uterin korpusdan kaynaklanan 27 vak'adan 26'sı değerlendirilmiş olup 26 vak'anın 9 'unda E-kaderin ekspresyonu görülmezken, 17 vak'ada pozitiflik saptanmıştır. Over kaynaklı tümörlerin tümünde E-kaderin ekspresyonu görüldü. Serviks kaynaklı bir vak'a olup, bu vak'ada 1+ düzeyinde E-kaderin ekspresyonu görüldü. Adneksiyel bölgede kaynağı bilinmeyen bir vak'a olup, bu vak'ada da E-kaderin ekspresyonu vardır.

Primer tümörlerin lokalizasyonuna göre E-kaderinle boyanma oranları Tablo 4.11'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Tümörlerin lokalizasyonuna göre E-kaderinle boyanma oranları.

	%5 ve altı	%6-25	%25 üstü	toplam
<b>Uterus</b>	9	6	11	26
<b>Over</b>	0	1	3	4
<b>Serviks</b>	0	1	0	1
<b>Adneksiyel bölge</b>	0	1	0	1

$\beta$ -Katenin ekspresyonu ise uterin korpusdan kaynaklanan tümörlerin 8'inde negatif olup, 6'sında 1+, 12'sinde 2 +düzeyinde; over kaynaklı tümörlerin 3'ünde 1+ , 1'inde 2+ düzeyinde; serviks kaynaklı olan tek vak'ada 2+ düzeyinde görüldü. Adneksiyel bölgedeki vak'ada da  $\beta$ -Katenin ekspresyonu görüldü. Değişik lokalizasyonlardaki MMT'lü doku örneklerinde  $\beta$ -katenin boyanma oranları karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Primer tümörlerin lokalizasyonuna göre  $\beta$ -kateninle boyanma oranları Tablo 4.12' de verilmiştir.

Tablo 4. 12. Tümör Lokalizasyonuna göre  $\beta$ -Katenin Ekspresyonu.

	%5 ve altı	%5-25	%25 ve üstü	toplam
<b>Uterin korpus</b>	8	6	12	26
<b>Over</b>	0	3	1	4
<b>Serviks</b>	0	0	1	1
<b>Adneksiyel bölge</b>	0	0	1	1

#### **Mezenkimal Komponentin Tipine göre Epitelyal komponentteki E-kaderin ve $\beta$ -Katenin Ekspresyonun Karşılaştırılması**

Tümörlerin mezenkimal komponentine bakıldığında homolog yapıda olanların 4'ünde epitelyal tümöral komponentte E-kaderin negatif olup, 5'inde 1+, 6'sında 2+ düzeyinde pozitif. Bir vak'ada materyal yetersiz olduğundan değerlendirilemedi. Heterolog yapıda olanların 5'inde E-kaderin negatif iken, 3'ünde 1+, 7'sinde 2+ düzeyinde pozitiflik saptandı. Malign mikst müllerian tümörlerde mezenkimal komponentin tipine göre E-kaderin ile boyanma oranları Tablo 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.13. Mezenkimal komponentin tipine göre E-kaderin Ekspresyonu.

	%5 ve altı	%6-25	%25 üstü	Toplam
<b>Heterolog</b>	5	3	7	15
<b>Homolog</b>	4	5	6	15

Homolog ve heterolog mezenkimal komponent içeren tümörlerde  $\beta$ -kateninle ile boyanma oranı Tablo 4.14’de verilmiştir.

Tablo 4.14. Mezenkimal komponentin tipine göre  $\beta$ -kateninle Boyanma Oranı.

	%5 ve altı	%6-25	%25 üstü	toplam
<b>heterolog</b>	5	4	6	15
<b>homolog</b>	2	5	8	15

Tümörlerde mezenkimal komponentin heterolog veya homolog olmasına göre E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu açısından anlamlı bir fark izlenmedi ( $p>0.05$ ).

### **Karsinomatöz Komponentin histolojik Tipine Göre E-kaderin ve Beta katenin Ekspresyonunun Değerlendirilmesi**

Karsinomatöz komponentin tipine göre E-kaderin ekspresyonu değerlendirildiğinde endometrioid tipte olanların 6’sında E-kaderin negatif, 4’ünde 1+, 3 ‘ünde 2 + olarak saptandı. Seröz karsinomlu vak’aların 2’sinde negatif, 3’ünde 1+, 5’inde 2+, seröz +endometrioid karsinomun izlendiği vak’aların birinde 1+, 2’sinde 2+, seröz +berrak hücreli karsinomun izlendiği vak’aların 1’inde negatif, 2’sinde 2 + E-kaderin ekspresyonu görüldü. Endometrioid +müsinöz tipteki tek vak’ada 2+ E-kaderin ekspresyonu, indifferansiye tipteki tek vak’ada 2+ düzeyinde pozitiflik görüldü. Malign mikst müllerian tümörlerde karsinomatöz komponentin histolojik tipine göre E-kaderinle ekspresyon oranları Tablo 4. 15’de verilmiştir.

Tablo 4.15. Karsinomatöz Komponentin Histolojik Tipine göre E-Kaderin Ekspresyonu.

	<b>%5 ve altı</b>	<b>%6-25</b>	<b>%25 üstü</b>	<b>toplam</b>
<b>Endometriod</b>	6	4	3	13
<b>Seröz</b>	2	3	5	10
<b>Seröz+endometrioid</b>	0	1	2	3
<b>Seröz+berrak hücreli</b>	1	0	2	3
<b>Endometrioid+müsinöz</b>	0	0	1	1
<b>İndiferansiye</b>	0	0	1	1

Karsinomatöz komponentin histolojik tipine göre  $\beta$ -katenin ekspresyonu değerlendirildiğinde  $\beta$ -kateninin endometrioid tipin 3'ünde negatif, 6'sında 1+, 4'ünde 2+ düzeyinde; seröz tipin 4'ünde negatif, 1'inde 1+, 5'inde 2+ düzeyinde, seröz +endometrioid tipte olan vak'alarda 2+ düzeyinde, seröz +berrak hücreli tipte olanların 1'inde negatif, 1'inde 1+ diğerinde 2+ düzeyinde idi. Endometrioid +müsinöz tipte olan bir vak'ada 1+ düzeyinde, indiferansiye tipteki vak'ada 2+ düzeyinde  $\beta$ -katenin ekspresyonu izlendi.

Malign mikst müllerian tümörlerde karsinomatöz komponentin histolojik tipine göre  $\beta$ -kateninle ekspresyon oranları Tablo 4. 16'de verilmiştir.

Tablo 4.16. Karsinomatöz Komponentin Histolojik Tipine Göre  $\beta$ -Katenin Ekspresyonu.

	<b>%5 ve altı</b>	<b>%6-25</b>	<b>%25 üstü</b>	<b>Toplam</b>
<b>Endometrioid</b>	3	6	4	13
<b>Seröz</b>	4	1	5	10
<b>Seröz+endometrioid</b>	0	0	3	3
<b>Seröz+berrak hücreli</b>	1	1	1	3
<b>Endometrioid+müsinöz</b>	0	1	0	1
<b>İndiferansiye</b>	0	0	1	1

İstatistiksel değerlendirmede E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu açısından histolojik tipler arasında anlamlı bir fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

#### **Evrelerine göre Boyanma Oranları**

Tümörlerin evrelerine göre E-kaderin ekspresyonları değerlendirildiğinde evre I'deki vak'aların birinde E-kaderin negatif, 2'sinde 1+, 3'ünde 2+ olduğu görüldü. Evre II'de olan tek vak'ada E-kaderin negatifti, evre III'de 4 vak'ada negatif, 1'inde 1+, 3'ünde 2+, Evre IV'de olan 3 vak'ada negatif, 5 vak'ada 1+, 8 vak'ada 2+ olduğu saptandı. Malign mikst müllerian tümörlü olguların evrelerine göre E-kaderin ekspresyonu oranları Tablo 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.17. Evrelerine göre E-Kaderin Ekspresyonu.

	Vak'a sayısı (%5 ve altı)	Vak'a sayısı (%6-25)	Vak'a sayısı (%25 üstü)	toplam
<b>Evre I</b>	1	2	3	6
<b>Evre II</b>	1	0	0	1
<b>Evre III</b>	4	1	3	8
<b>Evre IV</b>	3	5	8	16

Evrelerine göre  $\beta$ -katenin ekspresyonu değerlendirildiğinde evre I'deki vak'aların 4'ünde 1+ , 2'sinde 2+ düzeyinde idi. Evre II'deki vak'ada 2+ düzeyinde, evre III'de 2 vak'ada negatif , 2 vak'ada 1+, 4 vak'ada 2+ düzeyinde idi. Evre IV'deki vak'aların 6'sında negatif, 3'ünde 1+ düzeyinde, 7'sinde 2+ düzeyinde  $\beta$ -katenin ekspresyonu görüldü.

Malign mikst müllerian tümörlü olguların evrelerine göre  $\beta$ -katenin ekspresyonu oranları Tablo 4.18'de verilmiştir.

Tablo 4.18. Evre'ye göre  $\beta$ -Katenin Ekspresyonu.

	%5 ve altı	%5-25	%25 ve üstü	Toplam
<b>Evre I</b>	0	4	2	6
<b>Evre II</b>	0	0	1	1
<b>Evre III</b>	2	2	4	8
<b>Evre IV</b>	6	3	7	16

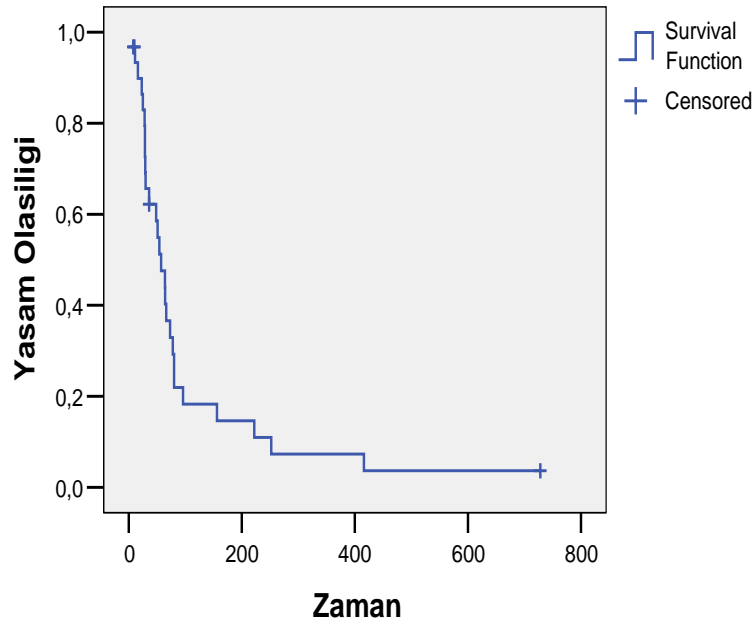


E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonları hastalığın evresine göre anlamlı bir fark göstermiyordu ( $p > 0.05$ ).

### 4.3. Yaşam Analizi

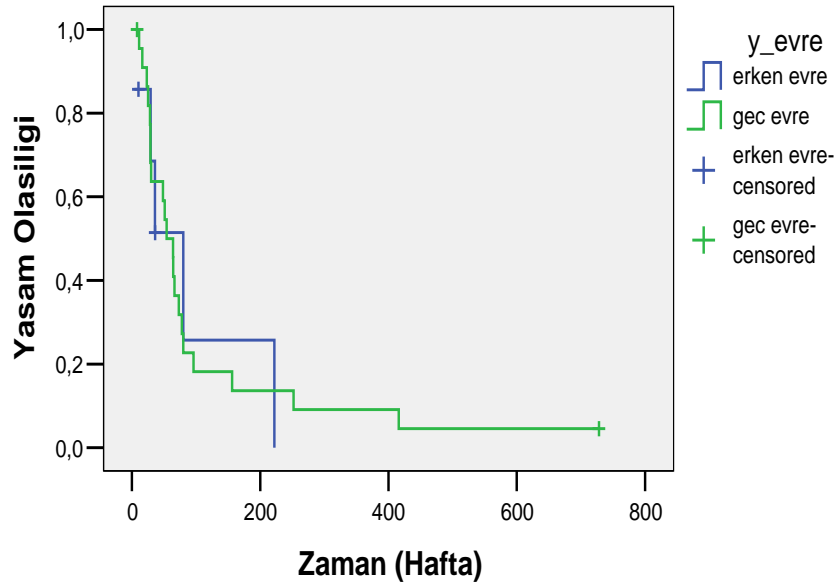
Çalışmaya alınan vak'aların ikisi, ameliyat sonrası ölüm nedeniyle yaşam analizine dahil edilmedi. Vak'alarımızdan 4'ü hala yaşıyordu, 29'u hayatta değildi. Vak'aların yaşam ortalaması 103,5 hafta (4-728 hafta) olarak hesaplandı. Vak'aların yaşam süresi ile E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu, tümörün evresi (erken/geç), mezenkimal komponentin tipi (heterelog/homolog) arasındaki ilişki Kaplan Meier testi ile değerlendirildi.

Hastaların yaşam sürelerini gösteren grafik Şekil 4.14' verilmiştir.



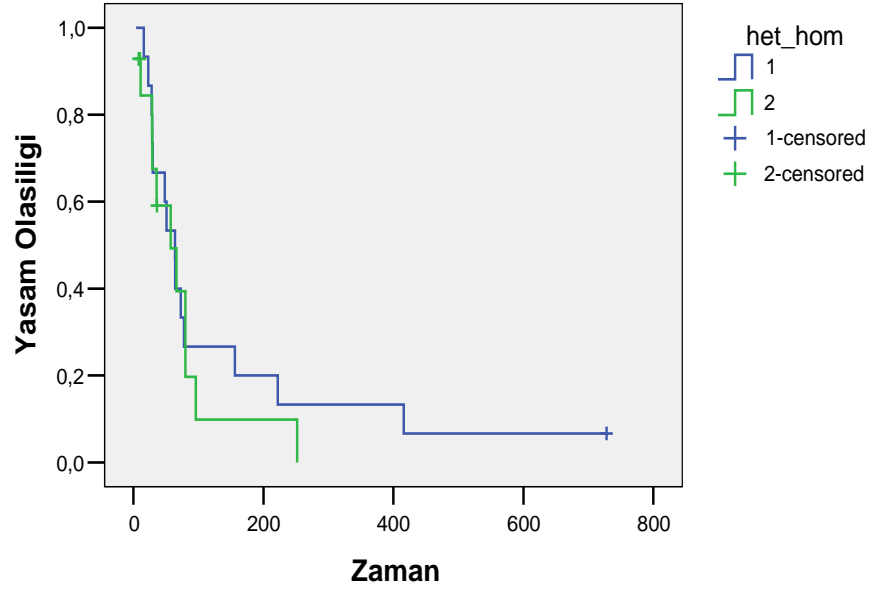
Şekil 4.14. Vak'aların haftaya göre yaşam eğrisi

Malign mikst müllerian tümörlü hastaların evre 1 ve 2 olanları erken evre, evre 3 ve 4 olanları geç evre olarak kabul edilerek yapılan istatistiksel çalışmada evre ile yaşam süresi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $P>0.05$ ). Hastaların evrelerine göre yaşam eğrisi grafiği Şekil 4.15’de verilmiştir.



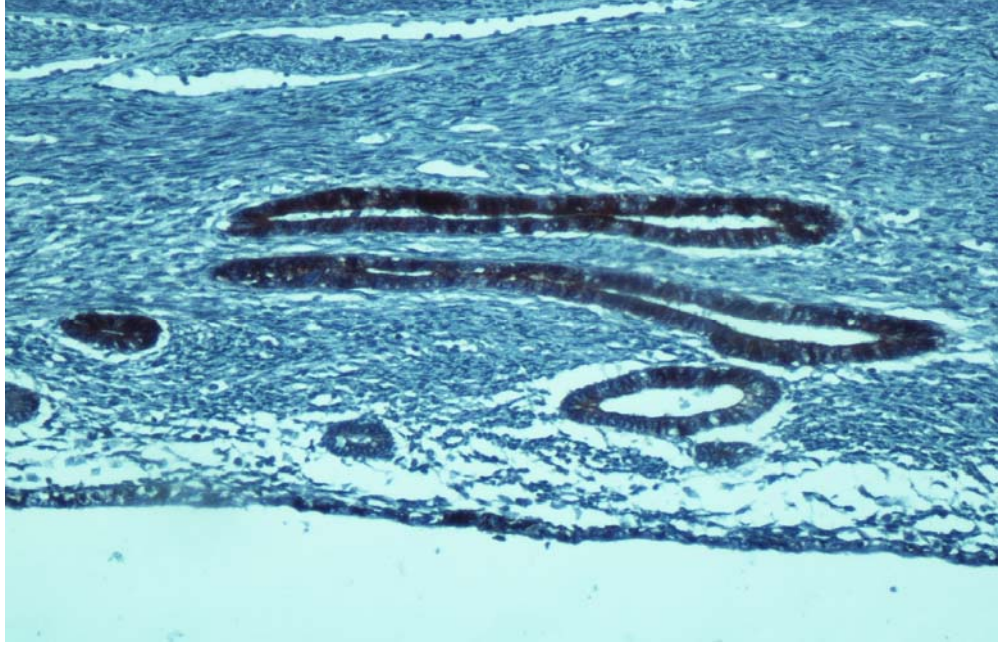
Şekil 4.15 Vak'aların evreye göre yaşam eğrisi

Malign mikst müllerian tümörlerin mezenkimal komponentinin histolojik tipinin heterolog veya homolog olması ile yaşam süresi arasında ilişki bulunmadı ( $p>0.05$ ). Mezenkimal tipin heterolog veya homolog olmasına göre yaşam süresini gösteren grafik Şekil 4.16’da verilmiştir.

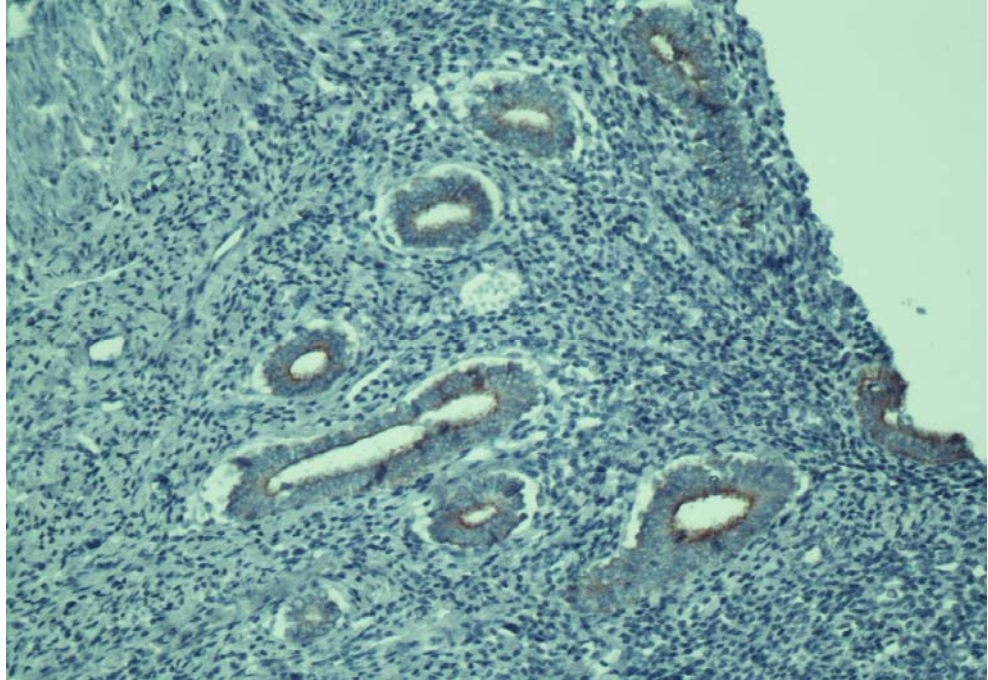


Şekil 4.16 Tümörlerin mezenkimal komponentlerinin heterelog veya homolog olmasına göre yaşam eğrisi

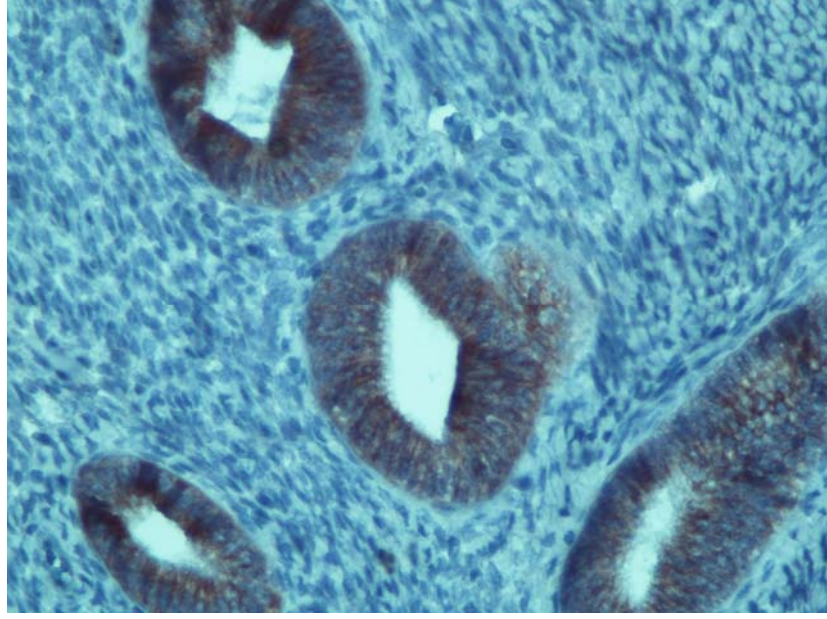
E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu ile yaşam süresi arasında bir ilişki bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).



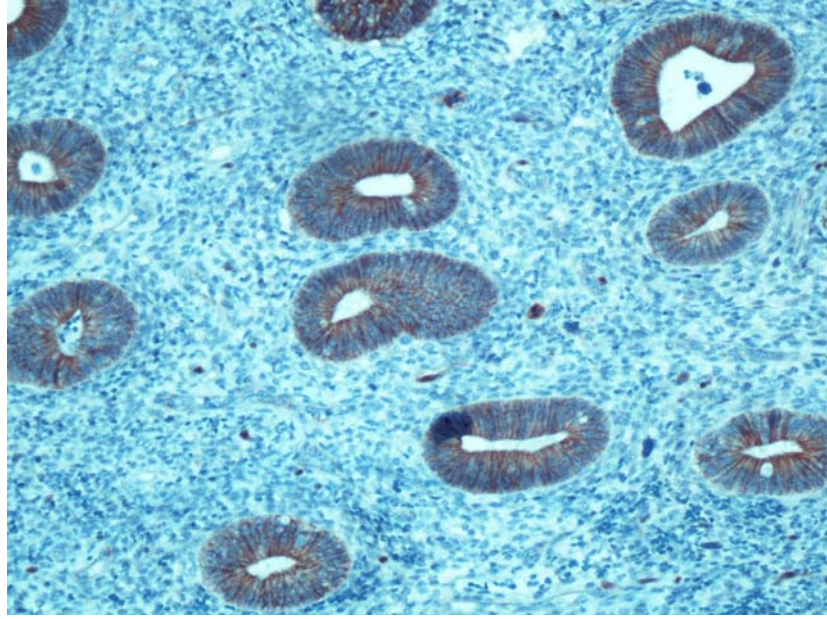
Şekil 4.17. Kontrol grubu 1’de 2+ düzeyinde E-kaderin ekspresyonu (olgu 5, x200)



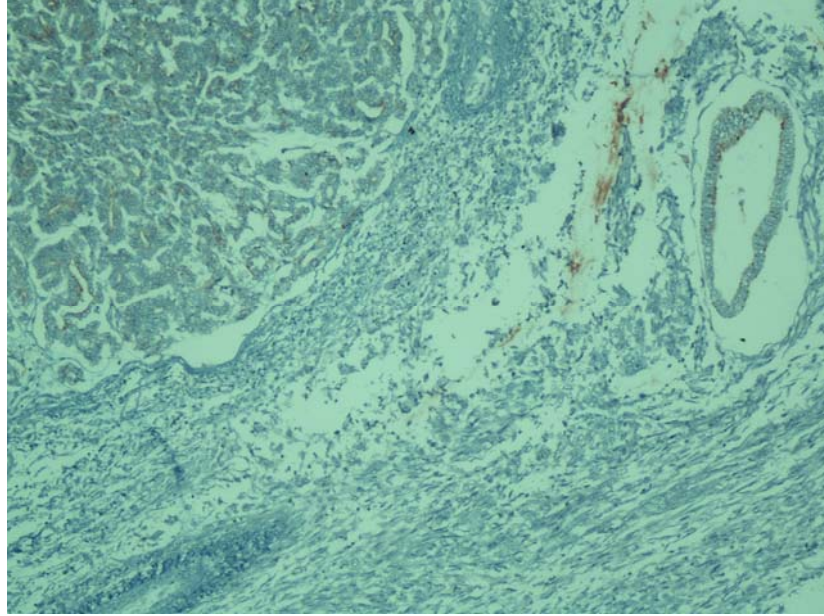
Şekil 4.18. Kontrol grubu 1’de 2+ düzeyinde  $\beta$ - katenin ekspresyonu ( olgu 5, x200)



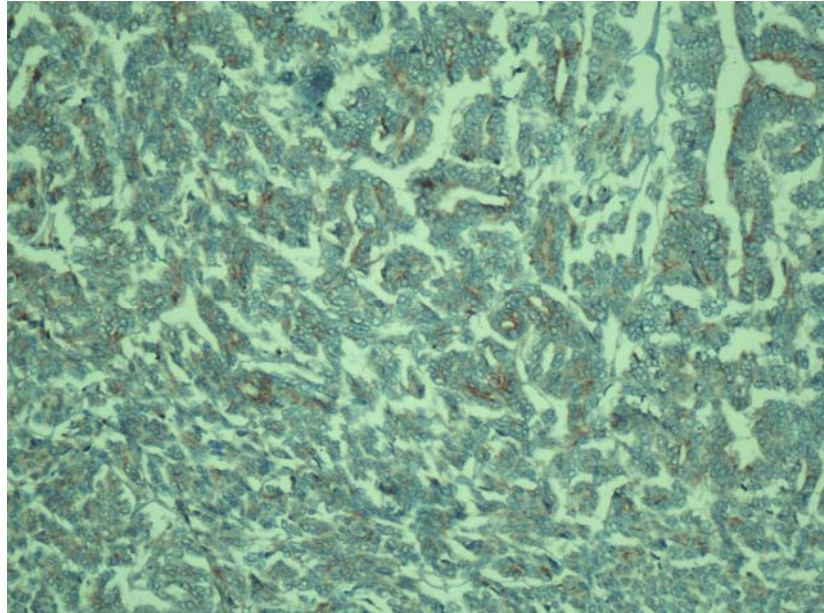
Şekil 4.19. Kontrol Grubu 2' de 2 Düzeyinde E-Kaderin Ekspresyonu ( x200).



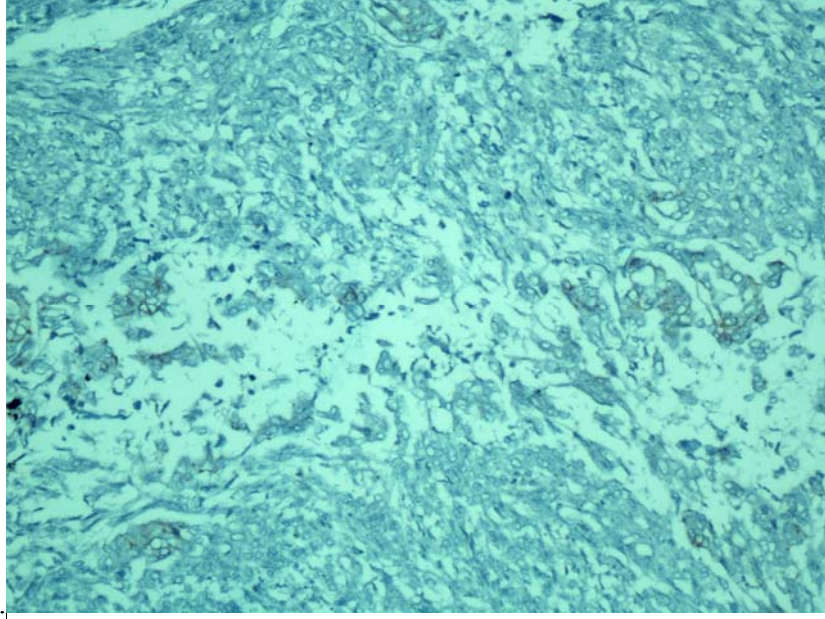
Şekil 4.20. Kontrol Grubu 2' de 2+ Düzeyinde  $\beta$ -Katenin Ekspresyonu (x200)



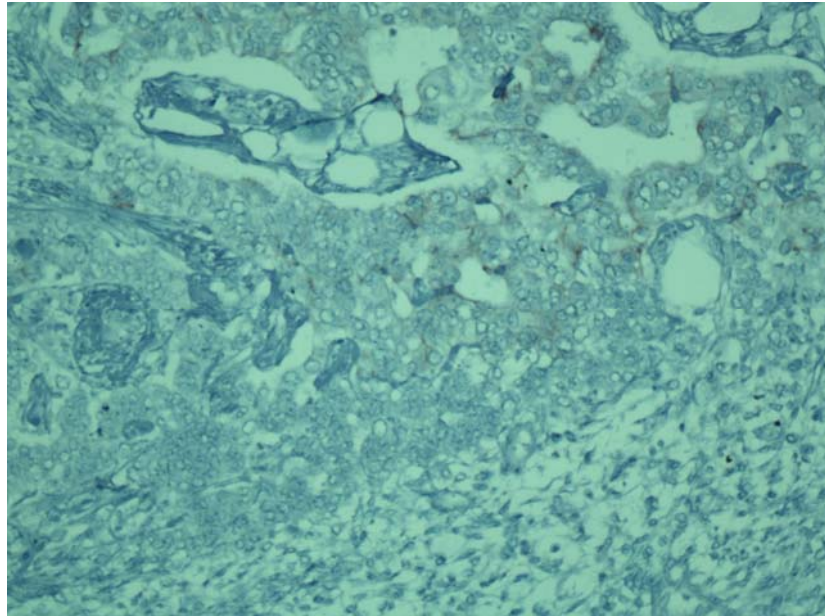
Şekil 4.21. Tümörün epitelyal komponentinde 2+ düzeyinde E-kaderin ekspresyonu. Mezenkimal komponent negatiftir. Normal endometriyal glandda da E-kaderin ekspresyonu izlenmektedir (olgu 30, x100).



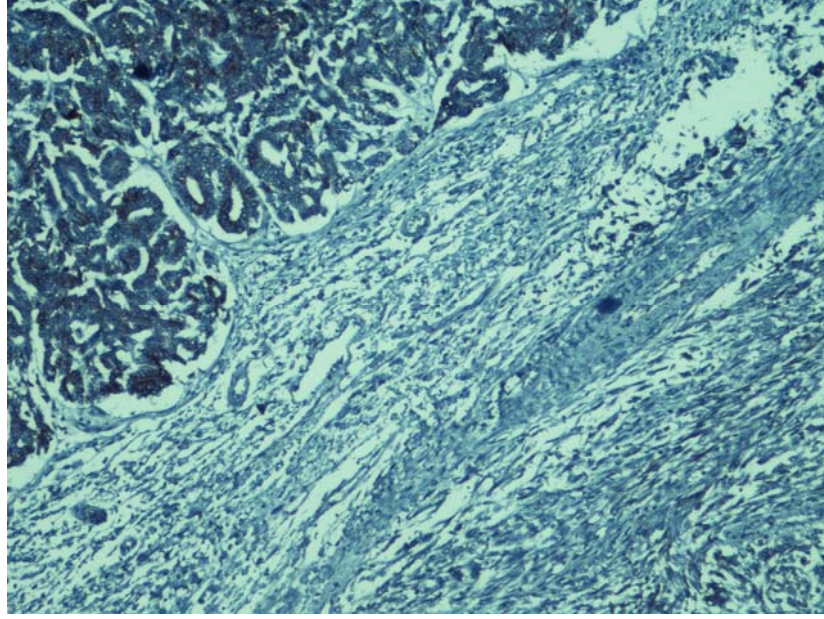
Şekil 4.22. Aynı olguda 2+ düzeyinde E-kaderin ekspresyonu daha büyük büyütmede görülmektedir. Epitelyal komponentte iğsi formda olan (epitelyal mezenkimal dönüşüm?) bazı hücrelerde de E-kaderin pozitifdir (olgu 30, x200).



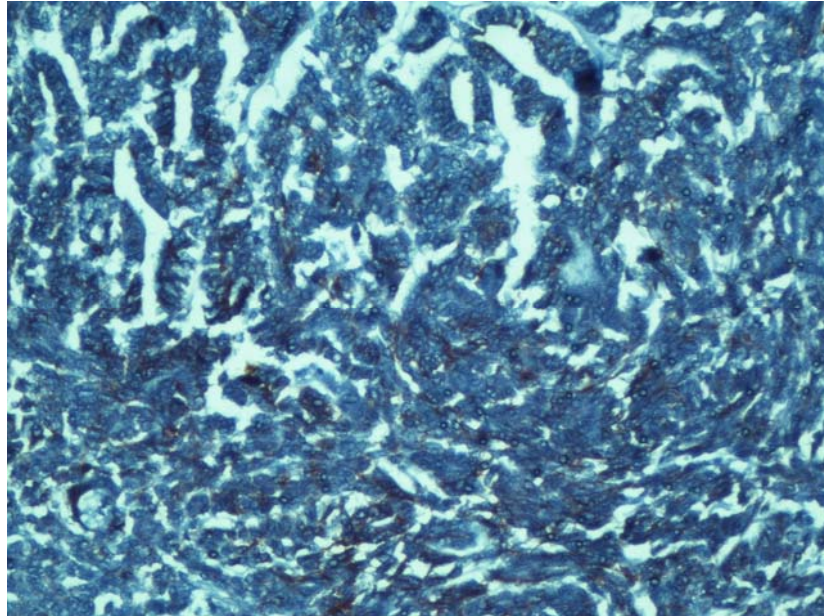
Şekil 4.23. Aynı olguda bir başka alanda epitelyal komponentte E-kaderin ekspresyonu izlenmektedir. Mezenkimal komponent negatiftir (olgu 30, x200).



Şekil 4.24. Aynı olgunun metastaz odağındaki E-kaderin ekspresyonu (olgu 30 x200).

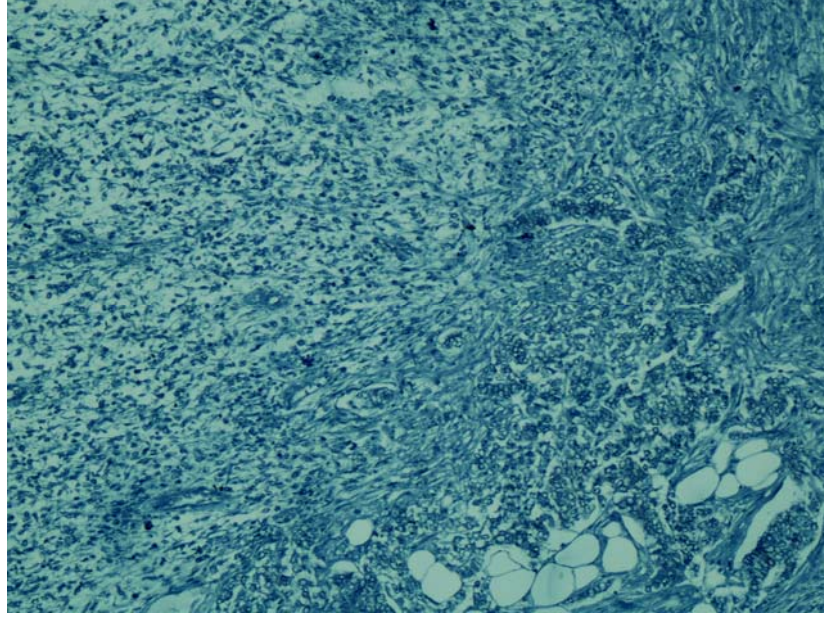


Şekil 4.25. Şekil 4.21-24.'deki vak'ada E-kaderin ekspresyonu izlenen alanda  $\beta$ -katenin ekspresyonu. Epitelyal alanda daha yüksek oranda pozitiflik olup mezenkimal komponentte fokal pozitiflik mevcuttur (olgu 30, x100).

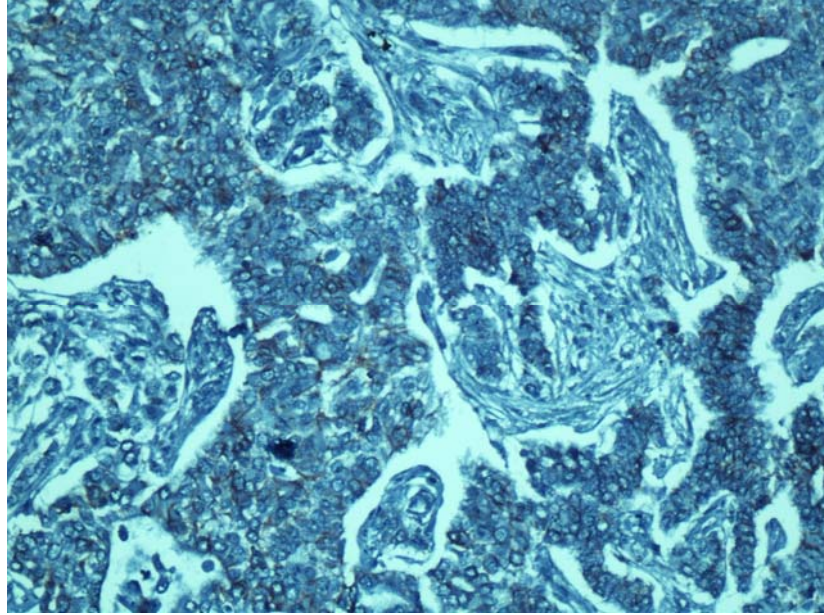


Şekil 4.26. Şekil 4.21'de E-kaderin ekspresyonu izlenen alanda  $\beta$ -katenin ekspresyonu (olgu 30, x200).

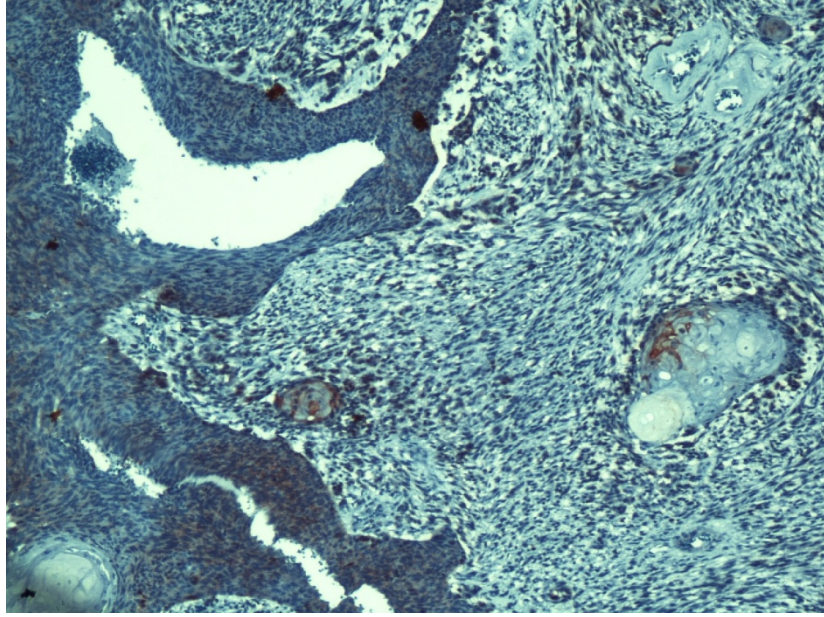




Şekil 4.27. Şekil 4.24.'deki alanda  $\beta$ -katenin ekspresyonu negatiftir ( olgu 30, x200).

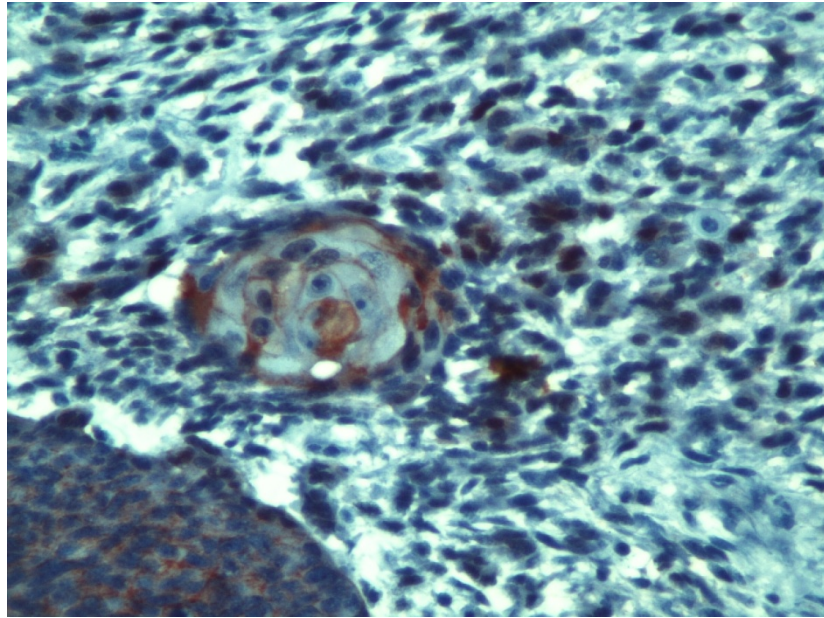


Şekil 4.28. Aynı olguda başka alanda  $\beta$ -katenin ekspresyonu 2+ düzeyinde pozitiftir (olgu 30, x200).

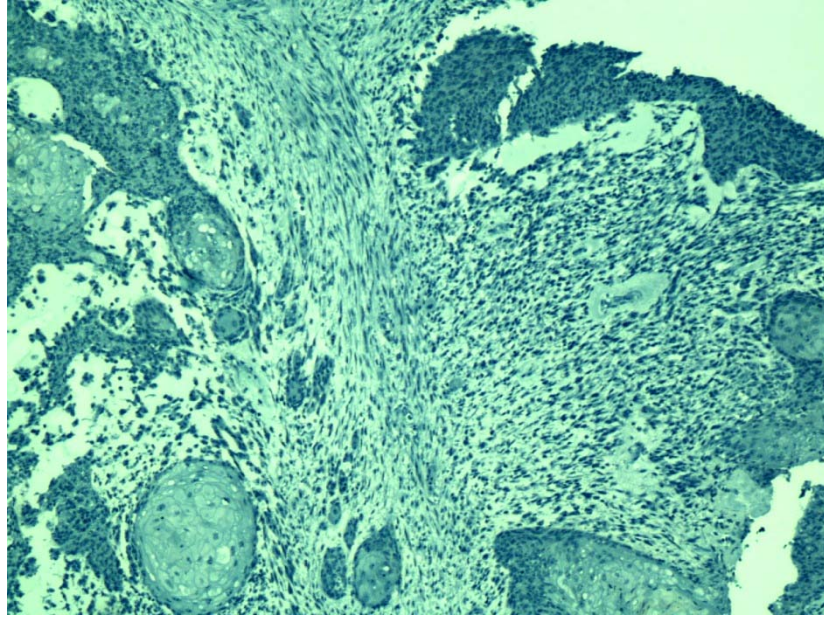


Şekil 4.29. Epitelyal ve mezenkimal komponentte  $\beta$ -katenin ekspresyonu görülmektedir. Mezenkimal görünen alanlarda  $\beta$ -katenin ekspresyonu nükleerdir

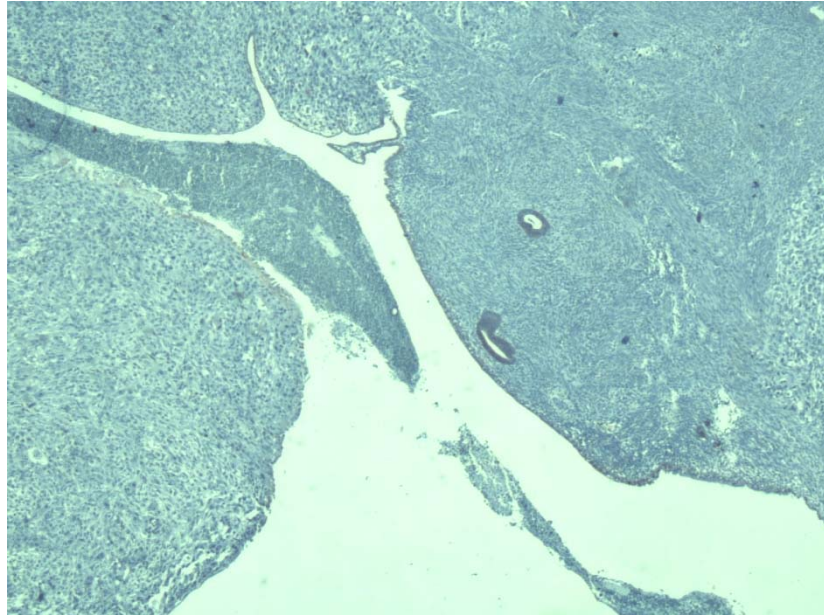
(Olgu 14, x100)



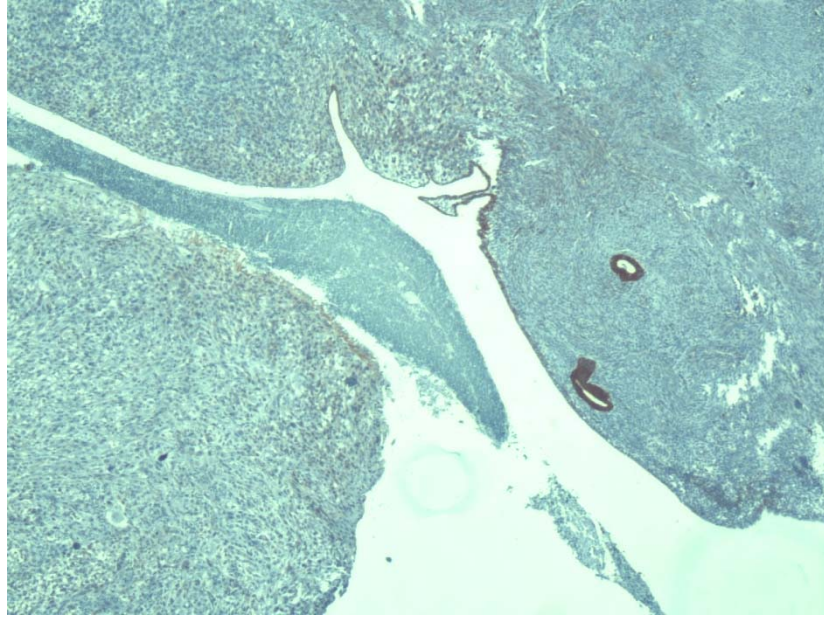
Şekil 4.30. Daha büyük büyütmede mezenkimal komponentte  $\beta$ -katenin ekspresyonu görülmektedir. Epitelyal elemanlarda  $\beta$ -katenin ekspresyonu sitoplazmiktir (olgu 14, x400).



Şekil 4.31 Aynı olguda epitelyal elemanlar ve mezenkimal tümöral alanlarda E-kaderin negatiftir ( olgu 14, x 100).

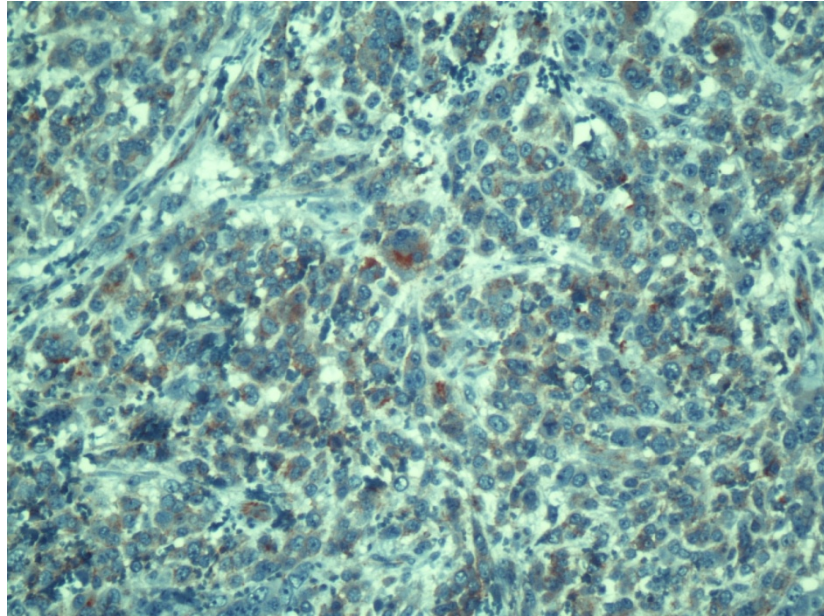


Şekil 4.32. Bu olguda tümörde E-kaderin negatiftir. Tümör yüzeyini örten epitelde ve normal endometriyal glandlarda E-kaderin pozitifliği izlenmektedir (olgu 22, x40).

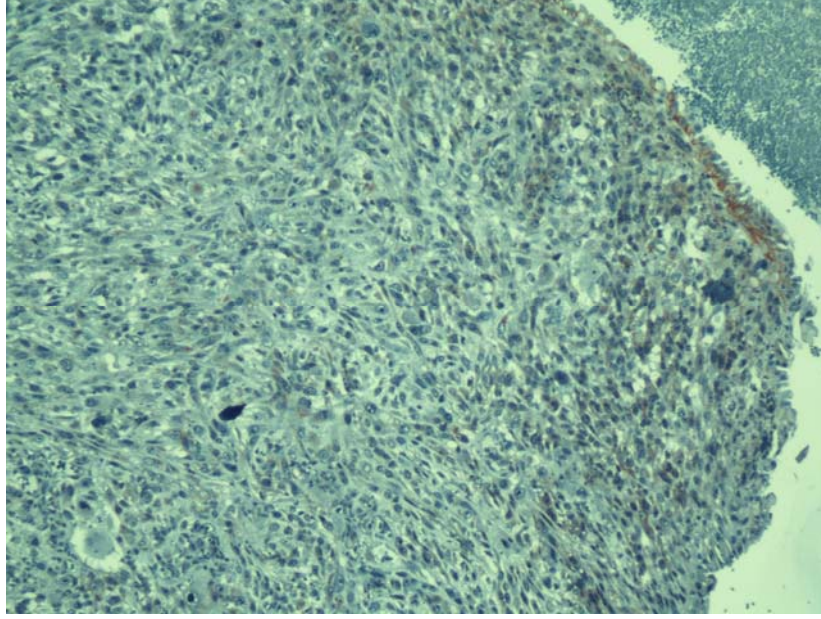


Şekil 4.33. Aynı olguda tümörün epitelyal komponentinde ve normal endometriyal glandlarda  $\beta$ -katenin ekspresyonu görülmektedir. Bu olguda mezenkimal komponentte de  $\beta$ -katenin ekspresyonu izlendi (bakınız şekil 4.35)

( olgu 22, x40).



Şekil 4.34. Daha büyük büyütmede tümörde epitelyal komponentte  $\beta$ -katenin ekspresyonu ( olgu 22, x200).



Şekik 4.35. Aynı olguda mezenkimal komponentte  $\beta$ -katenin ekspresyonu (olgu 22, x200)

## 5-TARTIŞMA

E-kaderin epitelyal diferansiyasyonu yönlendirici bir gen olup, bunun için gerekli diğer genlerin ekspresyonunu düzenler ve aktive eder (43). E-kaderin, katenin ve hücre iskeletindeki aktine bağlanarak hücreler arası adezyon oluşumunu sağlar. Bir çok karsinom gelişiminde E-kaderinin fonksiyonu çeşitli mekanizmalarla kaybolur (6). E-kaderin epitelyal mezenkimal fenotip değişiminin de en önemli bileşenidir. Adezyonun baskılanması epitelyal mezenkimal dönüşümün başlaması için yeterli olabilir, diğer taraftan reaktivasyonu mezenkimal epitelyal dönüşüm ile sonuçlanır. Çoğu model de büyüme faktörleri epitelyal mezenkimal dönüşüm oluşumunu sağlamakta olup, epitelyal mezenkimal dönüşüm ile ilişkili olan yollar E-kaderin ekspresyonunda etkiye sahiptir. Epitelyal mezenkimal dönüşüm gelişimi sırasında E-kaderin ekspresyonu azalır, bu da birçok sinyal molekülü ve transdüksiyon yolağının aracılığı ile olur (5,6,44,45). Normal ve patolojik epitelyal mezenkimal dönüşümlerde E-kaderinin azalması sonucu hücreler arasında adezyon kaybı oluşur. Beta-katenini ortak kullanarak, E-kaderin aracılıklı adezyon ve WNT/ $\beta$ -katenin yolağı birbirlerine bağımlı hareket eder. Epitelyal mezenkimal dönüşüm gelişiminde başlıca rol E-kaderinindir. WNT sinyal yolağı kadın genital sisteminin gelişiminde önemli role sahip olup (16,45-47), WNT/ $\beta$ -katenin sinyalizasyonundaki regülasyon bozukluğunun uterin fonksiyon ve tümörögenезisinde etkili olduğu deneysel bir çalışmada gösterilmiştir (48).

Bu çalışmada MMT'lerde kaderin-katenin kompleksinin epitelyal komponentte ve mezenkimal komponentteki ekspresyonlarını araştırdık. Literatürde E-kaderin ve  $\beta$ - kateninle ilgili birçok farklı tümör tipinde yapılmış çok sayıda çalışma (28-34,49,50) olmasına rağmen, bifazik bir tümör olan MMT'lerde bu konuyla ilgili tek bir yayın (51) yer almaktadır. Burada öncelikle MMT'lerin epitelyal komponentinde görülen tümör tipleri ele alınarak kadın genital sisteminde tümüyle epitelyal yapıda gelişen tümörlerde ve kadın genital sistem ve diğer sistem lokalizasyonlarında görülebilen mezenkimal tümörlerde E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ile yapılmış literatürdeki çalışmalar gözden geçirildi. Aşağıda sırasıyla endometrial kanserlerde, serviksin epitelyal kanserlerinde, over tümörlerinde ve bunların yanı sıra mezenkimal tümörlerde E-kaderin ve  $\beta$ -kateninle ilgili çalışmalar bildirilmektedir.

Saegusa ve ark. (52) 141 normal endometriyum, 37 basit/kompleks hiperplazi, 32 atipik hiperplazi ve 199 endometrial karsinomu  $\beta$ -katenin ekspresyonu açısından incelemiştir. Beta-kateninin reaktivitesinin normal epitelden, atipik hiperplaziye ve grade 3 tümörlere kadar basamak basamak azaldığı, bunun tersine nükleer birikimin atipik hiperplazide ve grade 1-2 tümörlerde basit/ kompleks hiperplaziden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Yetmiş endometriyal karsinomun 16'sında (% 22.9), 24 atipik endometrial hiperplazinin üçünde (%12.5)  $\beta$ -katenin geninde mutasyon saptanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda endometriyal hiperplazi ve karsinomlarda  $\beta$ -katenin mutasyonlarının olabileceği belirtilmiştir.

Shih ve ark.'nın (53) yaptığı çalışmada 30 normal endometriyum ve 73 endometrial karsinom vak'asında E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu araştırılmıştır. Yüksek grade'li endometriyal karsinomlarda E-kaderin ve sitoplazmik  $\beta$ -katenin ekspresyonunun, düşük grade'li tümörlere göre azaldığı saptanmıştır. E-kaderin ve sitoplazmik  $\beta$ -katenin ekspresyonunun endometriyal tümörlerde, normal endometriyal glandlarla kıyaslandığında azaldığı görülmüştür. Bu çalışmada nükleer  $\beta$ -katenin ekspresyonunun, E-kaderin ekspresyonunun olmayışı ile birliktelik gösterdiği vurgulanmıştır.

Holcomb ve ark. (54) 76 endometriyal karsinom vak'asının histolojik alt tipine göre E-kaderin ekspresyonunu değerlendirdikleri bir diğer çalışmada, E-kaderinin papiller seröz ve berrak hücreli karsinomlarda, endometrioid karsinomlara göre daha az eksprese olduğu saptanmıştır.

Mell ve ark. (55) 102 endometrial kanser vak'asında azalan E-kaderin ekspresyonunun prognostik önemini incelemiş, hastalığın progresyonunda ve evre 1-3 endometriyal kanserlerde bağımsız bir prognostik faktör olduğunu, artan E-kaderin ekspresyonunun myometrial invazyon ile pozitif korelasyon gösterirken, papiller seröz veya berrak hücreli histolojiye sahip olma ve grade ile de negatif korelasyon gösterdiğini saptamıştır.

Schlosshauer ve ark. (56) grade 3 endometrioid adenokarsinom (17 vak'a) ve endometrial seröz karsinomda (17 vak'a)  $\beta$ -katenin ve E-kaderin ekspresyonunu değerlendirmiş olup, seröz karsinomların 7'sinde (%41'inde), endometrioid karsinom vak'alarının sadece birisinde E-kaderin ekspresyonu saptamıştır. Endometrioid karsinomların 7'sinde  $\beta$ -kateninle nükleer boyanma görülürken, seröz karsinomlarda

görülmemiştir. E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonunun histolojik tipler ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Scholten ve ark. (57) 225 endometrial karsinomda E-kaderin,  $\beta$ -katenin,  $\alpha$ -katenin ekspresyonunu araştırdıkları bir çalışmada, vak'aların %44'ünde E-kaderin, %47'sinde  $\beta$ -katenin ve %33'ünde  $\alpha$ -katenin ekspresyon kaybı olduğunu bildirmektedir. E-kaderin negatifliği yüksek grade'li tümörler (Grade 3) ve endometrioid tipte olmayan endometriyal kanserlerde gösterilmiştir.

Pestereli ve ark. (58) serviksin skuamöz hücreli lezyonlarında (25 LSIL, 25 HSIL, 30 SCC vak'ası) L-SIL vak'alarının %91.7'sinde, HSIL vak'alarının %41.7'sinde, invaziv skuamöz hücreli karsinom vak'alarının % 6.9'unda E-kaderin ekspresyonu olduğunu göstermiş olup, invaziv olgulardaki E-kaderin ekspresyon oranının LSIL ve HSIL olgularına göre az olmasının anlamlı bir farklılık olduğunu saptamıştır. Aynı çalışmada, bütün olgularda benzer oranlarda  $\beta$ -katenin ekspresyonu görülmüş olup, bunun da Wnt sinyal yolağındaki etkileşimlere bağlı olabileceği öne sürülmüştür.

Faleiro-Rodrigues ve ark. (59) 17 benign, 33 borderline, 104 malign ovaryan epitelyal tümörde yaptıkları çalışmada seröz, berrak hücreli ve transizyonel hücreli karsinomlarda kaderin-katenin kompleksi ekspresyonunun azaldığını, müsinöz ve endometrioid tümörlerde ise E-kaderin ve  $\beta$ -katenin immünreaktivitesinin korunduğunu göstermiştir. Bu sonuçlara göre ovaryan epitelyal tümörlerin histolojik tipine göre E-kaderin ekspresyonunun korunabildiği ya da azaldığı öne sürülmüştür. Bu çalışmada ovaryan tümörlerde azalan  $\beta$ -katenin ekspresyonunun, tümör diferansiyasyon kaybı ile ilişkili olduğu ve  $\beta$ -katenin profilinin biyolojik önemi olduğu gösterilmiştir. Maines-Bandiera ve ark. (60)'nın çalışmasında normal overlerde yüzey örtü epitelinin E-kaderin ekspresyonunun over içindeki yeri ve şekli ile ilişkili olup, overin yüzey epitelinde daima bulunduğu, ancak epitelin invajine olduğu inklüzyon kistlerinde arttığı saptanmıştır. Bu alanlarda kolumnar hücreli değişiklikler ve sıklıkla buna eşlik eden metaplastik ve displastik değişiklikler olduğundan, artan E-kaderin ekspresyonunun müllerian diferansiyasyon ve neoplastik transformasyonun erken bulgusu olabileceği düşünülmüştür. Tümör gelişiminde erken evrede E-kaderin artışı görülürken, malign hücrelerin diferansiyasyonu azaldıkça E-kaderin ekspresyonunun azaldığı belirtilmiştir.



Literatürde yukarıda da bahsedildiği gibi uterus ve over tümörlerinde  $\beta$ -katenin mutasyonları bildirilmiştir. (61-63). Kanji ve ark. (61) 35 primer endometriyal karsinom vak'asının 5'inde  $\beta$ -katenin geninde ( GSK-3 $\beta$  fosforilasyonu yapan serin/threonin rezidüsü) mutasyon, 10 vak'ada replikasyon hasarı saptamış olup immünohistokimyasal çalışma ile 17 vak'anın, üçünde nükleus ve sitoplazmada  $\beta$ - katenin birikimi görülmüştür. Bu üç vak'anın ikisinde mutasyon belirlenmiştir. Bu çalışma ile mutasyona uğramış  $\beta$ -kateninlerin nükleusta biriktiği ve onkogenleri aktive ederek tümörü indüklediği gösterilmiştir. Wright ve ark. (62) ovarian endometrioid tümörlerin %16'sında (10/63 vak'ada), Ron ve ark. (63)'da ovarian endometrioid adenokarsinom vak'alarının %31'inde (14/45 vak'ada)  $\beta$ - katenin geninde mutasyon saptamıştır.

Literatürde, kadın genital sistemi dışında gelişen tümörlerde E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonunun değerlendirildiği immunohistokimyasal çalışmalarda mesane (28), prostat (28), mide (29), kolon, (30,31), özefagus (32), meme, akciğer ve pankreas (33,34) tümörlerinde, alt dudak kökenli yüksek grade'li skuamöz hücreli karsinomlarda (50) E-kaderin ekspresyonunun azaldığı bildirilmektedir. Alt dudak kökenli (50) ve oral skuamöz hücreli karsinomlarda (49)  $\beta$ -katenin ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Az diferansiye kolorektal kanserlerde ise  $\beta$ -katenin ekspresyonunun normal dokulardaki düzeylerde bulunduğu saptanmıştır (31).

E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu mezenkimal tümörlerde de çalışılmıştır ( 48,64,65). Gogou ve ark. (64) 19 uterin leiomyosarkom vak'asında E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonunu değerlendirmiştir. Bu vak'alarda E-kaderin ekspresyonu tespit edilmemiş olup, yaklaşık yarısında sitoplazmik  $\beta$ -katenin ekspresyonu görülmüştür. Buradaki sitoplazmik  $\beta$ -katenin ekspresyonunun Wnt sinyal etkileşimlerine bağlı olup, APC protein veya  $\beta$ -kateninin mutasyonları ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Mezenkimal tümörlerde  $\beta$ - kateninle ilgili geniş çaplı bir çalışma Tony L Ng ve ark. (65) tarafından yayınlanmıştır. Bu çalışmada 549 kemik ve yumuşak doku tümöründe nükleer ve sitoplazmik  $\beta$ -katenin ekspresyonu değerlendirilmiştir. En çok desmoid tip fibromatozislerde  $\beta$ -kateninle yüksek oranda nükleer pozitiflik görülmüş, karsinosarkom (iğsi hücreli karsinom), berrak hücreli sarkom, endometriyal stromal sarkom, sinovyal sarkom ve fibrosarkomda az sayıda vak'ada yüksek oranda pozitiflik bulunmuştur. Düz ve çizgili kas, yağ dokusu, kondroid ve nöral tümörlerde az oranda hücrede pozitiflik görülürken, malign fibröz histiyositom, gastrointestinal stromal tümör ve osteosarkomda pozitiflik

görülmemiştir. Desmoid tip fibromatozis, soliter fibröz tümör, sinoviyal sarkom ve endometriyal stromal sarkomda nükleer  $\beta$ -katenin ekspresyonunun tanıda kullanılabileceği gösterilmiştir.

Literatürde E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonlarının bifazik tümörlerde değerlendirildiği iki çalışma vardır (66,67). Kuroiwa ve ark. (66) 11 sarkomatoid renal hücreli karsinomda sarkomatöz komponentte E-kaderin,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - kateninlerin ekspresyonlarının, karsinomatöz komponent ile kıyaslandığında belirgin şekilde azaldığını tespit etmiştir.

Zidar ve ark. (67) baş ve boyun bölgesinde bifazik bir tümör olan malign iğsi (spindle) hücreli karsinomu olan 30 ve skuamöz hücreli karsinomu olan 30 olgu ile yaptıkları bir çalışmada, 19 iğsi hücreli karsinomun skuamöz komponentinde E-kaderin kaybı, N- kaderin ekspresyonu (swicth kaderin), 7'sinde E-kaderin kaybı, 4'ünde her ikisinin birlikte ekspresyonu görülürken, skuamöz hücreli karsinomu olan bütün vak'alarda E-kaderin ekspresyonu tespit edilmiş, çoğunluğunda N-kaderin ekspresyonu görülmemiştir. Bu çalışmada; E-kaderin kaybı ve N-kaderin ekspresyonunun ortaya çıkışı, epitelyalden iğsi hücreli fenotipe geçişin bir bulgusu olup bunun EMD gelişimini gösteren bir özellik olduğu düşünülmüştür.

Literatürde MMTT'de Wani ve ark. (51) tarafından yapılmış tek bir çalışma olup, bu çalışmada 6 hyalinize endometrioid karsinom, 8 MMTT, 6 overin sex kord tümörüne benzer uterin tümör vak'asında E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu araştırılmıştır. Bütün hyalinize endometrioid karsinom vak'alarının spindle hücre komponentinde farklı oranlarda nükleer  $\beta$ -katenin ekspresyonu saptanırken, membranöz E-kaderin ekspresyonu olmadığı tespit edilmiştir. Malign mikst müllerian tümörlerin sarkomatöz komponentinde ve overin sex kord tümörüne benzeyen uterus tümörlerinin sex kord kısmında nükleer  $\beta$ -katenin ekspresyonu ve membranöz E-kaderinin ekspresyonu saptanmamıştır. Bu bulguların yanı sıra hyalinize endometrioid karsinomda PCR ile  $\beta$ -katenin geninde exon 3'de mutasyon bulunmuştur. Bu bulgular ile hyalinize endometrioid karsinomda spindle hücre komponentinde  $\beta$ -katenin/E-kaderin kompleksinin kritik bir rol oynayabileceği belirtilmiştir. Spindle hücre komponentinde  $\beta$ -katenin ekspresyonu olmasının, hyalinize endometrioid karsinomların, MMTT'lerden ve overin sex kord tümörüne benzer uterin tümörlerden ayırımında kullanılabileceği öne sürülmüştür.

Biz çalışmamızdaki MMMT'lerde 11 vak'ada mezenkimal komponentte fokal olarak sitoplazmik/membranöz  $\beta$ -katenin ekspresyonu saptadık, bir vak'ada ise nükleer boyanma gözledik. Çoğu vak'ada nükleer boyanmanın görülmemesi, MMMT'lerde tümörün gelişiminde  $\beta$ -katenin gen mutasyonlarından farklı mekanizmaların da rolü olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda uterus, over ve adneksiyal kaynaklı MMMT'lerde epitelyal komponentin histolojik alt tiplerine göre E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu açısından istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı. Literatürde MMMT'lerde epitelyal komponentin histolojik alt tiplerine göre yapılan bir değerlendirmeye olmayıp, endometriyal kanserlerin histolojik alt tiplerinde E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu ile yapılan çalışmaların sonuçları (54-57) ile kıyaslandığında benzer bulgular saptanmamıştır. Bunun nedeni MMMT'lerde işleyen tümörögenезis mekanizmalarının farklı olması olabilir.

Çalışmamızda MMMT'lerin yaklaşık %73'ünde tümöral dokunun epitelyal komponentinde E-kaderin ekspresyonu, %75'inde  $\beta$ -katenin ekspresyonu saptandı. Kontrol grubu (KG2) endometriyumlarıyla kıyaslandığında tümörlerde boyanma yüzde oranları düşüktü. Çalışmamızdaki MMMT'lerde boyanma oranlarının, normale göre düşük ve değişken olması bu tümörlerde E-kaderin ve bu molekülle ilişkili rol oynayan  $\beta$ -kateninin ekspresyonunun etkilendiğini ve hücreler arası adezyon mekanizmalarında regülasyon bozukluğu olduğunu akla getirmektedir. E-kaderin ekspresyonunun azalması epitelyal mezenkimal dönüşüm ile ilişkili olabilir, bunun yanısıra epitelyal komponentin metastatik davranışında da rolü olabilir. Mezenkimal komponentte hemen tüm vakalarda E-kaderin ekspresyonunun olmaması, normal endometriyumun stromal hücrelerindeki benzerdir. Konversiyon hipotezine göre değerlendirildiğinde tümörü oluşturan hücreler monoklonal iseler, her iki komponentte de benzer ekspresyon özellikleri beklendiği halde, mezenkimal komponentte E-kaderin ekspresyonu yokluğu, epitelyal mezenkimal dönüşüm ile açıklanabilir. Beta-katenin ekspresyonunun bazı vakalarda mezenkimal komponentte pozitif olması da epitelyal mezenkimal dönüşüm ile ilişkili olabilir. Mezenkimal komponentte fokal alanlarda  $\beta$ -kateninin gözlenmesi bu komponentte bir regülasyon bozukluğu ve aktivasyonu akla getirmektedir. Beta-katenin; E-kaderin ve WNT sinyal yolağında kritik bir role sahiptir ve bu yolakların disregülasyonu,  $\beta$  kateninin sitoplazmada

birikimine ve nükleusa geçişine neden olur. Nükleusa geçen  $\beta$ -katenin onkogenleri aktive eder. Tanwar ve ark.(48) endometriyal stromada ve myometriyumda aktive  $\beta$ -kateninin etkisini görmek için, fare modelinde  $\beta$ -katenini aktive eden gen yapısı oluşturarak  $\beta$ -kateninin etkisini araştırmıştır. Bu farelerde  $\beta$ -kateninin aktive olması ile myometriyal hiperplazi ve mezenkimal tümörler geliştiği tespit edilmiştir. Araştırmacılar, bu çalışmada, hamilelik esnasındaki ve gebelik sonrasında oluşan hasar ve tamir mekanizmalarının normalde aktive  $\beta$ -katenin ekspresyonu göstermeyen kök hücrelerini (stem/progenitor) tümör oluşturması için aktive ettiğini belirtmektedir. Multipar farelerde leiomyomların belirgin hemoraji ve inflamasyon alanları yanında oluştuğunun gözlenmesi bu hipotezi desteklemektedir. Uterin leiomyomların disregüle bir fibrotik yanıt ya da hipertrofik skar sonucu geliştiği düşünülmektedir (66). Tanwar ve ark.(48) nin farelerde yaptığı çalışmada disregüle stromal ve myometrial WNT/ $\beta$ -katenin sinyalizasyonunun uterus fonksiyonunda ve mezenkimal tümör gelişiminde etkili olabileceği; bunun yanı sıra mutant farelerde stromadaki disregüle  $\beta$ -kateninin, endometriyal glandüler hiperplazi oluşumunu indüklediği gösterilmiştir. Bu farelerde nadiren adenomyozisin de görülmesine dayalı olarak, adenokarsinom gelişiminin indüklenmesinde, stromadaki disregülasyonun indirekt bir stromal destek sağlayabileceği öne sürülmüştür (48).

Literatürde tümörlerde epitelyal mezenkimal dönüşüm olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar (38,68-70) bulunmakatadır. Rosana ve ark. (70) ovarian tümörlerde yaptıkları hücre kültür çalışmasında endotelin A reseptör (ETAR)/ endotelin-1 (ET-1) aksının epitelyal mezenkimal dönüşüm oluşumundaki rolünü araştırmıştır. Bu çalışmada over tümör hücrelerinin 3-D kollagen jel kültürüne ET-1 eklenmesi ile fibroblast benzeri bir görünüm kazandığını belirlemiştir. Aynı zamanda ET-1; E-kaderin,  $\beta$ -katenin, zonula occludens-1 ekspresyonunda kayıp oluştururken, N-kaderin ve vimentin ekspresyonunu arttırmıştır. Bu bulgularla ET-1'in epitelyal belirleyicilerde kayıp, mezenkimal belirleyicilerde artış oluşturarak epitelyal mezenkimal dönüşümü indüklediği gösterilmiştir. Epitelyal mezenkimal dönüşümün olduğu düşünülen tümörlerden birisi de memede gelişen metaplastik karsinomdur. Metaplastik karsinomlar değişen oranlarda glandüler epitelyal hücreler ile bu hücrelerden transforme olan, glandüler olmayan, skuamöz tipte ya da mezenkimal tipte iğsi, kondroid, osseöz ve myoid hücrelerden oluşan tümörlerdir (71). Carpenter

ve ark. (72)'nin çalışmasında, myoepitelyal orijinli olduğu düşünülen metaplastik meme karsinomunda myoepitelyal hücrelerde eksprese olan laminin 5'in, tümörün sarkomatöz komponentinde saptanması sonucunda, bu komponentin gelişiminde laminin 5'in rolü olduğu ve bu karsinomların epitelyal mezenkimal dönüşümün olduğu tümörlere bir örnek olabileceği öne sürülmüştür. Lee ve ark. (38) servikal kanser ve normal servikal epitel kültür hücrelerinde epitelyal mezenkimal dönüşümün moleküler mekanizmalarını araştırmıştır. Kronik epitelyal growth büyüme faktörü (EGF) tedavisinin servikal epitelde E-kaderinin azalmasına, vimentinin ve snail 1'in artmasına neden olduğu saptanmış, bununla birlikte EGF'nin hücre şeklinin uzamasına ve hücre invazyonuna yol açtığı belirlenmiştir. Böylece servikal kanserde EGF'ün epitelyal mezenkimal dönüşümü indüklediği gösterilmiştir. Imai ve ark. (68) oral karsinomlarda epitelyal mezenkimal dönüşümün olabildiği ve bunun da aberran transkripsiyon faktörlerinin veya onkojenik sinyal aktivasyonunun sonucu olabileceğini öne sürmüştür.

Uterus, meme, akciğer, gastrointestinal sistemde gelişen karsinosarkom /sarkomatoid karsinomlar epitelyal mezenkimal dönüşümün rol oynadığı tümörler arasında yer almaktadır. Bu çalışma kadın genital sistemde gelişen MMMT'lerin bu açıdan ele alındığı ilk çalışmadır. Bitterman ve ark. (17) 22 MMMT'de immünohistokimyasal yöntemle yaptıkları bir çalışmada, vak'aların %92'sinde epitelyal komponentteki hücrelerin çoğunda keratin ve EMA pozitifliği var iken, iğsi hücreli komponentte bu belirleyiciler ile fokal pozitiflik saptamışlardır. Vimentin, vak'aların %75'inde iğsi hücrelerin çoğunluğunda pozitif bulunmuşken, epitelyal komponentte vak'aların %50'sinde fokal pozitiflik belirlenmiştir. Davranışından dolayı bu tümörlerin uterusun karsinomları arasında sınıflandırılması gerektiği öne sürülmüştür. Literatürdeki bu bulgu MMMT'lerde epitelyal mezenkimal dönüşüm mekanizmalarının işlediğinin göstergesi olabilir. Bu olguların tümünde metastazların karsinom özelliğinde olduğu tespit edilmiştir (17). Malign mikst müllerian tümör metastazlarının çoğu karsinom şeklinde olup, bazı vak'alarda bifazik patern, az sayıda vak'ada da sadece sarkom bulguları tespit edilmiştir (14). Bizim çalışmamızdaki 33 olgunun 13'ünde metastaz saptanmış olup, bunlarda da sadece mezenkimal komponentin olduğu vak'a saptamadık. Malign mikst müllerian tümörlerin metastazlarının daha çok karsinom özelliğinde olması, davranışında

mezenkimal komponent ile ilişkisinin bulunmaması (14,16,17,) nedeniyle bu tümörler daha çok metaplastik bir karsinom olarak ele alınmaktadır. Lenfatik ve vasküler invazyonlarında hücrelerin karsinom şeklinde olması bunu desteklemiştir. Metastaz odaklarında epitelyal fenotipin baskın olması ya da bifazik paternin görülmesi bu odaklarda da primer odaklardaki gibi epitelyal mezenkimal dönüşüm ve mezenkimal epitelyal dönüşüm mekanizmalarının rolü olabileceğini düşündürebilir. Malign tümörlerde E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu invaziv ve metastatik davranış ile ilişkilendirilmektedir. Bizim vak'alarımızda E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonunun metastaz olması ile bir ilişkisi saptanmamış olup metastatik odaklarda da primer odaktakine benzer oranlarda oldukları görülmüştür.

Malign mikst müllerian tümörlerin histopatogenezine yönelik olarak, epitelyal mezenkimal dönüşümün moleküler mekanizmaları ile ilgili ve epitelyal mezenkimal dönüşümün belirleyicileri ile birlikte daha çok çalışma yapılması gerekli görünmektedirki bu çalışmalar tedavide yenilikler sağlayacaktır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Osmangazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalında Eylül 1992 ve Nisan 2010 yılları arasında malign mikst müllerian tümör tanısı almış 33 olgunun yaş dağılımı epitelyal ve sarkomatöz komponentlerinin histolojik özellikleri gözden geçirildi. Tümörü oluşturan epitelyal komponentin tipi (endometrioid, seröz vs.), sarkomatöz komponentin özelliği (heterolog veya homolog olması), metastaz varlığı ve metastaz odağındaki komponentler değerlendirildi. Tümörün primer ve metastaz odağındaki E-kaderin ve  $\beta$  katenin ekspresyonları değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar şöyledir:

1. Çalışmaya alınan hastaların yaşları 48 ile 75 arasında değişmekte idi ve yaş ortalaması 67. 3'tü
2. Primer tümör 27 (%81) hastada uterus, 4 (%12) hastada over, 1 (%3) hastada adneksiyal bölge ve 1 (%3) hastada serviks kaynaklı idi.
3. Vakalardan 15'inde (%45) sarkomatöz komponent heterolog, 16'sında (%48) homolog karakterdeydi.
4. Karsinom komponentinde 14 (%42) vak'ada tümörün histolojik tipi endometrioid karsinom, 10 (%33) vak'ada seröz karsinom, 3 (%9) vak'ada seröz+ endometrioid, 3 (%9) vak'ada seröz + berrak hücreli, 1 (%3) vak'ada endometrioid+ müsinöz, 1 (%3) vak'ada indifferansiye karsinom özelliğinde idi.
5. Vak'aların 6'sı (%18) evre I, 2'si (%6) evre II, 8'i (%24) evre III, 16'sı (%48) evre IV olarak değerlendirildi. Evre I ve II'ler erken evre (8 olgu), evre III ve IV geç evre (24 olgu) olarak kabul edildi..
6. Vak'aların %69.7'sinde epitelyal komponentte E-kaderin ekspresyonu, %72.8'inde  $\beta$ -katenin ekspresyonu görüldü. Tümörlerin epitelyal komponentinde E-kaderin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

7. Vak'aların karsinomatöz komponentinde değişken oranlarda ekspresyon izlenirken mezenkimal komponentte E-kaderinle bir vak'ada,  $\beta$ -kateninle 11 vak'ada fokal boyanma izlendi

8. Uterusdan orijin alan vaka'ların E-kaderin ve  $\beta$ -kateninle boyanma yüzde oranları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, vak'alarda boyanma oranları, kontrol grubu 1 ile anlamlı bir fark göstermezken ( $p>0.05$ ), kontrol grubu 2'ye göre anlamlı düzeyde düşüktü ( $p<0.05$ ).

9. Vak'aların metastaz odaklarındaki E-kaderin ve  $\beta$ -kateninle boyanma oranları primer orijinlerine göre karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmedi ( $p>0.05$ ).

10. Vak'aların karsinomatöz komponentinin tipine göre E-kaderin ve  $\beta$ -kateninle ekspresyon oranları karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

11. Vak'aların mezenkimal tipinin heterelog veya homolog olmasına göre E-kaderin ve  $\beta$ -kateninle ekspresyon oranları karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

12. Vak'aların erken ve geç evre olmasına göre E-kaderin ve  $\beta$ -kateninle ekspresyon oranları karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

13. Vak'aların yaşam süreleri 4 hafta ile 728 hafta arasında değişmekte olup ortalama 103 hafta olarak belirlendi.

14. Vak'aların E- kaderin ve  $\beta$ -kateninle boyanma oranları, karsinomatöz ve mezenkimal komponentin histolojik özelliği ve evresi ile yaşam süreleri arasındaki ilişkiye bakıldığında anlamlı bir fark görülmedi ( $p> 0.05$ ).



## KAYNAKLAR

1. McCluggage WG, Robboy J. Mesenchymal uterine tumors, other than pure smooth muscle neoplasms, and adenomyosis. In: Robboy SJ, Mutter GL, Prat J, Bentley RC, Russel P, Anderson MC, Eds. Pathology of the female reproductive tract. Chine, 2009 Elsevier. p. 427-455.
2. Abeln ECA, Smit V THBM, Wessels JW, leeuw WJF, Cornelisse CJ, Fleuren GJ. Molecular genetic evidence for the conversion hypothesis of the origin of malignant mixed müllerian tumours. J Pathol. 1997; 183: 424-431.
3. McCluggage WG. Malignant biphasic uterine tumors: carcinosarcomas or metaplastic carcinomas? J Clin Pathol. 2002; 55: 321-325.
4. McCluggage WG. Uterine Carcinosarcomas (malignant mixed müllerian tumors) are metaplastic carcinomas. Int J Gynecol Cancer . 2002; 12: 687-690.
5. Van Marck VL, Bracke ME. Epithelial-Mesenchymal transitions in human cancer (online). Madame Curie Bioscience Database. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=eurekah&part=A32382>: 1-24 ( 07.06. 2010).
6. Guarino M, Rubino B, Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transitions in cancer pathology. Pathology. 2007; 39 (3): 305-318.
7. Lee JM, Dedler S, Kalluri R, Thompson EW. The epithelial mesenchymal transitions. J Cell Biol. 2006; 172 (7): 973-981.
8. Şeftalioğlu A. Kadın üreme organları embriyolojisi ve histolojisi. In: Kışnişçi HA, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu LS, eds. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ankara: Güneş Kitabevi; 1996.s. 3-24.
9. Gorstein F, MD, Anderson TL, Malignant mixed mesodermal tumors: carcinoma, sarcoma, or both? Hum Pathol. 1991; 22 (3): 207-209.
10. Clement PB, M.D. Müllerian adenosarcomas of the uterus with sarcomatous overgrowth. Am J Surg Pathol. 1989; 13(1): 28-38.
11. Seidman JD, Wasserman CS, Aye LM, MacKoul PJ, O'Leary TJ. Cluster of uterine müllerian adenosarcoma in the Washington, DC metropolitan area with high incidence of sarcomatous overgrowth. Am J Surg pathol. 1999; 23(7): 809-814.

12. Seidman JD, Chauhan S. Evaluation of the relationship between adenosarcoma and carcinosarcoma and a hypothesis of the histogenesis of uterine sarcomas. *Int J Gynecol Pathol.* 2003; 22(1): 75-82.
13. Silverberg SG, Major F, Blessing JA, Fetter B, Askin FB, Liao S, Miller A. Carcinosarcoma (malignant mixed müllerian mesodermal tumor) of the uterus. *Int J Gynecol Pathol.* 1990; 9: 1-19.
14. Sreenan JJ, Hart WR. Carcinosarcomas of the female genital tract. A pathologic study of 29 metastatic tumors: further evidence for the dominant role of the epithelial component and the conversion theory of histogenesis. *Am J Surg Pathol.* 1995; 19(6): 666-674.
15. Colombi RP. Sarcomatoid carcinomas of the female genital tract. *Semin Diagn Pathol.* 1993; 10(2): 169-175.
16. Ivasa Y, Haga H, Konishi I, Kobashi Y, Higuchi K, Minamiguchi S, Yamabe H. Prognostic factors in uterine carcinosarcoma. *Cancer.* 1998; 82: 512-519.
17. Bitterman P, Chun B, Kurman RJ. The significance of epithelial differentiation in mixed mesodermal tumors of the uterus. *Am J Surg Pathol.* 1990; 14(4): 317-328.
18. Maxwell GL, Chandramouli GVR, Dainty L, Litzi TJ, Berchuck A, Barret JC, Risinger JJ. Microarray analysis of endometrial carcinomas and mixed müllerian tumors reveals distinct gene expression profiles associated with different histologic types of uterine cancer (online). Maxwell GL, ed. <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/11/11/405.full>. (09. 06. 2010 ).
19. Swisher EM, Gown AM, Skelly M, Ek M, Tamimi HK, Cain J, Greer BE, Muntz HG, Goff BA. The Expression of epidermal growth factor receptor, HER-2/Neu, P53, and Ki-67 antigen in uterine malignant mixed mesodermal tumors and adenosarcoma. *Gynecol Oncol.* 1996; 60: 1-88.
20. Thompson L, Chang B, Barsky SH. Monoclonal origins of malignant mixed tumors (carcinosarcomas). *Am J Surg Pathol.* 1996; 20( 3):277-285.
21. Emoto M, Iwasaki H, Kikuchi M, Shirakawa K. Characteristics of cloned cells of mixed müllerian tumor of the human uterus. *Cancer* 1993; 71: 3065-3075.

22. Watanabe M, Simizu K, Kato H, Imai H, Nakano H, Sugawa M, Shiraishi T. Carcinosarcoma of the uterus: Immunohistochemical and genetic analysis of clonality of one case. *Gynecol Oncol.* 2001; 2: 563-567.
23. Seki A, Kodama J, Miyagi Y, Kamimura S, Yoshinouchi M, Kudo T. Amplification of the mdm-2 gene and p53 abnormalities in uterine sarcomas. *Int Cancer.* 1997; 73: 33-37.
24. Liu F, Kohler MF, Marks JR, Bast RC, Boyd J, Berchuck A. Mutation and overexpression of the p53 tumor suppressor gene frequently occurs in uterine and ovarian sarcomas. *Obstet Gynecol.* 1994; 83: 118-124.
25. Gaertner EM, Farley J H, Taylor RR, Silver SA. Collision of uterine rhabdoid tumor and endometrioid adenocarcinoma: a case report and review of the literature. *Int J Gynecol Pathol.* 1999;18(4): 396-401.
26. Lam KY, Khoo US, Cheung A. Collision of endometrioid carcinoma and stromal sarcoma of the uterus. *Int J Gynecol Pathol.* 1999; 18(1): 77-81.
27. Cunha GR, Bigsby RM, Cooke PS, Sugimura Y. Stromal- epithelial interactions in adults organs. *Cell Differ.* 1985; 17: 137-148.
28. Girolodi LA, Bringuier PP, Schalken JA. Defectives of E-cadherin function in urological cancers: clinical implications and molecular mechanisms. *Invasion and Metastasis.* 1994-95; 14: 71-81.
29. Bircmeier W. E-cadherin as tumor (invasion) suppressor gene. *Bioassays.* 1995; 17: 97-99.
30. Vermeulen SJ, Bruyneel, Bracke ME. Transition from the noninvasive to the invasive phenotype and loss of  $\alpha$ -catenin in human colon cancer cells. *Cancer Res* 1995; 55: 4722-4728.
31. Ghadimi BM, Behrens J, Hoffmann I, Haensch W, Birchmeier W, Schlag PM. Immunohistological analysis of E-cadherin,  $-\alpha$ ,  $\beta$ - and  $\gamma$ -catenin expression in colorectal cancer. *Eur J Cancer.* 1999; 35: 60-65.
32. Doki Y, Shiozaki H, Tahara H. Correlation between E-cadherin expression and invasiveness in vitro in a human esophageal cancer cell line. *Cancer Res.* 1993; 53: 3421-3426.
33. Bircmeier W. E-cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cell. *J Cell Biol.* 1991; 113: 173-185.

34. Pierceal WE, Woodard AS, Morrow JS, Fearon E. Frequent alterations in E-cadherin and  $\alpha$  and  $\beta$ -catenin expression in human breast cancer cell lines. *Oncogene*. 1995; 11: 1319-1326.
35. Güç D. Adezyon molekülleri. *Astım Allerji İmmünoloji*. 2004; 2(2): 95-102.
36. Birchmeier C, Birchmeier W, Brand-Saberi B. Epithelial-mesenchymal transitions in cancer progression. *Acta Anat*. 1996; 156: 217-226.
37. Kabukçuoğlu S, Öner Ü, Özalp SS, DüNDAR E, Yalçın OT, Çolak E. Prognostic significance of fascin expression in endometrioid carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2006; 27 (5): 481-486.
38. Lee M, Chou C, Tang M, Shen M. Epithelial-mesenchymal transition in cervical cancer: correlation with tumor progression, epidermal growth factor receptor overexpression, and snail up-regulation. *Clin Cancer Res*. 2008; 14 (15) : 4743-4750.
39. Thiery JP, Chopin D. Epithelial cell plasticity in development and tumor progression. *Cancer metastasis rev*. 1999; 18: 31-42.
40. Miettinen PJ, Ebner R, Lopez AR, Derynk R. TGF- $\beta$  induced transdifferentiation of mammary epithelial cells to mesenchymal cells: involvement type I receptors. *J Cell Biol*. 1994; 127: 2021-2036.
41. Kitagawa K, Murata A, Matsuura N, Tohya K, Takaichi S. Epithelial-mesenchymal transformation of a newly established cell line from ovarian adenocarcinoma by transforming growth factor- $\beta$ 1. *Int J Cancer*. 1996; 66: 91-97.
42. Pecorelli S, Chairman (FIGO committee on gynecologic oncology). FIGO staging for uterine sarcomas. *Int J Gynecol Obstet*. 2009; 104 ( 179): 103-104.
43. Hay ED. An overview of epithelial-mesenchymal transformation. *Acta Anat* 1995; 154: 8-20.
44. Pötter E, Bergwitz C, and Brabant G. The cadherin-catenin systems: implications for growth and differentiation of endocrine tissues. *Endocrine Reviews*. 1999; 20 (2) : 207-239.
45. Litvinow SV, Balzar M, Winter MJ, Bakker HAM, Bruijn IHB, Prins F, Fleuren GJ, Warnaar SO. Epithelial cell adhesion molecule (Ep-CAM) modulates cell-cell interactions mediated by classic cadherins. *J Cell Biol*. 1997; 139(5): 1337-1348.

46. Par BA, McMahon AP. Sexually dimorphic development of the mammalian reproductive tract requires wnt-7a. *Nature*. 1998; 395: 707-710.
47. Miller C, Sassoon Da. Wnt-5a maintains appropriate uterine patterning during the development the mouse female reproductive tract. *Development*. 1998; 125: 3201-3211.
48. Tanwar PS, Lee H, Zhang L, Zukerberg LR, Taketo MM. Constitutive activation of Beta-catenin in uterine stroma and smooth muscle leads to the development of mesenchymal tumors in mice. *Biol Reprod*. 2009; 81: 545-552.
49. Zhi-gang CAI, Xiao-jian SHI, Yan GAO, Ming-Jie WEI, Cun-yu WANG, Guang-yan YU.  $\beta$ -catenin expression pattern in primary oral squamous cell carcinoma. *Chinese Medical Journal*. 2008; 121(.19): 1866-1870.
50. Lopes FF, Miguel MCC, Pereira ALA, Cruz MCFN, Freitas RA, Pinto LP, Souza LB. Changes in immunexpression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in oral squamous cell carcinoma with and without nodal metastasis. *Ann Diagn Pathol* 2009; 13 (1): 22-29.
51. Wani Y, Saegusa M, Notohara K. Aberrant nuclear beta-catenin expression in the spindle or corded cells in so-called corded and hyalinized endometrioid carcinomas. Another critical role of the unique morphological feature. *Histol Histopathol*. 2009; 24: 149-155.
52. Saegusa M, Hashimura M, Yoshida T, Okayasu I.  $\beta$ -catenin mutations and aberrant nuclear expression during endometrial tumorigenesis. *Br J Cancer*. 2001; 84 (2):209-217.
53. Shih H, Shiozawa T, Miyamoto T, Kashima H, Feng Y, Kurai M, Konishi I. Immunohistochemical expression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in the normal and malignant human endometrium: an inverse correlation between E-cadherin and nuclear  $\beta$ -catenin expression. *Anticancer res*. 2004; 24: 3843-3850.
54. Holcomb K, Delatorre R, Pedemonte B, Mcleod C, Anderson L, Chambers J. E-cadherin expression in endometrioid, papillary serous, and clear cell carcinoma of the endometrium. *Obstet Gynecol*. 2002; 100: 1290-1295.
55. Mell LK, Meyer JJ, Tretiakova M, Khramtsov A, Gong C, Yamada D, Montag AG, Mundt AJ. Prognostic significance of E-cadherin protein expression in

- pathological Stage I-III endometrial cancer. *Clin Cancer Res.* 2004; 10: 5546-5553.
56. Schlosshauer PW, Ellenson HL, Soslow RA.  $\beta$ -catenin and E-cadherin expression patterns in high grade endometrial carcinoma are associated with histological subtype. *Mod Pathol.* 2002;15 (10): 1032-1037.
57. Scholten AN, Aliredjo R, Creutzberg CL, Smit VT. Combined E-cadherin,  $\alpha$ -catenin, and  $\beta$ -catenin expression is a favorable prognostic factor in endometrial carcinoma. *Int Gynecol Cancer.* 2006; 16: 1379-1385.
58. Pestereli HE, Erdoğan G, Şimşek T, Karaveli Ş. Cadherin/Catenin expression in squamous lesions of uterine cervix. *Turk J Cancer.* 2006; 36(2): 64-68.
59. Faleiro-Rodrigues C, Macedo-Pinto IM, Maia SS, Vieira RH, Lopes CS. Biological relevance of E-cadherin-catenin complex proteins in primary epithelial ovarian tumours. *Gynecol Obstet Invest.* 2005; 60: 75-83.
60. Maines-Bandiera SL, Auersperg N. Increased E-cadherin expression in ovarian surface epithelium. *Int J Gynecol Pathol.* 1997; 16: 250-255.
61. Kobayashi K, Sagae S, Nishioka Y, Tokino T, Kudo R. Mutations of the  $\beta$ -catenin gene in endometrial carcinomas. *Jpn J Cancer Res.* 1999; 90: 55-59.
62. Wright K, Wilson P, Morland S, Campbell I, Walsh M, Hurst T, Ward B, Cummings M. B-catenin mutation and expression analysis in ovarian cancer: exon 3 mutations and nuclear translocation in 16% of endometrioid tumours. *Int J Cancer.* 1999; 82: 625-629.
63. Wu R, Zhai Y, Fearon ER, Cho KR. Diverse mechanism of  $\beta$ -catenin deregulation in ovarian endometrioid adenocarcinomas. *Cancer Res.* 2001; 61: 8247-8255.
64. Gogou PN, Batistatou A, Pakos EE, Apostolikas N, Stefanou D, Tsekeris PG. Expression of E-cadherin,  $\beta$ -catenin and topoisomerase II $\alpha$  in leiomyosarcomas. *Clin Transl Oncol.* 2009; 11: 548-551.
65. Ng TL, Gown AM, Barry TS, Cheanh MCU, Chan AKW, Turbin DA, Hsu FD, West RB, Nielsen TO. Nuclear beta catenin in mesenchymal tumors. *Mod Pathol.* 2005; 18: 68-74.
66. Kuroiwa K, Konomoto T, Kumazawa J, Naito S, Tsuneyoshi M. Cell proliferative activity and expression of cell-cell adhesion factors (E-cadherin,  $\alpha$ -

- , $\beta$ , $\gamma$  catenin, and p120) in sarcomatoid renal cell carcinoma. *J Surg Oncol*. 2001; 77: 123-131.
67. Zidar N, Gale N, Kojx N, Volavsek M, Cardesa A. Cadherin-catenin complex and transcription factor Snail- 1 in spindle cell carcinoma of the head and neck. *Virchows Arch*. 2008; 453: 267-274.
68. Imai K, Okuse T, Chiba T, Morikawa M, Sanada K. Epithelial-mesenchymal transition and progression of oral carcinomas. *Cancer Ther*. 2004; 2: 195-200.
69. Tomaskovic-Crook E, Thompson EW, Thiery JP. Epithelial to mesenchymal transition and breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2009; 11: 213.
70. -Rosano L, Spinella F, Castro VD, Decandia S, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A. Endothelin-1 is required during epithelial to mesenchymal transition in ovarian cancer progression. *Biol Med*. 2006; 231: 1128-1131.
71. Schinitt SJ. Metaplastic carcinomas. In: Schnitt SJ, Collins LC. *Biopsy interpretation of the breast*. Chine: Lippincott Williams; 2009: 279.
72. Carpenter PM, Wang-Rodriguez J, Chan OTM, Wilczynski SP. Laminin 5 expression in metaplastic breast carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2008; 32: 345-354.